

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT BERASAL DARI TANAMAN LADA BANGKA

Gusmaini dan Andriana Kartikawati

Balai Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat
Jl. Tentara Pelajar no. 3, Cimanggu, Bogor
email: gusmaini672@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri endofit merupakan bakteri yang menguntungkan bagi tanaman karena dapat masuk ke jaringan tanaman. Keuntungan-keuntungan tersebut antara lain bakteri endofit dapat menghasilkan fitohormon, mengikat nitrogen (N) dan melarutkan fosfat (P). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian Tanaman Rempah dan obat, dari bulan Mei hingga Oktober 2015. Tahapan kegiatan meliputi 1) isolasi bakteri endofit yang diambil dari tanaman lada di Bangka, dan 2) karakterisasi bakteri endofit yang meliputi ciri morfologi, penghasil fitohormon, pengikat N dan pelarut P. Hasil isolasi dan karakterisasi bakteri endofit yang berasal dari tanaman lada Bangka diperoleh 28 isolat. Bakteri endofit yang dapat diisolasi dari daun sebanyak 15 isolat dan akar sebanyak 13 isolat. Isolat yang berpotensi sebagai pelarut P terdiri dari 16 isolat yang terdiri dari 5 isolat berasal dari daun lada dan 11 isolat berasal dari akar lada. Isolat yang berpotensi sebagai pengikat N terdapat 20 isolat yang terdiri dari 11 isolat berasal dari akar dan 9 isolat berasal dari daun. Semua isolat yang diperoleh menghasilkan fitohormon IAA. Ada 14 isolat yang berpotensi sekaligus sebagai pengikat N, pelarut P dan penghasil IAA. Isolat tersebut yaitu LdB2, LdB4, LdB5, LdB8, LaB1, LaB2, LaB3, LaB5, LaB6, LaB7, LaB8, LaB9, LaB10 dan LaB11.

Kata kunci : *Piper nigrum*, bakteri endofit, isolasi, karakterisasi, pemicu pertumbuhan

PENDAHULUAN

Bakteri endofit merupakan bakteri yang berasosiasi dengan jaringan atau sel tanaman tingkat tinggi dan tidak memberikan kerugian pada tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat diisolasi dari permukaan benih, akar, batang, daun dan biji yang telah disteril (Tarabily *et al.*, 2003). Peran pemacu pertumbuhan tanaman ditunjukkan dengan dihasilkannya fitohormon, pengikat N dan pelarut P. Fitohormon yang dapat diproduksi oleh bakteri endofit antara lain IAA, GA3 maupun sitokinin (Ergun *et al.*, 2002; Gusmaini *et al.*, 2013a). Bakteri endofit mampu meningkatkan pertumbuhan dan produksi herba sambiloto berkisar 50-100% (Gusmaini *et al.*, 2013b), demikian pula pada buah aprikot berkisar 30-90% (Esitken *et al.*, 2004). Hormon-hormon tumbuh tersebut berperan di dalam regulasi metabolisme tanaman sehingga dapat memicu pertumbuhan tanaman.

Peranan lain bakteri endofit dapat menyumbangkan unsur hara antara lain nitrogen yaitu melalui fiksasi N dari udara (Stoltzfus *et al.*, 1997; Pedraza *et al.*, 2004). Selain itu menurut Compant dan Sessitsch, (2010) bahwa selain meningkatkan pertumbuhan tanaman, asosiasi tanaman dan bakteri mempunyai peranan kunci dalam meningkatkan kesehatan tanaman. Bakteri pelarut P bisa mengkonversi fosfat tidak larut menjadi bentuk yang tersedia untuk tanaman melalui proses pengasaman, khelasi, reaksi pertukaran, dan produksi asam glukonat (Chung *et al.*, 2005; Gulati *et al.*, 2010). Keberadaan bakteri endofit di dalam tanaman tergantung ketersediaan sumber nutrisi dan periode pertumbuhan tanaman (Barraquino, 1997).

Tanaman lada (*Piper nigrum* L.) merupakan tanaman yang mempunyai nilai ekonomis cukup tinggi. Provinsi Bangka Belitung merupakan salah satu daerah sentra produksi lada yang sangat terkenal di dunia dengan lada putihnya "Munthok". Sebagian besar perkebunan lada di Indonesia dikelola oleh rakyat atau petani demikian pula yang ada di Bangka Belitung, sehingga

pengeloannya kurang maksimal. Tanaman lada memerlukan lahan subur dan ketersediaan nutrisi yang tinggi, serta membutuhkan perawatan yang intensif sehingga memerlukan biaya produksi tinggi. Nutrisi yang diperlukan tanaman lada yaitu komposisi NPKMg 12:12:17:2 dengan dosis 600 g/pohon diberikan dengan frekuensi 4 kali dalam setahun, jika 1 ha terdapat 2000 tanaman lada maka diperlukan 4-6 ton/th/ha (Wahid, 1996). Hal ini membuat petani cukup kesulitan untuk memelihara tanaman lada. Kondisi tersebut perlu diantisipasi dengan berbagai upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi penggunaan pupuk. Ketiga peranan bakteri endofit sangat diperlukan pada pertanaman lada. Asosiasi bakteri endofit dengan tanaman lada nantinya diharapkan akan saling menguntungkan bagi bakteri dan tanaman.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri endofit berasal dari tanaman lada Bangka yang berpotensi penghasil fitohormon, pelarut P dan fiksasi N yang berperan sebagai pemicu pertumbuhan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor, dimulai Mei – Oktober 2015. Bahan tanaman yang digunakan sebagai inang bakteri endofit adalah tanaman lada berasal dari Bangka Tengah dan bahan-bahan yang diperlukan untuk isolasi bakteri, pengikat N, pelarut P dan untuk mengukur hormon (IAA). Alat-alat yang digunakan adalah untuk isolasi bakteri, dan spektrofotometer.

Metode Isolasi bakteri endofit yang berasal dari tanaman lada

Tanaman lada yang diisolasi bakteri endofitnya berasal dari tanaman lada yang tumbuh di lahan perkebunan di daerah Bangka Tengah. Isolasi dilakukan dari 2 bagian tanaman yaitu daun dan akar. Cara isolasi sebagai berikut:

- a) Bagian tanaman (akar dan daun) dibersihkan dari kotoran dengan menggunakan air yang mengalir, lalu dikeringkan dengan kertas filter yang steril. Permukaan daun dibersihkan lalu dipotong-potong seberat 1 g dan disteril.
- b) Masing-masing potongan bagian tanaman lada (akar dan daun) yang telah steril digerus dengan menggunakan mortar steril, lalu diberi air destilasi sebanyak 10 ml. Air larutan kemudian diencerkan hingga $10^{01} - 10^{05}$. Isolasi dilakukan dengan medium *Trypticase Soy Agar* (TSA) menggunakan metode *pour plate*. Media TSA diinkubasi dengan suhu 30°C , selama 24-48 jam. Petri tersebut dikontrol tiap hari untuk melihat pertumbuhan koloni mikroba endofit.

Karakterisasi bakteri endofit hasil isolasi dari tanaman rempah dan obat

Pada kegiatan ini terdiri dari beberapa tahap yaitu:

- a) Identifikasi ciri-ciri morfologi koloni bakteri.
Pengamatan morfologi koloni bakteri meliputi bentuk koloni, bentuk elevasi, tepi, struktur dalam koloni dan warna (Jutono *et al.*, 1973)
- b) Identifikasi bakteri endofit sebagai pelarut fosfat
Pengujian kemampuan pelarutan P dilakukan dengan cara setiap isolat diinokulasi titik pada permukaan medium agar pikovskaya pada petridish dengan sumber fosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Plate diinkubasi pada suhu 30°C dan cara diamati setiap hari selama 9 hari. Kemampuan pelarutan P tersebut ditandai adanya zona jernih disekitar koloni. Analisis kemampuan pelarutan P dilakukan dengan menghitung Indeks Pelarutan Fosfat. Indeks pelarutan fosfat dihitung dari perbandingan antara diameter zona jernih dibagi dengan diameter koloni (Premono *et al.*, 1996).

c) Identifikasi bakteri endofit sebagai fiksasi nitrogen

Masing-masing isolat diinokulasi dalam plate yang berisi media NFB dengan atau tanpa penambahan NH_4Cl sebagai sumber nitrogen. Plate diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari. Pertumbuhan bakteri diamati sebagai bukti kualitatif fiksasi nitrogen dari atmosfer yang ditandai perubahan warna biru pada media.

d) Identifikasi bakteri endofit sebagai penghasil fitohormon

Isolat yang telah diperoleh diukur kandungan fitohormon IAA dengan menggunakan spektrofotometer. Konsentrasi IAA yang dihasilkan dibandingkan larutan standar IAA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi lahan lokasi pengambilan sampel dan pertumbuhan lada

Gambaran lokasi pengambilan contoh tanah dan bagian tanaman lada yaitu lahan yang belum dibuka, dan masih banyak ditumbuhi oleh tanaman-tanaman keras lain. Banyak serasah yang sudah melapuk. Tanaman lada yang diambil sebagai sampel untuk diisolasi bakterinya adalah yang tumbuh subur dan tidak terserang hama dan penyakit. Kondisi kesuburan pada lokasi tersebut menunjukkan tingkat kesuburan yang cukup baik. Hal tersebut ditunjukkan dengan hasil analisis sifat kimia tanahnya. Kandungan P_2O_5 dan kandungan bahan organik tergolong tinggi, N sedang, K kisaran rendah- sedang, dan pH termasuk kisaran agak masam, sedangkan Al-dd sangat kecil sehingga tidak terdeteksi (Tabel 1). Kondisi kesuburan tanah tersebut nantinya akan berpengaruh terhadap kehidupan mikroba baik yang berada di sekitar rizosfer maupun yang masuk di dalam jaringan tanaman.

Tabel 1. Hasil analisis sifat kimia dan fisik tanah Bangka

No.	Parameter uji	Nilai
1	N-total (%)	0,30
2	P ₂ O ₅ tersedia (ppm)	14,65
3	K (me/100 g)	0,38
4	Na (me/100 g)	0,19
5	Ca (me/100 g)	2,09
6	Mg (me/100 g)	0,79
7	C-organik (%)	4,50
8	C/N-ratio	15,0
9	pH (H ₂ O)	6,05
10	pH KCl 1 M	5,03
11	Al dd	TTD
12	KTK (me/100 g)	13,64
13	KB	25,29
14	Tekstur Pasir	49,96
15	Tekstur Debu	27,73
16	Tekstur Liat	22,31

Isolasi bakteri endofit berasal dari tanaman lada Bangka

Hasil isolasi dari tanaman lada didapatkan 28 jenis isolat bakteri endofit yang terdiri dari 15 jenis isolat berasal dari bagian daun tanaman lada dan 13 jenis isolat yang berasal dari bagian akar tanaman lada. Spesies bakteri endofit yang berasosiasi dengan tanaman bergantung pada genotipe tanaman, umur tanaman, jaringan yang diambil, musim ketika bagian tanaman dieksplorasi, dan tingkat kesuburan tanah. Populasi bakteri endofit dipengaruhi oleh faktor

lingkungan seperti, sifat tanah, bahan organik dalam tanah, teknik budidaya, pemupukan, dan aplikasi pestisida. Pemupukan N yang tinggi dapat menekan pertumbuhan endofit dibandingkan dengan pemupukan N yang rendah. Hal ini diduga karena kandungan N yang tinggi mengubah fisiologi tanaman sehingga mengurangi kandungan sukrosa tanaman yang dibutuhkan oleh bakteri endofit sebagai sumber karbon (Seghers *et al.*, 2004). Kandungan bahan organik juga mempengaruhi dinamika bakteri endofit dalam tanaman (Hallmann *et al.*, 1997; West *et al.*, 2010).

Karakter Morfologi Koloni Bakteri Endofit

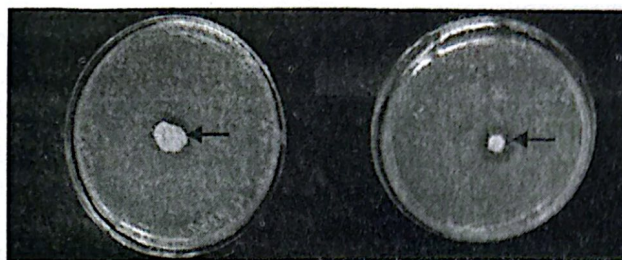
Pengujian morfologi yang dilakukan meliputi morfologi koloni meliputi bentuk koloni, bentuk elevasi, tepi, struktur dalam dan warna koloni. Berdasarkan morfologi koloni dapat dilihat bahwa isolat-isolat tersebut beragam (Tabel 2).

Tabel 2. Morfologi koloni isolat dari sampel Lada (*Piper nigrum*) Bangka

No	Kode Isolat	Bentuk Koloni	Bentuk Elevasi	Tepi	Struktur Dalam	Warna
1	LdB1	irregular	effuse	undulate	finely granular	putih bening
2	LdB2	circular	low convex	undulate	finely granular	pink
3	LdB3	circular	low convex	undulate	finely granular	krem keruh
4	LdB4	circular	convex	undulate	finely granular	krem keruh
5	LdB5	irregular	low convex	lobate	Smooth	putih bening
6	LdB6	irregular	low convex	undulate	coarsely granular	putih kekuningan
7	LdB7	circular	low convex	lobate	finely granular	putih
8	LdB8	circular	low convex	undulate	finely granular	putih
9	LdB9	circular	low convex	undulate	coarsely granular	krem
10	LdB10	circular	low convex	lobate	finely granular	krem
11	LdB11	circular	low convex	undulate	coarsely granular	putih
12	LdB12	circular	low convex	undulate	coarsely granular	putih keruh
13	LdB13	irregular	low convex	undulate	Smooth	bening
14	LdB14	circular	efuse	entire	coarsely granular	krem
15	LdB15	circular	effuse	entire	finely granular	putih bening
16	LaB1	irregular	low convex	lobate	finely granular	krem
17	LaB2	circular	convex	undulate	finely granular	putih susu
18	LaB3	circular	low convex	undulate	finely granular	kuning
19	LaB4	circular	low convex	undulate	finely granular	putih
20	LaB5	irregular	low convex	lobate	finely granular	krem
21	LaB6	irregular	convex	undulate	finely granular	putih susu
22	LaB7	circular	convex	undulate	finely granular	putih susu
23	LaB8	irregular	low convex	undulate	finely granular	krem
24	LaB9	circular	low convex	undulate	finely granular	putih
25	LaB10	Circular	convex	entire	finely granular	krem
26	LaB11	Circular	low convex	lobate	finely granular	kuning muda
27	LaB12	Circular	low convex	undulate	finely granular	putih bening
28	LaB13	Irregular	low convex	undulate	finely granular	putih susu

Identifikasi Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat berasal dari Tanaman Lada Bangka

Pengujian kemampuan mikroorganisme dalam melarutkan P secara kualitatif dilakukan dengan cara mengukur indeks pelarutan P. Media selektif yang digunakan adalah media agar Pikovskaya yang berwarna putih keruh, karena mengandung P tidak larut seperti kalsium fosfat. Kemampuan mikroorganisme untuk melarutkan P tidak tersedia secara kualitatif dicirikan dengan zona jernih (*halozone*) disekitar koloni mikroorganisme yang tumbuh (Gambar 1).

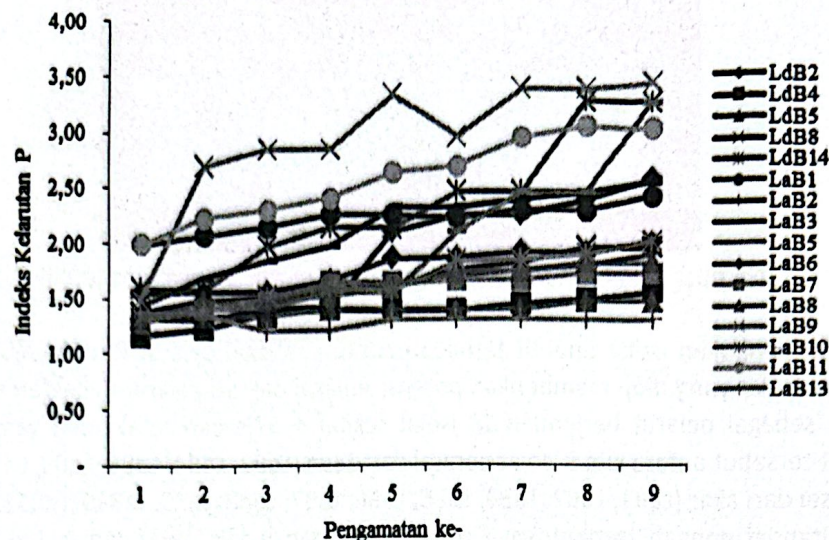


Gambar 1. Pelarutan P secara kualitatif dengan adanya zona jernih

Hasil pengujian isolat endofit terhadap potensi sebagai pelarut P, menunjukkan bahwa tidak semua isolat yang diuji memberikan potensi sebagai bakteri pelarut P. Bakteri endofit yang berpotensi sebagai pelarut berjumlah 18 isolat sekitar $\pm 57\%$ dari total isolat yang diperoleh. Isolat-isolat tersebut antara lain 5 isolat berasal dari daun (LdB2, LdB4, LdB5, LdB8, LdB14), dan 11 isolat berasal dari akar (LaB1, LaB2, LaB3, LaB5, LaB6, LaB7, LaB8, LaB9, LaB10, LaB11, LaB13). Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya zona bening dan indeks kelarutan P dari ke-16 isolat tersebut (Tabel 3).

Tabel 3. Indeks kelarutan P pada isolat bakteri endofit asal tanaman lada Bangka

No	Kode Isolat	Indeks pelarutan P									Ket
		Hari pengamatan									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	LdB1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	LdB2	1,33	1,33	1,43	1,43	2,14	2,29	2,29	2,43	2,63	+
3	LdB3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	LdB4	1,17	1,25	1,38	1,41	1,41	1,41	1,47	1,52	1,59	+
5	LdB5	1,36	1,36	1,36	1,42	1,42	1,42	1,42	1,5	1,5	+
6	LdB6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	LdB7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	LdB8	1,38	1,5	1,54	1,57	1,64	1,79	1,86	2	2	+
9	LdB9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	LdB10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	LdB11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	LdB12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	LdB13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	LdB14	1,6	1,6	2	2,17	2,17	2,5	2,5	3,33	3,33	+
15	LdB15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	LaB1	2	2,09	2,18	2,29	2,29	2,27	2,33	2,33	2,47	+
17	LaB2	1,31	1,43	1,47	1,59	1,67	1,72	1,78	1,83	1,94	+
18	LaB3	1,44	1,71	1,87	2	2,36	2,36	2,43	2,5	2,6	+
19	LaB4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	LaB5	1,33	1,43	1,43	1,57	1,57	2,14	2,5	2,5	3,33	+
21	LaB6	1,56	1,58	1,58	1,68	1,89	1,90	1,95	1,95	2,05	+
22	LaB7	1,29	1,43	1,5	1,67	1,67	1,69	1,69	1,76	1,76	+
23	LaB8	1,33	1,5	1,5	1,54	1,62	1,77	1,77	1,86	1,86	+
24	LaB9	1,5	2,71	2,88	2,88	3,38	3	3,44	3,44	3,5	+
25	LaB10	1,33	1,42	1,54	1,62	1,6	1,87	1,88	1,94	2,06	+
26	LaB11	2	2,25	2,33	2,44	2,67	2,73	3	3,1	3,09	+
27	LaB12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	LaB13	1,38	1,38	1,22	1,22	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33	+



Gambar 2. Perkembangan Indeks pelarutan P pada koloni yang berpotensi sebagai pelarut P.

Pengukuran indeks kelarutan P dilakukan dengan cara mengukur diameter zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni dibagi dengan ukuran diameter koloni. Luas zona jernih tersebut secara kualitatif menunjukkan besar kecilnya kemampuan isolat dalam melarutkan P tidak larut. Indeks kelarutan P pada penelitian ini diamati hingga 9 kali pengamatan menunjukkan bahwa setiap koloni mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam melarutkan P. Hal tersebut ditunjukkan dengan besar-kecilnya indeks kelarutan P. Selain itu secara umum pola perkembangan terbentuknya zona bening semakin hari semakin meningkat, tetapi ada beberapa isolat yang sudah konstan pembentukan zona beningnya antara lain LdB5, LdB8, LdB14, LaB7, LaB8, dan LaB13 (Gambar 2). Beberapa isolat mempunyai indeks kelarutan P yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat antara lain yaitu LaB11 (3,09), LaB5 dan LdB14 (3,33), serta LaB9 (3,05). Keempat isolat tersebut memberikan gambaran bahwa mempunyai kemampuan dalam melarutkan P lebih besar dibandingkan 12 isolat lainnya.

Waktu terbentuknya zona beningpun berbeda-beda, ada yang cepat dan ada yang lambat. Isolat LdB5 adalah isolat yang tercepat memerlukan rekasi yaitu 1 hari setelah inokulasi (SI), sebaliknya isolat LdB14 memberikan reaksi pembentukan zona bening paling lambat yaitu 13 hari SI, tetapi umumnya pembentukan zona bening terjadi 5 hari SI (Tabel 3). Semakin cepat terbentuknya zona bening maka akan semakin cepat pula bakteri tersebut bekerja dalam melarutkan P.

Tabel 3. Waktu terbentuknya zona bening indikasi sebagai pelarut P

No	Kode Isolat	Waktu terbentuk zona bening (hari)	No	Kode Isolat	Waktu terbentuk zona bening (hari)
1	LdB2	5	9	LaB5	5
2	LdB4	8	10	LaB6	5
3	LdB5	1	11	LaB7	5
4	LdB8	7	12	LaB8	5
5	LdB14	13	13	LaB9	2
6	LaB1	5	14	LaB10	5
7	LaB2	5	15	LaB11	5
8	LaB3	4	16	LaB13	5

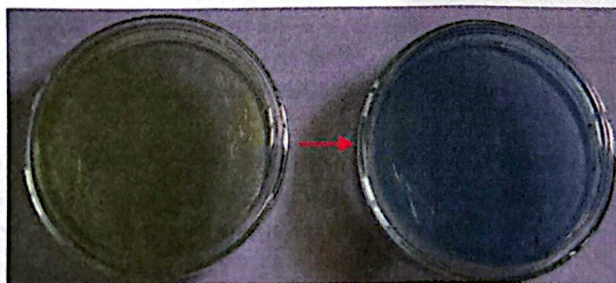
Mikrob yang dapat mempunyai kemampuan melarutkan P disebabkan bakteri tersebut dapat memproduksi asam-asam organik, seperti asam asetat, asam format, asam laktat, asam oksalat, asam malat, dan asam sitrat. Meningkatnya asam-asam organik tersebut biasanya diikuti dengan penurunan pH, sehingga mengakibatkan terjadinya pelarutan fosfor yang terikat oleh Ca. Mikrob pelarut P tersebut juga dapat memproduksi asam amino, vitamin, dan zat pemacu tumbuh seperti IAA dan asam giberelin yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Richardson, 2001; Gyaneshwar *et. al.*, 2002; Ponmugaran, 2006). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jenis isolat bakteri endofit yang berpotensi sebagai pelarut P (11 jenis isolat) lebih banyak dibandingkan yang berasal dari daun (5 jenis isolat) (Tabel 2).

Identifikasi bakteri endofit berpotensi sebagai fiksasi nitrogen berasal dari tanaman lada Bangka

Pada pengujian penambat nitrogen ini, bakteri yang tumbuh adalah bakteri penambat nitrogen non simbiotik yang ditandai dengan berubahnya medium *nitrogen free broth* malat dari warna hijau kekuning-kuningan menjadi biru (Gambar 3). Bakteri ini tumbuh dalam lingkungan nitrogen bebas dan tanpa membutuhkan inang untuk tumbuh. Bakteri endofit yang berpotensi sebagai pengikat N dari tanaman lada Bangka berjumlah 5 isolat (Tabel 3).

Tabel 3. Potensi Isolat Bakteri Endofit Berasal dari Tanaman Lada Bangka sebagai Pengikat N

No	Kode Isolat	Keterangan	No	Kode Isolat	Keterangan
1	LdB1	-	1	LaB1	+
2	LdB2	+	2	LaB2	+
3	LdB3	+	3	LaB3	+
4	LdB4	+	4	LaB4	-
5	LdB5	+	5	LaB5	+
6	LdB6	+	6	LaB6	+
7	LdB7	-	7	LaB7	+
8	LdB8	+	8	LaB8	+
9	LdB9	+	9	LaB9	+
10	LdB10	-	10	LaB10	+
11	LdB11	-	11	LaB11	+
12	LdB12	+	12	LaB12	+
13	LdB13	-	13	LaB13	-
14	LdB14	-			
15	LdB15	-			



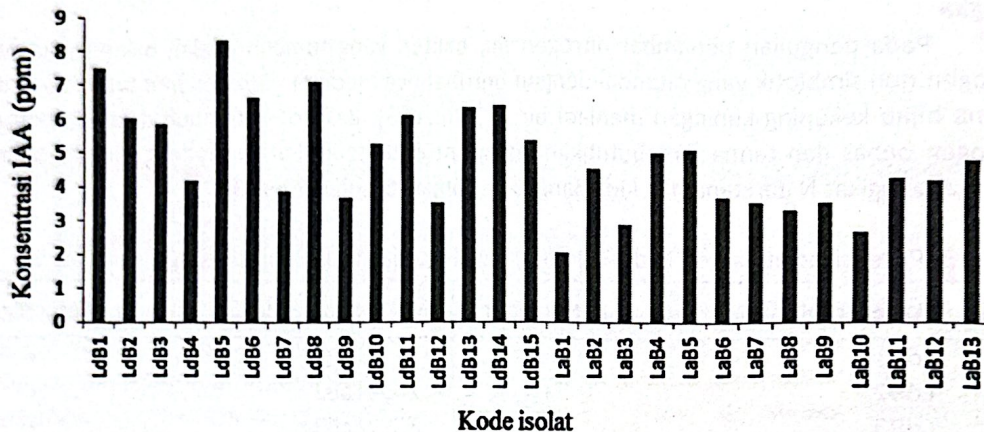
Gambar 3. Perubahan warna medium sebagai ciri fiksasi nitrogen

Penambatan N_2 secara biologis oleh sejumlah spesies bakteri endofit memiliki keunggulan dibandingkan bakteri rizosfer, karena keberadaannya di dalam jaringan interseluler tanaman yang tidak mudah hilang, sementara hara N yang berada bebas di alam sangat bersifat labil, mudah

tercuci air hujan dan erosi dan mudah menguap ke udara (Susilowati, 2003 dalam Sembiring *et al.*, 2013).

Identifikasi bakteri endofit sebagai penghasil fitohormon

Secara umum semua bakteri endofit yang diisolasi mampu menghasilkan fitohormon baik auksin namun kadarnya bervariasi (Gambar 3). Hasil analisis menunjukkan bahwa semua isolat mampu menghasilkan hormon IAA (*Indole Acetic Acid*). Hormon IAA tertinggi dihasilkan dari isolat LaB5 yang diisolasi dari akar yaitu sebesar 8,278 ppm (Gambar 3). IAA disintesis oleh bakteri melalui *Tryptophan-dependent pathways* dimana asam amino triptofan sebagai prekursor (Patten dan Glick, 2002).



Gambar 3. Konsentrasi IAA pada isolat bakteri endofit berasal dari tanaman lada Bangka

Adanya penambahan triptofan pada media akan menghasilkan IAA jauh lebih tinggi. Tanpa triptofan, bakteri dapat menghasilkan IAA walaupun dalam jumlah kecil karena pada media terdapat sari khamir yang mengandung protein. Hal tersebut mengindikasikan bahwa sejumlah asam amino triptofan digunakan bakteri dalam mensintesis IAA. Spaepen *et al.* (2007) menyatakan bahwa IAA yang dihasilkan oleh bakteri akan dimanfaatkan oleh tanaman dan akan mengalami proses metabolisme di dalam tubuh tanaman sehingga dapat memacu pertumbuhan tanaman melalui pertambahan tinggi, panjang akar dan berat basah tanaman.

Hasil penelitian ini menunjukkan tidak semua bakteri endofit mempunyai 3 peran sekaligus, namun demikian hanya ada 14 isolat yang mampu dalam memfiksasi N, melarutkan P dan menghasilkan IAA sekaligus. Bakteri endofityang mempunyai keunggulan tersebut antara lain LdBt2, LdBt4, LdBt5, LdBt8, LaBt1, LaBt2, LaBt3, LaBt5, LaBt6, LaBt7, LaBt8, LaBt9, LaBt10 dan LaBt11.

KESIMPULAN

Hasil isolasi dan karakterisasi bakteri endofit yang berasal dari tanaman lada Bangka diperoleh 28 isolat. Bakteri endofit yang dapat diisolasi dari daun sebanyak 15 isolat dan akar sebanyak 13 isolat. Isolat yang berpotensi sebagai pelarut P terdiri dari 16 isolat yang terdiri dari 5 isolat berasal dari daun lada dan 11 isolat berasal dari akar lada. Isolat yang berpotensi sebagai pengikat N terdapat 20 isolat yang terdiri dari 11 isolat berasal dari akar dan 9 isolat berasal dari daun. Semua isolat yang diperoleh menghasilkan fitohormon IAA. Ada 14 isolat yang berpotensi sekaligus sebagai pengikat N, pelarut P dan penghasil IAA. Isolat tersebut yaitu LdBt2, LdBt4, LdBt5, LdBt8, LaBt1, LaBt2, LaBt3, LaBt5, LaBt6, LaBt7, LaBt8, LaBt9, LaBt10 dan LaBt11.

DAFTAR PUSTAKA

- Chung H, M Park, M Madhaiyan, S Seshadri, J Song, H Cho and T Sa. 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil Biol. Biochem.* 37, 1970–1974.
- Compant, SC Clement and A Sessitsch. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochem.* 42, 669–678.
- Ergun N, SF Topcuoglu and A Yildiz. 2002. Auxin (indole-3-acetic acid), gibberellic acid (GA3), abscisic acid (ABA) and cytokinin production by some species of Mosses and Lichens. *Turk. J. Bot.* 26:13-18.
- Esitken A, H Karlidag, S Ercisi, M Turan and F Sahin. 2004. The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. *Hacihaliloglu*). *Australian Journal of Agricultural Research*. Csiro Publishing. Available at: <http://www.publih.csiro.au/paper/AR02098.htm>.
- Gulati A, N Sharma, P Vyas, S Sood, P Rahi, V Pathania and R Prasad. 2010. Organic acid production and plant growth promotion as a function of phosphate solubilization by *Acinetobacter rhizosphaerae* strain BIHB 723 isolated from the cold deserts of the trans-Himalayas. *Arch. Microbiol.* 192, 975–983.
- Gusmaini, SA Aziz, A Munif, D Sopandie and N Bermawie. 2103a. Isolation and selection endophytic bacteria from medicinal plant (*Andrographis paniculata*) as plant growth promoting agents. *Journal of Agronomy*. 12(3):113-121.
- Gusmaini, SA Aziz, A Munif, D Sopandie dan N Bermawie. 2013b. Potensi bakteri endofit dalam upaya meningkatkan pertumbuhan, produksi, dan kandungan andrografolid pada tanaman sambiloto. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Industri*. 19(4): 167-177.
- Hallmann J, A Quadt-Hallmann, WF Mahaffee and JW Kloepper. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol.* 43(10):895-914. doi: 10.1139/ m97-131.
- Jutono, S Joedoro, Sri Hartadi, S Siti Kabirun, D Suhadi dan Soesanto. 1973. Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum Untuk Perguruan Tinggi. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Pedraza RO, AR Mata, XL Xiqui, and BE Baca. 2004. Aromatic amino acid aminotransferase activity and indole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. *FEMS Microbiol. Let.* 233:15–21.
- Ponmugaran P and C Gopi. 2006. In vitro production of growth regulators and phosphatase activity by phosphate solubilizing bacteria. *African J. Biotech.* 5:348-350.
- Premono, EMA Moawad and PLG Vleck. 1996. Effect of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. *Indonesian J. Crop Sci.*, 11: 13–23
- Richardson AE. 2001. Prospect for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plant. *Aust. J. Plant Physiology*. 58:797-906.
- Seghers D, L Wittebolle, EM Top, W Verstmette and SD Siciliano. 2004. Impact of agricultural practices on the *Zea mays* L. endophytic community. *Appl Environ Microbiol.* 70(3):1475-1482. doi: 10.1128/AEM.70.3.1475-1482.2004
- Spaepen S, V Jos and R Rosalnie. 2007. Indole-3-Acetic Acid in Microbial and Microorganism Plant Signaling. Departemen of Microbial and Molecular Systems. Centre of Microbial and Plant Genetics : Belgium.
- Stoltzfus JR, R So, PP Malarvithi, JK Ladha and FJ de Bruijn. 1997. Isolation of endophytic bacteria from rice and assessment of their potential for supplying rice with biologically fixed nitrogen. *Plant Soil* 194:25–36.
- Tarabily K, AH Nassar and K Sivasithamparam. 2003. Promotion of Plant Growth by an Auxin-Producing Isolate of the Yeast *Williopsis saturnus* Endophytic in Maize Roots. The Sixth U.A.E University Research Conference. 60-69.
- Wahid P. 1996. Identifikasi tanaman lada. Monograf Lada. Blitbanngtan Balai Peneltian Tanaman Rempah dan Obat. 27-32.
- West ER, EJ Cother, CC Steel and GJ Ash. 2010. The characterization and diversity of bacterial endophytes of grapevine. *Can J Microbiol.* 56(3):209–216.