
KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT PENGHASIL FITOHORMON IAA (*Indole Acetic Acid*) DARI KULIT BATANG TUMBUHAN RARU (*Cotylelobium melanoxyton*)

Suci Rahmadhani Tanjung¹⁾, Dra.Uswatun Hasanah M.Si²⁾, Idramsa, S.Pd, M.Si³⁾

1) Mahasiswa Program S1 Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Medan, Sumatera Utara

2) Dosen Mikrobiologi dan Mikrobiologi Pangan, FMIPA, Universitas Negeri Medan, Sumatera Utara

3) Dosen Mikrobiologi, FMIPA, Universitas Negeri Medan, Sumatera Utara

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri endofit penghasil hormon IAA dan mengetahui karakteristik isolat bakteri yang mampu menghasilkan IAA berdasarkan karakter morfologi, biokimia dan fisiologinya. Bakteri endofit dari kulit batang Tumbuhan raru telah tersedia di Laboratorium Mikrobiologi UNIMED. Hasil penelitian menunjukkan dari 24 isolat bakteri endofit terdapat dua isolat yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan IAA yaitu ER 15 dan ER 23, kedua isolat bakteri endofit tersebut memiliki karakteristik morfologi koloni dengan warna koloni; putih, bentuk; bulat, tepi koloni; rata dan berombak, permukaan koloni; licin, karakteristik morfologi sel adalah gram negatif dan positif. Karakteristik biokimia bakteri antara lain dapat mereduksi gula dari fermentasi karbohidrat, memfermentasi gula dalam jumlah yang rendah, menghasilkan asam campuran, menghidrolisis protein, menghasilkan enzim gelatinase dan katalase. Tidak dapat menghasilkan enzim urease, sitrase dan tidak dapat menghidrolisis hydrogen sulfida. Berdasarkan karakteristik fisiologinya isolat bakteri endofit ER 15 dapat tumbuh optimum pada suhu 35^o C dan pada pH 7,2 - 8,9. Isolat ER 23 tumbuh optimum pada suhu 30^o C - 40^o C, dan dapat tumbuh pada pH 5,2 - 10,2.

Kata kunci : Karakterisasi, bakteri endofit, hormon IAA

CHARACTERIZATION OF FITOHORMON IAA (*Indole Acetic Acid*) PRODUCING ENDOPHYTIC BACTERIA OF STEM SKIN RARU (*Cotylelobium melanoxyton*)

Abstract

This study aims to obtain the hormone-producing endophytic bacteria IAA, knowing the characteristics of bacterial isolates capable of producing IAA based on morphological characters, biochemistry and physiology. Endophytic bacteria derived from the bark of plants raru, and has been available in Laboratorium Microbiology UNIMED. The results showed from twenty four isolate of endofitic bacteria artifacts two isolates that have the ability to produce IAA, two isolates of endophytic bacteria has characteristic colony morphology by colony color; white, shape; round, the edge of the colony; flat and choppy, the surface of the colony; slippery, characteristic cell morphology are gram-negative and positive. Biochemical characteristics of bacteria, among others, may reduce the sugar from the fermentation of carbohydrates, sugars ferment in low numbers, yielding a mixture of acid, hydrolyze proteins, produce gelatinase enzyme, catalase. Can not produce the enzyme urease, sitrase and can not hydrolyze hydrogen sulfide. Based on physiological characteristics of the ER 15 isolates of endophytic bacteria can grow optimum at 35^o C and at pH 7.2 to 8.9. ER 23 isolates grew optimum at a temperature of 30^o C - 40^o C, and can grow at pH 5.2 to 10.2.

Keyword : Characterization, Endophytic Bacteria, Hormon IA

Pendahuluan

Tumbuhan raru (*Cotilelobium melanoxydon*) merupakan tumbuhan liar yang banyak digunakan masyarakat dalam kehidupan sehari-hari dan mulai mengalami kepunahan dan kurang dilestarikan. Telah diketahui bahwa kulit batang tumbuhan raru memiliki kandungan tannin yang cukup tinggi dan cocok digunakan sebagai bahan pengawet makanan dan juga digunakan sebagai obat penyakit gula/diabetes dengan cara meminum air rebusannya. Bakteri endofit hidup dalam jaringan suatu tanaman tanpa menimbulkan efek negatif pada tanaman tersebut (Yuniwati, 2011). Di dalam jaringan tanaman, bakteri endofit berada di dalam sel, di ruang antar sel atau jaringan dalam pembuluh (Resti, dkk., 2013). Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan benih, akar, batang, daun (Tarabily, dkk., 2003) dan kotiledon yang sudah steril (Resti, dkk., 2013). Salah satu peranan bakteri endofit adalah sebagai pupuk alami *sp* dan *Pseudomonas sp*.

endofit yang menghasilkan hormon IAA banyak diisolasi dari tanaman budidaya. Tanaman liar seperti tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxydon*) tidak tertutup kemungkinan untuk menghasilkan bakteri endofit yang berpotensi sebagai penghasil IAA. Penelitian mengenai bakteri endofit

dengan menghasilkan hormone pertumbuhan IAA (*Indole Acetic Acid*). Hormon IAA adalah hormon kunci bagi berbagai aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Aryantha, 2004). Beberapa bakteri endofit pernah diisolasi dari tanaman padi, tebu, sorgum, rumput dan jagung (Sujianto, dkk., 2009). Silitonga, dkk (2012) melaporkan bahwa bakteri endofit dapat memproduksi hormon pertumbuhan yaitu IAA (*Indole Acetic Acid*).

Suriaman (2010) melaporkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman kentang berpotensi dalam menghasilkan hormon IAA. Selain itu Tarabily (2003) juga melaporkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman jagung dapat dimanupulasi untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung, di mana kelompok bakteri yang ditemukan adalah *Bacillus*

Penelitian bakteri dari kulit batang tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxydon*) yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan IAA perlu dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri yang berpotensi dalam menghasilkan hormon IAA.

Kovac, Methyl Red, Alkohol 75 %, Penol Red, H₂O₂ 3 %, buffer posfat.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan adalah Oven, Incubator, Autoclave, Erlenmeyer, Mikropipet, Tabung reaksi, Spektrofotometer, Hot plate, Colony counter, Mikroskop, Rak tabung, Jarum ose, Bunsen, Gelas ukur, Cawan petri, Neraca analitik, Laminar, Botol Semprot, Lampu bunsen, Alkohol, Salkowsky reagen, Tryptofan, Nutrien Broth, Media Nutrient Agar (NA), Media Trifton water, Aquades, NaCl 1 M, Kristal Violet, Alkohol 96 %, Minyak imersi, Media H₂S, Media MR-VP, Media Simmon Sitrat Agar (SSA), Media Urea Broth, Media lactose broth, sucrose broth, Media dextrose broth, Media Nutrien Gelatin, Media TSIA (Triple Sugar Iron Agar), Media Litmus Milk, Regaen

Bahan dan Metode

Metode Kerja.

1. Seleksi bakteri endofit penghasil IAA.

Untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan IAA, pertama-tama bakteri diremajakan dalam medium NA miring dan diinkubasi selama 48 jam. Kemudian isolat bakteri ditetesi 1 ml buffer posfat, Menungkan buffer posfat yang sudah bercampur dengan koloni bakteri ke dalam 100 ml buffer posfat yang telah disiapkan pada gelas ukur. Kemudian mengambil 1 – 2 ose bakteri dari larutan buffer posfat dan

menginokulasikannya ke dalam media yang kaya akan triftofan (Trifton water) kemudian meng-inkubasi pada suhu 30° C selama 3 hari. Meneteskan reagen salkowski sebanyak 2 ml dan menunggu selama 5 menit sampai terbentuk warna merah/pink di permukaan media.

2.Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil IAA. Isolat bakteri endofit yang positif dapat menghasilkan IAA kemudian dikarakterisasi ber-dasarkan morfologi koloni, uji biokimia (fermentasi karbohidrat, uji H₂S, Uji TSIA, Reaksi Litmus Milk, Uji pencairan gelatin, Tes Methyl Red, Uji Aktivitas Urea, Uji Pemanfaatan Sitrat, Uji Aktivitas Katalase) dan uji fisiologi (uji pH;

5,2, 6,5, 7,2, 8,9 dan 10,2 dan suhu ; 25° C, 30° C , 35° C, 40° C, 45° C dan 50° C).

Hasil dan Diskusi

hasil penelitian yang kemampuan dalam menghasilkan IAA, diperoleh 2 isolat bakteri endofit yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan IAA yaitu ER 15 dan ER 23 yang ditandai dengan terbentuknya warna pink setelah penambahan reagen. Isolat terpilih kemudian dikarakterisasi berdasarkan morfologi, biokimia dan fisiologi.

Hasil karakterisasi bakteri endofit penghasil IAA disajikan pada Tabel 1, berikut ini.didapatkan mengenai bakteri endofit dari kulit batang tumbuhan raru yang memiliki.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Morfologi bakteri endofit penghasil IAA dari kulit batang Raru (*Cotylelobium melanoxyton*)

Karakter	Isolat	
	ER 15	ER 23
Warna koloni	Putih	Putih
Bentuk koloni	Bulat	Bulat
Tepian koloni	Rata	Berombak
Permukaan koloni	Licin	Licin
Elevasi koloni	Rata	Rata
Gram	Negatif	Positif

Dari Tabel 1 diatas dapat dilihat bahwa isolate bakteri endofit ER 15 dan ER 23 berbeda pada karakter tepian koloni dan karakter pewarnaan gram.

Tabel 2. Karakterisi biokimia bakteri endofit penghasil IAA dari kulit batang Raru (*Cotylelobium melanoxyton*)

No	Karakter Biokimia Bakteri	Isolat	
		ER 15	ER 23
1	Fermentasi karbohidrat	+	+
2	Uji H ₂ S	-	-
3	Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)	+	+
4	Reaksi Likmus Milk	+	+
5	Uji pencairan gelatin	+	+
6	Tes Methyl Red	+	+
7	Uji Aktivitas Urea	-	-
8	Uji Pemanfaatan Sitrat	-	-
9	Uji Aktivitas Katalase	+	+

Dari Tabel 2 diatas dapat dilihat bahwa isolate bakteri ER 15 dan ER 23 sama – sama menghasilkan uji negatif terhadap H₂S, aktivitas urea dan pemanfaatan sitrat.

Tabel 3 Karakterisasi dari fisiologi Bakteri endofit penghasil IAA dari kulit batang Raru (*Cotylelobium melanoxyton*)

Isolat	Karakter fisiologi Bakteri										
	Temperatur (° C)						pH				
	25 ^o	30 ^o	35 ^o	40 ^o	45 ^o	50 ^o	5,2	6,5	7,2	8,9	10,2
ER 15	+	+	++	+	-	-	+	+	++	++	+
ER 23	+	++	++	++	-	-	++	++	++	++	++

Dari tabel 3 diatas dapat dilihat bahwa isolat bakteri ER 15 dan ER 23 tidak dapat tumbuh pada suhu 45^o dan 50^o C. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit penghasil IAA tergolong bakteri yang dapat tumbuh pada kisaran suhu 25^o – 40^o C

Menurut Susilowati.,*dkk* (2003) bakteri endofit yang mampu menghasilkan hormon IAA pada tanaman dapat meningkatkan perkembangan dan pertumbuhan tanaman tersebut sehingga pertumbuhan tanaman lebih baik dari pada tanaman tanpa bakteri endofit. Tinggi batang, panjang akar dan jumlah akar juga akan semakin baik ketika tanaman bersimbiosis dengan bakteri endofit (Iswari. 2006).

Menurut Long, *dkk* (2008) bakteri endofit membantu penyerapan nutrisi dan pertumbuhan tanaman dengan cara seperti melarutkan posfat, mengikat besi (iron chelation), fiksasi nitrogen dan menghasilkan hormon pertumbuhan yaitu IAA. 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 untuk memenuhi kebutuhan akan hormon IAA untuk melakukan pertumbuhan, sementara itu tumbuhan

menyediakan bahan makanan bagi bakteri seperti penyediaan glukosa oleh tumbuhan yang nantinya akan diubah bakteri menjadi berbagai produk sehingga dapat dijadikan sebagai sumber energi (Khairani,2010)

Produksi hormon IAA oleh bakteri endofit dapat terjadi karena adanya prekursor berupa triptofan. Triptofan yang terkandung di dalam media pembiakan akan diubah menjadi hormon IAA oleh bakteri endofit. Tanaman memenuhi kebutuhan akan hormon tumbuh melalui kemampuannya dalam mensintesis hormon auksin dari mikroorganisme yang berada di dalam jaringannya (Kusnadi, 2003).

Isolat bakteri endofit penghasil hormon IAA yang diisolasi dari tumbuhan Raru (*Cotylelobium melnoxyton*) mempunyai beberapa karakteristik. Karakteristik tersebut diantaranya bentuk koloni bakteri ER 15 yaitu bulat dengan tepi koloni rata dengan warna putih bening, dengan permukaan licin dan elevasi yang rata. Isolat bakteri ER 23 memiliki tipe tepi koloni berombak, warna koloni putih dengan permukaan licin dan

elevasi yang rata. Sesuai dengan penelitian (Silitonga, dkk. 2012) Pada media padat, pertumbuhan mikroorganisme ditandai dengan bentuk koloni yang berbeda-beda seperti circular, irregular dan lain sebagainya.

Karakteristik bakteri juga dapat dilihat dari morfologi sel bakteri endofit, bakteri endofit penghasil IAA yang dikarakterisasi tergolong gram negatif dan gram positif. Karakter gram tersebut sesuai dengan penelitian dari Khairani (2009) yang menyatakan bahwa bakteri endofit termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif atau positif.

Isolat bakteri endofit penghasil IAA dari kulit batang tumbuhan raru juga mampu mereduksi beberapa gula seperti sukrosa, laktosa, dan dextrosa. Isolat yang dikarakterisasi mampu mereduksi gula-gula tersebut. Gula tersebut akan diubah menjadi senyawa yang lebih sederhana. Kemampuan memfermentasikan berbagai karbohidrat dan produk fermentasi yang dihasilkan merupakan ciri yang sangat berguna dalam identifikasi mikroorganisme misalnya *Escherichia coli*, *Alcaligenes faecalis*, *Staphylococcus aureus* (Shing, dkk.2012).

H₂S diproduksi oleh beberapa jenis mikroorganisme melalui pemecahan asam amino yang mengandung unsur belerang (S) seperti lisin dan metionin. H₂S dapat juga diproduksi melalui reduksi senyawa - senyawa belerang anorganik, misalnya : tiosulfat, sulfit atau sulfat. Adanya H₂S dapat diamati dengan menambahkan garam-garam logam berat ke dalam medium (Khairani, 2010).

Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar) digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasi gula, dapat dijelaskan bahwa isolat bakteri endofit yaitu ER 15 dan ER 23 hanya dapat memfermentasi glukosa, dengan konsentrasi yang rendah (Shing, dkk.2013).

Uji methyl red digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran yang dihasilkan oleh beberapa mikroorganisme seperti *E.coli*,

Eaerogenes, *Klebsiella pneumonia*, Beberapa bakteri memfermentasi glukosa dan menghasilkan produknya yang bersifat asam sehingga akan terjadi penurunan pH pada media (Cappucino dan Sherman. 2001).

Uji Litmus milk digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam mereduksi litmus, dengan produk akhir berupa asam dan endapan agar dapat menghasilkan energi (Cappucino dan Sherman. 2001).

Uji pencairan gelatin dilakukan untuk melihat apakah bakteri tersebut mempunyai enzim gelatinase yang mampu menghidrolisis gelatin. Hidrolisis gelatin terjadi karena bakteri menghasilkan gelatinase untuk menghidrolisis polimer protein, gelatin, untuk asam amino (Cappucino dan Sherman. 2001).

Dapat jelaskan bahwa isolat bakteri endofit ER 15 dan ER 23 tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim urease sehingga bakteri tersebut tidak mampu menghidrolisis urea menjadi ammonia, isolate bakteri endofit tersebut juga tidak memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim citrase sehingga bakteri tersebut tidak dapat menggunakan sitrat sebagai satu - satunya sumber karbon dan energi (Shing, dkk.2013).

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 (Cappucino and Sherman.2001).

Dari hasil penelitian yang dilakukan terhadap uji suhu optimum bagi pertumbuhan bakteri endofit ER 15 dan ER 23 dapat dijelaskan bahwa pada kedua isolat bakteri endofit penghasil IAA, isolat bakteri ER 15 dapat tumbuh pada suhu antara 25°C - 40°C, dan

tumbuh optimum pada suhu 35^o C, dan tumbuh baik pada kisaran pH 7,2 – 8,9 sedangkan untuk isolat bakteri ER 23 dapat tumbuh optimum pada suhu 30^o C – 40^o C dan dapat tumbuh baik pada pH 5,2 – 10,2.

Kesimpulan

Dari ke 24 isolat bakteri endofit yang telah diuji kemampuannya dalam menghasilkan IAA (*Indole Acetic Acid*) didapatkan 2 isolat bakteri endofit yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan IAA yaitu bakteri endofit dengan kode isolat ER 15 dan ER 23.

Berdasarkan karakteristik morfologi bakteri, isolat bakteri endofit ER 15 memiliki bentuk koloni yang bulat dengan tepi koloni rata, warna koloni putih bening, dengan permukaan licin, elevasi yang rata, dan termasuk gram negatif sementara itu untuk isolat bakteri ER 23 memiliki bentuk koloni yang bulat, tipe tepi koloni berombak, warna koloni putih dengan permukaan licin, elevasi yang rata dan termasuk golongan bakteri gram positif. Berdasarkan karakteristik biokimia bakteri, Isolat bakteri endofit ER 15 dan ER 23 dapat memfermentasi karbohidrat, memfermentasi gula dengan konsentrasi yang rendah, menghasilkan asam campuran, dapat mereduksi litmus, menghasilkan enzim gelatinase, katalase. Tidak dapat menghasilkan enzim urease, sitrase dan tidak dapat menghidrolisis hydrogen sulfida. Berdasarkan karakteristik fisiologinya, isolat bakteri endofit ER 15 memiliki kemampuan untuk dapat tumbuh optimum pada suhu 35^oC dan tumbuh dengan baik pada pH 7,2 dan 8,9 sementara untuk isolat bakteri endofit ER 23 dapat tumbuh optimum pada suhu 30^o C – 40^o C dan tumbuh dengan baik pada semua perlakuan pH yang dibuat yaitu 5,2, 6,5, 7,2, 8,9 dan 10,2. Dari hasil yang diperoleh dapat digolongkan bakteri endofit ER 15 dan ER 23 termasuk pada golongan bakteri Mesofil yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada kisaran suhu 20^o c - 45^o c (Cappucino dan Sherman. 2001).

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dra. Uswatun Hasanah, M.Si, selaku dosen pembimbing dan ketua Laboratorium Biologi serta Bapak Idramsya, S.Pd, M. Si yang telah banyak meluangkan waktu dalam membimbing, mengarahkan dan memberikan masukan kepada penulis selama melaksanakan penelitian. Kepada Bapak Drs. Lazuardi, M.Si selaku dosen Pembimbing Akademik. Kepada kedua orang tua, Ayah Sabaruddin Tanjung dan ibu Lastri, Abang Al – Asyir Sihombing, Adik Gunawan Tanjung, Ifan Tanjung dan Dini Tanjung yang telah memberikan dukungan kepada penulis saat melakukan penelitian

Daftar Pustaka

- Aryantha (2002) *Mikroba Penghasil Fitohormon*. Bogor. Institut Teknologi Bandung.
- Cappucino J G., Sherman Natalie (2001) *Mikrobiologi A Laboratorium Manual*. New York : Benjamin Cummings.
- Ishwari PP (2006). Produksi Hormon Asam Indol-3-Asetat Oleh Bakteri Diazotrof Endofitik dan Aplikasinya Pada Tanaman Kentang. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kusnadi (2003) *Common Textbook Mikrobiologi*. Bandung : UPI.
- Khairani,G (2010) Isolasi Dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon Iaa (Indole Acetic Acid) Dan Akar Tanaman Jagung (*Zea Mays*). Usu.
- Long HH., Schmidt DD., Baldwin (2008) Native bacterial endophytes promote Host Growth in a species – specific Manner; phytohormone manipulation do not result in common growth response. *Journal plos one* **3(7)** : 2702
- Resti Z., Habazar Trimurti., Putra D Prima., Nasrum (2013) Skrining Dan Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Untuk Mengendalikan Penyakit Hawar Daun

Bakteri Pada Bawang Merah **13 (2)** :167-178.

Shing., Sharma, A., Saini, G (2013) Biochemical and molecular characterization of the bacterial endophytes from native sugarcane varieties of Himalayan region. **3 (3)** :205-212.

Sujianto, N.E.,Putra,H.,Pritayuni, F., Albathaty, N., dan Noor, C.Z., (2009), Daya Anti Mikroba Ekstrak *Lecythophora* sp., Endofit yang Diisolasi dari Alyxia reiwardtii, Berk. Panel. Hayati **15(4)** : 37 – 44.

Silitonga D Merry.,Priyani N., Nurwahyudi (2012) Isolasi Dan Uji Potensi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat Dan Bakteri Penghasil Hormon Iaa (*Indole Acetic Acid*) Terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glycine Max L.*) Pada Tanah Kuning. Medan : USU.

Suriaman (2010) Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam memfiksasi N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) secara in vitro. http://lib.uinmalang.ac.id/?mod=th_view_er&id=abstract/id_05520040.pdf (Diakses pada tanggal 19 Januari 2015)

Susilowati DN., Saraswati R.,Elsanti dan Yuniarti E (2003) Isolasi dan Seleksi Mikroba Diozotrof Endofitik dan Penghasil zat pemacu tumbuh pada

Tarabily K.A., Nassar A.H (2003) Promotion of plant growth by an auxin producing isolate of the yeast willioptis saturnus endophytic in maize roots. The sixth U.A.E. University research conference. 60 – 69.

Yuniwati (2011) Kinetika Reaksi Hidrolisis Pati Pisang Tandung Dengan Katalisator. <http://www.jurtek.akprind.ac.id/./106-112>(Dikases pada tanggal 19 januari 2015)