

KAJIAN BAKTERI ENDOFIT PENGHASIL IAA (*INDOLE ACETIC ACID*) UNTUK PERTUMBUHAN TANAMAN

Lina Herlina, Krispinus Kedati Pukan, Dewi Mustikaningtyas

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang

Abstrak. Bakteri Penghasil IAA mampu menghasilkan fitohormon yang dapat mempercepat pertumbuhan tanaman. Hormon IAA adalah auksin endogen yang berperan dalam pembesaran sel, menghambat pertumbuhan tunas samping, merangsang terjadinya absisi, berperan dalam pembentukan jaringan xilem dan floem, dan juga berpengaruh terhadap perkembangan dan pemanjangan akar. Hormon IAA merupakan hormon yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman sehingga sintesis oleh bakteri tertentu merupakan alasan yang menyebabkan peningkatan pertumbuhan tanaman. Oleh karena itu masalah yang perlu dikaji dalam penelitian ini adalah apakah isolat bakteri endofit dari tanaman kacang tanah berpotensi sebagai penghasil IAA, bagaimana identifikasi bakteri endofit yang mempunyai kemampuan menghasilkan IAA, bagaimana pengaruh IAA terhadap pertumbuhan tanaman kacang hijau. Secara khusus penelitian bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri endofit penghasil IAA pada tanaman kacang tanah, menguji kemampuan isolat bakteri endofit menghasilkan IAA secara *in vitro* dan menganalisis IAA terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman kacang tanah. Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam 3 tahap, pertama isolasi bakteri endofit penghasil IAA pada bagian akar dan batang dilakukan pada medium umum untuk pertumbuhan bakteri, kedua menguji kemampuan bakteri endofit memproduksi IAA secara *in vitro*, dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media yang mengandung triptofan dan ketiga **introduksi bakteri endofit penghasil IAA pada tanaman kacang hijau**. Pengujian kadar IAA yang dihasilkan diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 535 nm. Kecambah yang tumbuh diamati setelah empat hari. Parameter yang diamati adalah panjang kecambah, jumlah akar lateral. Hasil isolasi didapat 16 isolat yang mempunyai kemampuan menghasilkan IAA dengan kadar yang dihasilkan berbeda dengan karakteristik morfologi yang berbeda. Isolat yang menghasilkan kadar IAA tinggi di aplikasi ke kacang hijau. Pemberian IAA berpengaruh terhadap jumlah akar lateral tapi tidak berpengaruh terhadap panjang kecambah. Analisis lebih lanjut bahwa semua isolat berbeda signifikan dengan kontrol kecuali isolat AT dalam pembentukan akar lateral. Isolat DM dan K1K1 mempunyai hasil yang tertinggi dalam pembentukan akar lateral.

Kata kunci : bakteri, endofit, tanaman

PENDAHULUAN

Bakteri endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa bakteri endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfergenetik dari tanaman inangnya ke mikroba endofit (Tan & Zhou, 2001 dalam Radji, 2004). Tipe asosiasi biologis antara mikroba endofit dengan tanaman inang bervariasi dari netral, komensalisme sampai simbiosis. Pada situasi ini tanaman merupakan sumber makanan bagi mikroba endofit dalam melengkapi siklus hidupnya (Clay, 1988). Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang steril atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam.

Tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa bakteri endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam bakteri endofit sepanjang waktu evolusinya (Tan & Zhou, 2001 dalam Radji, 2005). Sejumlah mikroba endofit yang telah berhasil diisolasi dari bagian dalam beberapa tanaman pangan, yaitu pada tanaman kacang tanah, jagung, sorgum dan tebu (James dan Olivares, 1996).

Bakteri Penghasil IAA mampu menghasilkan fitohormon yang dapat mempercepat pertumbuhan tanaman. Hormon IAA adalah auksin endogen yang berperan dalam pembesaran sel, menghambat pertumbuhan tunas samping, merangsang terjadinya absisi, berperan dalam pembentukan jaringan xilem dan floem, dan juga berpengaruh terhadap perkembangan dan pemanjangan akar. Hormon IAA merupakan hormon yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman sehingga sintesis oleh bakteri tertentu merupakan alasan yang menyebabkan peningkatan pertumbuhan tanaman (Aryantha *et al.*, 2004) Sejumlah mikroba endofit yang telah diisolasi dari bagian dalam dan beberapa .

Mekanisme peningkatan pertumbuhan tanaman oleh bakteri endofit dapat terjadi melalui beberapa cara diantaranya adalah senyawa folat, fiksasi nitrogen, merangsang pertumbuhan akar lateral dan menghasilkan hormon pertumbuhan seperti auksin, etilen dan sitokinin (Thakuria *et al.* 2004). Tanaman memenuhi kebutuhan hormon melalui kemampuannya dalam mensintesis hormon auksin dari mikroorganisme yang berada dalam jaringannya (Hindersah *et al.*, 2002). Bakteri penghasil IAA mempunyai potensi untuk bergabung dengan beberapa fisiologis tanaman dengan cara memasukkan IAA yang dihasilkannya ke dalam tanaman, itu sendiri adalah tanaman tersebut lebih sensitif dalam mengubah konsentrasi IAA yang dimilikinya. Akar misalnya merupakan salah satu organ yang paling sensitif terhadap fluktuasi IAA serta bertanggung jawab dalam meningkatkan jumlah IAA eksogenus yang berguna bagi proses elongasi akar primer, pembentukan akar lateral dan akar adventif (Leveau & Lindow, 2004). IAA dihasilkan oleh bakteri dalam tanaman meningkatkan jumlah rambut akar dan akar lateral tanaman).

Triptofan merupakan prekursor dalam biosintesis auksin baik pada tanaman maupun pada mikroorganisme. Triptofan mengandung senyawa aktif yang memacu pertumbuhan mikrobiota rhizosfer dan endofit. Ketersediaan prekursor yang cocok merupakan faktor primer sekresi mikrobial dari metabolit sekunder. Biosintesis mikrobial IAA dalam tanah dapat dipacu dengan adanya triptofan yang berasal dari eksudat akar atau sel-sel yang rusak (Benziri *et al*, 1998 dalam Husen 2003). Tujuan umum penelitian ini adalah mengisolasi dan identifikasi bakteri endofit penghasil IAA, yang diharapkan berpengaruh pula pertumbuhan dan perkembangan tanaman kacang hijau.

Bakteri endofit penghasil hormon auksin dapat membantu tanaman untuk tumbuh dan berkembang disamping auksin endogen yang dimiliki tanaman. Hormon IAA merupakan hormon yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman sehingga sintesis oleh bakteri tertentu merupakan alasan yang menyebabkan peningkatan pertumbuhan tanaman. Bakteri endofit penghasil IAA pada tanaman dengan kondisi dan bagian yang berbeda maka akan bervariasi baik jenis ataupun kemampuannya. Oleh karena itu masalah yang perlu dikaji dalam penelitian ini adalah a. Adakah isolat bakteri endofit dari tanaman kacang tanah berpotensi sebagai penghasil IAA b. Apakah waktu inkubasi berpengaruh terhadap kemampuan bakteri endofit menghasilkan IAA c. Bagaimana pengaruh IAA terhadap pertumbuhan tanaman

METODE

Kemampuan bakteri endofit memproduksi IAA secara *in vitro*, dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media yang mengandung triptofan. Suspensi bakteri sebanyak 3 ml, dengan jumlah sel 10^8 CFU/ml / setara Mc Farland (Bresson dan Borges, 2004), diinokulasikan pada 30 ml media Luria Bertani Triptofan Cair (LBT) cair. Kultur bakteri diinkubasi pada suhu ruang dan digoncang pada kecepatan 150 rpm selama 7 hari. Kadar IAA yang dihasilkan selama kultivasi diukur setiap dua hari sekali. Pengukuran kadar IAA secara kolorimetri dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Cairan kultur disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 25 menit. Filtrat yang diperoleh kemudian dicampur dengan dengan reagen

Salkowski (150 ml H₂SO₄ pekat, 250 ml akuades, 7.5 ml of 0.5 M FeCl₃ · 6H₂O dengan perbandingan 2: 1. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam sebelum diukur absorbansinya pada panjang gelombang 535 nm. Kadar IAA yang dihasilkan bakteri endofit ditentukan dari hasil plot linear nilai absorbansi IAA standar

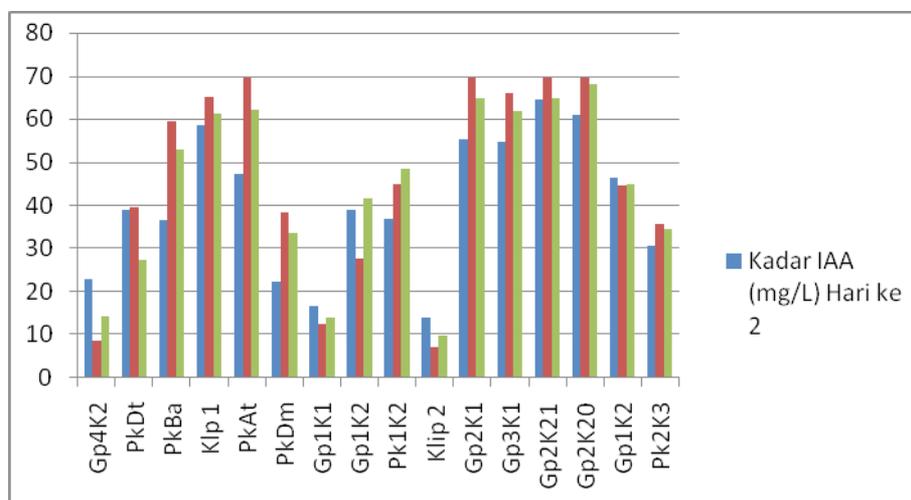
Filtrat kultur bakteri yang positif menghasilkan IAA diuji dalam bentuk cair dan padat terhadap pertumbuhan tanaman kacang tanah. Introduksi bakteri endofit dilakukan pada kecambah tanaman kacang tanah yang steril. Untuk mendapatkan kecambah steril maka biji kacang tanah ditumbuhkan dalam media agar steril. Biji kacang tanah dibersihkan permukaannya dengan cara dicuci di bawah air mengalir merendam biji kacang tanah dalam campuran larutan Agrep

(fungisida) dengandua tetes larutan tween 80%, dan dishaker selama 30 menit dengan kecepatan 120 rpm. Biji dicuci kembali dengan akuades steril, kemudian direndam dengan larutan kloroks 10 % dengan dishaker selama 15 menit dan dicuci kembali dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Biji tersebut direndam kembali dengan larutan kloroks 5 % dengan dishaker selama 15 menit, kemudian dicuci dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Tahapan terakhir, biji direndam di dalam alkohol 70 % selama satu menit dan dibilas dengan akuades steril (Suryowinoto, 1996). Biji kacang tanah yang telah steril ditanam ke dalam media agar. Biji tersebut ditumbuhkan selama satu minggu dan diletakkan pada ruangan yang kurang cahaya, kemudian kecambah muda dipindahkan ke dalam wadah steril.

Kecambah tersebut direndam ke dalam suspensi biakan yang telah disetarakan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland (10^8 sel/ml) selama satu jam dengan pengenceran 50%. Kecambah yang direndam dengan akuades digunakan sebagaikontrol, masing-masing perlakuan diulang sebanyak enam kali. Setiap kecambah yang telah direndam dalam suspensi biakan ditanam pada media tanah steril di dalam polibag. Kecambah yang tumbuh diamati setelah satu minggu. Parameter yang diamati adalah panjang kecambah , jumlah akar lateral dan berat basah tanaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan bakteri endofit dalam memproduksi IAA bervariasi berdasarkan jenis isolat, umur kultur seperti terlihat pada grafik di bawah ini :



Gambar . Grafik Produksi IAA dari beberapa isolat bakteri endofit

Dari gambar dapat terlihat bahwa produksi IAA oleh bakteri sebagian besar (10 isolat) pada hari ke empat setelah inkubasi , tetapi sebaliknya pada isolat GNP1K2, P1K2 produksi IAA meningkat dengan bertambahnya waktu kultur dan 4 isolat yaitu GNP4K1, K1K2, GNP1K1

dan GNP2K2 produksi IAA tertinggi pada hari ke dua. Perbedaan ini diduga karena adanya variasi jenis bakteri, lokasi . Produksi IAA oleh bakteri bervariasi karena faktor lingkungan, tingkat pertumbuhan dan ketersediaan asam amino dan sumber N lainnya (Frankenberger and Arshad dalam Yurnaliza. 2010).. Penurunan kadar IAA pada hari keempat atau ke enam disebabkan nutrisi yang tersedia sudah mulai berkurang dalam hal ini tryptophan sehingga IAA yang dihasilkan menjadi berkurang penggunaan nutrisi setiap bakteri bervariasi. Pada beberapa isolat semakin meningkat seiring dengan waktu inkubasi hal ini karena pada waktu inkubasi hari ke dua enzim yang mengubah triptofan menjadi IAA masih rendah, Sejalan dengan laju pertumbuhan bakteri enzim yang digunakan dalam konversi triptofan menjadi IAA cukup aktif sehingga dihasilkan IAA yang tinggi .

Bakteri endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa bakteri endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfergenetik dari tanaman inangnya ke mikroba endofit (Tan & Zhou, 2001 dalam Radji, 2004). Tipe asosiasi biologis antara mikroba endofit dengan tanaman inang bervariasi dari netral, komensalisme sampai simbiosis. Pada situasi ini tanaman merupakan sumber makanan bagi mikroba endofit dalam melengkapi siklus hidupnya (Clay, 1988). Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang steril atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam. Secara khusus, bakteri masuk ke jaringan melalui jaringan yang berkecambah, akar, stomata, maupun jaringan yang rusak (Zinniel et al., 2002).

Sintesis IAA oleh mikroba tergantung jalur triptofan dimana typtopan digunakan sebagai prekursor dan jaringan tanaman taksonomi beragam dan metabolik yang berbeda. Beberapa mikroorganisme endofit memiliki potensi untuk mensintesis IAA untuk meningkatkan atau merangsang pertumbuhan ketika terjadi kolonisasi dengan endofit (Shi et al. 2009).. Salah satu kontribusi besar mikroorganisme ini terhadap pertumbuhan tanaman adalah produksi molekul seperti auksin (Spaepen et al. 2007). Indole 3 asam asetat (IAA) menjadi auksin dapat merangsang pertumbuhan seperti pemanjangan sel dan pembelahan sel dan diferensiasi (Taghavi et al. 2009). Beberapa hasil penelitian bahwa Indole 3 asam asetat (IAA) banyak diproduksi oleh *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, dan *Azospirillum sp.* (El-Khawas dan Adachi 1999). Bakteri penghasil IAA berpotensi mempengaruhi proses pertumbuhan dari jumlah IAA ke dalam diproduksi dan sensitivitas jaringan untuk perubahan konsentrasi IAA.

Isolat yang diaplikasi ke tanaman kacang hijau yaitu dengan kandungan IAA yang tinggi dari 16 isolat yang diperoleh dipilih 5 isolat , hasil aplikasi ke tanama dapat di lihat pada tabel 2 .di bawah ini :

Tabel 2. Pengaruh beberapa isolat penghasil IAA terhadap pertumbuhan panjang akar dan jumlah akar

Isolat	Panjang kecambah	Jumlah akar
AT	16.025	15 bc
DM	15.025	24.75 a
GNP2K2I	15.425	19.5 ab
K1K1	14.20	23.75 a
P2K3	14.75	19.75 ab
KONTROL	14.65	13.75 c

Hasil analisis anava satu jalan bahwa isolat bakteri penghasil IAA tidak berpengaruh terhadap panjang kecambah tetapi berpengaruh terhadap jumlah akar. Pada konsentrasi rendah IAA menyebabkan pemanjangan akar dan maupun pucuk, jika konsentrasi IAA lebih tinggi pemanjangan pucuk dan akar menjadi terhambat (Moore, 1989). Penambahan IAA eksogen berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi IAA dalam tanaman sehingga menyebabkan terhambatnya panjang kecambah. Berbeda dengan jumlah akar konsentrasi IAA yang ada pada tanaman justru merangsang pembentukan akar lateral (Patten & Glick 2002).

Menurut Bacon & Hinton (2007), bakteri endofit selain menghasilkan IAA, juga meningkatkan ketersediaan nutrisi tanaman seperti nitrogen, fosfat, dan mineral lainnya sehingga pertumbuhan tanaman meningkat. Akar merupakan salah satu organ yang paling sensitif terhadap fluktuasi IAA serta bertanggung jawab dalam meningkatkan jumlah IAA eksogen yang berguna bagi proses elongasi akar primer, pembentukan akar lateral dan akar adventif (Leveau & Lindow, 2004). IAA merupakan hormon auksin utama dalam tanaman yang mengendalikan pertumbuhan tanaman, banyak proses fisiologis penting termasuk pembesaran sel, diferensiasi sel. IAA yang dihasilkan oleh bakteri jika diberikan pada tanaman akan dapat berpengaruh terhadap sensitivitas jaringan tanaman.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Isolat bakteri endofit penghasil IAA berpengaruh terhadap jumlah akar lateral tetapi tidak berpengaruh terhadap panjang kecambah. Isolat bakteri yang paling besar merangsang pembentukan akar lateral adalah isolat DM dan K1K1.

Saran

Perlu dilakukan pengenceran yang bervariasi dari kultur cair isolat bakteri yang akan digunakan serta variasi dalam waktu perendaman kecambah dalam kultur cair bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryantha, I.N., D.P. Lestari., N.P.D. Pangesti. 2004. Potensi Isolat Bakteri Penghasil IAA dalam Peningkatan Pertumbuhan Kecambah Kacang tanah Pada Kondisi Hidroponik. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 9 (2) : 43 -46.
- Bresson, W. & M.T. Borges. 2004. Delivery Methods for Introducing Endophytic
- E.K. James , F.L. Olivares , J. I. Baldani and J. Dobereiner 1996 . *Herbaspirillum*, an endophytic diazotroph colonizing vascular tissue in leaves of *Sorghum bicolor* L. Moench . *Journal of Experimental Botany*, Vol. 48, No. 308. 785-789
- Gordon, S.A. & R.P. Weber. 1951. Colimetric Estimation of Indol Acetic Acid. *Plant Physiol*. 26: 192-195.
- Hindersah, R, D.H. Arief, & Y. Sumarni. Totowarsa. 2003. Produksi Hormon Sitokinin oleh *Azotobacter*. *Prosiding Kongres dan Seminar Nasional HITI, Padang, Juli 2003* : 549-555
- Johan H. J. Leveau * and Steven E. Lindow , 2005 . Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290 . *Applied And Environmental Microbiology* . 2365–2371
- K.A. El-Tarabily, A.H. Nassar, G.E.St.J. Hardy andK. SivasithamparamPlant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes . *Journal of Applied Microbiology* Volume 106, Issue 1: 13–26
- Keith Clay 1988. Fungal Endophytes of Grasses: A Defensive Mutualism between Plants and Fungi . *Ecology* 69:10–16.
- Khan, Z. and Doty, S. L. 2009. Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. *Plant and Soil*322:197-207.
- Lestari, P., D. N, Susilowati., E. I, Riyanti. 2007. Pengaruh Hormon Asam Indol Asetat yang Dihasilkan oleh *Azospirillum* sp. Terhadap Perkembangan Akar Padi. *Jurnal Agro Biogen*. 3(2): 66 – 71.
- Mattos K.A., Padua V.L.M., Romerio A., Hallack L.F., Neves B.C., Ulisses T.M.U., Barros C J. Todeschin A. R., Previat J.O and . Mendoca Previato L.. 2008. Endophytic Colonization of Rice (*Oryza sativa* L) By The Diazaotrophic Bacteriu *Burkholderia Kururiensis* and Its Ability. *Ann. Acad. Bras.Cienc.* 80 (3):477-493
- Moore Thomas C. 1989 . *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones* . Spinger-Verlag
- Prasetyoputri, A dan Ines Atmasukarto. 2006. “ Biotrend” Mikroba Endofit Sumber Acuan Baru yang Berpotensi. Volume I No.2 : 13 – 15
- Patten CL, Glick BR (2002) Role of *Pseudomonas putida* indoleaceticacid in development of the host plant root system. *Appl EnvironMicrobiol* 68:3795–3801
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat
- Radu & Kqueen, 2002. Preliminary screening of endophytic fungi from medicinal plants in malaysia for antimicrobial and antitumor activity. *Malays J Med Sci*. 2002 Jul;9(2):23-33
- Saepen, S., S.Jos. and Roseline.R.2007. Indole-3-Acetic Acid in Microbial and Microorganism and Microorganism Plant Signaling. Departemen of Microbial and Moleculer Systems. centre of Microbial and Plant Genetics ; Belgium
- Shi Y, Lou K, Li C (2009) Isolation, quantity distribution and characterization of endophytic microorganisms within sugarbeet. *Afr J Biotechnol* 8:835–840
- Strobel G., Daisy B., 2003, Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 67 : 491–502

- Susilowati, D.N., R. Saraswati., E. Yuniari. 2003 . Isolasi dan Seleksi Mikroba Diazotrof Endofitik an Penghasil Zat Pemacu Tumbuh pada Tanaman Kacang tanah dan Jagung Sumberdaya Genetik Pertanian : 128 – 143
- Thakuria D, Talukdar NC, Goswami C, Hazarika S, Boro RC, Khan MR(2004). Characterization and screening of bacteria from the rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Curr. Sci.* 86: 978-985.
- Yarnaliza, Mustika Wildasari Siregar dan Nunuk Priyanti, 2010. Peran Bakteri Endofit Penghasil IAA Terseleksi Terhadap Pertumbuhan Tanaman Padi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi FMIPA USU*: 219 -228
- Zinniel DK, PLambrecht, NB Harris, ZFeng, DKuczmariski, PHigley, CA Ishimaru, Arunakumari, RG Barletta and AK Vidaver. 2002. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 8:2198-2208.