

## Potensi Isolat Bakteri Endofit Dari Akar Tanaman Ubi Jalar Sebagai Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid*

### *Potential of Isolate endophytic bacteria from Sweet Potato Plant Roots of as Producing Indole Acetic Acid Hormone*

Anisah Iswanti \*, Mahanani Tri Asri, Lisa Lisdiana

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

\* e-mail: [anisah\\_iswanti@yahoo.co.id](mailto:anisah_iswanti@yahoo.co.id)

#### ABSTRAK

*Indole Acetic Acid* (IAA) adalah hormon yang berperan dalam pembelahan sel, menghambat pertumbuhan tunas samping, merangsang terjadinya abisi dan pemanjangan akar. Hormon IAA pada umumnya terdapat pada tanaman dan ditemukan pada hampir semua jenis tanaman, pembentukan IAA pada tanaman di dukung oleh adanya mikroba yang bersimbiosis dengan tanaman. Empat isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai penghasil hormon IAA yaitu A1, B1, B2, dan B3. Tujuan penelitian ini adalah mendeskripsikan produksi hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) masing-masing isolat bakteri endofit selama 5 hari masa inkubasi. Jenis penelitian ini adalah observasi. Parameter yang diukur adalah kemampuan isolat bakteri endofit yaitu A1, B1, B2, dan B3 dalam memproduksi hormon *Indole Acetic Acid* (IAA). Uji potensi dilakukan dengan menginkubasi bakteri pada media JNFB cair, selama 5 hari dengan suhu 30°C. Kadar IAA diukur menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 530 nm, pengukuran dilakukan setiap hari dari hari ke 0 sampai hari ke 5. Hasil pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer menunjukan bahwa isolat A1 mampu menghasilkan IAA secara berturut-turut dari hari pertama sampai hari ke-lima sebesar 0,43 ppm, 0,50 ppm, 2,08 ppm, 1,06 ppm, 0,26 ppm. Isolat B1 mampu memproduksi IAA sebesar 0,30 ppm, 0,46 ppm, 0,93 ppm, 0,53 ppm, 0,43 ppm. Isolat B2 mampu memproduksi IAA sebesar 0,16 ppm, 0,16 ppm, 1,26 ppm, 0,60 ppm, 0,16 ppm. Isolat B3 mampu memproduksi IAA sebesar 0,20 ppm, 0,33 ppm, 0,76 ppm, 0,46 ppm, 0,23 ppm. Dari keempat isolat bakteri tersebut konsentrasi IAA tertinggi yaitu pada masa inkubasi 72 jam.

**Kata kunci** : bakteri endofit; *Heamositometer*; hormon IAA; *Spektrofotometer*

#### ABSTRACT

*Indole Acetic Acid* (IAA) is a hormone that plays a role in cell division, inhibiting the growth of side shoots, stimulate abisi and root elongation. IAA hormone generally found in plants and is found in almost all types of plants, the formation of IAA in plants is supported by the presence of microbes in symbiosis with plants. Four isolates that have potential as hormone-producing IAA ie A1, B1, B2, and B3. The purpose of this study was to describe the production of the hormone *Indole Acetic Acid* (IAA) each isolate endophytic bacteria for 5-day incubation period. This was observational research. The measured parameter was the ability to isolate endophytic bacteria ie A1, B1, B2, and B3 in producing the hormone *Indole Acetic Acid* (IAA). Potency test was conducted by incubating the bacteria in liquid JNFB media, for 5 days with a temperature of 30°C. IAA levels were measured using spectrophotometry with a wavelength of 530 nm, the measurement was done every day from day 0 to day 5. The results of measurements using a spectrophotometer address that isolates A1 was able to produce IAA in a row from the first to the fifth day amounted to 0.43 ppm, 0.50 ppm, 2.08 ppm, 1.06 ppm, 0.26 ppm. Isolates B1 was capable of producing IAA was 0.30 ppm, 0.46 ppm, 0.93 ppm, 0.53 ppm, 0.43 ppm. B2 isolates capable of producing IAA was 0.16 ppm, 0.16 ppm, 1.26 ppm, 0.60 ppm, 0.16 ppm. Isolates B3 was capable of producing IAA at 0.20 ppm, 0.33 ppm, 0.76 ppm, 0.46 ppm, 0.23 ppm. The bacterial isolates from the fourth highest concentration of IAA in the incubation period of 72 hours.

**Keywords** : endophytic bacteria ; *Heamositometer*; IAA hormone; *Spectrophotometer*

#### PENDAHULUAN

Bakteri endofit adalah bakteri yang dapat hidup dalam jaringan tanaman tanpa merugikan inangnya (Barac *et al.*, 2004). Bakteri ini dapat hidup di dalam pembuluh vaskular pada akar, batang, daun dan buah, namun pada umumnya populasi bakteri yang lebih besar terdapat pada bagian akar. Peran dari bakteri endofit adalah

sebagai penghasil fitohormon. Fitohormon dapat didefinisikan sebagai zat-zat yang dapat merangsang pertumbuhan dan mengatur proses fisiologi tanaman (Sukmadi, 2012). Salah satu hormon tersebut adalah auksin atau *Indole Acetic Acid* (IAA). Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) adalah hormon yang berperan dalam pembesaran sel, menghambat pertumbuhan

tunas samping, merangsang terjadinya absisi, berperan dalam pembentukan jaringan xilem dan floem, dan juga berpengaruh pada perkembangan dan pemanjangan akar (Wattimena, 1991). Umumnya hormon IAA terdapat pada tanaman dan ditemukan hampir pada semua jenis tanaman (Leveau dan Lindow, 2005). Hormon IAA juga dapat diperoleh dari mikroba yang bersimbiosis dengan tanaman.

Banyak isolat bakteri yang telah dilaporkan mampu untuk menghasilkan hormon IAA pada tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi adalah 8 isolat, hal ini sesuai dengan penelitian Anggara dkk. (2014). Empat isolat diantaranya mampu menghasilkan hormon IAA tertinggi yaitu isolat A1 (0,3552 ppm), B1 (0,5032 ppm), B2 (0,3552 ppm) dan B3 (0,5525 ppm). Produksi hormon IAA oleh keempat isolat tersebut hanya diukur pada hari ke-5 pengamatan setelah waktu inkubasi, sehingga hasil yang didapatkan tidak dapat menunjukkan fluktuasi yang terjadi setiap hari.

Penelitian mengenai potensi isolat bakteri endofit dari tanaman ubi jalar sebagai penghasil hormon IAA perlu dilakukan, mengingat dari penelitian sebelumnya produksi hormon IAA hanya dihitung pada hari ke lima. Pada penelitian ini diharapkan dapat mendeskripsikan produksi hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) masing-masing isolat bakteri endofit selama 5 hari masa inkubasi sehingga diketahui masa inkubasi yang optimal untuk diaplikasikan pada tanaman yang kekurangan hormon IAA.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian bersifat observasional yang dilakukan pada tanggal 09 April 2016 sampai selesai. Uji potensi isolat bakteri endofit penghasil IAA dengan metode spektrofotometri dilakukan di Laboratorium C10 FMIPA Universitas Negeri Surabaya dan analisis data dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi C9 FMIPA Universitas Negeri Surabaya. Sasaran penelitian ini adalah empat isolat A1, B1, B2 dan B3 yang diambil dari penelitian sebelumnya yaitu penelitian Anggara dkk. (2014).

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah gelas ukur, *beaker glass*, kertas tisu, kertas saring, *aluminium foil*, inkubator, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *vortex*, *magnetic stirrer*, cawan petri, ose, *syringe*, kapas, spektrofotometer, shaker, dan autoklaf. Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah media *Nutrient Agar*, JNFB (*James Nitrogen Free Malat Bromthymol blue*), reagen

Salkowski, triptofan, akuades, alkohol 70 %, dan *Methylene Blue* 0,01%.

Langkah pertama pada penelitian ini adalah sterilisasi alat-alat dan media yang digunakan pada penelitian ini. Alat dan media dimasukkan ke dalam autoklaf disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi. Peremajaan bakteri penghasil hormon IAA dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media *Nutrient Agar* miring yang sudah ditambahkan dan diinkubasi selama 24-48 jam. Setiap kultur bakteri pada media NA diambil 1-2 ose dan diinokulasi ke media JNFB 60 ml, kemudian diambil 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditetesi *Methylene Blue* 0,01%, selanjutnya dihitung dengan menggunakan haemositometer hingga mendapat jumlah sel  $10^6$  sel/ml. Setelah mendapatkan kerapatan  $10^6$  sel/ml media tersebut di dalam tabung erlenmeyer sebanyak 10 ml, diinkubasi dalam suhu ruang menggunakan shaker water bat.

Pengujian isolat bakteri dalam menghasilkan hormon IAA dilakukan dengan mengambil 3 ml kultur bakteri pada hari ke 0 kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit, hingga menghasilkan supernatan dan pelet. Supernatan diambil sebanyak 2 ml untuk analisis IAA. Supernatan tersebut selanjutnya ditambahkan dengan reagen Salkowsky sebanyak 1 ml atau dengan perbandingan 2:1. Kultur bakteri didiamkan selama 60 menit, dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 530 nm. Untuk perhitungan jumlah sel bakteri pada media tersebut yang dilakukan adalah dengan cara mengambil 2 ml dari media JNFB ditambahkan 1 tetes *Methylene Blue* 0,01% dan dihomogenkan menggunakan *vortex*, kemudian diamati pada mikroskop. Sel yang dihitung merupakan sel yang tidak berwarna oleh *methylene blue* melainkan yang transparan dengan rumus sebagai berikut :

$$C = \frac{t \times d}{0,25 n} \times 10^6$$

Keterangan:

C	=	kerapatan bakteri
t	=	jumlah bakteri pada seluruh kotak bujur sangkar yang dihitung
d	=	faktor pengenceran
n	=	jumlah petak bujur sangkar yang diamati
0,25	=	kosentranta

## HASIL

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa isolat bakteri penghasil hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari akar tanaman ubi jalar yaitu A1, B1, B2, dan B3. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa masing-masing isolat memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan hormon IAA.

Perhitungan kadar hormon IAA yang terbentuk dari bakteri endofit pada akar tanaman ubi jalar dilakukan dengan menggunakan *spektrofotometer* yang diamati dalam 5 hari dengan dua kali pengulangan. Dari penelitian didapatkan hasil seperti pada Tabel 1. Rata-rata keempat isolat tersebut menghasilkan IAA tertinggi pada masa inkubasi 72 jam. Isolat A1 mampu menghasilkan IAA dengan konsentrasi yang paling tinggi jika dibandingkan ketiga isolat bakteri lainnya. Isolat bakteri yang menghasilkan konsentrasi IAA tertinggi hingga

terendah pada masa inkubasi 72 jam secara berurutan dari isolat A1, B1, B2 dan B3 adalah sebesar 2,08 ppm; 0,93 ppm; 1,26 ppm; dan 0,76 ppm.

Jumlah bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* yang diamati dalam 5 hari dengan dua kali pengulangan. Dari penelitian yang dilakukan didapatkan hasil pada Tabel 2.

Jumlah bakteri pada isolat A1 cenderung mengikuti kurva pertumbuhan, hal ini ditandai dengan jumlah bakteri pada masa inkubasi 24 jam sebesar  $2,25 \times 10^7$  kemudian terjadi peningkatan pada masa inkubasi 72 jam sebesar  $4,25 \times 10^7$  sel/mL. Pada masa inkubasi 120 jam terjadi penurunan jumlah sel bakteri yakni sebesar  $1,25 \times 10^7$  sel/mL. Periode naik turunnya jumlah bakteri tersebut berlaku juga pada ketiga isolat lainnya yaitu B1, B2, dan B3.

## PEMBAHASAN

Fluktuasi isolat bakteri dalam menghasilkan hormon IAA pada inkubasi 24 jam dari keempat isolat cukup rendah yaitu A1 sebesar 0,43 ppm, B1 sebesar 0,30 ppm, B2 sebesar 0,16 ppm, dan B3 sebesar 0,20 ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa pada hari pertama bakteri penghasil IAA masih dalam fase adaptasi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Kresnawaty *et al.*, (2008) yang menunjukkan bahwa IAA yang dihasilkan oleh bakteri *Rizobium sp.* pada inkubasi 24 jam sebesar 6,73 ( $\mu\text{g/ml}$ ), hasil ini berada pada tingkat yang paling rendah dibanding pada inkubasi 48 jam dengan konsentrasi sebesar 11,048 ( $\mu\text{g/ml}$ ) pada kondisi ini bakteri *Rizobium sp.*

masih berada dalam fase adaptasi kandungan enzim-enzim yang berfungsi untuk mengubah triptofan menjadi IAA masih rendah.

Pada masa inkubasi 48 jam produksi IAA yang dihasilkan oleh bakteri menunjukkan adanya peningkatan yaitu A1 sebesar 0,50 ppm, B1 sebesar 0,46 ppm, B2 sebesar 0,16 ppm, B3 sebesar 0,33 ppm. Dalam kondisi pertumbuhan yang optimum, sel membelah dalam jumlah yang luar biasa dalam waktu yang singkat. Laju pertumbuhan selama fase logaritmik ini ditentukan oleh beberapa faktor seperti suhu inkubasi, aktivitas air dan pH media penanaman (Garbutt 1997). Menurut Silitonga dkk. (2013) pada inkubasi hari ke-2 isolat I3 yang diinokulasi

**Tabel 1.** Rerata konsentrasi IAA yang dihasilkan bakteri endofit pada 5 hari masa inkubasi

No	Isolat	Konsentrasi IAA pada jam ke- (ppm) SD				
		24	48	72	96	120
1	A1	0,43±0,07	0,50±0,07	2,08±0,80	1,06±0,23	0,26±0,05
2	B1	0,30±0,02	0,46±0,14	0,93±0,05	0,53±0,05	0,43±0,07
3	B2	0,16±0,02	0,16±0,02	1,26±0,42	0,60±0,18	0,16±0,02
4	B3	0,20±0,05	0,33±0,09	0,76±0,02	0,46±0,05	0,23±0,07

**Tabel 2.** Rerata jumlah bakteri endofit penghasil hormon IAA pada 5 hari masa inkubasi

No	Isolat	Jumlah bakteri (sel/mL) pada inkubasi jam ke-				
		24	48	72	96	120
1	A1	$2,25 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$4,25 \times 10^7$	$1,75 \times 10^7$	$1,25 \times 10^7$
2	B1	$1,75 \times 10^7$	$2,25 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$1,25 \times 10^7$	$1,25 \times 10^7$
3	B2	$1,75 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$2,75 \times 10^7$	$1,75 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$
4	B3	$1,5 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$2,75 \times 10^7$	$1,75 \times 10^7$	$1,25 \times 10^7$

dari tanaman kedelai menghasilkan IAA dengan konsentrasi tinggi yaitu 24,1 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri mulai pada fase logaritmik dalam kondisi pertumbuhan yang optimum.

Pada masa inkubasi 72 jam didapatkan hasil yang tertinggi, yaitu A1 sebesar 2,00 ppm, B1 sebesar 0,93 ppm, B2 sebesar 1,26 ppm, B3 0,76 ppm, hal ini menunjukkan fase pertumbuhan statis atau fase puncak pada produksi IAA oleh bakteri endofit. Hasil ini sesuai dengan penelitian Akbari *et al.* (2007), isolat bakteri 118 - I yang dihasilkan dari bakteri endofit pada akar tanaman gandum, ditambahkan 5 mM L-tryptofan menghasilkan konsentrasi IAA yang tertinggi dengan masa inkubasi 72 jam yaitu sebesar 297 ppm.

Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh bakteri dapat berbeda-beda tergantung pada jenis dan asal bakteri. Pada masa inkubasi 96 jam yaitu A1 sebesar 1,06 ppm, B1 sebesar 0,53 ppm, B2 sebesar 0,60 ppm, B3 sebesar 0,46 mulai mengalami penurunan yang cukup rendah. Sedangkan pada masa inkubasi 120 jam A1 sebesar 0,26 ppm, B1 sebesar 0,43 ppm, B2 sebesar 0,16 ppm, B3 sebesar 0,46 ppm.

Pada masa inkubasi 120 jam juga mengalami penurunan yang cukup rendah ini dikarenakan bakteri memasuki fase kematian (*death phase*). Menurut Siliunga dkk. (2013), produksi hormon IAA yang dihasilkan pada hari ke-6 yaitu isolat bakteri I2, I4 dan I5 dari bakteri endofit pada tanaman kedelai mulai mengalami penurunan dari 19,23; 22,41 dan 23,75 menjadi 15,25; 17,55 dan 18 ppm. Menurunnya produksi IAA karena jumlah sel yang awalnya tinggi terus menerus menurun seiring berjalannya waktu (Lay dan Hastowo 1992). Menurut Garbutt (1997), kematian ini dapat diakibatkan oleh beberapa penyebab yaitu sel kehabisan energi (organisme menghabiskan energi cadangannya) atau diakibatkan perubahan pH dalam media yang dapat merusak sel organisme dan menyebabkan kematian selain itu bisa juga diakibatkan adanya akumulasi bahan beracun hasil proses metabolisme.

Hormon IAA disintesis sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam kondisi pertumbuhan bakteri suboptimal atau saat tersedia prekursor asam amino triptofan. Hormon IAA yang dihasilkan oleh bakteri melimpah pada fase logaritmik (*log phase*) atau fase eksponensial. Produksi IAA akan menurun pada fase kematian (*death phase*), karena ketersediaan karbon yang terbatas dan dalam kondisi lingkungan pH asam. Kondisi tersebut terjadi pada saat bakteri

memasuki fase kematian (*death phase*). (Dewi dkk., 2015).

Peningkatan konsentrasi IAA pada masa inkubasi 72 jam ini didukung juga karena tingginya jumlah sel bakteri pada masa inkubasi 72 jam. Menurut Lestari *et al.*, (2007) bahwa pada awal inkubasi sumber nutrisi tinggi sehingga produksi IAA terus meningkat, sedangkan apabila nutrisi rendah maka bakteri akan memasuki fase kematian (*death phase*) yang akan berpengaruh pada produksi hormon IAA yaitu ikut rendah. Pada bakteri juga terdapat fenomena bahwa pola produksi IAA berjalan seiring dengan bertambahnya jumlah bakteri. Menurut Lay dan Hastowo (1992), selain ketersediaan nutrisi dan pertumbuhan sel bakteri bisa juga dipengaruhi oleh banyak faktor seperti jenis mikroba, keadaan (suhu) dan jumlah sel awal ketika diinkubasikan ke media.

### SIMPULAN

Produksi hormon IAA yang dihasilkan masing-masing isolat berbeda, pada inkubasi 24 jam produksi isolat masih sedikit (fase adaptasi), pada inkubasi 48 jam produksinya meningkat (fase logaritmik), pada inkubasi 72 jam produksi IAA adalah yang tertinggi dibandingkan hari yang lain (fase puncak), sedangkan pada inkubasi 96 jam mulai mengalami penurunan produksi IAA dan makin menurun pada inkubasi 120 jam (fase kematian).

Banyaknya IAA yang dihasilkan dipengaruhi oleh banyaknya bakteri yang ada pada masing-masing isolat. Pada inkubasi 24 jam bakteri pada masing-masing isolat masih sedikit sehingga IAA yang dihasilkan juga sedikit, pada inkubasi 48 jam jumlah bakteri mengalami peningkatan yang berdampak pula pada produksi IAA yang meningkat. Pada inkubasi 72 jam jumlah bakteri lebih banyak (fase puncak) dibandingkan masa inkubasi yang lain sehingga produksi IAA yang dihasilkan paling tinggi, pada inkubasi 96 jam jumlah bakteri sedikit menurun sampai pada inkubasi 120 jam jumlahnya semakin menurun sehingga IAA yang diproduksi juga semakin menurun hal ini sesuai dengan fase pertumbuhan bakteri.

### DAFTAR PUSTAKA

- Akbari GA, Arab SM, Alikhani HA, Allahdadi I and Arzanesh MH, 2007. Isolation and Selection of Indigenous *Azospirillum spp.* and the IAA of Superior Strains Effects on Wheat Roots. *Journal of Agricultural Sciences* 3 (4): 523-529.

- Anggara BS, Yuliani, Lisdiana L, 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* dari Akar Tanaman Ubi Jalar. *LenteraBio*, 3 (3): 160-167.
- Barac T, Taghavi S, Borremans B, Provoost A, Oeyen L, Colpaert JV, Vangronsveld J and Lelie DVD, 2004. Engineered Endophytic Bacteria Improve Phytoremediation of Water-Soluble, Volatile, Organic Pollutants. *Nature Biotechnology* 22 : 155–194
- Dewi TK, Arum ES, Imamuddin H, Antonius S, 2015. *Karakterisasi mikroba perakaran (PGPR) agen penting pendukung pupuk organik Hayati*. Proseding Seminar Nasional Masyi Biodiv Indonesia. 1(2) : 289-295.
- Garbutt J, 1997. *Essentials of Food Microbiology*. London: Arnold.
- Kresnawaty I, Andanawarih S, Suharyono T, Panji, 2008. Optimization and purification of produced by rhizobium sp. In latex serum media supplemented with tryptophan from chicken manure. *Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan*. 76 (2) : 74-82
- Lay BW, Hastowo S, 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Leveau JHJ, and Lindow SE, 2005. Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 : 2365-2371.
- Lestari P, Susilowati DN, Riyanti EI, 2007. Pengaruh Hormon Asam Indole Asetat yang Dihasilkan oleh *Azospirillum* sp. Terhadap Perkembangan Akar Padi. *Jurnal Argo Biogen*. 3 (2): 66-71
- Sukmadi RB, 2012. *Aktivitas Fitohormon indole-3-Acetic Acid (IAA) dari beberapa Isolat Bakteri Rizosfer dan Endofit*. *Jurnal aktivitas Fitohormon IAA*. 7 (1) : 2-5
- Silitonga DM, Priyanti N, Nurwahyuni I, 2013. Isolat dan Uji Potensi Isolat Bakteri Plarut Fosfat dan Bakteri Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) Terhadap Pertumbuhan kedelai (*Glycine max* L.) pada Tanaman Kuning. *Jurnal Phosphate solubilizing bacteria*. 1 (2) : 38-39
- Wattimena GA, 1991. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU IPB.
- Zakharova EA, Shcherbakov AA, Brudnik VV, Skripko NG, Bulkhin NS, and Ignatov VV, 1999. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in *Azospirillum brasilense*. *Insight from quantum chemistry*. *Eur. J. Biochem*. 259 : 572 -576.