

**PEMANFAATAN BAKTERI *Rhizobium* DALAM
MENINGKATKAN PERTUMBUHAN KALIANDRA MERAH
(*Calliandra calothyrsus* Meisn.) UNTUK OPTIMALISASI
PRODUKSI KEBUN ENERGI BERKELANJUTAN**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Sarjana Sains (S.Si) dalam Ilmu Biologi



Oleh: NOVITA IKA FITRIYANI

NIM: 2108016093

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2025**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Novita Ika Fitriyani

NIM : 2108016093

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

Pemanfaatan Bakteri *Rhizobium* dalam Meningkatkan Pertumbuhan Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) untuk Optimalisasi Produksi Kebun Energi Berkelanjutan

Secara keseluruhan merupakan hasil penelitian/karya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 26 Juni 2025

Pembuat Pernyataan



Novita Ika Fitriyani

NIM: 2108016093



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp.024-7601295 Fax.7615387

LEMBAR PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Pemanfaatan Bakteri *Rhizobium* dalam
Meningkatkan Pertumbuhan Kaliandra Merah
(*Calliandra calothyrsus* Meisn.) untuk
Optimalisasi Produksi Kebun Energi
Berkelanjutan

Penulis : Novita Ika Fitriyani

NIM : 2108016093

Program Studi : S1 Biologi

Telah diujikan dalam sidang tugas akhir oleh Dewan Penguji
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat
diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana
dalam ilmu Biologi.

Semarang, 14 Juli 2025

DEWAN PENGUJI

Penguji I

Andang Syaifudin, M.Sc.

NIP: 198907192019031010

Penguji II

Niken Kusumarini, M.Si.

NIP: 198902232019032015

Penguji III

Kusrinah, M.Si.

NIP: 197711102011012001

Penguji IV

Idris, M.Si.

NIP: 198702092018011001

Pembimbing I

Kusrinah, M.Si.

NIP: 197711102011012005

Pembimbing II

Idris, M.Si.

NIP: 198702092018011001



NOTA DINAS

Semarang, 7 Juli 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Pemanfaatan Bakteri *Rhizobium* dalam Meningkatkan Pertumbuhan Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) untuk Optimalisasi Produksi Kebun Energi Berkelanjutan

Nama : Novita Ika Fitriyani

NIM : 2108016093

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqosyah.

Wassalamualaikum wr. wb.

Pembimbing I



Kusrinah, M.Si.

NIP. 197711102011012005

NOTA DINAS

Semarang, 7 Juli 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Pemanfaatan Bakteri *Rhizobium* dalam Meningkatkan Pertumbuhan Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) untuk Optimalisasi Produksi Kebun Energi Berkelanjutan

Nama : Novita Ika Fitriyani

NIM : 2108016093

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang Munaqosyah.

Wassalamualaikum wr. wb.

Pembimbing II



Idris, M.Si.

NIP. 198702092018011001

MOTTO HIDUP

Sebenarnya tidak ada yang perlu dikhawatirkan, Allah memang tidak menjanjikan hidupmu selalu mudah. Akan tetapi, dua kali Allah berjanji bahwa: “Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan” **(Q.S. Asy-Syarh: 5-6)**

ABSTRAK

Peningkatan kebutuhan energi nasional mendorong pemanfaatan sumber energi terbarukan, salah satunya melalui budidaya *Calliandra calothyrsus* Meisn. Ketersediaan nitrogen yang rendah di dalam tanah menjadi kendala utama dalam meningkatkan produktivitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh enam spesies bakteri *Rhizobium* asal InaCC terhadap pertumbuhan kaliandra merah. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan RAL satu faktor, dalam dua tahap: (1) seleksi bakteri *Rhizobium* potensial berdasarkan kemampuan mendorong perkecambahan dan (2) optimalisasi pertumbuhan serta produksi biomassa tanaman. Karakterisasi fisiologis meliputi penambatan nitrogen, pelarutan fosfat, dan produksi IAA. Hasil uji menunjukkan keenam spesies mampu menambat nitrogen. Tiga spesies mampu melarutkan fosfat: *R. radiobacter* (2,48), *R. rosettiformans* (2,46), dan *R. tropici* (2,40). Produksi IAA tertinggi ditunjukkan oleh *R. caliandrae* (60,36 mg/L), diikuti *R. cellulosilyticum*, *R. leguminosarum*; dan *R. radiobacter* sedangkan *R. tropici* dan *R. rosettiformans* tidak menghasilkan IAA. Parameter yang diamati meliputi jumlah daun, jumlah cabang, tinggi tanaman, diameter batang, jumlah bintil akar, serta bobot kering tajuk, akar, dan total tanaman. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut DMRT pada taraf nyata 5%. Semua spesies berpengaruh nyata terhadap perkecambahan kaliandra merah, dengan *R. cellulosilyticum* (InaCC B42) sebagai spesies terbaik (indeks perkecambahan 51,2; persentase perkecambahan 92% pada hari ke-21). Inokulasi spesies tersebut dengan pupuk NPK dosis 25% memberikan hasil setara pemupukan penuh, sehingga berpotensi mengurangi penggunaan pupuk anorganik hingga 75% dalam pengembangan kebun energi berkelanjutan.

Kata kunci: biomassa, *Calliandra calothyrsus*, fiksasi nitrogen, *Rhizobium*

ABSTRACT

The increasing demand for national energy has driven the utilization of renewable energy sources, one of which is the cultivation of Calliandra calothyrsus Meisn. However, low nitrogen availability in the soil is a major constraint in improving its productivity. This study aimed to evaluate the effects of six Rhizobium species from InaCC on the growth of red calliandra. The research was conducted experimentally using a one-factor, CRD in two stages: (1) selection of potential Rhizobium based on their ability to promote germination and (2) optimization of plant growth and biomass production. Physiological characterization included nitrogen fixation, phosphate solubilization, and IAA production. All six species were capable of fixing nitrogen. Three species demonstrated phosphate solubilization: R. radiobacter (2.48), R. rosettiformans (2.46), and R. tropici (2.40). The highest IAA production was recorded in R. caliandrae (60.36 mg/L), followed by R. cellulosityticum, R. leguminosarum and R. radiobacter; whereas R. tropici and R. rosettiformans did not produce IAA. Observed parameters included number of leaves, number of branches, plant height, stem diameter, number of root nodules, and dry weight of shoot, root, and total biomass. Data were analyzed using ANOVA and followed by DMRT at a 5% significance level. All species had a significant effect on red calliandra germination, with R. cellulosityticum (InaCC B42) being the most effective (germination index 51.2; 92% germination rate on day 21). Inoculation with this species combined with 25% NPK fertilizer yielded results comparable to full fertilization, indicating its potential to reduce inorganic fertilizer use by up to 75% in the development of sustainable energy plantations.

Keywords: biomass, Calliandra calothyrsus, nitrogen fixation, Rhizobium

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Transliterasi huruf arab latin yang digunakan dalam penyusunan skripsi ini mengikuti pedoman SKB (Sesuai Keputusan Bersama) Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. Nomor: 158 tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987 sebagai berikut:

أ	A	ط	T
ب	B	ظ	Z
ت	T	ع	'
ث	S	غ	G
ج	J	ف	F
ح	H	ق	Q
خ	KH	ك	K
د	D	ل	L
ذ	Z	م	M
ر	R	ن	N
ز	Z	و	W
س	S	ه	H
ش	SY	ء	'
ص	S	ي	Y
ض	D		

Keterangan penulisan kata sandang (Al-) dalam teks ditulis menyesuaikan rujukan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pemanfaatan Bakteri *Rhizobium* dalam Meningkatkan Pertumbuhan Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) untuk Optimalisasi Produksi Kebun Energi Berkelanjutan”**. Skripsi ini merupakan bentuk tanggung jawab penulis sebagai mahasiswa biologi untuk berkontribusi kepada masyarakat dan lingkungan dengan ilmu yang diperoleh selama perkuliahan serta sebagai salah satu persyaratan untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Biologi, Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan skripsi ini tidak akan berhasil tanpa doa, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak yang telah tulus memberikan waktu, tenaga, dan semangat selama proses penyusunan. Penulis menyampaikan banyak terima kasih sebagai bentuk penghargaan atas dukungan dan partisipasi yang telah diberikan selama penyusunan skripsi ini kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Nizar, M.Ag. Selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;

2. Bapak Prof. Dr. H. Musahadi, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
3. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M. Biotech. selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Walisongo Semarang;
4. Ibu Kusrinah, M.Si. selaku Pembimbing Skripsi I atas kesabaran, waktu, tenaga, serta bimbingan dan saran konstruktif yang telah diberikan selama proses penyusunan skripsi ini;
5. Bapak Idris, M.Si. selaku Pembimbing Skripsi II yang selalu siap sedia memberikan arahan, ilmu, dan motivasi kepada penulis. Penulis juga mengucapkan terima kasih atas kesempatan yang telah diberikan untuk mengangkat topik penelitian yang relevan dan bernilai ilmiah, serta atas dukungannya dalam pelaksanaan penelitian di BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional);
6. Bapak Andang Syaifudin, M.Sc. dan Ibu Niken Kusumarini, M.Si. selaku Dosen Penguji, yang telah meluangkan waktu, memberikan masukan yang membangun, serta membimbing saya dalam proses ujian skripsi. Saran dan koreksi yang Bapak dan Ibu berikan sangat berarti dalam menyempurnakan skripsi ini dan menjadi bekal berharga bagi pengembangan ilmu pengetahuan serta diri saya di masa yang akan datang;

7. Seluruh jajaran civitas akademik Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang, khususnya Bapak dan Ibu dosen Program Studi Biologi yang telah membekali penulis dengan ilmu dan bimbingan yang sangat berharga dan bermanfaat selama masa perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini;
8. Peneliti dan pengelola Laboratorium Bakteriologi Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong khususnya kepada Pak Arwan dan Pak Mul yang telah memberikan bimbingan selama penulis melaksanakan penelitian;
9. Tiada kata yang cukup untuk menggambarkan rasa terima kasih penulis kepada kedua orang tua tercinta yakni Bapak Kumedi dan Ibu Anik Prasetyoningsih yang dengan segala pengorbanan, kerja keras, dan kasih sayang tulusnya selalu mendukung dalam setiap langkah penulis. Meskipun mereka tidak berkesempatan menempuh pendidikan hingga jenjang perkuliahan, mereka tidak pernah berhenti berjuang agar penulis dapat menempuh pendidikan setinggi-tingginya. Doa yang tak pernah putus, semangat yang selalu ditularkan, dan dukungan tanpa syarat dari mereka menjadi sumber kekuatan utama dalam perjalanan penulis hingga mampu menuntaskan skripsi ini dan meraih gelar Sarjana Sains. Terima kasih karena telah menjadi alasan penulis mampu berdiri sampai di titik ini. Karya tulis

sederhana ini penulis persembahkan sebagai wujud cinta dan penghargaan untuk kalian;

10. Kepada adik tersayang, Ilham Fadhillah Azhar, yang menjadi alasan bagi penulis untuk terus belajar menjadi kakak yang lebih baik, yaitu sosok yang layak menjadi panutan dan teladan;
11. Penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada keluarga besar Mbah Muhdi dan Sungkowo atas segala doa, dukungan, dan semangat yang senantiasa mengiringi selama proses penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih secara khusus juga penulis tujukan kepada Peni Nur Salekha, sosok saudara yang memiliki peran besar dalam perjalanan akademik penulis;
12. Kepada seseorang yang tak kalah penting kehadirannya, Ardhana Berlin Irfana, yang telah menjadi tempat berbagi keluh kesah serta sahabat yang setia mendampingi di setiap proses perjalanan ini. Terima kasih sudah menjadi tempat berbagi penulis;
13. Sahabat seperjuangan penulis yang juga sangat banyak membantu selama ini, Nur Faiqoh, terima kasih atas dedikasinya sudah membersamai penulis hingga detik ini;
14. Mutiara Pramuditha Putri, Sofi Suhaimah, Herlin Nur Aulia, Yevi Widia Kurniati, Sifa Fauziah, Siti Sarah, Imel Ananda Putri, Salsabila Ade Viola dan Carolina Aprilia sebagai

sahabat yang setia menemani penulis, baik dalam suka maupun duka, selalu menyalurkan dukungan, motivasi, dan doa di setiap langkah, sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan lancar;

15. Teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2021 khususnya Lidya, Athiva dan Agista yang telah kebersamai selama masa perkuliahan, asistensi praktikum serta menjadi tempat bagi penulis untuk berbagi ilmu;
16. Kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi, baik secara langsung maupun tidak langsung, dalam mendukung kelancaran proses penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, namun besar harapan bahwa tulisan ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi positif bagi penulis maupun pembaca dalam memperkaya wawasan ilmu pengetahuan.

Semarang, 7 Juli 2025

Penulis



Novita Ika Fitriyani

NIM. 2108016093

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
NOTA DINAS.....	iv
NOTA DINAS.....	v
MOTTO HIDUP	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
TRANSLITERASI ARAB-LATIN.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR GAMBAR	xx
DAFTAR LAMPIRAN	xxii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II LANDASAN PUSTAKA	10
A. Tinjauan Pustaka	10
1. Bakteri <i>Rhizobium</i>	10
2. Unsur Hara Tanaman	16

3. Peran <i>Rhizobium</i> dalam Fiksasi N.....	20
4. Pertumbuhan Tanaman	24
5. Kaliandra Merah (<i>Calliandra calothyrsus</i> Meisn.)	32
6. Biomassa.....	42
B. Kajian Penelitian yang Relevan	44
C. Kerangka Berpikir	54
D. Hipotesis.....	55
BAB III METODE PENELITIAN	56
A. Jenis Penelitian	56
B. Rancangan Penelitian.....	56
C. Tempat dan Waktu Penelitian	59
D. Definisi Operasional	60
1. Inokulasi <i>Rhizobium</i>	60
2. Pertumbuhan Tanaman Kaliandra Merah	61
3. Kemampuan Bersimbiosis.....	61
4. Efisiensi Penggunaan Pupuk Anorganik.....	61
5. Produksi Biomassa Kaliandra Merah	62
6. Kebun Energi Berkelanjutan.....	62
E. Variabel Penelitian	62
1. Variabel Bebas	63
2. Variabel Terikat.....	64
3. Variabel Terkontrol.....	65
F. Alat dan Bahan.....	66
1. Alat	66
2. Bahan.....	67

G. Metode.....	68
1. Persiapan Media Tanam.....	68
2. Preparasi Media Pertumbuhan Bakteri <i>Rhizobium</i>	69
3. Karakterisasi Enam Spesies Bakteri <i>Rhizobium</i>	76
4. Persiapan Inokulasi <i>Rhizobium</i>	80
5. Sterilisasi Permukaan Benih Kaliandra Merah.....	85
6. Aplikasi Inokulan pada Tanaman Kaliandra Merah	88
7. Pemeliharaan Tanaman	92
8. Pengamatan	93
H. Analisis Data	97
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	99
A. Karakterisasi Bakteri <i>Rhizobium</i>	99
1. Kemampuan Penambatan Nitrogen (N).....	99
2. Aktivitas Pelarutan Fosfat (P)	102
3. Produksi <i>Indole Acetid Acid</i> (IAA).....	107
B. Seleksi Bakteri <i>Rhizobium</i> Potensial.....	111
C. Efektivitas Bakteri <i>Rhizobium</i> Potensial terhadap Pertumbuhan dan Produksi Biomassa Tanaman Kaliandra Merah.....	128
1. Pertumbuhan Tanaman	129
2. Biomassa Tanaman	142
3. Bintil Akar.....	152
BAB V PENUTUP.....	157
A. Kesimpulan.....	157
B. Saran	158

DAFTAR PUSTAKA	160
LAMPIRAN.....	184
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	208

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Simbiosis Spesifik antara Spesies Bakteri <i>Rhizobium</i> dan Tanaman Leguminosae sebagai Inangnya.	12
Tabel 2. 2 Kajian Penelitian yang Relevan.....	44
Tabel 4. 1 Kemampuan Penambatan Nitrogen Keenam Spesies Bakteri <i>Rhizobium</i> dalam Media Burk's Agar.....	99
Tabel 4. 2 Aktivitas Pelarutan Fosfat Keenam Bakteri <i>Rhizobium</i> dalam Media Pikovskaya	103
Tabel 4. 3 Hasil Pengukuran Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman Kaliandra Merah pada Minggu ke-10.....	130
Tabel 4. 4 Hasil Pengukuran Diameter Batang Akhir pada Tanaman Kaliandra Merah.....	139
Tabel 4. 5 Berat Kering pada Tanaman Kaliandra Merah	142

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Koloni Bakteri <i>Rhizobium</i> dalam Media YEMA + Congo Red.....	10
Gambar 2. 2 Pembentukan Nodul pada Akar sebagai Hasil Interaksi Simbiosis antara Bakteri <i>Rhizobium</i> dan Rambut Akar Tanaman: (a) <i>Rhizobium</i> mengenali rambut akar dan menginduksi pembelahan sel, (b) bakteri memasuki akar melalui benang infeksi hingga mencapai sel korteks, (c) nodul terbentuk melalui pembelahan sel akar yang menghasilkan struktur khusus tempat berlangsungnya fiksasi nitrogen.	21
Gambar 2. 3 Morfologi Tanaman <i>Calliandra calothyrsus</i> Meisn.	32
Gambar 2. 4 Pelet Kaliandra Merah.....	41
Gambar 3. 1 Denah Rancangan Penelitian.....	59
Gambar 4. 1 Analisis Kualitatif Produksi IAA oleh Keenam Spesies Bakteri <i>Rhizobium</i> menggunakan Reagen Salkowski.....	108
Gambar 4. 2 Analisis Kuantitatif Produksi IAA oleh Bakteri <i>Rhizobium</i>	109
Gambar 4. 3 Indeks Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah 21 Hari Setelah Tanam (HST).....	112
Gambar 4. 4 Persentase Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah 7 Hari Setelah Tanam (HST).....	115

Gambar 4. 5. Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah Hari ke-7	117
Gambar 4. 6 Persentase Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah 14 Hari Setelah Tanam (HST)	118
Gambar 4. 7 Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah Hari ke-14.....	119
Gambar 4. 8 Persentase Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah 21 Hari Setelah Tanam (HST)	120
Gambar 4. 9 Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah Hari ke-21.....	122
Gambar 4. 10 Pertumbuhan Tanaman Kaliandra Merah pada Akhir Periode Pengamatan (Minggu ke-10) dari Masing-Masing Perlakuan.....	129
Gambar 4. 11 Pertumbuhan Akar Tanaman Kaliandra Merah pada Minggu ke-10 dari Masing-Masing Perlakuan (a. kontrol, b. I0, c. I25, d.I50, e. I75, f. N100	149
Gambar 4. 12 Bintil Akar (Nodul) pada Tanaman Kaliandra Merah	153
Gambar 4. 13 Jumlah Bintil Akar yang Terbentuk pada Tanaman Kaliandra Merah pada Minggu ke-10.....	154

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Peremajaan Bakteri Rhizobium pada Berbagai Media (a. YMA, b. YMA + CR, c. NA).....	184
Lampiran 2. Uji Aktivitas Bakteri Rhizobium Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kaliandra Merah.....	184
Lampiran 3. Uji Penambatan Nitrogen pada Media Burk's agar	185
Lampiran 4. Uji Pelarutan fosfat pada Media Pikovskaya Agar	185
Lampiran 5. Kurva Standar Indole Acetid Acid (IAA)	186
Lampiran 6. Komposisi Media Yeast Mannitol Agar (YMA). 186	
Lampiran 7. Komposisi Media Yeast Mannitol Broth (YMB) 187	
Lampiran 8. Komposisi Media Yeast Mannitol Agar w/ Congo Red	187
Lampiran 9. Komposisi Media Nutrient Agar (NA).....	188
Lampiran 10. Komposisi Media Nutrient Broth (NB)	188
Lampiran 11. Komposisi Media Burk's Agar.....	188
Lampiran 12. Komposisi Media Pikovskaya Agar	189
Lampiran 13. Komposisi Media Trypticase Soy Broth (TSB)	189
Lampiran 14. Indeks Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah (21 HST).....	189
Lampiran 15. Rata-Rata Presentase Perkecambahan Ulangan 1 dan 2 Tanaman Kaliandra Merah.....	190

Lampiran 16. Hasil Pengamatan Minggu Ke 10 terhadap Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman Kaliandra Merah	191
Lampiran 17. Hasil Pengamatan Diameter Akhir Batang Tanaman Kaliandra Merah 7 Ulangan	192
Lampiran 18. Hasil Penimbangan Berat Kering Akar, Tajuk dan Total Tanaman Kaliandra Merah.....	193
Lampiran 19. Rata-Rata Jumlah Bintil Akar Pada Tanaman Kaliandra Merah pada Minggu Ke-10	194
Lampiran 20. Hasil Uji Normalitas Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman antarperlakuan.....	195
Lampiran 21. Hasil Uji ANOVA Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman antarperlakuan.....	196
Lampiran 22. Hasil Uji Duncan Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman antarperlakuan.....	197
Lampiran 23. Hasil Uji Normalitas Diameter Tanaman antarperlakuan.....	198
Lampiran 24. Hasil Uji ANOVA Diameter Batang Tanaman antarperlakuan.....	199
Lampiran 25. Hasil Uji Duncan Diameter Batang antarperlakuan.....	199
Lampiran 26. Hasil Uji Normalitas Berat Kering Akar, Berat Kering Tajuk dan Berat Kering Total Tanaman antarperlakuan	200

Lampiran 27. Hasil Uji ANOVA Berat Kering Akar, Berat Kering Tajuk dan Berat Kering Total Tanaman antarperlakuan	201
Lampiran 28. Hasil Uji Duncan Berat Kering Akar, Berat Kering Tajuk dan Berat Kering Total Tanaman antarperlakuan	202
Lampiran 29. Dokumentasi Penelitian	203

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Peningkatan kebutuhan energi yang terus berkembang seiring bertambahnya jumlah penduduk dan aktivitas industri telah mendorong dilakukannya pencarian solusi energi terbarukan yang lebih efisien dan ramah lingkungan secara berkelanjutan (Pramudiyanto, 2020). Meskipun berbagai upaya telah dilakukan, komposisi energi primer di Indonesia hingga kini masih didominasi oleh sumber energi berbasis fosil. Kajian oleh Hersaputri *et al.* (2024) menunjukkan bahwa pada tahun 2021, sekitar 38% energi primer berasal dari batu bara, 33% dari minyak bumi, dan 17% dari gas alam, sementara energi terbarukan hanya menyumbang 12% dari total konsumsi energi nasional.

Ketergantungan yang tinggi terhadap energi fosil menjadi permasalahan serius karena ketersediaannya yang terbatas serta dampak negatifnya terhadap lingkungan. Oleh karena itu, pengembangan sumber energi terbarukan menjadi langkah strategis untuk mewujudkan sistem energi yang berkelanjutan, salah satunya melalui pemanfaatan biomassa yang dapat dihasilkan dari berbagai tanaman energi. Kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) merupakan salah satu tanaman yang menjanjikan sebagai

sumber biomassa, karena memiliki tingkat produktivitas yang tinggi serta mampu beradaptasi dengan beragam kondisi lingkungan (Edi, 2024).

Kaliandra merah telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku *wood pellet*, yang merupakan salah satu bentuk biomassa yang dapat digunakan sebagai energi alternatif (Siregar, 2020). Tanaman ini dikenal memiliki laju pertumbuhan yang cepat, memiliki kayu dengan nilai kalor yang tinggi, serta mampu beradaptasi dengan berbagai jenis habitat (Syamsuwida, 2014). Hidayatullah *et al.* (2022) menemukan bahwa pelet dari limbah ranting kaliandra dengan ukuran partikel 60–80 mesh memiliki nilai kalor sebesar 4617,20 kal/g.

Keterbatasan nutrisi tanah, terutama rendahnya penyerapan nitrogen, menjadi salah satu faktor utama yang menghambat produktivitas tanaman kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.), terutama di lahan marginal (Wambugu, 2001). Penggunaan pupuk anorganik sering kali menjadi solusi cepat untuk mengatasi masalah tersebut, meski efektif dalam jangka pendek, penggunaan pupuk anorganik yang berlebihan dan berkelanjutan dapat menyebabkan kerusakan lingkungan, seperti ketidakseimbangan kandungan hara di dalam tanah, degradasi struktur tanah yang dapat mengganggu

produktivitas lahan, serta terganggunya aktivitas mikroorganisme tanah yang penting dalam proses daur hara (Murnita, 2021). Meskipun sulit dihindari sepenuhnya, penggunaan pupuk kimia secara intensif dapat mempercepat degradasi tanah. Oleh karena itu, kombinasi antara pupuk anorganik dan pupuk hayati menjadi pendekatan yang lebih efektif dan berkelanjutan dalam menjaga kesuburan tanah serta mendukung produktivitas perkebunan secara optimal.

Peningkatan produktivitas tanaman kaliandra merah dapat diupayakan melalui penggunaan mikroorganisme tanah, seperti bakteri *Rhizobium* yang memiliki kemampuan untuk dapat bersimbiosis dengan tanaman leguminosae melalui proses fiksasi nitrogen biologis. Penelitian Pattipeilohy dan Sopacua (2014) menunjukkan bahwa tanaman kacang kedelai yang diinokulasi dengan bakteri *Rhizobium* mampu meningkatkan jumlah daun, tinggi tanaman, dan jumlah bintil akar secara signifikan. Setiap spesies leguminosae memiliki keragaman genetik yang memengaruhi kemampuannya dalam menjalin hubungan simbiosis dengan jenis bakteri *Rhizobium* tertentu. Efektivitas inokulasi sangat bergantung pada kecocokan antara spesies *Rhizobium* dan tanaman inangnya, karena

tidak semua spesies cocok untuk semua tanaman (Purwaningsih, 2015).

Penelitian oleh Hendrati dan Nurrohmah (2016) membuktikan bahwa penggunaan *Rhizobium* dan mikoriza meningkatkan pertumbuhan kaliandra merah. Kombinasi keduanya secara signifikan meningkatkan jumlah nodul akar, jumlah daun, tinggi tanaman, dan diameter batang. Namun, penelitian tersebut belum secara spesifik mengkaji spesies *Rhizobium* yang paling efektif untuk mengoptimalkan pertumbuhan tanaman kaliandra merah, di sisi lain, interaksi antara bakteri *Rhizobium* dan tanaman leguminosae sangat dipengaruhi oleh karakteristik spesifik tanaman inangnya. Penggunaan spesies *Rhizobiuim* yang sesuai akan membentuk bintil akar yang lebih efektif untuk fiksasi nitrogen (Sari, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efektivitas bakteri *Rhizobium* dalam meningkatkan pertumbuhan serta produksi biomassa tanaman kaliandra merah melalui mekanisme fiksasi nitrogen. Temuan ini diharapkan memberikan kontribusi terhadap pemanfaatan pupuk hayati sebagai solusi alternatif yang lebih ramah lingkungan, sekaligus memperkuat upaya menuju pengelolaan kebun energi secara berkelanjutan.

Penelitian ini diharapkan juga mampu memberikan solusi nyata untuk meningkatkan produktivitas tanaman energi khususnya kaliandra merah secara berkelanjutan melalui pemanfaatan bakteri *Rhizobium*. Hasil penelitian ini diharapkan mampu mendukung upaya dalam pengembangan teknologi pertanian yang ramah lingkungan dan memperkaya literatur tentang peran mikroorganisme tanah dalam meningkatkan produktivitas tanaman energi. Hasilnya diharapkan dapat memberikan rekomendasi praktis bagi petani dan pengelola kebun energi dalam mengoptimalkan produksi tanaman secara berkelanjutan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diulas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik fisiologis keenam spesies bakteri *Rhizobium* berdasarkan kemampuan menambat nitrogen, melarutkan fosfat, dan memproduksi hormon IAA sebagai indikator potensial dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman kaliandra merah?
2. Apakah inokulasi dari keenam spesies bakteri *Rhizobium* berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman kaliandra merah?

3. Spesies bakteri *Rhizobium* manakah yang memiliki kemampuan bersimbiosis paling tinggi dengan tanaman kaliandra merah?
4. Apakah penggunaan inokulasi *Rhizobium* dapat mengurangi kebutuhan penggunaan pupuk anorganik pada pertumbuhan tanaman kaliandra merah?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menganalisis kemampuan fisiologis enam spesies *Rhizobium* dalam aktivitas penambatan nitrogen, pelarutan fosfat, dan produksi hormon IAA dalam kaitannya dengan dukungan terhadap pertumbuhan tanaman kaliandra merah.
2. Menganalisis pengaruh inokulasi keenam spesies bakteri *Rhizobium* terhadap pertumbuhan tanaman kaliandra merah.
3. Menentukan spesies bakteri *Rhizobium* yang memiliki kemampuan bersimbiosis paling tinggi dengan tanaman kaliandra merah.
4. Mengevaluasi efektivitas penggunaan inokulasi *Rhizobium* dalam mengurangi kebutuhan penggunaan pupuk anorganik pada pertumbuhan tanaman kaliandra merah.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan memiliki beberapa manfaat untuk beberapa pihak:

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini berkontribusi pada pengembangan ilmu mikrobiologi, fisiologi tumbuhan, dan ekologi, khususnya dalam pemanfaatan bakteri *Rhizobium* untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman kaliandra merah. Hasilnya dapat menjadi rujukan dalam penelitian dan pengembangan praktik perkebunan berkelanjutan, serta diaplikasikan pada tanaman energi lain untuk mendukung energi terbarukan.

2. Manfaat Praktis

a. Bagi Penulis

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah ilmu pengetahuan serta wawasan terkait aplikasi *Rhizobium* dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, menjadi kesempatan untuk secara langsung dapat mengaplikasikan ilmu yang telah dipelajari di perkuliahan dalam bidang riset mikrobiologi, fisiologi tumbuhan dan ekologi, serta meningkatkan keterampilan laboratorium.

b. Bagi Masyarakat

Penelitian ini memberikan solusi yang ramah lingkungan dengan memanfaatkan bakteri *Rhizobium* diharapkan dapat meningkatkan produktivitas pada tanaman kaliandra merah tanpa bergantung pada penggunaan pupuk anorganik secara berlebihan, sekaligus mengurangi biaya produksi dan menjaga kesuburan tanah dalam jangka panjang yang mendukung perkebunan berkelanjutan.

c. Bagi Universitas dan Program Studi Biologi

Sebagai upaya kontribusi untuk merealisasikan visi misi Universitas Islam Negeri Walisongo sebagai universitas islam riset terdepan serta mendukung visi misi program studi biologi dalam pelaksanaan riset dalam bidang biologi yang berlandaskan kesatuan ilmu pengetahuan untuk kelestarian lingkungan dan peradaban.

d. Bagi Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

Memberikan manfaat strategis bagi BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional) dalam memperkaya basis data mikroorganisme yang berpotensi mendukung perkebunan berkelanjutan, khususnya melalui pemanfaatan bakteri *Rhizobium* dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman leguminosae seperti kaliandra merah. Hasil

penelitian ini dapat menjadi dasar ilmiah bagi pengembangan bioinokulan unggul yang ramah lingkungan sebagai alternatif pengganti pupuk kimia, sekaligus mendukung program nasional dalam konservasi lahan marginal dan ketahanan energi berbasis biomassa. Selain itu, temuan ini turut memperkuat peran BRIN sebagai pusat inovasi hayati dan teknologi tepat guna untuk pengembangan perkebunan berkelanjutan di Indonesia.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Bakteri *Rhizobium*

Rhizobium adalah genus bakteri yang memiliki peran penting dalam proses fiksasi nitrogen secara biologis dan memiliki kemampuan untuk dapat bersimbiosis dengan tanaman legum. Menurut database *Integrated Taxonomic Information System* (2024) bakteri *Rhizobium* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Alphaproteobacteria
Ordo : Rhizobiales
Famili : Rhizobiaceae
Genus : *Rhizobium* (Frank, 1889)



Gambar 2. 1 Koloni Bakteri *Rhizobium* dalam Media YEMA + Congo Red.

Bakteri *Rhizobium* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang (*bacillus*) dan memiliki ukuran sel berkisar antara 0,5 hingga 1,0 μm . Koloni *Rhizobium* umumnya berbentuk bulat, cembung, dan memiliki tepi yang rata (Pamungkas, 2018). *Rhizobium* adalah genus bakteri yang terdiri dari berbagai spesies yang dapat dibedakan berdasarkan morfologi koloni, laju pertumbuhan, dan kemampuan fiksasi nitrogen yang masing-masing memiliki kemampuan bersimbiosis dengan tanaman leguminosae tertentu.

Spesies *Rhizobium* yang digunakan untuk pupuk hayati berbeda-beda bergantung dengan jenis tanamannya. Hal ini disebabkan oleh hubungan simbiosis yang spesifik antara bakteri *Rhizobium* dengan tanaman inangnya. Hasil simbiosis yang baik berperan penting dalam peningkatan fiksasi nitrogen secara alami dan mendukung pertumbuhan tanaman secara optimal (Purwaningsih, 2015).

Tabel 2.1 Simbiosis Spesifik antara Spesies Bakteri *Rhizobium* dan Tanaman Leguminosae sebagai Inangnya.

No.	Kelompok Tanaman	Spesies <i>Rhizobium</i>	Spesies Tanaman Inang
1.	Alfafa	<i>Rhizobium meliloti</i>	Alfalfa (<i>Medicago</i>), Sweet clover (<i>Melilotus</i>)
2.	Semanggi	<i>Rhizobium trifolii</i>	Semanggi (<i>Trifolium</i> <i>sp.</i>)
3.	Polong- polongan	<i>Rhizobium leguminosarium</i>	Kacang kapri (<i>Pisum sativum</i>), <i>Lathyrus</i> , kacang babi (<i>Vicia faba</i>), kacang merah (<i>Lens culinaris</i>)
4.	Lupin	<i>Rhizobium Lupine</i>	Lupin (<i>Lupinus</i>)
5.	Kedelai	<i>Rhizobium japonicum</i>	Kedelai (<i>Glycine</i>)
6.	Kacang	<i>Rhizobium phaseoli</i>	Kacang koro (<i>Phaseolus</i>)
7.	Kacang tunggak	<i>Rhizobium sp.</i>	Kacang tunggak, kacang panjang, Johar (<i>Cassia</i>), kacang tanah (<i>Arachis</i>), akasia (<i>Acasia</i>),

Tabel 2.1 Lanjutan Simbiosis Spesifik antara Spesies Bakteri *Rhizobium* dan Tanaman Leguminosae sebagai Inangnya.

No.	Kelompok Tanaman	Spesies <i>Rhizobium</i>	Spesies Tanaman Inang
			<i>Desmodium</i> , koro pedang (<i>Canavalia</i>), kacang bali (<i>Cajanus</i>), <i>Cyamopsis</i> .

(Lawn, 1975; Adnyana, 2012)

Kajian mengenai berbagai spesies bakteri *Rhizobium* sangat penting untuk memahami peran mereka dalam mendukung keberlanjutan ekosistem pertanian hingga perkebunan. Setiap spesies memiliki karakteristik unik yang mempengaruhi kemampuan simbiosisnya dengan tanaman leguminosae. Sebagai contoh, *Rhizobium leguminosarum* sangat efektif dalam bersimbiosis dengan tanaman kacang-kacangan seperti *Phaseolus vulgaris* dan *Pisum sativum* (Young, 2021; Koskey, 2018). Secara mikroskopis, bakteri *Rhizobium leguminosarum* merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat aerob, dan tergolong ke dalam kelompok bakteri Gram negatif. Bersifat motil pada media cair, suhu ideal

untuk pertumbuhannya berada dalam rentang 25 hingga 30°C dengan tingkat keasaman (pH) antara 6 sampai 7. Bakteri ini termasuk dalam kelompok kemoorganotrof, karena memanfaatkan berbagai jenis karbohidrat serta garam dari asam organik sebagai sumber karbon utamanya (Vincent, 1981).

Selain *Rhizobium leguminosarum*, spesies lain yang juga telah dipelajari adalah *Rhizobium rosettiformans*. *Rhizobium rosettiformans* merupakan bakteri Gram negatif, bersifat aerobik, motil, berbentuk batang, koloninya berwarna krem melingkar dengan tepi utuh dan berdiameter 0,5-1,2 mm pada media LB. Kondisi optimumnya adalah pada suhu 28°C dengan pH 7 (Kaur, 2011).

Adapun spesies *Rhizobium radiobacter* (sebelumnya dikenal sebagai *Agrobacterium radiobacter*), yaitu bakteri tanah berbentuk batang, Gram negatif, motil, dari famili Rhizobiaceae, yang memiliki panjang sekitar 1,5-3 µm dan diameter 0,4-0,8 µm serta memiliki 2-4 flagela peritrik, sering ditemukan secara individu atau dalam rantai pendek, tumbuh pada suhu optimum 25-28°C dan tidak membentuk spora (Tekiner Aydin, 2022). Ciri khas *Rhizobium radiobacter* dengan bakteri lainnya adalah bakteri ini merupakan

bakteri patogen tanaman yang memiliki plasmid Ti melingkar (*Tumor Inducing Plasmid*) yang terdapat pada semua tipe virulen, dikenal sebagai struktur ekstrakromosomal, dan dapat mentransfer segmen DNA onkogenik ke dalam sel tanaman yang rentan sehingga menginduksi pembentukan tumor (Roy, 2015).

Dalam kondisi iklim tropis dan subtropis, terdapat spesies *Rhizobium tropici*, yaitu bakteri Gram negatif yang menginduksi bintil akar dan melakukan fiksasi nitrogen dari atmosfer melalui hubungan simbiosis dengan *Phaseolus vulgaris* (kacang-kacangan) dan beberapa spesies leguminosae lainnya. Bakteri ini memiliki pH optimal untuk pertumbuhannya yaitu berkisar antara 5 dan 7, dan dicirikan oleh stabilitas genetik yang tinggi dari plasmid simbiotik dan toleransi terhadap tekanan lingkungan tropis seperti suhu tinggi dan pH tanah yang rendah (Martinez, 1991).

Spesies bakteri *Rhizobium* lain yang juga telah diidentifikasi adalah *Rhizobium caliandrae*, bakteri ini memiliki morfologi sel berbentuk batang, tergolong bakteri Gram negatif, bersifat aerobik, mampu bergerak (motil), serta tidak menghasilkan spora, dengan ukuran sel berkisar antara 1,58 sampai 60,50 μm . Pada media *yeast peptone* (YP) koloninya berbentuk melingkar,

cembung, berwarna putih kekuningan, semi-transparan, berkilau, bertepi halus, dan tampak opalesen, dengan diameter mencapai 2,5 mm setelah 3 hari inkubasi pada suhu 28°C. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri ini berada pada kisaran 28 hingga 30°C. Tidak ditemukan pertumbuhan pada suhu 37°C atau lebih tinggi. Selain itu, bakteri masih dapat tumbuh pada pH 4,5 hingga 5, tetapi tidak mampu bertahan pada pH 4 (Rincon-Rosales, 2013).

Hal ini berbeda dengan spesies *Rhizobium cellulosilyticum* yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa, serta memiliki peran dalam pembentukan nodul pada tanaman leguminosae. Penelitian Diez-Mendez *et al.* (2015) mendapati ko-inokulasi antara bakteri *Rhizobium cellulosilyticum* (penghasil selulosa/enzim selulase dan IAA) bersama dengan *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli (bakteri penambat nitrogen dan pembentuk bintil akar pada kacang) dapat meningkatkan hasil biji dari tanaman *Phaseolus vulgaris* (kacang merah) pada kondisi rumah kaca.

2. Unsur Hara Tanaman

Unsur hara adalah komponen esensial yang diperlukan tanaman guna menunjang proses

pertumbuhan dan perkembangannya. Menurut jumlah kebutuhannya bagi tanaman, unsur hara diklasifikasikan ke dalam dua kelompok utama, yaitu unsur hara makro dan unsur hara mikro (Tando, 2019). Unsur hara makro dibutuhkan oleh tanaman dalam jumlah besar, karena berperan vital dalam berbagai proses fisiologis dan pertumbuhan tanaman. Unsur-unsur yang termasuk dalam unsur hara makro meliputi unsur karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O), nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), belerang (S), dan magnesium (Mg). Sementara itu, unsur hara mikro pada tanaman dibutuhkan dalam jumlah sedikit tetapi tetap esensial untuk kelangsungan hidup tanaman. Unsur-unsur mikro yang berperan penting antara lain besi (Fe), tembaga (Cu), seng (Zn), mangan (Mn), nikel (Ni), boron (B), molibdenum (Mo), dan klor (Cl) (Silva, 2000). Walaupun kebutuhannya tidak sebanyak unsur makro, kekurangan salah satu unsur mikro tersebut tidak dapat digantikan oleh unsur lainnya karena masing-masing memiliki fungsi spesifik yang tidak tergantikan (Rika, 2022).

Beberapa unsur hara seperti nitrogen (N), fosfor (P), belerang (S), seng (Zn), dan besi (Fe) memiliki fungsi yang sangat krusial dalam mendukung pertumbuhan, perkembangan, serta produktivitas tanaman secara

optimal. Kekurangan salah satu dari unsur-unsur tersebut dapat mengakibatkan gangguan pada pertumbuhan tanaman dan penurunan produktivitasnya (Kumar *et al.*, 2021).

Nitrogen (N) dan fosfor (P) termasuk dalam kelompok unsur hara makro yang bersifat esensial, karena memiliki peran krusial dalam menunjang proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Nitrogen adalah komponen utama dari molekul esensial seperti asam amino, protein, klorofil, dan asam nukleat (DNA dan RNA) (Rahmawati, 2018). Sebagai elemen vital dalam proses fotosintesis, nitrogen mendukung pembentukan klorofil yang berperan dalam penangkapan energi cahaya untuk produksi makanan melalui siklus Calvin. Selain itu, nitrogen diperlukan untuk pertumbuhan vegetatif, pembentukan enzim, dan produksi hormon pertumbuhan (Oviyanti, 2016).

Bentuk utama nitrogen yang tersedia dan dapat diserap oleh tanaman dari tanah adalah ion nitrat (NO_3^-) serta ion amonium (NH_4^+) (Koryati, 2022). Ion-ion ini tersedia melalui proses mineralisasi bahan organik atau melalui aplikasi pupuk nitrogen. Nitrogen berperan penting dalam sintesis protein dan merupakan komponen utama dalam struktur molekul klorofil.

Ketersediaan nitrogen (N) dalam jumlah yang memadai akan mendorong pertumbuhan vegetatif yang kuat serta menghasilkan warna daun yang hijau segar pada tanaman (Gumelar, 2019). Kekurangan nitrogen pada tanaman akan menyebabkan gejala berupa perubahan warna daun menjadi kekuningan, pertumbuhan yang terhambat, ukuran hasil yang kecil, serta kandungan protein yang rendah (Rahmawati, 2018).

Fosfor (P) merupakan unsur yang berperan kunci dalam metabolisme energi karena terlibat dalam pembentukan adenosin trifosfat (ATP), yang merupakan molekul penyimpan energi utama dalam proses metabolisme (Rosalina, 2021). Fosfor juga menjadi komponen fosfolipid yang membentuk membran sel dan merupakan bagian integral dari molekul DNA dan RNA yang menyimpan informasi genetik. Unsur ini memiliki fungsi penting dalam berbagai proses fisiologis tanaman, seperti pembelahan sel, sintesis protein, pembentukan organ generatif seperti bunga, buah, dan biji, serta mempercepat proses pematangan. Selain itu, unsur ini juga berperan dalam memperkuat struktur batang, mendukung perkembangan akar, meningkatkan mutu hasil tanaman, memperkuat kemampuan tanaman dalam menghadapi serangan penyakit, mengatur

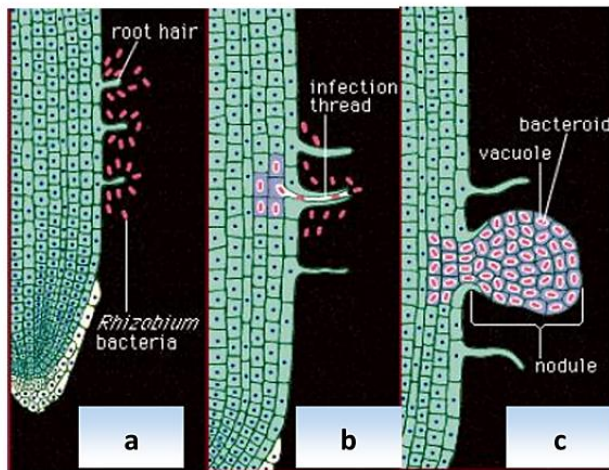
metabolisme karbohidrat, membentuk nukleoprotein, serta terlibat dalam penyimpanan dan transfer energi (Lulu, 2019).

Fosfor (P) termasuk makronutrien esensial yang memiliki peran krusial dalam regulasi sintesis protein serta menunjang berbagai proses perkembangan biologis pada tanaman. Selain fungsi-fungsi penting tersebut, fosfor juga terkait dengan transduksi sinyal kompleks, biosintesis makromolekul, transformasi energi, respirasi, dan fiksasi nitrogen pada tanaman legum (Pande, 2017). Kekurangan unsur fosfor (P) menyebabkan tanaman tampak pucat dan menurunkan hasil panen. Tanaman menyerap fosfor dari tanah dalam bentuk ion ortofosfat, yaitu HPO_4^{2-} dan H_2PO_4^- , akan tetapi ketersediaannya di tanah sering kali terbatas karena kecenderungannya untuk terikat dengan mineral tanah seperti aluminium, besi, atau kalsium pada kondisi pH tertentu (Fang *et al.*, 2024).

3. Peran *Rhizobium* dalam Fiksasi N

Bakteri *Rhizobium* adalah mikroorganisme tanah yang berperan penting dalam fiksasi nitrogen, yakni suatu proses biologis yang mengubah gas nitrogen atmosfer (N_2) menjadi amonia (NH_3), sehingga dapat digunakan oleh tanaman dalam proses metabolisme

(Tarigan, 2021). Proses fiksasi nitrogen oleh *Rhizobium* berlangsung melalui hubungan simbiosis dengan tanaman leguminosae. Dalam interaksi ini, bakteri menginfeksi jaringan akar dan membentuk bintil akar (*root nodules*) sebagai tempat terjadinya fiksasi nitrogen. Pada bintil tersebut, *Rhizobium* mengonversi nitrogen di atmosfer menjadi amonia melalui aktivitas enzim nitrogenase. Amonia yang dihasilkan digunakan oleh tanaman untuk mendukung pertumbuhan, terutama dalam pembentukan protein dan asam nukleat.



Gambar 2. 2 Pembentukan Nodul pada Akar sebagai Hasil Interaksi Simbiosis antara Bakteri *Rhizobium* dan Rambut Akar Tanaman: (a) *Rhizobium* mengenali rambut akar dan menginduksi pembelahan sel, (b) bakteri memasuki akar melalui benang infeksi hingga mencapai sel korteks, (c) nodul terbentuk melalui pembelahan sel akar yang menghasilkan struktur khusus tempat berlangsungnya fiksasi nitrogen.

Terdapat dua jenis nodul pada tanaman yang bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium*, yaitu nodul efektif dan nodul inefektif. Nodul efektif dihasilkan oleh strain *Rhizobium* yang mampu melakukan fiksasi nitrogen secara optimal. Nodul ini ditandai dengan warna merah muda, yang disebabkan oleh keberadaan pigmen leghaemoglobin dan jaringan bakteroid yang tumbuh dengan baik (Sari, 2015). Menurut Surtiningsih *et al.* (2009), terbentuknya nodul akar yang efektif berperan dalam meningkatkan penyerapan nitrogen, yang pada akhirnya mempengaruhi pembentukan klorofil, enzim, dan proses fotosintesis, sehingga mendukung pertumbuhan vegetatif dan generatif tanaman.

Peran *Rhizobium* dalam fiksasi nitrogen sangat signifikan dalam ekosistem, karena menyediakan nitrogen bagi tanaman dan dapat mengurangi penggunaan pupuk anorganik secara berlebihan yang dapat berisiko menimbulkan pencemaran terhadap lingkungan. Tanaman legum yang diinokulasi menggunakan bakteri *Rhizobium* dapat menghasilkan lebih banyak nitrogen dan meningkatkan hasil panen dibandingkan dengan tanaman legum tanpa adanya pemberian inokulan (Zahran, 1999).

Rhizobium dan tanaman leguminosae membentuk hubungan simbiotik yang bersifat mutualisme yang penting dalam meningkatkan efektivitas penyerapan nitrogen melalui pembentukan nodul atau bintil akar. Proses ini dimulai ketika tanaman leguminosae mengeluarkan senyawa flavonoid ke dalam tanah sebagai sinyal kimia yang merangsang aktivitas *Rhizobium*. Flavonoid ini akan menginduksi ekspresi gen *nod* pada bakteri, yang berperan dalam sintesis faktor nodulasi (*Nod factors*) (Sinharoy, 2024).

Faktor nodulasi kemudian dikenali oleh reseptor spesifik pada permukaan sel akar tanaman, yang memicu serangkaian respons biokimia, termasuk pembengkokan rambut akar (*root hair curling*) dan pembentukan infeksi. Proses infeksi umumnya diawali oleh terjadinya pengeritingan pada rambut akar, yang disebabkan oleh perubahan orientasi pertumbuhan rambut akar secara bertahap dan terus-menerus (Saputra, 2014). *Rhizobium* menginfeksi tanaman melalui rambut akar yang mengalami pelengkungan, lalu membentuk struktur berupa benang infeksi yang berfungsi mengarahkan bakteri ke jaringan korteks akar.

Di dalam korteks, tanaman membentuk struktur organ khusus yang disebut nodul, yang merupakan

tempat utama berlangsungnya fiksasi nitrogen. Proses ini dikendalikan oleh komunikasi molekuler antara tanaman dan bakteri, termasuk regulasi ekspresi gen yang terlibat dalam diferensiasi sel bakteri menjadi bentuk *bacteroid*. *Bacteroid* berfungsi mengikat nitrogen atmosfer menjadi amonia melalui enzim nitrogenase, yang kemudian diserap oleh tanaman untuk mendukung pertumbuhan dan metabolisme (Adnyana, 2012).

Tanaman leguminosae, seperti kedelai, kacang tanah, dan kaliandra merah, menyediakan karbohidrat sebagai sumber energi bagi bakteri *Rhizobium*. Sebagai timbal balik, bakteri *Rhizobium* menyuplai nitrogen yang difiksasi dalam bentuk amonia kepada tanaman. Penelitian oleh Purwaningsih (2015) menunjukkan bahwa simbiosis antara bakteri *Rhizobium* dan akar tanaman legum meningkatkan fiksasi nitrogen dan hasil panen tanaman leguminosae.

4. Pertumbuhan Tanaman

Proses pertumbuhan tanaman mencerminkan serangkaian perubahan biologis yang melibatkan modifikasi dan peningkatan dimensi, bentuk, dan aktivitas fungsional organ tanaman. Faktor yang memengaruhi pertumbuhan ini dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu internal dan

eksternal (Rika, 2022). Faktor internal mencakup unsur-unsur genetik yang berasal dari dalam tanaman itu sendiri, yang berperan dalam mengatur potensi dasar dan karakteristik pertumbuhan. Sementara itu, faktor eksternal mencakup berbagai kondisi lingkungan yang dapat memengaruhi laju dan pola pertumbuhan tanaman. Faktor eksternal ini mencakup cahaya, pH tanah, suhu lingkungan, kualitas dan jumlah udara, serta ketersediaan air dan nutrisi yang esensial bagi tanaman. Semua faktor eksternal ini bekerja secara sinergis dan berperan penting dalam mendukung perkembangan tanaman ke arah yang optimal dan apabila jumlahnya tidak memadai, dapat menghambat pertumbuhan tanaman (Krisnawati, 2014).

Cahaya memiliki peran krusial dalam proses fisiologis tanaman, seperti fotosintesis, respirasi, dan transpirasi. Intensitas cahaya yang sesuai dapat merangsang pertumbuhan tinggi tanaman serta jumlah daun yang dihasilkan (WulanSuci, 2016). Tingkat keasaman (pH) tanah juga berpengaruh pada ketersediaan unsur hara, dengan adanya pH yang seimbang dapat mendukung pertumbuhan tanaman secara optimal. Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang berperan penting dalam memengaruhi

proses pertumbuhan, reproduksi, serta kelangsungan hidup tanaman. Rentang suhu optimal bagi tanaman umumnya berada antara 20 hingga 30°C, dan kondisi di luar batas ini dapat berdampak negatif terhadap laju metabolisme tanaman (Awasthi *et al.*, 2015). Udara, khususnya karbon dioksida (CO₂), penting untuk digunakan dalam proses fotosintesis, sementara oksigen diperlukan untuk mendukung proses respirasi (Puspitaningrum *et al.*, 2012). Air memberikan peran penting dalam mendukung proses fotosintesis serta sebagai medium transportasi nutrisi, kondisi kekurangan air dapat menyebabkan stres pada tanaman dan menghambat pertumbuhan (Osakabe *et al.*, 2014). Tanah sebagai sumber utama nutrisi juga berperan sangat penting, tanaman memperoleh nutrisi dalam bentuk ion dari tanah dan udara (Rai, 2023).

Pertumbuhan tanaman umumnya diukur melalui beberapa parameter seperti tinggi tanaman, jumlah daun, dan diameter batang. Tinggi tanaman merupakan parameter utama pertumbuhan vegetatif yang mencerminkan aktivitas pembelahan sel sebagai hasil dari fotosintesis yang optimal. Diameter batang berfungsi menilai kekuatan, kesehatan, serta kapasitas tanaman dalam menyerap nutrisi dan air yang

berpengaruh terhadap akumulasi biomassa dan laju pertumbuhan. Menurut Fioneri (2021), tanaman yang mendapatkan air dan hara memadai cenderung memiliki batang yang lebih besar, sehingga dapat digunakan untuk mengevaluasi pertumbuhan dan potensi hasil tanaman.

Al-Qur'an, sebagai kitab suci umat Islam, tidak hanya memuat ajaran terkait akidah, ibadah, akhlak, hukum, dan sejarah, tetapi juga mengandung prinsip-prinsip dasar yang berkaitan dengan ilmu pengetahuan dan teknologi. Dalam perspektif Islam, tumbuhan memiliki kedudukan penting dan kerap disebut dalam Al-Qur'an, baik dalam konteks penciptaan, fungsi, maupun keutamaannya bagi kehidupan. Salah satu aspek yang diangkat dalam Al-Qur'an adalah proses pertumbuhan tanaman. Salah satu ayat yang relevan dengan proses pertumbuhan tanaman adalah Q.S. Al-An'am (6) ayat 99 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ
شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا
وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ
وَالزَّيْتُونِ وَالرَّمَّانِ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ^ط انظُرُوا إِلَى
ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ^ط إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: *Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman. (Q.S. Al-An'am : 99)(Al-Quran dan Terjemahnya, Kemenag RI).*

Tafsir Quran Surat Al-An'am ayat 99 menurut Quraish Shihab ialah: Dialah yang menurunkan air hujan dari awan untuk menumbuhkan berbagai jenis tanaman. Dia mengeluarkan buah-buahan segar dari bermacam tumbuhan dan berbagai jenis biji-bijian. Ayat ini menekankan peran air hujan sebagai sumber kehidupan bagi tanaman dan sinar matahari yang membantu proses fotosintesis melalui klorofil, yang terdapat pada daun. Tanaman berfungsi sebagai "pabrik" yang mengolah

berbagai komponen untuk menghasilkan makanan yang dibutuhkan oleh manusia dan hewan.

Tafsir dari ayat ini menunjukkan pentingnya air dan cahaya matahari dalam mendukung pertumbuhan tanaman, serta menjelaskan bagaimana elemen-elemen ini dapat berkontribusi pada kesehatan manusia. Selain itu, perintah untuk mengamati buah-buahan yang dihasilkan oleh tanaman mendorong pengembangan ilmu botani, yang mana pengamatan terhadap pertumbuhan tanaman menjadi metode utama dalam memahami fase-fase perkembangan mereka.

Kaitannya dengan pertumbuhan tanaman, dalam ayat ini mencerminkan keterkaitan antara faktor lingkungan (seperti air dan cahaya) dan proses biologi yang mendukung kehidupan, serta menunjukkan bahwa pemahaman tentang tanaman dan proses pertumbuhannya dapat memberikan wawasan yang lebih dalam tentang ekosistem dan manfaatnya bagi kehidupan.

Pertumbuhan tanaman secara umum diawali oleh proses perkecambahan. Perkecambahan adalah proses fisiologis awal dalam siklus hidup tanaman yang ditandai dengan tumbuh dan berkembangnya embrio di dalam biji menjadi kecambah (Bewley, 1997). Proses ini

dimulai dengan penyerapan air (imbibisi) oleh biji, diikuti oleh aktivasi metabolisme, sintesis enzim, dan penggunaan cadangan makanan yang ada di dalam biji untuk menunjang pertumbuhan embrio. Fase ini berakhir ketika radikula (akar embrionik) menembus kulit biji dan muncul ke luar sebagai tanda dimulainya pertumbuhan tunas (Girsang, 2019). Keberhasilan dan efektivitas proses perkecambahan dikendalikan oleh berbagai faktor, seperti viabilitas benih, ketersediaan air, suhu, oksigen, cahaya, nutrisi dan penyerbuk (Ashar *et al.*, 2024).

Salah satu parameter penting yang digunakan untuk mengevaluasi kualitas dan dinamika proses perkecambahan adalah indeks perkecambahan atau *germination index* (GI). Indeks ini tidak hanya menggambarkan jumlah benih yang berkecambah, tetapi juga memperhitungkan kecepatan dan keserempakan terjadinya perkecambahan dalam suatu populasi benih (Talská *et al.*, 2020). Dalam perhitungannya, setiap benih yang berkecambah pada hari tertentu dikalikan dengan suatu nilai bobot, di mana bobot tertinggi diberikan pada benih yang berkecambah lebih awal. Dengan demikian, benih yang cepat berkecambah memberikan kontribusi yang lebih besar terhadap nilai indeks. Semakin besar

nilai GI, maka semakin cepat dan seragam proses perkecambahan yang terjadi dalam kelompok benih tersebut.

Selain indeks, parameter lain yang umum digunakan untuk menilai keberhasilan proses perkecambahan adalah persentase perkecambahan. Persentase perkecambahan menggambarkan jumlah benih murni yang mampu menghasilkan kecambah normal pada kondisi lingkungan tertentu dalam jangka waktu yang telah ditentukan (Chyntia, 2013). Persentase ini dihitung berdasarkan jumlah benih yang berhasil berkecambah dibandingkan dengan total jumlah benih yang ditanam, kemudian dikalikan dengan 100%. Persentase perkecambahan memberikan gambaran tentang viabilitas benih, yaitu kemampuan benih untuk tumbuh menjadi tanaman. Meskipun persentase ini memberikan informasi tentang seberapa banyak benih yang berkecambah, namun indikator tersebut tidak memperhitungkan kecepatan atau waktu terjadinya perkecambahan.

5. Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.)

a. Klasifikasi Kaliandra Merah

Kaliandra merah tergolong sebagai tanaman perdu yang tergolong ke dalam famili Leguminosae. Menurut database *Integrated Taxonomic Information System* (2024) tanaman kaliandra diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Fabales
 Famili : Leguminosae
 Genus : *Calliandra* Benth
 Spesies : *Calliandra calothyrsus* Meisn.



Gambar 2. 3 Morfologi Tanaman *Calliandra calothyrsus* Meisn.

Kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) merupakan tanaman yang termasuk ke dalam suku Fabaceae (Leguminosae) dan merupakan tumbuhan perdu, bercabang banyak dan berbunga putih atau merah ke ungu-unguan. Kata "kaliandra" sendiri berasal dari bahasa Yunani, yaitu "*Kalli*" berarti cantik atau indah dan "*andros*" berarti benangsari (stamen), sehingga "kaliandra" mempunyai arti tumbuhan yang memiliki benangsari yang indah.

Kaliandra merah yang terdapat di Indonesia berasal dari Meksiko dan bagian Amerika Tengah, tanaman ini didatangkan ke Indonesia pada tahun 1936. Ditinjau dari segi manfaat, tanaman *Calliandra calothyrsus* Meisn. dikenal karena berbagai manfaatnya, seperti untuk kayu bakar, hijauan pakan ternak, tanaman pelindung, penutup tanah, dan penghijauan. Akar tanaman ini juga berkhasiat sebagai obat tradisional, serta berpotensi dikembangkan sebagai sumber energi alternatif seperti biomassa (Hendrati & Hidayati, 2014).

Banyak keuntungan yang dapat diperoleh dari tanaman kaliandra ini, terutama bila digunakan sebagai pohon penghijauan dan kayu bakar. Bibitnya

mudah didapat, penanamannya mudah, tidak memerlukan pemeliharaan khusus, pertumbuhannya cepat, batangnya cepat sekali menjadi rimbun karena banyak percabangannya, dapat tumbuh pada berbagai macam tanah dan efisien dalam menaungi gulma, khususnya alang-alang dan talahib (*Saccharum spontaneum*) (de Luna, 2020).

Seperti halnya pada sejumlah tumbuhan Leguminosae, hasil simbiosis bakteri *Rhizobium* dengan akar tanaman kaliandra merah mempunyai bintil yang mampu menambat nitrogen bebas. Oleh karena itulah maka umumnya suku Leguminosae dapat tumbuh di tempat-tempat yang kurang subur seperti di lahan marginal. Mengingat besarnya manfaat tanaman kaliandra, maka perlu kiranya dilakukan penelitian-penelitian dalam berbagai segi, sehingga tanaman tersebut dapat dimanfaatkan secara optimal.

b. Morfologi Kaliandra Merah

1) Batang

Kaliandra merah adalah pohon berukuran kecil dengan percabangan yang padat dan dapat mencapai tinggi hingga sekitar 12 meter. Batangnya berukuran relatif kecil dengan diameter

maksimum sekitar 30 cm pada bagian pangkal. Kulit batangnya memiliki warna coklat kemerahan atau abu-abu dengan tekstur yang ditandai oleh adanya lentisel kecil berbentuk oval dan berwarna pucat. Ujung batang cenderung memiliki bentuk yang bergerigi. pada spesimen tanaman ini memiliki batang coklat kemerahan dan pada bagian ujung batangnya dapat menunjukkan warna kemerahan (Stewart *et al.*, 2003).

2) Daun

Daun kaliandra merah adalah daun majemuk bertipe bipinnate, dengan struktur yang berpasangan dan tekstur yang lebih lunak serta berwarna hijau gelap. Daun utama memiliki panjang hingga 20 cm dan lebar sekitar 15 cm. Seperti pada banyak tanaman leguminosae, daun kaliandra merah menutup ke arah batang saat malam hari sebagai respons terhadap perubahan intensitas cahaya. Anak daun berbentuk oval berukuran kecil dengan panjang antara 0,5 hingga 5 cm, tersusun dalam sekitar 8 pasang pada setiap bagian daun. Tanaman kaliandra merah memiliki daun yang tersusun membentuk kanopi yang lebat dan melebar (Utomo, 2015).

3) Bunga

Bunga kaliandra merah memiliki banyak benang sari berwarna merah panjang, dengan fase pembungaan dimulai sekitar 3 hingga 6 bulan setelah tanam. Tandan bunga tumbuh pada bagian ujung batang secara terpusat, dengan bunga-bunga yang terkonsentrasi di sekitar titik tumbuh. Proses mekarnya bunga berlangsung singkat dan hanya terjadi dalam satu malam, ditandai dengan benang sari yang memiliki gradasi warna putih di bagian pangkal dan merah cerah pada ujungnya. Tanaman ini mampu berbunga sepanjang tahun, dengan masa puncak pembungaan yang umumnya berlangsung antara bulan Maret hingga Juli. (Murtadha, 2022).

Tanaman ini tergolong andromonoecious, yakni mampu menghasilkan bunga jantan, bunga betina, atau bunga berkelamin ganda. Bunga jantan tidak dilengkapi dengan struktur reproduktif betina seperti ovarium, stilus, dan stigma, sehingga tidak berperan dalam pembentukan buah. Setelah proses penyerbukan, buah tanaman kaliandra merah matang dan bijinya berkembang dalam waktu sekitar 90 hari. Jumlah bunga yang

dihasilkan pada tanaman kaliandra merah lebih banyak daripada buahnya, dengan rasio bunga terhadap buah sekitar 1:20 (Hendrati *et al.*, 2014). Tangkai perbungaannya terletak di ketiak daun atau di ujung batang, dengan kelopak berbentuk lonceng dan mahkota bunga berjumlah lima helai. Benang sari tersusun dalam satu berkas, berjumlah antara 10 hingga 100 helai, dan memiliki warna yang mencolok, seperti merah terang, hijau kekuningan, atau putih. Stigma berukuran kecil dan terletak di ujung benang sari, ini menjadi daya tarik utama dari bunga ini.

4) Biji

Biji tanaman kaliandra merah berbentuk oval dan memiliki permukaan berbintik hitam-cokelat. Panjang biji dapat mencapai 8 mm dan tidak memiliki periode dormansi setelah matang, sehingga dapat segera ditanam. Biji ini terdapat dalam polong yang panjangnya sekitar 8-14 cm dan mengandung 3-15 biji per polong. Biji kaliandra merah yang telah mencapai kematangan ditandai dengan permukaan berwarna cokelat dan hitam berbintik, serta memiliki pola khas menyerupai tapal kuda pada kedua sisi datarnya.

Biji matang ini umumnya berukuran sekitar 8 mm dan memiliki struktur yang keras (Macqueen, 1996).

5) Akar

Sistem perakaran kaliandra merah terdiri atas sejumlah akar tunjang berdiameter kecil yang tumbuh dalam jumlah banyak dan memanjang hingga muncul di atas permukaan tanah, umumnya tumbuh cukup dalam dan memiliki tunas dengan umur panjang yang dapat bertahan hingga 20 tahun (Wamburgu, 2002). Pada populasi tertentu, akar tanaman ini dapat berkembang seperti akar pengisap, sehingga tanaman tampak berumpun meskipun berasal dari satu individu (Stewart *et al.*, 2003).

c. Penyebaran dan Lingkungan Hidup Kaliandra Merah

Kaliandra merah merupakan tanaman asli daerah beriklim lembab dan sub-lembab dari Amerika Tengah hingga Meksiko. Tanaman ini mulai diperkenalkan ke wilayah Jawa dari Guatemala pada tahun 1936. Kaliandra merah dapat tumbuh di berbagai jenis tanah, termasuk pada lahan dengan tingkat kesuburan rendah maupun tanah yang padat

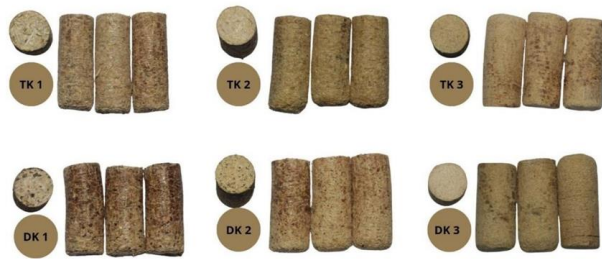
(tipe liat) dengan aerasi yang rendah. Tanaman kaliandra merah mampu beradaptasi secara luas pada beragam kondisi lingkungan. Menurut Allen & Allen (1981) serta National Academy of Sciences (1980), tanaman ini dapat tumbuh pada batuan beku dan batu gamping, seperti yang ditemukan di wilayah Colorado dan Texas. Keberadaan tanaman kaliandra merah di Indonesia banyak dijumpai di Pulau Jawa, terutama pada ketinggian antara 150 hingga 1.500 meter di atas permukaan laut (Yudaputra, 2020).

d. Manfaat Kaliandra Merah

Kaliandra merah merupakan tanaman serbaguna yang memiliki kemampuan adaptasi yang baik, tumbuh dengan cepat, dan dapat bertunas kembali setelah dipangkas secara berkala. Tanaman ini banyak dimanfaatkan di berbagai wilayah Indonesia, antara lain sebagai sumber kayu bakar, tanaman peneduh, untuk reklamasi dan konservasi lahan, pupuk hijau, pakan untuk lebah, serta hijauan berkualitas tinggi untuk pakan ternak. Selain itu, kaliandra merah juga dikenal sebagai salah satu spesies penghasil bioenergi yang direkomendasikan untuk industri *wood pellet*, karena kemampuannya

menghasilkan nilai kalor hingga 4.600 kcal/kg (Sutapa, 2023).

Pelet kayu merupakan salah satu bentuk biomassa padat berbentuk silinder kecil yang dihasilkan melalui proses pemadatan limbah kayu, seperti ranting, batang, atau serbuk gergaji, dengan tekanan tinggi, sehingga membentuk bahan bakar padat yang terbarukan. Penelitian oleh Hidayatullah *et al.* (2022) menunjukkan bahwa pelet kayu dari limbah ranting kaliandra merah memiliki kadar air sebesar 10,12%, kadar abu 1,21%, dan nilai kalor tertinggi mencapai 4.617,20 kal/g. Hasil ini menunjukkan bahwa pelet tersebut memenuhi standar mutu nasional dan internasional serta layak dikembangkan sebagai sumber energi biomassa padat yang berkualitas tinggi dan ramah lingkungan. Pelet yang dihasilkan dari serbuk batang kaliandra tanpa kulit dengan ukuran partikel halus menunjukkan karakteristik mekanik dan termal terbaik, serta menghasilkan residu abu yang rendah (Rahman *et al.*, 2024).



Gambar 2. 4 Pelet Kaliandra Merah

Keterangan: TK1 = tanpa kulit kayu (20 mesh); TK2 = tanpa kulit kayu (40 mesh); TK3 = tanpa kulit kayu (60 mesh); DK1 = dengan kulit kayu (20 mesh); DK2 = dengan kulit kayu (40 mesh); DK3 = dengan kulit kayu (60 mesh).

Kaliandra merah telah dimanfaatkan di Kenya sebagai pakan ternak untuk meningkatkan produksi susu sapi perah, serta digunakan untuk mitigasi longsor dan sebagai spesies pionir dalam rehabilitasi daerah aliran sungai di Manolo Fortich, Filipina (Tuwei *et al.*, 2019; De Luna *et al.*, 2020). Selain itu, kaliandra merah juga dapat dimanfaatkan sebagai pohon peneduh untuk tanaman kopi arabika di Kabupaten Toraja Utara, Sulawesi Selatan (Lisnawati *et al.*, 2017). Kandungan endodontik kaliandra merah juga dapat digunakan sebagai bahan alternatif pengendali jamur (Emitaro *et al.*, 2020).

6. Biomassa

Istilah biomassa merujuk pada bahan organik yang dihasilkan oleh organisme hidup, termasuk sisa-sisa biodegradabel dari produk pertanian, kehutanan, dan industri lainnya, serta bagian organik dari limbah industri. Biomassa dianggap sebagai sumber energi terbarukan karena bahan ini dapat diperbaharui secara berkelanjutan (Janiszewaka, 2020). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Primadanty (2023), biomassa mencakup berbagai bentuk, termasuk limbah kayu, residu pertanian (jerami, tongkol jagung) dan tanaman energi seperti kaliandra merah.

Penelitian yang dilakukan oleh Pasaribu *et al.* (2025), menunjukkan pirolisis kayu kaliandra merah pada suhu 500 °C menghasilkan biochar dengan nilai kalor sebesar 7.145 kal/g, dengan kadar abu dan kadar air yang rendah. Karakteristik ini menunjukkan bahwa kaliandra merah merupakan sumber biomassa yang bernilai energi tinggi untuk dikembangkan sebagai bahan baku produksi bio-oil dan biochar. Ketersediaannya yang melimpah di wilayah tropis memperkuat potensinya sebagai alternatif energi terbarukan berbasis biomassa.

Biomassa digunakan dalam berbagai bidang, seperti pembangkit listrik, produksi bahan bakar bio, dan pembuatan pelet biomassa. Biomassa dapat dikonversi menjadi berbagai bentuk energi alternatif, seperti bioetanol, biogas, maupun pelet kayu (Fitriliana, 2023). Sumber daya ini memiliki prospek yang menjanjikan sebagai energi terbarukan. Dengan dukungan teknologi, biomassa berpotensi mengurangi ketergantungan energi fosil dan emisi gas rumah kaca.

B. Kajian Penelitian yang Relevan

Tabel 2. 2 Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
1.	Pengaruh Inokulasi Bakteri <i>Rhizobium japonicum</i> Terhadap Pertumbuhan Kacang Kedelai (<i>Glycine max</i> L)/Pattipeilohy, M., & Sopacua, R./ Jurnal Biologi, Pendidikan Dan Terapan/2014 (Pattipeilohy & Sopacua, 2014)	Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan berbagai konsentrasi <i>Rhizobium</i> (0 gr, 3 gr, 5 gr, 7 gr), perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Analisis data menggunakan analisis varians dan uji beda nyata jujur pada taraf signifikan 0,5 % dan 0,1 %.	Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 7 gr paling efektif meningkatkan tinggi tanaman, jumlah daun, dan bintil akar tanaman, tetapi tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada diameter batang.	Objek yang digunakan berbeda, pada penelitian ini menggunakan tanaman kacang kedelai dan hanya berfokus pada satu jenis strain <i>Rhizobium</i> , berbeda dengan penelitian yang dilakukan yaitu menggunakan tanaman kaliandra merah dan menggunakan sebanyak enam spesies bakteri <i>Rhizobium</i> .

Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
2.	Pengaruh Inokulasi <i>Rhizobium</i> Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kedelai (<i>Glycine Max</i> L) Varietas Wilis di Rumah Kaca/ Sri Purwaningsih/ Indonesian Institute of Sciences/2015 (Purwaningsih, 2015)	Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan berbagai isolat <i>Rhizobium</i> dengan 3 kali ulangan. Parameter yang diamati meliputi bobot kering tajuk, akar, bintil akar, total tanaman, jumlah bintil dan kapasitas simbiose.	Semua biak <i>Rhizobium</i> yang diinokulasikan mampu membentuk bintil akar. Biak 1 KT (isolat pada tanah dari Kalampangan, Kalimantan Tengah) memberikan hasil yang paling tinggi terhadap pertumbuhan tanaman kedelai.	Objek pengujian yang digunakan berbeda, penelitian ini berfokus pada tanaman kedelai (<i>Glycine Max</i> L) sebagai tanaman pangan, sedangkan penelitian yang dilakukan menggunakan tanaman kaliandra merah sebagai tanaman energi. Spesifikasi bakteri <i>Rhizobium</i> yang digunakan juga berbeda.

Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
3.	Optimalisasi Bakteri <i>Rhizobium japonicum</i> Sebagai Penambat Nitrogen Dalam Upaya Peningkatan Produksi Jagung/Jennifer Larisa Liem, Briliani Ayu Arianita, Shinta Sugiarti dan Yoga Aji Handoko/ Jurnal Galung Tropika/2019 (Liem <i>et al.</i> , , 2019)	Melakukan pola tumpang sari antara tanaman jagung dan kedelai untuk memanfaatkan kemampuan pengikat nitrogen dari <i>Rhizobium japonicum</i> untuk meningkatkan hasil panen pada tanaman jagung.	Penggunaan <i>Rhizobium</i> meningkatkan hasil produksi jagung. Penerapan pola tumpang sari antara tanaman jagung dan kedelai memperkaya nitrogen dalam tanah menjadi melimpah yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman jagung.	Objek pengujian yang digunakan berbeda, penelitian ini dilakukan pada tanaman jagung yang ditanam dengan pola tumpangsari dengan tanaman kacang kedelai, spesies bakteri <i>Rhizobium</i> yang digunakan juga berbeda.

Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
4.	Pengaruh Dosis <i>Rhizobium</i> Serta Macam Pupuk Kandang Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L.) Varietas Kancil/Diah Asih Fitriana, Titiek Islami dan Yogi Sugito/2015 (Fitriana, 2015)	Menggunakan desain eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, dengan kombinasi dosis inokulum <i>Rhizobium</i> (0, 5, 10, dan 15 g/kg benih) dan tiga jenis pupuk kandang (tanpa pupuk, kotoran sapi, dan kotoran ayam).	Dosis 10 g/kg <i>Rhizobium</i> dengan kotoran ayam memberikan hasil polong tertinggi. Baik inokulum <i>Rhizobium</i> dan aplikasi pupuk kandang secara positif mempengaruhi pertumbuhan dan hasil kacang tanah serta meningkatkan kesuburan tanah dan fiksasi nitrogen.	Penelitian sebelumnya menggunakan tanaman kacang tanah yang memiliki potensi berbeda dengan tanaman kaliandra merah sebagai tanaman energi. Fokusnya pada manfaat inokulum dan pupuk kandang untuk meningkatkan hasil, namun terbatas pada satu spesies <i>Rhizobium</i> , sedangkan penelitian ini membandingkan enam spesies <i>Rhizobium</i> untuk menilai efektivitas inokulasi.

Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
5.	Pengaruh Dosis <i>Rhizobium</i> Serta Macam Pupuk NPK Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kedelai (<i>Glycine max</i>) Varietas Anjasmoro/Arina Manasikana, Lianah dan Kusrinah/ Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology/2019 (Manasikana, 2019)	Menggunakan desain Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial, dengan variasi dosis <i>Rhizobium</i> (0, 5, 7, dan 9 g/kg biji,) dan faktor kedua menggunakan jenis pupuk NPK yang berbeda (tidak menggunakan pupuk, pupuk NPK padat (0,8 g/tanaman) dan pupuk NPK cair.	Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 9 g/kg <i>Rhizobium</i> meningkatkan jumlah dan warna daun, tetapi tidak berpengaruh signifikan pada tinggi tanaman atau jumlah cabang.	Penelitian sebelumnya menggunakan tanaman kedelai yang memiliki potensi berbeda dengan tanaman kaliandra merah sebagai tanaman energi. Penelitian sebelumnya berfokus pada efek dosis yang berbeda dari satu jenis isolat <i>Rhizobium</i> , sedangkan penelitian ini membandingkan enam spesies <i>Rhizobium</i> untuk menilai efektivitas inokulasi.

Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
6.	Biological Seed Treatment dengan Bakteri <i>Rhizobium</i> sp. untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Hasil Kacang Tanah (<i>Arachis hypogaeae</i> L.)/Petrus Marwan, Emilia Farida Budi Handayani/Agrofood/2019 (Marwan, 201 9)	Menggunakan metode Biological Seed Treatment dengan bakteri <i>Rhizobium</i> sp. untuk meningkatkan infeksi bakteri di akar tanaman kacang tanah (<i>Arachis hypogaeae</i> L.), sehingga meningkatkan fiksasi nitrogen dan pertumbuhan tanaman secara keseluruhan.	Hasil penelitian menunjukan bahwa perlakuan P4 (0,005 g <i>Rhizobium</i> /biji) menghasilkan tinggi tanaman tertinggi (64,73 cm), lebih baik dibanding kontrol (48,33 cm).	Penelitian ini menyoroti efektivitas <i>Rhizobium</i> dalam meningkatkan tinggi dan hasil tanaman pada kacang tanah tetapi tidak membandingkan efektivitas strain <i>Rhizobium</i> yang berbeda seperti penelitian yang dilakukan. Objek yang digunakan juga berbeda pada penelitian ini digunakan pada tanaman kacang tanah (<i>Arachis hypogaeae</i> L.).

Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
7.	Penggunaan <i>Rhizobium</i> dan Mikoriza untuk Pertumbuhan <i>Calliandra calothyrsus</i> Unggul/Rina Laksmi Hendrati dan Siti Husna Nurrohmah/ Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan/2016 (Hendrati <i>et al.</i> , 2016)	Menggunakan kombinasi 5g <i>Rhizobium</i> dan mikoriza (0g, 5g, dan 10g) tingkatan ke lima famili <i>Calliandra calothyrsus</i> yang berbeda. Penilaian difokuskan pada jumlah daun, tinggi, diameter, dan jumlah nodul akar pada interval yang berbeda (1, 4, dan 8 minggu) setelah aplikasi.	Kombinasi <i>Rhizobium</i> dan mikoriza secara positif mempengaruhi pertumbuhan <i>Calliandra calothyrsus</i> . Secara khusus, pertumbuhan seperti jumlah nodul akar, jumlah daun, tinggi, dan diameter meningkat secara signifikan.	Penelitian sebelumnya membahas efek dari satu jenis isolat <i>Rhizobium</i> pada pertumbuhan lima famili tanaman <i>Calliandra calothyrsus</i> yang berbeda sementara penelitian yang dilakukan mengeksplorasi enam spesies <i>Rhizobium</i> untuk membandingkan efektivitasnya dalam meningkatkan pertumbuhan vegetatif dan produksi biomassa kaliandra merah.

Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
8.	Pemberian Inokulasi <i>Rhizobium</i> Sp. pada Berbagai Varietas Kedelai Terhadap Peningkatan Hasil dan Kualitas Benih/Yusran, St. Sukmawati, Izma.S, Nurlina R.R / Agroland: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian/2021 (Yusran <i>et al.</i> , 2021)	Menggunakan RAK faktorial dengan dua faktor: dosis inokulum <i>Rhizobium</i> (0, 5, 10 g/kg benih) dan 4 varietas kedelai. Parameter: jumlah dan berat kering bintil akar, nisbah luas daun, diameter batang, jumlah cabang produktif, jumlah dan isi polong, jumlah biji, bobot biji per tanaman, bobot 100 butir, serta proporsi ukuran benih.	Dosis 10 g/kg <i>Rhizobium</i> menghasilkan pertumbuhan dan kualitas benih lebih baik. Varietas Devon-1 unggul pada diameter batang dan bobot 100 biji, sedangkan varietas Dering-1 unggul pada jumlah cabang produktif, jumlah polong isi, jumlah biji, dan bobot biji per tanaman.	Penelitian sebelumnya menggunakan tanaman kedelai yang berbeda dengan kaliandra merah sebagai tanaman energi. Fokus utamanya adalah pengaruh dosis dari satu isolat <i>Rhizobium</i> terhadap hasil dan kualitas benih. Sebaliknya, penelitian ini menguji sebanyak enam spesies <i>Rhizobium</i> untuk membandingkan efektivitasnya dalam meningkatkan pertumbuhan vegetatif dan produksi biomassa.

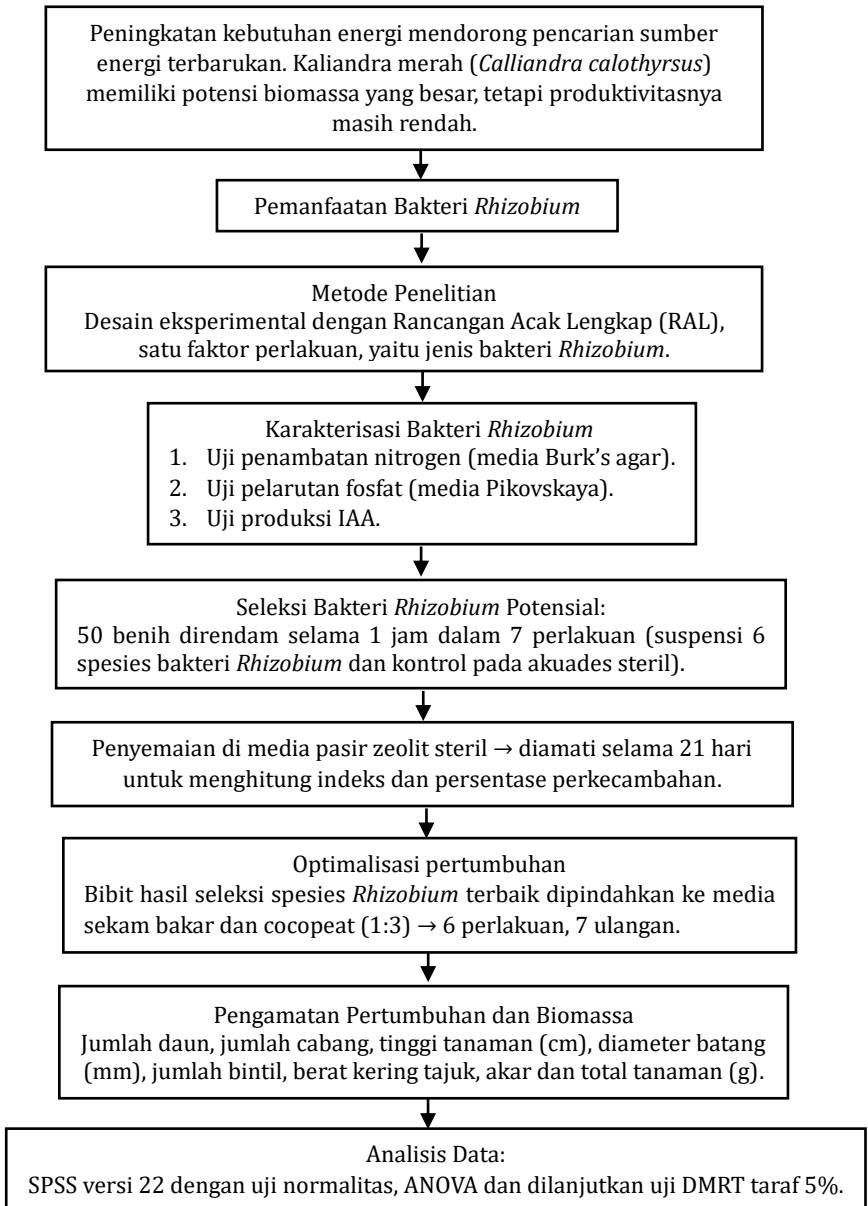
Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
9.	Pengaruh Inokulasi <i>Rhizobium</i> sp. dan Konsentrasi Pupuk Kalium Fosfat Terhadap Produksi Serta Mutu Benih Kedelai (<i>Glycine max</i> L. Merrill)/ Bagas Maulana Ihtiramiddi, Sri Rahayu dan Rahmat Ali Syaban/2024 (Ihtiramidin <i>et al.</i> , 2024)	Menggunakan RAK faktorial dengan dua faktor: 3 taraf inokulasi <i>Rhizobium</i> (0, 10, 20 g/kg benih) dan 3 taraf pupuk K-fosfat (2,25; 4,5; 6,75 g/L), Parameter: jumlah polong, bintil akar, berat benih, produksi per hektar, berat 100 biji, daya dan kecepatan tumbuh benih. Analisis data: menggunakan ANOVA dan uji lanjutan DMRT pada taraf 5% dan 1%.	Inokulasi <i>Rhizobium</i> dengan dosis 10 g/kg benih memberikan hasil terbaik pada berat benih per tanaman (14,47 g), produksi per hektar (2.062 kg/ha), dan berat 100 butir benih (12,62 g). Interaksi antara inokulasi <i>Rhizobium</i> dan konsentrasi pupuk tidak memberikan pengaruh nyata terhadap semua parameter yang diamati.	Penelitian ini dilakukan pada tanaman kedelai sebagai leguminosae pangan, sedangkan penelitian yang dilakukan berfokus pada tanaman kaliandra merah sebagai tanaman energi penghasil biomassa. Selain itu, penelitian sebelumnya hanya membandingkan pengaruh dosis tunggal inokulan <i>Rhizobium</i> , tanpa menguji efektivitas dari berbagai isolat yang berbeda.

Tabel 2. 2 Lanjutan Kajian Penelitian yang Relevan

No.	Judul/Penulis/Jurnal/ Tahun	Metode	Hasil	Gap Penelitian
10.	Pengaruh Aplikasi Inokulum <i>Rhizobium</i> Dan Pupuk Organik Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Tanaman Kacang Tanah (<i>Arachis Hypogaea</i> L.)/Fajar Setyawan, Mudji Santoso dan Sudiarso/2015 (Setyawan <i>et al.</i> , 2015)	Penelitian menggunakan RAK faktorial dengan dua faktor: dosis <i>Rhizobium</i> (0, 5, 10, 15 g/kg benih) dan pupuk organik (0, 500, 1000 kg/ha), 3 ulangan. Parameter yang diamati meliputi tinggi, luas daun, laju pertumbuhan, bobot kering, bintil akar, polong, indeks panen, dan hasil panen. Data dianalisis dengan uji F dan BNT 5%.	Perlakuan kombinasi inokulum <i>Rhizobium</i> 10 g/kg benih dan pupuk organik 1000 kg/ha memberikan hasil jumlah polong dan indeks panen lebih tinggi. Kombinasi tersebut lebih unggul dibandingkan perlakuan tanpa inokulum dan tanpa pupuk organik.	Objek yang digunakan berbeda; penelitian ini berfokus pada tanaman kacang tanah sebagai tanaman pangan dengan satu jenis <i>Rhizobium</i> (legin) dalam menilai hasil generatif. Sebaliknya, penelitian yang dilakukan menggunakan tanaman kaliandra merah sebagai tanaman energi dengan enam spesies <i>Rhizobium</i> dan mengevaluasi pertumbuhan vegetatif serta biomassa.

C. Kerangka Berpikir



D. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

- H₀: Inokulasi keenam spesies bakteri *Rhizobium* tidak berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan tanaman kaliandra merah.
- H₁: Inokulasi keenam spesies bakteri *Rhizobium* berpengaruh signifikan terhadap peningkatan pertumbuhan tanaman kaliandra merah.
- H₀: Tidak ada perbedaan signifikan dalam kemampuan bersimbiosis enam spesies bakteri *Rhizobium* dengan tanaman kaliandra merah.
- H₁: Terdapat perbedaan signifikan dalam kemampuan bersimbiosis antara enam spesies bakteri *Rhizobium*, dengan salah satu spesies memiliki pengaruh paling tinggi dengan tanaman kaliandra merah.
- H₀: Inokulasi bakteri *Rhizobium* tidak meningkatkan efisiensi penggunaan pupuk anorganik pada pertumbuhan dan produksi biomassa tanaman kaliandra merah.
- H₁: Inokulasi bakteri *Rhizobium* meningkatkan efisiensi penggunaan pupuk anorganik pada pertumbuhan dan produksi biomassa tanaman kaliandra merah.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah pendekatan kuantitatif dengan metode eksperimen murni. Penelitian kuantitatif digunakan untuk memperoleh data yang bersifat objektif melalui proses pengukuran dan analisis statistik. Dalam konteks penelitian ini, pendekatan kuantitatif diterapkan untuk mengevaluasi pengaruh inokulasi bakteri *Rhizobium* terhadap pertumbuhan tanaman kaliandra merah. Metode ini memungkinkan untuk mengukur variabel-variabel pertumbuhan tanaman secara sistematis, menganalisis hubungan serta perbedaan antarperlakuan, dan mengidentifikasi pengaruh signifikan dari masing-masing spesies bakteri *Rhizobium*. Analisis data dilakukan setelah seluruh data terkumpul, menggunakan teknik statistik untuk menginterpretasikan hasil secara kuantitatif (Jaya, 2020).

B. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu metode desain percobaan dalam penelitian untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan terhadap suatu respon. Rancangan Acak Lengkap (RAL) dikenal juga sebagai rancangan acak

sempurna, karena selain perlakuan utama, variabel lainnya dapat dikendalikan (Sarmanu, 2017). Homogenitas unit percobaan menjadi syarat penting, dan penempatan perlakuan dilakukan secara acak, sehingga setiap unit memiliki peluang yang setara untuk memperoleh perlakuan (Rahmawati, 2022). Dalam penelitian yang dilakukan melibatkan satu faktor perlakuan, yaitu jenis bakteri *Rhizobium* dengan 6 perlakuan dan 7 kali ulangan.

Penentuan jumlah ulangan dihitung menggunakan rumus:

$$(r - 1) (t - 1) \geq 15$$

(Federer, 1955)

Keterangan:

r = jumlah ulangan

t = jumlah perlakuan (dalam penelitian ini, terdapat 6 perlakuan: 4 perlakuan dengan pemberian inokulan *Rhizobium* dan dosis pupuk yang berbeda, 1 perlakuan tanpa pemberian inokulasi *Rhizobium* dengan dosis pupuk normal, serta 1 perlakuan kontrol dengan perlakuan tanpa pemberian inokulasi dan tanpa pemberian pupuk NPK).

Substitusi ke dalam rumus:

$$(r - 1) (6 - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) (5) \geq 15$$

$$r - 1 \geq \frac{15}{5}$$

$$r - 1 \geq 3$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan, jumlah ulangan minimum yang diperlukan adalah 4. Namun, dalam penelitian ini dilakukan sebanyak 7 ulangan guna memperoleh data yang lebih akurat dan dapat diandalkan, sehingga penelitian ini memiliki total 42 unit percobaan. Adapun perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut:

Kontrol: Tanpa inokulan dan tanpa pupuk NPK.

I0 : Pemberian inokulan + tanpa pupuk NPK.

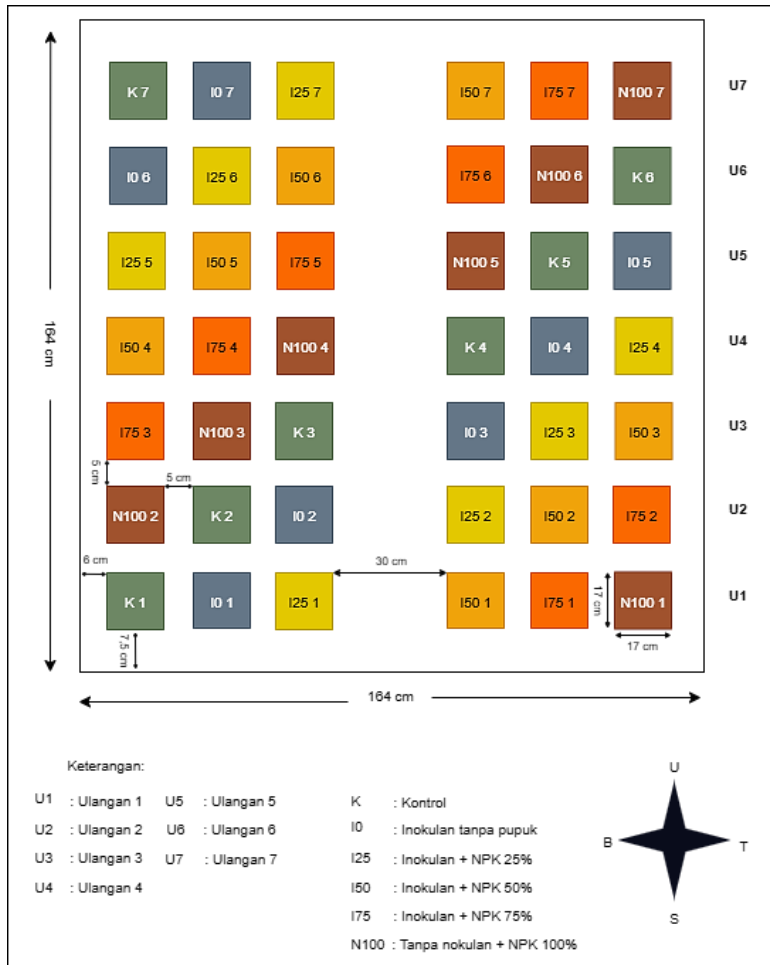
I25 : Pemberian inokulan + pupuk NPK dosis 25%.

I50 : Pemberian inokulan + pupuk NPK dosis 50%.

I75 : Pemberian inokulan + pupuk NPK dosis 75%.

N100 : Tanpa inokulan + pupuk NPK dosis normal (100%).

Penelitian ini terdiri dari dua tahap penelitian, yaitu seleksi bakteri *Rhizobium* potensial berdasarkan kemampuannya dalam mendorong perkecambahan dan optimalisasi pertumbuhan serta produksi biomassa tanaman kaliandra merah. Denah rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1:



Gambar 3. 1Denah Rancangan Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi dan Greenhouse Riset, Kawasan Sains dan Teknologi Soekarno, Badan Riset dan Inovasi Nasional

(BRIN), Jl. Raya Bogor KM. 46, Cibinong 16911. Penanaman dan pemeliharaan tanaman kaliandra merah akan dilakukan di greenhouse riset, sedangkan pengujian bakteri *Rhizobium* dilakukan di laboratorium. Penelitian berlangsung selama 6 bulan, dimulai pada Desember 2024 hingga Mei 2025, termasuk persiapan, pengamatan, dan analisis data.

D. Definisi Operasional

Untuk menghindari terjadinya kekeliruan dalam penafsiran, beberapa istilah yang digunakan dalam penelitian ini perlu dijelaskan melalui definisi operasional penelitian, yaitu:

1. Inokulasi *Rhizobium*

Merupakan proses penambahan bakteri *Rhizobium* secara sengaja ke media tanam dengan tujuan meningkatkan kemampuan tanaman kaliandra merah. Perlakuan ini melibatkan enam spesies bakteri *Rhizobium* yang diperoleh dari Indonesian Culture Collection (InaCC) BRIN Cibinong untuk dievaluasi pengaruhnya terhadap pertumbuhan perkecambahan tanaman kaliandra merah.

2. Pertumbuhan Tanaman Kaliandra Merah

Pertumbuhan tanaman diukur berdasarkan parameter morfologis, yaitu jumlah daun, jumlah cabang, tinggi tanaman (cm), diameter batang (mm), serta biomassa tanaman yang meliputi berat kering tajuk, akar, dan total tanaman (g). Pengamatan terhadap jumlah daun, jumlah cabang, dan tinggi tanaman dilakukan setiap dua minggu sekali selama 10 minggu, sedangkan pengukuran diameter batang dan biomassa tanaman dilakukan pada akhir periode pengamatan, yaitu pada minggu ke-10 setelah tanam.

3. Kemampuan Bersimbiosis

Kemampuan bakteri *Rhizobium* dalam membentuk simbiosis mutualisme dengan tanaman kaliandra merah yang diukur melalui jumlah bintil akar yang terbentuk dan efektivitas bintil akar tersebut dalam meningkatkan parameter pertumbuhan tanaman.

4. Efisiensi Penggunaan Pupuk Anorganik

Merupakan ukuran efektivitas inokulasi *Rhizobium* dalam menggantikan atau mengurangi kebutuhan pupuk anorganik. Efisiensi ini ditentukan dengan membandingkan parameter pertumbuhan tanaman pada beberapa perlakuan, yaitu: (a) inokulasi *Rhizobium*

tanpa pupuk anorganik, (b) kombinasi *Rhizobium* dan pupuk anorganik dosis 25%, 50%, dan 75%, (c) pupuk anorganik dosis penuh (100%) tanpa *Rhizobium*, dan (d) kontrol tanpa pupuk dan tanpa *Rhizobium*.

5. Produksi Biomassa Kaliandra Merah

Merujuk pada total akumulasi biomassa tanaman yang dihasilkan selama penelitian, meliputi berat kering akar (g), berat kering tajuk (g) dan berat kering total tanaman (g).

6. Kebun Energi Berkelanjutan

Sistem perkebunan yang dirancang untuk menghasilkan sumber energi terbarukan dari tanaman kaliandra merah dengan prinsip ramah lingkungan. Dalam konteks penelitian ini, ditinjau dari potensi pertumbuhan dan biomassa tanaman pada perlakuan yang mengurangi penggunaan pupuk anorganik melalui pemanfaatan *Rhizobium*.

E. Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan konsep yang menunjukkan variasi dalam bentuk nilai, keadaan, kategori, atau kondisi tertentu, yang ditentukan oleh peneliti untuk diamati, dianalisis, dan dikaji dalam suatu kegiatan ilmiah. Tujuannya adalah memperoleh informasi yang dapat

digunakan sebagai dasar dalam menarik kesimpulan. Dalam konteks penelitian, perhatian peneliti difokuskan pada upaya menjelaskan hubungan yang terjalin antar variabel, baik hubungan yang bersifat sebab-akibat maupun hubungan korelasional (Mustami, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas keenam spesies bakteri *Rhizobium* dalam meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman kaliandra merah. Oleh karena itu, ditetapkan sejumlah variabel yang merepresentasikan hubungan sebab-akibat (kausalitas) antara perlakuan dan respons yang diamati, yaitu:

1. Variabel Bebas

Variabel bebas (*independent variable*) merupakan variabel yang diduga memengaruhi atau menyebabkan perubahan pada variabel lain, yaitu variabel terikat. Variabel ini biasanya dimanipulasi atau dikondisikan oleh peneliti, kemudian diamati dan diukur untuk mengetahui hubungan atau pengaruhnya terhadap variabel lainnya (Mustami, 2015).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah enam bakteri *Rhizobium* yang diperoleh dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC), yaitu *Rhizobium*

leguminosarum (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (InaCC B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406), serta perlakuan kombinasi antara spesies bakteri *Rhizobium* dengan hasil terbaik dengan berbagai dosis pupuk NPK yang berbeda, yaitu perlakuan kontrol (tanpa inokulan dan tanpa pupuk NPK), I0 (pemberian inokulan tanpa pupuk NPK), I25 (pemberian inokulan dan pupuk NPK dosis 25%), I50 (pemberian inokulan dan pupuk NPK dosis 50%), I75 (pemberian inokulan dan pupuk NPK dosis 75%) dan N100 (tanpa inokulan dengan pupuk NPK dosis normal (100%)).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat (*dependent variable*) merupakan variabel yang menjadi respons atau hasil dari perlakuan yang diberikan, dan kemunculannya dipengaruhi oleh variabel bebas yang dimanipulasi dalam penelitian. Sebagai variabel respons, variabel ini mencerminkan dampak dari perubahan atau perlakuan yang diberikan. Dalam kajian perilaku, variabel terikat mengacu pada respons perilaku yang muncul pada organisme sebagai akibat dari pemberian suatu stimulus atau perlakuan tertentu (Mustami, 2015).

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan tanaman kaliandra merah, yang diukur berdasarkan parameter kuantitatif, yaitu tinggi tanaman (cm) yang diukur menggunakan penggaris, jumlah daun, jumlah cabang, diameter batang (mm) yang diukur menggunakan jangka sorong dan berat kering (gram) yang diperoleh setelah pengeringan di oven pada suhu 60°C selama 3 hari hingga tidak terdapat kandungan air pada tanaman sehingga berat tanaman menjadi konstan.

3. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol merupakan faktor yang dikendalikan oleh peneliti untuk memastikan bahwa faktor tersebut tidak memengaruhi hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Penetapan variabel ini bertujuan untuk meniadakan atau meminimalkan pengaruh luar, sehingga hasil penelitian yang diperoleh lebih valid, objektif, dan terarah (Mustami, 2015).

Variabel terkontrol dalam penelitian ini meliputi homogenitas media tanam yaitu, pasir zeolit steril, campuran media tanam steril yaitu sekam bakar dan cocopeat dengan perbandingan 1:3, volume media tanam dalam polybag (0,8 kg), dosis inokulan bakteri (20 mL kultur dengan *Optical Density* 1,0), suhu dan

kelembaban greenhouse, kualitas benih kaliandra merah yang digunakan, serta volume air yang digunakan untuk penyiraman setiap tanaman.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah polybag (ukuran 20 cm x 20 cm), neraca analitik (AND HR-2021), spatula, drigalski spatula, gelas ukur (IWAKI), labu Erlenmeyer (IWAKI), tabung reaksi (IWAKI), tabung reaksi steril dengan tutup ulir (*screw cap test tube*) (IWAKI), rak tabung reaksi, conical tube 50 mL, bunsen, vortex (SIBATA), batang pengaduk, gelas beaker (IWAKI), *laminar air flow* (LAF) (ESCO), *incubator* (SANYO MIR-153), *colony counter* (STUART SCIENTIFIC Cc-1), *microplate reader* (Thermo scientific), *incubator shaker* (TAITEC BR-300LF), oven (MEMMERT), autoclave (Zealway GR60DA), *hot plate magnetic stirrer* (SIBATA MGH-320), refrigerator centrifuge (Heal Force), *showcase* (GEA Expo-1000 VFC), freezer -80°C (BioBase BTR.01.03.053), micropipet 1000 uL (Thermo Scientific), micropipet 10 mL (Thermo Scientific), pipet ukur, *microplate* (costar), tray sekam, pinset, penggaris 30 cm, alat tulis, kamera, sprayer dan sekop.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kaliandra merah yang diperoleh dari pasar lokal, inokulan *Rhizobium* dari Indonesian Culture Collection (InaCC), Badan Riset dan Inovasi Nasional (InaCC BRIN) yang terdiri dari 6 spesies: *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406), media tanam berupa sekam bakar, cocopeat, dan pasir zeolit, akuades, air, pupuk NPK (Mutiar), *sodium hypochlorite* (NaOCl), alkohol 70%, aluminium foil, cawan petri disposable (Labotiq), tip (10 mL dan 1000 µl), plastik wrap, loop ose (SPL LifeScience), plastik tahan panas, karet, kapas, label, agar powder (Himedia), burk's agar (Himedia), pikovskaya agar (Himedia), BD™ BBL™ Trypticase™ Soy Broth (TSB) 50% (*half strength*), Yeast Mannitol Broth (YMB)(Himedia), Yeast Mannitol Agar with Congo Red (Himedia), Nutrient Agar (NA) (Himedia), Nutrient Broth (NB) (Himedia), *L-tryptophan*, reagen salkowski, gliserol, *hydrochloride acid* (HCL) dan *sodium hydroxide* (NaOH) .

G. Metode

1. Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan dalam penelitian ini merupakan campuran antara sekam bakar dan cocopeat dengan perbandingan 1:3. Pada penelitian ini digunakan sebanyak 200 gram sekam bakar dan 600 gram media cocopeat. Cocopeat merupakan material organik yang berasal dari serbuk halus kulit kelapa, mengandung lignin dan selulosa yang stabil secara biologis serta ramah lingkungan karena bersifat *biodegradable* dan dapat mendukung pertumbuhan akar tanaman.

Media tanam ini dikenal luas karena kemampuannya yang efektif dalam menyerap serta mempertahankan kelembaban air di sekitar akar tanaman, dapat meningkatkan aerasi, serta bebas dari biji gulma. Proses pembuatan cocopeat meliputi penghancuran sabut kelapa, kemudian dilakukan pemisahan pada serat halusnya, dilanjutkan dengan proses pencucian untuk menghilangkan garam serta sisa kotoran yang masih ada, setelah itu dilakukan pengeringan dan proses pemadatan menjadi dalam bentuk blok (Magara, 2021).

Campuran media tanam tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam polybag untuk digunakan sebagai

tempat pertumbuhan tanaman dengan total sebanyak 0,8 kg per unit. Selanjutnya, dilakukan proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atmosfer selama 15 menit, guna mengeliminasi mikroorganisme patogen yang berpotensi menghambat pertumbuhan tanaman (Aziz, 2024). Proses sterilisasi media tanam dilakukan sebanyak dua kali. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa media tanam bebas dari kontaminan yang dapat merusak bibit serta meningkatkan kualitas pertumbuhan tanaman.

2. Preparasi Media Pertumbuhan Bakteri *Rhizobium*

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah Yeast Mannitol Agar (YMA), Yeast Mannitol Broth (YMB), Yeast Mannitol Agar with Congo Red (YMA + CR), Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), Burk's agar, Pikovskaya agar, dan Trypticase Soy Broth (TSB) 50% (*half strength*).

a. Preparasi Media Yeast Mannitol Agar

Prosedur pembuatan media Yeast Mannitol Agar mengikuti protokol pabrikan (Himedia, 2015). Sebanyak 27,8 gram bubuk media Yeast Mannitol Agar dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C

selama 15 menit. Setelah sterilisasi, media dibiarkan hingga suhunya turun menjadi hangat (sekitar 50–55°C) untuk mencegah kondensasi yang berlebihan pada cawan petri. Selanjutnya, media dituangkan ke dalam setiap cawan petri steril sebanyak 15-20 mL di dalam *laminar air flow* (LAF) khusus penuangan media dengan kondisi aseptis. Cawan petri dibiarkan dalam posisi terbuka hingga media memadat, lalu ditutup rapat dan diletakkan secara terbalik untuk mencegah kontaminasi dari udara dan untuk memastikan bahwa uap air dari media pertumbuhan tidak mengembun pada permukaan media di dalam cawan petri.

b. Preparasi Media Yeast Mannitol Broth

Prosedur pembuatan media Yeast Mannitol Broth mengikuti protokol pabrikan (Himedia, 2015). Sebanyak 12,8 gram bubuk media Yeast Mannitol Broth dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih, larutan diaduk rata dan dituang ke dalam tabung reaksi steril dengan tutup ulir (*screw cap test tube*) sebanyak 5 mL/tabung dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Preparasi Media Yeast Mannitol Agar w/ Congo Red

Prosedur pembuatan media Yeast Mannitol Agar w/ Congo Red mengikuti protokol pabrikan (Himedia, 2015). Sebanyak 31,82 gram bubuk media Yeast Mannitol Agar w/ Congo Red dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, media dibiarkan hingga suhunya turun menjadi hangat (sekitar 50–55°C) untuk mencegah kondensasi yang berlebihan pada cawan petri. Selanjutnya, media dituangkan ke dalam setiap cawan petri steril sebanyak 15-20 mL di dalam *laminar air flow* (LAF) khusus penuangan media dengan kondisi aseptis. Cawan petri dibiarkan dalam posisi terbuka hingga media memadat, lalu ditutup rapat dan diletakkan secara terbalik untuk mencegah kontaminasi dari udara dan untuk memastikan bahwa uap air dari media pertumbuhan tidak mengembun pada permukaan media di dalam cawan petri.

d. Preparasi Media Nutrient Agar

Prosedur pembuatan media Nutrient Agar mengikuti protokol pabrikan (Himedia, 2024). Sebanyak 28 gram bubuk media Nutrient Agar dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan media larut sepenuhnya. Dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, media dibiarkan hingga suhunya turun menjadi hangat (sekitar 50–45°C) untuk mencegah kondensasi yang berlebihan pada cawan petri. Selanjutnya, media dituangkan ke dalam setiap cawan petri steril sebanyak 15-20 mL di dalam *laminar air flow* (LAF) khusus penuangan media dengan kondisi aseptis. Cawan petri dibiarkan dalam posisi terbuka hingga media memadat, lalu ditutup rapat dan diletakkan secara terbalik untuk mencegah kontaminasi dari udara dan untuk memastikan bahwa uap air dari media pertumbuhan tidak mengembun pada permukaan media di dalam cawan petri.

e. Preparasi Media Nutrient Broth

Prosedur pembuatan media Nutrient Broth mengikuti protokol pabrikan (Himedia, 2024).

Sebanyak 13 gram bubuk media Nutrient Broth dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih untuk melarutkan media sepenuhnya, larutan selanjutnya diaduk rata dan dituang ke dalam tabung reaksi steril dengan tutup ulir (*screw cap test tube*) sebanyak 5 mL/tabung kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

f. Preparasi Media Burk's Agar

Prosedur pembuatan media Burk's Agar mengikuti protokol pabrikan (Himedia, 2020). Sebanyak 21,3 gram bubuk media Burk's Agar dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih untuk melarutkan media sepenuhnya. Sebelum proses sterilisasi, pH media disesuaikan menjadi $7,0 \pm 0,1$ melalui penambahan 1N HCL dan 1N NaOH. Setelah itu dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Sahur *et al.*, 2018). Setelah sterilisasi, media dibiarkan hingga suhunya turun menjadi hangat (sekitar 50–55°C) untuk mencegah kondensasi yang berlebihan pada cawan petri. Selanjutnya, media dituangkan ke dalam setiap cawan petri steril sebanyak 15-20 mL di dalam

laminar air flow (LAF) khusus penuangan media dengan kondisi aseptis. Cawan petri dibiarkan dalam posisi terbuka hingga media memadat, lalu ditutup rapat dan diletakkan secara terbalik untuk mencegah kontaminasi dari udara dan untuk memastikan bahwa uap air dari media pertumbuhan tidak mengembun pada permukaan media di dalam cawan petri.

g. Preparasi Media Pikovskaya Agar

Prosedur pembuatan media Pikovskaya Agar mengikuti protokol pabrikan (Himedia, 2015). Sebanyak 31,3 gram bubuk media Pikovskaya Agar dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih untuk melarutkan media sepenuhnya. Setelah itu dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, media dibiarkan hingga suhunya turun menjadi hangat (sekitar 50–55°C) untuk mencegah kondensasi yang berlebihan pada cawan petri. Selanjutnya, media dituangkan ke dalam setiap cawan petri steril sebanyak 15-20 mL di *dalam laminar air flow* (LAF) khusus penuangan media dengan kondisi aseptis.

Cawan petri dibiarkan dalam posisi terbuka hingga media memadat, lalu ditutup rapat dan diletakkan secara terbalik untuk mencegah kontaminasi dari udara dan untuk memastikan bahwa uap air dari media pertumbuhan tidak mengembun pada permukaan media di dalam cawan petri. Warna putih keruh pada media Pikovskaya disebabkan oleh adanya senyawa fosfat yang tidak larut, seperti kalsium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Media ini berfungsi untuk menyeleksi isolat *Rhizobium* yang mampu melarutkan fosfat secara efektif.

h. Preparasi Media Trypticase Soy Broth (TSB) 50% (half strength)

Prosedur pembuatan media Trypticase Soy Broth (TSB) 50% mengikuti protokol pabrikan dengan penyesuaian konsentrasi menjadi setengah dari konsentrasi standar (BD Biosciences, 2025). Sebanyak 15 gram bubuk media TSB dicampurkan ke dalam 1.000 mL akuades steril. Larutan diaduk hingga homogen, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga media larut sempurna. Setelah itu, larutan media dituangkan ke dalam erlenmeyer berukuran 50 mL sebanyak 30 mL per tabung. Setiap erlenmeyer ditutup menggunakan kapas steril yang

dibungkus dengan plastik tahan panas untuk menjaga kesterilan selama proses sterilisasi. Kemudian dilanjutkan dengan proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilkan kemudian disimpan pada suhu ruang hingga siap untuk digunakan.

3. Karakterisasi Enam Spesies Bakteri *Rhizobium*

a. Uji Penambatan Nitrogen

Kemampuan penambatan nitrogen oleh bakteri *Rhizobium* diuji menggunakan media Burk's agar. Pengujian dilakukan untuk mengetahui apakah keenam spesies bakteri *Rhizobium* yang diujikan mampu melakukan pertumbuhan pada media tanpa nitrogen sebagai sumber unsur hara esensial. Keenam kultur bakteri *Rhizobium*: *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) yang sebelumnya disimpan, diambil sedikit dengan menggunakan ose. Bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam media Burk's agar bebas nitrogen menggunakan metode streak plate, selanjutnya kultur

diinkubasi selama 24 jam pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Pertumbuhan koloni bakteri pada media mengindikasikan bahwa bakteri tersebut memiliki potensi untuk menambat nitrogen bebas dari atmosfer dan menggunakannya untuk pertumbuhan (Sahur *et al.*, 2018).

b. Uji Pelarutan Fosfat

Pengujian kemampuan pelarutan fosfat dilakukan dengan mengacu pada metode yang telah dimodifikasi dari Umadi *et al.* (2023). Aktivitas pelarutan fosfat oleh bakteri dievaluasi melalui pengukuran indeks pelarutan pada media padat yang mengandung kalsium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) sebagai sumber fosfat sukar larut. Keenam kultur bakteri *Rhizobium*: *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) yang telah disimpan sebelumnya diambil menggunakan satu ose penuh yang telah disterilkan, kemudian diinokulasikan pada media Pikovskaya padat menggunakan metode spot inoculation. Inkubasi dilakukan selama tujuh hari pada suhu 28°C (Umadi,

2023). Indeks Pelarutan (IP) fosfat dihitung menggunakan rumus berikut:

$$IP = \frac{\text{diameter zona bening} + \text{diameter koloni}}{\text{diameter koloni}}$$

(Umadi *et al.*, 2023)

c. Uji Produksi (*Indole Acetic Acid*) IAA

Penentuan konsentrasi *Indole Acetic Acid* (IAA) dilakukan dengan metode kolorimetri yang dimodifikasi dari prosedur yang dikembangkan oleh Gravel *et al.* (2007). Keenam kultur bakteri *Rhizobium*: *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) yang disimpan sebelumnya masing-masing diinokulasikan sebanyak 1 ose bakteri ke dalam 30 mL media TSB 50% yang telah disterilisasi dan ditambahkan prekursor L-Tryptophan dengan konsentrasi 200 ppm sebanyak 0,6 mL dalam erlenmeyer ukuran 50mL yang bagian atasnya diberikan penutup kapas dan plastik wrap. Pada saat proses inkubasi, dilakukan dalam kondisi tanpa cahaya dengan melapisi tabung erlenmeyer

menggunakan alumunium foil. Proses inkubasi dilakukan pada suhu $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama lima hari. Setelah periode inkubasi berakhir, sebanyak 2 mL kultur suspensi diambil dan dimasukkan ke dalam microtube, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit.

Sebanyak 0,5 mL supernatan diambil dan dicampurkan dengan 1 mL reagen Salkowski, setelah itu dihomogenkan menggunakan vortex. Campuran tersebut diinkubasi dalam kondisi gelap selama 30 menit. Absorbansi kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Timbulnya warna merah muda hingga merah menjadi indikator adanya aktivitas sintesis IAA oleh bakteri yang diuji.

Untuk menentukan konsentrasi IAA, digunakan kurva standar yang dibuat dengan melarutkan IAA murni dalam metanol hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, kemudian diencerkan menjadi deret standar dengan konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, dan 50 ppm. Masing-masing larutan standar dicampur dengan TSB 50%, di-vortex, ditambahkan reagen Salkowski, dan diabsorbansi pada panjang

gelombang 530 nm dengan tujuan memperoleh nilai regresi sebagai acuan penghitungan nilai absorbansi sampel dengan rumus:

$$Y' = a + bX$$

(Gravel *et al.*, 2007)

menggunakan Microsoft Excel versi 2019. Nilai regresi selanjutnya digunakan sebagai acuan pengukuran sampel dengan memasukkan nilai rata-rata absorbansi sampel sebagai nilai y guna mencari nilai x yang merupakan nilai IAA yang dihasilkan sampel.

4. Persiapan Inokulasi *Rhizobium*

a. Peremajaan Kultur Bakteri *Rhizobium*

1) Sterilisasi Alat

Semua peralatan yang digunakan, seperti tabung reaksi dan spatula drigalski disterilkan terlebih dahulu dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atmosfer selama 15–20 menit untuk memastikan kondisi steril dan bebas kontaminasi.

2) Peremajaan Kultur Bakteri *Rhizobium* pada Media YMA, NA, dan YMA + CR

Sebelum digunakan, laminar air flow (LAF) melalui tahap pembersihan dengan alkohol 70%, yang kemudian diikuti oleh proses sterilisasi menggunakan sinar UV selama 15 menit. Keenam spesies *Rhizobium* yang akan diremajakan dipersiapkan. Koloni tunggal dari setiap kultur *Rhizobium* diambil menggunakan loop ose steril dan masing-masing diinokulasikan pada media YMA, NA, dan YMA + CR di dalam cawan petri dengan metode *streaking* empat kuadran untuk diperoleh koloni tunggal serta menghindari kepadatan koloni secara berlebihan. Inkubasi dilakukan pada suhu 28°C selama 48 jam hingga koloni *Rhizobium* terlihat jelas (Ilahi, 2021).

b. Pembuatan Starter Kultur *Rhizobium*

1) Inokulasi Koloni Tunggal ke dalam Media YMB

Setelah tahap inkubasi peremajaan selesai, satu koloni tunggal dari keenam spesies kultur bakteri *Rhizobium* pada media YMA diambil menggunakan loop ose steril. Koloni tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL media YMB untuk digunakan

sebagai kultur starter, setelah itu tabung dikocok secara perlahan untuk memastikan koloni terdispersi secara merata dalam media. Kemudian diinkubasi menggunakan *incubator shaker* untuk menginkubasi kultur cair sambil memberikan gerakan rotasi guna memastikan homogenisasi serta meningkatkan pertukaran gas di dalamnya. Dalam penelitian ini, suhu *incubator shaker* diatur pada 28°C, yang merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan *Rhizobium* (Igiehon, 2019). Kecepatan rotasi disesuaikan pada 150 rpm untuk menciptakan turbulensi ringan yang mendukung distribusi nutrisi dan oksigen secara merata dalam media YMB (Wekesa, 2021).

Tabung reaksi yang berisi media inokulasi ditempatkan secara miring di dalam incubator shaker dengan penutup rapat untuk mencegah adanya kontaminasi. Proses inkubasi dilakukan selama 48 jam. Selama inkubasi, kondisi alat dipantau secara berkala untuk memastikan gerakan rotasi berjalan stabil tanpa gangguan. Penggunaan incubator shaker pada tahap ini bertujuan untuk menghasilkan kultur *Rhizobium* yang terdispersi secara merata dan memiliki

konsentrasi sel yang seragam sebelum diaplikasikan ke dalam percobaan.

c. Pembuatan Kultur Produksi *Rhizobium*

1) Persiapan Media Produksi (Yeast Mannitol Broth) (YMB)

Media produksi Yeast Mannitol Broth (YMB) disiapkan dengan menimbang 12,8 gram serbuk media, yang dilarutkan dalam 1000 mL akuades. Larutan dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih dan media terlarut dengan sempurna. Setelah itu, larutan didistribusikan ke dalam erlenmeyer dengan volume 100 mL pada setiap erlenmeyer. Media kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15–20 menit untuk memastikan kondisi aseptis.

2) Inokulasi Starter ke Media Produksi

Sebanyak 3 mL starter kultur yang telah diinkubasi ditambahkan ke dalam 100 mL media produksi menggunakan mikropipet untuk memulai proses inokulasi. Campuran ini kemudian diinkubasi selama 7 hari di dalam *incubator shaker* pada suhu 28°C dengan kecepatan rotasi 150 rpm (Pajčin *et al.*, 2021). Inkubasi dalam *incubator shaker* bertujuan untuk memastikan adanya aerasi

yang cukup, sehingga oksigen dapat didistribusikan secara merata ke seluruh kultur cair dan mendukung metabolisme bakteri. Kecepatan rotasi 150 rpm dipilih agar menciptakan aliran turbulen ringan, yang dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri dengan memungkinkan bahan-bahan terlarut tercampur merata. Selama proses inkubasi, kultur akan diamati setiap 24 jam untuk memantau perubahan kekeruhan, yang menjadi indikator tingkat pertumbuhan bakteri.

d. Pengukuran Kepadatan Kultur (*Optical Density*)

Kultur produksi yang telah diinkubasi selama 7 hari akan diukur kepadatannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm, dengan menggunakan media YMB steril sebagai larutan blanko. Jika hasil pengukuran menunjukkan OD lebih dari 1,0 (setara dengan 10^8 – 10^9 CFU/mL), kultur akan diencerkan secara bertahap dengan menambahkan media YMB steril hingga diperoleh OD 1,0 (Singh, 2013).

5. Sterilisasi Permukaan Benih Kaliandra Merah

a. Persiapan Bahan dan Peralatan

Sebanyak 500 mL larutan sodium hipoklorit (NaOCl) 0,1% disiapkan dengan mencampurkan 9,5 mL larutan NaOCl 5,25% dan 490,5 mL akuades steril. Selain itu, disiapkan 250 mL larutan alkohol 70% dan 1000 mL akuades steril untuk proses pembilasan, yang sebelumnya telah disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15–20 menit.

Sebagai wadah penampung benih untuk sterilisasi, disiapkan sebanyak 7 conical tube berukuran 50 mL yang telah disterilisasi. Sebelum proses sterilisasi, benih diseleksi terlebih dahulu dengan memperhatikan keseragaman ukuran dan dilakukan seleksi berdasarkan kemampuan benih untuk mengapung atau tenggelam pada perendaman dengan 500 mL akuades. Benih yang mengapung diidentifikasi sebagai benih berkualitas rendah dan tidak dapat digunakan. Dengan demikian, hanya benih yang memenuhi standar kualitas yaitu biji yang tenggelam pada saat dilakukan perendaman yang digunakan dalam proses sterilisasi selanjutnya (Lensari, 2023).

b. Sterilisasi Pertama Menggunakan NaOCl 0,1%

Sebanyak 700 benih kaliandra merah yang telah diseleksi dimasukkan ke dalam conical tube berukuran 50 mL yang telah disterilisasi, dengan masing-masing tabung berisikan sebanyak 100 benih. Selanjutnya, sebanyak 30 mL larutan NaOCl 0,1% ditambahkan ke dalam setiap tabung hingga seluruh benih terendam. Tabung kemudian dikocok perlahan selama 30 detik untuk memastikan seluruh permukaan benih terkontak secara merata dengan larutan sterilisasi (Idris, 2025). Setelah 30 detik, benih ditiriskan, kemudian benih segera dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali. Setiap kali pembilasan, benih dikocok secara perlahan untuk memastikan sisa NaOCl hilang dengan sempurna.

Penggunaan larutan NaOCl sebagai agen sterilisasi digunakan karena sodium hipoklorit (NaOCl) efektif dalam membunuh mikroorganisme patogen tanpa merusak benih. Konsentrasi 0,1% dipilih karena cukup kuat untuk menghilangkan kontaminasi mikroba seperti jamur atau bakteri tanpa menimbulkan kerusakan pada benih yang dapat mempengaruhi perkecambahan. Konsentrasi

ini juga memberikan keseimbangan antara efektivitas dan keamanan bagi benih yang akan ditanam, konsentrasi larutan yang terlalu tinggi dapat meningkatkan risiko terjadinya kerusakan pada permukaan benih.

c. Sterilisasi Kedua Menggunakan Alkohol 70%

Benih yang telah dibilas dimasukkan ke dalam conical tube baru yang telah disterilisasi. Sebanyak 30 mL larutan alkohol 70% ditambahkan pada setiap conical tube hingga benih terendam sepenuhnya sambil dikocok secara perlahan selama 5 menit (Idris, 2025). Setelah itu, benih ditiriskan dengan hati-hati dan segera dibilas menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali untuk menghilangkan sisa alkohol yang mungkin tertinggal di permukaan benih.

Konsentrasi alkohol 70% digunakan karena merupakan konsentrasi optimal untuk membunuh mikroorganisme tanpa merusak benih. Pada konsentrasi ini, alkohol memiliki efek yang baik dalam melakukan pemecahan protein yang terdapat dalam mikroorganisme (Sari, 2023). Konsentrasi alkohol 70% dianggap lebih efektif dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi, seperti 95%, karena kadar yang terlalu tinggi dapat

menyebabkan koagulasi protein secara cepat, sehingga menghalangi penetrasi alkohol ke dalam sel. Pembilasan benih dengan akuades steril setelah proses sterilisasi bertujuan untuk memastikan bahwa tidak ada sisa alkohol yang tertinggal, yang dapat mempengaruhi kualitas benih.

d. Perendaman dalam Air Hangat

Setelah proses sterilisasi selesai, disiapkan akuades hangat bersuhu sekitar 40–50°C sebanyak 500 mL yang telah disterilisasi terlebih dahulu. Selanjutnya, sebanyak 700 benih kaliandra merah yang telah disterilisasi dibagi ke dalam tujuh conical tube steril, masing-masing berisi 100 benih, kemudian ditambahkan air hangat hingga benih terendam seluruhnya. Proses perendaman dilakukan selama 18 jam (Idris, 2025). Setelah proses perendaman selesai, benih ditiriskan secara hati-hati dan siap untuk diberikan perlakuan.

6. Aplikasi Inokulan pada Tanaman Kaliandra Merah

a. Seleksi Bakteri *Rhizobium* Potensial

Sebanyak 700 benih kaliandra merah digunakan dalam penelitian, dengan masing-masing perlakuan terdiri atas 100 benih (50 benih per ulangan, dengan total 2 ulangan) yang ditempatkan ke

dalam conical tube steril (setiap tabung berisi 50 benih), kemudian dalam setiap tabungnya ditambahkan masing-masing suspensi inokulan *Rhizobium* di dalamnya hingga benih terendam sepenuhnya. Untuk perlakuan kontrol dilakukan perendaman biji menggunakan akuades steril dengan volume yang sama hingga benih terendam sepenuhnya. Benih direndam selama 1 jam untuk memastikan penempelan bakteri pada permukaan benih. Selanjutnya, benih disemai pada media tanam berupa pasir zeolit steril yang telah disiapkan dalam tray semai.

Pengamatan terhadap tahap germinasi dilakukan dengan mengamati indeks dan persentase perkecambahan setiap harinya selama 21 hari di rumah kaca (Idris, 2025). Parameter yang diamati setiap hari selama 21 hari masa pengamatan adalah jumlah benih yang mengalami perkecambahan. Data jumlah benih yang berkecambah per hari, beserta hasil pengamatan pertumbuhan kecambah pada akhir periode perkecambahan, digunakan untuk menghitung persentase dan indeks perkecambahan, dengan rumus:

$$\text{Presentase perkecambahan} = \frac{\sum B_k}{\sum T_b} \times 100\%$$

(Talukdar, 2011)

Keterangan:

$\sum B_k$: Jumlah benih yang berkecambah

$\sum T_b$: Jumlah total benih yang disemai dalam percobaan.

$$\text{Indeks perkecambahan} = \frac{\sum G_t}{\sum T_t}$$

Carpici *et al.* (2009)

Keterangan:

$\sum G_t$: Jumlah total benih yang berkecambah pada hari ke-t

$\sum T_t$: Hari saat pengamatan dilakukan

Perawatan tanaman dilakukan dengan penyiraman satu kali sehari untuk menjaga kelembapan media. Spesies bakteri *Rhizobium* dengan hasil kinerja terbaik kemudian dipilih untuk tahap penelitian selanjutnya.

b. Optimalisasi Pertumbuhan Tanaman Kaliandra Merah

Setelah diperoleh bibit dari hasil perkecambahan benih pada perlakuan perendaman spesies *Rhizobium* dengan hasil terbaik, tahapan

berikutnya dilakukan dengan memindahkan bibit ke dalam polybag sebagai media tanam selanjutnya yang berisi media tanam steril sekam bakar dan cocopeat dengan perbandingan 1:3, yang sebelumnya telah dilakukan sebanyak 2 kali proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Bibit tanaman kaliandra merah dipindahkan secara hati-hati guna mencegah terjadinya kerusakan pada sistem perakarannya. Sebanyak 6 perlakuan digunakan dalam tahap penelitian ini, yang terdiri dari 4 perlakuan dengan pemberian inokulasi dari bakteri *Rhizobium* terbaik dengan dosis pupuk NPK yang berbeda, 1 perlakuan kontrol yaitu tanpa pemberian inokulasi dan tanpa pemberian pupuk NPK, dan 1 perlakuan dengan pemberian dosis pupuk NPK dosis normal tanpa pemberian inokulasi. Adapun perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut:

Kontrol: Tanpa inokulan dan tanpa pupuk NPK.

I0 : Pemberian inokulan + tanpa pupuk NPK.

I25 : Pemberian inokulan + pupuk NPK dosis 25%.

I50 : Pemberian inokulan + pupuk NPK dosis 50%.

I75 : Pemberian inokulan + pupuk NPK dosis 75%.

N100 : Tanpa inokulan + pupuk NPK dosis normal (100%).

Tanaman ditempatkan di area yang terlindung, dan dijaga kelembapan medianya. Inokulan *Rhizobium* terbaik kemudian diaplikasikan pada tanaman di dalam polybag dengan cara menambahkan sebanyak 20 mL suspensi inokulan pada area perakaran setiap tanaman sesuai perlakuan pada hari ketiga setelah dilakukan pemindahan media tanam. Untuk perlakuan kontrol, ditambahkan sebanyak 20 mL akuades steril pada area perakaran dengan cara yang sama.

7. Pemeliharaan Tanaman

Kegiatan penyiraman dilakukan secara rutin setiap pagi dengan frekuensi satu kali per hari dengan tujuan mempertahankan kelembapan media tanam pada tingkat yang optimal untuk mendukung pertumbuhan tanaman secara optimal. Banyaknya penyiraman disesuaikan dengan kebutuhan tanaman, dipastikan agar media tidak terlalu jenuh (basah) atau terlalu kering. Indikasi kelembapan media yang ideal adalah bila tidak ada air yang menggenang dan tekstur media terasa lembap saat disentuh. Pengecekan kondisi kelembaban dilakukan secara berkala. Jika media terlihat kering

sebelum jadwal penyiraman berikutnya, dilakukan penyiraman tambahan secukupnya.

Pengendalian hama dilakukan secara manual untuk mengurangi potensi kerusakan tanpa menggunakan bahan kimia. Pemeriksaan rutin pada tanaman dilakukan setiap 2–3 hari untuk memeriksa tanda-tanda serangan hama, seperti daun berlubang, bercak, atau adanya serangga kecil pada batang dan daun. Hama kecil yang ditemukan, seperti kutu daun atau ulat, dihilangkan secara manual dengan menggunakan pinset steril atau kapas yang dibasahi. Sedangkan pada bagian daun atau bagian tanaman yang terinfeksi berat harus dipangkas dan dibuang jauh dari area tanaman untuk mencegah penyebaran lebih lanjut.

8. Pengamatan

a. Durasi Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 10 minggu untuk mengevaluasi pertumbuhan dan perkembangan tanaman kaliandra merah dengan perlakuan inokulasi *Rhizobium* dengan dosis pupuk NPK yang berbeda.

b. Pengamatan Parameter Pertumbuhan

Pengukuran parameter pertumbuhan dilakukan setiap dua minggu sekali. Adapun parameter yang diukur meliputi:

1) Tinggi Tanaman

Pengukuran dilakukan dari pangkal batang hingga daun tertinggi dengan menggunakan penggaris. Seluruh pengukuran dilaksanakan pada waktu yang sama di setiap periode pengamatan untuk menjaga konsistensi data. Hasil pengukuran kemudian dicatat dalam satuan sentimeter (cm).

2) Jumlah Cabang

Jumlah cabang diamati secara manual melalui identifikasi jumlah percabangan primer yang muncul langsung dari batang utama dan memiliki titik tumbuh aktif. Pengamatan dilakukan secara berkala setiap dua minggu sekali pada waktu yang sama guna menjaga konsistensi data. Hasil penghitungan dicatat dalam satuan jumlah cabang per tanaman.

3) Jumlah Daun

Daun tanaman kaliandra merah termasuk dalam tipe daun majemuk menyirip ganda. Jumlah

daun dihitung dengan cara mengamati dan mencatat jumlah anak daun utama (pinnae) yang masih dalam kondisi utuh, sehat, dan masih menempel pada tangkai daun. Penghitungan dilakukan pada semua cabang primer dan batang utama setiap dua minggu sekali pada waktu yang sama. Daun yang sudah menguning atau rontok tidak dihitung. Hasil pencatatan dinyatakan dalam satuan lembar daun (pinnae) per tanaman.

4) Diameter Batang

Pengukuran diameter batang dilakukan dengan menggunakan jangka sorong pada pangkal batang untuk diperoleh data yang akurat. Pengukuran dilakukan untuk setiap tanaman pada akhir periode pengamatan (t-10). Hasil pengukuran dicatat dalam satuan milimeter (mm).

c. Pengamatan Bintil Akar

Setelah 10 minggu, dilakukan pengamatan jumlah bintil akar pada tanaman kaliandra merah yang terbentuk akibat simbiosis dengan bakteri *Rhizobium*. Kriteria bintil yang diamati yaitu memiliki bentuk yang bulat hingga oval, tidak rusak, atau terpotong, memiliki warna merah muda atau kemerahan yang menunjukkan aktivitas

leghemoglobin yang optimal, serta tidak berwarna coklat tua, hitam, atau sudah membusuk (Pamungkas, 2018).

d. Pengamatan Biomassa

Setelah 10 minggu, dilakukan pengukuran biomassa tanaman yang mencakup penimbangan berat kering dari beberapa komponen:

1) Tajuk

Seluruh bagian vegetatif tanaman, seperti daun dan batang dicuci di bawah air mengalir untuk menghilangkan kotoran serta sisa media tanam, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga tidak terdapat sisa air pada tanaman.

2) Akar

Pembersihan akar dilakukan menggunakan air mengalir untuk mengangkat kotoran serta sisa media tanam yang masih melekat, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga tidak terdapat sisa air yang menempel pada tanaman.

3) Total Tanaman

Jumlah total biomassa yang diperoleh dari pemotongan semua bagian tanaman, termasuk

tajuk dan akar tanaman kaliandra merah yang sudah dicuci bersih dan sudah diangin-anginkan kemudian dikeringkan di oven pada suhu 60°C selama 3 hari. Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan bobot kering masing-masing bagian tanaman. Setelah pengeringan, bobot kering dicatat dalam satuan gram (g) menggunakan timbangan analitik untuk masing-masing komponen biomassa (tajuk, akar, dan total tanaman).

H. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil inokulasi bakteri *Rhizobium* terhadap pertumbuhan tanaman kaliandra merah meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah cabang, diameter batang dan berat kering dari tajuk, akar, dan total tanaman dianalisis menggunakan metode *one-way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan aplikasi SPSS versi 22 pada tingkat signifikansi 95% ($P < 0,05$) untuk mengetahui perbedaan hasil perlakuan pemberian inokulan dan masing-masing konsentrasi pupuk NPK terhadap variabel yang diamati. Apabila hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan ditandai dengan nilai signifikansi $< 0,05$, dilakukann uji post-hoc menggunakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada tingkat signifikansi 5%

untuk membandingkan perbedaan antar perlakuan. Uji DMRT digunakan untuk menentukan perlakuan mana yang menunjukkan perbedaan signifikan di antara kelompok yang diuji. Sebelum dilakukan uji one-way ANOVA, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan Shapiro-Wilk atau Kolmogorov-Smirnov untuk mengevaluasi apakah data berdistribusi normal. Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka data dianggap terdistribusi normal dan uji ANOVA dapat digunakan. Sebaliknya, apabila nilai signifikansi $< 0,05$, yang menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal, maka analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakterisasi Bakteri *Rhizobium*

1. Kemampuan Penambatan Nitrogen (N)

Uji penambatan nitrogen dilakukan menggunakan media Burks agar terhadap keenam spesies bakteri *Rhizobium* yang diperoleh dari Indonesian Culture Collection (InaCC), yaitu *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (InaCC B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406).

Tabel 4. 1 Kemampuan Penambatan Nitrogen Keenam Spesies Bakteri *Rhizobium* dalam Media Burk's Agar

Nama Spesies	Keterangan
<i>Rhizobium leguminosarum</i> (InaCC B2)	+
<i>Rhizobium rosettiformans</i> (InaCC B1074)	+
<i>Rhizobium radiobacter</i> (InaCC B1162)	+
<i>Rhizobium tropici</i> (InaCC B1417)	+
<i>Rhizobium cellulosilyticum</i> (InaCC B42),	+
<i>Rhizobium caliandrae</i> (InaCC B1406).	+

Keterangan: +: positif; -: negatif

Hasil uji pertumbuhan keenam spesies bakteri *Rhizobium* pada media Burks agar menunjukkan bahwa keenam spesies yang diuji, yaitu *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (InaCC B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406), mampu menunjukkan pertumbuhan koloni yang mengindikasikan aktivitas penambatan nitrogen secara biologis. Pertumbuhan pada media Burks agar yang tidak mengandung sumber nitrogen terikat di dalamnya menunjukkan bahwa bakteri memiliki kemampuan untuk memfiksasi nitrogen dari atmosfer sebagai sumber nitrogen utama untuk menunjang kehidupannya.

Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya karakteristik diazotrofik, yaitu kemampuan organisme, khususnya bakteri dalam memfiksasi nitrogen bebas di atmosfer (N_2) menjadi amonia (NH_3), yang merupakan bentuk nitrogen yang dapat digunakan oleh tumbuhan (Lihan, 2021). Media Burks agar secara khusus dirancang untuk menguji kemampuan mikroorganisme penambat nitrogen, karena tidak mengandung sumber nitrogen terikat di dalamnya. Media ini memiliki

komposisi bahan-bahan yang dibutuhkan oleh bakteri selama proses pertumbuhannya, seperti Sukrosa, Magnesium sulfat, Kalsium karbonat, Natrium klorida, Natrium molibdat, dan lain-lain (Sudewi, 2024). Oleh karena itu, adanya pertumbuhan koloni pada media ini memperkuat dugaan bahwa bakteri tersebut bersifat diazotrofik, yaitu mampu mengkonversi nitrogen bebas (N_2) menjadi senyawa amonia yang dapat dimanfaatkan dalam metabolisme seluler.

Kemampuan bakteri tumbuh pada media tanpa nitrogen terlarut menjadi indikator utama bahwa keenam spesies bakteri *Rhizobium* yang diujikan memiliki aktivitas nitrogenase yang merupakan enzim kunci dalam proses fiksasi nitrogen biologis (Bloch, 2020). Aktivitas ini memungkinkan bakteri *Rhizobium* untuk hidup mandiri dalam kondisi nitrogen terbatas dan merupakan syarat penting dalam kemampuan bersimbiosis dengan tanaman leguminosae. Penelitian yang dilakukan oleh Sudewi *et al.* (2024) mengungkapkan bahwa kemampuan isolat bakteri untuk tumbuh pada media selektif tanpa kandungan nitrogen, seperti media Burk's, dapat dimanfaatkan sebagai pendekatan awal dalam proses seleksi isolat potensial penambat nitrogen. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa sebanyak 12 isolat bakteri mampu menunjukkan pertumbuhan pada media Burk's yang tidak mengandung nitrogen, dengan karakteristik morfologi dan sifat biokimia yang bervariasi. Kemampuan isolat untuk tumbuh pada media tanpa nitrogen menunjukkan potensi dalam melakukan fiksasi nitrogen, yang berperan dalam mendukung pertumbuhan serta perkembangan tanaman.

2. Aktivitas Pelarutan Fosfat (P)

Pengujian pelarutan fosfat dilakukan terhadap keenam spesies bakteri *Rhizobium* yang diperoleh dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC), yaitu *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (InaCC B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) yang ditumbuhkan pada media Pikovskaya agar dengan metode spot inoculation. Hasil uji ditunjukkan dengan melakukan pengukuran zona bening seperti pada Lampiran 3 setelah inkubasi selama 5 hari.

Indeks pelarutan (IP) dihitung berdasarkan perbandingan antara diameter zona bening yang muncul di sekitar koloni dengan diameter koloni bakteri itu

sendiri. Pengukuran IP fosfat dilakukan pada media padat Pikovskaya yang mengandung trikalsium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) sebagai sumber fosfor yang sukar larut, sehingga menyebabkan media tampak putih keruh dan tidak larut dalam air. Karakteristik ini menjadikan media Pikovskaya sebagai media indikator yang efektif untuk menyeleksi mikroorganisme yang memiliki kemampuan melarutkan senyawa fosfat maupun kalsium. Zona bening (*halo zone*) di sekitar koloni menunjukkan aktivitas bakteri pelarut fosfat yang mampu menghasilkan asam-asam organik, yang mengubah bentuk fosfat tidak larut menjadi bentuk terlarut. (Qingwei *et al.*, 2023).

Tabel 4. 2 Aktivitas Pelarutan Fosfat Keenam Bakteri *Rhizobium* dalam Media Pikovskaya

Nama Spesies	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)	Indeks Pelarutan Fosfat	Keterangan
<i>Rhizobium leguminosarum</i> (InaCC B2)	17,1	-	-	-
<i>Rhizobium rosettiformans</i> (InaCC B1074)	11,83	17,3	2,46	+

Tabel 4. 2 Lanjutan Aktivitas Pelarutan Fosfat Keenam
Bakteri *Rhizobium* dalam Media Pikovskaya

Nama Spesies	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)	Indeks Pelarutan Fosfat	Keterangan
<i>Rhizobium radiobacter</i> (InaCC B1162)	11,5	17	2,48	+
<i>Rhizobium tropici</i> (InaCC B1417)	12	16,8	2,40	+
<i>Rhizobium cellulosilyticum</i> (InaCC B42)	11,8	-	-	-
<i>Rhizobium caliandrae</i> (InaCC B1406)	8,5	-	-	-

Keterangan: +: positif; -: negatif

Hasil uji aktivitas pelarutan fosfat yang dilakukan pada media Pikovskaya agar menunjukkan bahwa spesies *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium tropici* (InaCC B1417) dan *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162) menunjukkan kemampuan membentuk zona bening di sekeliling koloni bakteri setelah inkubasi selama 5 hari. Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas pelarutan fosfat anorganik, khususnya trikalsium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)

yang merupakan satu-satunya sumber fosfor dalam media tersebut. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa indeks pelarutan fosfat (*Phosphate Solubilization Index*/PSI) untuk masing-masing spesies adalah bakteri *Rhizobium radiobacter* (B1162) menghasilkan nilai indeks sebesar 2,48, *Rhizobium rosettiformans* (B1074) menghasilkan nilai indeks 2,46, dan *Rhizobium tropici* (B1417) menghasilkan nilai indeks pelarutan paling sedikit yaitu sebesar 2,40. Berdasarkan klasifikasi aktivitas pelarutan fosfatnya, ketiga spesies bakteri *Rhizobium* tersebut dikategorikan memiliki kemampuan pelarutan fosfat yang rendah, namun tetap menunjukkan potensi dalam memobilisasi fosfor dari bentuk yang tidak tersedia menjadi bentuk yang dengan mudah dapat diserap oleh tanaman.

Terbentuknya zona bening (*halo zone*) di sekitar koloni bakteri pada media Pikovskaya merupakan indikator aktivitas pelarutan fosfat oleh mikroorganisme (Pande, 2017). Mekanisme ini terjadi akibat sekresi metabolit sekunder, seperti asam-asam organik dan enzim fosfatase, yang berperan dalam mengurai ikatan antara ion logam, terutama kalsium (Ca^{2+}), dengan fosfat yang tidak larut. Bakteri pelarut fosfat diketahui menghasilkan berbagai jenis asam organik, seperti asam

glukonat, asam format, 2-ketoglukonat, sitrat, oksalat, laktat, isovalerat, suksinat, glikolat, dan asetat (Pande, 2017).

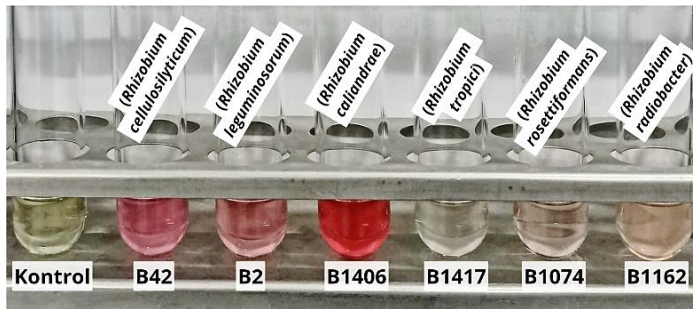
Asam organik yang dihasilkan oleh bakteri pelarut fosfat dapat menurunkan pH medium serta membentuk senyawa khelat dengan kation seperti Ca^{2+} , sehingga menyebabkan terlepasnya fosfat anorganik ke dalam bentuk yang lebih tersedia bagi tanaman. Fosfat yang telah larut ini kemudian menciptakan area jernih di sekitar koloni karena hilangnya endapan trikalium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) yang semula tidak larut. Temuan ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Kalayu (2019), yang menunjukkan bahwa pembentukan zona bening pada media bebas fosfat terlarut berkaitan erat dengan sekresi asam organik oleh mikroorganisme, yang mampu mendegradasi senyawa fosfat tidak larut melalui mekanisme pengasaman dan kelasi.

Meskipun nilai IP yang dihasilkan tergolong rendah, hasil ini tetap menunjukkan bahwa ketiga spesies *Rhizobium*, *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium tropici* (InaCC B1417) dan *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162) dari total enam spesies bakteri *Rhizobium* yang diujikan memiliki kemampuan

tambahan selain menambat nitrogen, yaitu mobilisasi unsur hara fosfor.

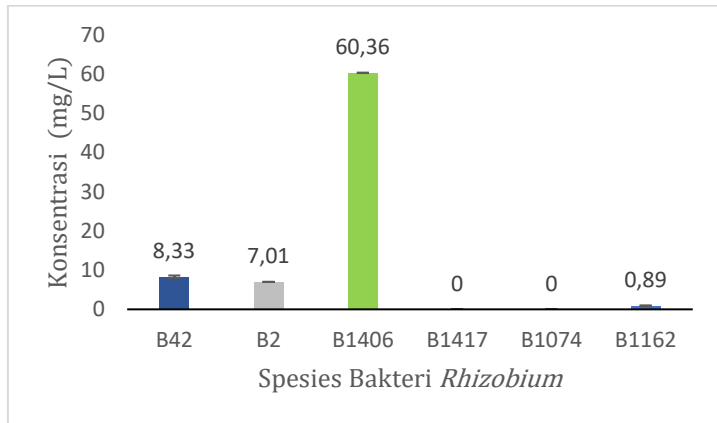
3. Produksi *Indole Acetid Acid* (IAA)

Produksi *Indole Acetid Acid* (IAA) pada keenam spesies bakteri *Rhizobium* yang diperoleh dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC), yaitu *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (InaCC B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) diuji secara kualitatif dan kuantitatif untuk mengetahui kemampuannya dalam menghasilkan IAA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua spesies dapat menghasilkan IAA. Uji kualitatif (Gambar 4.1) menunjukkan variasi intensitas warna supernatan yang konsisten dengan hasil kuantitatif, yaitu perbedaan kadar IAA yang dihasilkan oleh masing-masing spesies bakteri *Rhizobium*.



Gambar 4. 1 Analisis Kualitatif Produksi IAA oleh Keenam Spesies Bakteri *Rhizobium* menggunakan Reagen Salkowski

Pengujian dilakukan menggunakan metode kolorimetri yang diukur menggunakan kurva standar seperti pada Lampiran 4. Uji kualitatif kemampuan bakteri dalam memproduksi IAA dilakukan dengan mengamati perubahan warna supernatan menjadi merah muda. Semakin tinggi intensitas warna, semakin tinggi pula konsentrasi hormon yang dihasilkan (Haerani *et al.*, 2021).



Gambar 4. 2 Analisis Kuantitatif Produksi IAA oleh Bakteri *Rhizobium*

Berdasarkan gambar 4.1 dan 4.2 dapat diketahui bahwa keenam spesies bakteri *Rhizobium* menunjukkan kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan senyawa *Indole Acetic Acid* (IAA). Spesies *Rhizobium caliandrae* (B1406) menghasilkan warna merah muda yang lebih intens dan memiliki konsentrasi IAA tertinggi (60,36 mg/L), diikuti oleh spesies *Rhizobium cellulosilyticum* (B42) (8,33 mg/L) dan *Rhizobium leguminosorum* (B2) (7,01 mg/L). Sementara itu, konsentrasi terendah dimiliki oleh spesies *Rhizobium radiobacter* (B1162) (0,89 mg/L). Tidak semua spesies bakteri memiliki kemampuan untuk menghasilkan hormon IAA, sebagaimana terlihat pada spesies *Rhizobium tropici* (B1417) dan *Rhizobium rosettiformans* (B1074) yang

sama sekali tidak menunjukkan adanya produksi IAA (0 mg/L).

Jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bhatt *et al.* (2014), produksi IAA oleh tiga strain *Rhizobium* yang diisolasi dari bintil akar tanaman *Vigna radiata* L. (M1, M2, dan M3) menunjukkan hasil yang lebih tinggi, dengan konsentrasi masing-masing sebesar 103,5 mg/L, 98,5 mg/L, dan 75,9 mg/L setelah 24 jam inkubasi pada media yang diperkaya L-triptofan 15 µg/mL. Variasi ini disebabkan oleh perbedaan kemampuan mikroorganisme dalam mengubah triptofan menjadi IAA.

Produksi *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) oleh bakteri merupakan salah satu mekanisme bakteri dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman sehingga penting diketahui kemampuannya. IAA merupakan salah satu hormon pertumbuhan tanaman yang memiliki peran penting dalam merangsang pembelahan sel, memperpanjang pertumbuhan akar, serta mendukung proses perkembangan buah (Aloni, 2006). IAA diyakini aktif secara fisiologis bahkan pada konsentrasi rendah, sehingga organisme yang menghasilkan fraksi IAA kecil pun dapat berkontribusi pada kesehatan tanaman

(Rodrigues, 2018). Sebagaimana dilaporkan dalam penelitian sebelumnya, IAA yang diproduksi oleh rhizobakteri berperan penting dalam pemanjangan akar utama dan proliferasi akar lateral pada tanaman inang, serta berkontribusi dalam memediasi penyerapan air dan nutrisi (Bhat, 2023). Selain itu, IAA juga memengaruhi sinyal hormonal dari akar ke pucuk yang berperan dalam pengaturan pertumbuhan daun dan proses pertukaran gas (Akhtyamobva, 2023).

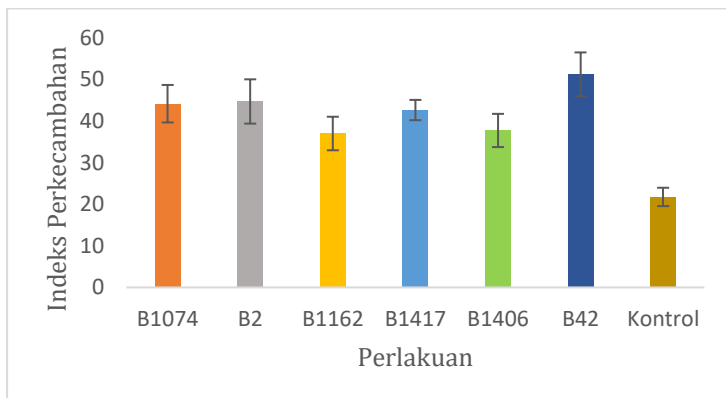
Hal tersebut dibuktikan oleh penelitian Cheng *et al.* (2024) yang mendapati bahwa konsorsium bakteri penghasil IAA secara signifikan meningkatkan pertumbuhan bibit kenari (*Juglans regia*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsorsium bakteri tersebut meningkatkan tinggi tanaman, panjang akar, serta bobot kering tanaman dibandingkan kontrol. *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, dan *Rhizobium* merupakan beberapa genus bakteri yang mampu memproduksi IAA (Di Benedetto *et al.*, 2017).

B. Seleksi Bakteri *Rhizobium* Potensial

Pada penelitian ini sebanyak 6 spesies bakteri *Rhizobium* yang diperoleh dari Indonesian Culture

Collection (InaCC), yaitu *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162), *Rhizobium tropici* (InaCC B1417), *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406), telah diuji kemampuannya dalam mendorong perkecambahan dan pertumbuhan benih tanaman kaliandra merah. Beberapa parameter proses perkecambahan yang diukur adalah indeks perkecambahan dan persentase perkecambahan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan inokulasi keenam spesies bakteri *Rhizobium* memberikan pengaruh yang beragam terhadap indeks perkecambahan benih tanaman kaliandra merah pada 21 Hari Setelah Tanam (HST), sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4. 3 Indeks Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah
21 Hari Setelah Tanam (HST)

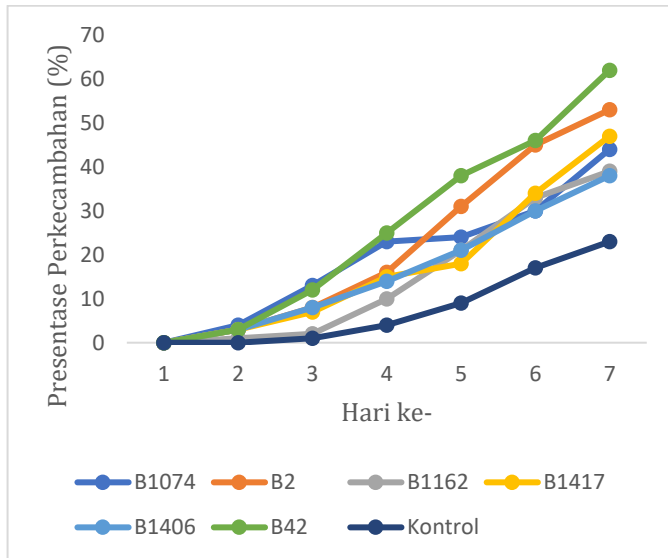
Berdasarkan Gambar 4.3, Perlakuan dengan penambahan bakteri *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) menunjukkan indeks perkecambahan tertinggi, yaitu dengan nilai indeks perkecambahan 51,2. Sebaliknya, perlakuan kontrol (tanpa inokulasi *Rhizobium*) menunjukkan indeks paling rendah, dengan nilai indeks perkecambahan 21,7.

Adapun spesies *Rhizobium* lainnya menunjukkan hasil yang bervariasi, di mana bakteri *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2) dan *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074) masing-masing memberikan nilai indeks sebesar 44,7 dan 44,1, yang tergolong tinggi dan mendekati bakteri dengan potensi terbaik dalam mendorong perkecambahan tanaman. Bakteri *Rhizobium tropici* (InaCC B1417) menghasilkan indeks sebesar 42,6, disusul oleh *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) dengan nilai indeks perkecambahan sebesar 37,7, serta *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162) yang memiliki indeks sebesar 36,9. Meskipun nilai indeks yang dihasilkan tidak setinggi spesies *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), keenam spesies bakteri *Rhizobium* tersebut tetap menunjukkan adanya pengaruh positif terhadap peningkatan indeks perkecambahan pada tanaman kaliandra merah jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini

mengindikasikan bahwa keberadaan *Rhizobium* dapat mendukung proses perkecambahan benih melalui perannya dalam sintesis hormon pertumbuhan dan peningkatan ketersediaan nutrisi pada fase awal pertumbuhan tanaman.

Hal tersebut dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rafique *et al.* (2022) pada tanaman chickpea, inokulasi benih dengan *Rhizobium* sp. strain CPRH-10 terbukti meningkatkan persentase perkecambahan hingga 92,6%, tinggi bibit mencapai 23,4 cm, dan panjang akar 15,9 cm dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan ini diduga disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam memproduksi hormon pertumbuhan, seperti auksin dan giberelin, yang berperan dalam merangsang proses germinasi dan fase awal pertumbuhan tanaman.

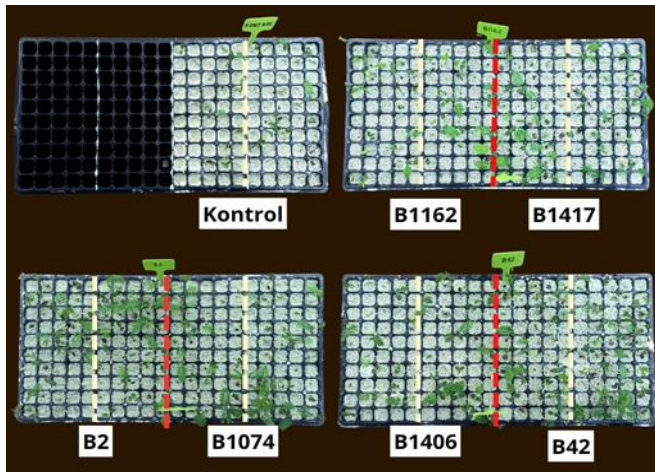
Pengamatan selama 7 Hari Setelah Tanam (HST) menunjukkan adanya variasi tingkat keberhasilan perkecambahan benih kaliandra merah akibat perlakuan inokulasi enam spesies bakteri *Rhizobium*. Rata-rata persentase perkecambahan benih pada masing-masing perlakuan pada hari ke-7 dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4. 4 Persentase Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah 7 Hari Setelah Tanam (HST)

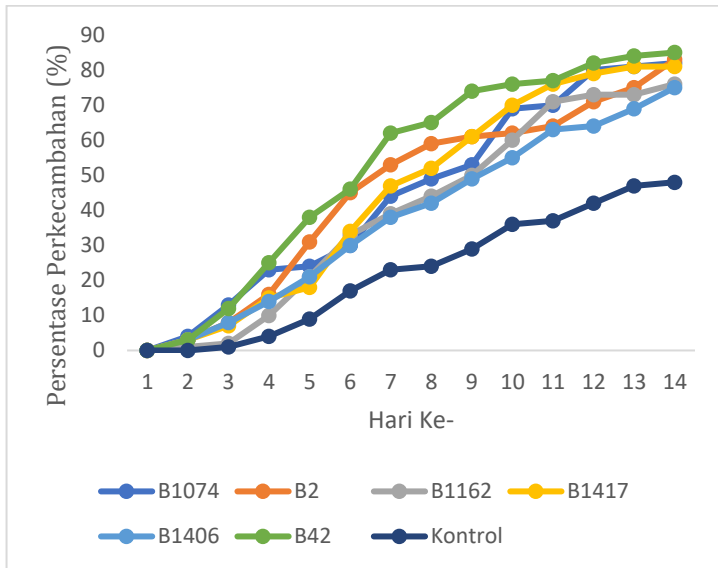
Gambar 4.4 menyajikan grafik persentase perkecambahan benih tanaman kaliandra merah selama 7 Hari Setelah Tanam (HST). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan Inokulasi spesies *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) menghasilkan persentase perkecambahan paling optimal dibandingkan dengan spesies lainnya. Inokulasi benih dengan spesies ini menunjukkan peningkatan signifikan sejak hari ketiga, dan mencapai persentase tertinggi sebesar 62% pada hari ketujuh.

Perlakuan dengan spesies bakteri *Rhizobium* lainnya menunjukkan persentase perkecambahan yang bervariasi. *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2) memberikan persentase tertinggi setelah *Rhizobium cellulosilyticum*, yaitu sebesar 53%, diikuti oleh *Rhizobium tropici* (InaCC B1417) sebesar 47%, *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074) sebesar 44%, *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162) sebesar 39%, dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) sebesar 38%. Sementara itu, perlakuan kontrol tanpa inokulasi menunjukkan persentase perkecambahan terendah, yaitu sebesar 23%. Hasil ini mengindikasikan bahwa *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) memiliki kemampuan paling optimal dalam mempercepat proses perkecambahan serta meningkatkan viabilitas benih kaliandra merah secara signifikan dibandingkan perlakuan lainnya.



Gambar 4. 5. Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah Hari ke-7

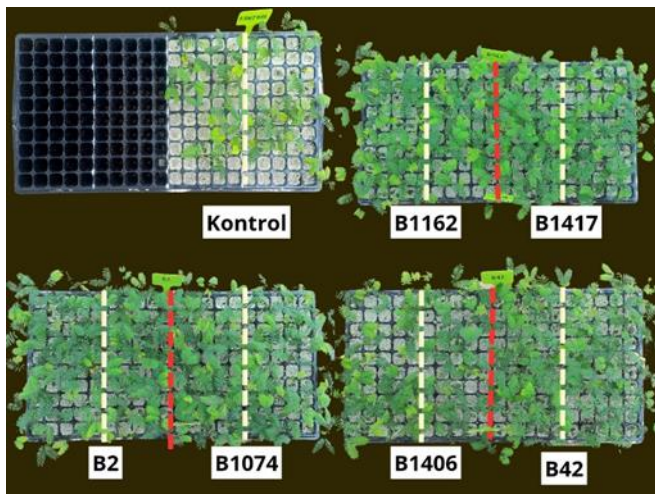
Pengamatan selama 14 Hari Setelah Tanam (HST) menunjukkan adanya variasi tingkat keberhasilan perkecambahan benih kaliandra merah akibat perlakuan inokulasi enam spesies bakteri *Rhizobium*. Rata-rata persentase perkecambahan benih pada masing-masing perlakuan pada hari ke-14 dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4. 6 Persentase Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah 14 Hari Setelah Tanam (HST)

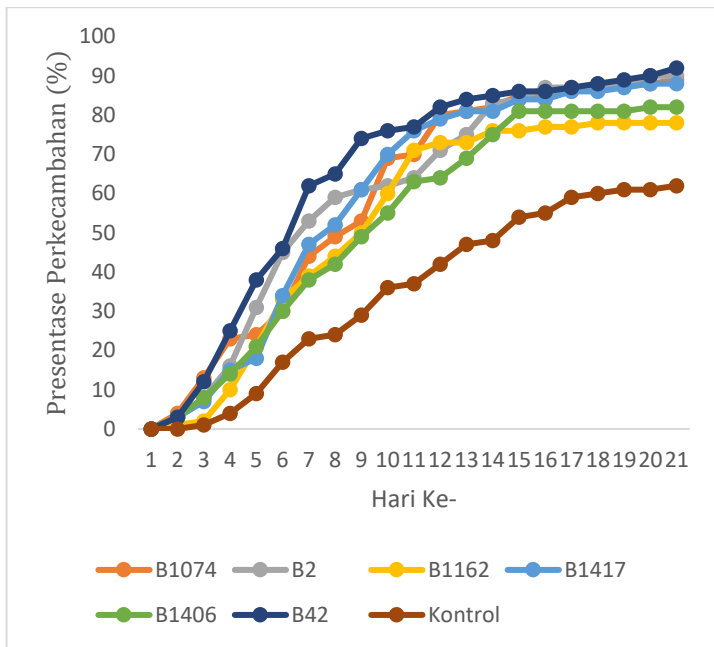
Gambar 4.6 menunjukkan pola peningkatan rata-rata persentase perkecambahan benih kaliandra merah hingga 14 Hari Setelah Tanam (HST) pada tujuh perlakuan, yang terdiri atas enam perlakuan dengan inokulasi bakteri *Rhizobium* dengan spesies yang berbeda dan satu perlakuan kontrol tanpa inokulasi. Perlakuan menggunakan spesies *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) menunjukkan kinerja paling optimal dibandingkan dengan perlakuan lainnya, dengan persentase perkecambahan yang meningkat secara konsisten sejak hari pertama hingga mencapai 85% pada hari ke-14. Sebaliknya, perlakuan

dengan pemberian bakteri *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), dan *Rhizobium tropici* (InaCC B1417) menghasilkan persentase perkecambahan yang relatif lebih rendah dan tidak berbeda secara signifikan, yaitu dengan hasil masing-masing sebesar 83%, 82%, dan 81% pada hari ke-14. Adapun perlakuan dengan spesies lainnya, seperti *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162) dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406), berada pada kisaran menengah dengan persentase perkecambahan masing-masing sebesar 76% dan 75%. Perlakuan kontrol tanpa inokulasi mencatatkan tingkat perkecambahan paling rendah, yaitu sebesar 48%.



Gambar 4. 7 Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah Hari ke-14.

Pengamatan selama 21 hari setelah tanam (HST) menunjukkan adanya variasi tingkat keberhasilan perkecambahan benih kaliandra merah akibat perlakuan inokulasi bakteri *Rhizobium* dengan enam spesies yang berbeda. Rata-rata persentase perkecambahan benih pada masing-masing perlakuan pada hari ke-21 dapat dilihat pada Gambar 4.8.



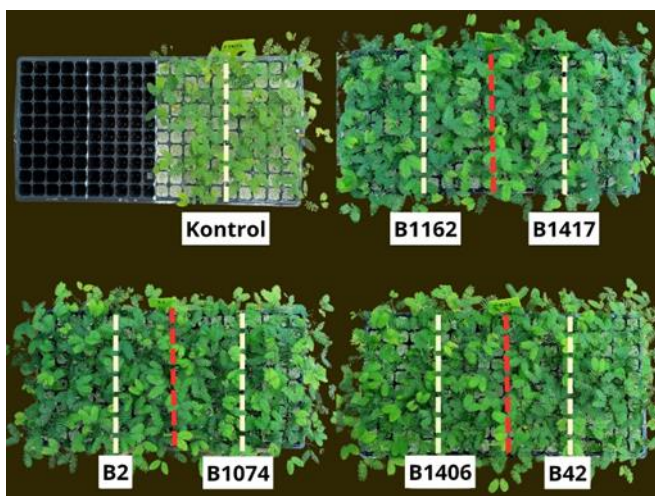
Gambar 4. 8 Persentase Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah 21 Hari Setelah Tanam (HST)

Hasil pengamatan selama 21 hari setelah tanam (HST) menunjukkan bahwa inokulasi keenam spesies *Rhizobium*

berpengaruh nyata terhadap peningkatan indeks dan persentase perkecambahan benih kaliandra merah apabila dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Grafik persentase perkecambahan pada 21 hari setelah tanam menunjukkan bahwa perlakuan dengan inokulasi spesies *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) menghasilkan persentase perkecambahan yang paling tinggi dan paling cepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Persentase perkecambahan pada perlakuan inokulasi menggunakan *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) mulai tampak sejak hari ke-3 dan mengalami peningkatan yang tajam mencapai 62% pada hari ke-7, hari ke-10 mencapai 76%, kemudian terus meningkat hingga mencapai 85% pada hari ke-14, hingga laju pertambahan persentase perkecambahan melambat dan terus mengalami peningkatan bertahap hingga mencapai 92% pada hari ke-21.

Perlakuan lainnya, yaitu inokulasi dengan spesies *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2), *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074), dan *Rhizobium tropici* (InaCC B1417) juga menunjukkan pola perkecambahan yang relatif cepat dan konsisten, dengan nilai akhir berturut-turut sebesar 90%, 89%, dan 88%. Sementara itu, spesies *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) dan *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162) menunjukkan laju

perkecambahan yang lebih lambat dengan masing-masing persentase 82% dan 78% pada hari ke-21. Adapun perlakuan kontrol (tanpa inokulasi bakteri *Rhizobium*) menunjukkan laju perkecambahan yang paling rendah dan berlangsung secara bertahap dengan puncaknya hanya mencapai 62% hingga akhir periode pengamatan pada 21 Hari Setelah Tanam (HST).



Gambar 4. 9 Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah Hari ke-21

Hasil penelitian yang ditunjukkan pada Gambar 4.4, 4.6, dan 4.8 menunjukkan bahwa inokulasi benih kaliandra merah dengan bakteri *Rhizobium* memberikan pengaruh signifikan terhadap peningkatan indeks dan persentase perkecambahan dibandingkan dengan perlakuan kontrol

(tanpa inokulan). Berdasarkan hasil dari enam spesies yang diuji, *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) menunjukkan respons paling menonjol dengan nilai indeks perkecambahan tertinggi sebesar 51,2. Persentase perkecambahan mencapai 62% pada hari ke-7, mengalami peningkatan secara konsisten hingga mencapai 85% pada hari ke-14, kemudian laju peningkatannya melambat dan bertambah secara bertahap hingga mencapai 92% pada hari ke-21.

Secara fisiologis, peningkatan indeks dan persentase perkecambahan ini dapat dikaitkan dengan kemampuan bakteri *Rhizobium* dalam memproduksi senyawa pemacu pertumbuhan seperti auksin, sitokinin, dan giberelin, serta peranannya dalam meningkatkan ketersediaan nitrogen dan nutrisi lain yang penting pada fase awal pertumbuhan tanaman (Qureshi *et al.*, 2017). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Igiehon *et al.* (2019) menunjukkan bahwa beberapa strain *Rhizobium*, khususnya strain R1 (*Rhizobium* sp.) dan R3 (*Rhizobium cellulosilyticum*), mampu meningkatkan persentase perkecambahan tanaman kedelai (*Glycine max*) pada kondisi cekaman kekeringan yang disimulasikan menggunakan 4% polyethylene glycol (PEG). Peningkatan ini dikaitkan dengan kemampuan isolat tersebut dalam menghasilkan senyawa pemacu tumbuh

seperti *indole-3-acetic acid* (IAA), siderofor, serta gen-gen yang berperan dalam proses fiksasi nitrogen. Berdasarkan penelusuran literatur yang telah dilakukan, hingga saat ini belum ditemukan penelitian terdahulu yang secara khusus mengkaji potensi dari spesies bakteri *Rhizobium cellulosilyticum* dalam mendorong proses pertumbuhan benih tanaman kaliandra merah.

Meskipun terdapat beberapa studi yang menunjukkan kemampuan spesies *Rhizobium cellulosilyticum* dalam meningkatkan perkecambahan tanaman lain, seperti yang dilaporkan oleh Igiehon *et al.* (2019) pada tanaman kedelai (*Glycine max*) di bawah cekaman kekeringan, belum ada penelitian yang melaporkan aplikasinya secara langsung pada benih tanaman kaliandra merah. Dengan demikian, hasil penelitian ini dapat dikategorikan sebagai temuan awal yang memberikan bukti empiris pertama mengenai efektivitas spesies bakteri *Rhizobium cellulosilyticum* dalam meningkatkan indeks dan persentase perkecambahan benih tanaman kaliandra merah. Temuan ini sekaligus membuka peluang pemanfaatan bakteri tersebut sebagai bioinokulan potensial dalam pengembangan teknologi perbenihan tanaman kaliandra merah sebagai tanaman energi yang mendorong perkebunan berkelanjutan.

Jika dibandingkan dengan spesies lainnya, seperti *Rhizobium leguminosarum* (InaCC B2) dan *Rhizobium rosettiformans* (InaCC B1074) yang juga menunjukkan performa baik dengan indeks masing-masing 44,7 dan 44,1 serta persentase perkecambahan 90% dan 89%, spesies *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) tetap lebih unggul secara konsisten baik dalam hal kecepatan maupun keberhasilan akhir proses perkecambahan. Sementara itu, spesies *Rhizobium radiobacter* (InaCC B1162) dan *Rhizobium caliandrae* (InaCC B1406) menunjukkan hasil yang relatif lebih rendah dan mendekati kontrol, sehingga kurang direkomendasikan untuk tahap penelitian selanjutnya.

Keunggulan spesies *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) dalam mempercepat dan meningkatkan jumlah kecambah erat kaitannya dengan kemampuannya dalam mensintesis fitohormon seperti *indole-3-acetic acid* (IAA), serta meningkatkan ketersediaan unsur hara makro seperti nitrogen melalui fiksasi nitrogen biologis (Igiehon, 2019). Kedua mekanisme ini berperan penting dalam mendukung proses imbibisi, pembelahan sel, dan pemanjangan embrio, yang merupakan tahapan kunci dalam keberhasilan proses perkecambahan.

Xia *et al.* (2021) melaporkan bahwa strain bakteri yang memiliki kemampuan memfiksasi nitrogen, menghasilkan fitohormon seperti IAA, serta memproduksi enzim ACC deaminase yang berperan penting dalam menurunkan tekanan stres pada tanaman. Enzim ACC deaminase bekerja dengan cara mengkatalisis pemecahan 1-aminosiklopropana-1-karboksilat (ACC), yang merupakan prekursor utama hormon etilen, menjadi α -ketobutirat dan amonia. Dalam penelitian tersebut, bakteri *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* terbukti efektif dalam meningkatkan laju perkecambahan serta mempercepat waktu kemunculan kecambah pada berbagai jenis tanaman, seperti kedelai, kacang faba, gandum, dan kacang polong. Temuan ini menunjukkan potensi aplikatif mikroorganisme tersebut sebagai bioinokulan untuk mendukung pertumbuhan tanaman secara alami dan berkelanjutan.

Dengan mempertimbangkan kinerja unggul yang ditunjukkan oleh *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) dalam mendukung proses perkecambahan benih kaliandra merah, baik dari segi indeks maupun persentase kecambah yang muncul selama 21 Hari Setelah Tanam (HST), spesies ini dipilih sebagai kandidat dengan hasil terbaik untuk digunakan pada tahap penelitian selanjutnya. *Rhizobium*

cellulosilyticum (InaCC B42) terbukti mampu mempercepat waktu munculnya kecambah serta meningkatkan jumlah kecambah secara signifikan, terutama pada minggu pertama pertumbuhan yang merupakan fase kritis dalam siklus hidup tanaman. Pemilihan ini didasarkan pada prinsip bahwa keberhasilan fase awal pertumbuhan, khususnya saat perkecambahan, berperan penting dalam menentukan kemampuan adaptasi tanaman di lingkungan lahan marginal serta menjadi fondasi utama bagi pertumbuhan vegetatif dan produksi biomassa yang optimal pada tahap berikutnya (Kim *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2020).

Hasil ini menunjukkan bahwa inokulasi benih kaliandra merah dengan bakteri *Rhizobium*, khususnya spesies *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42), mampu mempercepat dan meningkatkan keberhasilan proses perkecambahan. Perlakuan ini berpotensi memperbaiki kualitas pertumbuhan awal tanaman, yang merupakan tahap krusial dalam pengembangan kebun energi berkelanjutan pada lahan marginal.

C. Efektivitas Bakteri *Rhizobium* Potensial terhadap Pertumbuhan dan Produksi Biomassa Tanaman Kaliandra Merah

Aktivitas bakteri *Rhizobium* terhadap pertumbuhan dan produksi biomassa tanaman kaliandra merah diamati selama 10 minggu. Parameter pertumbuhan yang diamati meliputi jumlah daun, jumlah cabang, tinggi tanaman, dan diameter batang. Selain itu, jumlah bintil akar juga diamati sebagai indikator keberhasilan nodulasi akibat infeksi oleh bakteri *Rhizobium*. Adapun parameter biomassa tanaman yang diukur mencakup berat kering akar, berat kering tajuk, dan berat kering total tanaman.

Pemilihan waktu pengamatan dilakukan selama 10 minggu didasarkan pada fase awal pertumbuhan kaliandra merah yang merupakan periode penting dalam pembentukan sistem perakaran, perkembangan tajuk, serta akumulasi biomassa awal. Prabowo *et al.* (2021) melaporkan bahwa dalam rentang waktu tersebut, terjadi peningkatan signifikan pada tinggi dan biomassa tanaman kaliandra merah, sehingga durasi tersebut dianggap representatif untuk mengevaluasi efektivitas inokulasi sebelum tanaman memasuki fase pertumbuhan lebih lanjut.



Gambar 4. 10 Pertumbuhan Tanaman Kaliandra Merah pada Akhir Periode Pengamatan (Minggu ke-10) dari Masing-Masing Perlakuan

1. Pertumbuhan Tanaman

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi bakteri *Rhizobium* memberikan pengaruh nyata terhadap parameter pertumbuhan tanaman kaliandra merah meliputi jumlah daun, jumlah cabang, tinggi tanaman dan diameter akhir batang. Pengamatan dilakukan selama sepuluh minggu (T0-T10) dengan enam perlakuan, yaitu kontrol (tanpa inokulasi dan tanpa pupuk NPK), inokulasi *Rhizobium* tanpa tambahan pupuk NPK (I0), inokulasi *Rhizobium* dengan pemberian dosis pupuk NPK bertingkat (I25, I50, I75), dan perlakuan pemberian pupuk NPK dengan dosis normal tanpa inokulan (N100). Pengaruh enam perlakuan, berupa inokulasi bakteri *Rhizobium* dengan kombinasi dosis pupuk yang berbeda, terhadap pertumbuhan daun,

cabang dan tinggi tanaman kaliandra merah disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Hasil Pengukuran Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman Kaliandra Merah pada Minggu ke-10

Perlakuan	Jumlah Daun	Jumlah Cabang	Tinggi Tanaman (cm)
K	17,57±7,87a	6,00±2,30a	10,20±1,83a
I0	30,28±10,89a	8,42±1,81b	12,80±2,69b
I25	73,57±11,91b	12,28±1,79c	22,57±3,09d
I50	71,42±18,82b	11,14±1,13c	22,57±5,25d
I75	75,42±17,42b	11,28±0,89c	23,71±4,09d
N100	63,00±18,28b	11,71±1,79c	17,00±5,08c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf sama dalam baris tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada DMRT taraf 5%.

Deskripsi Perlakuan: K (kontrol, tanpa inokulan dan tanpa pupuk NPK), I0 (inokulan tanpa pupuk), I25, I50, dan I75 (inokulan dengan pupuk NPK masing-masing dosis 25%, 50%, dan 75%), serta N100 (pupuk NPK dosis penuh tanpa inokulan).

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa jumlah daun tertinggi diperoleh pada perlakuan I75 sebesar (75,42 helai), diikuti oleh I25 (73,57 helai), I50 (71,42 helai), N100 (63,00 helai), dan I0 (30,28 helai). Perlakuan kontrol menghasilkan jumlah daun paling rendah, yaitu (17,57 helai). Hasil uji ANOVA yang tercantum pada

Lampiran 15 menunjukkan adanya pengaruh nyata antar perlakuan terhadap parameter jumlah daun, dengan nilai signifikansi 0,000. Daun yang dihitung dalam penelitian ini merupakan daun majemuk bertipe bipinnate, yaitu satu kesatuan daun lengkap yang tersusun atas sejumlah anak daun (pinnae). Jumlah daun dinyatakan dalam satuan helai, di mana setiap satu daun majemuk dihitung sebagai satu helai daun.

Hasil uji lanjutan DMRT menunjukkan bahwa perlakuan *Rhizobium* tanpa pemberian pupuk (I0) tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (K) (tanpa inokulan dan pupuk). Sementara itu perlakuan *Rhizobium* yang dikombinasikan dengan dosis pupuk yang berbeda (I25, I50 dan I75), tidak berbeda nyata dengan perlakuan pemberian pupuk dosis normal (100%) tanpa inokulan (N100). Temuan ini mengindikasikan bahwa kombinasi inokulasi *Rhizobium* dengan dosis pupuk yang lebih rendah, yaitu 25% dari dosis normal, sudah mampu memberikan respon pertumbuhan jumlah daun yang setara dengan penggunaan pupuk anorganik dosis penuh pada tanaman kaliandra merah.

Bakteri *Rhizobium* berperan signifikan dalam sistem pertanian melalui kemampuannya membentuk hubungan simbiosis dengan berbagai tanaman leguminosae yang memungkinkan terjadinya fiksasi nitrogen secara biologis (Yadav, 2021). *Rhizobium* membentuk hubungan simbiosis dengan akar tanaman leguminosae melalui pembentukan struktur bintil akar (nodul) yang berfungsi sebagai tempat berlangsungnya fiksasi nitrogen di atmosfer menjadi bentuk yang tersedia bagi tanaman (seperti ammonium). Nitrogen merupakan unsur hara utama dalam pembentukan klorofil dan sintesis protein, yang penting dalam proses fotosintesis serta pembelahan dan pemanjangan sel daun (Pramitasari, 2016).

Peningkatan kadar klorofil pada daun dapat mempercepat laju fotosintesis. Semakin tinggi aktivitas fotosintesis, maka pertumbuhan dan hasil tanaman cenderung meningkat (Prabowo, 2022). Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Sari *et al.* (2015), yang menunjukkan bahwa inokulasi bakteri *Rhizobium* secara signifikan meningkatkan jumlah daun pada tanaman kedelai hitam varietas Detam 1, khususnya pada perlakuan dengan dosis 5 g kg⁻¹ benih

yang dikombinasikan dengan penggunaan mulsa jerami padi.

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah cabang tertinggi diperoleh dari perlakuan I25 sebanyak (12,28 cabang), diikuti oleh perlakuan N100 (11,71 cabang), I75 (11,28 cabang), I50 (11,14 cabang), I0 (8,42 cabang), dan perlakuan kontrol menunjukkan hasil terendah jumlah cabang dengan hasil (6,00 cabang). Hasil uji ANOVA yang tercantum pada Lampiran 15 menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antar perlakuan terhadap parameter jumlah cabang.

Hasil uji lanjutan DMRT menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan inokulan *Rhizobium* tanpa pupuk (I0) memberikan hasil jumlah cabang yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan kontrol (K) tanpa inokulasi dan pupuk. Hal ini mengindikasikan adanya efek positif dari aplikasi *Rhizobium* dalam mendorong pertumbuhan jumlah cabang tanaman kaliandra merah. Sementara itu, perlakuan *Rhizobium* yang dikombinasikan dengan dosis pupuk yang berbeda (I25, I50, dan I75) tidak berbeda nyata dengan perlakuan pupuk dosis penuh (N100). Temuan ini menunjukkan bahwa dengan penambahan sedikit pupuk saja (25%

dari dosis normal) yang dikombinasikan dengan inokulasi bakteri *Rhizobium* dapat memberikan respon yang efektif dalam mendukung pertumbuhan jumlah cabang pada tanaman kaliandra merah. Hasilnya dapat menyamai pertumbuhan dengan pemberian dosis pupuk 100%.

Jumlah cabang tanaman berkaitan erat dengan keseimbangan hormonal, khususnya antara auksin dan sitokinin. *Rhizobium* mampu menghasilkan fitohormon, seperti auksin (IAA), yang merangsang pembelahan sel, serta meningkatkan aktivitas enzim yang terlibat dalam perkembangan jaringan meristem. Inokulasi *Rhizobium* meningkatkan pembentukan bintil dan serapan nitrogen, yang pada gilirannya mendorong pertumbuhan tunas lateral dan percabangan (Yadav, 2020). Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan Susilo (2018) yang menunjukkan bahwa aplikasi *Rhizobium* secara signifikan meningkatkan jumlah cabang tanaman kacang tanah pada umur 7 Minggu Setelah Tanam (MST). Perlakuan dengan *Rhizobium* menghasilkan rata-rata jumlah cabang sebanyak 5,56 batang, yang berbeda nyata dibandingkan perlakuan tanpa inokulasi.

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa pada minggu ke-10, perlakuan *Rhizobium* yang dikombinasikan dengan pupuk NPK memberikan pengaruh positif terhadap rata-rata tinggi tanaman kaliandra merah dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Rata-rata tinggi tanaman tertinggi secara berurutan diperoleh perlakuan I75 dengan tinggi (23,71 cm), diikuti oleh I25 dan I50 yang menunjukkan hasil yang sama, yaitu (22,57 cm). Perlakuan N100 menghasilkan tinggi tanaman sebesar (17,00 cm), sementara perlakuan I0 menghasilkan tinggi (12,80 cm). Perlakuan kontrol mencatatkan rata-rata tinggi tanaman dengan nilai paling rendah, yaitu (10,20 cm). Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan antarperlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter pertumbuhan tinggi tanaman (Lampiran 15).

Hasil uji lanjut DMRT dengan taraf 5% menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan inokulan *Rhizobium* tanpa pupuk (I0) menghasilkan tinggi tanaman yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan kontrol (K), tanpa pemberian inokulan dan pupuk. Temuan ini mengindikasikan adanya pengaruh positif dari inokulasi bakteri *Rhizobium* dalam mendorong pertumbuhan tinggi tanaman kaliandra merah. Sementara itu, perlakuan

kombinasi *Rhizobium* dengan dosis pupuk yang berbeda (I25, I50, dan I75) memberikan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan pemberian pupuk dosis penuh (N100). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi inokulasi *Rhizobium* dengan dosis pupuk di bawah 100% terbukti lebih efektif dalam meningkatkan tinggi tanaman dibandingkan penggunaan pupuk NPK dosis penuh (100%).

Pertumbuhan tinggi tanaman sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nitrogen dalam jumlah yang memadai, karena unsur hara ini berperan penting dalam menunjang proses pembelahan dan pemanjangan sel. Nitrogen berfungsi merangsang pertumbuhan vegetatif secara keseluruhan, terutama pada bagian batang, yang secara langsung berdampak pada peningkatan tinggi tanaman (Azlansyah, 2014). Selama fase pertumbuhan vegetatif, tanaman sangat membutuhkan nitrogen untuk mengoptimalkan aktivitas metabolisme dan sintesis protein. Sari *et al.* (2017) menegaskan bahwa proses pembelahan sel berlangsung lebih intensif apabila unsur nitrogen tersedia dalam jumlah yang cukup, sehingga mendorong pertumbuhan batang dan peningkatan tinggi tanaman.

Nitrogen merupakan salah satu unsur hara makro esensial yang diperlukan tanaman dalam jumlah relatif besar. Defisiensi nitrogen dapat menghambat proses pertumbuhan tanaman, yang ditandai dengan pertumbuhan yang lambat dan ukuran tanaman yang lebih kecil atau kerdil (Wijiyanti, 2019). Sari *et al.* (2015) melaporkan bahwa bakteri *Rhizobium* yang bersimbiosis dengan akar tanaman leguminosae memiliki kemampuan untuk mengikat nitrogen atmosfer dan mengubahnya menjadi amonia (NH_3). Amonia tersebut kemudian diubah menjadi asam amino serta senyawa nitrogen lainnya yang diperlukan tanaman dalam proses pertumbuhan dan perkembangan. Efektivitas bakteri ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Marwan *et al.* (2019), yang menunjukkan bahwa perlakuan benih dengan inokulan *Rhizobium* mampu meningkatkan tinggi tanaman kacang tanah sebesar 4,90% hingga 33,93% dibandingkan dengan tanaman yang tidak diberi perlakuan biologis.

Kombinasi antara pemberian pupuk NPK dan inokulasi bakteri *Rhizobium* terbukti memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan tanaman kaliandra merah, serta berpotensi mengurangi penggunaan pupuk hingga 75%. Perlakuan I25, I50, dan

I75 tidak menunjukkan perbedaan yang cukup signifikan terhadap parameter jumlah daun dan jumlah cabang jika dibandingkan dengan perlakuan pupuk dosis penuh (N100). Namun, pada parameter tinggi tanaman, ketiga perlakuan tersebut menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan hasil lebih tinggi dibandingkan perlakuan N100. Temuan ini menunjukkan bahwa inokulasi *Rhizobium* yang dikombinasikan dengan dosis pupuk anorganik yang lebih rendah tidak hanya mampu mempertahankan pertumbuhan tanaman secara optimal, tetapi dalam beberapa aspek juga dapat melampaui efektivitas penggunaan pupuk dengan dosis penuh (100%). Dengan demikian, strategi ini dinilai efisien dan berpotensi mendukung praktik budidaya tanaman yang lebih berkelanjutan.

Aktivitas keenam perlakuan dengan pemberian bakteri *Rhizobium* yang dikombinasikan dengan dosis pupuk yang berbeda terhadap diameter batang tanaman kaliandra merah ditunjukkan pada Tabel 4.4

Tabel 4. 4 Hasil Pengukuran Diameter Batang Akhir pada Tanaman Kaliandra Merah.

Perlakuan	Diameter (mm)
K	0,90±0,18a
I0	1,38±0,28a
I25	2,23±0,27bc
I50	2,12±0,51bc
I75	2,60±0,55c
N100	1,90±0,75b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf sama dalam baris tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada DMRT taraf 5%.

Deskripsi Perlakuan: **K** (kontrol, tanpa inokulan dan tanpa pupuk NPK), **I0** (inokulan tanpa pupuk), **I25**, **I50**, dan **I75** (inokulan dengan pupuk NPK masing-masing dosis 25%, 50%, dan 75%), serta **N100** (pupuk NPK dosis penuh tanpa inokulan).

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa pada minggu ke-10, perlakuan kombinasi *Rhizobium* dengan pupuk NPK memberikan pengaruh positif terhadap hasil pengukuran diameter batang tanaman kaliandra merah. Diameter batang tertinggi secara berurutan diperoleh pada perlakuan I75 (2,60 mm), diikuti perlakuan I25 (2,23 mm), I50 (2,12 mm), N100 (1,90 mm), I0 (1,38 mm), dan perlakuan kontrol dengan hasil pengukuran paling rendah, yaitu sebesar (0,90 mm). Hasil uji ANOVA pada Lampiran 18 menunjukkan pengukuran diameter batang antarperlakuan berbeda nyata.

Hasil uji lanjutan DMRT menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan inoculan *Rhizobium* tanpa tambahan pupuk (I0) tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (K). Temuan ini mengindikasikan bahwa inoculasi *Rhizobium* saja belum cukup untuk meningkatkan diameter batang secara signifikan. Sementara itu, kombinasi *Rhizobium* dengan pupuk NPK dosis 25% (I25) dan 50% (I50) tidak berbeda nyata dengan perlakuan pemberian pupuk dosis penuh (N100).

Hal ini menunjukkan bahwa pemupukan dengan dosis lebih rendah (25%) yang dikombinasikan dengan *Rhizobium* sudah mampu menyamai efektivitas pemupukan 100%. Perlakuan I25 dan I50 juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi *Rhizobium* dengan pupuk NPK dosis 75% (I75) yang menandakan bahwa peningkatan dosis pupuk hingga 75% tidak memberikan peningkatan diameter batang yang signifikan dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah. Dengan demikian, kombinasi inoculan *Rhizobium* dan pupuk dosis 25% dinilai cukup efektif dalam meningkatkan diameter batang tanaman kaliandra merah secara optimal.

Secara fisiologis, peningkatan diameter batang berkaitan erat dengan aktivitas kambium, yaitu jaringan meristematik lateral yang berperan dalam proses pertumbuhan sekunder tanaman (Giawa, 2025). Inokulasi bakteri *Rhizobium* pada media tanam dapat meningkatkan aktivitas mikroba di zona perakaran, yang selanjutnya merangsang pertumbuhan tanaman secara keseluruhan. Ketersediaan unsur hara nitrogen yang mencukupi turut berkontribusi terhadap peningkatan kadar nitrogen total dalam jaringan tanaman, serta mempertahankan proses fotosintesis secara optimal (Haryadi *et al.*, 2015).

Produk hasil fotosintesis kemudian didistribusikan ke seluruh organ tanaman, baik pada fase vegetatif, seperti pertumbuhan tinggi dan diameter batang, maupun fase generatif (Garfansa & Sukma, 2021). Oleh karena itu, pemanfaatan *Rhizobium* sp. sebagai pupuk hayati (biofertilizer) menjadi salah satu pendekatan alternatif yang efektif untuk meningkatkan produktivitas tanaman, baik pada tanaman leguminosae maupun non-leguminosae (Zaim *et al.*, 2017). Penelitian oleh Widodo *et al.* (2024) pada tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* L.) menunjukkan bahwa aplikasi *Rhizobium* sp. yang berasal dari rhizosfer tanaman

jagung mampu meningkatkan diameter batang secara signifikan, dengan nilai rata-rata sebesar 28,28 mm.

2. Biomassa Tanaman

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi bakteri *Rhizobium* memberikan pengaruh nyata terhadap biomassa tanaman kaliandra merah meliputi berat kering akar, berat kering tajuk, dan berat kering total tanaman. Pengamatan dilakukan selama sepuluh minggu (T0–T10) dengan enam perlakuan, yaitu kontrol (tanpa inokulasi dan tanpa pupuk NPK), inokulasi *Rhizobium* tanpa tambahan pupuk NPK (I0), inokulasi *Rhizobium* dengan pemberian dosis pupuk NPK bertingkat (I25, I50, I75), dan perlakuan pemberian pupuk NPK dengan dosis normal (N100).

Pengaruh pemberian bakteri *Rhizobium* dengan kombinasi dosis pupuk yang berbeda terhadap biomassa tanaman kaliandra merah ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4. 5 Berat Kering pada Tanaman Kaliandra Merah

Perlakuan	Berat Kering Akar (gr)	Berat Kering Tajuk (gr)	Berat Kering Total (gr)
K	0,015±0,009a	0,132±0,066a	0,148±0,075a
I0	0,085±0,067b	0,342±0,159a	0,428±0,209ab
I25	0,067±0,013b	0,848±0,170b	0,915±0,181bc

Tabel 4. 5 Lanjutan Berat Kering pada Tanaman Kaliandra Merah

Perlakuan	Berat Kering Akar (gr)	Berat Kering Tajuk (gr)	Berat Kering Total (gr)
I50	0,057±0,024b	0,838±0,390b	0,898±0,413bc
I75	0,095±0,049b	1,370±0,608c	1,465±0,657d
N100	0,064±0,032b	0,940±0,671bc	1,004±0,702cd

Keterangan: Angka yang diikuti huruf sama dalam baris tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada DMRT taraf 5%.

Deskripsi Perlakuan: **K** (kontrol, tanpa inokulan dan tanpa pupuk NPK), **I0** (inokulan tanpa pupuk), **I25**, **I50**, dan **I75** (inokulan dengan pupuk NPK masing-masing dosis 25%, 50%, dan 75%), serta **N100** (pupuk NPK dosis penuh tanpa inokulan).

Tabel 4.5 menunjukkan hasil pengukuran berat kering akar tanaman kaliandra merah pada minggu ke-10. Perlakuan kombinasi *Rhizobium* dengan pupuk dosis 75% (I75) menghasilkan berat kering akar tertinggi, yaitu sebesar (0,095 gram), diikuti oleh perlakuan I0 sebesar (0,085 gram). Perlakuan I25 menunjukkan berat akar sebesar (0,067 gram), yang tidak jauh berbeda dengan perlakuan N100 (pupuk dosis penuh) dengan rata-rata berat kering akar sebesar (0,064 gram). Sementara itu, perlakuan I50 menghasilkan berat akar sebesar (0,057 gram), dan perlakuan kontrol mencatatkan hasil paling rendah, yaitu sebesar (0,015

gram). Hasil uji ANOVA (Lampiran 21) menunjukkan pengukuran berat kering akar antar perlakuan berbeda nyata.

Uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa seluruh perlakuan yang melibatkan pemberian *Rhizobium* (I0, I25, I50, I75) menghasilkan berat kering akar yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol (K) yang tidak diberi inokulan maupun pupuk. Selain itu perlakuan tersebut juga tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan pemberian pupuk NPK dosis penuh (N100). Hasil ini mengindikasikan adanya efek positif dari aplikasi bakteri *Rhizobium* dalam meningkatkan pertumbuhan biomassa akar tanaman kaliandra merah secara signifikan.

Peningkatan ini diduga berkaitan dengan kemampuan *Rhizobium* terhadap perkembangan sistem perakaran tanaman. *Rhizobium* diketahui mampu meningkatkan pertumbuhan akar melalui fiksasi nitrogen biologis dan produksi hormon auksin seperti IAA yang merangsang pembelahan dan pemanjangan sel (Choncha & Dorner, 2020). Hasil ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Prayoga *et al.* (2018), yang menunjukkan adanya peningkatan pada tinggi dan

diameter batang, pembentukan bintil akar yang efektif, serta kenaikan bobot kering pada bibit tanaman sengon laut (*Paraserianthes falcataria*) yang diinokulasi oleh bakteri *Rhizobium*. Temuan serupa disampaikan oleh Jumiatus *et al.* (2018), yang menunjukkan bahwa pemberian inokulasi *Rhizobium* memberikan pengaruh signifikan terhadap beberapa parameter pertumbuhan dan hasil tanaman, seperti tinggi tanaman, panjang akar, bobot kering akar dan tajuk, jumlah serta bobot bintil akar, jumlah polong, jumlah polong bernas, bobot polong, dan bobot kering biji. Inokulasi *Rhizobium* dengan konsentrasi 20 gram/L menghasilkan rata-rata produksi tertinggi pada varietas kedelai Anjasmoro, yaitu mencapai 2,6 ton per hektar.

Tabel 4.5 menunjukkan hasil pengukuran berat kering tajuk tanaman kaliandra merah pada minggu ke-10. Berat kering tertinggi diperoleh pada perlakuan I75 sebesar (1,370 gram), diikuti oleh perlakuan N100 (0,940 gram), I25 (0,848 gram), dan I50 (0,838 gram). Sementara itu, perlakuan I0 sebesar (0,342 gram), dan perlakuan kontrol menunjukkan hasil paling rendah dengan hasil pengukuran sebesar (0,132 gram). Hasil uji ANOVA (Lampiran 21) menunjukkan pengukuran berat kering tajuk antar perlakuan signifikan.

Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa perlakuan inokulasi *Rhizobium* tanpa penambahan pupuk (I0) tidak berbeda nyata dengan kontrol (K), yang mengindikasikan bahwa aplikasi *Rhizobium* saja belum cukup efektif untuk meningkatkan biomassa tajuk secara signifikan. Kombinasi *Rhizobium* dengan pupuk NPK dosis 25% (I25) dan 50% (I50) tidak menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan perlakuan pupuk dosis penuh (N100). Meskipun perlakuan I75 menghasilkan berat kering tajuk tertinggi, secara statistik hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan N100.

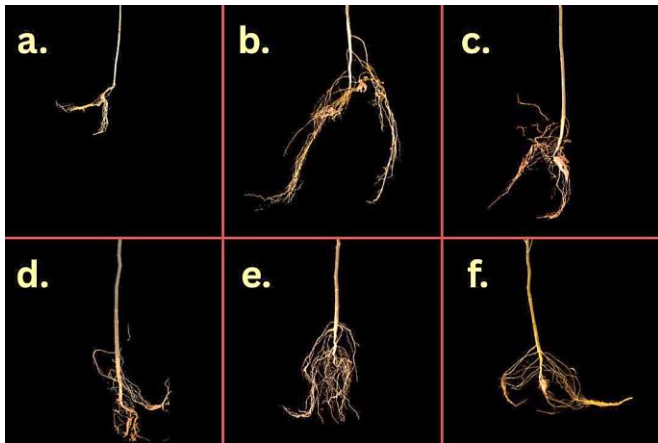
Temuan ini mengindikasikan bahwa kombinasi *Rhizobium* dengan dosis pupuk yang lebih rendah (25%) sudah mampu memberikan hasil pengukuran berat kering tajuk yang setara dengan pemberian pupuk dosis 100%. Hasil ini sejalan dengan temuan Purwaningsih (2020), yang melaporkan bahwa inokulasi *Rhizobium* meningkatkan berat tajuk dan jumlah bintil akar pada tanaman kedelai. Efektivitas ini dapat dijelaskan melalui peningkatan efektivitas penyerapan hara akibat terbentuknya bintil akar yang fungsional.

Selanjutnya, merujuk pada Tabel 4.5 mengenai parameter berat kering total tanaman kaliandra merah pada minggu ke-10, hasil pengukuran menunjukkan bahwa perlakuan I75 menghasilkan berat kering total tertinggi sebesar (1,465 gram). Perlakuan tersebut diikuti oleh perlakuan N100 (1,004 gram), I25 (0,915 gram), dan I50 (0,898 gram). Sementara itu, perlakuan I0 menghasilkan rata-rata berat total tanaman sebesar (0,428 gram), dan perlakuan kontrol menunjukkan hasil berat kering total tanaman paling rendah, yaitu sebesar (0,148 gram). Hasil uji ANOVA (Lampiran 21) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap parameter berat kering total tanaman.

Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa perlakuan I0 tidak berbeda nyata dengan kontrol (K), maupun dengan perlakuan I25 dan I50. Perlakuan I25 dan I50 juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan N100. Temuan ini mengindikasikan bahwa kombinasi *Rhizobium* dengan dosis pupuk yang lebih rendah (25%) sudah mampu menghasilkan biomassa total tanaman yang setara dengan pemupukan menggunakan dosis penuh (N100). Meskipun perlakuan kombinasi *Rhizobium* dengan pupuk dosis 75% (I75) menghasilkan biomassa total

tertinggi, hasil tersebut tidak berbeda nyata secara statistik dibandingkan dengan N100. Dengan demikian, penggunaan inokulan *Rhizobium* yang dikombinasikan dengan pupuk anorganik dosis 25% dinilai cukup efektif untuk menghasilkan biomassa total tanaman kaliandra merah secara optimal dan efisien.

Penggunaan inokulasi *Rhizobium* yang dikombinasikan dengan pupuk anorganik dosis 25% terbukti mampu menyamai efektivitas pemupukan dosis penuh (100%) dalam mendukung penambahan biomassa tanaman kaliandra merah. Hal ini ditunjukkan oleh parameter pertumbuhan biomassa tanaman, meliputi berat kering akar, berat kering tajuk, dan berat kering total tanaman yang tidak menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan perlakuan pupuk dosis normal (100%). Dengan demikian, penggunaan pupuk anorganik dalam jumlah lebih rendah yang dikombinasikan dengan inokulasi bakteri *Rhizobium* mampu menghasilkan biomassa tanaman yang setara dengan pemupukan dosis penuh (100%). Temuan ini mengindikasikan potensi penghematan pupuk anorganik hingga 75%, sekaligus mendukung penerapan praktik perkebunan yang lebih efisien dan berkelanjutan.



Gambar 4. 11 Pertumbuhan Akar Tanaman Kaliandra Merah pada Minggu ke-10 dari Masing-Masing Perlakuan (a. kontrol, b. I0, c. I25, d.I50, e. I75, f. N100

Gambar 4.11 memperlihatkan perbandingan morfologi sistem perakaran tanaman kaliandra merah pada minggu ke-10 berdasarkan enam perlakuan, yaitu: kontrol (K), inoculan tanpa pupuk (I0), inoculan dengan pupuk NPK dosis 25% (I25), 50% (I50), dan 75% (I75), serta pupuk NPK dosis penuh tanpa inoculan (N100). Pada perlakuan kontrol (Gambar a), menunjukkan sistem perakaran terlihat sangat terbatas, dengan akar utama yang pendek dan minim percabangan. Kondisi ini mencerminkan pertumbuhan akar yang terhambat akibat ketiadaan pasokan nitrogen maupun keberadaan bakteri penambat nitrogen, yang esensial dalam

mendukung proses pembelahan dan pemanjangan sel akar.

Pada perlakuan I0 (Gambar b), pertumbuhan akar terlihat lebih panjang dan lebih berkembang dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa inokulasi *Rhizobium* tanpa tambahan pupuk sudah mampu meningkatkan pertumbuhan akar melalui aktivitas fiksasi nitrogen biologis yang menghasilkan nitrogen dalam bentuk amonium yang mudah diserap oleh tanaman (Zega et al., 2025). Selain itu, bakteri *Rhizobium* juga diketahui dapat menghasilkan hormon tumbuh seperti *indole acetic acid* (IAA) yang secara signifikan merangsang pemanjangan akar dan percabangan lateral akar (Lebelazi et al., 2020). Panjang akar yang dominan pada perlakuan ini juga menunjukkan adanya respons adaptif tanaman dalam mengeksplorasi media tanam untuk memperoleh hara tambahan.

Pada perlakuan I25, I50 dan I75 (Gambar c, d dan e), terlihat pada akar utamanya tampak lebih pendek dibandingkan perlakuan I0, namun terjadi peningkatan pada jumlah percabangan lateralnya. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi inokulan *Rhizobium*

dengan pupuk NPK dosis rendah mulai mengalihkan pola pertumbuhan akar dari dominasi vertikal menjadi lateral. Penurunan panjang akar utama diduga disebabkan oleh meningkatnya ketersediaan nitrogen di lapisan atas media tanam, sehingga akar tidak lagi terdorong untuk tumbuh lebih dalam.

Liu *et al.* (2024) melaporkan bahwa aplikasi pupuk pada kedalaman dangkal (sekitar 5 cm dari permukaan tanah) menghasilkan konsentrasi nitrat yang tinggi di lapisan atas media tanam, sehingga merangsang pertumbuhan akar secara dominan di zona tersebut dan mengurangi eksplorasi akar ke lapisan yang lebih dalam. Sebaliknya, aplikasi pupuk pada kedalaman yang lebih besar mendorong pertumbuhan akar utama ke bawah sebagai respons adaptif tanaman untuk mengakses nitrogen yang tersedia di bagian bawah tanah. Temuan ini menunjukkan bahwa sistem perakaran tanaman mampu menyesuaikan arah dan pola pertumbuhannya secara dinamis sesuai dengan distribusi nitrogen dalam media tanam.

Pada perlakuan N100 (Gambar f), meskipun tanaman memperoleh pupuk NPK dalam dosis penuh (perlakuan N100), sistem perakarannya tidak

berkembang secara optimal, baik dari segi panjang maupun percabangan lateral. Akar utama tampak lebih pendek dan jumlah cabang lateral lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan yang mengombinasikan inokulan dan pupuk. Hal ini konsisten dengan literatur yang menunjukkan bahwa nitrat dalam bentuk nitrogen anorganik dapat menekan pembentukan nodul dan pertumbuhan sistem akar utama, serta menghambat pembentukan struktur root-hair dan infeksi bakteri *Rhizobium*, sehingga efektifitas pertumbuhan perakaran menjadi kurang optimal ketika tidak ada kontribusi dari inokulan hayati seperti *Rhizobium* (Abd-Alla et al., 2023)

3. Bintil Akar

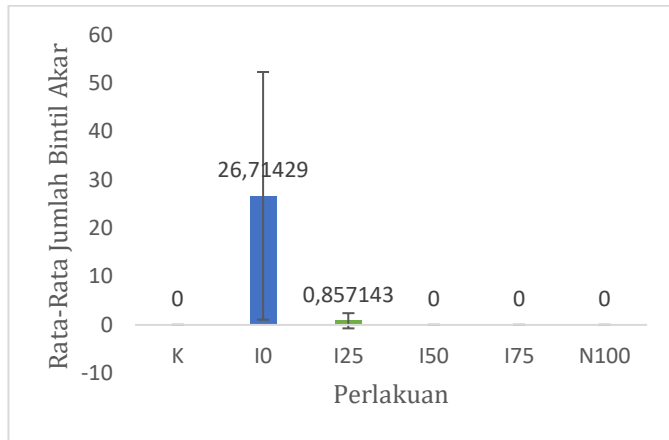
Bakteri *Rhizobium* merupakan mikroorganisme yang bersimbiosis secara mutualistik dengan akar tanaman leguminosae. Dalam simbiosis ini, bakteri *Rhizobium* menginfeksi sistem perakaran tanaman dan membentuk struktur khas berupa bintil akar (nodul) yang menjadi lokasi utama terjadinya fiksasi nitrogen biologis. Nitrogen hasil fiksasi ini selanjutnya digunakan oleh tanaman untuk menunjang sintesis protein, asam amino, dan senyawa penting lainnya yang sangat

dibutuhkan dalam proses pertumbuhan dan pembentukan biomassa.



Gambar 4. 12 Bintil Akar (Nodul) pada Tanaman Kaliandra Merah

Pengaruh pemberian bakteri *Rhizobium* dengan variasi dosis pupuk yang berbeda terhadap rata-rata jumlah bintil akar yang terbentuk pada tanaman kaliandra merah ditampilkan pada Gambar 4.13.



Gambar 4. 13 Jumlah Bintil Akar yang Terbentuk pada Tanaman Kaliandra Merah pada Minggu ke-10

Deskripsi Perlakuan: **K** (kontrol, tanpa inokulan dan tanpa pupuk NPK), **I0** (inokulan tanpa pupuk), **I25**, **I50**, dan **I75** (inokulan dengan pupuk NPK masing-masing dosis 25%, 50%, dan 75%), serta **N100** (pupuk NPK dosis penuh tanpa inokulan).

Gambar 4.13 menunjukkan bahwa perlakuan dengan inokulasi *Rhizobium* tanpa penambahan pupuk (I0) menghasilkan rata-rata jumlah bintil akar tertinggi, yaitu sebanyak (26,7 bintil per tanaman). Sebaliknya, kombinasi *Rhizobium* dengan pupuk dosis 25% (I25) hanya menghasilkan rata-rata (0,86 bintil per tanaman), sedangkan pada perlakuan I50, I75, dan N100 tidak ditemukan lagi adanya pembentukan bintil akar. Temuan ini mengindikasikan bahwa aplikasi pupuk kimia, khususnya yang mengandung nitrogen sintetis,

berpotensi menghambat proses nodulasi pada akar tanaman kaliandra merah. Patriarca *et al.*, (2002) melaporkan bahwa pemberian nitrogen anorganik seperti nitrat (NO_3^-), amonium (NH_4^+), dan urea dalam jumlah kecil pada saat penanaman dapat memberikan manfaat bagi tanaman legum yang diinokulasi *Rhizobium*. Suplai nitrogen pada fase awal ini dapat mempercepat pertumbuhan bibit serta meningkatkan jumlah, ukuran, dan efektivitas bintil akar (nodul) yang terbentuk. Namun, jumlah gabungan N yang berlebihan, dapat menekan bintil akar dengan mengurangi jumlah tempat infeksi dan/atau jumlah infeksi yang berhasil pada akar primer dan dengan menghambat pertumbuhan dan fungsi bintil akar.

Secara fisiologis, tingginya kadar nitrogen anorganik dalam tanah, baik berupa nitrat (NO_3^-) maupun amonium (NH_4^+), dapat menghambat proses pembentukan nodul akar pada tanaman legum dengan cara menekan sinyal *Nod factor* dan ekspresi gen-gen penting simbiosis. Nishida *et al.* (2018) menyatakan bahwa pada *Lotus japonicus*, nitrat menyebabkan penurunan transkripsi gen target NIN (*Nodule Inception*) dan gen yang diaktivasi *Nod factor*. Gen NIN merupakan faktor transkripsi utama yang berperan penting dalam

pengaturan proses simbiosis antara tanaman legum dan bakteri *Rhizobium* untuk membentuk bintil akar. Gen NIN berfungsi dalam respon epidermis akar terhadap infeksi *Rhizobium*, termasuk dalam pengembangan dan pembentukan benang infeksi serta inisiasi nodul primordia di jaringan korteks akar. Akibatnya, proses infeksi dan perkembangan nodul menjadi terhambat. Ketika nitrogen tersedia melimpah di tanah, tanaman legum tidak lagi memerlukan simbiosis dengan *Rhizobium* (Lepetit *et al.*, 2023).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa

1. Hasil karakterisasi fisiologis menunjukkan, keenam spesies *Rhizobium* yang diuji mampu menambat nitrogen pada media Burk's agar, hal ini menunjukkan sifat diazotrofik. Aktivitas pelarutan fosfat hanya ditunjukkan oleh *Rhizobium radiobacter*, *R. rosettiformans*, dan *R. tropici* dengan indeks pelarutan rendah. Sementara itu, produksi IAA tertinggi ditunjukkan oleh *Rhizobium caliandrae* (60,36 mg/L), diikuti *R. cellulosilyticum* (8,33 mg/L), *R. leguminosarum* (7,01 mg/L) dan *R. radiobacter* (0,89 mg/L), sedangkan *R. tropici* dan *R. rosettiformans* tidak menunjukkan adanya produksi IAA.
2. Keenam spesies bakteri *Rhizobium* memberikan pengaruh positif terhadap perkecambahan tanaman kaliandra merah, antar spesies bakteri *Rhizobium* memberikan respon yang berbeda terhadap pertumbuhan tanaman kaliandra merah yang ditunjukkan melalui peningkatan indeks dan persentase perkecambahan.

3. Bakteri *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) menunjukkan kemampuan bersimbiosis paling tinggi dengan tanaman kaliandra merah, ditunjukkan oleh nilai indeks perkecambahan (51,2) dan hasil persentase perkecambahan tertinggi, mulai dari minggu pertama (62%), hari ke-14 (85%) hingga pada hari ke-21 mencapai (92%) dengan performa yang konsisten dalam mendukung pertumbuhan awal tanaman.
4. Kombinasi pemberian bakteri *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) dengan dosis pupuk NPK 25% terbukti mampu menyamai efektivitas pupuk NPK dengan dosis normal (100%) dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman kaliandra merah. Penggunaan bakteri *Rhizobium* berpotensi mengurangi penggunaan pupuk anorganik hingga 75% tanpa menurunkan hasil pertumbuhan tanaman kaliandra merah serta mendukung sistem pertanian yang lebih berkelanjutan.

B. Saran

Beberapa saran guna mengembangkan penelitian ini meliputi

1. Menambahkan parameter fisiologis dan biokimia tanaman, seperti kandungan nitrogen jaringan, kadar klorofil, luas daun, rasio akar-tajuk, serta aktivitas

nitrogenase pada bintil akar untuk memahami mekanisme kerja *Rhizobium* secara lebih mendalam.

2. Mengombinasikan *Rhizobium cellulosilyticum* (InaCC B42) dengan mikroorganisme lain yang berpotensi sinergis, seperti *Azotobacter*, *Bacillus subtilis*, atau *Trichoderma spp.*, guna meningkatkan ketersediaan unsur hara, merangsang pertumbuhan tanaman, serta menekan gangguan patogen tanah.
3. Mengkaji efektivitas inokulasi *Rhizobium* pada media tanam yang diperkaya bahan organik lain, seperti kompos, pupuk kandang, atau vermikompos, baik secara tunggal maupun dalam kombinasi dengan sekam bakar dan cocopeat, untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kolonisasi bakteri dan pertumbuhan tanaman.
4. Melakukan uji lanjut pada skala lapangan untuk menguji konsistensi efektivitas *Rhizobium* dalam kondisi lingkungan yang lebih bervariasi, sekaligus menilai potensi aplikasinya dalam sistem pertanian berkelanjutan secara praktis dan ekonomis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Alla, M. H., Al-Amri, S. M., & El-Enany, A. W. E. (2023). Enhancing *rhizobium*-legume symbiosis and reducing nitrogen fertilizer use are potential options for mitigating climate change. *Agriculture*, 13(11), 2092. <https://doi.org/10.3390/agriculture13112092>
- Adaganti, S. Y., Yaliwal, V. S., Kulkarni, B. M., Desai, G. P., & Banapurmath, N. R. (2014). Factors affecting bioethanol production from lignocellulosic biomass (*Calliandra calothyrsus*). *Waste and Biomass Valorization*, 5, 963-971.
- Adnyana, G. M. (2012). Mekanisme penambatan nitrogen udara oleh bakteri *Rhizobium* menginspirasi perkembangan teknologi pemupukan organik yang ramah lingkungan. *Jurnal Agrotrop*, 2(2), 145-149.
- Akhtyamova, Z., Martynenko, E., Arkhipova, T., Seldimirova, O., Galin, I., Belimov, A., Vysotskaya, L., & Kudoyarova, G. (2023). Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on the formation of apoplastic barriers and uptake of water and potassium by wheat plants. *Microorganisms*, 11(5), 1227.
- Allen, O. N., & Allen, E. K. (1981). *The Leguminosae: A source book of characteristics, uses, and nodulation*. The University of Wisconsin Press.
- Aloni, R., Aloni, E., Langhans, M., & Ullrich, C. I. (2006). Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Annals of botany*, 97(5), 883-893.

- Arias, R., & Macqueen, D. J. (1996). Traditional uses and potential of the genus *Calliandra* in Mexico and Central America. In Workshop hosted by Winrock International Institute for Agricultural Development (Vol. 23, p. 27).
- Ashar, J. R., Farhanah, A., Haris, A., Tuhuteru, S., Pangestuti, R., Utami, E. P., & Dewi, S. M. (2024). *Ilmu dan Teknologi Benih*. TOHAR MEDIA.
- Awasthi, R., Bhandari, K., & Nayyar, H. (2015). Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops. *Frontiers in Environmental Science*, 3, 11.
- Azis, S., Halijah, H., Asra, A. A., & Majid, A. (2024). Pemberdayaan Masyarakat Berbasis Pelatihan Budidaya Jamur Tiram. *Journal Of Human And Education (JAHE)*, 4(6), 309-316.
- Azlansyah, B., Silvina, F., & Murniati, M. (2014). *Pengaruh lama pengomposan tandan kosong kelapa sawit (TKKS) terhadap pertumbuhan dan perkembangan bibit kelapa sawit (Elaeis guineensis Jacq)* (Doctoral dissertation, Riau University).
- BD Biosciences. (2025). *Trypticase Soy Broth*.
- Bewley, J. D. (1997). Seed germination and dormancy. *The plant cell*, 9(7), 1055.
- Bhat, M. A., Mishra, A. K., Jan, S., Bhat, M. A., Kamal, M. A., Rahman, S., Shah, A. A., & Jan, A. T. (2023). Plant growth promoting rhizobacteria in plant health: A perspective study of the underground interaction. *Plants*, 12(3), 629. <https://doi.org/10.3390/plants12030629>

- Bloch, S. E., Clark, R., Gottlieb, S. S., Wood, L. K., Shah, N., Mak, S. M., Lorigan, J. G., Johnson, J., Davis-Richardson, A. G., Williams, L., McKellar, M., Soriano, D., Petersen, M., Horton, A., Smith, O., Wu, L., Tung, E., Broglie, R., Tamsir, A., ... Temme, K. (2020). Biological nitrogen fixation in maize: Optimizing nitrogenase expression in a root-associated diazotroph. *Journal of Experimental Botany*, 71(15), 4591–4603.
- Çarpıcı, E. B., Çelik, N., & Bayram, G. (2009). Effects of salt stress on germination of some maize (*Zea mays* L.) cultivars.
- Cheng, Q., Sun, S., Ning, X., Qiao, M., Chen, W., Zhang, P., Liu, K., & Ding, Y. (2024). A synergistic indole-3-acetic acid-producing synthetic bacterial consortium benefits walnut seedling growth. *Agronomy*, 14(8), Article 1697. <https://doi.org/10.3390/agronomy14081697>
- Chyntia, P., Abdurrani, M., & Reine, W. S. (2013). Pengaruh Beberapa Perlakuan Terhadap Masa Dormansi Biji Belian (*Eusideroxylon Zwageri* T. Et. B). *Jurnal Hutan Lestari*, 1(2).
- Concha, C., & Doerner, P. (2020). The impact of the rhizobia-legume symbiosis on host root system architecture. *Journal of experimental botany*, 71(13), 3902-3921.
- de Luna, C., Calderon, M., Cruz, R. V., Tolentino Jr, E., & Carandang, W. (2020). The economic value of *Calliandra calothyrsus* in watershed rehabilitation in Manolo Fortich, Bukidnon, Philippines. *Journal of Environmental Science and Management*, (2).
- Diez-Mendez, A., Menendez, E., Garcia-Fraile, P., Celador-Lera, L., Rivas, R., & Mateos, P. F. (2015). *Rhizobium*

cellulosilyticum as a co-inoculant enhances *Phaseolus vulgaris* grain yield under greenhouse conditions. *Symbiosis*, 67, 135-141.

Di Benedetto, N. A., Corbo, M. R., Campaniello, D., Cataldi, M. P., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Flagella, Z. (2017). The role of plant growth promoting bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat. *AIMS microbiology*, 3(3), 413.

Edi, A., Rujehan, I., Imang, N., Sardjono, M. A., & Kristiningrum, R. (2024). Analisis tingkat kesesuaian lahan dan finansial pembangunan tanaman energi kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) di lokasi bekas tambang batubara PT Padangsubur Biomasa Kaltim. *ULIN: Jurnal Hutan Tropis*, 8(1), 1-9.

Emitaro, W. O., Musyimi, D. M., & Opande, G. T. (2020). Bioactivity of Endophytes from *Calliandra calothyrsus*, *Leucaena diversifolia* and *Sesbania sesban* against *Cercospora zeae-maydis*.

Fang, X., Yang, D., Deng, L., Zhang, Y., Lin, Z., Zhou, J., Chen, Z., Ma, X., Guo, M., Lu, Z., & Ma, L. (2024). Phosphorus uptake, transport, and signaling in woody and model plants. *Forestry Research*, 4, e017. <https://doi.org/10.48130/FR-2024-0017>

Federer, W. T. (1955). *Experimental design: theory and application* (Vol. 14). New York: Macmillan.

Fioneri, F. (2021). Pengaruh dosis multi KP dan diameter batang terhadap tingkat persentase keberhasilan sambung susu pada tanaman lengkeng varietas itoh (*Dimocarpus Longan*) (Doctoral dissertation, Universitas Islam Riau).

- Fitriana, D. A., Islami, T., & Sugito, Y. (2015). Pengaruh dosis rhizobium serta macam pupuk kandang terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) varietas kancil (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Fitriliana, F., Yana, S., Maryam, M., Rahmi, R., Nengsih, R., Rusmina, C., Sufitrayati, S., & Asnariza, A. (2023). Peluang investasi dan pengembangan energi biomassa: Perspektif pemanfaatan dan daya saing pengembangannya. *Jurnal Serambi Engineering*, 8(3), 6647–6653.
- Garfansa, M. P., & Sukma, K. P. (2021). Translokasi asimilat tanaman jagung (*Zea mays* L.) hasil persilangan varietas Elos dan Sukmaraga pada cekaman garam. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 14(1), 61-65.
- Giawa, N. L., Armaniar, A., & Lubis, N. (2025). Respon Media Tanam Cocopeat dan Arang Sekam Terhadap Pertumbuhan Bibit Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *JURNAL AGROPLASMA*, 12(1), 81-91.
- Girsang, R. (2019). Peningkatan Perkecambahan Benih Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Akibat Interval Perendaman H_2SO_4 dan Beberapa Media Tanam: Rosmaria Girsang, Devi Andriani Luta, Ariani Syahfitri Harahap, Suriadi. *Jasa Padi*, 4(1), 24-28.
- Gravel, V., Antoun, H., & Tweddell, R. J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 1968–1977. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.02.015>

- Gumelar, A. I. (2019). Pertumbuhan dan Hasil Kacang Panjang Kultivar Kanton Tavi (*Vigna sinensis* L.) Akibat Pemberian Kombinasi Takaran Kapur dan Pupuk N: Pertumbuhan dan Hasil Kacang Panjang Kultivar Kanton Tavi (*Vigna sinensis* L.) Akibat Pemberian Kombinasi Takaran Kapur dan Pupuk N. *Jurnal Agrotekno*, 6(1).
- Haryadi, D., Yetti, H., & Yoseva, S. (2015). *Pengaruh pemberian beberapa jenis pupuk terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman kailan (Brassica alboglabra L.)* (Doctoral dissertation, Riau University).
- Haerani, N., SYAM'UN, E. L. K. A. W. A. K. I. B., Rasyid, B., & Haring, F. (2021). Isolation and characterization of N-fixing and IAA producing rhizobacteria from two rice field agro-ecosystems in South Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(5).
- Hawab, M. (1989). Pengaruh Beberapa Senyawa Nitrogen Organik Tanah pada Aktivitas Fiksasi Nitrogen oleh *Azotobacter vinelandii* pada Media Cair Modifikasi Burk.
- Hendrati, R. L., & Hidayati, N. (2014). *Budi daya kaliandra (Calliandra calothyrsus) untuk bahan baku sumber energi*. IPB Press.
- Hendrati, R. L., & Nurrohmah, S. H. (2016). Penggunaan *Rhizobium* dan mikoriza untuk pertumbuhan *Calliandra calothyrsus* unggul. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 10(2), 71-81.
- Herdiawan, I., Fanindi, A., & Semali, A. (2005). Karakteristik dan pemanfaatan kaliandra (*Calliandra calothyrsus*). Balai Penelitian Ternak.

- Hersaputri, L. D., Yeganyan, R., Cannone, C., Plazas-Niño, F., Osei-Owusu, S., Kountouris, Y., & Howells, M. (2024). Reducing fossil fuel dependence and exploring just energy transition pathways in Indonesia using OSeMOSYS (open-source energy modelling system). *Climate*, 12(3), 37.
- Hidayatullah, A. H., Sutapa, J. P. G., & Listyanto, T. (2022). Pengaruh ukuran partikel bahan baku terhadap kualitas pelet ranting kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) dari limbah pakan ternak kambing. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis*, 20(1), 31-39.
- Himedia. (2015). *Pikovskaya Agar M520*. Diperoleh dari <https://www.himedialabs.com/us/m520-pikovskayas-agar.html>
- Himedia. (2015). *Yeast Mannitol Agar w/ 1.5% Agar M715*. Diperoleh dari <https://www.himedialabs.com/us/m715-yeast-mannitol-agar-w-1-5-agar.html>
- Himedia. (2015). *Yeast Mannitol Agar w/ Congo Red M721*. Diperoleh dari <https://www.himedialabs.com/us/m721-yeast-mannitol-agar-w-congo-red.html>
- Himedia. (2015). *Yeast Mannitol Broth M716*. Diperoleh dari <https://www.himedialabs.com/us/yeast-mannitol-broth.html>
- Himedia. (2020). *Burk's Medium M707*. Diperoleh dari <https://www.himedialabs.com/us/m707-burks-medium.html>
- Himedia. (2024). *Nutrient Agar M001*. Diperoleh dari <https://www.himedialabs.com/media/TD/M001.pdf>

- Himedia. (2024). *Nutrient Broth M002*. Diperoleh dari <https://www.himedialabs.com/us/m002-nutrient-broth.html>
- Idris. (2025). Pemanfaatan Bakteri *Rhizobium* dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) untuk Optimalisasi Produksi Kebun Energi Berkelanjutan. (Laporan teknis tidak dipublikasikan). Badan Riset dan Inovasi Nasional.
- Igiehon, N. O., Babalola, O. O., & Aremu, B. R. (2019). Genomic insights into plant growth promoting rhizobia capable of enhancing soybean germination under drought stress. *BMC microbiology*, 19, 1-22.
- Ihtiramiddin, B. M., Rahayu, S., & Syaban, R. A. (2024, October). Pengaruh inokulasi *Rhizobium* sp. dan konsentrasi pupuk kalium fosfat terhadap produksi serta mutu benih kedelai (*Glycine max* L. Merrill). In *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture* (pp. 610-622).
- Ilahi, H., Hsouna, J., Ellouze, W., Gritli, T., Chihaoui, S. A., Barhoumi, F., Elfeddy, M. N., Bachkouel, S., Ouahmane, L., Tambong, J. T., & Mnasri, B. (2021). Phylogenetic study of rhizobia nodulating pea (*Pisum sativum*) isolated from different geographic locations in Tunisia. *Systematic and Applied Microbiology*, 44(4), 126-221. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2021.126221>
- Jaya, I. M. L. M. (2020). *Metode penelitian kuantitatif dan kualitatif: Teori, penerapan, dan riset nyata*. Anak Hebat Indonesia.
- Janiszewska, D., & Ossowska, L. (2020). Biomass as the most popular renewable energy source in EU.

- Jimenez, R. R., & Ladha, J. K. (1993). Automated elemental analysis: A rapid and reliable but expensive measurement of total carbon and nitrogen in plant and soil samples. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 24(15-16), 1897-1924.
- Jumiatun, J., Nuraisyah, A., Anggraini, N. T., Rosdiana, E., Harlianingtyas, I., & Puspitasari, T. D. (2022). Respon pertumbuhan dan produksi kedelai varietas anjasmoro dengan pemberian *rhizobium* pada cekaman kekeringan.
- Kalayu, G. (2019). Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, 2019(1), 4917256.
- Kaur, J., Verma, M., & Lal, R. (2011). *Rhizobium rosettiformans* sp. nov., isolated from a hexachlorocyclohexane dump site, and reclassification of *Blastobacter aggregatus* Hirsch and Müller 1986 as *Rhizobium aggregatum* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(5), 1218-1225.
- Kim, S. L., Chung, Y. S., Ji, H., Lee, H., Choi, I., Kim, N., Lee, E., Oh, J., Kang, D.-Y., Baek, J., Lee, G.-S., Kwon, T.-R., & Kim, K.-H. (2019). New parameters for seedling vigor developed via phenomics. *Applied Sciences*, 9(9), 1752. <https://doi.org/10.3390/app9091752>
- Koryati, T., Fatimah, F., & Sojuangan, D. (2022). Peranan Rhizobium Dalam Fiksasi N Tanaman Legum. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*, 20(3), 8-17.
- Koskey, G., Mburu, S. W., Kimiti, J. M., Ombori, O., Maingi, J. M., & Njeru, E. M. (2018). Genetic characterization and diversity of *Rhizobium* isolated from root nodules of mid-

altitude climbing bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Frontiers in Microbiology*, 9, 968.

- Krisnawati, D., Triyono, S., & Kadir, M. Z. (2014). Pengaruh aerasi terhadap pertumbuhan tanaman baby kailan (*Brassica oleraceae* var. *Achepala*) pada teknologi hidroponik sistem terapung di dalam dan di luar greenhouse. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, 3(3), 213-222.
- Kumar, A., Patel, J. S., Bahadur, I., & Meena, V. S. (2016). The molecular mechanisms of KSMs for enhancement of crop production under organic farming. In *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture* (pp. 61-75).
- Lascano, C., & Stewart, J. (2003). Intake, digestibility and nitrogen utilization by sheep fed with provenances of *Calliandra calothyrsus* Meissner with different tannin structure. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 11(1).
- Lebrazi, S., Fadil, M., Chraibi, M., & Fikri-Benbrahim, K. (2020). Screening and optimization of indole-3-acetic acid production by *Rhizobium* sp. strain using response surface methodology. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 21. 10.1186/s43141-020-00035-9
- Lensari, D., Yuningsih, L., & Apriadha, M. Y. (2023). Pematahan Masa Dormansi Melalui Skarifikasi Dengan Perendaman Air Panas dan Dingin Terhadap Perkecambahan Benih Kaliandra (*Calliandra calothyrsus*). *Jurnal Hutan Tropis*, 11(3), 301-309.
- Lepetit, M., & Brouquisse, R. (2023). Control of the rhizobium-legume symbiosis by the plant nitrogen demand is tightly

integrated at the whole plant level and requires inter-organ systemic signaling. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1114840.

Liem, J. L., Arianita, B. A., Sugiarti, S., & Handoko, Y. A. (2019). Optimalisasi bakteri *Rhizobium japonicum* sebagai penambat nitrogen dalam upaya peningkatan produksi jagung. *Jurnal Galung Tropika*, 8(1), 64-73.

Lihan, S., Benet, F., Husaini, A. A. S. A., Apun, K., Roslan, H. A., & Hassan, H. (2021). Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from sago palm (*Metroxylon sagu*, Rottb.). *Tropical Life Sciences Research*, 32(3), 39.

Lisnawati, A., L. Abubakarm, Y. Syahrir, and R. Yosep. "Keankeragaman hayati sistem agroforesti budidaya kopi arabika di Kabupaten Toraja Utara, Sulawesi Selatan, Indonesia." *Biodiversitas* 18 (2017): 741-51.

Lulu, D. H. N. (2019). *Pengaruh Cendawan Mikoriza Arbuskular (CMA) dan Pupuk NPK terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Tomat (Lycopersicum esculentum Mill.)* (Doctoral dissertation, Universitas Siliwangi).

Ma, Y., & Chen, R. (2021). Nitrogen and phosphorus signaling and transport during legume-rhizobium symbiosis. *Frontiers in Plant science*, 12, 683-601.

Magara, E., Mayaka, A. N., Ondieki, C. M., & Ikua, B. W. Performance Evaluation of An Automated Small-Scale Cocopeat Compaction Machine.

Manasikana, A., & Kusrinah, K. (2019). Pengaruh dosis *Rhizobium* serta macam pupuk NPK terhadap pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max*) varietas

- Anjasmoro. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 2(1), 28-38.
- Martínez-Romero, E., Segovia, L., Mercante, F. M., Franco, A. A., Graham, P., & Pardo, M. A. (1991). *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 41(3), 417-426.
- Marwan, P., & Handayani, E. F. B. (2019). Biological seed treatment dengan bakteri *Rhizobium* sp. untuk meningkatkan pertumbuhan dan hasil kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Agrofood*, 1(1), 6-9.
- Murnita, M., & Taher, Y. A. (2021). Dampak pupuk organik dan anorganik terhadap perubahan sifat kimia tanah dan produksi tanaman padi (*Oriza sativa* L.). *Menara Ilmu: Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah*, 15(2).
- Murtadha, A. W. M. (2022). Multiplikasi kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus*) pada beberapa konsentrasi BAP dan IAA (Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin).
- Mustami, M. K. (2015). Metodologi penelitian pendidikan. *Yogyakarta: Aynat Publishing*.
- National Academy of Sciences. (1980). *Fire wood crops: Shrub and tree species for energy production*. National Academies Press.
- Nishida, H., Tanaka, S., Handa, Y., Ito, M., Sakamoto, Y., Matsunaga, S., Betsuyaku, S., Miura, K., Soyano, T., Kawaguchi, M., & Suzaki, T. (2018). A NIN-like protein mediates nitrate-induced control of root nodule symbiosis in *Lotus japonicus*. *Nature Communications*, 9(1), 499. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02831-0>

- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Anthony, S. (2009). *Agroforestree Database: A tree reference and selection guide version 4.0*. World Agroforestry Centre.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., & Tran, L. S. P. (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers in plant science*, 5, 86. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086>
- Oviyanti, F., Syarifah, S., & Hidayah, N. (2016). Pengaruh pemberian pupuk organik cair daun gamal (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp.) terhadap pertumbuhan tanaman sawi (*Brassica juncea* L.). *Jurnal biota*, 2(1), 61-67.
- Pande, A., Pandey, P., Mehra, S., Singh, M., & Kaushik, S. (2017). Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(2), 379-391.
- Pajčin, I. S., Vlajkov, V., Dodić, J., Jokić, A., & Grahovac, J. (2021). Biotechnological production of plant inoculants based on nitrogen-fixing bacteria. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 25(2), 56-63.
- Palmer, B., Macqueen, D. J., & Gutteridge, R. C. (1994). *Calliandra calothyrsus: A multipurpose tree legume for humid locations*. Trop. Grassl. Soc. Austr. Inc.
- Pamungkas, R. D. S., & Irfan, M. (2018). Isolasi bakteri *Rhizobium* dari tumbuhan leguminosa yang tumbuh di lahan bergambut. *Jurnal Agroteknologi*, 31-40.
- Pasaribu, V. R., Abdullah, N. A., & Widodo, S. B. (2025). Thermal Characteristics Analysis of Bio-Oil and Biochar from

Pyrolysis Process Using Red *Calliandra*
Feedstock. *JURUTERA-Jurnal Umum Teknik*
Terapan, 12(01), 48-56.

Patriarca, E. J., Tatè, R., & Iaccarino, M. (2002). Key role of bacterial NH_4^+ metabolism in Rhizobium-plant symbiosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(2), 203-222.

Pattipeilohy, M., & Sopacua, R. (2014). Pengaruh inokulasi bakteri *Rhizobium japonicum* terhadap pertumbuhan kacang kedelai (*Glycine max* L.). *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan*, 1(1), 49-55.

Penrose, D. M., & Glick, B. R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia plantarum*, 118(1), 10-15.

Prabowo, E. P., Sulistyono, E., & Pawito, H. (2021). Pengaruh aplikasi vermikompos terhadap pertumbuhan dan biomassa *Calliandra calothyrsus* pada fase awal pertumbuhan. *Jurnal Tropika: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 9(2), 87-94.

Pramitasari, H. E., Wardiyati, T., & Nawawi, M. (2016). *Pengaruh dosis pupuk nitrogen dan tingkat kepadatan tanaman terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kailan (Brassica oleraceae L.)* (Doctoral dissertation, Brawijaya University).

Pramudiyanto, A. S., & Suedy, S. W. A. (2020). Energi bersih dan ramah lingkungan dari biomassa untuk mengurangi efek gas rumah kaca dan perubahan iklim yang ekstrim. *Jurnal Energi Baru Dan Terbarukan*, 1(3), 86-99.

- Prayoga, D., Riniarti, M., & Duryat, D. (2018). The application of *Rhizobium* and Urea on *Paraserianthes falcataria* seedling growth. *Jurnal Sylva Lestari*, 6(1), 1-8.
- Primadanty, R. P. (2023). Potensi biomassa dalam transisi energi di Indonesia. *Parahyangan Economic Development Review*, 2(2), 136-143.
- Purwaningsih, S. (2015). Pengaruh inokulasi *Rhizobium* terhadap pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max* L.) varietas wilis di rumah kaca. *Berita Biologi*, 14(1), 69-76.
- Puspitaningrum, M., Izzati, M., & Haryanti, S. (2012). Produksi dan konsumsi oksigen terlarut oleh beberapa tumbuhan air. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi dh Sellula*, 12(1), 47-55.
- Qingwei, Z., Lushi, T., Yu, Z., Yu, S., Wanting, W., Jiangchuan, W., & Bilal, M. (2023). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere of poplar on road verge and their antagonistic potential against various phytopathogens. *BMC microbiology*, 23(1), 221.
- Qureshi, M. A., Mujeeb, F., Ali, M. A., Anjum, M. A., Akhtar, N., Javed, S., & Shakir, M. A. (2017). Role of physiological precursor and *Rhizobium*-wheat associations in field conditions. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 27(3).
- Rafique, M., Ali, A., Naveed, M., Abbas, T., Al-Huqail, A. A., Siddiqui, M. H., Nawaz, A., Brtnicky, M., Holatko, J., Kintl, A., Kucerik, J., & Mustafa, A. (2022). Deciphering the potential role of symbiotic plant microbiome and amino acid application on growth performance of chickpea under field conditions. *Frontiers in Plant Science*, 13, 852851. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.852851>

- Rahman, W. A., Suri, I. F., Febryano, I. G., Saputra, B., & Hidayat, W. (2024). Optimizing calliandra (*Calliandra calothyrsus*) biomass pellets: Impact of particle size and bark composition. *Global Forest Journal*, 2(02), 133-146. <https://doi.org/10.32734/gfj.v2i02.15735>
- Rahmawati, A. S., & Erina, R. (2020). Rancangan acak lengkap (RAL) dengan uji anova dua jalur. *OPTIKA: Jurnal Pendidikan Fisika*, 4(1), 54-62.
- Rahmawati, R. (2018). Pengaruh Fosfor Dan Nitrogen Pada Bobot Serta Mutu Benih Tanaman Kedelai [*Glycine max* (L.) Merr].
- Rai, I. I. N. (2023). *Nutrisi tanaman*. Deepublish.
- Ren, W., Li, X., Liu, T., Chen, N., Xin, M., Liu, B., Qi, Q., & Li, G. (2024). Impact of fertilization depth on sunflower yield and nitrogen utilization: A perspective on soil nutrient and root system compatibility. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1440859.
- Rika, M. A. (2022). *Kajian Unsur Hara Makro Dan Mikro Pada Pertumbuhan Tanaman* (Doctoral dissertation, UIN Raden Intan Lampung).
- Rincon-Rosales, R., Villalobos-Escobedo, J. M., Rogel, M. A., Martinez, J., Ormeno-Orrillo, E., & Martinez-Romero, E. (2013). *Rhizobium calliandrae* sp. nov., *Rhizobium mayense* sp. nov. and *Rhizobium jaguaris* sp. nov., rhizobial species nodulating the medicinal legume *Calliandra grandiflora*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(Pt_9), 3423-3429.

- Rodrigues, A. A., Araujo, M. V. F., Soares, R. S., Oliveira, B. F. D., Ribeiro, I. D., Sibov, S. T., & Vieira, J. D. G. (2018). Isolation and prospection of diazotrophic rhizobacteria associated with sugarcane under organic management. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(04), 3813-3829.
- Rohmani, R. W., & Erdiansyah, I. (2020, August). Karakteristik bakteri *Rhizobium japonicum* bintil akar kedelai pada cekaman salinitas bertingkat. In *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture* (pp. 101-107).
- Rosalina, E., & Nirwanto, Y. (2021). Pengaruh takaran pupuk fosfor (P) terhadap pertumbuhan dan hasil beberapa varietas tanaman padi (*Oryza sativa* L.). *Media Pertanian*, 6(1).
- Roy, S. C. (2015). Gene transfer in higher plants for the development of genetically modified crops (GM crops). *International Journal of Current Advanced Research*, 4(6), 132-148.
- Sahur, A., Ala, A., Patandjengi, B., & Syam'un, E. (2018). Effect of seed inoculation with actinomycetes and rhizobium isolated from indigenous soybean and rhizosphere on nitrogen fixation, growth, and yield of soybean. *International Journal of Agronomy*, 2018(1), 4371623.
- Saputra, R. A. (2014). *Isolasi dan identifikasi bakteri rhizobium dari akar tanaman alfafa (Medicago sativa L.)* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Sari, F., Ratna, R., Aini, N., & Setyobudi, L. (2015). *Pengaruh penggunaan Rhizobium dan penambahan mulsa organik jerami padi pada tanaman kedelai hitam (Glycine max (L)*

- Merril) varietas Detam 1 (Doctoral dissertation, Brawijaya University).
- Sari, R., & Prayudyaningsih, R. (2015). *Rhizobium*: Pemanfaatannya sebagai bakteri penambat nitrogen. *Buletin Eboni*, 12(1), 51-64.
- Sari, V. N., Same, M., & Parapasan, Y. (2017). Pengaruh konsentrasi dan lama fermentasi urin sapi sebagai pupuk cair pada pertumbuhan bibit karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Jurnal Agro Industri Perkebunan*, 5(1), 57-71.
- Sari, W., Astari, C., & Hurria, H. (2023). Comparison of Effectiveness Test Result of Several Disinfectants on the Growth of *Escherichia Coli*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan (JIKA)*, 5(3), 528-534.
- Sarmanu, S. (2017). Dasar metodologi penelitian, kuantitatif, kualitatif, dan statistika. *Surabaya: Pusat Penerbitan Dan Percetakan Universitas Airlangga*.
- Shi, Z., Chang, T. G., Chen, F., Zhao, H., Song, Q., Wang, M., Wang, Y., Zhou, Z., Wang, C., Zhou, S.-C., Wang, B., Chen, G., & Zhu, X.-G. (2020). Morphological and physiological factors contributing to early vigor in the elite rice cultivar 9311. *Scientific Reports*, 10(1), 14813.
- Siahaan, C. P. (2020). Pengaruh skarifikasi pada respon perkecambahan benih kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) (Doctoral dissertation, Universitas Sumatera Utara).
- Setyawan, F., Santoso, M., & Sudiarso, S. (2015). *Pengaruh Aplikasi Inokulum Rhizobium Dan Pupuk Organik Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Tanaman Kacang*

Tanah (Arachis Hypogaea L.) (Doctoral dissertation, Brawijaya University).

Silva, J. A., & Uchida, R. S. (2000). *Plant nutrient management in Hawaii's soils: Approaches for tropical and subtropical agriculture*. University of Hawaii Press.

Singh, A. K., Singh, G., Gautam, D., & Bedi, M. K. (2013). Optimization of dairy sludge for growth of *Rhizobium* cells. *BioMed research international*, 2013(1), 845264.

Sinharoy, S., Tian, C. F., & Montiel, J. (2024). Plant-rhizobia symbiosis and nitrogen fixation in legumes. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1392006.

Siregar, N., Nugraheni, Y. A., & Hendarto, K. A. (2020). Keragaman genetik bibit kaliandra (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) asal Jawa Barat. *Jurnal Perbenihan Tanaman Hutan*, 8(2), 121-132.

Siswahadi, P. (1982). Studi pengaruh berbagai macam pupuk terhadap pertumbuhan tinggi dan jumlah cabang tanaman *Calliandra calothyrsus* Meissn. *Duta Rimba*, 8.

Soenarjo. (1992). *Al Qur'an dan Terjemahnya*. CV Asy-Syifa'.

Sudewi, S., Saleh, A. R., Bangkele, L. I., & Dewi, E. S. (2024). Isolasi dan Karakterisasi Rizobakteri Penambat Nitrogen dari Ekosistem Padi Sawah Organik. *Jurnal Agrotek Tropika*, 12(3), 642-654.

Suryanto, H., & Prasetyawati, C. A. (2014). Model agroforestri untuk rehabilitasi lahan di spoilbank Dam Bili-Bili Kabupaten Gowa. *Buletin Eboni*, 11(1), 15-26.

- Surtiningsih, T., & Nurhariyati, T. (2009). Biofertilisasi bakteri *Rhizobium* pada tanaman kedelai (*Glycine max* L. Merr.). *Berkala Penelitian Hayati*, 15(1), 31-35.
- Sutapa, J. P. G., & Hidyatullah, A. H. (2023). Torrefaction for improving quality of pellets derived from calliandra wood. *Journal of the Korean Wood Science and Technology*, 51(5), 381-391.
- Swarnalakshmi, K., Yadav, V., Tyagi, D., Dhar, D. W., Kannepalli, A., & Kumar, S. (2020). Significance of plant growth promoting rhizobacteria in grain legumes: Growth promotion and crop production. *Plants*, 9(11), 1596.
- Syamsuwida, D., Kurniaty, R., Putri, K. P., & Suita, E. (2014). Kaliandra (*Calliandra callothyrsus*) as a timber for energy: In a point of view of seeds and seedlings procurement. *Energy Procedia*, 47, 62-70.
- Talská, R., Machalová, J., Smýkal, P., & Hron, K. (2020). A comparison of seed germination coefficients using functional regression. *Applications in Plant Sciences*, 8(8), e11366.
- Talukdar, D. (2011). Effect of arsenic-induced toxicity on morphological traits of *Trigonella foenum-graecum* L. and *Lathyrus sativus* L. during germination and early seedling growth. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 3(2), 116-123.
- Tando, E. (2019). Pemanfaatan teknologi greenhouse dan hidroponik sebagai solusi menghadapi perubahan iklim dalam budidaya tanaman hortikultura. *Buana Sains*, 19(1), 91-102.
- Tarigan, A. A. L. B., Riniarti, M., Prasetia, H., Hidayat, W., Niswati, A., Banuwa, I. S., & Hasanudin, U. (2021). Pengaruh

biochar pada simbiosis *Rhizobium* dan akar sengon laut (*Paraserianthes falcataria*) dalam media tanam. *Journal of People, Forest and Environment*, 1(1), 11-20.

Tekiner Aydın, N., & Kotan, R. (2022). Pathogenicity of different *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) isolates and their identification with conventional methods.

Tika, Y. Y., & Sudarti, S. (2021). Pengaruh intensitas cahaya terhadap pertumbuhan tanaman kunyit. *Jurnal Penelitian Fisika dan Terapannya (JUPITER)*, 2(2), 52-57.

Tuwei, P., Ebby, C. O., Yunus, K., & Josephine, W. (2019). Adoption of *Calliandra calothyrsus* for improved dairy production in Embu County, Kenya. *J. Bio. Agric. Health*, 9, 25-31.

Umadi, S. S., Ilyas, S., & Widyastuti, R. (2023). Karakterisasi dan Viabilitas Bakteri Penambat Nitrogen dan Bakteri Pelarut Fosfat dalam Media Pembawa Biochar. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*, 25(2), 40-45.

Umaternate, G. R., Abidjulu, J., & Wuntu, A. D. (2014). Uji metode Olsen dan Bray dalam menganalisis kandungan fosfat tersedia pada tanah sawah di Desa Konarom Barat Kecamatan Dumoga Utara. *Jurnal MIPA*, 3(1), 6-10.

Utomo, R., & Suwignyo, B. (2015). Produktivitas tanaman kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) sebagai hijauan pakan pada umur pemotongan yang berbeda. *Buletin Peternakan*, 39(2), 103-108.

Vincent, J. M. (1981). The genus rhizobium. In *The prokaryotes: A handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria* (pp. 818-841). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

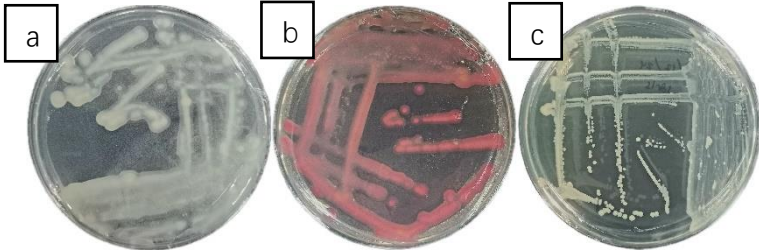
- Wamburgu, C. (2002). *Calliandra calothyrsus*-Tree management and utilization.
- Wekesa, C. S., Furch, A. C., & Oelmüller, R. (2021). Isolation and characterization of high-efficiency rhizobia from Western Kenya nodulating with Common bean. *Frontiers in microbiology*, 12, 697567.
- Widodo, T. W., Muhklisin, I., Nugroho, S. A., & Lisyanto, D. A. (2024, October). Aplikasi *Rhizobium* Sp Dengan Penambahan Pupuk Organik Mampu Memicu Pertumbuhan Dan Umur Berbunga Sorgum (*Sorgum bicolor* L.) Pada Lahan Pasiran. In *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture* (pp. 755-760).
- Wiersum, K. F., & Rika, I. K. (1997). *Calliandra calothyrsus* Meisner. Record from Proseabase. In F. Hanum & L. J. G. van der Maesen (Eds.), *PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation*, Bogor, Indonesia.
- Wijiyanti, P., Hastuti, E. D., & Haryanti, S. (2019). Pengaruh masa inkubasi pupuk dari air cucian beras terhadap pertumbuhan tanaman sawi hijau (*Brassica juncea* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 4(1), 21-28.
- WulanSuci, C. (2016). *Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Keragaan Tanaman Puring (Codiaeum variegatum)* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Xia, Y., Zhang, H., Zhang, Y., Zhang, Y., Liu, J., Seviour, R., & Kong, Y. (2023). Screening plant growth-promoting bacteria from the rhizosphere of invasive weed *Ageratina adenophora* for crop growth. *PeerJ*, 11, e15064.

- Yadav, S. K., & Raverkar, K. P. (2021). Characterization of *Rhizobium* and plant growth promoting rhizobacteria from French bean rhizosphere and their effect on French bean productivity. *Agricultural Development in Asia-Potential Use of Nano-Materials and Nano-Technology*.
- Young, J. P. W., Moeskjær, S., Afonin, A., Rahi, P., Maluk, M., James, E. K., Cavassim, M. I. A., Rashid, M. H., Aserse, A. A., Perry, B. J., Wang, E. T., Velázquez, E., Andronov, E. E., Tampakaki, A., Flores Félix, J. D., Rivas González, R., Youseif, S. H., Lepetit, M., Boivin, S., ... Tian, C.-F. (2021). Defining the *Rhizobium leguminosarum* species complex. *Genes*, 12, 111. <https://doi.org/10.3390/genes12010111>
- Yudaputra, A. (2020). Modelling potential current distribution and future dispersal of an invasive species *Calliandra calothyrsus* in Bali Island, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(2), 674-682.
- Yusran, Y., Izma, S., & Nurlina, R. R. (2021). Pemberian Inokulasi *Rhizobium* Sp pada Berbagai Varietas Kedelai Terhadap Peningkatan Hasil dan Kualitas Benih. *Agroland: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 28(1), 52-63.
- Zahran, H. H. (1999). *Rhizobium*-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(4), 968-989.
- Zaim, S., Bekkar, A. A., & Belabid, L. (2017). *Rhizobium* as a crop enhancer and biofertilizer for increased non-legume production. In *Rhizobium Biology and Biotechnology* (pp. 25-37). Cham: Springer International Publishing.
- Zega, I. C., & Lase, N. K. (2025). Potensi *Rhizobium* dalam Meningkatkan Efisiensi Fiksasi Nitrogen untuk Kesuburan

Tanah: Kajian Literatur. *Hidroponik: Jurnal Ilmu Pertanian Dan Teknologi Dalam Ilmu Tanaman*, 2(1), 86-94. <https://doi.org/10.62951/hidroponik.v2i1.228>

LAMPIRAN

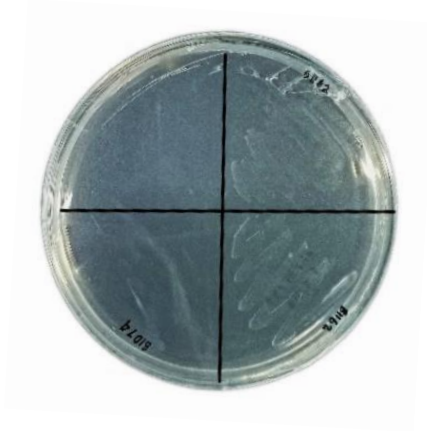
Lampiran 1. Peremajaan Bakteri *Rhizobium* pada Berbagai Media (a. YMA, b. YMA + CR, c. NA)



Lampiran 2. Uji Aktivitas Bakteri *Rhizobium* Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kaliandra Merah



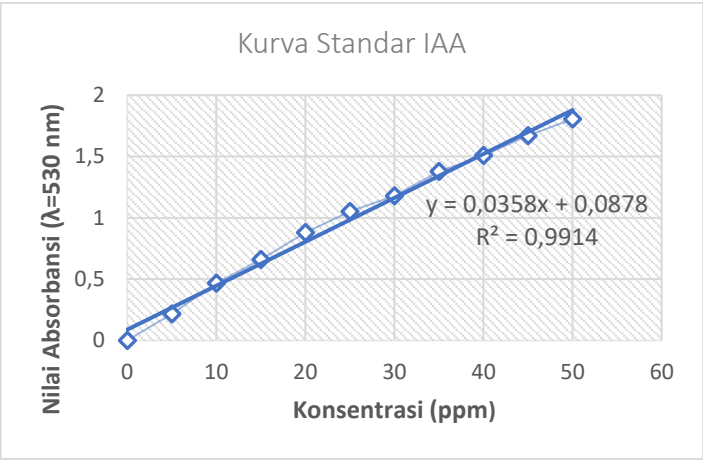
Lampiran 3. Uji Penambahan Nitrogen pada Media Burk's agar



Lampiran 4. Uji Pelarutan fosfat pada Media Pikovskaya Agar



Lampiran 5. Kurva Standar *Indole Acetid Acid* (IAA)



Lampiran 6. Komposisi Media Yeast Mannitol Agar (YMA)

Bahan	Jumlah
Yeast extract	1 g/L
Mannitol	10 g/L
Dipotassium phosphate	0,5 g/L
Magnesium sulphate	0,2 g/L
Sodium chloride	0,1 g/L
Calcium carbonate	1 g/L
Agar	15 g/L

Lampiran 7. Komposisi Media Yeast Mannitol Broth (YMB)

Bahan	Jumlah
Yeast extract	1 g/L
Mannitol	10 g/L
Dipotassium phosphate	0,5 g/L
Magnesium sulphate	0,2 g/L
Sodium chloride	0,1 g/L
Calcium carbonate	1 g/L

Lampiran 8. Komposisi Media Yeast Mannitol Agar w/ Congo Red

Bahan	Jumlah
Yeast extract	1 g/L
Mannitol	10 g/L
Dipotassium phosphate	0,5 g/L
Magnesium sulphate	0,2 g/L
Sodium chloride	0,1 g/L
Congo red	0,025 g/L
Agar	20 g/L

Lampiran 9. Komposisi Media Nutrient Agar (NA)

Bahan	Jumlah
Peptone	5 g/L
Sodium chloride	5 g/L
HM peptone B [#]	1,5 g/L
Yeast extract	1,5 g/L
Agar	15 g/L

Lampiran 10. Komposisi Media Nutrient Broth (NB)

Bahan	Jumlah
Peptone	5 g/L
Sodium chloride	5 g/L
HM peptone B [#]	1,5 g/L
Yeast extract	1,5 g/L

Lampiran 11. Komposisi Media Burk's Agar

Bahan	Jumlah
Magnesium sulphate	0,2 g/L
Dipotassium hydrogen phosphate	0,8 g/L
Potassium dihydrogen phosphate	0,2 g/L
Calcium sulphate	0,13 g/L
Iron (III) Chloride	0,00145 g/L
Sodium molybdate	0,000253 g/L
Sucrose	20 g/L

Lampiran 12. Komposisi Media Pikovskaya Agar

Bahan	Jumlah
Yeast extract	0,5 g/L
Dextrose	10 g/L
Calcium phosphate	5 g/L
Ammonium sulphate	0,5 g/L
Potassium chloride	0,2 g/L
Magnesium sulphate	0,1 g/L
Manganese sulphate	0,0001 g/L
Ferrous sulphate	0,0001 g/L
Agar	15 g/L

Lampiran 13. Komposisi Media Trypticase Soy Broth (TSB)

Bahan	Jumlah
Pancreatic Digest of Casein	17 g/L
Papaic Digest of Soybean	3 g/L
Sodium Chloride	5 g/L
Dipotassium Phosphate	2,5 g/L
Dextrose	2,5 g/L

Lampiran 14. Indeks Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah (21 HST)

	Isolat						
	B1074	B2	B1162	B1417	B1406	B42	Kontrol
Indeks	44,14898	44,68934	36,99203	42,6299	37,72116	51,20666	21,74514
SD	4,507704	5,322034	4,033319	2,4405	3,991613	5,272491	2,207096

Lampiran 15. Rata-Rata Presentase Perkecambahan Ulangan 1 dan 2 Tanaman Kaliandra Merah

Hari Ke-	B1074	B2	B1162	B1417	B1406	B42	Kontrol
1	0	0	0	0	0	0	0
2	4	3	1	3	3	3	0
3	13	8	2	7	8	12	1
4	23	16	10	15	14	25	4
5	24	31	21	18	21	38	9
6	30	45	33	34	30	46	17
7	44	53	39	47	38	62	23
8	49	59	44	52	42	65	24
9	53	61	50	61	49	74	29
10	69	62	60	70	55	76	36
11	70	64	71	76	63	77	37
12	80	71	73	79	64	82	42
13	81	75	73	81	69	84	47
14	82	83	76	81	75	85	48
15	85	84	76	84	81	86	54
16	85	87	77	84	81	86	55
17	87	87	77	86	81	87	59
18	87	87	78	86	81	88	60
19	88	88	78	87	81	89	61
20	88	90	78	88	82	90	61
21	89	90	78	88	82	92	62

Lampiran 16. Hasil Pengamatan Minggu Ke 10 terhadap Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman Kaliandra Merah

Perlakuan	Ulangan	Daun	Cabang	Tinggi (cm)
K1	1	10	4	10
K2	2	18	6	9.3
K4	3	33	11	12
K6	4	18	5	11
K7	5	14	5	6.5
K9	6	20	6	10
K10	7	10	5	8
I0 3	1	39	11	11
I0 4	2	34	7	17.5
I0 5	3	25	10	13
I0 6	4	40	9	13
I0 8	5	40	9	12.5
I0 9	6	14	6	11
I0 10	7	20	7	16
I25 2	1	62	12	21
I25 3	2	78	16	24
I25 4	3	98	14	24
I25 5	4	80	12	19
I25 7	5	64	13	27
I25 9	6	78	11	25
I25 10	7	55	8	18
I50 2	1	60	11	21
I50 3	2	104	10	24
I50 4	3	68	13	24
I50 5	4	46	11	19
I50 6	5	64	10	19

Perlakuan	Ulangan	Daun	Cabang	Tinggi (cm)
I50 7	6	70	12	27
I50 9	7	88	11	24
I75 1	1	60	11	21
I75 2	2	104	10	24
I75 3	3	68	13	24
I75 4	4	46	11	19
I75 5	5	64	10	19
I75 6	6	70	12	27
I75 9	7	116	12	32
N100 3	1	48	11	16
N100 4	2	42	10	15
N100 5	3	76	12	20
N100 6	4	55	10	14
N100 7	5	90	15	24
N100 8	6	82	15	24.5
N100 10	7	48	9	13

Lampiran 17. Hasil Pengamatan Diameter Akhir Batang Tanaman Kaliandra Merah 7 Ulangan

Perlakuan	K	I0	I25	I50	I75	N100
1	0,87	1,59	2,4	1,77	1,84	1,15
2	0,84	1,55	2,25	2,94	2,57	1,43
3	0,78	1,62	2,44	2,07	2,93	2,49
4	1,17	1,4	1,97	1,28	2,12	1,46
5	1,02	1,55	1,76	2,14	2,87	2,59
6	1,04	0,97	2,35	2,24	2,37	2,97
7	0,62	0,99	2,48	2,4	3,5	1,23
Rata-rata	0,905714	1,381429	2,235714	2,12	2,6	1,902857
SD	0,184378	0,282868	0,270361	0,515784	0,555818	0,752213

Lampiran 18. Hasil Penimbangan Berat Kering Akar, Tajuk dan Total Tanaman Kaliandra Merah

Perlakuan	Perlakuan	Ulangan	BK Akar (gr)	BK Tajuk (gr)	BK Total (gr)
K1	1	1	0.01	0.09	0.1
K2	1	2	0.01	0.1	0.11
K4	1	3	0.03	0.24	0.27
K6	1	4	0.01	0.13	0.14
K7	1	5	0.01	0.09	0.1
K9	1	6	0.01	0.07	0.08
K10	1	7	0.03	0.21	0.24
I0 3	2	1	0.21	0.46	0.67
I0 4	2	2	0.06	0.41	0.47
I0 5	2	3	0.05	0.27	0.32
I0 6	2	4	0.08	0.47	0.55
I0 8	2	5	0.13	0.51	0.64
I0 9	2	6	0.03	0.11	0.14
I0 10	2	7	0.04	0.17	0.21
I25 2	3	1	0.06	0.95	1.01
I25 3	3	2	0.06	0.73	0.79
I25 4	3	3	0.08	0.96	1.04
I25 5	3	4	0.07	0.83	0.9
I25 7	3	5	0.05	0.53	0.58
I25 9	3	6	0.09	1.03	1.12
I25 10	3	7	0.06	0.91	0.97
I50 2	4	1	0.04	0.52	0.56
I50 3	4	2	0.1	1.51	1.61
I50 4	4	3	0.05	0.86	0.91
I50 5	4	4	0.03	0.34	0.37
I50 6	4	5	0.05	0.7	0.75

Perlakuan	Perlakuan	Ulangan	BK Akar (gr)	BK Tajuk (gr)	BK Total (gr)
150 7	4	6	0.05	0.8	0.85
150 9	4	7	0.08	1.14	1.22
175 1	5	1	0.03	0.59	0.62
175 2	5	2	0.07	1.23	1.3
175 3	5	3	0.06	0.87	0.93
175 4	5	4	0.13	1.68	1.81
175 5	5	5	0.11	1.51	1.62
175 6	5	6	0.09	1.24	1.33
175 9	5	7	0.18	2.47	2.65
N100 3	6	1	0.05	0.74	0.79
N100 4	6	2	0.03	0.32	0.35
N100 5	6	3	0.08	1.35	1.43
N100 6	6	4	0.04	0.44	0.48
N100 7	6	5	0.11	2.1	2.21
N100 8	6	6	0.1	1.31	1.41
N100 10	6	7	0.04	0.32	0.36

Lampiran 19. Rata-Rata Jumlah Bintil Akar Pada Tanaman Kaliandra Merah pada Minggu Ke-10

Perlakuan	Jumlah Bintil
K	0
I0	26,71429
I25	0,857143
I50	0
I75	0
N100	0

Lampiran 20. Hasil Uji Normalitas Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman antarperlakuan

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Daun	K	.236	7	.200*	.865	7	.166
	I0	.222	7	.200*	.867	7	.175
	I25	.192	7	.200*	.939	7	.627
	I50	.244	7	.200*	.948	7	.709
	I75	.300	7	.057	.883	7	.242
	N100	.233	7	.200*	.881	7	.231
Jumlah Cabang	K	.357	7	.007	.722	7	.006
	I0	.213	7	.200*	.941	7	.647
	I25	.169	7	.200*	.973	7	.920
	I50	.267	7	.140	.894	7	.294
	I75	.173	7	.200*	.922	7	.482
	N100	.198	7	.200*	.865	7	.168
Tinggi Tanaman	K	.170	7	.200*	.970	7	.898
	I0	.284	7	.093	.877	7	.214
	I25	.238	7	.200*	.938	7	.617
	I50	.255	7	.188	.892	7	.287
	I75	.190	7	.200*	.912	7	.410
	N100	.240	7	.200*	.872	7	.195

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 21. Hasil Uji ANOVA Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman antarperlakuan

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Daun	Between Groups	21752,786	5	4350,557	14,953	0,000
	Within Groups	10474,286	36	290,952		
	Total	32227,071	41			
Cabang	Between Groups	206,286	5	41,257	10,696	0,000
	Within Groups	138,857	36	3,857		
	Total	345,143	41			
Tinggi	Between Groups	1163,915	5	232,783	18,893	0,000
	Within Groups	443,563	36	12,321		
	Total	1607,478	41			

Lampiran 22. Hasil Uji Duncan Jumlah Daun, Jumlah Cabang dan Tinggi Tanaman antarperlakuan

Jumlah Daun

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K	7	175.714	630.000
I0	7	302.857	
N100	7		
I50	7		
I25	7		
I75	7		714.286
			735.714
			754.286
Sig.		.172	.223

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

Jumlah Cabang

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K	7	60.000	84.286	111.429
I0	7			
I50	7			
I75	7			
N100	7			
I25	7			112.857
				117.143
				122.857
Sig.		1.000	1.000	.330

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

Tinggi Tanaman

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K	7	95.429	134.286	180.714	225.714
I0	7				
N100	7				
I25	7				
I50	7				225.714
I75	7				237.143
Sig.		1.000	1.000	1.000	.571

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

Lampiran 23. Hasil Uji Normalitas Diameter Tanaman antarperlakuan

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Batang	K	.161	7	.200*	.979	7	.955
	I0	.296	7	.064	.770	7	.020
	I25	.235	7	.200*	.855	7	.135
	I50	.176	7	.200*	.978	7	.948
	I75	.133	7	.200*	.984	7	.976
	N100	.293	7	.069	.847	7	.115

* This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 24. Hasil Uji ANOVA Diameter Batang Tanaman antarperlakuan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.285	5	2.657	12.005	.000
Within Groups	7.967	36	.221		
Total	21.252	41			

Lampiran 25. Hasil Uji Duncan Diameter Batang antarperlakuan

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K	7	.9057		
I0	7	13.814		
N100	7		19.029	
I50	7		21.200	21.200
I25	7		22.357	22.357
I75	7			26.000
Sig.		.067	.220	.078

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

Lampiran 26. Hasil Uji Normalitas Berat Kering Akar, Berat Kering Tajuk dan Berat Kering Total Tanaman antarperlakuan

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat Kering Akar	K	.435	7	.000	.600	7	.000
	I0	.250	7	.200*	.840	7	.099
	I25	.269	7	.135	.918	7	.456
	I50	.330	7	.021	.877	7	.213
	I75	.126	7	.200*	.980	7	.960
	N100	.243	7	.200*	.880	7	.224
Berat Kering Tajuk	K	.262	7	.158	.837	7	.093
	I0	.235	7	.200*	.887	7	.262
	I25	.212	7	.200*	.905	7	.359
	I50	.192	7	.200*	.967	7	.875
	I75	.162	7	.200*	.955	7	.777
	N100	.200	7	.200*	.880	7	.226
Berat Kering Total	K	.267	7	.141	.813	7	.055
	I0	.150	7	.200*	.927	7	.523
	I25	.189	7	.200*	.925	7	.511
	I50	.201	7	.200*	.964	7	.848
	I75	.157	7	.200*	.959	7	.808
	N100	.201	7	.200*	.880	7	.224

Lampiran 27. Hasil Uji ANOVA Berat Kering Akar, Berat Kering Tajuk dan Berat Kering Total Tanaman antarperlakuan

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Berat Kering Akar	Between Groups	.027	5	.005	3.837	.007
	Within Groups	.051	36	.001		
	Total	.078	41			
Berat Kering Tajuk	Between Groups	6.892	5	1.378	8.009	.000
	Within Groups	6.196	36	.172		
	Total	13.088	41			
Berat Kering Total	Between Groups	7.484	5	1.497	7.613	.000
	Within Groups	7.079	36	.197		
	Total	14.563	41			

Lampiran 28. Hasil Uji Duncan Berat Kering Akar, Berat Kering Tajuk dan Berat Kering Total Tanaman antarperlakuan

Berat Kering Akar

Duncan ^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K	7	.0157	
I50	7		.0571
N100	7		.0643
I25	7		.0671
I0	7		.0857
I75	7		.0957
Sig.		1.000	.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

Berat Kering Tajuk

Duncan ^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K	7	.0157	
I50	7		.0571
N100	7		.0643
I25	7		.0671
I0	7		.0857
I75	7		.0957
Sig.		1.000	.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

Berat Kering Total

Duncan ^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K	7	.1486			
I0	7	.4286	.4286		
I50	7		.8957	.8957	
I25	7		.9157	.9157	
N100	7			10.043	10.043
I75	7				14.657
Sig.		.245	.059	.670	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

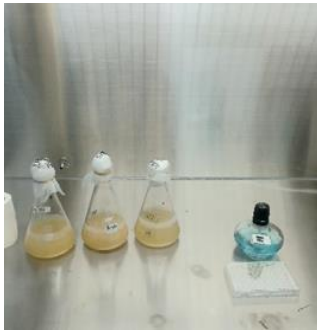
Lampiran 29. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Pembuatan Starter Kultur *Rhizobium*



Gambar 2. Pembuatan kultur produksi *Rhizobium*



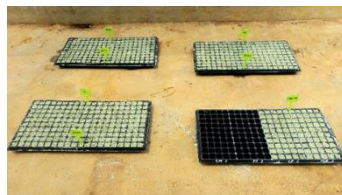
Gambar 3. Pengukuran OD Kultur Produksi *Rhizobium*



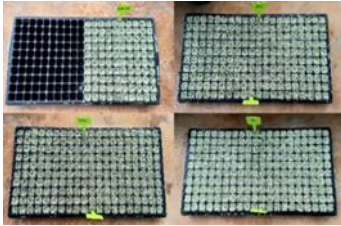
Gambar 4. Persiapan Media Tanam Steril (200 gr Sekam Bakar + 600 gr Cocopeat)



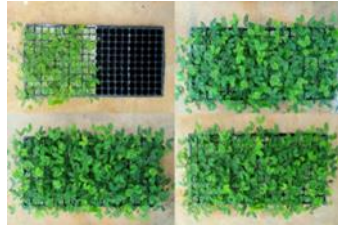
Gambar 5. Pemilihan Benih Kaliandra Merah



Gambar 6. Perkecambahan Kaliandra Merah Hari ke-1



Gambar 7. Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah Hari ke-7



Gambar 8. Perkecambahan Tanaman Kaliandra Merah Hari ke-21



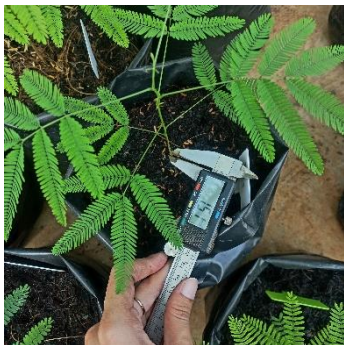
Gambar 9. Pemindahan Bibit Tanaman Kaliandra Merah pada Polybag



Gambar 10. Pemberian Inokulan *Rhizobium* pada Tanaman Kaliandra Merah



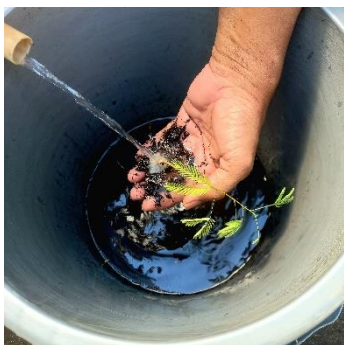
Gambar 11. Tanaman Kaliandra Merah Setelah 10 minggu



Gambar 12. Pengukuran Diameter Batang pada Periode Akhir Pengamatan



Gambar 13. Melakukan Pemanenan Tanaman Kaliandra Merah setelah 10 Minggu Pengamatan



Gambar 14. Pencucian Akar Tanaman Kaliandra Merah pada Air Mengalir



Gambar 15. Pengeringan Tanaman Kaliandra dengan Cara Diangin-anginkan Setelah dilakukan Proses Pencucian



Gambar 16. Tanaman Kaliandra pada Perlakuan (K, I0, I25, I50, I75 dan N100) setelah dilakukan Pencucian pada Bagian Akarnya



Gambar 17. Pengeringan Sampel Tanaman Kaliandra Merah Menggunakan Oven pada Suhu 60°C Selama 3 Hari



Gambar 18. Penimbangan Berat Kering Akar dan Tajuk pada Sampel Tanaman Kaliandra Merah

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



A. Identitas Diri

Nama : Novita Ika Fitriyani

TTL : Boyolali, 28 November 2002

Alamat : Jalan Bunga, No.36H, RT/RW 005/005,
Meruya Selatan, Kec. Kembangan Jakarta Barat, DKI.
Jakarta 11650

No. Hp : 085889184582

E-mail : nurfadhilah846@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. TPA Al-Mukarim
2. SD Negeri Meruya Selatan 04
3. SMP Negeri 206 Jakarta Barat
4. SMA Negeri 101 Jakarta Barat

C. Riwayat Organisasi

1. Anggota Divisi Penelitian Kelompok Studi Botani
Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.