

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN TOMAT CHERRY (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) DALAM KEMAMPUANNYA MENGHASILKAN HORMON ASAM INDOL ASETAT (AIA)

Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria From Cherry Tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) Producing Indole Acetic Acid (IAA)

Oktira Roka Aji^{1)*}, Listiatie Budi Utami¹⁾

¹⁾Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam,
Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

DOI: 10.21111/agrotech.v3i1.909

Terima 24 Mei 2017

Revisi 10 Juni 2017

Terbit 30 Juni 2017

Abstrak: Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup didalam tanaman sehat tanpa menyebabkan perubahan morfologi ataupun menimbulkan penyakit. Bakteri endofit membantu meningkatkan kesehatan dan produktivitas tanaman dengan cara menekan bakteri patogen dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi kemampuan bakteri endofit yang terdapat pada buah dan batang tanaman tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) dalam menghasilkan hormon asam indol asetat (AIA). Hasil proses isolasi bakteri diperoleh 8 isolat bakteri endofit, yaitu 3 isolat dari buah tomat matang (isolat M1, M2, M3), 3 isolat dari buah tomat mentah (isolat Mt1, Mt2 dan Mt3) dan 2 dari batang tanaman tomat *cherry* (isolat Bt1 dan Bt2). Beberapa bakteri endofit yang berhasil diisolasi memiliki bentuk *coccus*, bentuk (*form*) koloni sirkuler, permukaan (*elevation*) koloni *convex*, tepi (*margin*) koloni *entire* dan berwarna putih. Semua isolat mampu memproduksi hormon AIA, kecuali isolat M1 dan Mt3. Bakteri ini berpotensi untuk meningkatkan produktivitas tanaman tomat *cherry* melalui hormon AIA yang dihasilkan.

Kata Kunci : bakteri endofit, tomat *cherry*, hormon AIA

* Korespondensi email: oktira.aji@bio.uad.ac.id

Alamat : Jalan Prof. Dr. Soepomo, S.H., Umbulharjo, D.I. Yogyakarta 55164

Abstract: Endophytic bacteria are bacteria that live in healthy plants without causing disease. The endophytic bacteria improve the health and productivity of plants by suppressing pathogen and promote plant growth. This study was aimed to isolate and characterize the ability of endophytic bacteria from cherry tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) to produce indole acetic acid (IAA). Eight isolates of endophytic bacteria have been successfully obtained, which were 3 isolates from ripe cherry tomatoes (M1, M2, M3), 3 isolates from unripe cherry tomatoes (Mt1, Mt2 and Mt3) and 2 from stem cherry tomatoes (Bt1 and Bt2). All isolates were able to produce AIA hormones except isolates M1 and Mt3. These bacteria potentially increase the productivity of cherry tomato plants through production of IAA.

Keywords: endophytic bacteria, cherry tomato, indole acetic acid

1. Pendahuluan

Bakteri endofit didefinisikan sebagai bakteri non-patogen yang hidup di dalam jaringan tanaman yang sehat (Suhandono & Utari, 2014). Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman dan memiliki tempat hidup yang relatif terlindungi serta mendapatkan nutrisi yang memadai. Bagi tanaman, bakteri endofit berperan penting dalam menjaga kesehatan tanaman (Malfanova, 2013). Bakteri endofit memberi keuntungan bagi tanaman melalui produksi siderophore, asam absisat, asam indol asetat (AIA), dan lain-lain (Tian *et al.*, 2015). Interaksi positif ini memberikan keuntungan bagi keduanya. Peran penting bakteri endofit bagi tanaman membuat bakteri ini berpotensi

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Tomat Cherry (*Solanum Lycopersicum* Var. *Cerasiforme*) Dalam Kemampuannya Menghasilkan Hormon Asam Indol Asetat (AIA)

dimanfaatkan dalam upaya peningkatan produktivitas tanaman yang berkelanjutan.

Beberapa penelitian telah banyak dilakukan untuk mengetahui keberadaan mikroorganisme endofit pada berbagai tanaman yaitu diantaranya tanaman padi (Ji *et al.*, 2014), kentang (Pavlo *et al.*, 2011), anggrek (Faria *et al.*, 2013), kina (Zakiyah *et al.*, 2015). Namun, keberagaman bakteri endofit pada suatu tanaman tidak selalu sama karena salah satunya dipengaruhi kondisi tanam. Oleh karena itu, eksplorasi tentang keberagaman bakteri endofit masih terus menjadi perhatian. Teknologi molekuler juga telah banyak dikembangkan untuk menganalisis keberadaan bakteri endofit yang tidak dapat dikultur atau ditumbuhkan pada medium sintetis (Tian *et al.*, 2015).

Tanaman tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) adalah tanaman sayuran penting yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat dan memiliki nilai ekonomi tinggi. Tomat *cherry* memiliki karakteristik kecil bergerombol dan sebagai salah satu sumber vitamin serta antioksidan yang baik bagi tubuh (Bocheset *al.*, 2011). Saat ini, tomat *cherry* banyak dikembangkan sebagai salah satu tanaman hidroponik. Namun, informasi mengenai keberadaan bakteri endofit pada berbagai tahapan perkembangan tanaman tomat *cherry* belum banyak diketahui. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri

endofit pada buah dan batang tanaman tomat *cherry* yang mampu menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman.

2. Bahan dan Metode

Sampel tomat diperoleh dari tomat segar yang dipetik langsung dari tanaman tomat yang ditanam pada pot berumur sekitar 4 bulan sedangkan sampel batang tanaman tomat diperoleh dari tanaman tomat yang berumur 3 bulan. Sampel kemudian dicuci bersih dengan air mengalir dan dikeringkan dengan tisu.

Isolasi Bakteri Endofit

Metode isolasi bakteri endofit dilakukan menggunakan metode Suhandono *et al.*(2016) dengan modifikasi. Sampel buah dan batang tanaman tomat *cherry* masing-masing dicuci berturut-turut dengan larutan alkohol 70% selama 4 menit, 2,5% sodium hipoklorit selama 4 menit dan alkohol 70% selama 4 menit kemudian dibilas dengan air deion steril sebanyak 3 kali. Setelah itu, masing-masing sampel dipotong-potong menjadi 0,5 cm lalu dimasukkan ke dalam 1 mL 0,85% NaCl steril. Sebanyak 0,1 mL larutan NaCl tersebut lalu dimasukkan ke dalam medium Luria Bertani agar dengan metode *spread*. Sampel diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Isolat bakteri yang tumbuh pada plat agar kemudian dipindahkan ke plat agar baru dengan menggunakan metode *four-way streak* untuk mendapatkan kultur murni. Tiap isolat

**Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Tomat Cherry
(*Solanum Lycopersicum* Var. *Cerasiforme*) Dalam Kemampuannya
Menghasilkan Hormon Asam Indol Asetat (AIA)**

murni lalu ditumbuhkan pada 2 agar miring di tabung reaksi, satu kultur disimpan pada suhu 4⁰C yang digunakan untuk stok kultur sedangkan yang lain digunakan untuk kultur kerja pada suhu 37⁰C.

Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk memastikan kultur yang diperoleh telah murni. Bakteri diwarnai dengan menggunakan pewarnaan gram kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x100 kali.

Uji Kuantitatif Bakteri Endofit sebagai Penghasil Asam Indol Asetat (AIA)

Isolat bakteri ditumbuhkan pada medium yang berisi medium NB (*nutrient broth*) yang telah ditambahkan dengan triptopan 1 g/L lalu diinkubasi selama 24 jam. Kultur bakteri kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Sebanyak 1 mL supernatan ditambah dengan 2 mL reagen Salkowski (0,5 M FeCl₃ dan 70% asam perklorat) (Gordon & Weber, 1951). Campuran kemudian diinkubasi di tempat gelap selama 30 menit. Perubahan warna dari kuning menjadi kemerahan menunjukkan hasil positif. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm. Konsentrasi IAA dihitung berdasarkan persamaan kurva standar IAA.

3. Hasil dan Pembahasan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah tomat *cherry* matang, buah tomat *cherry* mentah dan batang tanaman tomat *cherry*.

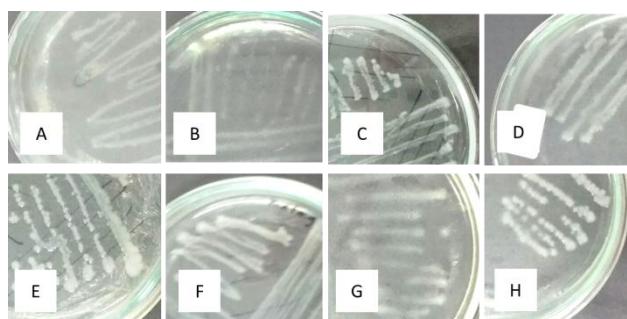
Tabel 1.Hasil pengamatan bentuk koloni isolat bakteri endofit tomat cherry

No .	Sumb er	Nam a Isola t	Bentu k (Form) Kolon i		Permuka an (Elevation) Koloni	Tepi (Margi n) Koloni	Warna Koloni
			Bunda r	Bunda r			
1		Tomat matan g	M1	Bunda r	Datar	Rata	Putih Putih
2			M2	Bunda r	Cembung	Rata	Kekuning an
3			M3	Bunda r	Datar	Rata	Putih
4	Tomat menta h		Mt1	Bunda r	Cembung	Rata	Putih
5			Mt2	Bunda r	Cembung	Rata	Putih
6			Mt3	Bunda r	Cembung	Rata	Putih
7	Batang		Bt1	Bunda r	Datar	Rata	Putih
8			Bt2	Bunda r	Cembung	Rata	Putih

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Tomat Cherry (*Solanum Lycopersicum* Var. *Cerasiforme*) Dalam Kemampuannya Menghasilkan Hormon Asam Indol Asetat (AIA)

Bakteri endofit yang telah berhasil ditumbuhkan dan diisolasi adalah sejumlah 8 isolat. Delapan isolat tersebut, tiga diantaranya diisolasi dari buah tomat matang, tiga isolat dari buah tomat mentah dan 2 isolat dari batang tanaman tomat. Masing-masing isolat diamati bentuk koloninya.

Hasil pengamatan bentuk koloni dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1 dibawah ini. Hasil pengamatan menunjukkan bentuk koloni isolat bakteri memiliki ciri-ciri yang hampir sama yaitu : bentuk (*form*) koloni berbentuk bundar, permukaan (*elevation*) berbentuk cembung, tepi (*margin*) berbentuk rata dan warna koloni berwarna putih. Isolat M1 memiliki bentuk (*form*) koloni berbentuk bundar dan memiliki sifat motil. Hanya isolat M1 ini yang memiliki sifat motil dibandingkan isolat yang lain. Isolat lain yang memiliki karakteristik berbeda adalah isolat M2. Warna koloni isolat ini adalah putih kuning. Namun, warna koloni isolat lain hampir semuanya berwarna putih, dari putih bening mengkilat hingga putih kusam *creamy*.



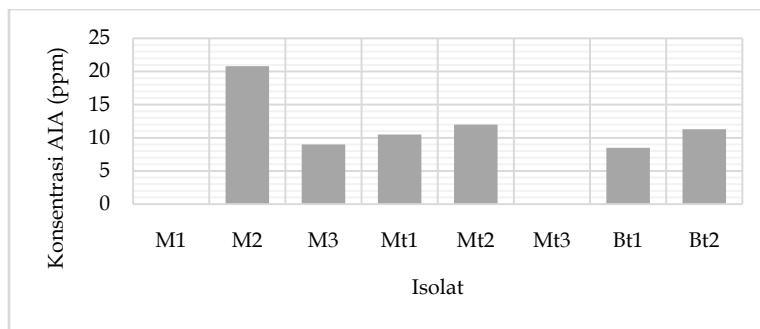
Gambar 1. Berturut-turut gambar koloni : M1, M2, M3, Mt, Mt2, Mt3, Bt1 dan Bt2

Tabel 2.Hasil pengamatan mikroskopis isolat bakteri endofit tomat cherry

No.	Sumber	Nama Isolat	Gram	Bentuk
1	Tomat matang	M1	Negatif	Bulat
2		M2	Negatif	Bulat
3		M3	Negatif	Bulat
4	Tomat mentah	Mt1	Negatif	Bulat
5		Mt2	Negatif	Bulat
6		Mt3	Negatif	Bulat
7	Batang	Bt1	Negatif	Bulat
8		Bt2	Negatif	Bulat

Karakterisasi isolat bakteri dilakukan dengan menggunakan uji AIA untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri endofit dalam memproduksi indol. Hasil uji AIA dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil pengamatan diketahui bahwa isolat M2 memiliki kemampuan terbaik dalam menghasilkan AIA yaitu 20,8 ppm.

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Tomat Cherry
(*Solanum Lycopersicum* Var. *Cerasiforme*) Dalam Kemampuannya
Menghasilkan Hormon Asam Indol Asetat (AIA)



Gambar 2.Konsentrasi AIA yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit tomat *cherry*

Bakteri endofit menempati berbagai bagian tanaman diantaranya pembuluh vaskular, ruang antar sel dan organ reproduksi tanaman seperti bunga, buah dan biji (Bacon & Hinton, 2006). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dari buah maupun batang tomat *cherry* telah berhasil diisolasi bakteri endofit. Koloni bakteri yang berhasil diisolasi beragam dilihat dari ciri-ciri mikroskopis maupun makroskopisnya. Bakteri endofit memiliki keberagaman yang sangat tinggi, umumnya terdiri dari beberapa genus yang berkontribusi penting dalam keanekaragaman hayati (Suhandono & Utari, 2014). Keberagaman ini salah satunya dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman (Purwanto *et al.*, 2014). Umumnya bakteri endofit yang mudah dikultur pada medium pertumbuhan sintetis berasal dari *Proteobacteria*, sedangkan *Firmicutes*, *Actinobacteria* dan *Bacteroides* lebih sulit (Miliute *et al.*, 2015). Hasil pengamatan bentuk koloni dan ciri mikroskopis

menunjukkan bahwa hampir semua isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi memiliki ciri yang sama, walaupun dalam hal ini tidak bisa dipastikan bahwa isolat tersebut adalah isolat yang sama. Perbedaan spesies pada mikroorganisme pada umumnya ditentukan berdasarkan karakter biokimia dan urutan nukleotidanya (Janda *et al.*, 2007).

Bakteri endofit membantu meningkatkan kesehatan dan produktivitas tanaman dengan cara menekan bakteri patogen, merangsang pertumbuhan tanaman, fiksasi nitrogen, produksi hormon tanaman, adaptasi tanaman, dan lain-lain (Tian *et al.*, 2015). Salah satu hormon tanaman yang mampu diproduksi oleh bakteri endofit yaitu asam indol asetat (AIA) (Khan & Doty, 2009). AIA masuk dalam golongan hormon auksin. Hormon ini bertanggung jawab dalam pemanjangan dan pembesaran sel (Campbell & Reece, 2003). Keberadaan bakteri endofit penghasil hormon AIA ini dapat meningkatkan panjang akar, jumlah akar dan tinggi batang sehingga pertumbuhan dan perkembangan tanaman dapat meningkat (Susilowati *et al.*, 2003). Dalam sintesis hormon AIA umumnya dibutuhkan prekursor triptofan. Jalur sintesis hormon AIA diantaranya yaitu (1) jalur *indole-3-acetamide* (IAM); (2) jalur *indole-3-pyruvic acid* (IPA); (3) jalur *tryptamine* (TAM) dan (4) jalur *indole-3-acetaldoxime* (IAOX). Walaupun adapula sintesis AIA jalur lain tanpa menggunakan prekursor triptofan (Mano & Nemoto, 2012). Jalur sintesis AIA

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Tomat Cherry (*Solanum Lycopersicum* Var. *Cerasiforme*) Dalam Kemampuannya Menghasilkan Hormon Asam Indol Asetat (AIA)

pada bakteri hampir sama dengan jalur yang ditemukan pada tanaman (Spaepen & Vanderleyden, 2011). Hampir semua isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tomat matang, tomat mentah maupun batang mampu memproduksi hormon AIA. Keberadaan bakteri endofit penghasil hormon AIA ini akan bermanfaat baik bagi tanaman dimana diketahui bahwa hormon AIA pada buah berperan penting pada proses inisiasi fertilisasi, besar ukuran buah dan pematangan buah (Cohen, 1996; Devoghalaere *et al.*, 2012) sedangkan pada batang berperan penting dalam pemanjangan batang tanaman (Latche, 2005). Interaksi yang menguntungkan antara bakteri dan tanaman tomat *cherry* ini diharapkan dapat dimanfaatkan dalam upaya peningkatan produktivitas tanaman tomat *cherry* yang berkelanjutan.

4. Kesimpulan

Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman tomat *cherry* sebanyak 8 isolat. Tiga isolat berasal dari buah tomat matang, 3 isolat dari buah tomat mentah dan 2 isolat dari batang tanaman tomat. Semua isolat mampu memproduksi asam indol asetat (AIA) kecuali isolat M1 dan Mt3. Analisis lebih lanjut perlu dilakukan identifikasi isolat bakteri endofit dan pengaruh bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman tomat *cherry*.

5. Referensi

- Bacon, C.W. & Hinton, D.M. 2006. *Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility*. In Samuel S. Gnanamanickam (Eds), *Plant-Associated Bacteria* (pp. 155–194). Netherlands : Springer.
- Boches, P., Peterschmidt, B., & Myers, J. R. 2011. *Evaluation of a Subset of the Solanum lycopersicum var. cerasiforme Core Collection for Horticultural Quality and Fruit Phenolic Content*. Hortscience, 46(11), 1450–1455.
- Campbell, N.A.& Reece, J.B. 2003. *Biology* Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga
- Cohen, J. D. (1996). *In Vitro Tomato Fruit Cultures Demonstrate a Role for Indole-3-Acetic Acid in Regulating Fruit Ripening*. Journal American Society Horticulture Science, 121(3), 520–524.
- Devoghalaere, F., Doucen, T., Guitton, B., Keeling, J., Payne, W., Ling, T.J., Ross, J.J. 2012. *A Genomics Approach to Understanding the Role of Auxin in Apple (Malus X Domestica) Fruit Size Control*. BMC Plant Biology, 12, 7.
- Faria, D.C. Dias, A.C.F., Melo, I.S., & Costa, F.E.C. 2013. *Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential to promote plant growth*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 29(2), 217–221.
doi:10.1007/s11274-012-1173-4

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Tomat Cherry
(*Solanum Lycopersicum* Var. *Cerasiforme*) Dalam Kemampuannya
Menghasilkan Hormon Asam Indol Asetat (AIA)

- Gordon, S.A & Weber, R.P. 1951. *Colorimetric estimation of asam indol asetat*. Plant Physiology, 26, 192-19.
- Janda, J Michael, and Sharon L Abbott. 2007. *16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses , Perils , and Pitfalls*. Journal Of Clinical Microbiology,45(9), 2761–2764.
doi:10.1128/JCM.01228-07.
- Ji, S.H., Gururani, M.A. & Chun, S.C. 2014. *Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars*. Microbiological Research, 169(1), 83–98.
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2013.06.003>
- Khan, Z.& Doty, L.S. 2009. *Characterization of Bacterial Endophytes of Sweet Potato Plants*. Journal Plant Soil, 10,1-10. doi: 10.1007/s11104-009-9908-1
- Latche, A. 2005. *The Tomato Aux / AIA Transcription Factor AIA9 Is Involved in Fruit Development and Leaf Morphogenesis*. The Plant Cell, 17, 2676–92.
doi:10.1105/tpc.105.033415.1.
- Malfanova, N. V. 2013. *Endophytic bacteria with plant growth promoting and biocontrol abilities*. (Dissertation). Leiden University, Netherlands.

- Mano, Y. & Nemoto, K. 2012. *The pathway of auxin biosynthesis in plants*. Journal of Experimental Botany, 63(8), 2853–2872. doi:<https://doi.org/10.1093/jxb/ers091>
- Miliute, I., Buzaite, O., Baniulis, D., Stanys, V. 2015. *Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance : a review*. Zemdirbyste-Agriculture, 102(4), 465–478. doi:[10.13080/z-a.2015.102.060](https://doi.org/10.13080/z-a.2015.102.060)
- Pavlo, A, Leonid, O., Iryna, Z., Natalia, K., Maria, P.A. 2011. *Endophytic bacteria enhancing growth and disease resistance of potato (*Solanum tuberosum L.*)*. Biological Control, 56(1), 43–49. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.09.014>
- Purwanto, U.M.S., Fachriyan H.P., Maria B. 2014. *Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri*. Current Biochemistry, 1(1), 51–57.
- Spaepen, S. & Vanderleyden, J. 2011. *Auxin and plant-microbe interactions*. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 3(4), 1–13. doi: [10.1101/cshperspect.a001438](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001438)
- Suhandono, S., & Utari, I. B. 2014. *Isolation and Molecular Identification of Endophytic Bacteria from the Arils of Durian (*Durio zibethinus Murr*) var. Matahari*, Microbiology Indonesia, 8(4), 161–169. doi:[10.5454/mi.8.4.3](https://doi.org/10.5454/mi.8.4.3)

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Tomat Cherry (*Solanum Lycopersicum* Var. *Cerasiforme*) Dalam Kemampuannya Menghasilkan Hormon Asam Indol Asetat (AIA)

- Suhandono, S., Kusumawardhani, M.K. & Aditiawati, P. 2016. *Isolation and Molecular Identification of Endophytic Bacteria From Rambutan Fruits (Nephelium Lappaceum L.) Cultivar Binjai.* HAYATI Journal of Biosciences, 1–6. doi:10.1016/j.hjb.2016.01.005.
- Susilowati DN, Saraswati R, Elsanti & Yuniarti E. 2003. *Isolasi dan Seleksi Mikroba Diazotrof Endofitik dan Penghasil Zat Pemacu Tumbuh pada Tanaman Padi dan Jagung.* Balai penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, 128- 143.
- Tian, B., Cao, Y. & Zhang, K. 2015. *Metagenomic insights into communities, functions of endophytes, and their associates with infection by root-knot nematode Meloidogyne incognita.* Nature Publishing Group, 1–15. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/srep17087>
- Zakiyah, A., Radiastuti, N. & Sumarlin, L.O. 2015. *Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Kina (Cinchona calisaya Wedd).* Al-Kauniyah, 8(2), 51–58.