

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* dari Akar Tanaman Ubi Jalar

Isolation and Characterization of Indole Acetic Acid-Producing Endophytic Bacteria of Sweet Potato Roots

Bondan Surya Anggara*, Yuliani, Lisa Lisdiana

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: bond.suryo@gmail.com

ABSTRAK

Ubi jalar varietas Papua Patippi merupakan tanaman yang mampu hidup pada tanah yang kurang subur. Kemampuan bertahan hidup tersebut dikarenakan tanaman ubi jalar berasosiasi dengan bakteri endofit melalui berbagai mekanisme di antaranya menghasilkan hormon IAA. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri endofit penghasil hormon IAA, mengetahui karakteristik isolat bakteri dan melihat similaritas antarisolat bakteri. Sampel berupa akar tanaman ubi jalar diperoleh dari kebun Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian. Bakteri endofit, diisolasi dan diuji untuk mengetahui kadar hormon IAA yang dihasilkan. Empat isolat yang menghasilkan hormon IAA tertinggi dikarakterisasi morfologi koloni, morfologi sel dan fisiologi biokimia. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan numerik menggunakan Clad97. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 4 isolat bakteri endofit penghasil hormon IAA tertinggi. Isolat-isolat tersebut yaitu isolat A1, B1, B2 dan B3. Isolat bakteri endofit tersebut mempunyai karakteristik morfologi koloni dengan bentuk *irregular*; elevasi *umbonate* atau *raised*; tepi *serrate*, *lobate* atau *entire*; warna putih sampai putih kekuningan; karakter optik *opaque*; permukaan halus, tidak rata dan kasar. Karakteristik morfologi sel adalah Gram negatif, bentuk sel batang pendek, susunan sel monobasil, diplobasil atau streptobasil dan tidak terdapat endospora. Karakteristik fisiologi biokimia isolat bakteri endofit beragam di antaranya motil atau nonmotil, memproduksi katalase, mereduksi gula, memfermentasi asam campuran, memproduksi 2,3 butanadiol, mampu mereduksi nitrat dan memproduksi indol. Berdasarkan karakteristik tersebut isolat B1, B2 dan B3 mempunyai kemiripan yang tinggi dengan tingkat similaritas mencapai 1 sedangkan untuk isolat A1 mempunyai similaritas terendah yaitu 0.73 dibandingkan dengan isolat B1, B2 dan B3.

Kata kunci: karakterisasi; akar ubi jalar; bakteri endofit; hormon IAA

ABSTRACT

Sweet potato var. Papua Patippi is capable to live on less fertile soil, due to it associate with endophytic bacteria by various mechanisms include IAA hormones synthesis. This research aimed to the describe IAA-producing endophytic bacteria of sweet potato's var. Papua Patippi root, characters and the similarity level between bacterial isolates. Samples of sweet potato's root were obtained from Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian farm. Endophytic bacteria were isolated. Then, the highest four, IAA-producing isolates was characterized. Characterization included colony morphology, morphology and physiology of the cell as well as biochemistry of the cell. Data were analyzed by descriptive analysis and numeric analysis by Clad97. The results indicated that four isolates which produced the highest IAA hormones were A1, B1, B2 and B3. Endophytic bacteria isolates have the characteristic of morphology colonies with irregular shapes; elevation umbonate or raised; edge of serrate, lobate or entire; the colony color white to yellowish-white, optic are opaque; surface are smooth, uneven and rough. Characteristics of cells morphology were Gram-negative, short basil, cell lines monobasil, diplobasil or streptobasil and there were no endospores. Physiological and biochemical characteristics of isolate were motile or nonmotile, produces catalase, reducing sugars, capable to ferment acids, capable to produce 2,3 butanadiol, capable to reduce nitrate and produce indole. Based on the characteristics, isolates B1, B2 and B3 have the highest similarity with similarity level reached 1, while for isolates A1 has the lowest similarity of 0.73 compared with isolates B1, B2 and B3.

Key words: characterization; sweet potato's roots; endophytic bacteria; IAA hormones

PENDAHULUAN

Ubi jalar (*Ipomoea batatas*) merupakan salah satu komoditas umbi-umbian yang merupakan sumber karbohidrat keempat setelah padi, jagung dan ubi kayu (Sudarwati, 2012). Salah satu ubi

jalar unggulan adalah varietas Papua Patippi (Soplanit, 2006). Ubi jalar varietas Papua Patippi mampu melakukan adaptasi lingkungan dengan baik pada tanah kurang subur dengan unsur hara yang rendah. Kemampuan bertahan hidup di

lingkungan yang kurang menguntungkan ini disebabkan ubi jalar berasosiasi dengan beberapa bakteri endofit (Reiter *et. al.*, 2003 dalam Khan dan Doty, 2009).

Bakteri endofit menurut Strobel dan Daisy (2003) merupakan bakteri yang mampu hidup pada suatu jaringan dalam tanaman selama periode tertentu dari siklus hidupnya. Bakteri endofit dapat membentuk koloni pada suatu jaringan dengan melakukan endosimbiosis tanpa menimbulkan ciri tertentu pada tanaman. Beberapa bakteri endofit tersebut diketahui dapat menghasilkan hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) (Khan dan Doty, 2009). Hormon IAA akan menyebabkan pemanjangan dan pembesaran sel, serta mengubah ekspresi gen secara cepat, yang menyebabkan sel dalam daerah perpanjangan memproduksi protein baru sebagai penyusun dinding sel sehingga akan mempengaruhi perkembangan suatu tanaman (Campbell dan Reece, 2003).

Penelitian Susilowati dkk. (2003) menunjukkan bahwa terdapat bakteri endofit pada tanaman padi dan jagung yang mampu menambat N₂ di udara dan menghasilkan hormon IAA. Hasil isolasi didapatkan 5 isolat bakteri endofit pada tanaman padi dan 5 isolat bakteri endofit pada tanaman jagung. Isolat terpilih pada tanaman jagung diinokulasikan terhadap tanaman jagung pada skala laboratorium ternyata mampu meningkatkan perkembangan akar utama dan serabut tanaman jagung.

Isolat bakteri endofit pada tanaman padi juga mampu memengaruhi pertumbuhan padi. Berdasarkan penelitian dari Yurnaliza dkk. (2011), bakteri endofit yang berasal dari tanaman padi mampu menghasilkan hormon IAA. Introduksi bakteri endofit pada kecambah padi steril menunjukkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik dibanding kontrol.

Bakteri endofit juga terdapat pada tanaman kentang. Bakteri endofit pada tanaman ini diketahui mampu menghasilkan hormon IAA. Penelitian Ishwari (2006) mengenai isolasi bakteri endofit pada tanaman kentang, didapatkan 6 isolat penghasil IAA tertinggi. Pengujian atas potensi hormon IAA yang diketahui ini dilakukan dengan cara mengintroduksinya terhadap tanaman kentang. Hasilnya diketahui bahwa bakteri mampu mempengaruhi tinggi batang, panjang akar dan jumlah akar tanaman.

Pada tahap isolasi dan karakterisasi dapat dilanjutkan ke tahap identifikasi. Tahapan sebelum proses identifikasi dapat diawali dengan melihat kekerabatan antarisolat bakteri menggunakan tingkat similaritas. Menurut Mata

et. al. (2002) similaritas bakteri dapat diketahui menggunakan karakter dari morfologi koloni, morfologi sel maupun fisiologi biokimia. Karakter-karakter tersebut digunakan untuk mengelompokkan bakteri tertentu. Tingkat similaritas berada pada kisaran 0 sampai 1. Hubungan kekerabatan semakin dekat apabila tingkat similaritas antarbakteri mendekati 1 (Michales dan Bonde, 1995).

Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit yang mampu menghasilkan hormon IAA pada ubi jalar varietas Papua Patippi belum pernah dilakukan. Penelitian mengenai bakteri endofit pada ubi jalar varietas Papua Patippi perlu dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri yang berpotensi menghasilkan hormon IAA. Isolat yang diperoleh kemudian dikarakterisasi, diuji kemampuannya dalam menghasilkan hormon IAA dan dideskripsikan tingkat similaritasnya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Mei 2014 dan merupakan penelitian observasional dengan cara mengambil sampel akar di Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian, Malang. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit pada akar tanaman ubi jalar dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan pengujian kadar hormon IAA dilakukan di Laboratorium Mikroteknik, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Nutrient Agar*, media *Nutrient Broth*, media semisolid *Nutrient Agar*, media cair MR/VP, media cair nitrat, media JNFB (*James Nitrogen Free Malat Bromthymol Blue*) untuk mengukur kemampuan menghasilkan hormon IAA, media cair karbohidrat (glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manitol), reagen Kovac's untuk uji indol, reagen Salkowski untuk mendeteksi adanya hormon IAA, pepton, NaCl, akuades, alkohol 75%, *crystal violet*, *lugol's iodine*, *methylen blue*, *carbol fuchsin*, alkohol 96%, safranin, *malachite green*, asam sulfanilat, α -naftilamin, bubuk Zn dan H₂O₂ 3%.

Isolasi diawali dengan pengambilan sampel akar dari 3 tanaman ubi jalar varietas Papua Patippi dengan kriteria morfologi tanaman yang baik. Kriteria tersebut, yaitu perakaran sampel menunjukkan akar yang lebat dan panjang, morfologi daun yang berwarna hijau, permukaan daun mulus, lebar dan tidak menunjukkan gejala penyakit seperti layu atau timbul bercak-bercak. Akar dibersihkan kemudian dihancurkan menggunakan lumpang dan alu. Akar yang sudah hancur kemudian dihomogenkan dengan akuades

dan diendapkan hingga jaringan akar mengendap. Supernatan dipisahkan dengan endapan kemudian 0,5 ml supernatan disebarakan pada permukaan media *nutrient agar* dan dinkubasi pada suhu ruang (25°-30°C) selama ± 24 jam. Bakteri yang tumbuh kemudian dipisahkan hingga memperoleh isolat murni.

Persamaan kurva standar hormon IAA dibuat terlebih dahulu menurut Aryantha dkk. (2004) dalam Khairani (2009). Hormon IAA sintetik ditimbang sebanyak 0,2 mg dan dilarutkan ke dalam 100 ml akuades. Hormon IAA sintetik masing-masing dibagi ke dalam tabung yang berbeda dengan konsentrasi 0 ppm; 0,2 ppm; 0,4 ppm; 0,6 ppm; 0,8 ppm; 1 ppm; 1,2 ppm; 1,4 ppm; 1,6 ppm; 1,8 ppm dan 2 ppm. Masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 ml reagen Salkowski kemudian dihomogenkan dan absorbansinya diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm. Data yang diperoleh berupa absorbansi kemudian digunakan untuk menentukan kurva standar hormon IAA.

Isolat bakteri endofit kemudian diujikan kemampuannya menghasilkan hormon IAA. Sebanyak 1 ml isolat bakteri dengan jumlah bakteri berkisar 6×10^8 CFU/mL ditumbuhkan pada 10 ml media JNFB. Bakteri kemudian diinkubasi selama 5-7 hari. Kadar IAA setelah inkubasi diukur sesuai prosedur Gordon dan Weber (1951) dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 530 nm. Hasil berupa

absorbansi kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan kurva standar hormon IAA untuk memperoleh kadar hormon IAA yang dihasilkan. Isolat bakteri dengan kemampuan menghasilkan hormon IAA tertinggi (4 isolat) kemudian dikarakterisasi lebih lanjut. Karakteristik bakteri yang diamati meliputi morfologi koloni, morfologi sel, susunan sel dan fisiologis biokimia (uji motilitas, uji katalase, uji reduksi gula, uji fermentasi asam campuran atau butanadiol MR/VP, pewarnaan asam Zeihl Neelsen, uji reduksi nitrat dan uji indol). Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara deskriptif dan numerik menggunakan Clad97.

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data mengenai bakteri endofit penghasil hormon IAA dari akar tanaman ubi jalar varietas Papua Patippi. Isolasi bakteri endofit dilakukan pada 3 sampel dan menghasilkan 8 isolat. Isolat-isolat tersebut kemudian diketahui karakterisasi koloni dan kadar hormon IAA yang berkisar antara 0,0098 ppm sampai 0,5525 ppm (Tabel 1).

Berdasarkan kadar hormon IAA, diambil 4 isolat yang menghasilkan kadar tertinggi, yaitu isolat A1, B1, B2 dan B3. Isolat terpilih kemudian dikarakterisasi secara morfologi sel, susunan sel maupun fisiologi biokimia yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Karakteristik koloni dan kadar hormon IAA yang dihasilkan oleh bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi

Isolat	Karakter						Kadar hormon IAA (ppm)
	Bentuk	Elevasi	Tepi	Warna	Optik	Permukaan	
A1	<i>irregular</i>	<i>umbonate</i>	<i>serrate</i>	putih kekuningan	<i>opaque</i>	halus	0,3552
A2	<i>circular</i>	<i>raised</i>	<i>lobate</i>	putih	<i>opaque</i>	tidak rata	0,2565
A3	<i>irregular</i>	<i>raised</i>	<i>lobate</i>	putih kekuningan	<i>opaque</i>	tidak rata	0,2565
B1	<i>irregular</i>	<i>raised</i>	<i>lobate</i>	putih kekuningan	<i>opaque</i>	halus	0,5032
B2	<i>irregular</i>	<i>raised</i>	<i>serrate</i>	putih	<i>opaque</i>	halus	0,3552
B3	<i>irregular</i>	<i>raised</i>	<i>entire</i>	putih	<i>opaque</i>	kasar	0,5525
C1	<i>circular</i>	<i>umbonate</i>	<i>lobate</i>	putih	<i>opaque</i>	kasar	0,0098
C2	<i>irregular</i>	<i>raised</i>	<i>serrate</i>	putih kekuningan	<i>opaque</i>	halus	0,1578

Keterangan :

- A1, A2 dan A3 : Isolat dari sampel tanaman ubi jalar A
 B1, B2 dan B3 : Isolat dari sampel tanaman ubi jalar B
 C1 dan C2 : Isolat dari sampel tanaman ubi jalar C

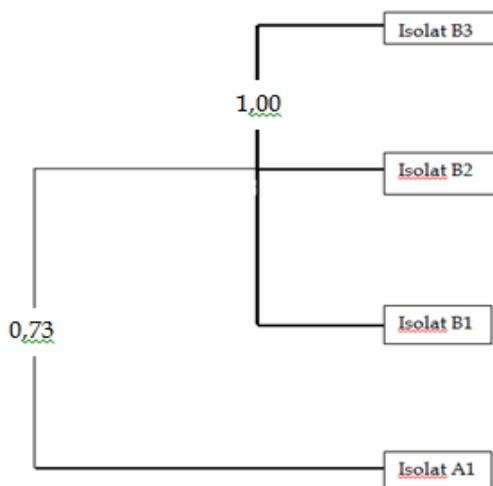
Tabel 2. Karakteristik morfologi sel, susunan sel dan fisiologi biokimia bakteri endofit

No	Karakter	Isolat			
		A1	B1	B2	B3
1	Gram*	negatif	negatif	negatif	negatif
2	Bentuk sel*	batang pendek	batang pendek	batang pendek	batang pendek
3	Rangkaian sel*	diplobasil	streptobasil	monobasil	monobasil
4	Endospora*	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
5	Motilitas**	-	-	+	+
6	Produksi katalase**	+	+	+	+
7	Reduksi glukosa**	+	+	+	+
8	Reduksi sukrosa**	+	+	+	+
9	Reduksi laktosa**	-	+	+	+
10	Reduksi maltosa**	+	+	+	+
11	Reduksi manitol**	+	+	+	+
12	Fermentasi asam campuran**	+	-	+	+
13	Produksi 2,3 butanadiol**	-	-	+	+
14	Ketahanan terhadap asam**	+	+	+	+
15	Reduksi nitrat**	+	+	+	+
16	Produksi indol**	+	+	+	+

Keterangan:

- + : Reaksi fisiologi biokimia positif * : Karakter morfologi dan susunan sel
- : Reaksi fisiologi biokimia negatif ** : Karakter fisiologi biokimia

Karakter yang sudah diketahui kemudian ditentukan tingkat similaritasnya menggunakan Clad 97. Karakter yang digunakan sebanyak 30 karakter sesuai dengan karakter yang diketahui dari morfologi koloni, morfologi sel dan fisiologi biokimia.



Gambar 1. Similaritas bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar varietas Papua Patippi

PEMBAHASAN

Menurut Susilowati dkk. (2003) bakteri endofit yang menghasilkan hormon IAA pada perakaran tanaman mampu meningkatkan perkembangan akar utama dan serabut sehingga morfologi akar lebih baik daripada tanaman tanpa bakteri endofit. Tinggi batang, panjang akar dan jumlah akar juga akan semakin baik ketika tanaman bersimbiosis dengan bakteri endofit

(Ishwari, 2006). Tinggi batang, panjang akar dan jumlah akar juga akan semakin baik ketika tanaman bersimbiosis dengan bakteri endofit (Ishwari, 2006). Morfologi tanaman ubi jalar yang baik disebabkan bakteri endofit menyediakan nutrisi untuk tanaman. Nutrisi tersebut akan digunakan oleh tanaman sebagai bahan dasar pembentukan sel baru yang menyebabkan pembentukan akar panjang dan bercabang. Menurut Long *et. al.* (2008) bakteri endofit membantu penyerapan nutrisi dengan cara seperti pelarutan fosfat, mengikat besi (*iron chelation*) dan fiksasi nitrogen. Bakteri endofit juga dapat mencegah infeksi dari bakteri patogen sehingga tanaman mampu melakukan kegiatan fisiologis dengan baik tanpa adanya mikroorganisme lain yang bersifat patogen. Bakteri endofit penghasil hormon IAA juga bergabung dengan beberapa proses fisiologis tanaman dengan cara pemasukan hormon IAA ke dalam akar. Bakteri endofit kemudian memenuhi kebutuhan akan hormon IAA untuk melakukan pertumbuhan. Tanaman tersebut akan merespons hormon IAA sehingga membantu dalam pembentukan akar lateral dan akar adventif serta elongasi akar primer (Leveau dan Lindow, 2005).

Produksi hormon IAA oleh bakteri endofit dapat terjadi karena adanya prekursor berupa triptofan. Asam amino triptofan dapat ditemukan pada media JNFB yaitu pada pepton. Pepton berfungsi sebagai mikronutrien pada suatu media. Menurut Aditti dan Ernst (1992) pepton mengandung beberapa asam amino diantaranya

triptofan, arginin, asam aspartat, sistein, asam glutamat, glisin, histidin isoleusin, leusin, metionin, lisin, threonin, fenilalanin, tirosin dan valin.

Triptofan dari pepton pada media JNFB akan diubah menjadi hormon IAA oleh bakteri endofit. Pengubahan tersebut dapat dilakukan menggunakan dua jalur yaitu jalur *Indole-3-acetamide* (IAM) dan *Indole-3-piruvat* (IpyA). Jalur IAM hanya bisa dilakukan oleh bakteri, sedangkan jalur IpyA dapat dilakukan oleh tanaman dan bakteri (Spaepen *et. al.*, 2007).

Konsentrasi dari hormon IAA dapat mengalami perubahan. Menurut Arteca (1996) perubahan konsentrasi hormon IAA dapat terjadi karena hormon IAA mengalami penurunan akibat degradasi hormon IAA oleh bakteri endofit menjadi senyawa lain. Menurut Thontowi *et. al.* (2007) perubahan konsentrasi IAA tersebut berkaitan dengan kebutuhan dasar nutrisi bagi mikroorganisme. Pertumbuhan bakteri membutuhkan energi atau sumber karbon, sumber nitrogen dan unsur anorganik. Hormon IAA akan dirombak kembali apabila nutrisi dalam media mengalami penurunan. Hasil rombakan tersebut akan digunakan bakteri untuk melakukan sintesis protein maupun kegiatan fisiologis lainnya di dalam sel.

Hormon IAA terlebih dahulu akan diubah menjadi asam amino yaitu triptofan. Proses terbentuknya triptofan diawali dengan aktifnya gen tertentu di dalam sel bakteri sehingga RNA polimerase dapat mentranskripsi gen-gen struktural untuk mengkode suatu protein. Protein tersebut merupakan enzim yang berperan dalam sintesis triptofan. Enzim yang terbentuk kemudian mempengaruhi sel untuk mensintesis triptofan. Triptofan dalam batas tertentu dalam media akan menyebabkan sel bakteri menghentikan transkripsi gen-gen struktural sehingga pembentukan enzim pada jalur pembentukan triptofan terhenti dan sintesis triptofan terhenti. Triptofan yang sudah terbentuk kemudian akan diubah kembali oleh bakteri menjadi produk asam amino lain yang akan digunakan oleh bakteri untuk melakukan metabolisme (Campbell dan Reece, 2003).

Isolat bakteri endofit penghasil hormon IAA yang diisolasi dari ubi jalar varietas Papua Patippi mempunyai beberapa karakteristik. Karakteristik tersebut diantaranya morfologi koloni. Bakteri endofit mempunyai perbedaan diantaranya bentuk bakteri dominan *irregular* dan *circular*, elevasi dominan *raised* dan *umbonate*, tepi koloni *serrate*, *lobate* dan selebihnya *entire*, warna koloni putih dan putih kekuningan. Menurut Fardiaz

(1992) koloni suatu bakteri dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu.

Karakteristik juga dapat dilihat dari morfologi sel bakteri endofit. Isolat yang dikarakterisasi semuanya tergolong Gram negatif. Karakter Gram negatif tersebut sesuai dengan penelitian dari Khairani (2009) yang menyatakan bahwa bakteri endofit termasuk dalam Gram negatif atau positif. Bentuk bakteri endofit yang dikarakterisasi merupakan batang pendek dengan rangkaian berbeda-beda pada setiap isolat. Perbedaan rangkaian tersebut terjadi karena terkadang bakteri dengan bentuk batang saling melekat satu dengan yang lain dari ujung ke ujung, sehingga memberikan tampilan diplo maupun berantai (Pelczar dan Chan, 1986).

Karakteristik bakteri endofit lainnya dari fisiologi biokimia. Motilitas merupakan karakteristik fisiologi biokimia yang digunakan untuk mengetahui pergerakan sel. Bakteri endofit dengan isolat A1 dan B1 diketahui non motil sedangkan isolat B2 dan B3 motil. Menurut Pelczar dan Chan (1986) pengujian pada motilitas bakteri dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya flagel. Isolat B2 dan B3 kemungkinan mempunyai flagel untuk bergerak, sedangkan isolat A1 dan B1 tidak mempunyai flagel. Flagel dapat menggerakkan sel sehingga bakteri dapat menyebar ke berbagai arah pada media (Dwidjoseputro, 1978).

Bakteri pada kondisi tertentu akan menghasilkan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida merupakan racun yang dapat merusak sistem metabolisme bakteri. Bakteri akan mengalami kematian apabila tidak dapat memecah hidrogen peroksida menjadi senyawa lain yang tidak berbahaya. Pemecahan tersebut dapat dilakukan apabila terdapat enzim katalase. Menurut Hadioetomo (1993) enzim katalase akan mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sehingga tidak berbahaya. Isolat A1, B1, B2 dan B3 mampu menghasilkan enzim katalase sehingga bakteri dapat bertahan hidup pada lingkungan yang terdapat hidrogen peroksida.

Pada tanaman ubi jalar banyak sekali terkandung gula sebagai sumber dalam pembentukan ATP. Gula tersebut diantaranya dapat digolongkan pada golongan polisakarida, disakarida maupun monosakarida. Gula pada golongan polisakarida dapat berupa manitol. Semua isolat mampu mereduksi gula manitol. Pereduksian manitol diawali dengan pemecahan gula menjadi lebih sederhana yaitu manosa dan galaktosa. Manosa dan galaktosa kemudian akan diubah menjadi asam piruvat kemudian diubah

kembali menjadi produk asam, gas dan produk akhir lainnya (Ngili, 2009).

Isolat bakteri endofit juga mampu mereduksi beberapa gula kelompok disakarida yaitu sukrosa, laktosa dan maltosa. Isolat yang dikarakterisasi mampu mereduksi gula-gula tersebut, kecuali isolat A1 yang tidak mampu mereduksi laktosa. Gula jenis disakarida akan diubah menjadi senyawa yang lebih sederhana. Menurut Salisbury dan Ross (1992) gula-gula jenis disakarida akan mengalami hidrolisis menjadi komponen yang lebih sederhana. Enzim β -galaktosidase akan memecah laktosa menjadi galaktosa dan glukosa, enzim invertase yang memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dan enzim maltase akan memecah maltosa menjadi glukosa. Gula yang mengalami hidrolisis menjadi sederhana kemudian mengalami fermentasi membentuk asam, gas dan produk akhir lainnya.

Glukosa merupakan gula kelompok monosakarida. Isolat yang dikarakterisasi mampu mereduksi glukosa menjadi komponen yang lebih sederhana. Glukosa akan direduksi melalui tahapan glikolisis membentuk asam piruvat. Asam piruvat kemudian akan difermentasi oleh bakteri menjadi beberapa asam dan gas (Salisbury dan Ross, 1992).

Uji *Methyl Red* (MR) digunakan untuk menentukan adanya produk asam campuran yang umumnya berupa asam laktat, asam asetat, asam format dan asam suksinat. Hasil uji MR pada isolat A1, B2 dan B3 menunjukkan hasil uji positif, sedangkan isolat B1 menunjukkan hasil uji negatif.

Uji Voges Proskauer (VP) digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri menghasilkan produk akhir *acetyl-methyl carbinol (acetoin)* dari fermentasi 2,3 butanadiol. Isolat A1 dan B1 menunjukkan uji negatif, sedangkan isolat B2 dan B3 menunjukkan uji positif. Inkubasi media VP menyebabkan *acetoin* teroksidasi menjadi *diacethyl*. *Diacethyl* kemudian bereaksi dengan *guanidine* (Hadioetomo, 1993).

Menurut Campbell dan Reece (2003) hormon IAA akan menstimulasi pemompaan proton pada membran plasma yang menyebabkan peningkatan potensial membran dan penurunan pH. Penurunan pH ini menyebabkan ruang antarsel yang merupakan tempat hidup bakteri endofit menjadi asam sehingga bakteri ini harus tahan terhadap lingkungan asam. Menurut Hadioetomo (1993) bakteri yang tahan akan lingkungan asam ketika diwarnai menggunakan metode pewarnaan Zeihl Neelsen akan berwarna merah. Isolat A1, B1, B2 dan B3 menunjukkan sel bakteri endofit berwarna merah yang

menandakan ketahanan terhadap lingkungan asam.

Menurut Khan dan Doty (2009) bakteri endofit mampu memfiksasi nitrogen. Fiksasi nitrogen ini dapat diketahui dengan adanya kemampuan bakteri endofit untuk mereduksi nitrat menjadi nitrit. Semua isolat bakteri endofit hasil isolasi menunjukkan reaksi positif pada uji reduksi nitrat. Menurut Schmidt (1994) reduksi nitrat menjadi nitrit disebabkan oleh adanya kerja dari enzim *nitrate reduktase*.

Bakteri endofit mampu mengubah triptofan menjadi hormon IAA. Pada kondisi tertentu triptofan akan diubah menjadi indol menggunakan enzim triptofanase. Menurut Hadioetomo (1993) bakteri yang mampu menghasilkan enzim triptofanase akan mendegradasi molekul asam amino triptofan menjadi asam piruvat, ammonia dan indol. Keberadaan indol dapat diketahui menggunakan uji indol. Semua isolat menunjukkan uji positif, yang menandakan kemampuan dalam menghasilkan enzim triptofanase.

Karakteristik yang diketahui dapat digunakan untuk mencari similaritas antara 4 bakteri endofit penghasil hormon IAA tertinggi dari akar tanaman ubi jalar varietas Papua Patippi. Isolat A1 mempunyai tingkat similaritas terendah dengan ketiga isolat yang lain (Gambar 1). Isolat tersebut mempunyai karakter yang sama sebanyak 14 dari 30 karakter yang diamati, sedangkan ketiga isolat yang lain mempunyai karakter yang sama sebanyak 18 karakter. Karakter yang sama dari isolat A1 dengan ketiga isolat yang lain terletak pada bentuk *irregular*, optik *opaque*, Gram negatif, bentuk sel batang pendek, tidak mempunyai endospora, dapat menghasilkan enzim katalase, dapat mereduksi gula (glukosa, sukrosa, maltosa, manitol), tahan terhadap lingkungan asam, mampu memproduksi nitrat dan indol. Isolat A1 mempunyai 3 karakter yang berbeda dengan isolat lain diantaranya elevasi *umbonate*, susunan sel diplobasil dan mampu mereduksi laktosa.

Pada isolat B1, B2 dan B3 mempunyai tingkat similaritas yang tinggi. Similaritas tersebut terletak pada kesamaan karakter meliputi bentuk *irregular*, elevasi *raised*, optik *opaque*, Gram negatif, bentuk sel batang pendek, tidak menghasilkan endospora, mampu menghasilkan enzim katalase, mampu mereduksi gula (glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, manitol), tahan terhadap lingkungan asam, mampu memproduksi nitrat dan indol. Isolat B1 dengan isolat B2 dan B3 mempunyai 3 beda karakter yaitu isolat tersebut mempunyai tepi koloni *lobate*, warna koloni putih

kekuningan dan susunan sel streptobasil. Isolat B2 dengan B1 dan B3 mempunyai beda pada tepi koloni yaitu *serrate*. Isolat B3 dengan B1 dan B2 mempunyai beda pada tepi koloni yaitu *entire* dan permukaan koloni kasar.

Tingkat similaritas yang tinggi antara isolat B1, B2 dan B3 menunjukkan isolat-isolat tersebut mempunyai kemiripan yang tinggi. Berbeda dengan isolat A1 yang mempunyai tingkat similaritas terendah yang menandakan kemiripan isolat A1 jauh berbeda dengan isolat lain. Menurut Micales dan Bonde (1995) tingkat similaritas berkisar antara 0 sampai 1,0 dan hubungan kekerabatan makin dekat bila tingkat similaritas semakin dekat dengan 1. Tingkat similaritas antara isolat A1, B1, B2 dan B3 mencakup 30 karakter tetapi belum mencapai syarat minimum. Syarat minimum untuk menentukan kedekatan antarbakteri yaitu sebanyak 70 karakter (Kelley dan Kellogg, 1977). Similaritas ini akan lebih baik apabila karakteristik ditambahkan untuk memenuhi syarat dalam menentukan similaritas suatu bakteri sehingga dalam penelitian ini dibutuhkan penelitian lebih lanjut.

SIMPULAN

Sebanyak 4 isolat bakteri endofit menghasilkan hormon IAA dengan kadar tertinggi, yaitu isolat A1, B1, B2 dan B3. Isolat bakteri endofit tersebut mempunyai karakteristik morfologi koloni dengan bentuk *irregular*; elevasi *umbonate* atau *raised*; tepi *serrate*, *lobate* atau *entire*; warna putih sampai putih kekuningan; karakter optik *opaque*; permukaan halus, tidak rata dan kasar. Karakteristik morfologi sel adalah Gram negatif, bentuk sel batang pendek, susunan sel monobasil, diplobasil atau streptobasil dan tidak terdapat endospora. Karakteristik fisiologi biokimia isolat bakteri endofit beragam diantaranya motil atau nonmotil, memproduksi katalase, mereduksi gula, memfermentasi asam campuran, memproduksi 2,3 butanadiol, mampu mereduksi nitrat dan memproduksi indol. Berdasarkan karakteristik tersebut isolat B1, B2 dan B3 mempunyai kemiripan yang tinggi dengan tingkat similaritas mencapai 1 sedangkan untuk isolat A1 mempunyai similaritas terendah, yaitu 0.73 dibandingkan dengan isolat B1, B2 dan B3.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ir. Mudji Rahayu, M.S. dari Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian (BALITKABI), Malang atas bantuannya dalam

pengambilan sampel ubi jalar varietas Papua Patippi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditti J dan Ernst R, 1992. *Micropropagation Of Orchids*. New York: John Wiley and Sons.
- Arteca RN, 1996. *Plant Growth Substances*. New York: Chapman and Hall.
- Campbell NA dan Reece JB, 2003. *Biology*. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga.
- Dwidjoseputro D, 1987. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Malang: Djambatan.
- Fardiaz S, 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Gordon SA dan Weber RP, 1951. Colorimetric Estimation of Indoleacetic Acid. *Plant Physiol*, 26(1):192-195.
- Hadioetomo RS, 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia.
- Ishwari PP, 2006. Produksi Hormon Asam Indol-3-Asetat Oleh Bakteri Diazotrof Endofitik dan Aplikasinya Pada Tanaman Kentang. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kelley RW dan Kellogg ST, 1978. Computer-assisted identification of anaerobic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35(3):507.
- Khairani G, 2009. Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari Akar Tanaman Jagung. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Khan Z dan Doty LS, 2009. Characterization of Bacterial Endophytes of Sweet Potato Plants. *Journal Plant Soil*, 10: 1-10.
- Long HH, Schmidt DD dan Baldwin IT, 2008. Native Bacterial Endophytes Promote Host Growth in a Species-Specific Manner; Phytohormone Manipulations Do Not Result in Common Growth Responses. *Journal PLoS ONE*, 3(7): e2702.
- Leveau JHJ dan Lindow SE, 2005. Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. *Applied and Environmental Microbiology*, 1(5): 2365-2370.
- Mata JA, Canovas JM, Quesada E dan Bejar V, 2002. A Detailed Phenotypic Characterisation of the Type Strains of Halomonas Species. *System Appl Microbiol*, 25: 360-375.
- Micales JA dan Bonde MR, 1995. *Isozyme: Methods and Application*. In R.P.Singh and U.S. Singh (Eds.). *Molecular Methods in Plant Pathology*. London: Lewis Publishers.
- Ngili Y, 2009. *Biokimia Metabolisme dan Bioenergetika*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Pelczar MJ dan Chan ECS, 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Salisbury FB dan Ross CW, 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid III*. Bandung: ITB.
- Schmidt K, 1994. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Spaepen S, Jos V dan Rosaline R, 2007. *Indole-3-Acetic Acid* in Microbial and Microorganism Plant Signaling. *FEMS Microbiol Rev*, 31: 425-448.
- Strobel GA dan Daisy B, 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes an Their Natural Products. *Microbiol. and Mol. Biology*, 67(4): 63-68.
- Susilowati DN, Saraswati R, Elsanti dan Yuniarti E, 2003. Isolasi dan Seleksi Mikroba Diazotrof Endofitik dan Penghasil Zat Pemacu Tumbuh pada Tanaman Padi dan Jagung. *Balai penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian*, 128-143.
- Soplanit A, Malik A, Mahalaya S, dan Sumartini. 2006. *Papua Patippi*. <http://balitkabi.litbang.deptan.go.id/varietas-unggul/vu-ubi-jalar/110-papua-patippi.pdf>. Diunduh tanggal 10 November 2013.
- Thontowi A, Kusmiati, Nuswantara S, 2007. Produksi β -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor. *Jurnal LIPI*, 8(4): 253-256.
- Yurnaliza MW, Siregar dan Priyani N, 2011. Peran Bakteri Endofit Penghasil IAA (*Indole Acetic Acid*) Terseleksi Terhadap Pertumbuhan Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.). *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 219-228.