BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Budidaya tanaman tembakau dihadapkan pada tantangan besar berupa penurunan kualitas lahan dan ketergantungan tinggi terhadap pupuk kimia sintetis, yang dalam jangka panjang dapat menurunkan produktivitas dan merusak keseimbangan ekosistem tanah. Studi yang dilakukan Canellas et al. (2015) telah menunjukkan bahwa penggunaan input pertanian anorganik secara terus-menerus menyebabkan degradasi kesuburan tanah, pencemaran lingkungan, serta gangguan terhadap aktivitas mikroba tanah yang penting bagi pertumbuhan tanaman. Selain faktor lingkungan, kualitas benih juga menjadi penentu keberhasilan budidaya.

Penelitian Qadri et al. (2024) menunjukkan bahwa varietas Prancak-95 memiliki viabilitas dan vigor benih lebih tinggi dibandingkan varietas lainnya, sehingga berpotensi menghasilkan pertumbuhan awal yang lebih baik. Di sisi lain, faktor media tanam juga terbukti memengaruhi fase vegetatif. Qadri et al. (2023) melaporkan bahwa varietas Kemloko menunjukkan pertumbuhan bibit terbaik pada sistem pembibitan dengan media polibag, menegaskan pentingnya pemilihan media tanam yang tepat. Temuan tersebut menegaskan bahwa upaya peningkatan produktivitas tembakau tidak hanya melalui input pupuk, tetapi juga dengan penggunaan benih bermutu dan pengelolaan media tanam berbasis sumber daya hayati seperti *biohumik* dan *Azotobacter*.

Seiring meningkatnya kesadaran global terhadap pentingnya pertanian berkelanjutan, muncul kebutuhan untuk mengembangkan pendekatan alternatif berbasis bioteknologi dan pemanfaatan sumber daya hayati lokal. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah penggunaan media tanam yang diperkaya dengan bahan organik dan mikroorganisme menguntungkan, seperti *biohumic* dan *Azotobacter*.

Salah satu jenis bakteri penambat nitrogen bebas di udara adalah *Azotobacter*, yang memiliki kemampuan untuk mensintesis hormon pertumbuhan seperti auksin dan sitokinin, melarutkan fosfat, serta memperbaiki pertumbuhan tanaman secara keseluruhan (Wani et al., 2013). Berbagai studi telah membuktikan efektivitas *Azotobacter* dalam meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman hortikultura maupun serealia, namun sangat minim penelitian yang secara spesifik mengkaji pengaruhnya pada tanaman tembakau lokal, terutama pada fase pertumbuhan awal. Kombinasi antara *biohumic* dan *Azotobacter* diduga memiliki efek sinergis dalam menciptakan lingkungan media tanam yang lebih subur secara biologis dan kimiawi.

Penelitian-penelitian sebelumnya telah mengungkap bahwa aplikasi asam humat dari kompos atau vermikompos mampu meningkatkan panjang akar, jumlah cabang lateral, serta aktivitas enzim H^+-ATPase pada akar tanaman jagung (Canellas et al., 2015). *Azotobacter* juga terbukti meningkatkan laju fotosintesis dan serapan hara pada tanaman melalui peningkatan produksi hormon tumbuh (Maheshwari, 2011). Namun, hingga

saat ini, belum banyak studi yang menggabungkan kedua agen hayati tersebut dalam satu sistem media tanam, khususnya untuk tembakau lokal Indonesia. Oleh karena itu, penelitian ini menjadi penting untuk mengkaji sejauh mana respons pertumbuhan vegetatif tembakau lokal terhadap media tanam berbasis *biohumic* dan *Azotobacter*, sebagai upaya mendukung pertanian berkelanjutan dan mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia sintetis.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh penggunaan media tanam berbasis *biohumic* dan *Azotobacter* terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman tembakau lokal.

1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan menganalisis pengaruh media tanam berbasis *biohumic* dan *Azotobacter* terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman tembakau lokal.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelian ini antara lain:

1. Memberikan kontribusi ilmiah terhadap pengembangan ilmu agronomi, khususnya dalam hal pemanfaatan bahan organik (*biohumic*) dan mikroorganisme tanah (*Azotobacter*) dalam memperbaiki media tanam untuk meningkatkan pertumbuhan vegetatif tanaman tembakau lokal.

2. Memberikan informasi kepada petani dan praktisi pertanian mengenai alternatif media tanam ramah lingkungan yang dapat meningkatkan pertumbuhan awal tanaman tembakau tanpa bergantung pada pupuk kimia.
3. Menjadi dasar rekomendasi awal untuk pengembangan teknologi media tanam berbasis biologi yang aplikatif dalam budidaya tembakau lokal di lahan suboptimal.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Tembakau

Tembakau termasuk salah satu komoditas perkebunan yang banyak dibudidayakan oleh petani karena memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. Tanaman ini memegang peranan penting dalam perekonomian Indonesia, terutama dalam hal penciptaan lapangan kerja, menjadi sumber penghasilan bagi petani, serta sebagai penyumbang devisa negara. Selain itu, tembakau turut mendorong perkembangan agribisnis dan agroindustri tembakau (Cahyono, 1998). Adapun klasifikasi tanaman tembakau adalah sebagai berikut: (Padmo dan Djatmiko, 1991).

Regnum : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Kelas : Mahnoliopsida

Ordo : Solanales

Famili : Solanaceae

Sub famili : Nicotianae

Genus : Nicotina L.

Spesies : *Nicotina tabaccum, Nocotina rustica*.

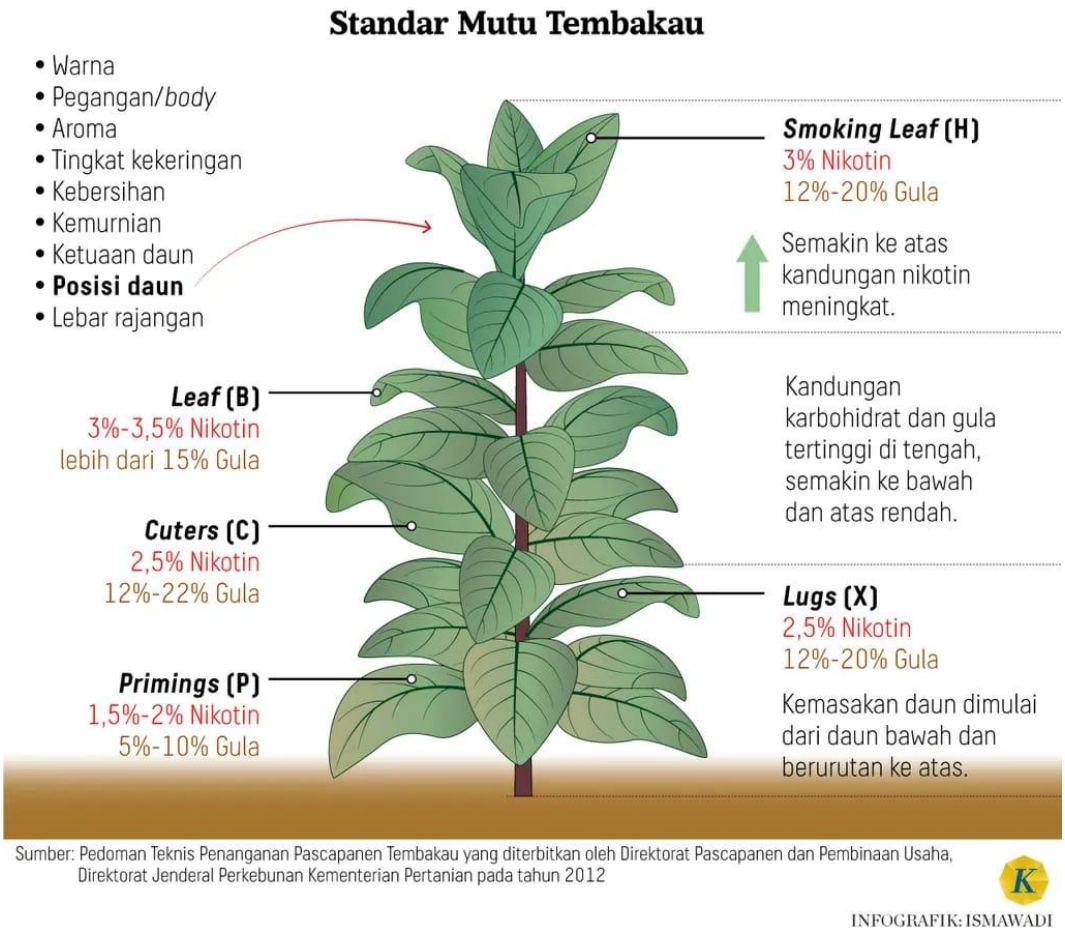
2.2. Morfologi Tembakau

Tembakau memiliki sistem perakaran tunggang yang dapat tumbuh hingga sekitar 0,75 meter apabila ditanam di tanah yang subur dan tidak terganggu. Di samping akar utama, juga terdapat akar-akar halus dan serabut. Perakaran tembakau cenderung sensitif terhadap kelebihan air,

karena kondisi tersebut dapat merusak akar dan berpotensi menyebabkan tanaman mati (Matnawi, 1997).

Batang tanaman tembakau memiliki bentuk yang cenderung bulat, bersifat lentur namun tetap kuat, dan ukurannya menyempit ke arah ujung. Umumnya, batang ini tidak bercabang atau hanya memiliki sedikit cabang, dengan ruas-ruas yang menebal dan menjadi tempat tumbuhnya daun. Setiap ruas batang memiliki tunas, daun utama, dan daun ketiak yang berkembang secara bersamaan. Diameter batang dapat mencapai sekitar 5 cm. Secara fisiologis, batang berperan penting sebagai tempat tumbuhnya organ-organ tanaman seperti daun, sekaligus menjadi jalur utama untuk mengangkut unsur hara dari akar menuju daun, serta mendistribusikan hasil fotosintesis ke seluruh bagian tanaman (Susilowati, 2006).

Bentuk daun tembakau bervariasi, bisa lonjong atau bulat tergantung varietasnya. Daun yang lonjong umumnya memiliki ujung yang runcing membulat, sedangkan daun yang bulat memiliki ujung yang tumpul. Daunnya bertulang menyirip, dengan tepi yang sedikit bergelombang dan permukaan yang licin. Ketebalan daun berbeda-beda sesuai dengan jenis varietas yang dibudidayakan. Daun tumbuh secara berselang-seling mengitari batang, dan memiliki stomata yang tersebar merata. Dalam satu tanaman, jumlah daun biasanya berkisar antara 28 hingga 32 helai (Cahyono, 2011).

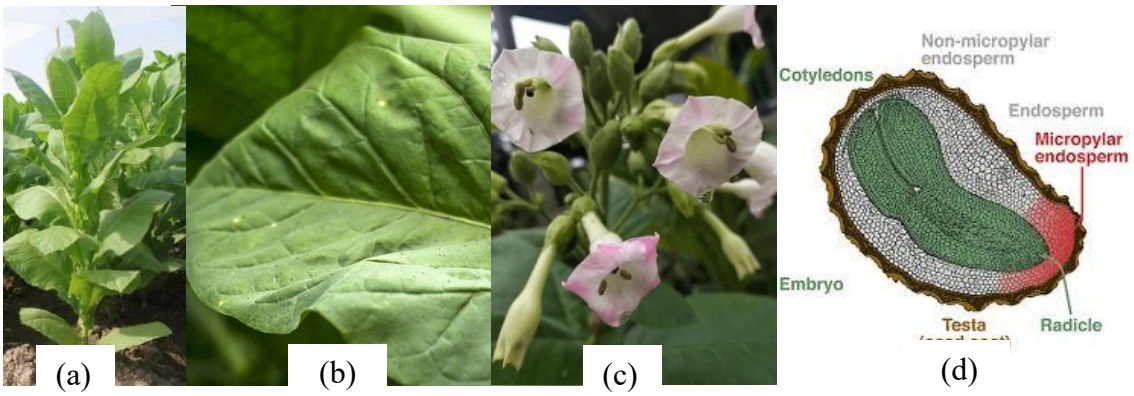


Gambar 1.Susunan Daun Tembakau
(Sumber: Direktorat Jendral Perkebunan Kementerian Pertanian, 2021)

Bunga tembakau termasuk jenis bunga majemuk yang tersusun dalam beberapa tandan, di mana setiap tandan dapat mengandung hingga 15 bunga. Bentuk bunganya menyerupai terompet memanjang, dengan warna bagian atas bunga bervariasi dari merah muda hingga merah tua, sementara bagian lainnya berwarna putih. Proses mekarnya bunga berlangsung bertahap, dimulai dari bunga yang paling tua hingga yang paling muda. Tembakau umumnya melakukan penyerbukan sendiri, meskipun penyerbukan silang juga mungkin terjadi. Bunga berperan

penting sebagai organ reproduksi untuk menghasilkan biji sebagai alat perkembangbiakan (Maulidiana, 2008).

Tembakau memiliki bakal buah yang berada di atas dasar bunga dan terdiri atas dua ruang yang dapat membesar, tiap-tiap ruang berisi bakal biji yang banyak sekali. Penyerbukan terjadi pada bakal buah akan membentuk buah. Sekitar tiga minggu setelah penyerbukan, buah tembakau sudah masak. Setiap pertumbuhan yang normal, dalam satu tanaman terdapat lebih kurang 300 buah. Buah tembakau berbentuk bulat lonjong dan berukuran kecil, di dalamnya berisi biji yang bobotnya sangat ringan. Dalam setiap gram biji besi berisi ± 12.000 biji. Jumlah biji yang dihasilkan pada setiap tanaman rata-rata 25 gram (Ali dan Bambang., 2017)



Gambar 2 . Morfologi Tanaman dan Biji Tembakau (Nicotiana tabacum)
(a) Tembakau, (b) Daun, (c) Bunga, (d) Biji

(Sumber: litbangjember, 2012)

2.3. Syarat Tumbuh

Tembakau dapat tumbuh pada rentang ketinggian antara 200 hingga 3.000 meter di atas permukaan laut, sehingga memungkinkan untuk

dibudidayakan baik di wilayah dataran rendah maupun daerah pegunungan. Tanaman ini ideal ditanam di kawasan yang memiliki iklim kering dan hangat, dengan rata-rata curah hujan tahunan berkisar antara 1.500 hingga 2.000 mm. Tembakau memerlukan periode bebas embun beku selama 3 hingga 4 bulan, terhitung sejak proses pengolahan lahan hingga masa panen. Untuk memperoleh hasil yang optimal, proses pematangan tanaman sebaiknya berlangsung tanpa gangguan hujan lebat, karena kelebihan air dapat menyebabkan daun tembakau menjadi tipis dan mudah rusak. Suhu lingkungan yang paling sesuai untuk mendukung pertumbuhan tembakau berada dalam kisaran 21℃ hingga 32℃ (Petani quik.com, 2017).

Tembakau merupakan tanaman yang adaptif dan mampu tumbuh di berbagai jenis tanah. Tanaman ini dikenal memiliki daya tahan tinggi dan dapat tumbuh hampir di semua lahan pertanian. Namun demikian, tembakau cenderung memberikan hasil yang lebih optimal pada tanah dengan drainase yang baik. Jenis tanah yang ideal untuk pertumbuhan tembakau antara lain tanah lempung berpasir dan lempung berliat. Pertumbuhan tembakau akan lebih maksimal apabila ditanam di tanah yang memiliki tingkat kesuburan sedang, berstruktur gembur, remah, serta mampu menahan air dengan baik. Penting untuk dicatat bahwa karakteristik tanah sangat memengaruhi kualitas hasil tembakau. Misalnya, tanah berwarna terang cenderung menghasilkan daun tembakau yang juga berwarna terang, sementara tanah berwarna gelap biasanya menghasilkan

daun tembakau yang lebih gelap. Selain itu, kondisi keasaman tanah yang ideal untuk pertumbuhan tembakau berada pada kisaran pH 5 hingga 6, yaitu tidak terlalu asam maupun basa (Petani quik.com, 2017).

2.4. Biohumic

Biohumic merupakan produk biostimulan yang berasal dari bahan organik terdekomposisi, terutama humus atau kompos, dan mengandung senyawa aktif seperti asam humat, fulvat, serta unsur mikro lainnya. Istilah "*biohumic*" mengacu pada gabungan senyawa humik alami dengan mikroorganisme tanah yang bermanfaat, menjadikannya tidak hanya berfungsi sebagai pembenah tanah tetapi juga sebagai biofertilizer. Produk ini biasanya dihasilkan dari proses fermentasi limbah organik seperti pupuk kandang, limbah pertanian, atau vermikompos dengan rekayasa bioteknologi yang melibatkan mikroba dekomposer tertentu (Canellas et al., 2015).

Aplikasi *biohumic* pada tanaman terbukti dapat merangsang pertumbuhan akar, meningkatkan penyerapan unsur hara, dan memperbaiki efisiensi fotosintesis. Asam humat dalam biohumic bertindak sebagai *chelating agent* yang mengikat dan melarutkan unsur hara mikro sehingga lebih mudah diserap oleh tanaman. Selain itu, *biohumic* juga dapat meningkatkan produksi hormon pertumbuhan alami seperti auksin dan sitokinin, yang penting dalam fase vegetatif tanaman (Glambos, et.al., 2020; Rathor, et.al., 2024).

Biohumic memiliki kemampuan untuk memperbaiki sifat fisik, kimia, dan biologi tanah. Secara fisik, *biohumic* meningkatkan porositas dan kapasitas menahan air. Secara kimia, ia membantu menetralisir pH tanah dan meningkatkan ketersediaan unsur hara. Sementara itu, dari sisi biologi, *biohumic* mendukung pertumbuhan mikroorganisme tanah yang menguntungkan, yang pada gilirannya mempercepat dekomposisi bahan organik dan ketersediaan nutrisi (Cozzolino, et.al., 2021; Qiu, et.al., 2025; Sun, et.al., 2022; Timergali, et.al., 2024).

Dengan karakteristik ramah lingkungan dan efisiensi tinggi dalam meningkatkan kualitas tanah dan pertumbuhan tanaman, *biohumic* menjadi salah satu solusi alternatif dalam pertanian berkelanjutan. Penggunaan *biohumic* dapat mengurangi ketergantungan terhadap pupuk kimia, menurunkan biaya produksi, serta menjaga kesehatan tanah dalam jangka panjang. Potensinya sangat besar, terutama untuk pertanian organik dan budidaya tanaman pada lahan marginal atau tanah yang sudah terdegradasi (Maffia, et.al., 2025; Tiwari, et.al., 2023).

2.5. Azotobacter

Azotobacter adalah genus bakteri tanah yang bersifat aerobik bebas dan memiliki kemampuan menambat nitrogen atmosfer tanpa memerlukan simbiosis dengan tanaman. Bakteri ini tergolong dalam kelas Gammaproteobacteria dan termasuk dalam ordo Pseudomonadales. Salah satu spesies paling dikenal adalah *Azotobacter chroococcum*, yang umum ditemukan di tanah-tanah subur. *Azotobacter* banyak digunakan dalam

bidang mikrobiologi tanah karena perannya yang penting dalam menyuplai nitrogen ke dalam sistem pertanian secara biologis (Shivprasad and Page, 1989).

Azotobacter tumbuh baik di tanah yang kaya bahan organik dan memiliki aerasi yang cukup. Mereka hidup bebas di zona perakaran (rhizosfer) dan sangat peka terhadap kondisi lingkungan, seperti pH, ketersediaan karbon, dan konsentrasi amonium. *Azotobacter* lebih menyukai tanah dengan pH netral hingga sedikit basa (pH 6,5–7,5) dan kandungan oksigen yang cukup. Keberadaan bahan organik sangat penting sebagai sumber energi untuk proses fiksasi nitrogen.

Azotobacter menambat nitrogen melalui enzim nitrogenase, yang mengubah nitrogen (N_2) di atmosfer menjadi amonia (NH_3), senyawa yang dapat diserap tanaman. Karena aktivitas enzim nitrogenase sangat sensitif terhadap oksigen, *Azotobacter* memiliki sistem pertahanan berupa perlindungan enzimatik dan konsumsi oksigen yang sangat cepat untuk menjaga lingkungan anaerob di sekitar enzim tersebut. Proses ini membantu memperkaya kandungan nitrogen tanah secara alami (Yamagata and Itano, 1923)

Selain kemampuan menambat nitrogen, *Azotobacter* juga menghasilkan berbagai fitohormon, seperti auksin (IAA), giberelin, dan sitokinin, yang dapat merangsang pertumbuhan akar, memperpanjang sel, dan mempercepat pembentukan tunas. Zat-zat ini penting terutama pada

fase vegetatif tanaman, karena mendukung perkembangan jaringan yang sehat dan respons tanaman terhadap lingkungan (Kukerja, et.al., 2004).

Beberapa strain *Azotobacter* memiliki kemampuan melarutkan fosfat dari bentuk tidak larut di tanah melalui ekskresi asam organik. Selain itu, *Azotobacter* juga mampu memproduksi siderofor, yaitu senyawa pengikat besi yang membantu meningkatkan ketersediaan Fe bagi tanaman. Ini menjadikan *Azotobacter* tidak hanya sebagai penyedia nitrogen tetapi juga pendukung penyerapan unsur hara mikro lainnya (Kumar, Behl and Narula., 2001).

Aplikasi *Azotobacter* dalam budidaya tanaman terbukti dapat meningkatkan parameter pertumbuhan seperti tinggi tanaman, jumlah daun, luas daun, dan bobot kering. Ini terjadi karena kombinasi dari suplai nitrogen, hormon tumbuh, dan peningkatan ketersediaan hara. *Azotobacter* efektif digunakan pada berbagai tanaman, seperti padi, gandum, jagung, tomat, dan tembakau (Badawy & Amer, 2023)

Azotobacter tersedia dalam berbagai bentuk biofertilizer komersial, baik cair maupun padat. Cara aplikasinya bisa melalui perlakuan benih, pencampuran ke media tanam, atau penyemprotan ke permukaan tanah. Untuk efektivitas maksimal, seringkali *Azotobacter* dikombinasikan dengan bahan organik seperti kompos atau *biohumic*, yang berperan sebagai substrat energi dan pelindung mikroba (Albureikan, 2024).

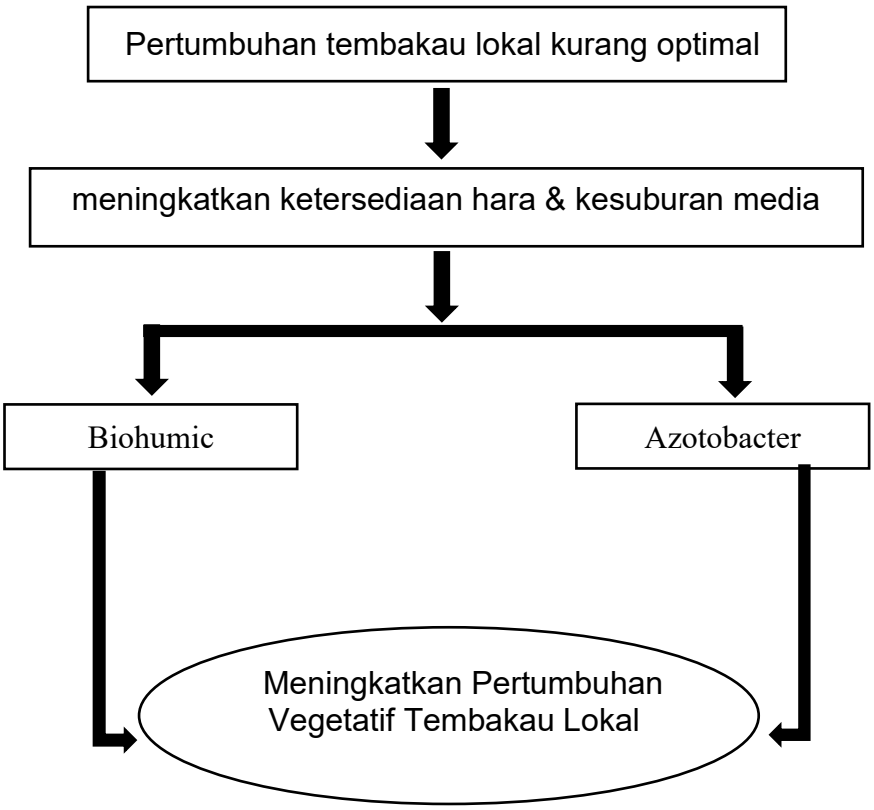
Keunggulan *Azotobacter* dibandingkan pupuk nitrogen anorganik adalah keberlanjutan dan ramah lingkungannya. Aplikasi jangka panjang

Azotobacter tidak menyebabkan pencemaran tanah atau air, dan tidak mengganggu keseimbangan mikrobiota tanah. Selain itu, *Azotobacter* membantu membangun struktur tanah yang lebih sehat dan mendorong aktivitas mikroba lainnya (Aasfar, 2021).

Meskipun memiliki banyak manfaat, efektivitas *Azotobacter* sangat tergantung pada kondisi lingkungan. Faktor seperti suhu ekstrem, kekeringan, dan tingginya kadar pestisida dalam tanah dapat menurunkan populasi dan aktivitasnya. Oleh karena itu, strategi bioformulasi dan penyesuaian kondisi lahan menjadi penting untuk memastikan keberhasilan aplikasi (Pawar, 2021).

Dalam kerangka pertanian berkelanjutan, *Azotobacter* berperan besar sebagai agen hayati untuk mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia, meningkatkan kesuburan tanah secara alami, dan mendukung pertanian organik. Inovasi terbaru terus dikembangkan, seperti kombinasi *Azotobacter* dengan biochar atau bahan nano, untuk meningkatkan efisiensi dan ketahanannya di berbagai kondisi agroekosistem (Febriyanti dan Rahayu, 2019; Li et.al., 2025).

BAB III. KERANGKA BERPIKIR



Gambar 3. Kerangka pikir

BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Kebun Percobaan Fakultas Pertanian, Peternakan dan Perikanan Unuversitas Muhammadiyah Pare-Pare. Mulai bulan Januari – Agustus 2025.

4.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu bagan warna daun (BWD), kamera, meteran, timbangan, perangkat lunak *SPSS.*

Bahan yang digunakan adalah benih tembakau varietas Ico lalo,, Polybag ukuran 40 cm x 40 cm, tanah, pupuk dasar, ATK, *biohumic* dan *Azotobacter*.

4.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) non faktorial yang diulang sebanyak 3 kali, dan masing-masing perlakuan terdiri dari 4 unit sampel tanaman. Perlakuan yang diuji yaitu penggunaan Azotobacter dan Biohumic dengan 4 taraf perlakuan yaitu, (P0) Kontrol, (P1) Azotobacter, (P2) Biohumic dan (P3) Azotobacter + Biohumic. Sehingga diperoleh 48 unit tanaman percobaan.

4.4. Pelaksanaan Penelitian

a. Persiapan Media dan Penanaman

Tanah diayak dan dimasukkan ke dalam polybag. Perlakuan diberikan sesuai kombinasi: *Biohumic* dicampurkan ke media tanam dan *Azotobacter* diaplikasikan ke akar atau media. Tiap polybag di isi media 18 kg, Untuk P1

(*Azotobacter*) di Tambahkan *Azotobacter* 50 ml/kg Media. P2 (*Biohumic*) di tambahkan *Biohumic* 10 ml/kg media, dan P3 (*Azotobacter* + *Biohumic*) di tambahkan *Azotobacter* 50 ml/kg media + *Biohumic* 10 ml/kg media.

b. Penanaman

Benih tembakau disemai, kemudian ditanam di media yang telah diperlakukan.

c. Perawatan

Pemeliharaan dilakukan secara seragam, termasuk penyiraman, penyiangan, dan pengamatan.

d. Parameter Pengamatan

Parameter tanaman yang di amati selama penelitian adalah:

1. Tinggi tanaman (cm) diukur dari permukaan media tanam (tanah/polybag) hingga titik tumbuh tertinggi. Pengukuran dilakukan pada umur tanaman 45 HST dan 1 kali pengamatan.
2. Jumlah Daun (helai) di hitung jumlah daun sejati (bukan daun kotiledon), Daun dihitung jika telah membuka penuh dan ukuran ≥ setengah daun dewasa.
3. Luas daun (cm^2) di hitung adalah daun pasir (*sand leaves*), Daun Tengan dan Daun Kaki, yang diamati adalah panjang dan lebar daun.

   Luas Daun =P x L x K,

   Keterangan :

   P = Panjang Daun

   L = Lebar Daun

K = Konstanta

K = 0,667 (daun pasir)

K = 06954 (daun Kaki)

K = 0,702 (daun tengah) (Dartius et al.1991).

4. Menetukan Tingkat kehijauan daun tanaman dengan menggunakan Bagan Warna Daun (BWD). Penentuan dilakukan pada umur tanaman 45 HST dan 1 kali pengamatan.

4.5. Analisis Data

Rumus linear rancanganyang digunakan yaitu:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Dimana:

i=1,2, …,6 dan j=1, 2,…,r

Y ij=Pengamatan pada perlakuan ke-i dan kelompok ke-j m = Rataan umum

ti=Pengaruh perlakuan ke-i bj=Pengaruh kelompok ke-j

eij=Pengaruh acak pada perlakuan ke-i dan kelompok ke-j

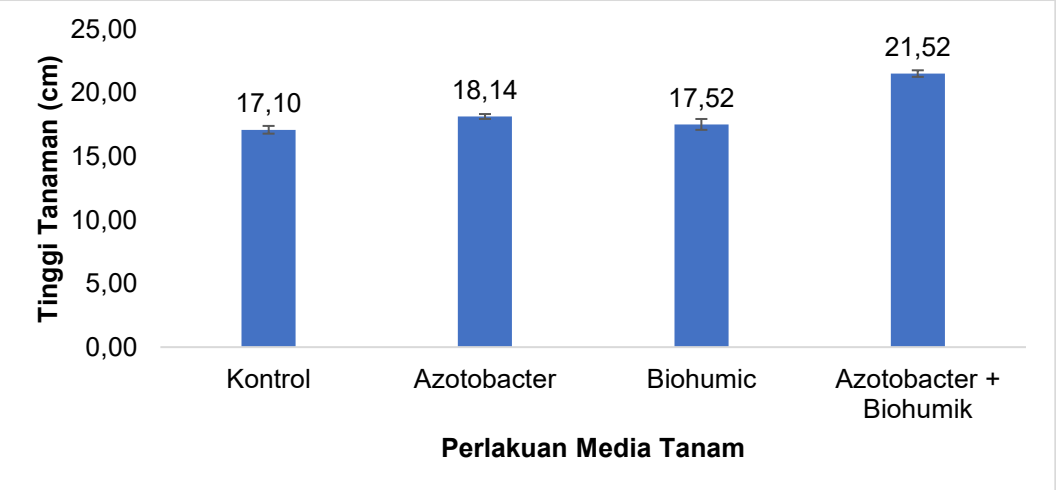
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil

Pengamatan terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman tembakau dilakukan untuk mengetahui respons tanaman terhadap perlakuan media tanam berupa *Azotobacter, Biohumic*, dan kombinasinya. Parameter yang diamati meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, luas daun (daun pasir, daun kaki, dan daun tengah), serta bagan warna daun (BWD).

5.1.1 Tinggi Tanaman

Parameter tinggi tanaman merupakan salah satu indikator pertumbuhan vegetatif tanaman karena mencerminkan aktivitas fisiologis, terutama penyerapan hara, pembelahan dan pemanjangan sel, serta respon tanaman terhadap lingkungan. Pengukuran dilakukan 1 kali pada umur tanaman 45 HST, tanaman mulai tumbuh hingga fase vegetatif berakhir atau menjelang pembentukan kuncup bunga (fase topping). Data pengamatan tinggi tanaman tembakau disajikan pada Gambar 3.

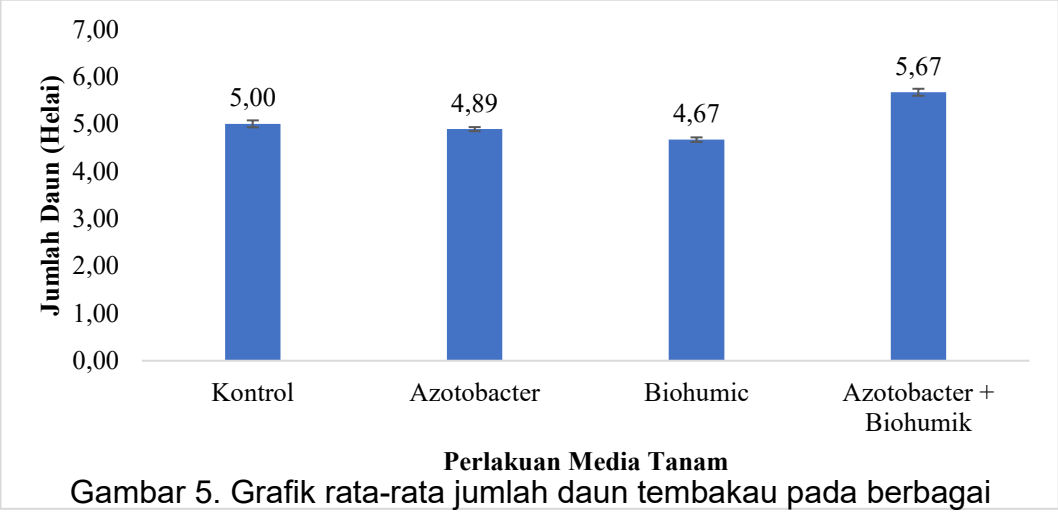


Gambar 4. Grafik rata-rata tinggi tanaman tembakau pada berbagai perlakuan media tanam

Grafik diatas menunjukkan bahwa tinggi tanaman tertinggi diperoleh pada perlakuan *Azotobacter* + *Biohumic* (21,52 cm), diikuti *Azotobacter* (18,14 cm), *Biohumic* (17,52 cm), dan kontrol (17,10 cm). Walaupun demikian, hasil uji ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan. Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan *Azotobacter* maupun *biohumic* secara tunggal belum cukup memberikan pengaruh signifikan terhadap tinggi tanaman

5.1.2 Jumlah Daun

Jumlah daun menunjukkan total helaian daun yang tumbuh pada batang utama tanaman dan telah berkembang dengan jelas (terbuka sempurna) pada saat pengamatan. Parameter ini digunakan sebagai indikator pertumbuhan vegetatif karena jumlah daun berhubungan langsung dengan kapasitas fotosintesis tanaman. Hasil pengamatan jumlah daun tembakau disajikan pada Gambar 4.



Gambar 5. Grafik rata-rata jumlah daun tembakau pada berbagai perlakuan media tanam

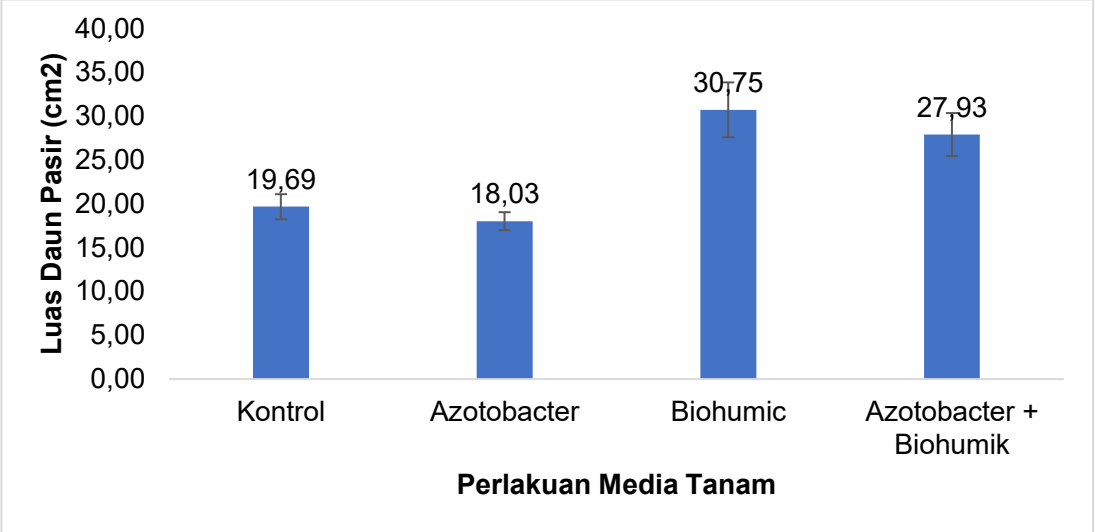
Pada gambar diatas terlihat bahwa Jumlah daun berkisar antara 4,67–5,67 helai, dengan nilai tertinggi pada perlakuan *Azotobacter* + *Biohumic*. Hasil ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan nyata, namun tren peningkatan terlihat pada kombinasi perlakuan.

5.1.3 Luas Daun

Luas daun merupakan ukuran luas permukaan helaian daun yang berfungsi sebagai organ utama fotosintesis, respirasi, dan transpirasi pada tanaman. Luas daun sangat penting karena berhubungan langsung dengan kapasitas fotosintesis dan akumulasi biomassa tanaman. Adapun data luas daun yang diamati meliputi daun pasir/daun pucuk, daun kaki/daun bawah dan daun tengah. Hasil pengamatan ketiga luasan daun tersebut disajikan pada Gambar 5, 6 dan 7.

1. Daun Pasir

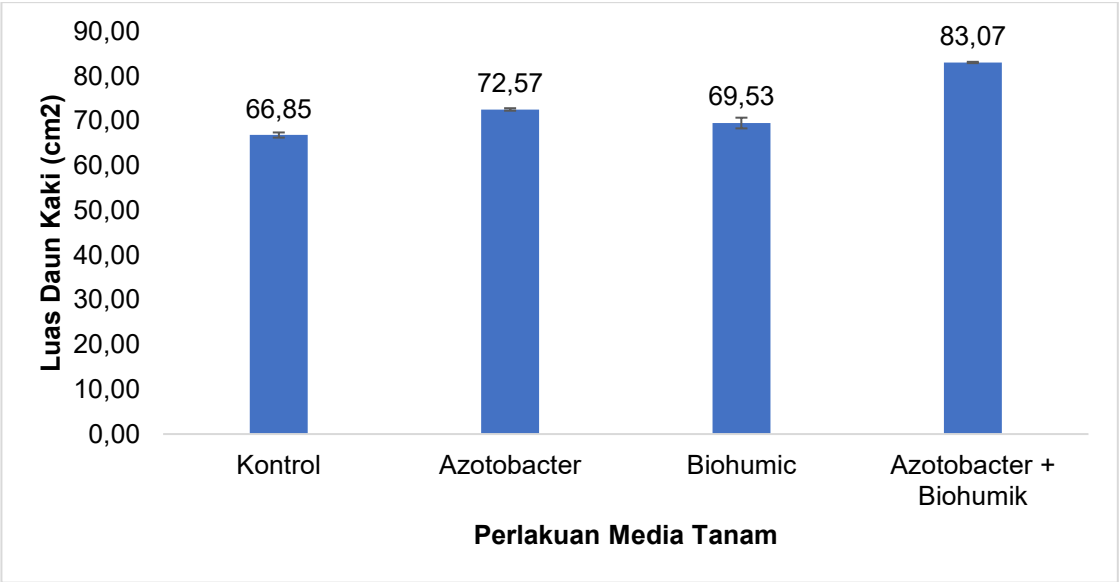
Terletak pada bagian atas tanaman, dekat pucuk. Ukurannya relatif lebih kecil dan tipis. Warna cenderung lebih hijau tua karena masih muda, sering disebut juga daun pucuk atau "*sand leaves*".



Gambar 6. Grafik rata-rata luas daun pasir tembakau pada berbagai perlakuan media tanam

2. Daun Kaki

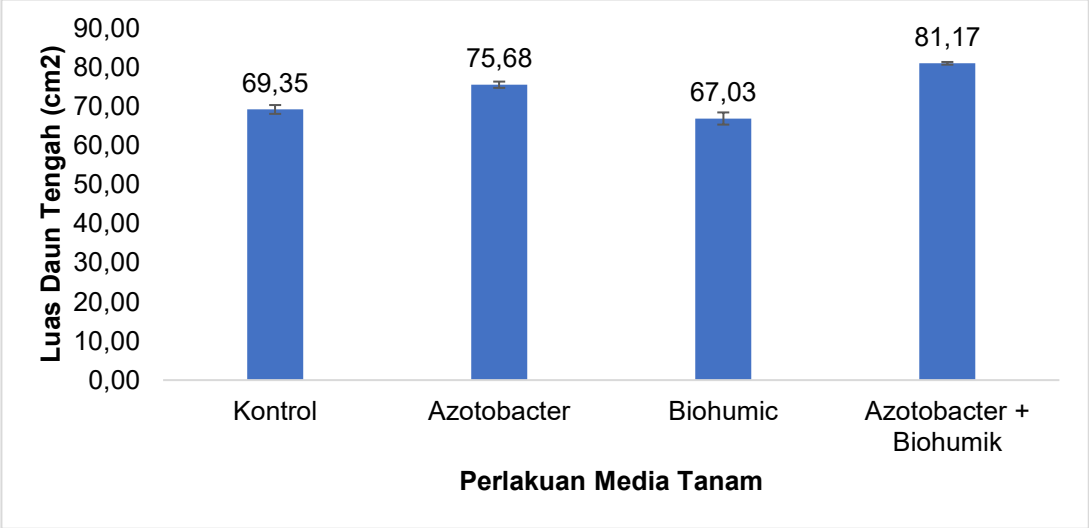
Terletak pada bagian bawah batang. Ukurannya kecil hingga sedang, lebih tua, biasanya lebih tebal. Kandungan nikotin lebih tinggi, tetapi kualitas rajangan lebih rendah dibanding daun tengah.



Gambar 7. Grafik rata-rata luas daun kaki tembakau pada berbagai perlakuan media tanam

3. Daun Tengah

Terletak di bagian tengah batang. Ukurannya lebih besar dibanding daun kaki. Memiliki kualitas terbaik, warna lebih cerah, dan tekstur yang sesuai untuk bahan baku rokok. Daun ini biasanya paling bernilai tinggi di pasaran.



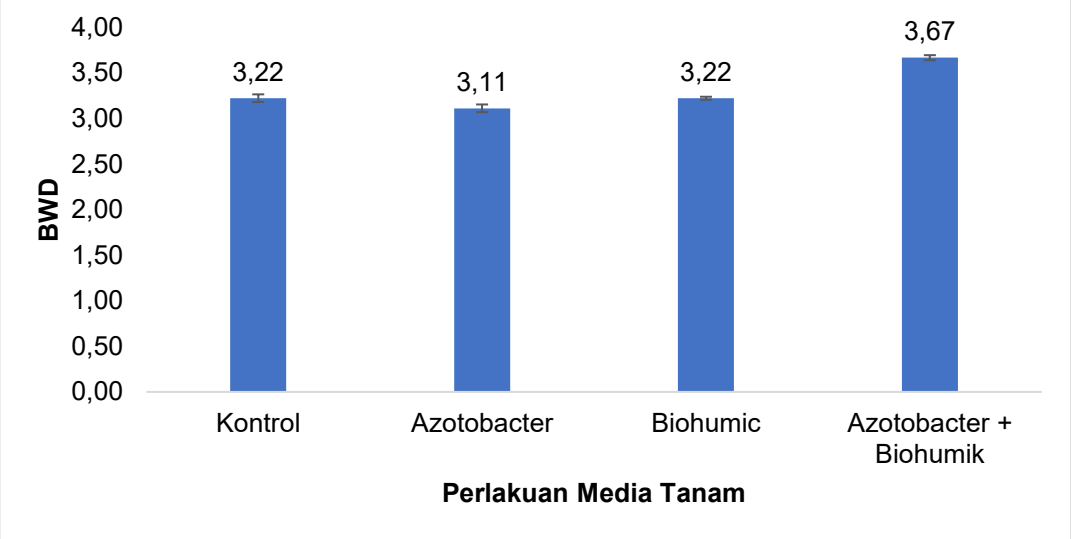
Gambar 8. Grafik rata-rata luas daun tengah tembakau pada berbagai perlakuan media tanam

Hasil pengamatan pada Gambar 5, 6 dan 7 menunjukkan bahwa variasi luas daun antar ketiga jenis daun yang diamati diperoleh hasil yaitu luas daun pasir terbesar terdapat pada perlakuan media pada *Biohumic* (30,75 cm²), pada pengamatan daun kaki dan daun tengah, luas daun terbesar terbesar terdapat pada perlakuan *Azotobacter* + *Biohumik* dengan luas berturut-turut 83,07 cm² dan 81,17 cm². Meskipun uji statistik tidak menunjukkan beda nyata, namun tren data memperlihatkan bahwa *Biohumik* cenderung meningkatkan luas daun pasir, sedangkan kombinasi

Azotobacter + *Biohumic* lebih berpengaruh pada daun tengah dan daun kaki.

5.1.4. Bagan Warna Daun (BWD)

Bagan Warna Daun (BWD) adalah alat sederhana berbentuk kartu plastik persegi panjang yang terdiri dari beberapa skala warna hijau dengan tingkat kecerahan yang berbeda-beda (biasanya 4–6 skala warna). Alat ini digunakan untuk menentukan tingkat kehijauan daun tanaman, yang mencerminkan kandungan klorofil dan nitrogen dalam jaringan daun. Adapun data skala BWD disajikan pada Gambar 8



Gambar 9. Grafik rata-rata skala bagan warna daun tembakau pada berbagai perlakuan media tanam

Hasil pengamatan terhadap nilai BWD berkisar 3,11–3,67, dengan nilai tertinggi pada perlakuan *Azotobacter* + *Biohumic*. Warna daun umumnya berkaitan erat dengan kandungan klorofil yang dipengaruhi oleh status nitrogen tanaman.

5.2. Pembahasan

5.2.1 Tinggi Tanam

Hasil pengamatan tinggi tanaman pada Gambar 3. menunjukkan bahwa perlakuan *Azotobacter* + *Biohumik* menghasilkan rata-rata tinggi tanaman tertinggi (21,52 cm), diikuti oleh *Azotobacter* (18,14 cm), *Biohumck* (17,52 cm), dan Kontrol (17,10 cm). Walaupun terdapat perbedaan nilai rata-rata, hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan tersebut tidak nyata. Artinya, pemberian *Azotobacter, Biohumic,* maupun kombinasinya belum memberikan pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan tinggi tanaman dibanding kontrol. Respon tanaman terhadap pupuk hayati dan *biohumik* bersifat spesifik terhadap jenis tanaman, kondisi lingkungan, dan kesuburan tanah. Bila unsur hara dalam media sudah mencukupi, maka tambahan inokulan atau *biohumik* tidak menunjukkan efek nyata (Paramanick et al., 2016).

Variabilitas biologis dan kondisi percobaan dapat menutupi efek perlakuan, terutama bila periode pengamatan relatif singkat atau dosis perlakuan belum optimal (Gopalakrishnan et al., 2015). Kombinasi *Azotobacter dan Biohumic* memang menunjukkan tren peningkatan lebih tinggi, namun secara statistik belum signifikan. Ini mengindikasikan potensi efek sinergis, meskipun belum cukup kuat untuk menghasilkan perbedaan nyata (Suharyanto et al., 2020).

Azotobacter merupakan bakteri penambat nitrogen bebas yang dapat meningkatkan ketersediaan N, menghasilkan fitohormon seperti IAA,

GA, dan sitokinin yang merangsang pertumbuhan tanaman (Bhattacharyya & Jha, 2012; Hindersah & Simarmata, 2017). Namun, efektivitasnya sangat dipengaruhi oleh kesesuaian lingkungan.

Biohumic (asam humat dan fulvat) berfungsi memperbaiki sifat kimia tanah, meningkatkan penyerapan unsur hara, dan menstimulasi pertumbuhan akar. Beberapa penelitian menunjukkan *biohumik* efektif meningkatkan pertumbuhan tanaman, tetapi hasilnya bervariasi tergantung jenis tanah dan tanaman (Canellas et al., 2015; Olaetxea et al., 2018).

Kombinasi pupuk hayati dengan *biohumic* dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman lebih baik dibandingkan aplikasi tunggal. Hal ini disebabkan adanya sinergi antara peningkatan ketersediaan hara dan stimulasi fisiologis tanaman (Mia et al., 2020; Hartatik et al., 2019). Namun, beberapa penelitian juga menunjukkan hasil yang tidak signifikan, terutama pada tanah dengan kesuburan sedang hingga tinggi (Rizwan et al., 2021).

5.2.2. Jumlah Daun

Hasil pengamatan (Gambar 4) menunjukkan bahwa jumlah daun tanaman tembakau relatif seragam pada semua perlakuan, dengan kisaran 4,67–5,67 helai. Perlakuan *Azotobacter* + *Biohumic* menghasilkan jumlah daun tertinggi (5,67 helai), sedangkan *Biohumic* tunggal menghasilkan jumlah daun terendah (4,67 helai). Meskipun terdapat variasi angka rata-rata, hasil analisis Anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan.

Hal ini mengindikasikan bahwa pada fase pertumbuhan awal, perlakuan dengan pupuk hayati maupun bahan organik humik belum memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pembentukan jumlah daun. Jumlah daun cenderung lebih dipengaruhi oleh faktor genetik tanaman dan kondisi lingkungan dasar (ketersediaan cahaya, air, dan suhu) dibanding perlakuan tunggal media tanam.

Azotobacter dikenal sebagai bakteri penambat nitrogen bebas yang mampu meningkatkan ketersediaan nitrogen, salah satu unsur esensial dalam pembentukan organ vegetatif termasuk daun. Nitrogen mendorong pembelahan dan pembesaran sel yang berdampak pada perkembangan tajuk tanaman. Kumar et al. (2019) melaporkan bahwa aplikasi *Azotobacter* dapat meningkatkan pertumbuhan vegetatif tanaman tembakau, meskipun efeknya tidak selalu signifikan pada fase awal. Egamberdieva et al. (2019) menegaskan bahwa bakteri penambat nitrogen seperti *Azotobacter* dapat meningkatkan sintesis klorofil dan fotosintesis yang berhubungan erat dengan jumlah dan kualitas daun. Dalam penelitian ini, perlakuan *Azotobacter* menghasilkan jumlah daun hampir setara dengan kontrol, yang menunjukkan bahwa kontribusinya pada fase awal belum terlalu nyata.

Biohumic (pupuk berbasis asam humat) berperan dalam meningkatkan kesuburan tanah, memperbaiki ketersediaan hara, serta merangsang metabolisme tanaman. Namun, efek *biohumic* sering kali lebih nyata pada fase pertumbuhan akar dan peningkatan efisiensi penyerapan hara daripada langsung memengaruhi jumlah daun. Canellas et al. (2015)

melaporkan bahwa asam humat lebih berperan dalam meningkatkan perkembangan akar dan efisiensi serapan nutrien. Olivares et al. (2017) menemukan bahwa *biohumic* bekerja sebagai biostimulan, tetapi dampaknya pada jumlah daun sering kali tidak signifikan jika kondisi hara sudah memadai. Hasil penelitian ini sejalan dengan literatur tersebut, di mana perlakuan *biohumic* justru menunjukkan rata-rata jumlah daun paling rendah (4,67 helai).

Perlakuan kombinasi menunjukkan rata-rata jumlah daun tertinggi (5,67 helai), meskipun secara statistik tidak berbeda nyata dengan kontrol. Tren ini mengindikasikan adanya potensi sinergi antara aktivitas mikroba penambat nitrogen dengan bahan organik humik yang memperbaiki ketersediaan hara dan lingkungan rizosfer. Maji et al. (2021) melaporkan bahwa integrasi pupuk hayati dan pupuk organik memberikan pengaruh positif lebih besar terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman dibanding aplikasi tunggal. Abo-Shady et al. (2022) juga menemukan bahwa kombinasi biofertilizer dengan asam humat mampu meningkatkan pertumbuhan vegetatif dan kualitas hasil tanaman tembakau dibanding perlakuan tunggal. Namun, karena efeknya belum signifikan, kemungkinan kombinasi ini baru menunjukkan perbedaan nyata pada fase pertumbuhan lebih lanjut (fase vegetatif penuh atau awal generatif).

5.2.3. Luas Daun

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan *Biohumic* menghasilkan luas daun pasir terbesar (30,75 cm²), diikuti oleh *Azotobacter*

+ *Biohumic* (27,93 cm²), sementara kontrol (19,69 cm²) dan *Azotobacter* tunggal (18,03 cm²) lebih rendah (Gambar 5.). Hal ini mengindikasikan bahwa *biohumic* berperan penting dalam memperbaiki struktur tanah, meningkatkan ketersediaan unsur hara, dan menstimulasi perkembangan jaringan daun pada fase awal. Sejalan dengan penelitian Canellas et al. (2015), asam humat dalam *biohumic* mampu meningkatkan pertumbuhan area daun melalui stimulasi fisiologis, terutama pada peningkatan aktivitas fotosintesis. Olivares et al. (2017) juga melaporkan bahwa humic substances dapat meningkatkan perkembangan daun melalui peningkatan serapan nitrogen dan fosfor.

Pengamatan luas daun kaki (Gambar 6.) menunjukkan hasil tertinggi pada perlakuan *Azotobacter* + *Biohumic* (83,07 cm²), diikuti *Azotobacter* tunggal (72,57 cm²), Biohumic (69,53 cm²), dan kontrol (66,85 cm²). Meskipun perbedaan tidak nyata secara statistik, tren ini menunjukkan bahwa kombinasi *Azotobacter* dan *biohumic* memberikan efek sinergis terhadap pertumbuhan daun bagian bawah (daun kaki), yang berperan penting dalam fotosintesis awal tanaman. *Azotobacter* diketahui menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti auksin dan giberelin yang dapat merangsang pembesaran sel daun (Sharma et al., 2020). Kombinasi dengan *biohumic* memperkuat efek ini melalui perbaikan ketersediaan hara dan aktivitas enzimatik di rizosfer. Menurut Maji et al. (2021), integrasi biofertilizer dengan bahan organik mampu meningkatkan indeks luas daun dan efisiensi fotosintesis tanaman hortikultura.

Luas daun tengah (Grafik 4.5) juga menunjukkan pola peningkatan pada perlakuan kombinasi. Hasil tertinggi terdapat pada *Azotobacter* + *Biohumic* (81,17 cm²), diikuti *Azotobacter* (75,68 cm²), kontrol (69,35 cm²), dan *Biohumic* (67,03 cm²). Tren ini konsisten dengan data luas daun kaki, menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan mendukung pertumbuhan daun bagian tengah yang biasanya merupakan daun penting bagi produksi biomassa dan hasil tembakau.

Menurut Calvo et al. (2019), aplikasi biostimulan organik dan mikroba tanah dapat meningkatkan luas daun melalui peningkatan fotosintesis dan aktivitas metabolik. Selain itu, Egamberdieva et al. (2019) menyatakan bahwa mikroba tanah seperti *Azotobacter* meningkatkan fisiologi daun dengan memperbaiki penyerapan nitrogen dan sintesis klorofil.

5.2.4. Bagan Warna Daun

Berdasarkan gambar 7, nilai BWD tanaman tembakau berkisar antara 3,11–3,67. Perlakuan *Azotobacter* + *Biohumic* menunjukkan nilai BWD tertinggi (3,67), sedangkan perlakuan *Azotobacter* tunggal menunjukkan nilai terendah (3,11). Perlakuan kontrol dan biohumik memiliki nilai yang sama (3,22).

Meskipun terdapat variasi rata-rata antar perlakuan, hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik. Hal ini berarti bahwa pengaruh pemberian Azotobacter maupun biohumic, baik tunggal maupun kombinasi, terhadap intensitas kehijauan

daun (indikator kandungan nitrogen daun) masih dalam kisaran yang relatif seragam.

Nilai BWD berkaitan erat dengan kandungan klorofil dan nitrogen pada daun. Semakin tinggi nilai BWD, semakin hijau daun, yang mengindikasikan ketersediaan nitrogen relatif cukup untuk mendukung proses fotosintesis.

Nilai BWD 3,0–3,5 umumnya dianggap cukup baik untuk mempertahankan pertumbuhan vegetatif tanaman tembakau, meskipun kebutuhan nitrogen bisa berbeda dibanding padi yang umumnya menggunakan nilai ambang BWD ≥ 4 (Witt et al., 2005). Peningkatan nilai BWD pada perlakuan *Azotobacter* + *Biohumic* menunjukkan adanya kecenderungan perbaikan status nitrogen, walaupun belum berbeda nyata. Hal ini dapat dikaitkan dengan peran Azotobacter sebagai penambat nitrogen bebas serta biohumic yang meningkatkan efisiensi penyerapan hara.

Azotobacter berperan dalam fiksasi nitrogen, produksi auksin, giberelin, dan sitokinin yang mendukung pertumbuhan vegetatif. Namun, dalam penelitian ini perlakuan *Azotobacter* tunggal justru memiliki nilai BWD terendah, yang dapat disebabkan oleh dosis inokulum yang belum optimal atau kondisi tanah yang kurang mendukung aktivitas mikroba. Biohumik berfungsi memperbaiki sifat fisik dan kimia tanah serta meningkatkan ketersediaan nitrogen anorganik melalui mineralisasi. Nilai BWD pada perlakuan biohumic sama dengan kontrol, yang menunjukkan bahwa pengaruhnya masih terbatas pada fase awal pengamatan. Kombinasi

Azotobacter + *Biohumic* menunjukkan tren tertinggi (3,67). Kombinasi ini dapat menciptakan kondisi rizosfer yang lebih baik, sehingga nitrogen lebih tersedia bagi tanaman. Sejalan dengan laporan Abo-Shady et al. (2022), kombinasi biofertilizer dan asam humat meningkatkan ketersediaan nitrogen dan indeks kehijauan daun pada tembakau.

Menurut Tewolde et al. (2016), nitrogen merupakan faktor utama dalam pembentukan klorofil sehingga memengaruhi intensitas kehijauan daun. Kombinasi *Azotobacter* dan biohumic diduga meningkatkan efisiensi serapan nitrogen sehingga warna daun lebih hijau dibandingkan perlakuan tunggal atau kontrol.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian Azotobacter, Biohumic, maupun kombinasinya belum menunjukkan perbedaan nyata terhadap pertumbuhan vegetatif tembakau lokal berdasarkan hasil analisis ANOVA. Namun demikian, kombinasi Azotobacter + Biohumic memperlihatkan tren peningkatan pada seluruh parameter yang diamati, yaitu tinggi tanaman (21,52 cm), jumlah daun (5,67 helai), luas daun kaki (83,07 cm^2), luas daun tengah (81,17 cm^2), serta nilai bagan warna daun (3,67). Perlakuan Biohumic tunggal cenderung lebih berpengaruh pada luas daun pasir, sedangkan kombinasi Azotobacter + Biohumic lebih mendukung perkembangan daun kaki dan daun tengah. Hal ini mengindikasikan adanya potensi efek sinergis antara Azotobacter sebagai penambat nitrogen dan biohumic sebagai pembenah tanah dalam meningkatkan pertumbuhan vegetatif tembakau lokal.

6.2. Saran

Penelitian ini hanya berfokus pada fase pertumbuhan vegetatif. Perlu dilakukan pengamatan lanjutan hingga fase generatif untuk mengetahui efek perlakuan terhadap kualitas daun tembakau, misalnya kadar nikotin, kadar gula reduksi, dan mutu rajangan.

DAFTAR PUSTAKA

Aasfar, A. (2021). *Role of Azotobacter in sustainable agriculture: A review*. Journal of Agricultural Microbiology, 58(2), 123–132.

Abo-Shady, H., Mohamed, A., & Salem, A. (2022). *Combined application of biofertilizer and humic acid improves growth and quality of tobacco*. Agricultural Sciences, 13(4), 115–124.

Albureikan, M. O. (2024). *Effect of Azotobacter-based biofertilizer on plant growth and soil health*. International Journal of Agronomy, 2024, 1–8.

Ali, M., & Bambang. (2017). *Produksi dan mutu benih tembakau lokal*. Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat, Jember.

Badawy, A., & Amer, M. (2023). *Efficiency of Azotobacter biofertilizer on growth and yield of tobacco*. Tobacco Research Journal, 49(2), 77–86.

Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). *Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28, 1327–1350.

Cahyono, B. (1998). *Tembakau: Budidaya dan analisis usaha tani*. Kanisius, Yogyakarta.

Cahyono, B. (2011). *Teknik budidaya tembakau*. Kanisius, Yogyakarta.

Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2019). *Agricultural uses of plant biostimulants*. Plant and Soil, 383, 3–41.

Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2015). *Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture*. Scientia Horticulturae, 196, 15–27.

Cozzolino, V., et al. (2021). *Biohumic substances and their role in soil fertility*. Soil Biology and Biochemistry, 152, 108–120.

Dartius, D., et al. (1991). *Metode pengukuran luas daun tembakau*. Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Malang.

Egamberdieva, D., et al. (2019). *PGPR and their role in improving plant growth under stress conditions*. Frontiers in Microbiology, 10, 471.

Febriyanti, R., & Rahayu, E. (2019). *Efektivitas Azotobacter dan biochar dalam meningkatkan pertumbuhan padi*. Jurnal Pertanian Berkelanjutan, 7(1), 55–63.

Glambos, A., et al. (2020). *Effect of humic substances on plant physiology*. Journal of Plant Growth Regulation, 39(3), 765–778.

Gopalakrishnan, S., et al. (2015). *Biofertilizers and their impact on crop growth*. Journal of Soil Biology, 32, 67–75.

Hartatik, W., et al. (2019). *Pupuk organik dan pupuk hayati*. Badan Litbang Pertanian, Jakarta.

Hindersah, R., & Simarmata, T. (2017). *Peran Azotobacter sebagai biofertilizer*. Jurnal AgroBiogen, 13(2), 87–96.

Kukerja, R., et al. (2004). *Azotobacter species as PGPR*. Applied Soil Ecology, 27(2), 187–195.

Kumar, A., Behl, R. K., & Narula, N. (2001). *Establishment of Azotobacter in rhizosphere and their effect on wheat*. Indian Journal of Agricultural Research, 35(1), 47–53.

Li, Y., et al. (2025). *Azotobacter-based nanobiofertilizers for sustainable agriculture*. Environmental Nanotechnology, 10, 45–57.

Maulidiana, L. (2008). *Biologi bunga tembakau*. Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Jember.

Matnawi, H. (1997). *Budidaya tanaman tembakau*. Kanisius, Yogyakarta.

Maffia, A., et al. (2025). *Recent advances in biohumic applications*. Agronomy Journal, 117(2), 320–334.

Maji, S., et al. (2021). *Integrated use of biofertilizers and organics in tobacco*. Journal of Plant Nutrition, 44(8), 1125–1136.

Mia, M. A. B., Shamsuddin, Z. H., & Wahab, Z. (2020). *Synergistic effects of biofertilizer and humic acid on crop productivity*. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 183(1), 123–132.

Olaetxea, M., et al. (2018). *Humic substances and their impact on plant physiology*. Frontiers in Plant Science, 9, 246.

Olivares, F. L., et al. (2017). *Humic substances and plant hormone-like activity*. Journal of Plant Growth Regulation, 36(1), 165–176.

Padmo, S., & Djatmiko, P. (1991). *Taksonomi tanaman tembakau*. Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.

Paramanick, D., et al. (2016). *Effect of biofertilizers on plant growth*. International Journal of Agronomy, 2016, 1–8.

Pawar, R. (2021). *Constraints in Azotobacter application and management strategies*. International Journal of Microbiology, 2021, 1–10.

Petaniquik.com. (2017). *Syarat tumbuh tembakau*. Retrieved from https://www.petaniquik.com

Qadri, S. N., et al. (2023). *Growth response of tobacco seedlings in polybag media*. Journal of Agricultural Research, 12(4), 215–223.

Qadri, S. N., et al. (2024). *Seed viability and vigor of tobacco varieties*. International Journal of Seed Science, 9(2), 88–95.

Qiu, X., et al. (2025). *Biohumic and microbial synergy in soil fertility*. Applied Soil Ecology, 192, 108–118.

Rathor, P., et al. (2024). *Humic acid and crop productivity*. Agronomy, 14(3), 557–569.

Rizwan, M., et al. (2021). *Application of humic substances in agriculture*. Soil and Tillage Research, 207, 104–119.

Sharma, S., et al. (2020). *Role of Azotobacter in leaf expansion and chlorophyll synthesis*. Plant Physiology Reports, 25(4), 534–542.

Shivprasad, H., & Page, W. J. (1989). *The ecology and physiology of Azotobacter*. Advances in Microbial Ecology, 11, 1–45.

Suharyanto, et al. (2020). *Pengaruh kombinasi biohumic dan pupuk hayati terhadap pertumbuhan tanaman hortikultura*. Jurnal Agroteknologi, 14(1), 65–72.

Sun, J., et al. (2022). *Humic substances and soil microbial community*. Geoderma, 414, 115–135.

Susilowati, N. (2006). *Morfologi tanaman tembakau*. Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Jember.

Tewolde, H., et al. (2016). *Nitrogen management in tobacco production*. Agronomy Journal, 108(2), 588–595.

Timergali, N., et al. (2024). *Biohumic as a soil conditioner*. Soil Use and Management, 40(2), 205–214.

Tiwari, S., et al. (2023). *Humic acid mediated soil fertility improvement*. Journal of Environmental Biology, 44(1), 67–74.

Wani, S. A., et al. (2013). *Azotobacter species: Characteristics and applications*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2(4), 34–45.

Witt, C., et al. (2005). *Leaf Color Chart for managing nitrogen in rice*. International Rice Research Institute, Los Baños.

Yamagata, T., & Itano, T. (1923). *Studies on nitrogen fixation by Azotobacter*. Japanese Journal of Soil Science, 1(2), 33–40.