

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGHASIL IAA (INDOLE ACETIC ACID) DARI RHIZOSFER TANAMAN KARET (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.)

*Isolation and Characterization of IAA (Indole Acetic Acid) Producing Bacteria from Rhizosphere of Rubber Plant (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.)*

Vera Hosianna HUTAPEA^{1*}, SURANTO², dan Umi HIDAYATI³

¹Biologi, FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta
Jalan Ir. Sutami No.36, Kentingan, Jebres, Surakarta 57126 Jawa Tengah

²Biologi, FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta,
Jalan Ir. Sutami No. 36, Kentingan, Jebres, Surakarta 57126 Jawa Tengah

³Unit Riset Bogor-Getas
Jalan Pattimuta KM 6, Salatiga 50702 Jawa Tengah

*Email: verahutapca.13@student.uns.ac.id

Diterima: 30 Mei 2023 / Disetujui: 25 Maret 2024

Abstract

Indole Acetic Acid (IAA) is a hormone that is important to stimulate the growth of plant roots. This study aimed to obtain bacteria from the soil around the roots of rubber plants that were able to produce IAA hormone. The bacteria were obtained from soil around the roots of the rubber factory then tested for hypersensitivity response (HR), germination and growth tests, and selected isolates were characterized. As a result of the isolation, 30 different bacterial isolates were obtained, consisting of 9 pathogenic bacteria and 21 non-pathogenic bacteria. Selection of the ability to produce IAA showed the non-pathogenic isolates, only five isolates were able to produce IAA. The highest and lowest IAA producing isolate after 72 hours of incubation was B12 and B17 isolate, namely 37,379 ppm and 14,707 ppm respectively. However, assessment of the ability of selected isolates to produce IAA in their interactions with rubber plants needs to be tested.

Keywords: *bacteria; Hevea brasiliensis Müll. Arg.; IAA; isolation; rhizosphere*

Abstrak

Indole Acetic Acid (IAA) merupakan hormon yang penting untuk memacu pertumbuhan akar tanaman. Penelitian ini bertujuan memperoleh bakteri dari tanah sekitar perakaran tanaman karet yang mampu menghasilkan hormon IAA. Bakteri yang diisolasi dari tanah di sekitar perakaran tanaman karet kemudian di uji respons hipersensitifitas (HR), kemampuan berbiak serta tumbuh dan kemudian isolate terpilih dikarakterisasi. Hasil isolasi, diperoleh 30 isolate bakteri yang berbeda, yang terdiri dari 9 bakteri patogen dan 21 bakteri non-patogen. Seleksi kemampuan menghasilkan IAA menunjukkan bahwa dari isolate non patogen hanya lima isolate yang mampu menghasilkan IAA. Kemampuan menghasilkan IAA tertinggi dan terendah masing-masing isolate setelah inkubasi 72 jam adalah isolate B12 yakni sebesar 37,379 ppm dan isolate B17 sebesar 14,707 ppm. Bagaimanapun juga pengujian kemampuan isolate terseleksi menghasilkan IAA dalam interaksinya dengan tanaman karet perlu diuji.

Kata kunci: *bakteri; Hevea brasiliensis; indole acetic acid (IAA); isolasi; rhizosfer*

PENDAHULUAN

Pembibitan karet memerlukan bibit batang bawah yang berasal dari benih karet. Namun, benih karet tidak tersedia sepanjang tahun dan benih karet yang berkualitas hanya tersedia satu kali dalam setahun (Yousif *et al.*, 2013). Musim biji karet berlangsung pada bulan Februari-Maret di daerah selatan khatulistiwa (Pulau Jawa) dan pada bulan November-Desember di daerah utara khatulistiwa (Pulau Sumatra dan Kalimantan) (Ulya dkk., 2019). Biji karet yang terbatas menyebabkan ketersediaan bibit batang bawah yang unggul juga terbatas. Upaya untuk menghasilkan bibit batang bawah yang klonal, tersedia sepanjang waktu, dan dalam jumlah yang besar dapat dilakukan dengan teknik *microcutting*.

Microcutting merupakan teknik mikropropagasi tanaman dengan kultur *in vitro*. Dengan menggunakan teknik ini, akan didapatkan batang bawah yang klonal dan unggul untuk mendukung pertumbuhan batang atas tanaman karet, sehingga diharapkan dapat meningkatkan produktivitas karet (Haris *et al.*, 2010). Namun, pada teknik ini terdapat kendala yaitu akar sulit dan lambat tumbuh (Wei *et al.*, 2020). Oleh karena itu, diperlukan penambahan IAA secara eksogen yang diharapkan mampu meningkatkan pertumbuhan akar pada planlet.

Indole Acetic Acid (IAA) merupakan hormon kelompok auksin yang berperan dalam proses pembelahan, pembesaran, dan pemanjangan sel pada bagian meristem tumbuhan, salah satunya di daerah perakaran (Lambreacht *et al.*, 2000). IAA mampu memacu diferensiasi akar dalam perkembangannya membentuk rambut akar. Pada konsentrasi rendah, IAA mampu menstimulasi pemanjangan akar primer, sedangkan pada konsentrasi tinggi, IAA mampu menstimulasi pembentukan akar lateral dan akar adventif (Li *et al.*, 2009).

Tanaman mampu menghasilkan IAA sendiri, namun melalui jalur metabolisme yang panjang. Keterbatasan kemampuan tanaman dalam mensintesis IAA tersebut menyebabkan tanaman memerlukan tambahan fitohormon dari luar tubuh tanaman yang dapat digunakan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman secara cepat. Salah satu alternatif yang dapat dimanfaatkan untuk memperoleh IAA secara eksogen adalah dengan memanfaatkan bakteri rhizosfer (Pal *et al.*, 2019).

Beberapa spesies bakteri rhizosfer telah diteliti dan beberapa di antaranya memiliki kemampuan dalam mendegradasi bahan organik dan menghasilkan fitohormon yang meningkatkan pertumbuhan tanaman. Butarbutar dkk. (2018), melaporkan bahwa bakteri dari genus *Bacillus* berpotensi sebagai *biofertilizer* dan juga *biocontrol*. Bakteri ini memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat, memproduksi hormon IAA, dan memproduksi *siderophore* yang mampu meningkatkan pertahanan tanaman. Selain itu, bakteri dari genus *Pseudomonas* juga dilaporkan dapat menghasilkan IAA dan melarutkan fosfat dengan baik (Astuti, 2007). Pada penelitian Hidayati (2014), planlet bibit karet yang telah diinokulasi dengan bakteri endofit *B. paraconglomeratum* LDP74 mampu meningkatkan panjang akar 6 cm setelah 3 minggu, sedangkan planlet kontrol tidak mengalami pertumbuhan akar.

Perkebunan karet yang memiliki areal yang luas, memiliki tanaman dengan daya adaptasi yang tinggi, dan memiliki klon-klon unggul. Dengan adanya hal tersebut, diperkirakan rhizosfer tanaman karet mampu menyimpan berbagai mikroorganisme yang potensial. Oleh karena itu, eksplorasi bakteri rhizosfer tanaman karet dilakukan untuk memperoleh bakteri yang mampu menghasilkan IAA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-September 2022 di Laboratorium Proteksi Tanaman Unit Riset Bogor-Getas dan Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret. Bahan yang digunakan yaitu tanah di sekitar rhizosfer tanaman karet, aquades steril, alkohol 70%, alkohol 96%, media NA "HIMEDIA", media NB "HIMEDIA", media TSIA "HIMEDIA", L-triptofan "Merck", IAA "Merck", kertas label, aluminium foil, *plastic wrap*, kasa steril, kapas, larutan *Crystal Violet* "Merck", korek api, larutan Iodine "Merck", larutan Safranin "Merck", tanaman tembakau umur 3 bulan, isolate *Xanthomonas campestris*, H₂O₂ 10%, reagen Kovac "Merck", kertas saring whatman, benih padi, NaOCl 5,25 %, dan reagen Salkowski. Alat yang digunakan yaitu autoklaf, gelas beaker, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, pipet tetes, LAF (*Laminar Air Flow*), BSC (*Biological Safety Cabinet*), gelas ukur, cawan Petri, neraca analitik, labu erlenmeyer, batang pengaduk, *vortex mixer*, *centrifuge*, bunsen burner, jarum ose, *incubator shaker*, spektrofotometer *uv-vis*, *cuvet*, gelas benda, penjepit tabung reaksi, penggaris, *tally sheet*, *disposable syringe* "OneMed" 1 ml, pensil, mikroskop cahaya, micropipet, dan cangkuk. Penelitian ini menggunakan jenis rancangan penelitian kuantitatif dan penelitian kualitatif. Penelitian kuantitatif dilakukan dengan metode skoring pada uji daya kecambah dan pertumbuhan, kemudian untuk uji kemampuan menghasilkan IAA lima isolate bakteri terpilih dianalisis menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 530 nm. Sedangkan penelitian kualitatif dengan metode eksplorasi pada pengambilan sampel dari tanah dan metode deskripsi pada uji respons hipersensitif (HR) dan karakterisasi lima isolate bakteri terpilih.

Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil di kebun karet Unit Riset Bogor-Getas dengan titik lokasi pada 7°16'12.0"S 110°30'53.4"E. Lima pohon dengan perawakan batang besar dari

klon RRIC 100 dipilih, dengan jarak 2 pohon untuk setiap titiknya. Sampel tanah diambil dari tanah yang menempel di akar, pada kedalaman batas galian 20 cm di titik tajuk terluar setiap pohon (Gardner *et al.*, 2011). Tanah yang diperoleh kemudian diencerkan dan suspensinya diisolasi pada media NA. Isolate bakteri yang berhasil diisolasi kemudian dimurnikan.

Uji Respons Hipersensitif (HR Test)

Uji ini dilakukan untuk mengetahui bakteri hasil isolasi dari sekitar perakaran tanaman karet bersifat patogen atau non-patogen. Bakteri patogen *Xanthomonas campestris* digunakan sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif. Suspensi bakteri rhizosfer sebanyak 1 ml diinfiltrasikan ke bagian abaksial lamina tembakau sehat berumur 3 bulan dengan *disposable syringe* 1 ml tanpa jarum sebanyak tiga kali ulangan. Pengamatan dilakukan 48 jam setelah perlakuan untuk melihat gejala yang dihasilkan, seperti nekrosis atau muncul bercak coklat pada daun tembakau yang menandakan isolate bersifat patogen (Zhang *et al.*, 2019).

Uji Daya Kecambah dan Pertumbuhan

Bakteri non-patogen dari hasil uji HR kemudian diuji kemampuannya meningkatkan daya kecambah dan pertumbuhan benih padi dengan menggunakan rancangan penelitian kuantitatif. Benih padi sebanyak 20 benih yang telah disterilisasi permukaan, direndam dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan suspensi isolate bakteri atau aquades steril sebagai kontrol. Perendaman benih dalam suspensi bakteri dilakukan untuk meningkatkan interaksi antara benih dengan bakteri dan memungkinkan terjadinya penyerapan IAA secara maksimal oleh benih (Krol *et al.*, 2014). Masing-masing isolate bakteri yang diuji dan kontrol diulang 3 kali dan diinkubasi selama 6 jam. Benih kemudian disemai di botol kultur yang sudah dilapisi kertas saring steril dan telah diberi aquades steril untuk menjaga kelembaban (Davies *et al.*, 2015). Pengamatan daya kecambah benih padi

dilakukan pada 2 HST, sedangkan pertumbuhan diamati pada 5 HST dengan mengukur panjang trubus dan akar (Liwarska-Bizukojc, 2022). Data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan metode skoring. Semua hasil di setiap perlakuan, disusun dari nilai terendah hingga tertinggi dan ditentukan kelasnya untuk memperoleh skor berdasarkan sebaran kelas yang diperoleh.

Uji Kemampuan Penghasil IAA dari Lima (5) Bakteri Terpilih

Lima isolate bakteri terpilih masing-masing diinokulasi pada 100 ml media NB+L-Triptofan selama 72 jam di *incubator shaker* dengan kecepatan 120 rpm. Setiap 24 jam selama total 72 jam inkubasi, dilakukan analisis kemampuan menghasilkan IAA dengan mengambil 10 ml inokulum lalu disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 4°C. Supernatan yang terbentuk diambil 2 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilapisi aluminium foil dan ditambahkan 1 ml larutan *Salkowski* lalu diinkubasi selama 2 jam pada ruangan gelap (Rini dkk., 2020). Pengujian kadar IAA yang dihasilkan bakteri dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 530 nm. Hasil pengukuran dibandingkan dengan kurva standar IAA konsentrasi 0, 5, 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm (Hidayati, 2014).

Karakterisasi Lima (5) Bakteri Rhizosfer Terpilih

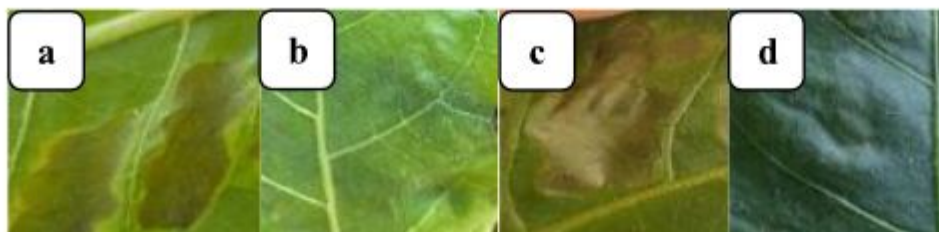
Lima isolate bakteri terpilih dikarakterisasi karakter morfologi yang meliputi warna koloni, bentuk koloni dan sel, tepian koloni, dan elevasi koloni. Selain itu, juga dilakukan uji pewarnaan Gram, uji

kebutuhan oksigen, uji motilitas, uji katalase, uji indol, dan uji TSIA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri dan Uji Respons Hipersensitif (HR)

Hasil isolasi bakteri dari rhizosfer tanaman karet di Unit Riset Bogor-Getas dengan media NA diperoleh 30 isolate dengan kenampakan morfologi yang berbeda. Isolate bakteri yang diperoleh kemudian dimurnikan. Isolate yang diperoleh diberi kode dengan awalan "B" kemudian diikuti dengan angka, yaitu B1 hingga B30. Sebanyak 30 isolate bakteri yang telah berhasil diisolasi, dilakukan uji Respons Hipersensitif dan hasilnya diperoleh 9 bakteri bersifat patogen dan 21 bakteri bersifat non-patogen setelah inkubasi selama 48 jam. Bakteri patogen ditandai dengan adanya respons nekrosis pada daun yang telah diinfiltrasikan suspensi bakteri. Sebaliknya, bakteri non-patogen ditandai dengan tidak adanya nekrosis pada daun yang telah diinfiltrasikan suspensi bakteri (Gambar 1). Respons hipersensitifitas berupa nekrosis yang dihasilkan tanaman merupakan reaksi cepat tanaman dalam mempertahankan jaringan dari patogen pada daerah yang diinfiltrasikan suspensi bakteri. Reaksi pertahanan yang dilakukan tanaman untuk melawan serangan patogen yaitu dengan mematikan jaringan tubuhnya yang terserang sehingga patogen tidak dapat menyerang jaringan tubuh tanaman yang lain (Klement and Goodman, 1967). Jaringan yang mati (nekrosis) mengalami perubahan warna dari hijau menjadi kecoklatan pada daun.



Gambar 1. Respons Hipersensitif, (a) daun tembakau yang menunjukkan respons positif dengan adanya nekrosis pada kontrol positif menggunakan *Xanthomonas campestris*, (b) daun tembakau yang menunjukkan respons negatif dengan tidak adanya perubahan warna pada kontrol negatif menggunakan aquades steril, (c) reaksi HR positif dengan adanya nekrosis pada daun tembakau dari bakteri patogen B1, dan (d) reaksi HR negatif dengan tidak adanya nekrosis pada daun tembakau dari bakteri non-patogen B4

Figure 1. The results of the hypersensitive response test, (a) tobacco leaves showing a positive response in the presence of necrosis in the positive control using *Xanthomonas campestris*, and (b) tobacco leaves showing a negative response in the absence of color change in the negative control using sterile distilled water, © positive HR reaction in the presence of necrosis on tobacco leaves from pathogenic bacteria B1, and (d) negative HR reaction in the absence of necrosis on tobacco leaves from non-pathogenic bacteria B4

Isolate dengan kode B1, B2, B15, B16, dan B25, pada daun tembakau sudah mengalami perubahan warna setelah inkubasi 24 jam. Sedangkan isolate dengan kode B8, B10, B13, dan B28, pada daun tembakau mengalami perubahan warna pada pengamatan 48 jam. Hal ini menunjukkan bahwa isolate bakteri dengan kode B1, B2, B15, B16, dan B25 memiliki tingkat patogenisitas yang lebih tinggi dibandingkan isolate bakteri dengan kode B8, B10, B13, dan B28. Hal ini sesuai dengan penelitian Khaeruni dkk. (2008), yaitu bakteri dengan waktu inkubasi yang lebih singkat memiliki tingkat patogenitas yang lebih tinggi dibandingkan bakteri dengan waktu inkubasi yang lebih panjang.

Daya Kecambah dan Pertumbuhan

Berdasarkan perhitungan sebaran kelas, didapatkan 5 kelas, sehingga pada setiap parameter pengujian memiliki 5 tingkatan skor. Dari penjumlahan semua skor pada setiap parameter didapatkan isolate B12 yang menunjukkan jumlah skor tertinggi dan isolate B30 menunjukkan

jumlah skor terendah. Berdasarkan hasil pengujian daya kecambah dan pertumbuhan benih padi, dipilih lima isolate dengan jumlah skor tertinggi, yaitu isolate B12, B14, B29 dengan skor 15, dan isolate B11 dan B17 dengan skor 14. Selain karena memiliki skor tertinggi, kelima isolate juga menghasilkan rata-rata panjang akar yang tinggi. Diharapkan isolate ini nantinya dapat menunjang pertumbuhan bibit batang bawah tanaman karet karena mempunyai kemampuan menyerap hara yang lebih tinggi (Sukmawati *et al.*, 2021).

Kemampuan menghasilkan IAA dari Lima (5) Bakteri Terpilih

Supernatan bakteri yang telah ditambahkan dengan reagen Salkowski mengalami perubahan warna dari kekuningan menjadi merah muda dengan tingkat kepekatan warna yang berbeda (Gambar 2). Perubahan warna yang terjadi karena adanya reaksi antara FeCl_3 dan HClO_4 dari reagen Salkowski dengan IAA yang terkandung dalam supernatan sehingga membentuk senyawa kompleks

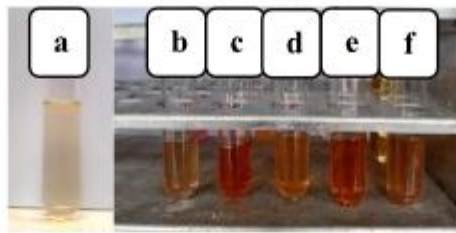
Tabel 1. Persentase daya kecambah, rata-rata panjang akar, rata-rata panjang trubus, dan skor masing-masing parameter pada benih padi yang telah diinokulasi bakteri rhizosfer dan kontrol

Table 1. Observation data on the percentage of germination, average root length, average shoot length, and scores of each parameter on rice seeds that have been incubated with rhizosphere bacteria and control

No.	Kode Bakteri	Persentase Daya Kecambah Benih Padi (%)	Skor	Rata-Rata Panjang Akar (cm)	Skor	Rata-Rata Panjang Trubus (cm)	Skor	Jumlah Skor
1.	B12	97	5	7,6	5	2,8	5	15
2.	B14	100	5	6,7	5	2,8	5	15
3.	B29	95	5	7,0	5	2,5	5	15
4.	B11	95	5	6,4	5	2,3	4	14
5.	B17	95	5	5,9	4	2,4	5	14
6.	B27	95	5	4,3	3	2,5	5	13
7.	B9	100	5	6,2	5	1,9	3	13
8.	B18	98	5	5,2	4	1,7	2	11
9.	B26	97	5	5,5	4	1,7	2	11
10.	B6	95	5	4,6	3	1,6	2	10
11.	B19	100	5	4,5	3	1,8	2	10
12.	B22	100	5	4,8	3	1,6	2	10
13.	B23	95	5	5,2	4	1,3	1	10
14.	B24	95	5	5,3	4	1,3	1	10
15.	B3	95	5	4,0	2	1,8	2	9
16.	B4	100	5	3,7	2	1,6	2	9
17.	B5	98	5	3,9	2	1,6	2	9
18.	B7	97	5	4,7	3	1,4	1	9
19.	B20	98	5	4,6	3	1,3	1	9
20.	B21	93	4	5,2	4	1,2	1	9
21.	B30	93	4	5,0	3	1,8	2	9
22.	Kontrol	78	1	2,0	1	1,6	2	4

tris-(indole-3-acetato) iron (III). Adanya perubahan warna menandakan bahwa isolate bakteri mampu memetabolisme L-triptofan menjadi IAA. Semakin pekat

perubahan warna merah, menandakan semakin tinggi kadar IAA yang dihasilkan bakteri (Coronado *et al.*, 2014).

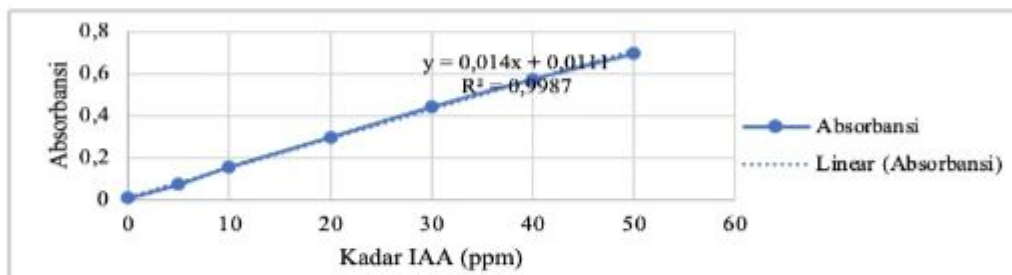


Gambar 2. Perubahan warna pada supernatan sampel bakteri setelah penambahan reagen Salkowski, (a) kontrol, (b) isolate B17, (c) isolate B12, (d) isolate B29, (e) isolate B14, dan (f) isolate B11

Figure 2. Color change in the bacterial sample supernatant after adding Salkowski reagent, (a) control, (b) isolate B17, (c) isolate B12, (d) isolate B29, (e) isolate B14, and (f) isolate B11

Perhitungan kadar IAA pada supernatan yang dihasilkan bakteri terpilih ditentukan dengan membandingkan hasil absorbansi dengan kurva standar IAA (Goswami *et al.*, 2015). Kurva standar IAA dibuat untuk memperoleh persamaan yang

akan digunakan untuk perhitungan kadar IAA. Kurva standar yang dihasilkan menunjukkan adanya hubungan antara kadar IAA (x) dengan absorbansinya (y) sehingga diperoleh persamaan $y = 0,014x + 0,0111$ (Gambar 3).



Gambar 3. Kurva Standar IAA
Figure 3. IAA Standard Curve

Persamaan yang diperoleh digunakan untuk mencari kadar IAA dari lima isolate bakteri terpilih. Peubah y pada persamaan diganti dengan hasil pengukuran absorbansi dari supernatan isolate bakteri terpilih pada masing-masing waktu pengamatan 0, 24, 48, 72 jam. Hasil x yang diperoleh merupakan kadar IAA yang dihasilkan oleh isolate bakteri terpilih.

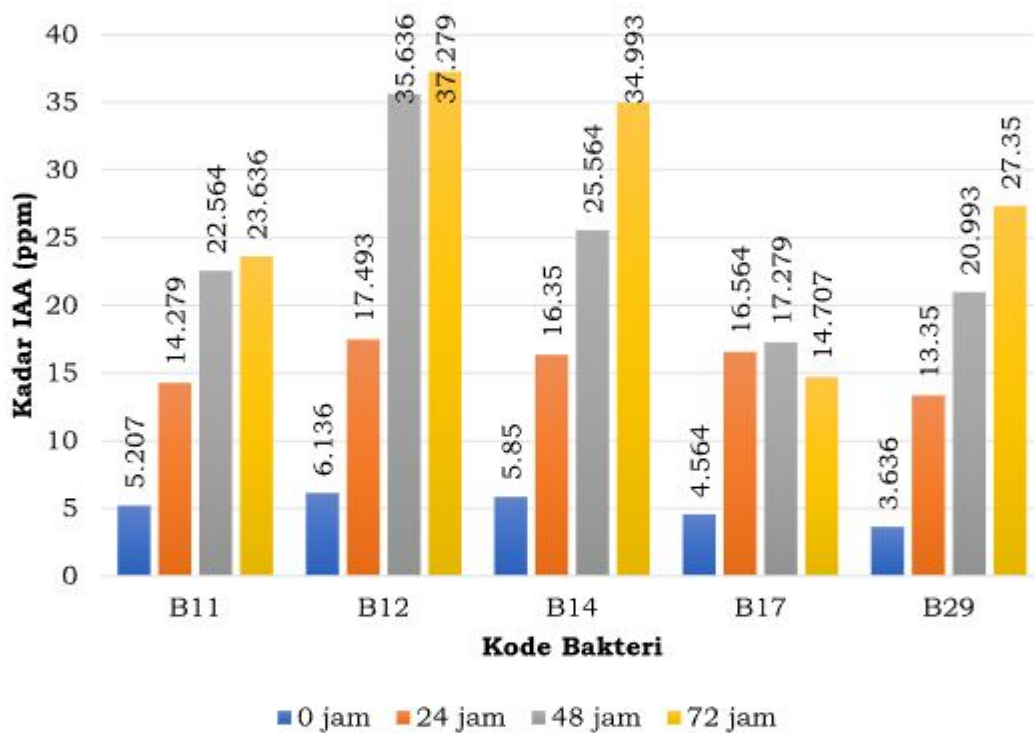
Hasil pengukuran kadar IAA yang diperoleh dari setiap isolate bakteri terpilih menghasilkan kadar yang bervariasi pada setiap waktu inkubasi (Gambar 4). Isolate bakteri B12 memiliki laju menghasilkan IAA tertinggi pada inkubasi 48 jam sebesar 18,143 ppm dan menghasilkan IAA tertinggi pada inkubasi 72 jam yaitu 37,279 ppm, dibandingkan dengan 4 isolate bakteri yang lain. Isolate B11, B12, B14, dan B29

memiliki tren kenaikan yang sama namun masih menunjukkan adanya kenaikan dalam menghasilkan IAA pada inkubasi 72 jam, sehingga belum dapat ditemukan puncak produksi IAA. Sedangkan isolate bakteri B17 menunjukkan tren yang berbeda dari lainnya, dimana puncak produksi IAA terjadi pada waktu inkubasi 48 jam, dan setelah itu yakni pada inkubasi 72 jam IAA yang dihasilkan menurun.

Setiap isolate bakteri terpilih menghasilkan pola produksi IAA yang berbeda-beda. Pada isolate B11 dan B12, menunjukkan pola peningkatan produksi IAA yang tinggi pada pengamatan 0 hingga 48 jam. Sedangkan pada pengamatan ke-72 jam, pola peningkatan produksi IAA yang dihasilkan menurun dibandingkan dengan pengamatan sebelumnya. Namun, pada

isolate B12 kadar IAA yang diproduksi mengalami peningkatan yang lebih besar dibandingkan dengan isolate B11. Kemudian, pada isolate B14 dan B29 menunjukkan pola peningkatan produksi IAA yang tinggi pada pengamatan 0 hingga 72 jam. Namun, kadar IAA yang diproduksi isolate B14 lebih tinggi dibandingkan dengan isolate B29. Lalu, pada isolate B17, pola peningkatan produksi IAA pada pengamatan 0 hingga 24 jam, kemudian mengalami pola peningkatan yang rendah pada jam ke-48 dan mengalami pola penurunan pada jam ke-72.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, kadar IAA paling tinggi yang dapat dihasilkan sebagian besar isolate bakteri adalah pada pengamatan 72 jam. Kadar IAA yang dihasilkan pada pengamatan 72 jam berkisar antara 14,707 – 37,279 ppm. Menurut Rahma dkk. (2014), kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA dibagi menjadi tiga kelas, yaitu lemah ($n \leq 5$ ppm), sedang ($5 \text{ ppm} < n \leq 10$ ppm), dan kuat ($n > 10$ ppm). Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengamatan ke-72 jam, kelima isolate bakteri terpilih memiliki kemampuan yang kuat dalam menghasilkan IAA.



Gambar 4. Kadar IAA (ppm) dari isolate bakteri terpilih pada inkubasi 0, 24, 48, dan 72 jam

Figure 4. IAA levels (ppm) of selected bacterial isolates at 0, 24, 48, and 72 hours of incubation

Berdasarkan peningkatan kadar IAA terbesar yang dihasilkan, setiap isolate bakteri terpilih memiliki waktu inkubasi terbaik yang berbeda-beda. Waktu inkubasi terbaik dipilih berdasarkan kemampuan isolate bakteri dalam menghasilkan peningkatan kadar IAA terbesar diwaktu paling cepat. Pada isolate B11, waktu inkubasi paling baik adalah 24 jam dengan peningkatan kadar IAA sebesar 9,072 ppm. Pada isolate B12 waktu paling baik adalah

inkubasi 48 jam dengan peningkatan kadar IAA sebesar 18,143 ppm. Pada isolate B14, waktu paling baik adalah inkubasi 24 jam dengan peningkatan kadar IAA sebesar 10,500 ppm. Pada isolate B17, waktu inkubasi paling baik adalah 24 jam dengan peningkatan kadar IAA sebesar 12 ppm. Pada isolate B29, waktu inkubasi paling baik adalah 24 jam dengan peningkatan kadar IAA sebesar 9,714 ppm. Berdasarkan hasil tersebut, isolate B12 merupakan bakteri

yang menghasilkan peningkatan kadar IAA terbesar yaitu 18,143 ppm pada inkubasi 48 jam.

Isolate bakteri B12 menghasilkan IAA yang tertinggi yaitu 37,279 ppm yang berada dalam *range* IAA yang dihasilkan dari 5 (lima) bakteri endofit pada penelitian Hidayati (2014) yaitu 28,167 – 119 ppm. Isolate bakteri B12 masih dapat meningkatkan hasil IAA nya dengan penambahan waktu inkubasi, hal ini dapat ditunjukkan bahwa waktu inkubasi 72 jam belum puncak dari produksi IAA.

Karakterisasi dari 5 (lima) Isolate Bakteri Terpilih

Karakterisasi yang dilakukan untuk 5 (lima) isolate bakteri meliputi karakter morfologi dan karakter biokimia. Karakter morfologi meliputi antara lain yaitu : (1) warna, (2) bentuk, (3) elevasi, (4) tepian, (5) bentuk sel, dan (6) pewarnaan Gram. Sedangkan karakter biokimia dan fisiologi meliputi antara lain yaitu (1) kebutuhan oksigen, (2) motilitas, (3) katalase, (4) uji indol, dan (5) TSIA. Data yang diperoleh seperti pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil pengamatan karakter lima bakteri terpilih
Table 2. The results of observing the characters of the five selected bacteria

Karakter	Isolate				
	B11	B12	B14	B17	B29
Morfologi koloni					
Warna koloni	Putih mengkilat	Putih mengkilat	Putih mengkilat	Putih mengkilat	Putih kering
Bentuk koloni	Tidak beraturan	Bundar	Bundar	Tidak beraturan	Tidak beraturan
Elevasi koloni	Sedikit cembung	Cembung	Sedikit Cembung	Cembung	Datar
Tepian koloni	Berombak	Rata	Berombak	Berombak	Berombak
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang	Batang	Bulat
Pewarnaan Gram	+	-	-	+	+
Kebutuhan oksigen	Anaerob	Anaerob	Anaerob	Anaerob	Aerob
Motilitas	+	+	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+	+
TSIA	K/K	M/M	M/K	K/K	M/K




































Keterangan:

M/M : permukaan media merah/media bawah merah

K/K : permukaan media kuning/media bawah kuning

M/K : permukaan media merah/media bawah kuning

Tabel 3. Gambar hasil pengamatan karakter lima bakteri terpilih
 Table 3. Pictures of the observations of the five selected bacterial characters

Karakter	Isolate				
	B11	B12	B14	B17	B29
Morfologi koloni					
Morfologi sel					
Kebutuhan oksigen					
Motilitas					
Katalase					
Indol					
TSIA					

Berdasarkan pengamatan karakter morfologi, semua koloni berwarna putih dengan permukaan mengkilat kecuali isolate B29 yang berwarna putih dengan permukaan kering. Bentuk koloni isolate B12 dan B14 bundar, sedangkan isolate B11, B29, dan B17 tidak beraturan. Elevasi koloni isolate B12 dan B17 cembung, B11 dan B14 sedikit cembung, dan B29 datar. Tepian koloni semua koloni berombak, kecuali isolate B12 yang rata. Semua isolate memiliki bentuk sel batang, kecuali isolate B29 memiliki bentuk sel bulat. Hasil dari pengujian pewarnaan Gram, didapatkan isolate B12 dan B14 merupakan bakteri Gram negatif karena menghasilkan warna merah setelah pengujian. Sedangkan isolate B11, B29, dan B17 merupakan bakteri Gram positif karena menghasilkan warna ungu kebiruan setelah pengujian. Bakteri penghasil IAA bisa merupakan bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif, Hal ini seperti hasil penelitian (Hidayati, 2014) memperoleh 2 (dua) bakteri endofit Gram positif dan 3 (tiga) bakteri endofit Gram negatif.

Uji kebutuhan oksigen bertujuan untuk melihat sifat respirasi bakteri, baik aerob, anaerob, ataupun anaerob fakultatif. Koloni bakteri yang berada di bagian dasar media merupakan bakteri anaerob, berada di bagian tengah media merupakan bakteri anaerob fakultatif, sedangkan yang tumbuh di bagian atas merupakan bakteri aerob (Talaickhozani *et al.*, 2015). Berdasarkan pengamatan, isolate bakteri B11, B12, B14, dan B17 memiliki sifat respirasi anaerob, sedangkan isolate B29 memiliki sifat respirasi aerob. Isolate bakteri yang diperoleh yang memiliki sifat aerob dan anaerob dapat menghasilkan IAA. Isolate bakteri B29 yang bersifat aerob seperti hasil penelitian Hidayati (2014) yang memperoleh 5 (lima) bakteri endofit yang bersifat aerob dan mampu menghasilkan IAA.

Uji motilitas memiliki tujuan untuk mengamati pergerakan bakteri. Pergerakan bakteri dapat disebabkan karena adanya flagel (gerak aktif). Hasil positif dapat dilihat dari adanya pertumbuhan melebar pada bekas tusukan isolate di media

(Talaickhozani *et al.*, 2015). Berdasarkan pengamatan, semua isolate bakteri terpilih memiliki pertumbuhan melebar di sekitar bekas tusukan sehingga semua bakteri terpilih bersifat motil.

Uji katalase bertujuan untuk mengamati kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah Hidrogen Peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara di sekitar isolate setelah penambahan H_2O_2 (Talaickhozani *et al.*, 2015). Semua isolate bakteri terpilih menghasilkan gelembung udara setelah perlakuan sehingga semua bakteri terpilih mampu menghasilkan enzim katalase. Bakteri endofit penghasil IAA menunjukkan hasil katalase positif yang artinya menghasilkan enzim katalase, seperti hasil penelitian Hidayati (2014) menunjukkan 5 (lima) bakteri endofit yang diperoleh menunjukkan katalase positif.

Uji indol bertujuan untuk menunjukkan bahwa bakteri mengandung enzim triptofanase yang merupakan katalis pengurai gugus indol yang terkandung dalam asam amino triptofan. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna reagen Kovac menjadi merah setelah ditambahkan ke isolate bakteri (Talaickhozani *et al.*, 2015). Berdasarkan pengamatan, semua isolate bakteri terpilih menghasilkan warna merah setelah penambahan reagen Kovac, sehingga semua isolate bakteri mengandung enzim triptofanase. Uji Indol dapat digunakan sebagai karakterisasi awal secara kualitatif yang menunjukkan kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA. Hasil penelitian menunjukkan 5 (lima) isolate bakteri yang diperoleh memberikan hasil uji indol positif.

Uji TSIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan karbohidrat (glukosa, sukrosa, dan laktosa) (Talaickhozani *et al.*, 2015). Berdasarkan pengamatan pada media, isolate B12 tidak menyebabkan perubahan warna, sehingga isolate B12 tidak memiliki kemampuan memfermentasikan karbohidrat. Sedangkan isolate B11 dan B17, bagian permukaan

media dan media bagian bawah berwarna kuning, menunjukkan terjadinya fermentasi laktosa dan sukrosa. Kemudian pengamatan pada media isolate B14 dan B29, bagian permukaan media berwarna merah dan media bagian bawah berwarna kuning, menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa. Isolate bakteri B11, B14, B17, dan B29 menunjukkan hasil positif pada pengujian TSIA berarti mempunyai kemampuan dalam memfermentasikan karbohidrat, hal ini seperti hasil penelitian Rini *et. al.* (2020) yang memperoleh 10 bakteri penghasil IAA yang menunjukkan hasil uji TSIA positif.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil isolasi bakteri dari tanah sekitaran tanaman karet, diperoleh 5 (lima) isolate bakteri dengan kode B11, B12, B14, B17, dan B29 yang mampu menghasilkan IAA. Dari lima bakteri terpilih tersebut diperoleh 3 (tiga) isolate bakteri penghasil IAA tertinggi yaitu isolate B12, B14, dan B29.

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek pemberian isolate pada planlet hasil *microcutting* tanaman karet pada tahap induksi akar. Isolate bakteri terpilih dapat dijadikan inokulan sebagai PGPR untuk meningkatkan pertumbuhan akar tanaman. Selain itu, perlu dilakukan inkubasi lebih dari 72 jam untuk melihat adanya peningkatan/penurunan kadar IAA pada isolate B12, B14, dan B29.

DAFTAR PUSTAKA

Astuti, R. P. 2007. Rhizobakteria *Bacillus* sp Asal Tanah Rhizosfer Kedelai yang Berpotensi Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman. Thesis: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor : IPB.

Butarbutar, R., H. Marwan, dan S. Mulyati. 2018. Eksplorasi *Bacillus* spp. dari Rhizosfer Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis*) dan Potensinya Sebagai Agens Hayati Jamur Akar Putih (*Rigidoporus* sp.). *Jurnal Agroecotania*. 1(2):31-41.

Coronado, R.A.F. F. R. Q. Figueroa, L. M. G. Perez, E. R. Chavez, J. M. Torres, and I. E. M. Mendoza. 2014. IAA-Producing Rhizobacteria from Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Induce Change in Root Architecture and Increase Root Biomass. *Canadian Journal of Microbiology*. 60(10):639-648.

Davies, R., A. Di Sacco, and R. Newton. 2015. Germination Testing: Procedures and Evaluation. *Royal Botanic Garden*. 1-4.

Dirjenbun. 2022. Statistik Perkebunan Unggulan Nasional 2020-2022. Jakarta: Direktorat Jenderal Perkebunan.

Gardner, T., V. Acosta-Martinez, Z. Senwo, and S. E. Dowd. 2011. Soil Rhizosphere Microbial Communities and Enzyme Activities Under Organic Farming in Alabama. *Diversity*. 3(3):308-328.

Goswami, D., J. N. Thakker, and P. C. Dhandhukia. 2015. Simultaneous Detection and Qualification of Indole-3-Acetic Acid (IAA) and Indole-3-Butyric Acid (IBA) Production by Rhizobacteria from L-Tryptophan (Trp) Using HPTLC. *Journal of Microbiological Methods*. 110:7-14.

Haris, N., Sumaryono, Siswanto, Sumarmadji, and C. Marc-Pillippe. 2010. Microcutting of Hevea Rubber Genotype 78 and 91. *China Agriculture Press*. pp. 311-316.

- Hidayati, U. 2014. Potensi Bakteri Endofit Asal Tanaman Karet Sebagai Pemacu Petumbuhan Bibit Batang Bawah Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.). *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor (IPB).
- Khacruni, A. R., B. Tjahjono, A. Suwanto, dan M. S. Sinaga. 2008. Virulensi Sejumlah Isolate *Xanthomonas axonopodis* pv *glycines* Asal Edamame pada Tiga Varietas Kedelai. *Jurnal HPT Tropika*. 8(1):39-46.
- Klement, Z. and R. N. Goodman. 1967 The Hypersensitive Reaction on Infection by Bacterial Plant Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 5(1):17-44.
- Krol, P., J. Adamska, and E. Kepeczynska. 2014. Enhancement of *Festuca rubra* L. Germination and Seedling Growth by Seed Treatment with Pathogenic *Agrobacterium rhizogenes*. *Acta Physiologiae Plantarum*. 36:3263-3274.
- Lambreacht, M., Y. Okon, A. V. Brock, and J. Vanderleyden. 2000. Indole-3-Acetic Acid: a Reciprocal Signalling Molecule Bacteria-Plant Interaction. *Trends in Microbiology*. 8(7):298-300.
- Li, S. W. L. Xue, S. Xu, H. Feng, and L. An. 2009. Mediators, Genes, and Signaling in Adventitious Rooting. *The Botanical Review*. 75:230-247.
- Liwarska-Bizukojc. 2022. Phytotoxicity Assessment of Biodegradable and Non-Biodegradable Plastics Using Seed Germination and Early Growth Tests. *Chemosphere*. 289:1-8.
- Pal, A. K., S. Mandal, and C. Sengupta. 2019. Exploitation of IAA Producing PGPR on Mustard (*Brassica nigra* L.) Seedling Growth Under Cadmium Stress Condition in Comparison with Exogenous IAA Application. *Plant Science Today*. 6(1):22-30.
- Rahma, H., A. Zainal, M. Surahman, M. S. Sinaga, dan Giyanto. 2014. Potensi Bakteri Endofit dalam Menekan Penyakit Layu Stewart (*Pantoea Stewartii* subsp. *Stewartii*) pada Tanaman Jagung. *Jurnal HPT Tropika*. 14(2):121-137.
- Rini, I. A., I. Oktaviani, M. Asril, R. Agustin, dan F. K. Frima. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil IAA (Indole Acetic Acid) dari Rhizosfer Tanaman Akasia (*Acacia mangium*). *Agro Bali: Agricultural Journal*. 3(2):210-219.
- Suknawati, S., A. Adnyana, D. N. Suprpta, M. Proborini, P. Soni, and P.G. Adinurani. 2021. Multiplication Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Corn (*Zea mays* L.) with Pots Culture at Greenhouse. *E3S Web of Conferences*. 226:1-10.
- Talaiekhosani, A. S. Alace, and M. Ponraj. 2015. Guidelines for Quick Application of Biochemical Test to Identify Unknown Bacteria. *Account of Biotechnology Research*. 2(2):65-82.
- Ulya, T. H., R. Rogomulyo, dan L. Admojo. 2019. Pengaruh Konsentrasi IBA Terhadap Pertumbuhan Akar Dua Fase Warna Batang pada Stek Batang Bawah Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Jurnal Penelitian Karet*. 37(2):151-162.

- Wei, X., J. Chen, C. Zhang, H. Liu, X. Zheng, and J. Mu. 2020. Ericoid Mycorrhizal Fungus Enhances Microcutting Rooting of *Rhododendron fortunei* and Subsequent Growth. *Horticulture Research*. 7:1-11.
- Yousif, E., B. Abdullah, H. Ibraheem, J. Salimon, and N. Salih. 2013. Rubber Seed Oil Properties, Authentication, and Quality Assessment Using (Chloroform: Methanol) as Solvent. *Journal of Al-Nahrain University*. 16(3):1-6.
- Zhang, C., H. Chen, R.R. Zhuang, Y. T. Chen, Y. Deng, T. C. Cai, S. Y. Wang, Q. Z. Liu, R. H. Tang, S. H. Shan, R. L. Pan, L. S. Chen, and W. J. Zhuang. 2019. Overexpression of The Peanut *CLAVATA1*-like Leucine-Rich Repeat Receptor-Like Kinase *AhRLK1* Confers Increased Resistance to Bacterial with in Tobacco. *Journal of Experimental Botany*. 70(19):5407-5421.