

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI RHIZOSFER DARI TANAMAN KACANG GUDE (*Cajanus cajan* L) SEBAGAI PENGHASIL HORMON IAA (*Indole Acetic Acid*) DAN APLIKASINYA PADA BENIH PADI (*Oryza sativa* L) [*Isolation and Identification of Rhizosphere Bacteria From Pigeon Peas (Cajanus cajan L) As The Producer Of IAA Hormone (Indole Acetic Acid) And Its Application On Rice Seeds (Oryza sativa L)*]

Gergonius Fallo^{1*}, Maria Sarliana Banusu¹, Lukas Pardosi¹, dan Anna Tefa²

¹Program Studi Biologi Fakultas Pertanian Universitas Timor Jalan Km. 09, Kelurahan Sasi, Kecamatan Kota Kefamenanu, Kabupaten Timor Tengah Utara, Provinsi Nusa Tenggara Timur

²Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Timor Jalan Km. 09, Kelurahan Sasi, Kecamatan kota Kefamenanu, Kabupaten Timor Tengah Utara, Provinsi Nusa Tenggara Timur

*Email: gergofallo@yahoo.com

ABSTRACT

Indole Acetic Acid (IAA) is a growth hormone that plays an important role on all plants in increasing their growth and development. The purpose of the research was to characterize rhizosphere bacteria from pigeon peas (*Cajanus cajan* L) as the producer of IAA and find out the effect of bacterial isolate towards rice seed germination (*Oryza sativa* L). Research started with taking a sample, isolating the bacteria on *Nutrient Agar* (NA) media. Furthermore the producing IAA bacteria was selected by growing it in *Nutrient Broth* (NB) media + tryptophan then was reacted with Salkowski reagent. The result of the isolation was obtained seven isolates with colony morphology characteristics in small and medium size, white colony, round, fibrous, irregular colony, and colony with flat, *umbonate*, *pulvinate*, and convex elevation. The result of the selection was obtained three isolates namely RTG-01, RTG-02 and RTG-03 which are producing IAA. The microscopic identification result of isolates RTG-01 and RTG-02 is Gram negative round shaped cell and of RTG-03 isolate is Gram positive bar shaped cell. Variety analysis results showed that the treatment of these producing IAA bacteria isolates did not have a significant effect ($p < 0.05$) on the potential for maximum growth, vigor index, and the dry weight of germinated seed but have a significant effect ($p > 0.05$) on the seed germination.

Keywords: PGPR, IAA, Rhizosphere, *Oryza sativa* L

ABSTRAK

Indole Acetic Acid (IAA) merupakan hormon tumbuh yang memegang peranan penting pada semua tanaman dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan. Tujuan penelitian yaitu untuk mengkarakterisasi bakteri rhizosfer penghasil IAA dari tanaman kacang gude (*Cajanus cajan* L) sebagai penghasil IAA dan mengetahui pengaruh isolat bakteri tersebut terhadap perkecambahan benih padi (*Oryza sativa* L). Penelitian diawali dengan pengambilan sampel, isolasi bakteri menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dan seleksi isolat bakteri penghasil IAA. Seleksi isolate bakteri penghasil IAA dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat bakteri pada media *Nutrient Broth* (NB) + triptofan dan direaksikan dengan reagen Salkowski. Hasil isolasi diperoleh tujuh isolat dengan karakter morfologi koloni berukuran kecil dan sedang, warna koloni putih, bentuk koloni bundar, berserabut, tidak teratur, elevasi koloni datar, *umbonate*, *pulvinate*, dan cembung. Tepi koloni rata, bergelombang dan berlekuk. Hasil seleksi didapatkan tiga isolat yaitu RTG-01, RTG-02 dan RTG-03 yang menghasilkan IAA. Hasil identifikasi mikroskopis isolat RTG-01 dan RTG-02 bentuk sel bulat Gram negatif dan isolat RTG-03 bentuk sel batang Gram positif. Isolat bakteri penghasil IAA diaplikasikan pada benih padi dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non factorial. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan ketiga isolat bakteri penghasil IAA tidak berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap potensi tumbuh maksimum, indeks vigor, dan berat kering kecambah normal padi, namun berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap daya berkecambah.

Kata Kunci: Neritidae, karakter, variasi morfologi, tingkat kesamaan

PENDAHULUAN

Rhizosfer merupakan tanah yang berada di sekitar akar tanaman yang secara langsung dipengaruhi oleh mikroba tanah dan eksudasi perakaran tanaman (Sukmadi, 2013). Mikroba yang berada disekitar rizosfer tanaman disebut sebagai rhizobakteria yang mempunyai kemampuan dalam memacu pertumbuhan tanaman atau *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) (Sutariati *et al.*, 2006).

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) merupakan bakteri yang mengkoloni perakaran tanaman dan bermanfaat serta menguntungkan

tanaman (Khalimi dan Wirya, 2009). Bakteri ini hidup dan berkembang dengan memanfaatkan eskuad yang dikeluarkan oleh perakaran tanaman. Peranan PGPR yaitu meningkatkan persediaan fosfat dan fiksasi nitrogen, mengendalikan berbagai patogen tanaman (Jiao *et al.*, 2021), dan sebagai pengendali biologi melalui kompetisi, produksi antibiotik, induksi resistensi tanaman (Tuhuteru *et al.*, 2019) serta memacu pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan fitohormon seperti *Indole Acetic Acid* (IAA) (Rini *et al.*, 2020).

Indole Acetic Acid (IAA) merupakan hormon tumbuh yang memegang peranan penting pada

*Kontributor Utama

*Diterima: 10 November 2022 - Diperbaiki: 14 April 2023 - Disetujui: 14 April 2023

semua tanaman dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan seperti berperan dalam pembelahan sel, perkecambahan biji, pemanjangan sel, pembentukan akar, dominasi apikal, pembungaan, absisi daun (Li *et al.*, 2018). Tanaman secara alamiah sudah menghasilkan hormon auksin yang disebut IAA endogen, namun hormon auksin juga dapat dihasilkan oleh organisme yaitu IAA eksogen (Astriana dan Murtiyarningsih, 2018). IAA eksogen yang dihasilkan oleh jenis mikroba tertentu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses pertumbuhan vegetatif dan reproduktif tanaman (Agustian *et al.*, 2010).

Rhizobacteria dikenal sebagai bakteri yang ada disekitar perakaran tanaman dapat menghasilkan hormon tanaman untuk merangsang pertumbuhan tanaman. Rhizobacteria seperti *Azospirillum*, *Azotobacter* sp dan *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. diketahui menghasilkan IAA. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa pemberian bakteri penghasil IAA *Bacillus* sp. berpengaruh secara nyata terhadap panjang akar benih cabai merah (Saputri *et al.*, 2020) dan pemberian isolat bakteri penghasil IAA berpengaruh pada peningkatan jumlah akar kacang hijau (Herlina *et al.*, 2016). Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakterisasi bakteri yang berada di rhizosfer tanaman kacang gude (*Cajanus cajan* L.) yang mampu menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA), serta mengetahui kemampuan isolat bakteri penghasil IAA dalam mempengaruhi perkecambahan benih padi (*Oryza sativa* L.).

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan yang digunakan

Pengambilan Sampel

Sampel tanah penelitian ini berasal dari pertanian/perkebunan di Desa Oekolo, Kecamatan Insana Utara, Kabupaten TTU. Sampel tanah yang digunakan adalah tanah rhizosfer yang berasal dari tanaman Kacang Gude. Sampel tanah diambil pada kedalaman \pm 5–10 cm di sekitar perakaran tanaman (Fallo *et al.*, 2015). Sampel tanah diambil sebanyak 500 gr kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik steril dan bawa ke laboratorium untuk isolasi bakteri.

Isolasi Bakteri Rhizosfer

Isolasi bakteri dengan metode pengenceran berseri menggunakan larutan NaCl fisiologis steril 0,85%. Sebanyak 10 gram sampel tanah ditambahkan 90 ml NaCl Fisiologis Steril dan dihomogenkan dengan *vorteks*. Pengambilan pertama ini dijadikan sebagai pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} untuk dilakukan pengenceran bertingkat sampai

pengenceran 10^{-6} . Pengenceran 10^{-3} – 10^{-6} diambil 0,1 ml dan disebar pada media *Nutrient Agar* (NA). Kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 24 jam (Pambudi *et al.*, 2016).

Seleksi Bakteri Penghasil IAA

Isolat bakteri yang telah diidentifikasi secara morfologi makroskopis, di ambil 1 ose dan di inokulasikan ke dalam media *Nutrien Broth + tryptopan* dan di inkubasi pada shaker selama 48 jam dengan kecepatan 100 rpm. Kultur isolat selanjutnya disentrifuse dengan kecepatan 4.000 rpm selama 12 menit. Sebanyak 2 ml supernatan ditambah reagen salkowski (pembuatan reagen salkowski 75 ml H₂SO₄, 125 ml aquades steril, 3,75 ml FeCl₃) sebanyak 0,5 ml (Larosa *et al.*, 2013). Campuran supernatan dan reagen salkowski di inkubasi selama 15 menit dalam kondisi gelap. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi merah muda yang mengindikasikan bahwa isolat mampu menghasilkan IAA (Patten dan Glick, 2002).

Kurva pertumbuhan Isolat

Isolat bakteri IAA dapat diinkubasi dalam waktu 1 x 24 jam pada media NA. Isolat yang sudah tumbuh di inokulasi ke media NB dan diinkubasi selama 3 hari. Media produksi kemudian diencerkan sebanyak 3 kali. Hasil pengenceran diambil sebanyak 0,1 ml dan diinokulasikan ke media PCA dan diukur kurva pertumbuhannya per 4 jam dari 0 jam sampai 40 jam (Pardosi *et al.*, 2022).

Identifikasi Makroskopis dan Mikroskopis

Pengamatan morfologi secara makroskopis dilakukan dengan mengamati secara langsung ciri-ciri koloni bakteri isolat meliputi: ukuran, warna, bentuk koloni, tepi koloni dan elevasi. Pengamatan morfologi mikroskopis dilakukan pewarnaan Gram. Jika Gram positif selnya berwarna biru atau ungu dan Gram negatif berwarna merah atau merah muda (Amaliah *et al.*, 2018).

Identifikasi Isolat secara Biokimia

Uji Katalase

Cara kerja dari uji katalase yaitu larutan H₂O₂ 3% ditetaskan pada obyek, kemudian suspensikan koloni bakteri dengan jarum ose (Kismiyati *et al.*, 2009).

Uji SCA (*Simmons Citrate Agar*)

Isolat di inokulasikan pada medium *Simmons Citrate Agar* dalam tabung secara vertikal, kemudian di inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dan di amati perubahan yang terjadi.

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Dilakukan dengan menumbuhkan biakan bakteri pada permukaan media TSIA miring dan diinkubasi selama 1 x 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan terhadap hasil uji. Hasil uji dengan warna medium kuning menandakan asam, warna medium menjadi lebih merah menandakan medium menjadi basa.

Uji Motilitas

Uji motilitas bertujuan untuk melihat pergerakan bakteri didalam media tumbuh. Biakan bakteri di ambil 1 ose secara aseptik dan di inokulasikan secara vertikal (tegak lurus) pada media NA dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Motilitas bakteri di tunjukan dengan adanya pertumbuhan pada permukaan medium dan tidak ada bekas pada tusukan atau menyebar (positif) sedangkan bakteri yang menunjukkan pada permukaan medium tumbuh pada tusukan berarti negatif (Panjaitan *et al.*, 2020).

Aplikasi Isolat Bakteri penghasil IAA pada Perkecambahan Benih Padi

Rancangan Percobaan

Aplikasi isolat bakteri penghasil IAA menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non factorial. Benih padi direndam sesuai perlakuan. Ada 4 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Keempat perlakuan sebagai berikut: A0: Aquades sebagai Kontrol, A1: Isolat RTG-01, A2: Isolat RTG-02, A3: Isolat RTG-03.

Persiapan suspensi isolat bakteri

Isolat yang berpotensi sebagai penghasil IAA diambil satu ose dan dimasukan kedalam 150 ml medium NB. Selanjutnya diinkubasi selama 28 jam pada shaker inkubator

Perendaman Benih Padi

Benih padi dibersihkan dengan akuades steril sebanyak empat kali kemudian diambil sebanyak 5 gr benih padi dan direndam dalam cawan petri yang berisi inokulan isolat dan diinkubasi pada suhu ruang selama satu malam.

Uji Perkecambahan Benih Padi

Uji perkecambahan benih dengan Metode Uji Di atas Kertas (UDK) dengan menanam benih pada kertas CD sebanyak 25 butir per ulangan. Setiap variabel diulang 3 kali sehingga terdapat 75 butir benih per variabel pengamatan.

Variabel Pengamatan

Dilakukan 7 hari setelah tanam terhadap viabilitas benih, yang meliputi

Potensi Tumbuh Maksimum (%) :

$$\frac{\sum \text{benih yang tumbuh}}{\sum \text{benih yang ditanam}} \times 100$$

Daya Kecambah (%) :

$$\frac{\sum \text{benih yang tumbuh normal pada hari ke 5 dan 7}}{\sum \text{benih yang ditanam}} \times 100$$

Indeks Vigor (%) :

$$\frac{\sum \text{benih yang tumbuh normal pada hari ke 5}}{\sum \text{benih yang ditanam}} \times 100$$

Berat Kering Kecambah Normal (BKKN)

Data BKKN diperoleh dengan menimbang benih yang tumbuh normal pada hari ke-7 yang dioven pada suhu 60°C selama 72 jam. Setelah dioven, benih dimasukkan dalam desikator selama kurang lebih 1 jam lalu dilakukan penimbangan.

Analisis Data

Data uji perkecambahan benih Uji Diatas Kertas (UDK) dianalisis dengan program *Statistical Analysis System* (SAS).

HASIL

Isolasi dan Identifikasi Makroskopis Koloni Bakteri

Hasil isolasi bakteri diperoleh tujuh isolat yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* (NA). ketujuh isolat bakteri diisolasi dari dari tanah disekitar perakaran tanaman kacang gude (*Cajanus cajan* L). Hasil identifikasi morfologi koloni menunjukkan bahwa ketujuh isolat memiliki karakter morfologi koloni yang berbeda. Perbedaan ini terlihat dari ukuran, warna, bentuk, elevasi dan tepi (Tabel 1).

Tabel 1. Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri Rhizosfer dari Kacang Gude (*Cajanus cajan* L.) (*Identification of Rhizosphere Bacterial Colony Morphology of Pigeon Peas (Cajanus cajan L.)*).

Kode Isolat (Code Isolate)	Karakter Morfologi Koloni (Colony Morphological Character)				
	Ukuran (Size)	Warna (Color)	Bentuk (Form)	Elevasi (Elevation)	Tepi (Edge)
RTG-01	Kecil	Putih	Bundar	Datar	Rata
RTG-02	Sedang	Putih	Berserabut	Umbunate	Bergelombang
RTG-03	Sedang	Putih	Tidak teratur	Umbunate	Bergelombang
RTG-04	Sedang	Putih	Tidak teratur	Pulvinate	Berlekuk
RTG-05	Kecil	Putih	Bundar	Datar	Rata
RTG-06	Sedang	Putih	Tidak teratur	Cembung	Bergelombang
RTG-07	Kecil	Putih	Bundar	Datar	Berlekuk

Seleksi Isolat Bakteri Penghasil IAA

Hasil seleksi ketujuh isolat bakteri didapatkan tiga isolat yang menghasilkan IAA. Ketiga isolat tersebut yaitu RTG-01, RTG-02 dan RTG-03. Isolat bakteri tersebut diketahui dapat menghasilkan IAA ketika isolat bakteri

ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB) dengan penambahan asam amino triptofan dan direaksikan dengan salkowski, sehingga setelah diinkubasi 15 menit pada larutan tersebut terjadi perubahan warna menjadi merah muda (Gambar 1). Hasil seleksi isolat penghasil IAA dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Seleksi Isolat Bakteri Penghasil IAA. (*Selection of IAA Producing Bacterial Isolates*).

Kode Isolat (Code Isolate)	Reaksi Warna (Color Reaction)
RTG-01	+
RTG-02	+
RTG-03	+
RTG-04	-
RTG-05	-
RTG-06	-
RTG-07	-

Keterangan:

(+) ada perubahan warna (menghasilkan IAA).

(-) tidak ada perubahan warna (tidak menghasilkan IAA).



Gambar 1. Perubahan warna media kultur bakteri menjadi merah muda setelah direaksikan dengan reagen salkowski. (*The color change of the bacterial isolate to pink after being reacted with Salkowski reagent*).

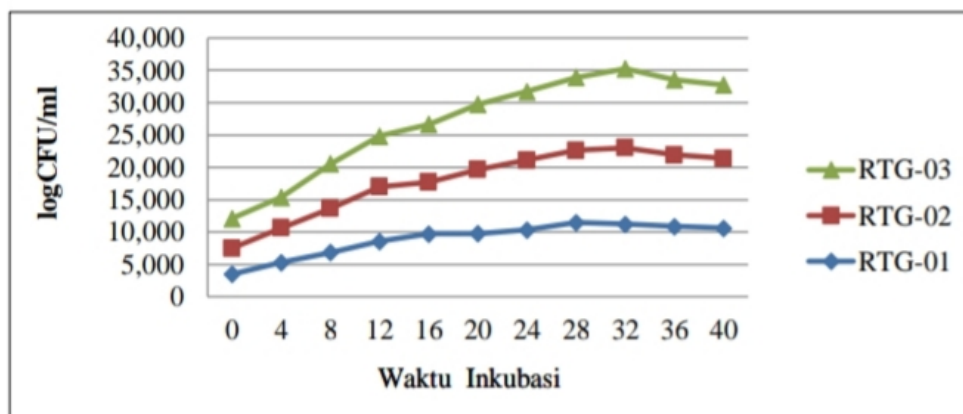
Pengukuran Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Penghasil IAA

Hasil Pengukuran Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Penghasil IAA di ketahui ada empat Fase Pertumbuhan Isolat Bakteri yaitu : Fase Lag 0–4 jam, Fase Eksponensial 4–28 jam, Fase Stasioner

28–32 jam, dan Fase Kematian 32–40 jam. Kurva pertumbuhan terlihat pada Gambar 2.

Identifikasi Mikroskopis Isolat Bakteri Penghasil IAA

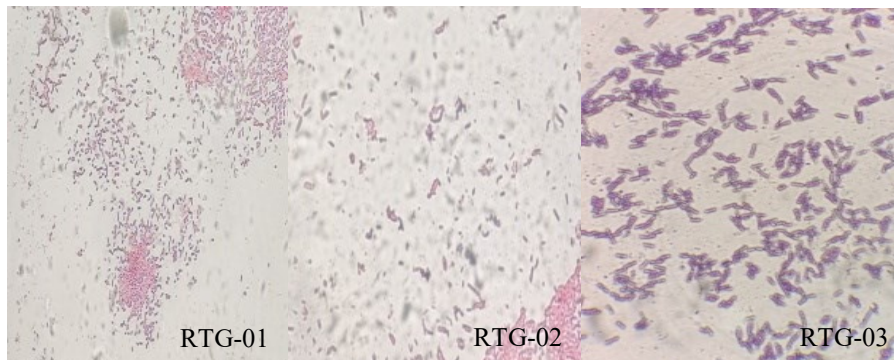
Hasil identifikasi mikroskopis Isolat Bakteri Penghasil IAA dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri Penghasil IAA. (*IAA Producing bacteria growth curve*).

Tabel 3. Identifikasi Mikroskopis Bakteri Penghasil IAA. (*Microscopic Identification of IAA Producing Bacteria*).

Kode Isolat (<i>Isolate Code</i>)	Bentuk sel (<i>Cell shape</i>)	Pewarnaan gram (<i>Gram stain</i>)
RTG-01	Bulat	-
RTG-02	Bulat	-
RTG-03	Batang	+



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram RTG-01, RTG-02, RTG-03. (*Coloring Results RTG-01, RTG-02, RTG-03*).

Uji Biokimia Isolat Bakteri Penghasil IAA

Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Penghasil IAA meliputi sitrat, TSIA, katalase dan motilitas dapat dilihat pada Tabel 4.

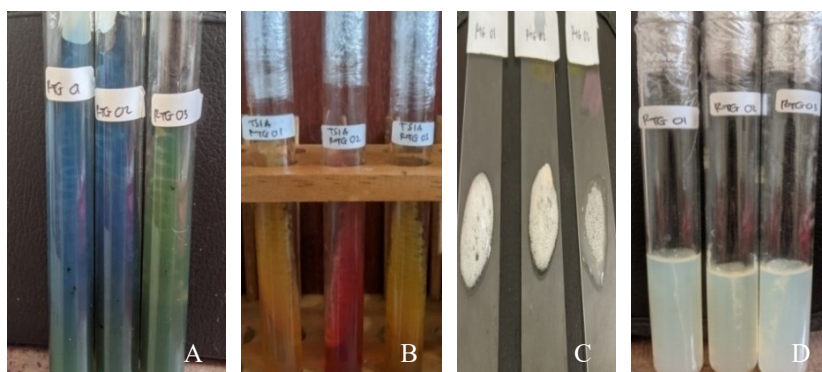
Aplikasi Isolat Bakteri penghasil IAA pada Perkecambahan Benih Padi

Aplikasi isolat bakteri penghasil IAA pada perkecambahan padi dilakukan terhadap variabel Potensi Tumbuh Maksimum (PTM), Daya Berkecambah (DB), Indeks Vigor (IV) dan Berat Kering Kecambah Normal (BKKN) setelah 7 hari tanam. Hasil aplikasi isolat penghasil Hormon IAA terhadap benih padi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 4. Uji biokimia bakteri penghasil IAA. (*Biochemical test off IAA producing bacteria*).

Kode Isolat (Code Isolat)	Uji Biokimia (Biochemical Test)			
	Sitrat (Citrate)	TSIA (TSIA)	Katalase (Catalase)	Motalitas (Motality)
RTG01	+	+	+	-
RTG02	+	-	+	-
RTG03	-	+	+	-

Keterangan: - (negatif) dan + (positif)



Gambar 4. Uji Biokimia isolat (*Biochemical Test*) RTG-01, RTG-02, RTG-03.

Tabel 5. Pengaruh Perlakuan Isolat Bakteri Penghasil IAA pada Potensi Tumbuh Maksimum (%), Daya Berkecambah (%), Indeks Vigor (%), Berat Kering Kecambah Normal pada Benih Padi. (*Effect of IAA Producing Bacterial Isolate Treatment on Maximum Growth Potential (%), Germination Power (%), Vigor Indeks (%), Normal Sprout Dry Weight in Rice Seeds*).

Perlakuan (<i>Treatment</i>)	Variabel Pengamatan (<i>Observation variable</i>)			
	PTM (%)	DB (%)	IV (%)	BKKBN
A0	22,7 ^a	17,3 ^a	9,3 ^a	0.21 ^a
AI	16 ^a	12 ^{ab}	8,0 ^a	0.27 ^a
A2	10,7 ^a	5,3 ^b	4,7 ^a	0.25 ^a
A3	22,7 ^a	16 ^a	13,3 ^a	0.26 ^a

Keterangan:

Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berpengaruh nyata berdasarkan DMRT pada $\alpha = 0,05$. (*Followed by the same letter that shows result that have no significant effect based on DMRT on $\alpha = 0,05$*).

PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri dari tanah rhizosfer tanaman kacang gude (*Cajanus cajan* L) diperoleh tujuh isolat. Ketujuh isolat memiliki karakter koloni yaitu ukuran koloni umumnya kecil dan sedang, warna koloni putih, bentuk koloni bundar, berserabut, tidak teratur, elevasi koloni datar, *umbonate*, *pulvinate*, dan cembung. Tepi koloni memiliki karakteristik rata, bergelombang dan berlekuk. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian (Fallo *et al.*, 2022) mengisolasi bakteri dari tanah rizosfer tanaman cabai merah didapatkan 20 isolat dengan morfologi koloni yang beragam yaitu besar, kecil dan sedang sedangkan warna koloni isolat didominasi putih. Selanjutnya penelitian Sembiring dan Sumanto (2021) pada tanaman rizosfer pisang didapatkan 20 isolat bakteri dengan bentuk koloni tidak beraturan dan bundar sedangkan elevasi koloni datar, cembung, melengkung, sementara tepi koloni utuh, berombak dan bergerigi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelimpahan bakteri disekitar perakaran tanaman berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh jumlah dan kualitas eksudat tanaman yang berfungsi sebagai sumber makanan. Eksudat tanaman banyak mengandung asam amino, karbohidrat dan senyawa yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Menurut Amaria dan Kasim (2019) keragaman bakteri rhizosfer dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik.

Seleksi Bakteri Penghasil IAA

Hasil seleksi bakteri penghasil IAA didapatkan tiga isolat yaitu RTG-01, RTG-02 dan RTG-03 memproduksi IAA dengan penambahan

L-tryptofan di media pertumbuhannya. Pengujian menggunakan reagen Salkowski untuk mengetahui perubahan warna yang mengindikasikan produksi IAA. Reagen Salkowski akan mengoksidasi senyawa indol dan turunannya. IAA merupakan salah satu contoh senyawa yang memiliki gugus indol sehingga saat bereaksi dengan Salkowski akan menghasilkan warna merah muda. Isolat yang menghasilkan IAA secara kualitatif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda karena adanya reaksi antara IAA dan Fe membentuk senyawa kompleks $[Fe_2(OH)_2(IA)_4]$. Reaksi yang terbentuk ada dua macam yaitu reaksi kompleks dan reaksi redoks (Kovacs, 2009). Bakteri dari daerah rhizosfer telah banyak dilaporkan mampu menghasilkan berbagai fitohormon yang didalamnya termasuk IAA. Produksi IAA oleh bakteri dengan penambahan asam amino triptofan menunjukkan bahwa isolat yang didapat mampu menggunakannya sebagai prekursor dalam produksi IAA. Menurut Patil (2011) bakteri dari daerah rhizosfer umumnya menghasilkan IAA melalui jalur metabolisme sintesis L-triptofan. Triptofan telah dibuktikan sebagai prekursor fisiologis dalam biosintesis auksin baik pada tanaman maupun mikroorganisme (Nonhebel, 2015; Li *et al.*, 2018). Bakteri yang sintesisnya bergantung pada triptofan telah diidentifikasi setidaknya ada lima jalur yang dapat ditempuh, yaitu jalur: indol-3-asam piruvat (IpyA), indol-3-asetamida (IAM), triptamin (TAM), indol-3-asetonitril (IAN) dan oksidasi rantai samping triptofan (TSO). Salah satunya yaitu jalur *Indole-3-pyruvate* terjadi perubahan triptofan menjadi IpyA oleh amino transferase. Kemudian IpyA mengalami dekarboksilasi menjadi

indole-3-acetaldehyde (IAAId) oleh enzim *indole-3-pyruvat decarboxyase* (IPDC) dan fase terakhir pada jalur *Indole-3-pyruvate* adalah oksidasi IAAId menjadi IAA (Lin *et al.*, 2018).

Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Penghasil IAA

Kurva pertumbuhan isolat bakteri penghasil IAA (RTG-01, RTG-02 dan RTG-03) menunjukkan adanya peningkatan pertumbuhan jumlah koloni yang diamati dari setiap fase. Fase Lag ketiga isolat bakteri penghasil IAA (RTG-01, RTG-02 dan RTG-03) terjadi pada jam 0–4 jam. Panjang atau pendek fase lag bakteri sangat ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologis dan morfologi yang sesuai serta media kultivasi. Fase eksponensial merupakan satu fase dimana sel mampu membelah diri dengan cepat, aktivitas metabolisme konstan, serta keadaan pertumbuhan seimbang (Sharah *et al.*, 2015). Isolat RTG-01 mengalami fase eksponensial setelah 4 jam sampai 28 jam, sedangkan isolat RTG-02 dan RTG-03 mengalami fase eksponensial setelah 4 jam sampai 28 jam. Fase Stasioner isolat bakteri RTG-01 terjadi pada jam ke 28–32 jam, sedangkan isolat RTG-02 dan RTG-03 terjadi pada jam ke 32. Menurut Farida (2020), pada fase stasioner bakteri mulai kekurangan nutrisi sehingga bakteri tersebut berusaha untuk mempertahankan hidupnya, dengan cara memproduksi suatu senyawa metabolit sekunder sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Fase Kematian tiga isolat bakteri penghasil IAA (RTG-01, RTG-02 dan RTG-03) terjadi pada jam ke 36–40. Fase kematian umumnya disebabkan oleh kurangnya nutrisi didalam suatu media. Menurut Sharah *et al.* (2015) pada fase kematian, sel yang mati menjadi lebih banyak ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologis dan morfologis yang sesuai serta media kultivasi yang dibutuhkan.

Identifikasi Mikroskopis dan Uji Biokimia Isolat Bakteri Penghasil IAA

Berdasarkan hasil identifikasi dan uji mikroskopis isolat bakteri penghasil IAA, terdapat dua isolat (RTG-01 dan RTG-02) memiliki bentuk sel bulat dan bertipe Gram negatif, sedangkan satu isolat (RTG-03) memiliki bentuk sel batang dan bertipe gram positif. Perbedaan bentuk dan warna tersebut pada bakteri Gram positif dan negatif menunjukkan adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (Fitri dan Yasmin 2011).

Hasil pengamatan uji sitrat pada ketiga isolat bakteri penghasil IAA (RTG-01, RTG-02, RTG-03) pada gambar 4A menunjukkan bahwa dua isolat bakteri (RTG-01 dan RTG-02) memberikan hasil positif ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru, sedangkan isolat RTG-03 negatif ditandai tidak ada perubahan warna pada media. Menurut Huda *et al.* (2012) menyatakan bahwa jika terjadi perubahan warna berarti hal ini menunjukkan bahwa mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi.

Hasil uji isolat bakteri pada media TSIA dilakukan dengan menggunakan metode tegak miring. Hasil uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) pada tiga isolat bakteri rhizosfer penghasil IAA diperoleh dua isolat (RTG-01, RTG-03) mampu memfermentasi laktosa dan sukrosa. Hal ini dapat dilihat dari media yang berwarna (Gambar 4B). Sedangkan isolat RTG-02 tidak dapat mefermentasi laktosa dan sukrosa. Hasil penelitian Sari *et al.* (2019), jika bakteri mempunyai kemampuan dalam mendegradasi dan memfermentasi karbohidrat yang disertai produksi asam di tandai dengan terjadinya perubahan warna pada media dari merah menjadi kuning pada bagian media.

Hasil uji katalase dari tiga isolat potensial penghasil IAA (RTG-01, RTG-02, RTG-03) membentuk gelembung oksigen pada saat ditetesi hydrogen peroksida (H_2O_2) 3%. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat memiliki katalase positif dengan adanya gelembung oksigen (Gambar 4C). Isoalat bakteri yang bereaksi positif dalam pengujian katalase disebabkan adanya penguraian H_2O_2 menjadi O_2 . Sedangkan hasil uji motilitas pada isolat bakteri penghasil IAA menunjukkan ke-3 isolat menunjukkan reaksi negatif atau tidak motil seperti di lihat pada gambar 4D. Hal ini ditunjukkan dengan adanya koloni yang tumbuh disekitar tusukan saja. Pergerakan bakteri motil di tandai dengan adanya flagella, sedangkan bakteri tidak motil tidak memiliki flagela. Dengan demikian, tiga isolat bakteri penghasil IAA tidak memiliki alat pergerakan seperti flagella (Damayanti *et al.*, 2020).

Aplikasi Isolat Bakteri penghasil IAA pada Perkecambahan Benih Padi

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan ketiga isolat bakteri penghasil IAA (RTG-01, RTG-02 dan RTG-03) tidak berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap potensi tumbuh maksimum, indeks vigor dan berat kering kecambah normal, namun berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap daya berkecambah (Tabel 5). Hasil uji kecambah menunjukkan bahwa ke-3 isolat tersebut memiliki kemampuan merangsang viabilitas benih padi berbeda-beda walaupun

semuanya menghasilkan IAA. Hal ini diduga dipengaruhi oleh konsentrasi IAA yang bervariasi yang dihasilkan oleh masing-masing isolat. Hasil penelitian Sembiring dan Sumanto (2021), diketahui isolat mampu memproduksi fitohormon IAA dengan kisaran 7,96–47,23 ppm dan hasil pengujian isolat bakteri yakni RC1, RC3 dan RC12 terhadap benih cabai menunjukkan mampu meningkatkan vigor benih dibandingkan dengan control, sedangkan hasil penelitian Herlina *et al.* (2016) melaporkan bahwa 16 isolat berdasarkan kemampuan penghasil IAA, menunjukkan bahwa kadar IAA tinggi yang diaplikasikan pada kacang hijau berpengaruh signifikan terhadap jumlah akar lateral. Bakteri penghasil hormon IAA menurut Ryan *et al.* (2008) mampu memacu perkecambahan benih sekaligus mendorong pemunculan tunas dan dapat meningkatkan viabilitas benih melalui sintesa senyawa yang membantu penyerapan nutrient dari lingkungan.

KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri rhizosfer dari tanah rizosfer tanaman kacang gude di peroleh tujuh isolat. Hasil identifikasi morfologi koloni ketujuh isolat diketahui memiliki ukuran koloni umumnya kecil dan sedang, warna koloni putih, dengan bentuk koloni bervariasi yaitu bundar, berserabut, tidak teratur. Elevasi koloni di ketahui ada yang datar, *umbonate*, *pulvinate* dan cembung, sedangkan tepi koloni memiliki karakteristik rata, bergelombang, dan berlekuk. Hasil seleksi ketujuh isolat bakteri diketahui tiga isolat bakteri yaitu RTG-01, RTG-02 dan RTG-03 memiliki kemampuan menghasilkan IAA. Hasil aplikasi isolat bakteri RTG-01, RTG-02 dan RTG-03 pada benih padi diketahui ketiga isolat tidak berpengaruh nyata terhadap potensi tumbuh maksimum, indeks vigor, dan berat kering kecambah normal, namun berpengaruh nyata terhadap daya berkecambah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada lembaga Universitas Timor melalui LPPM atas fasilitas di Laboratorium Fakultas Pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

Agustian, Nuriyani, Maira, L dan Emalinda, O., 2010. Rhizobakteria penghasil fitohormon Iaa pada rhizosfir tumbuhan semak karamunting, titonia dan tanaman pangan. *Jurnal Solum*. 7(1): 49.

Amaliah, Zakiyah, Z.N., Bahri, S dan Amelia, P., 2018. Limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Agroekoteknologi*. 5(1): 253–57.

Amaria, W., Kasim, N.N dan Munif, A., 2019. Kelimpahan populasi bakteri filosfer, rizosfer dan endofit tanaman kemiri sunan (*Reutealis*

trisperma sebagai agens biokontrol. *Journal TABARO*. 3(1): 305–17.

- Astriani, M dan Murtiyaningsih, H., 2018. Pengukuran Indole-3-Acetic Acid (IAA) pada *Bacillus* sp. dengan penambahan L-tryptofan. *Bioeduscience*. 2(2): 116–21.
- Damayanti, S.C., Komala, O dan Effendi, E.M., 2020. Identifikasi bakteri dari pupuk organik cair isi rumen sapi. *Ekologia*, 18(2): 63–71.
- Fallo, G., Pardosi, L dan Boluk, A.B., 2022. Seleksi bakteri pelarut fosfat dari rhizosfer tanaman cabai rawit (*Capsicum Annum* L.) di Kabupaten TTU. *J. Biosense*. 5(1): 24–33.
- Fallo, G., Mubarik, N.R and Triadiati., 2015. Potency of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria from Dryland in Rice Paddy Field. *Research Journal of Microbiology*. 10(6): 246–59.
- Farida., 2020. Isolasi dan identifikasi bakteri penghasil antibiotik dari Pantai Kenjeran vSurabaya. [Skripsi]: UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Fitri, L dan Yasmin, Y., 2011. Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Biologi Edukasi* 3(2): 20–25.
- Herlina, L., Pukan, K.P dan Mustikaningtyas, D., 2016. Kajian bakteri endofit penghasil IAA (Indole Acetic Acid) untuk pertumbuhan tanaman. *Journal FMIPA, Universitas Negeri Semarang* 14(1): 51–58.
- Jiao, X., Takishita, T., Zhou, G and Smith, D.L., 2021. Plant associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement. *Frontiers in Plant Science*. 12: 634796.
- Khalimi, K dan Wirya, G.N.A.S., 2012. Pemanfaatan plant growth promoting rhizobacteria untuk biostimulants dan bioprotectants. *Ecotrophic: Journal of Environmental Science* 4(2): 131–35.
- Kismiyati, K., Subekti, S., Yusuf, R.W.N dan Kusdarwati, R., 2009. Isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif pada luka ikan maskoki (*Carassius Auratus*) Akibat Infestasi Ektoparasit *Argulus* sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 1(2): 129–34.
- Kovacs, K., 2009. Applications of mössbauer spectroscopy in plant physiology. Member of HAS Consultants : 2–7.
- Larosa, Fauzi, S., Kusdiyantini, E., Raharjo, B dan Sarjiya, A., 2013. Kemampuan isolat bakteri penghasil indole acetic acid (IAA) dari tanah gambut sampit Kalimantan Tengah. *Jurnal Biologi*. 2(3): 41–54.
- Lin, H.R, Shu, H.Y and Lin, G.H., 2018. Biological roles of Indole-3-Acetic acid in *Acinetobacter Baumannii*. *Microbiological Research*. 216: 30–39.

- Mengsha, L., Guo, R., Yu, F., Chen, X., Zhao, H., Li, H and Wu J., 2018. Indole-3-Acetic acid biosynthesis pathways in the plant-beneficial bacterium *arthrobacter pascens* ZZ21. *International Journal of Molecular Sciences*. 19: 1–15.
- Nonhebel, H.M., 2015. Tryptophan-independent Indole-3-Acetic acid synthesis: Critical evaluation of the Evidence. *Plant Physiology*. 169(2): 1001–1005.
- Pambudi, A., Noriko, N dan Sari, E.P., 2016. Isolasi dan karakterisasi bakteri tanah sawah di Medan Satria dan Bekasi Utara, Kota, Jawa Barat. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*. 3(4): 187–95.
- Panjaitan, F.J., Bachtiar, T., Arsyad, I., Lele, O.K dan Indriwani, Y., 2020. Karakterisasi mikroskopis dan uji biokimia bakteri pelarut fosfat (BPF) dari rhizosfer tanaman jagung fase vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan*. 1(1): 9–17.
- Pardosi, L., Fallo, G and Jehaman, P., 2022. Characterization and identification of SM4 bacterial isolate from *Stylissa massa* sponge as producing antimicrobial compounds against pathogenic bacteria . *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*: 43–50.
- Patil, V., 2011. Production of indole acetic acid by *Azotobacter* sp. *Recent Research in Science and Technology*. 3(12): 14–16.
- Patten, C.L and Glick, B.R., 2002. Role of *pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(8): 3795–3801.
- Rini, I.K, Oktaviani, I., Asril, M., Agustin, R dan Frima, F.K., 2020. Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil IAA (Indole Acetic Acid) dari rhizosfer tanaman akasia (*Acacia Mangium*). *Agricultural Journal*. 3(2): 210–19.
- Ryan, R.P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D.J and Dowling, D.N., 2008. Bacterial endophytes: Recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters*. 278(1): 1–9.
- Saputri, Y., Advinda, L., Chatri, M and Handayani, D., 2020. Potential *Bacillus* sp. in producing indole acetic acid (IAA) and its effect on sprouts root length of red chili seeds (*Capsicum annuum* L.) *Serambi Biologi*. 5(2): 96–105.
- Sari, D.P., Rahmawati dan Rusmiyanto E.P.W., 2019. Deteksi dan identifikasi genera bakteri coliform hasil isolasi dari minuman lidah buaya. *Jurnal Labora Medika*. 3(1): 29–35.
- Sembiring, A dan Sumanto, N.L., 2021. Isolasi bakteri penghasil asam indol asetat (Aia) dan pengaruhnya terhadap viabilitas benih cabai merah. *Jurnal Agrotek Ummat*. 8(1): 27.
- Sharah, A., Karnila, R and Desmelati. The manufacture of lactic acid bacteria growth curve in the isolation og kembang (*Rastrelliger* sp.) Pedas.
- Sukmadi, R.B., 2013. Aktivitas fitohormon indole-3-acetic acid (Iaa) dari beberapa isolat bakteri rizosfer dan endofit. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 14(3): 221–27.
- Sutariati, Kade, G.A., Widodo, Sudarsono and Ilyas, S., 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and seedling growth of hot pepper. *Indonesian Journal*. 54(341): 46–54..
- Tuhuteru, Sumiyati, Endang Sulistyarningsih dan Wibowo, A., 2019. Aplikasi plant growth promoting rhizobacteria dalam meningkatkan produktivitas bawang merah di lahan pasir pantai. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 47(1): 53–60.