

**Potensi Bakteri Endofit Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) dalam Menghasilkan Hormon Indole Acetic Acid (IAA) dengan Penambahan L-triptofan**  
**(Potential of endophytic bacteria of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) in producing Indole Acetic Acid (IAA) with the addition of L-tryptophan)**

Agustina Monalisa Tangapo  
Program Studi Biologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi  
Jl. Kampus Unsrat, Manado 95115  
\*Email korespondensi:agustina.tangapo@unsrat.ac.id

(Article History: Received 5-01-2019; Revised 15-01-2020; Accepted 05-02-2020)

**ABSTRAK**

Asosiasi bakteri-tanaman, dapat mempengaruhi produktivitas tanaman secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung, salah satunya yaitu bakteri dapat memproduksi dan menyekresikan zat pengatur tumbuh indole-3-acetic acid (IAA, auksin). Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri endofit ubi jalar dalam menghasilkan IAA. Metode analisis IAA dilakukan dengan metode kolorimetri. Analisis produksi IAA dilakukan dengan penambahan dan tanpa penambahan L-triptofan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanpa penambahan L-triptofan, diperoleh sejumlah 19 jenis yang menghasilkan IAA dengan kisaran konsentrasi 0,29-7,21 mg/L. Dengan penambahan L-triptofan, jumlah jenis positif dan konsentrasi IAA yang dihasilkan meningkat signifikan. Jumlah jenis positif 20 jenis (91%) dan konsentrasi IAA yang dihasilkan mencapai kisaran 0,96-115,63 mg/L.

Kata kunci: bakteri endofit; IAA; ubi jalar; L-triptofan

**ABSTRACT**

Plant-bacteria associations, can promote plant growth by both direct and indirect mechanisms. One of direct mechanisms is that bacteria can produce and secrete indole-3-acetic acid (IAA, auxin) growth regulators. This study aims to examine the ability of sweet potato endophytic bacteria to produce IAA. The detection of IAA production was conducted by colorimetric technique. IAA production analysis was carried out with addition and without addition of L-tryptophan. Without the addition of L-tryptophan, a total of 19 species produced IAA with a concentration range of 0.29-7.21 mg/L. With the addition of L-tryptophan, the number of positive species and the concentration of IAA produced increased significantly. The number of positive species was 20 species (91%) and the concentration of IAA produced reached a range of 0.96-115.63 mg/L.

Keywords: endophytes bacterial; IAA; sweet potato; L-tryptophan

**PENDAHULUAN**

Fakta bahwa bakteri dapat hidup dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala tertentu pada tanaman tersebut, yang disebut endofit, mengindikasikan bahwa asosiasi tersebut dapat bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman. Asosiasi bakteri-tanaman, dapat mempengaruhi produktivitas tanaman secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung, salah satunya yaitu bakteri dapat berperan sebagai pemacu atau perangsang pertumbuhan dengan menyintesis zat pengatur tumbuh (Gamalero dan Glick 2011). Bakteri yang termasuk kelompok *plant growth promoting bacteria* (PGPB)

dapat memproduksi dan menyekresikan zat pengatur tumbuh tanaman, diantaranya *indole-3-acetic acid* (IAA, auksin), sitokinin, dan asam giberelat.

*Indole-3-acetic acid* termasuk fitohormon golongan auksin alami dan berperan dalam menstimulasi pertumbuhan tanaman dengan meningkatkan proses elongasi sel, pembelahan sel dan diferensiasi pada tanaman (Redman *et al.* 2011). Bakteri endofit dapat menghasilkan IAA sebagai metabolit sekunder karena tersedianya substrat yang berasal dari eksudat akar melalui sintesis L-triptofan. IAA eksogen yang dihasilkan bakteri dapat memacu

pertumbuhan akar primer dan munculnya akar lateral. Konsentrasi tinggi IAA eksogen dapat menginduksi akar lateral dan adventif, sedangkan dalam konsentrasi rendah IAA eksogen dapat merangsang pertumbuhan akar primer (Patten dan Glick 2002). Bakteri yang telah diketahui dapat menghasilkan IAA yaitu *Aeromonas veronii*, *Agrobacterium* sp., *Alcaligenes piechaudii*, *Azospirillum brasiliense*, *Bradyrhizobium* sp., *Enterobacter cloacae*, *Rhizobium leguminosarum* (Bhattacharyya dan Jha 2012), dan *Klebsiella pneumoniae* (Sachdev *et al.* 2009). Anggara *et al.* (2014) berhasil mengisolasi delapan isolat bakteri endofit dari ubi jalar varietas Papua Patippi yang menghasilkan IAA pada kisaran 0,0098-0,5525 mg/L dengan karakteristik semua isolat tergolong Gram negatif. Penelitian Yasmin *et al.* (2009) menunjukkan 15 isolat bakteri rhizosfer ubi jalar yang dapat menghasilkan IAA dengan kisaran 3,84-13,33 mg/L.

Ubi jalar merupakan tanaman penting yang dapat beradaptasi dengan berbagai macam habitat. Sebagai bahan pangan, ubi jalar kaya akan pati, gula, vitamin dan mineral. Indonesia menyumbang 2% produksi ubi jalar di dunia (Waluyo *et al.* 2011). Salah satu varietas ubi jalar yaitu ubi cilembu, termasuk varietas unggul yang telah menjadi komoditas ekspor ke beberapa negara, karena rasa manisnya yang khas dan tingkat kemanisan yang lebih dari varietas ubi jalar lainnya. Studi tentang pentingnya ubi cilembu dan upaya peningkatan produksinya dari segi budidaya semakin banyak dilakukan. Sebelumnya, telah dilakukan studi yang mempelajari dinamika dan diversitas komunitas bakteri yang berasosiasi dengan ubi cilembu yang dibudidayakan pada daerah asalnya (Tangapo *et al.* 2018). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diperoleh 22 jenis bakteri endofit selama masa pertumbuhan ubi cilembu. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri endofit ubi jalar cilembu dalam menghasilkan IAA. Informasi tentang potensi menghasilkan IAA dari jenis-jenis bakteri indigen yang berasosiasi dengan ubi cilembu penting dalam memahami peranan komunitas bakteri secara ekologis

dan dapat menjadi rekomendasi untuk aplikasi budidaya ubi jalar cilembu di daerah lain.

## METODE PENELITIAN

### Peremajaan Isolat Bakteri

Bahan penelitian ini adalah 22 isolat bakteri endofit ubi cilembu yang telah diidentifikasi (Tangapo *et al.* 2018). Peremajaan isolat bakteri endofit dilakukan dengan menginokulasikan bakteri dari stok kultur ke media *Nutrient Agar* miring secara aseptik, dan diinkubasi selama  $\pm$  48 jam pada suhu ruang. Selanjutnya, kultur tersebut digunakan untuk analisis IAA.

### Pembuatan Kurva Standar IAA

Konsentrasi IAA didapatkan dengan menggunakan persamaan regresi dari kurva standar yang dibuat dengan larutan IAA murni. Pembuatan kurva standar IAA dilakukan dengan menggunakan konsentrasi bertingkat dari larutan stok IAA (100 ppm). Larutan stok tersebut dibuat variasi konsentrasi standar IAA dari konsentrasi 0 ppm hingga 50 ppm. Selanjutnya, dilakukan pengukuran IAA dengan metode kolorimetri menggunakan reagen Salkowski (Gordon dan Weber 1951).

### Analisis IAA

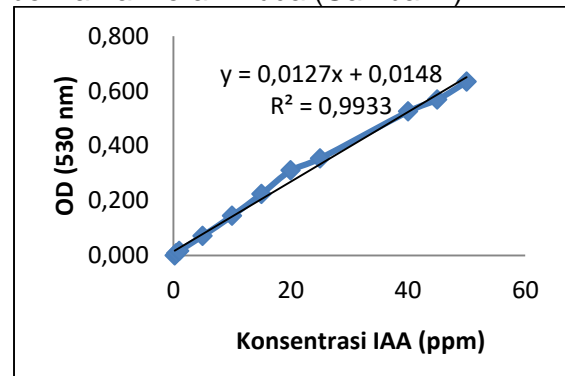
Isolat bakteri dikultur pada media *Nutrient Broth* (NB) dengan dan tanpa penambahan 0,5 g/L L-triptofan, diinkubasi pada suhu  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 48 jam, dikocok dengan agitasi 120 rpm. Setelah masa inkubasi, kultur disentrifugasi pada 13000 rpm selama 10 menit. Analisis IAA dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan reagen Salkowski (12 g/L  $\text{FeCl}_3$  dalam 7,9 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (Gordon dan Weber 1951). Supernatan ditambahkan reagen Salkowski dengan perbandingan 1:2 (1 mL supernatan + 2 mL reagen), diinkubasi selama 25 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm (Mohite 2013). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (anova) dengan menggunakan program

Minitab 17 dan dilanjutkan dengan Tukey Test dengan taraf nyata 5%.

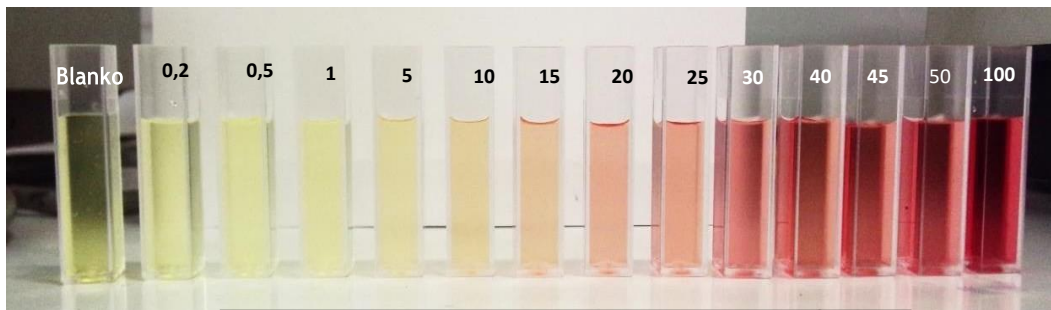
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pembuatan kurva standar IAA dilakukan untuk memperoleh persamaan regresi untuk perhitungan konsentrasi IAA sampel. Kurva standar IAA dapat dilihat pada Gambar 1. Persamaan regresi yang diperoleh yaitu  $y=0,0127x + 0,00148$  dengan nilai regresinya 0,9933. Hasil pengukuran absorbansi sampel bakteri endofit sebagai nilai y dan dianalisis berdasarkan persamaan regresi tersebut. Secara kualitatif, semakin tinggi

konsentrasi IAA maka akan semakin berwarna merah muda (Gambar 2).



Gambar 1. Kurva Standar IAA.

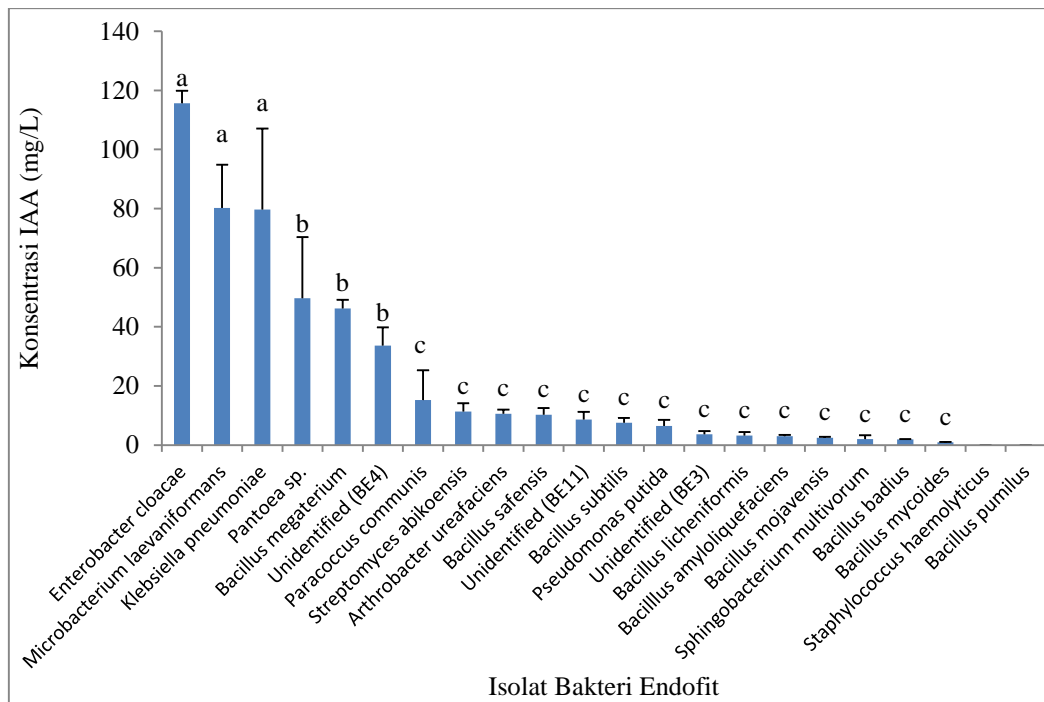


Gambar 2. Larutan Stok IAA (ppm) + Reagen Salkowski

Analisis produksi IAA dilakukan dengan penambahan dan tanpa penambahan L-triptofan. Tanpa penambahan L-triptofan, sejumlah 19 jenis (86,36%) yang menghasilkan IAA dengan kisaran konsentrasi 0,29-7,21 mg/L. Dengan penambahan L-triptofan, jumlah jenis positif dan konsentrasi IAA yang dihasilkan meningkat signifikan. Jumlah jenis positif 20 jenis (91%) dan konsentrasi IAA yang dihasilkan mencapai kisaran 0,96-115,63 mg/L (Gambar 3). Hasil analisis statistik menunjukkan konsentrasi IAA yang dihasilkan bakteri endofit ubi cilembu terbagi tiga kelompok. Kelompok pertama (a) dengan kisaran IAA 79,65-115,63 mg/L dihasilkan oleh tiga isolat yaitu *Enterobacter cloacae* (115,63 mg/L), *Microbacterium laevaniformans* (80,20 mg/L), *Klebsiella pneumoniae* (79,65 mg/L). Kelompok kedua (b) dengan kisaran IAA 33,66-49,67 mg/L dihasilkan oleh tiga jenis (13,6%), kelompok ketiga (c) dengan kisaran IAA 0,96-15,23% dihasilkan oleh 14 jenis (63,6%). Dua jenis bakteri yang

menghasilkan IAA tertinggi termasuk kelompok famili Enterobacteriaceae.

Penambahan triptofan pada medium merupakan faktor penting dalam biosintesis IAA. Triptofan merupakan prekursor utama dalam jalur biosintesis IAA. Biosintesis IAA oleh bakteri rhizosfer dapat memanfaatkan triptofan yang berasal dari eksudat akar atau sel-sel yang mati. Isolat bakteri endofit ubi cilembu dapat menghasilkan IAA sebagai hasil metabolit sekunder karena tersedianya substrat berupa eksudat akar. Dalam penelitian ini penambahan triptofan dapat meningkatkan jumlah jenis dan konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh bakteri endofit ubi cilembu. Hal yang sama juga dilaporkan Yasmin *et al.* (2009) yang berhasil mengisolasi bakteri rhizosfer ubi jalar dan semua isolat menunjukkan kemampuannya menghasilkan IAA dengan konsentrasi IAA berkisar 3,84-13,33 mg/L tanpa penambahan L-triptofan, sedangkan dengan penambahan triptofan meningkat mencapai kisaran 4,97-46,66 mg/L.



Gambar 3. Isolat bakteri endofit ubi cilembu yang berpotensi menghasilkan IAA dengan penambahan L-triptofan (huruf yang berbeda menyatakan perbedaan nyata oleh ANOVA pada  $p < 0,05$ ).

Khan dan Doty (2009) melaporkan ada empat strain yang menghasilkan IAA yaitu *Rahnella* (1), *Pseudomonas* (1) dan *Enterobacter* (2) dari 11 strain bakteri endofit ubi jalar yang berhasil diisolasi. Pada penelitian bakteri endofit ubi cilembu, konsentrasi IAA tertinggi dihasilkan oleh *E. cloacae*. Bakteri *Enterobacter* didapatkan sebagai penghasil IAA tertinggi juga pada akar gandum (*Triticum aestivum*) (Moreira *et al.* 2016).

Terdapat beberapa jalur biosintesis IAA, dan beberapa strain bakteri melibatkan lebih dari satu jalur. Jalur pertama yaitu melalui jalur indol-3-asetamida (IAM). Pada jalur ini, triptofan diubah menjadi IAM oleh enzim triptofan monooksigenase, kemudian IAM dikonversi menjadi IAA oleh enzim IAM hidrolase. Berdasarkan banyak studi, jalur IAM telah diteliti pada *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae*, *Pantoea agglomerans*, *Rhizobium* dan *Bradyrhizobium*. Selanjutnya terdapat jalur triptamin (TAM). Triptofan diubah menjadi triptamin oleh enzim triptofan dekarboksilase. Kemudian triptamin diubah menjadi indol-3-asetaldehida yang kemudian diubah menjadi IAA oleh enzim indolasetaldehid dehidrogenase.

Perbedaan dengan jalur TAM pada tanaman, pada bakteri jalur ini dapat langsung dikonversi menjadi indol-3-asetaldehida oleh enzim amina oksidase (Patten dan Glick 1996).

Jalur berikutnya adalah jalur indol-3-piruvat (IPyA), dimana triptofan diubah menjadi indol-3-piruvat, yang selanjutnya didekarboksilasi menjadi indol-3-asetaldehida oleh enzim dekarboksilase indol-3-piruvat yang kemudian senyawa tersebut dioksidasi menjadi IAA. Jalur ini merupakan jalur utama pada tanaman. Enzim yang diketahui berperan dalam jalur biosintesis ini pada tanaman belum teridentifikasi secara jelas berbeda dengan bakteri. Bakteri dapat memproduksi IAA melalui jalur IPyA dengan enzim aminotransferase pada proses transaminase seperti pada *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *E. cloacae*, dan *Cyanobacteria* (Spaepen *et al.* 2007). Pada bakteri *Agrobacterium* dan *Pseudomonas* didapatkan dua jalur yaitu jalur yang melalui indol-3-piruvat dan indol-3-asetamida baik dengan dan tanpa triptofan (Duca *et al.* 2014).

Isolat *Enterobacter* dan *Klebsiella* yang mendominasi tahap awal masa pertumbuhan ubi cilembu (Tangapo *et al.*

2018), memiliki kemampuan dalam memacu pertumbuhan tanaman melalui mekanisme secara langsung yaitu menghasilkan IAA. Berdasarkan hasil skrining, kedua isolat tersebut memiliki kemampuan menghasilkan IAA yang sangat tinggi. Pada tahap pembentukan, terjadi pertumbuhan akar yang sangat cepat dan IAA merupakan auksin utama pada tanaman yang mengatur banyak proses fisiologis penting termasuk pembesaran dan pembelahan sel, diferensiasi jaringan dan respons terhadap cahaya, sehingga sangat dibutuhkan dalam tahap awal pertumbuhan. Sintesis IAA yang dilakukan bakteri secara umum akan mempengaruhi sistem perakaran, meningkatkan ukuran dan jumlah akar adventif (Ribeiro dan Cardoso 2012). Peningkatan ukuran dan jumlah akar lateral akan mempengaruhi perluasan daerah akar yang akan semakin memudahkan penyerapan nutrisi hara mineral, yang akan membantu perkembangan tanaman bagian atas.

## KESIMPULAN

Isolat bakteri endofit ubi jalar cilembu menunjukkan potensi dapat menghasilkan IAA dengan kisaran konsentrasi 0,96–115,63 mg/L. Isolat *Enterobacter cloacae*, *Microbacterium laevaniformans*, dan *Klebsiella pneumonia* merupakan jenis bakteri endofit ubi cilembu yang memiliki potensi menghasilkan IAA tertinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggara BS, Yuliani, Lisdiana L (2014) Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil hormon *indole acetic acid* dari akar tanaman ubi jalar. *LenteraBio*. 3: 160 – 167.
- Bhattacharyya PN, Jha DK (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 28: 1327 – 1350.
- Duca D, Lorv J, Patten CL, Rose D, Glick BR (2014) Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*. 106: 85 – 125.
- Gamalero E, Glick BR (2011) Mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. Dalam Maheshwari MK (eds) *Bacteria in agrobiolgy: plant nutrient management*, Springer-Verlang, Berlin Heidelberg, pp 17 – 46.
- Gordon SA, Weber RP (1951) Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*. 26: 192 – 195.
- Khan Z, Doty SL (2009) Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. *Plant Soil*. 322: 197 – 207.
- Patten CL, Glick BR (2002) Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 3795 – 3801.
- Redman RS, Kim YO, Woodward CJDA, Greer C, Espino L, Doty SL, Rodriguez RJ (2011) Increased fitness of rice plants to abiotic stress via habitat adapted symbiosis: a strategy for mitigating impacts of climate change. *PLOS ONE*. 6: 1 – 10.
- Ribeiro CM, Cardoso EJBN (2012) Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*). *Microbiological Research*. 167: 69 – 78.
- Sachdev DP, Chaudhari HG, Kasture VM, Dhavale DD, Chopade A (2009) Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing *Klebsiella pneumoniae* strains from rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum*) and their effect on plant growth. *Indian Journal of Experimental Biology*. 47: 993 – 1000.
- Mohite B (2013) Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13: 638 – 649.
- Moreira FS, Costa PB, Souza R, Beneduzi A, Lisboa BB, Vargas LK, Passaglia LMP (2016) Functional abilities of cultivable plant growth promoting bacteria associated with wheat (*Triticum aestivum* L.) crops. *Genetica and Molecular Biology*. 39: 111 – 121.
- Patten CL, Glick BR (1996) Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*. 42: 207 – 220.
- Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R (2007) Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling.

- FEMS Microbiology Reviews. 31: 425 – 448.
- Tangapo AM, Astuti DI, Aditiawati P (2018) Dynamics and diversity of cultivable rhizospheric and endophytic bacteria during the growth stages of cilembu sweet potato (*Ipomoea batatas* L. var. *cilembu*). Agriculture and Natural Resources. 52: 309 – 316.
- Waluyo B, Rahmannisa SL, Karuniawan A (2011) Diversitas morfologi dan fenologi serta ancaman kepunahan terhadap varietas lokal ubi jalar asal cilembu. Disampaikan pada Seminar Nasional Keaneka-an Hayati dan Layanan Ekosistem, Bandung, 20 Sept 2011.
- Yasmin F, Othman R, Sijam K, Saad MS (2009) Characterization of beneficial properties of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from sweet potato rhizosphere. African Journal of Microbiology Research. 3: 815 – 821