

**Research Article****Potensi Bakteri Asal Bambu dalam Memproduksi Asam Indol Asetat (IAA)*****The Potential of Bacteria from Bamboo in Producing Indole Acetic Acid (IAA)*****Maisyah Zahra Al Banna^{1*}, Widiastini Arifuddin¹**¹Pendidikan Biologi STKIP Pembangunan Indonesia. Jl. Inspeksi Kanal Citraland No.10, Makassar 90241

Received: January 10, 2021 / Received in revised : June 10, 2021/ Accepted: June 28, 2021

ABSTRACT

Bamboo are known having a high adaptive ability to tolerate environmental changes or stresses. Endogenous microorganisms in several parts of bamboo have been reported used as organic fertilizer and biocompost. However, bacterial potential as auxin (IAA) producer has not been widely report, especially for Torajas' local bamboo. In this study, rhizosphere and endophytic bacteria were isolated from six different bamboo. Bamboo samples were obtained from the bamboo forest station area of North Toraja. Rhizosphere bacterial isolates were obtained from the area around the roots of bamboo plants, while endophytic bacterial isolates were obtained from roots and shoots bamboo tissue. Six rhizosphere isolates and 12 endophytic isolates were obtained. All isolates were indentified for morphological, physiological, biochemical tests and IAA's activities. There are 12 IAA-producing isolates, which where dominated by endophytic bacterial isolates. Based on 16S molecular identification, it was found that K12 isolates were similar to *Bacillus cereus*, with an IAA concentration value was 1.301 mg L⁻¹. While K14 isolated has similiarities with *Stenotrophomonas maltophilia* with the abiliy to produce IAA was 2.737 mg L⁻¹. The reconstruction of the phylogeny tree showed that K12 isolate had similiarity with *Bacillus wedimannii*, and K14 isolate was related to *Stenotrophomonas sp.*

Keywords: Bamboo; Endophytic bacteria; IAA production; Rhizosphere bacteria.**ABSTRAK**

Bambu dikenal sebagai memiliki kemampuan adaptif yang tinggi dalam mentoleransi perubahan ataupun cekaman lingkungan. Mikroorganisme lokal pada beberapa bagian tanaman bambu telah banyak dilaporkan dapat dimanfaatkan sebagai pupuk organik dan biokompos, namun potensi bakteri asal tanaman bambu sebagai penghasil IAA belum banyak dilaporkan. Dalam penelitian ini dilakukan isolasi bakteri rizosfer dan endofit yang berasal dari enam jenis bambu berbeda. Sampel bambu diperoleh dari kawasan hutan bambu Stasiun Mengkendek Tana Toraja. Isolat bakteri rizosfer diperoleh dari daerah sekitar perakaran tanaman bambu, sedangkan isolat bakteri endofit diperoleh dari jaringan segar akar dan rebung bambu. Dalam penelitian ini diperoleh 6 isolat bakteri rizosfer dan 12 isolat bakteri endofit. Seluruh isolat diidentifikasi bentuk sel, tipe Gram, uji biokimia, serta diukur kemampuannya dalam memproduksi IAA. Dari 18 isolat, diperoleh 12 isolat penghasil IAA. Isolat bakteri endofit mendominasi perolehan isolat penghasil IAA. Dari hasil identifikasi 16S diketahui isolat K12 memiliki kemiripan dengan *Bacillus cereus* dan mampu menghasilkan IAA sebesar 1,301 mg L⁻¹, sedangkan isolat K14 memiliki kemiripan dengan *Stenotrophomonas maltophilia* dengan kemampuan menghasilkan IAA sebesar 2,737 mg L⁻¹. Hasil rekonstruksi pohon filogeni menunjukkan isolat K12 memiliki kemiripan pasangan basa dengan *Bacillus weidmannii*, dan isolat K14 memiliki kekerabatan dengan kelompok *Stenotrophomonas sp.*

Kata kunci: Bambu; Bakteri endofit; Bakteri rizosfer; Produksi IAA.

*Korespondensi Penulis.

E-mail : maisyazahra.mz@gmail.com (MZ Al Banna)DOI: <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v5i1.233>

1. Pendahuluan

Bambu memiliki peran ekologi sebagai tanaman konservasi lingkungan dalam menjaga ekosistem air. Sistem perakaran tanaman bambu tersusun secara solid, sehingga lahan yang ditumbuhi oleh bambu mampu memiliki kemampuan menahan laju erosi. Bambu dikenal memiliki kemampuan adaptif yang tinggi karena dapat beradaptasi dengan cepat terhadap perubahan maupun cekaman lingkungan (Mishra *et al.* 2014). Selain sebagai tanaman dengan fungsi konservasi, bambu erat pula dikaitkan dengan kearifan lokal suatu daerah. Dalam penelitian ini digunakan tanaman bambu yang berasal dari wilayah Toraja Utara, Kabupaten Tana Toraja.

Penelitian mengenai eksplorasi bakteri asal bambu di Indonesia, khususnya Sulawesi Selatan belum banyak dilaporkan, padahal tanaman bambu memiliki potensi sumber daya genetik yang tinggi. Pengungkapan potensi mikrobial lebih banyak berfokus pada pemanfaatan mikroorganisme lokal (mol) dari rebung bambu sebagai pupuk organik dan biokompos (Ali *et al.* 2018; Gustomi *et al.* 2018). Penelitian yang telah ada tersebut belum memberikan informasi mengenai jenis bakteri yang terdapat pada beberapa bagian bambu, sehingga perlu dilakukan studi mengenai jenis bakteri yang membentuk interaksi dengan tanaman bambu.

Respon adaptif terhadap cekaman abiotik yang dimiliki tanaman bambu menunjukkan kemampuannya dalam meregulasi metabolisme selular dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Fitohormon diketahui sebagai regulator pertumbuhan yang dapat menstimulasi respon ketahanan tanaman terhadap cekaman abiotik (Egamberdieva *et al.* 2017). Salah satu jenis fitohormon adalah asam indol asetat (IAA) yang berperan dalam perkembangan dan pertumbuhan tanaman, seperti pembelahan, elongasi dan diferensiasi sel, secara struktur kimia IAA memiliki kemiripan dengan asam amino triptofan (Asgher *et al.* 2015). Hormon IAA dapat dihasilkan oleh kelompok bakteri endofit dan rizosfer dari beberapa jenis tanaman. Beberapa bakteri endofit yang telah dilaporkan mampu menghasilkan IAA antara lain adalah *Bacillus megaterium*, *Bacillus marinus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, sedangkan untuk bakteri rizosfer adalah *Stenotrophomas maltophilia* dan *Arthrobacter pascens* ZZ21 (Aziz *et al.* 2015; Li *et al.* 2018; Patel & Saraf, 2017; Waheeda, 2015).

Interaksi antara bakteri endofit dan tanaman terbentuk melalui kolonisasi pada jaringan tanaman yang ternyata memiliki kemiripan dengan pola kolonisasi akar oleh rizobakteria. Ketika bakteri endofit mengkolonisasi jaringan akar maka

bakteri tersebut akan mudah menginfeksi jaringan tanaman yang lain, sehingga kolonisasi dapat muncul pada beberapa bagian tanaman (Kandel *et al.* 2017). Dengan demikian keberadaan bakteri endofit dan rizosfer akan meningkatkan mekanisme respon ketahanan tanaman, pertumbuhan biomassa akar serta kompetisi perolehan nutrisi (Afzal *et al.* 2019; Pii *et al.* 2015). Pengungkapan jenis bakteri asal bambu serta potensinya sebagai penghasil hormon IAA dapat dijadikan sebagai langkah awal pemanfaatan ragam sumber hayati bambu di wilayah Sulawesi Selatan.

2. Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2020 sampai Desember 2020 di Laboratorium Biologi STKIP Pembangunan Indonesia, dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Pengambilan sampel berupa bagian akar, rebung dan tanah sekitar perakaran bambu dilakukan di kawasan hutan lindung Stasiun Mengkendek.

Pengambilan Sampel

Dalam penelitian ini digunakan satu lokasi pengambilan sampel bakteri penghasil IAA, selanjutnya dipilih enam tanaman bambu yaitu bambu hitam (*Gigantochloa atrovioleaceae*), bambu talang (*Schizostachyum brachycladum*), bambu kuning (*Bambusa vulgaris*), bambu ater (*Gigantochloa atter*), bambu petung (*Dendrocalamus asper*) dan bambu apus (*Gigantochloa apus*). Sampel diperoleh dari beberapa titik yang terdapat di kebun bambu tersebut, sampel tanah yang diambil merupakan bagian dari rizosfer dengan kedalaman 10 cm, sedangkan sampel akar dan rebung bambu digunakan untuk memperoleh isolat bakteri endofit.

Isolasi Bakteri Rizosfer dari Tanah Perakaran Bambu

Bagian akar bambu yang masih ditemeli tanah dilarutkan dalam 0,9% larutan NaCl dan divorteks selama 10 menit untuk memperoleh tanah rizosfer murni. Dalam tahapan ini dilakukan pula seri pengenceran dari 10^{-1} sampai dengan 10^{-9} . Sebanyak 100 μ l hasil pengenceran ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (20g L⁻¹, Merck) (Pastor *et al.* 2012).

Isolasi Bakteri Endofit dari Akar dan Rebung Tanaman Bambu

Sampel berupa bagian akar dan rebung bambu dicuci bersih menggunakan air steril dan

dikeringkan menggunakan kertas filter steril. Satu gram bagian dari sampel ditimbang dan direndam dalam 75% etanol selama 5 menit, dan dilanjutkan perendaman menggunakan larutan Clorox 5% selama 3 menit. Sampel dicuci sebanyak 3-5 kali dan dikeringkan menggunakan kertas steril, kemudian diletakkan pada media *Nutrient Agar* (NA), dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam untuk mengetahui tahapan desinfeksi jaringan berhasil dilakukan. Jika tidak ditemukan koloni tumbuh pada media NA, sampel jaringan dipotong dengan gunting steril dan diletakkan di mortar steril. Tahapan selanjutnya adalah pengenceran bertingkat menggunakan akuades steril dengan gradien pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} . Sebanyak 100 μ l hasil pengenceran ditumbuhkan pada media NA (Yuan *et al.* 2015).

Karakterisasi Morfologi, Fisiologi dan Biokimia Isolat Bakteri

Pengujian biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi isolat bakteri yang diperoleh. Tahap karakterisasi biokimia isolat mengacu pada *Bergey's Manual* yang dilakukan melalui pengujian produksi katalase (CAT), senyawa indol (IND), motilitas (MOT), hidrogen sulfida (H_2S), uji sitrat (CIT), uji metil red (MR) dan uji Voges Proskauer (VP) (Tassadaq *et al.* 2013).

Pengujian Kemampuan Bakteri dalam Menghasilkan IAA

Isolat bakteri yang berhasil diperoleh ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (20 g L⁻¹, Merck) yang mengandung 200 mg L⁻¹ larutan L-triptofan sebagai prekursor. Sebanyak 1 ml supernatan dipisahkan dari debris sel dan ditambahkan 2 ml reagen Salkowski (0,1 ml 0.5 FeCl₃, 50 ml HClO₄ 50% berdasarkan Gordon dan Werber 1951), selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm (Chandra *et al.* 2018; Susilowati *et al.* 2018). Konsentrasi IAA dinyatakan dalam mg L⁻¹ yang dihitung berdasarkan kurva standar IAA sintetik pada konsentrasi 0 – 100 mg L⁻¹.

Identifikasi Molekuler Isolat Bakteri Terpilih

Identifikasi molekuler dilakukan dengan mengirimkan sampel biakan murni pada media NA ke Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin. Produk PCR dikirimkan ke lembaga berbayar *First-BASE Laboratories*, Malaysia untuk dilakukan sekuensing. Hasil sekuensing dianalisis menggunakan Program *Multiple Alignment*, Clustal W dengan perangkat lunak Bioedit 7.2.5, dan disejajarkan dengan sekuen nukleotida yang telah dipublikasikan pada situs

GenBank dengan menggunakan program BLAST-N (*Basic Local Alignment Search Tool-Nucleotides*) pada situs NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Nilai homologi pada setiap sampel diketahui menggunakan Clustal X 2.1, selanjutnya pembuatan pohon filogenetik menggunakan program Mega 7.0 dengan metode *joining free*.

Analisis Data

Produksi IAA oleh isolat bakteri dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan. Tabel dan grafik diolah dengan menggunakan MS Office Excel 2016. Analisis ragam digunakan untuk mengukur pengaruh produksi IAA oleh isolat bakteri, perlakuan yang berpengaruh nyata diuji lanjut menggunakan DMRT $\alpha = 5\%$ pada software SAS 9.0.

3. Hasil

Hasil Isolasi Bakteri

Berdasarkan metode sebar untuk menumbuhkan isolat, ditemukan isolat bakteri rizosfer pada daerah sekitar perakaran tanaman, serta isolat bakteri endofit yang diperoleh dari jaringan akar dan rebung enam jenis tanaman bambu. Dari hasil isolasi, diperoleh 18 isolat bakteri yang terdiri dari 12 isolat bakteri endofit (K1, K2, K3, K4, K5, K6, K7, K8, K9, K10, K11, dan K12) dan 6 isolat bakteri rizosfer (K13, K14, K15, K16, K17, dan K18) (Tabel 1).

Karakterisasi Morfologi, Fisiologi dan Biokimia Isolat

Sebanyak 18 isolat bakteri endofit dan rizosfer diidentifikasi secara morfologi, fisiologi dan karakterisasi biokimia. Bentuk sel dan pewarnaan Gram diamati secara morfologi menggunakan teknik pewarnaan Gram. Morfologi koloni mencakup bentuk, warna, serta pola pertumbuhan diamati setelah masa inkubasi 24 jam pada media NA. Dalam penelitian ini, bentuk sel isolat bakteri sebagian besar adalah bulat (*coccus*), dan tercatat hanya tiga isolat bakteri yang memiliki bentuk sel *basil* (batang). Hasil pengecatan Gram menunjukkan isolat bakteri yang diperoleh didominasi oleh kelompok bakteri Gram negatif. Sedangkan untuk pengamatan warna koloni, hanya satu isolat yang memiliki warna koloni kekuningan yaitu isolat K14, sisanya didominasi oleh koloni berwarna putih bening, putih susu dan putih kekuningan (Tabel 1). Karakterisasi biokimia dilakukan dengan cara pengujian produksi katalase, senyawa indol, motilitas, hidrogen sulfida (H_2S), uji sitrat, uji metil red (MR) dan uji Voges Proskauer (Tabel 2).

Tabel 1. Karakteristik morfologi Isolat Bakteri

Kode Isolat	Bentuk koloni	Elevasi	Permukaan	Margin	Pigmen
K1	iregular	<i>flat</i>	halus	entire	putih susu
K2	filamentous	<i>flat</i>	halus	entire	putih susu
K3	rhizoid	<i>raised</i>	kasar	undulate	putih susu
K4	circular	<i>raised</i>	berkerut	entire	putih susu
K5	iregular	<i>raised</i>	halus	lobate	putih susu
K6	iregular	<i>raised</i>	berkerut	rhizoid	putih susu
K7	circular	<i>convex</i>	kasar	entire	putih bening
K8	rhizoid	<i>raised</i>	kasar	entire	putih susu
K9	circular	<i>flat</i>	halus	entire	putih
K10	circular	<i>raised</i>	halus	entire	putih bening
K11	rhizoid	<i>convex</i>	berkerut	lobate	putih susu
K12	iregular	<i>flat</i>	halus	undulate	putih kekuningan
K13	iregular	<i>flat</i>	halus	curled	putih
K14	circular	<i>raised</i>	halus	lobate	kekuningan
K15	circular	<i>flat</i>	halus	curled	putih
K16	iregular	<i>flat</i>	halus	rhizoid	putih susu
K17	rhizoid	<i>flat</i>	halus	lobate	putih susu
K18	iregular	<i>flat</i>	halus	entire	putih kekuningan

Tabel 2. Karakterisasi Biokimia, Fisiologis dan Biokimia Isolat

Kode Isolat	Bentuk sel	Gram	Katalase	SIM			Sitrat	MR	VP	TSIA			
				Indol	Motility	H ₂ S				Gas	Laktosa	Sukrosa	Glukosa
K1	cocus	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K2	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K3	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K4	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K5	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K6	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K7	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
K8	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K9	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
K10	cocus	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
K11	cocus	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+
K12	basil	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
K13	cocus	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+
K14	basil	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+
K15	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K16	basil	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+
K17	cocus	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
K18	cocus	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+

Keterangan: (+) hasil uji positif; (-) hasil uji negatif.

Aktivitas katalase diindikasikan dengan terjadinya dekomposisi H₂O₂ yang ditunjukkan dengan terbentuknya gas. Hasil pengujian katalase pada seluruh isolat menunjukkan sebagian besar isolat mampu memproduksi gas. Pada pengujian sitrat, hasil positif menandakan terbentuknya enzim sitrat-permease yang dapat mengubah sitrat menjadi piruvat. Dari hasil pengujian sitrat, hanya 3 isolat menunjukkan hasil negatif, isolat lainnya

menunjukkan perubahan warna biru pada media uji yang menandakan perubahan pH menjadi basa. Uji indol bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam membentuk enzim triptopanase, dari hasil ini hanya satu isolat yang memberikan hasil positif dalam mereduksi triptofan. Sama halnya dengan kandungan hidrogen sulfida, dari 18 isolat hanya satu isolat yang menunjukkan kemampuan menghasilkan gas H₂S.

Pengujian selanjutnya adalah MR-VP, dimana hasil positif uji MR ditandai perubahan warna kuning menjadi merah sebagai akibat konversi asam menjadi basa. Dalam penelitian ini, seluruh isolat menunjukkan hasil negatif terhadap uji MR. Sedangkan pada uji VP, hanya 2 isolat menunjukkan hasil negatif. Berdasarkan pengujian fermentasi gula, seluruh isolat menunjukkan kemampuan mampu memfermentasi glukosa, sedangkan untuk fermentasi laktosa dan sukrosa masing-masing isolat bakteri menunjukkan hasil yang beragam. Keseluruhan isolat bakteri yang telah diidentifikasi kemampuan fisiologisnya, selanjutnya dianalisis kemampuannya dalam menghasilkan IAA.

Kemampuan Isolat Bakteri dalam Menghasilkan IAA

Pengujian kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan IAA diukur secara kolorimetrik, dengan menggunakan media kultur NB yang ditambahkan L-triptofan, dan direaksikan menggunakan reagen Salkowski. Pemilihan media cair sebagai media pertumbuhan bagi isolat bakteri penghasil IAA didasarkan pada hasil penelitian [Kafrawi et al. \(2017\)](#) yang melaporkan bahwa media cair dapat menyediakan nutrisi yang cukup untuk menopang proses pertumbuhan dan metabolisme selular bakteri.

Komposisi nutrisi terlarut pada media pertumbuhan akan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan sel bakteri. Nutrisi yang lebih kompleks akan menyebabkan bakteri membutuhkan waktu relatif panjang untuk mendegradasi nutrisi. Dalam kondisi nutrisi pertumbuhan yang baik, waktu absorpsi nutrisi cenderung lebih singkat, namun sebaliknya jika kondisi nutrisi terbatas akan menyebabkan sel bakteri beradaptasi melalui sintesis enzim spesifik untuk mendegradasi substrat. Dalam penelitian ini digunakan larutan L-triptofan yang merupakan modulator utama biosintesis IAA. Penambahan triptofan pada media kultur akan meningkatkan produksi IAA oleh seluruh jenis bakteri uji ([Spaepen & Vanderleyden, 2011](#)).

Berdasarkan pengujian kolorimetrik, dari 18 isolat terdapat 12 isolat bakteri penghasil IAA pada rentang konsentrasi 0,318 mg L⁻¹ - 2,737 mg L⁻¹. Tercatat hanya dua isolat bakteri rizosfer yang mampu memproduksi IAA, yaitu isolat yang diperoleh dari tanah sekitar perakaran bambu *Schizostachyum brachycladum* dan *Gigantochloa atter*, dimana masing-masing konsentrasi IAA yang dihasilkan adalah 1,555 mg L⁻¹ oleh isolat K16 dan 2,737 mg L⁻¹ oleh isolat K14. Sedangkan untuk isolat bakteri endofit, terdapat 10 isolat bakteri penghasil IAA (K1, K2, K3, K4, K5, K6, K7, K8, K10, K12, K14 DAN K16) yang diperoleh dari jaringan akar dan rebung tanaman bambu jenis *Gigantochloa*

atroviolaceae, *Schizostachyum brachycladum*, *Bambusa vulgaris*, dan *Gigantochloa atter*. Pada penelitian ini, bambu jenis *Dendrocalamus asper* dan *Gigantochloa apus* hanya ditemukan isolat bakteri endofit penghasil IAA pada jaringan rebung saja (Tabel 3).

Tabel 3. Produksi IAA oleh isolat bakteri.

Kode Isolat	Jenis Bakteri	Produksi IAA (mg L ⁻¹)
K1	Endofit	0,647 ^b
K2	Endofit	0,658 ^b
K3	Endofit	0,579 ^b
K4	Endofit	0,354 ^a
K5	Endofit	0,666 ^d
K6	Endofit	0,76 ^c
K7	Endofit	0,582 ^b
K8	Endofit	0,318 ^a
K10	Endofit	0,739 ^c
K12	Endofit	1,301 ^d
K14	Rizosfer	2,737 ^e
K16	Rizosfer	1,555 ^f

Keterangan: Angka pada kolom yang sama diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan hasil uji Duncan pada taraf $\alpha = 5\%$.

Berdasarkan Tabel 3, isolat bakteri endofit pada jaringan akar menunjukkan konsentrasi IAA tertinggi sebesar 0,666 mg L⁻¹ yang diperoleh dari isolat K5 asal bambu *Bambusa vulgaris*, dan konsentrasi IAA terendah adalah 0,579 mg L⁻¹ dari isolat K3 asal akar bambu *Schizostachyum brachycladum*. Sedangkan pada jaringan rebung, aktivitas IAA tertinggi berasal dari isolat K12 asal rebung *Gigantochloa apus* sebesar 1,301 mg L⁻¹, dan aktivitas IAA paling rendah diperoleh dari isolat K8 asal bambu *Gigantochloa atter* yaitu 0,318 mg L⁻¹.

Pengaruh produksi IAA oleh isolat bakteri dianalisis menggunakan *software* SAS 9.0 (Tabel 3). Hasil analisis data tersebut diperoleh tiga isolat bakteri yang memiliki potensi menghasilkan IAA dalam konsentrasi lebih besar dibandingkan isolat lainnya, yaitu isolat bakteri endofit K12, dan isolat bakteri rizosfer K14 dan K16.

Identifikasi Molekular dan Rekonstruksi Pohon Filogeni Isolat Bakteri

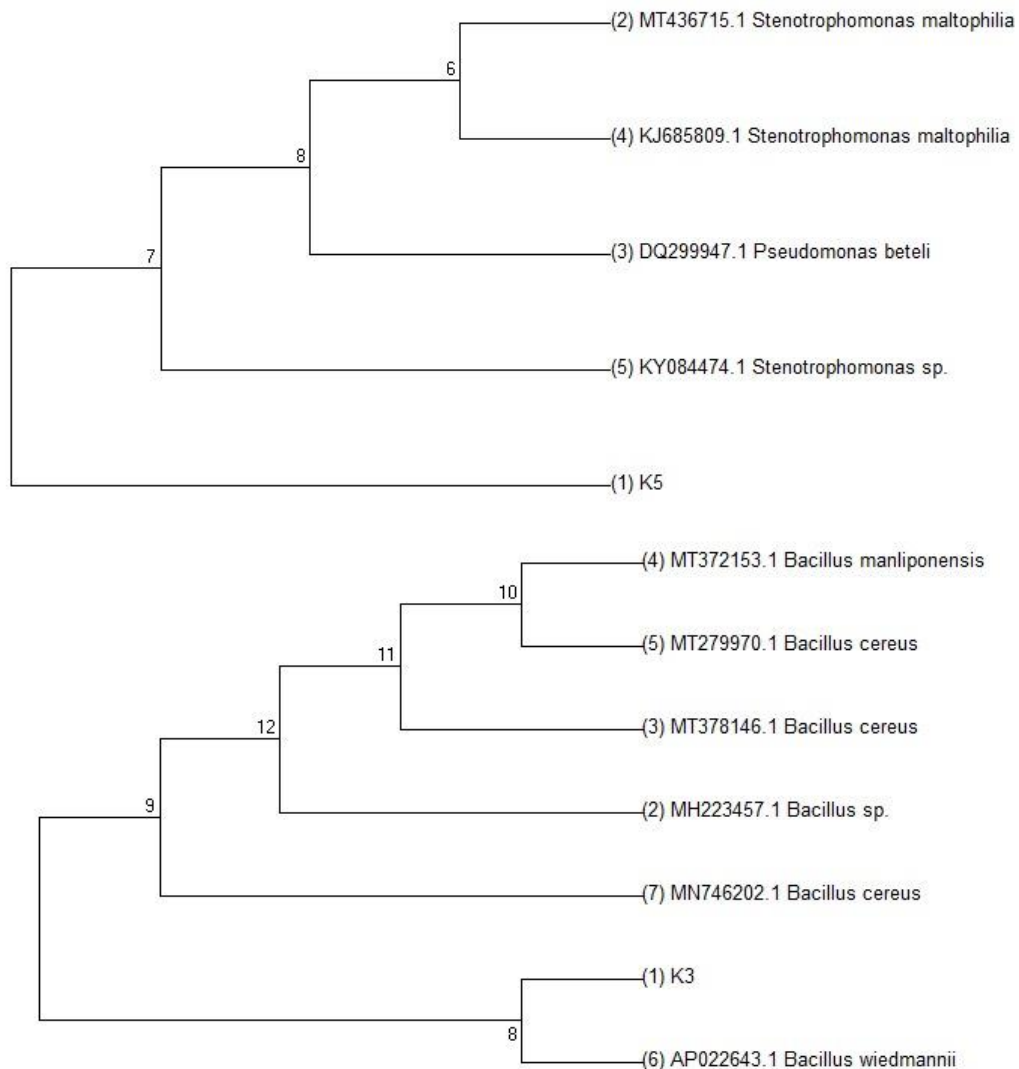
Pada tahap identifikasi ini dipilih dua isolat yang mewakili kelompok bakteri rizosfer dan endofit, yaitu isolat bakteri endofit K12 asal bambu *Gigantochloa apus* dan isolat bakteri rizosfer K14 asal tanah bambu *Schizostachyum brachycladum*. Hasil pembacaan urutan nukleotida pada BLAST menunjukkan isolat K12 memiliki kemiripan sebesar 95,06% dengan *Bacillus cereus* strain K-191, sedangkan isolat K14 mirip dengan *Stenotrophomonas maltophilia* strain APP36

sebesar 85,24% (Tabel 4). Analisis filogenetik dengan metode *neighbor joining free* menunjukkan bahwa isolat K12 memiliki kekerabatan dekat dengan *Bacillus weidmannii* yang diisolasi dari tanah di Jepang. Sedangkan isolat K14 memiliki

kekerabatan dengan bakteri endofit *Stenotrophomonas* sp strain P33 yang berasal dari rumput rai (*Lolium multiflorum*) di Jepang (Gambar 1).

Tabel 4. Hasil Pembacaan BLAST dari Isolat Bakteri

No.	Kode Isolat	GenBank		Homologi (%)	Jenis
		No. asesi	Asal Isolat		
1.	K12	MK590996.1	Untitled, Arab Saudi	95,06	<i>Bacillus cereus</i>
2.	K14	MT533812.1	Bintil akar kacang <i>Cajanus cajan</i> , India	85,24	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>



Gambar 1. Rekonstruksi pohon filogenetik dengan metode *neighbor joining free* berdasarkan hasil sekuens 16S rRNA menunjukkan hubungan kedekatan antara sekuens isolat K12 (kode K3) dan isolat K14 (kode K5) dengan beberapa jenis sekuens bakteri lain.

Kelompok *Bacillus* sp dikenal sebagai “*auxin microfactories*” karena memiliki kemampuan memproduksi IAA sebagai pemacu pertumbuhan tanaman. *Bacillus cereus* yang diisolasi dari tanah menunjukkan aktivitas IAA sebesar 100 µg mL⁻¹ (Chagas *et al.* 2015). Sedangkan penelitian lainnya

(Ikram & Ali, 2018) melaporkan *B. cereus* secara signifikan mampu memacu pertumbuhan akar *Vigna mungo* karena memiliki kandungan IAA sebesar 140 µg mL⁻¹. Jenis lain dari *B. cereus* yaitu So311 menghasilkan IAA dengan konsentrasi 36.6 mg L⁻¹ (Wagi & Ahmed, 2019).

Bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* diketahui sebagai bakteri dominan ditemukan pada daerah rizosfer tanaman jagung, bit, gandum, dan jaringan tanaman kentang. Dalam penelitian ini, isolat K14 memiliki kemiripan dengan *S. maltophilia* (85,24%), yang diisolasi dari rizosfer asal bambu *Schizostachyum brachycladum*. Bakteri *S. maltophilia* dilaporkan memiliki aktivitas antagonis dengan cara menghambat pertumbuhan *Fusarium sp* pada tanaman tomat (Rania *et al.* 2016). Aktivitas IAA oleh *S. maltophilia* dilaporkan dalam penelitian berbeda mampu menghasilkan IAA dengan konsentrasi 95 µg mL⁻¹ (Patel & Saraf, 2017).

4. Pembahasan

Hormon tumbuhan akan mempengaruhi kemampuan tumbuhan dalam merespon kondisi lingkungan. Hormon IAA merupakan kelompok fitohormon yang memegang peranan penting dalam regulasi pertumbuhan tanaman mencakup organogenesis, respon selular, proses pemanjangan, pembelahan, diferensiasi dan regulasi gen. Hormon IAA yang dihasilkan kelompok bakteri pemacu pertumbuhan dapat meningkatkan respon adaptif tanaman terhadap cekaman lingkungan melalui mekanisme mitigasi senyawa inhibitor penyebab cekaman lingkungan pertumbuhan (Wagi & Ahmed, 2019).

Kelompok bakteri endofit dan rizosfer banyak dilaporkan memiliki kemampuan memproduksi IAA dengan melibatkan prekursor berupa L-triptofan yang merupakan kelompok asam amino dengan gugus indol. Triptofan mengandung komponen aktif yang dapat memicu pertumbuhan mikroba (Susilowati *et al.* 2018). Beberapa jenis bakteri dapat menghasilkan triptofan secara endogenus, namun konsentrasi yang dihasilkan terlalu rendah untuk dapat memicu produksi IAA. Bagian biji dan eksudat akar tanaman diketahui mengandung triptofan. Kadar triptofan tergantung pada kondisi tanaman seperti usia tanaman dan kecukupan nutrisi (Patten *et al.* 2013).

Dalam penelitian ini, sebanyak 12 isolat bakteri asal enam jenis tanaman bambu mampu menghasilkan IAA yang diukur secara kolorimetri. Sebagian besar kelompok rizobakteri dan endofit mampu mengubah kerja IAA tanaman lebih optimal. Bakteri penghasil IAA memiliki efek fitostimulus yang dapat meningkatkan perkembangan akar, luas rasio permukaan akar dan perbaikan mekanisme pengambilan nutrisi dan air (Ahmed & Hasnain, 2010). Hormon IAA tergolong metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri selama fase stasioner. Produksi IAA oleh bakteri umumnya dihasilkan antara 48 - 72 jam dalam siklus

pertumbuhannya (Ahmed & Hasnain, 2010; Aziz *et al.* 2015).

Berdasarkan karakteristik biokimia, diketahui sebanyak sembilan isolat bakteri tergolong sebagai gram negatif, dan tiga isolat bakteri lainnya merupakan gram positif. Hasil ini selaras dengan beberapa penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa bakteri penghasil IAA didominasi oleh kelompok bakteri gram negatif (Patel & Saraf, 2017). Meskipun demikian dengan semakin masifnya kegiatan eksplorasi bakteri penghasil IAA, maka semakin banyak pula kelompok bakteri gram positif yang dilaporkan dapat memproduksi IAA.

Pada penelitian ini isolat bakteri penghasil IAA didominasi oleh kelompok endofit. Namun jika ditinjau dari konsentrasi IAA yang dihasilkan, isolat bakteri rizosfer memproduksi IAA lebih tinggi dengan rentang konsentrasi 1,555 - 2,737 mg L⁻¹. Sedangkan konsentrasi IAA pada isolat bakteri endofit berkisar pada 0,318 - 1,301 mg L⁻¹.

Konsentrasi IAA yang dihasilkan isolat bakteri endofit dan rizosfer dalam penelitian ini tergolong rendah jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya. Hal ini mengindikasikan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk optimasi produksi IAA oleh bakteri endofit dan rizosfer. Optimasi produksi IAA dapat dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat pada media cair *yeast extract* yang ditambahkan 200 µg ml⁻¹ L-triptofan, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 168 jam (Patel & Patel, 2014). Produksi IAA akan meningkat signifikan pada jam ke-96 dan semakin menurun pada inkubasi hari ke 120 yang disebabkan karena degradasi IAA oleh enzim intraselular yang terbentuk selama pertumbuhan bakteri (Patel & Saraf, 2017). Induksi biosintesis IAA dapat dilakukan melalui penambahan larutan sukrosa 1%, pepton 1% dan pemberian NaCl 2% pada media pertumbuhan (Aziz *et al.* 2015).

Berdasarkan hasil identifikasi molekular menggunakan BLAST, isolat bakteri K12 memiliki kemiripan urutan basa dengan bakteri *Bacillus cereus*, sedangkan isolat K14 memiliki kemiripan dengan *Stenotrophomonas maltophilia*. Sedangkan berdasarkan rekonstruksi filogeni, isolat K12 memiliki urutan nukleotida yang mendekati kerabat kelompok *Bacillus weidmannii*. Isolat K14 menunjukkan klade tersendiri, namun diduga tetap memiliki kedekatan kekerabatan dengan kelompok *Stenotrophomonas sp*.

5. Kesimpulan

Sebanyak 18 isolat bakteri asal akar dan rebung tanaman bambu berhasil diperoleh, yang terdiri atas 6 isolat bakteri rizosfer dan 12 isolat bakteri endofit. Seluruh isolat yang diperoleh diidentifikasi

secara morfologi, fisiologi, dan biokimia, serta diukur kemampuannya dalam memproduksi IAA. Hanya 12 isolat bakteri yang mampu menghasilkan IAA, dua diantaranya merupakan isolat bakteri rizosfer dan sisanya adalah isolat bakteri endofit. Produksi IAA tertinggi diperoleh dari isolat K14 dengan konsentrasi IAA sebesar 2.737 mg L⁻¹, selanjutnya adalah isolat K16 dan K12 dengan konsentrasi berturut-turut 1.555 mg L⁻¹, dan 1.301 mg L⁻¹. Dua isolat dipilih untuk diidentifikasi secara molekular, dimana dalam pemilihan isolat tersebut didasarkan pada hasil analisis data menggunakan *software* SAS 9.0. Hasil pembacaan nukleotida pada BLAST menunjukkan isolat K12 memiliki kemiripan dengan *B. cereus*, sedangkan K14 dengan *S. maltophilia*. Rekonstruksi pohon filogeni menunjukkan K12 memiliki kekerabatan dengan *B. weidmannii* dan isolat K14 dengan keluarga *Stenotrophomonas* sp.

6. Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat, Badan Riset dan Inovasi Nasional melalui bantuan pendanaan skema Penelitian Dosen Pemula tahun 2020.

7. Pernyataan Konflik Kepentingan (*Declaration of Conflicting Interests*)

Penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan sehubungan dengan penelitian, kepengarangan, dan/atau publikasi dari artikel ini (*The authors have declared no potential conflicts of interest concerning the study, authorship, and/or publication of this article*).

8. Daftar Pustaka

- Afzal I, Shinwari ZK, Sikandar S, Shahzad S. 2019. Plant Beneficial Endophytic Bacteria: Mechanisms, Diversity, Host Range and Genetic Determinants. *Microbiological Research* 221: 36-49.
- Ahmed A, Hasnain S. 2010. Auxin-Producing *Bacillus* sp: Auxin Quantification and Effect on The Growth of *Solanum tuberosum*. *Pure and Applied Chemistry* 82(1): 313-319.
- Ali H, Kermelita D. 2018. Efektifitas Mikroorganisme Lokal (MOL) Rebung Bambu Sebagai Aktivator Pembuatan Kompos Tahun 2014. *Journal of Nursing and Public Health* 6(1): 8-14.
- Asgher M, Khan MIR, Anjum NA, Khan NA. 2015. Minimising Toxicity of Cadmium in Plants-Role of Plant Growth Regulator. *Protoplasma* 252: 399-413.
- Aziz K, Nawaz M, Nazir J, Anjum AA, Yaqub T, Ahmad MUD, Rehman MU, Aziz G, Khan M. 2015. Isolation, Characterization and Effect of Auxin Producing Bacteria on Growth of *Triticum aestivum*. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 25(4): 1003-1007.
- Chagas Junior AF, De Oliveira AG, De Oliveira LA, Dos Santos GR, Chagas LFB, Lopes da Silva AL, Da Luz Costa J. 2015. Production of Indole-3-Acetic Acid by *Bacillus* Isolated From Different Soils. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 21(2), 282-287.
- Chandra S, Askari K, Kumari M. 2018. Optimization of Indole Acetic Acid Production by Isolated Bacteria from *Stevia rebaudiana* Rhizosphere and Its Effects on Plant Growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 16(2): 581-586.
- Egamberdieva D, Wirth SJ, Alqarawi AA, Abdullah EF, Hashem A. 2017. Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. *Frontier in Microbiology* 8: 2104(1)-2104(14).
- Gustomi G, Nurisman L, Susilo S. 2018. Pengaruh Pemberian Mikroorganisme Lokal (MOL) Rebung Bambu Surat (*Gigantochloa vesticillata* (Willd.) Munro) Terhadap Pertumbuhan Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.). *Bioeduscience* 2(1): 81-87.
- Ikram R, Ali B. 2018. Co-inoculation of Auxin Producing PGPR and Rhizobia Enhanced Growth of *Vigna mungo* (L.) Under Cadmium Stress. *Future of Food: Journal on Food, Agriculture and Society* 6(1): 46-54.
- Kafrawi, Nildayanti, Zahraeni K, Baharuddin. 2017. Comparison of IAA Production by Shallot Rhizosphere Isolated Bacteria in Solid and Liquid Media and Their Effect on Shallot Plant Growth. *Journal of Microbial and Biochemical Technology* 09(06): 266-269.
- Kandel Syam L, Pierre M. Joubert, Sharon L. Doty. 2017. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Microorganisms* 5(77): 2-26.
- Li M, Rui Go, Fei Yu, Xu Chen, Haiyan Zhao, Huixin Li, Jun Wu. 2018. Indole-3-Acetic Acid Biosynthesis Pathways in the Plant-Beneficial Bacterium *Arthrobacter pascens* ZZ21. *International Journal of Molecular Sciences* 19: 443(1)-443(15).
- Mishra G, Krishna G, Shalish P, Rajesh K, N.S Bisht. 2014. Bamboo: potential resource for eco-restoration of degraded lands. *Journal of Biology and Earth Sciences* 4(2): B130-B136.

- Pastor N, Carlier E, Andrés J, Rosas SB, Rovera M. 2012. Characterization of Rhizosphere Bacteria For Control of Phytopathogenic Fungi of Tomato. *Journal of Environmental Management* 95: S332-S337.
- Patel MV, Patel RK. 2014. Indole-3-Acetic Acid (IAA) Production By Endophytic Bacteria Isolated From Saline Dessert, the Little Runn of Kutch. *CIBTech Journal of Microbiology* 3(2): 2319-3867.
- Patel T, Saraf M. 2017. Exploration of Novel Plant Growth Promoting Bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* MTP42 Isolated from Rhizosphere Soil of *Coleus forskohlii*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science* 6(11): 944-955.
- Patten CL, Blakney AJC, Coulson TJD. 2013. Activity, Distribution and Function of Indole-3-Acetic Acid Biosynthetic Pathways in Bacteria. *Critical Reviews in Microbiology* 39(4): 395-415.
- Pii Y, Mimmo T, Tomasi N, Terzano R, Cesco S, Crecchio C. 2015. Microbial Interactions in The Rizosphere: Beneficial Influence of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Nutrient Acquisition Process. A review. *Biology and Fertility of Soils* 51(4): 403-415.
- Rania ABA, Jabnoun-Khiareddine H, Nefzi A, Mokni-Tlili S, Daami-Remadi M. 2016. Endophytic Bacteria from *Datura metel* for Plant Growth Promotion and Bioprotection Against *Fusarium* Wilt in Tomato. *Biocontrol Science and Technology* 26(8), 1139-1165.
- Spaepen S, Vanderlayden J. 2011. Auxin and Plant-Microbe Interaction. *Cold Spring Harbor Perspective in Biology* 3(4): a001438.
- Susilowati DN, Riyanti EI, Setyowati M, Mulya K. 2018. Indole-3-Acetic Acid Producing Bacteria and Its Application on The Growth of Rice. *AIP Conference Proceedings 2002* : 020016-1 - 020016-9.
- Tassadaq H, Aneela R, Shehzad M, Iftikhar A, Jafar K. 2013. Biochemical Characterization and Identification of Bacterial Strains Isolated from Drinking Water Source of Kohat, Pakistan. *African Journal of Microbiology Research* 7(16): 1579-1590.
- Wagi S, Ahmed A. 2019. Bacillus spp: Potent Microfactories of Bacterial IAA. *PeerJ* 7: e72589(1)-e72589(14).
- Waheeda P, Radziah Othman, Hawa Jaafar, Mahbubur Rahman, Wong Mul Yun. 2015. Chromatographic detection of phytohormones from the bacterial strain UPMP3 of *Pseudomonas aeruginosa* and UPMB3 of *Burkholderia cepacia* and their role in oil palm seedling growth. *International Journal of Biotechnology Research* 3(5): 073-080.
- Yuan ZS, Liu F, Zhang GF. 2015. Isolation of Culturable Endophytic Bacteria From Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*) and 16S rDNA Diversity Analysis. *Archives of Biological Sciences* 67(3): 1001-1008.