

Bioprospeksi Bakteri Asal Akar Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) Lahan Gambut Kayu Agung, Sumatra Selatan, sebagai Agen Biostimulan dan Bioprotektan

(Bioprospection of Bacteria Origin of Pineapple Roots (*Ananas comosus* L. Merr) Peat Land at Kayu Agung, South Sumatra, as a Biostimulant and Bioprotectant Agent)

Erma Suryanti*, Dewi Chusniasih, Muhammad Asril, Ika Agus Rini, Wulandari Putri Antika, Nadia Rahmah

(Diterima November 2022/Disetujui April 2023)

ABSTRAK

Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) merupakan tanaman yang dapat hidup dengan baik pada lahan miskin hara seperti lahan gambut. Ketahanan tanaman akan kondisi miskin hara disebabkan oleh simbiosis dengan bakteri endofit yang mampu sebagai *plant growth promoting bacteria* (PGPB) melalui mekanisme biostimulan dan bioprotektan. Penelitian ini bertujuan mencirikan potensi bakteri endofit dari akar nanas asal lahan gambut sebagai agen biostimulan dan bioprotektan. Sebanyak 13 bakteri endofit asal akar nanas dicirikan kemampuannya sebagai biostimulan melalui uji pelarutan fosfat menggunakan media Pikovskaya secara kualitatif dan kuantitatif serta produksi *indole-3-acetic acid* (IAA) dengan tambahan triptofan 0,1%. Selanjutnya, bakteri sebagai bioprotektan dicirikan melalui produksi enzim kitinase secara kualitatif dan uji antifungi terhadap *Fusarium proliferatum* dengan teknik kultur ganda. Hasil pencirian menunjukkan keberadaan 2 bakteri yang positif pada semua uji, yaitu isolat ANAP3 dan ANAP5. Bakteri ANPA3 merupakan bakteri yang memperlihatkan aktivitas tertinggi dalam produksi IAA, yakni 26,3 ppm dan aktivitas antifungi tertinggi dalam menghambat *F. proliferatum* dengan indeks penghambatan mencapai 52,6%. Sementara itu, ANAP5 adalah bakteri endofit yang memiliki aktivitas pelarutan fosfat tertinggi dengan nilai fosfat terlarut 253,5 ppm. Temuan ini menunjukkan bahwa beberapa bakteri endofit asal akar nanas pada lahan gambut mampu sebagai biostimulan dan bioprotektan yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai PGPB.

Kata kunci: *Ananas comosus* L. Merr, bakteri endofit, bioprotektan, biostimulan, *Fusarium proliferatum*.

ABSTRACT

Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) is a plant that can live well on nutrient-poor lands such as peatlands. However, plant resistance to nutrient-poor conditions is caused by symbiosis with endophytic bacteria capable of plant growth-promoting bacteria (PGPB) through biostimulant and bioprotective mechanisms. This study aims to characterize the potential of endophytic bacteria from pineapple roots from peatlands as biostimulants and bioprotective agents. Thirteen endophytic bacteria from pineapple root were characterized by their ability as biostimulants through phosphate dissolution tests using Pikovskaya media qualitatively and quantitatively, and the production of indole-3-acetic acid (IAA) upon additional 0.1% tryptophan. Furthermore, bacteria as bioprotectors were characterized by qualitative production of chitinase enzyme and antifungal tests against *Fusarium proliferatum* using dual culture techniques. The results showed the presence of 2 positive bacteria in all tests, namely the ANAP3 and ANAP5 isolates. ANPA3 bacteria show the highest activity in IAA production (26.3 ppm), and the highest antifungal activity in inhibiting *F. proliferatum*, with an inhibitory index reaching 52.6%. Meanwhile, ANAP5 is an endophytic bacterium with the highest phosphate dissolving activity, with a dissolved phosphate value of 253.5 ppm. This finding shows that some endophytic bacteria from pineapple roots on peatlands can be biostimulants and bioprotectors that can be developed as PGPB.

Keywords: *Ananas comosus* L. Merr, endophytic bacteria, bioprotectant, biostimulant, *Fusarium proliferatum*

PENDAHULUAN

Bakteri endofit diketahui mampu berperan sebagai *plant growth promoting bacteria* (PGPB) yang dapat memacu pertumbuhan tanaman dan menginduksi ketahanan sistemik melalui mekanisme penghasil

fitohormon, siderofor, dan sebagai pelarut fosfat (Choudary *et al.* 2008). Mikroorganisme endofit tanaman dilaporkan berpotensi menghasilkan hormon *indole-3-acetic acid* (IAA) karena akar tanaman mengekskresikan eksudat akar yang mengandung L-triptofan yang digunakan sebagai prekursor untuk biosintesis hormon IAA. Selain itu, bakteri endofit juga dapat memengaruhi ketersediaan dan siklus hara tanaman dengan menjaga kestabilan tekstur tanah (Fatmawati *et al.* 2018). Bakteri PGPB memiliki dua peran utama, yaitu sebagai biostimulan dan

Program Studi Biologi, Jurusan Sains, Institut Teknologi Sumatera, Jl. Terusan Ryacudu, Way Huwi, Kec. Jati Agung, Lampung 35365

* Penulis Korespondensi:

Email: erma.suryanti@bi.itera.ac.id

bioprotektan pada tanaman. Peran PGPB sebagai biostimulan berfungsi membantu menyediakan kebutuhan unsur hara dari dalam tanah untuk tanaman dan meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui fitohormon (IAA, sitokinin, giberelin) yang diproduksi oleh PGPB bagi tanaman inang. Selain itu, PGPB sebagai bioprotektan berfungsi menekan dan menghambat perkembangan hama dan penyakit yang menyerang tanaman inang (Rai 2006). Isolasi bakteri endofit dari tanaman yang hidup dengan baik pada lahan marginal diharapkan mendapat bakteri yang berpotensi sebagai agen biostimulan atau bioprotektan. Menurut Arora *et al.* (2013), bakteri endofit yang diisolasi dari akar nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) merupakan bakteri yang mampu sebagai agen bioprotektan dari patogen tumbuhan melalui mekanisme antibiosis dengan menghasilkan senyawa penghambat (senyawa antimikrob).

Tanaman nanas merupakan tanaman yang tahan akan kondisi kekeringan dan dapat hidup dengan baik di tanah marginal. Tanaman herba ini yang sangat toleran akan tingkat keasaman yang tinggi, yaitu pada kondisi pH media tanam 3–4. Nanas diketahui dapat tumbuh dengan baik pada lahan miskin hara seperti lahan gambut. Ketahanan tanaman ini pada lahan miskin hara diketahui karena ada asosiasi dengan bakteri dalam tanah di sekitar dan di dalam perakaran tanaman tersebut (Hadiati *et al.* 2008). Lahan gambut termasuk lahan yang kaya akan bahan organik, tetapi pelapukannya belum terjadi secara sempurna. Lahan gambut umumnya memperoleh unsur hara dari air hujan sehingga miskin hara dan pH sangat rendah, yaitu 2–4,5 (Ratmini 2012). Pada kondisi alami, lahan gambut menjadi habitat bagi beberapa jenis mikro-organisme yang tahan akan kondisi yang sangat asam dan miskin hara. Pada penelitian sebelumnya telah diperoleh 13 isolat bakteri endofit asal akar nanas yang hidup di lahan gambut (Antika 2022). Namun, kemampuannya sebagai biostimulan ataupun bioprotektan belum dicirikan. Tujuan penelitian ini adalah mencirikan bakteri endofit tanaman nanas dari lahan gambut Kayu Agung Sumatra selatan sebagai pelarut fosfat, dan dalam memproduksi IAA dan enzim kitinase. Bakteri endofit PGPB yang potensial dapat dikembangkan sebagai agen biostimulan dan bioprotektan pada tanaman lain dengan kondisi tanah marginal seperti lahan gambut.

METODE PENELITIAN

Peremajaan Isolat Bakteri

Yang digunakan dalam penelitian ini adalah 13 bakteri endofit yang telah diisolasi dari akar nanas dari lahan gambut, Kayu Agung, Sumatra Selatan. Semua isolat tersebut belum dicirikan secara morfologi, biokimia, dan kemampuannya sebagai agen biostimulan dan bioprotektan. Semua isolat tersebut merupakan koleksi Dr Erma Suryanti, M.Si. Isolat

bakteri endofit diremajakan pada media *trypticase soy agar* (TSA).

Uji Aktivitas Pelarutan Fosfat

Kemampuan bakteri endofit dalam melarutkan fosfat diuji secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif ialah dengan menginokulasikan isolat bakteri yang telah murni pada media Pikovskaya padat, dengan cara ditotol dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C. Pertumbuhan koloni bakteri pelarut fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (Asril *et al.* 2020). Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni diukur dan daya degradasi fosfatnya untuk ditetapkan indeks pelarutannya menggunakan persamaan berikut:

$$IP = \frac{\text{diameter zona bening (mm)} - \text{diameter koloni (mm)}}{\text{diameter koloni (mm)}}$$

Secara kuantitatif, pelarutan fosfat diuji dengan menginokulasikan biakan murni ke dalam 50 mL media Pikovskaya dalam erlenmeyer, kemudian digoyang dengan kecepatan 100 rpm selama 7 hari pada suhu 26°C. Fosfat terlarut ditetapkan dengan prosedur berikut: 10 mL biakan disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 1 mL supernatan direaksikan dengan menambahkan 2,5 mL larutan natrium molibdat 2,5% dan 1 mL hidrazium sulfat 0,3%. Campuran tersebut kemudian dipanaskan selama 10 menit lalu didinginkan. Konsentrasi fosfat terlarut diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 830 nm. Kurva standar dibuat menggunakan KH_2PO_4 dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L (Aung *et al.* 2011).

Uji Aktivitas Enzim Kitinase secara Kualitatif

Isolat bakteri endofit diinokulasi pada media selektif kitin agar-agar dengan konsentrasi koloid kitin 0,5% untuk mengukur kemampuannya memanfaatkan senyawa kitin. Seleksi dilakukan dengan cara menotolkan isolat bakteri menggunakan tusuk gigi steril lalu diinkubasi selama 7 hari. Aktivitas diamati dengan menambahkan 1–2 tetes merah kongo dan didiamkan 15 menit. Setelah itu, merah kongo dibilas menggunakan NaCl 1%, lalu didiamkan 15 menit (Verma & Garg 2019). Zona bening yang terbentuk diukur indeks kitinolitiknya menggunakan jangka sorong dengan rumus:

$$\text{Indeks kitinolitik} = \frac{\text{diameter zona bening} - \text{diameter koloni}}{\text{diameter koloni}}$$

Uji Antifungi terhadap *Fusarium proliferatum*

Daya antifungi ditetapkan untuk mengetahui kemampuan beberapa bakteri antagonis dalam menghambat isolat *F. proliferatum* (koleksi Dr Erma Suryanti) secara *in vitro*. Fungi diambil sebanyak 1–2 ose dan diletakkan pada bagian pusat cawan petri yang berisi media *potato dextrose agar* (PDA). Kemudian diambil 1–2 ose dari stok kultur isolat bakteri endofit dan digoreskan lurus dengan panjang 4 cm pada kedua sisi ujung cawan petri dengan jarak 3 cm

dari *F. proliferatum*. Kultur ganda dibuat dengan menggunakan fungi dan goresan akuades steril sebagai kontrol. Setelah 5–7 hari inkubasi pada suhu ruang, zona hambat diukur untuk mengevaluasi efek antagonisnya terhadap pertumbuhan miselium *F. proliferatum*. Indeks penghambatan dihitung dengan rumus Suryanto *et al.* (2011):

$$P = (R2-R1)/R1 \times 100$$

Keterangan:

- P = Indeks penghambatan
- R1 = Rata-rata diameter koloni fungi pada kontrol
- R2 = Rata-rata diameter koloni fungi pada perlakuan bakteri

Uji Produksi IAA secara Kuantitatif

Pengujian ini dimaksudkan untuk mengevaluasi kemampuan bakteri dalam menghasilkan hormon IAA. Isolat bakteri endofit yang digunakan adalah bakteri yang memiliki aktivitas produksi IAA secara kualitatif tertinggi yang dilihat dari indeks zona bening dari penelitian sebelumnya (Antika 2021). Sebanyak 1–2 ose kultur bakteri endofit diambil dan dimasukkan ke dalam 50 mL media NB yang sudah ditambahkan L-triptofan steril sebanyak 0,1%, digoyang selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 26°C. Sebanyak 1 mL inokulum dipindahkan ke dalam media NB 100 mL + triptofan 0,1% lalu digoyang selama 6 hari. Sebanyak 10 mL inokulum diambil dan dimasukkan ke dalam tabung falkon dan disentrifugasi. Supernatan 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 4 mL reagen Salkowski dan

diinkubasi selama 30 menit. Konsentrasi IAA diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm, lalu dihitung dengan menggunakan kurva standar (Sharma *et al.* 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Bakteri Endofit dalam Melarutkan Fosfat

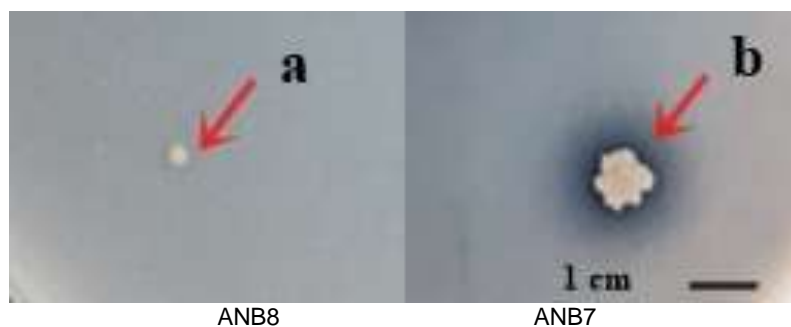
Bakteri endofit dan rizosfer dapat berperan sebagai PGPB melalui mekanisme biostimulan dan bioprotektan. PGPB dicirikan dengan menentukan aktivitas bakteri dalam melarutkan fosfat dan memproduksi IAA. Sebanyak 6 dari 13 isolat, yakni isolat ANB2, ANB7, ANAP1, ANAP3, ANAP4, ANAP5, mampu melarutkan fosfat (Tabel 1). Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat diukur dari indeks pelarut fosfat yang merupakan nisbah diameter zona bening yang dihasilkan bakteri dan diameter koloninya. Bakteri yang mampu melarutkan fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni, sedangkan bakteri yang tidak mampu melarutkan fosfat tidak membentuk zona bening (Gambar 1). Selain itu, isolat ANA7 dapat melarutkan fosfat pada media sehingga mengalami pertumbuhan koloni, berbeda dengan koloni isolat ANAB yang lebih lambat pertumbuhannya, dengan koloni yang lebih kecil (Gambar 1).

Terbentuknya zona bening menandakan bahwa isolat mampu menghasilkan asam organik ekstraseluler yang mampu berikatan dengan ion Ca²⁺ yang terikat dalam bentuk Ca₃(PO₄)₂ pada media

Tabel 1 Aktivitas pelarutan fosfat oleh bakteri endofit secara kualitatif dan kuantitatif

Kode isolat	Diameter koloni (cm)	Diameter zona bening (cm)	Indeks pelarutan fosfat kualitatif	Konsentrasi fosfat (ppm)
ANB2	1,170	1,425	0,220	0,000
ANB7	1,020	1,275	0,250	43,900
ANAP1	0,470	1,585	2,370	43,600
ANAP3	1,370	1,720	0,250	0,000
ANAP4	1,295	1,800	0,380	0,000
ANAP5	1,200	1,500	0,250	253,5000

Keterangan: ANB2, ANB7 = Isolat bakteri endofit perakaran nanas hasil dengan media tanpa triptofan 0,1%. ANAP1, ANAP2, ANAP3, ANAP5= Isolat bakteri endofit dengan media yang ditambahkan triptofan 0,1%



Gambar 1 Aktivitas pelarut fosfat isolat bakteri endofit hari ke-7 pada media Pikovskaya yang diinkubasi pada suhu ruang; (a) Koloni ANB8 tidak dapat melarutkan fosfat; (b) Koloni ANB7 dapat melarutkan fosfat, ditandai dengan zona bening di sekitar koloni.

Pikovskaya dan membebaskan ion H_2PO_4^- sehingga membentuk area yang berwarna lebih jernih dibandingkan area yang masih memiliki fosforus terikat (Saragih 2013). Utami *et al.* (2020) menyatakan bahwa semakin tinggi aktivitas enzim yang dihasilkan bakteri pelarut fosfat, semakin luas zona bening yang terbentuk. Dalam proses pelarutan fosfat, enzim fosfatase berperan penting dalam mengkatalisis reaksi mineralisasi hidrolitik secara enzimatik. Reaksi mineralisasi hidrolitik ialah dengan cara melepaskan fosfat yang tidak terlarut (Ranjan *et al.* 2013) sehingga terbentuk zona bening. Zona bening juga menunjukkan aktivitas pelarutan fosfat melalui pembentukan asam organik. Asam organik dapat berupa asam asetat, asam laktat, asam malat, asam format, asam fumarat, dan asam tartarat (Asril *et al.* 2023). Asam organik yang dapat berikatan dengan ion Ca^{2+} membentuk senyawa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dalam media Pikovskaya dan membebaskan ion H_2PO_4^- untuk membentuk area berwarna lebih jernih (Sagervanshi *et al.* 2012). Perubahan kekeruhan medium di sekitar koloni menjadi jernih ialah karena penurunan pH medium (Paul & Sinha 2017). Asam organik yang dihasilkan juga digunakan sebagai sumber energi atau nutrisi untuk sel bakteri.

Indeks pelarutan fosfat mengindikasikan tinggi rendahnya potensi bakteri dalam melarutkan fosfat. Indeks pelarutan fosfat ditampilkan pada Tabel 1. Kemampuan pelarutan fosfat dari setiap isolat bakteri endofit berbeda-beda. Bakteri dengan indeks pelarutan fosfat yang tinggi pada uji kuantitatif belum dapat dijadikan dasar bakteri tersebut mampu sebagai pelarut fosfat yang tinggi apabila memiliki aktivitas kuantitatif yang rendah. Sebagai contoh, isolat ANP5 memiliki indeks pelarut fosfat rendah tetapi pada pengukuran secara kuantitatif memiliki kadar fosfat terlarut pada media tertinggi, yaitu 253,5 ppm. Kadar fosfat secara diukur kuantitatif untuk menentukan bakteri yang memiliki aktivitas pelarut fosfat tertinggi. Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat secara kualitatif pada medium Pikovskaya padat akan berbeda secara kuantitatif pada medium Pikovskaya cair (Selvi *et al.* 2017). Kemampuan bakteri pelarut fosfat dapat beragam, disebabkan oleh banyak faktor yang terdapat di tanah, seperti hara tanah, pH, kelembapan konten, bahan organik, dan aktivitas enzim (Kenenen *et al.* 2010). Selain itu, kondisi media juga akan memengaruhi indeks pelarutan fosfat, antara lain laju pertumbuhan mikrob, kemampuan mikrob untuk melarutkan fosfat, konsentrasi fosfat dalam media yang tidak terlarut sempurna, dan ketebalan agar-agar. Kondisi lingkungan tersebut juga akan memengaruhi diversitas dari bakteri pelarut fosfat sehingga akan memengaruhi kemampuannya melarutkan fosfat. Hasil penelitian sebelumnya mengonfirmasi bahwa faktor lingkungan dapat berinteraksi dengan proses hayati bakteri pelarut fosfat dan mengatur perannya dalam melarutkan fosfat (Numan *et al.* 2018).

Zona bening pada media padat tidak dapat menunjukkan kemampuan setiap bakteri untuk melarutkan jumlah fosfat terlarut. Hal ini karena zona bening yang terbentuk hanya merupakan tanda awal terjadinya pelarutan fosfat oleh bakteri (Asril *et al.* 2021). Hal ini ditunjukkan oleh bakteri *Bacillus megaterium* GPC1.7 yang memiliki indeks pelarutan fosfat kuantitatif 0,278 (lebih rendah dibandingkan isolat lainnya) tetapi menghasilkan indeks pelarutan fosfat kuantitatif lebih tinggi, yaitu 450 mg/L (Fitriyanti *et al.* 2017). Beberapa laporan menunjukkan kondisi yang sama pada bakteri dalam aktivitas pelarutan fosfat secara kualitatif dan kuantitatif (Reyes *et al.* 2006; Asril *et al.* 2021). Hal ini menegaskan bahwa pelarutan fosfat yang tinggi dalam media padat belum tentu berkorelasi positif dengan pelarutan fosfat yang tinggi secara kuantitatif. Fosforus merupakan hara utama yang membatasi produksi tanaman, tetapi ketersediaannya di dalam tanah tergolong rendah karena reaksi pengendapan dengan Al^{3+} dan Fe^{3+} pada tanah masam, dan Ca^{2+} pada tanah alkalin, sehingga tidak tersedia bagi tanaman (Kuntari *et al.* 2017). Pemanfaatan mikrob tanah dianggap salah satu alternatif untuk meningkatkan ketersediaan P untuk tanaman karena kemampuannya dalam menghasilkan asam organik dan enzim ekstraseluler. Namun, mikroorganisme pelarut fosfat tidak selalu konsisten dalam aktivitasnya melarutkan fosfat. Hal ini karena kemampuan beradaptasi mereka yang tergolong buruk terhadap perubahan kondisi tanah dan agroklimat (Vikram *et al.* 2007). Kondisi tersebut menjadi sebuah tantangan dalam pengaplikasian kelompok mikroorganisme pelarut fosfat di lingkungan.

Selain endofit pada akar nanas, kemampuan melarutkan fosfat pada isolat bakteri endofit asal akar tanaman sudah banyak dilaporkan. Berdasarkan temuan Arisna dan Asri (2019), isolat bakteri endofit AA2 asal akar tanaman bawang merah mampu melarutkan fosfat tertinggi pada waktu inkubasi 5 hari, dengan jumlah fosfat terlarut mencapai 63,01 ppm. Bakteri endofit akar tanaman *Populus trichocarpa* diketahui mampu menyediakan fosfat terlarut setelah 36 jam inkubasi (Varga *et al.* 2020). Menurut Bashan *et al.* (2013), hampir sebagian besar jenis bakteri mampu melarutkan fosfat dalam bentuk $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, dengan cara memproduksi asam organik. Kondisi minim hara pada lahan gambut menjadi salah satu mekanisme seleksi, artinya jenis bakteri dengan kemampuan pelarut fosfat yang tinggi akan tumbuh dengan baik pada lingkungan gambut dibandingkan jenis bakteri yang tidak memiliki kemampuan tersebut.

Aktivitas Bakteri Endofit dalam Menghasilkan Kitinase

Bakteri endofit dalam menghasilkan enzim kitinolitik diseleksi menggunakan media selektif kitin agar-agar. Berdasarkan hasil pengukuran indeks kitinolitik, diketahui bahwa 3 dari 13 isolat mampu menghasilkan kitinase, yaitu isolat ANAP1, ANAP2, dan ANAP5. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona

bening di sekitar bakteri yang tumbuh, sebagai indikator bahwa bakteri tersebut mampu mengeluarkan enzim yang dapat menghidrolisis kitin menjadi senyawa sederhana (Gambar 2).

Aktivitas Antifungi Bakteri Endofit dalam Menghambat *F. proliferatum*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa 10 dari 13 solat bakteri endofit dapat menghambat pertumbuhan fungi *F. proliferatum*. Penghambatan fungi dapat dilihat secara makroskopis dan mikroskopis (Gambar 3). Diperlihatkan bahwa isolat ANAP3 dan ANAP5 dapat menghambat pertumbuhan miselium *F. proliferatum*. Kemampuan penghambatan ditandai dengan terjadinya penghambatan diameter miselium fungi yang lebih kecil daripada kontrol. Keberadaan isolat bakteri endofit dapat menekan pertumbuhan fungi yang

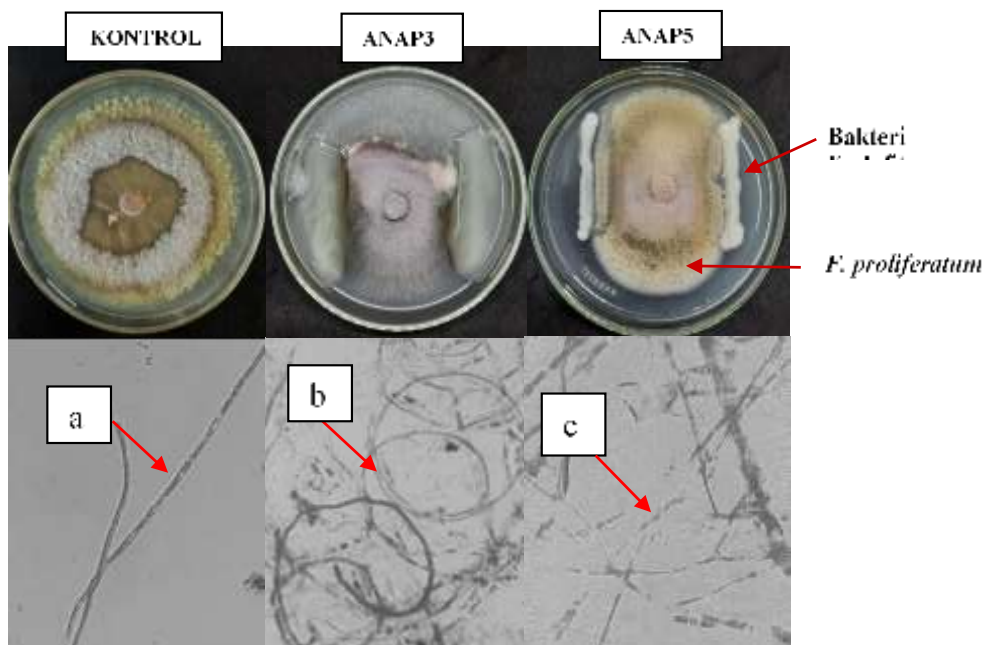


Gambar 2 Aktivitas kitinase bakteri endofit ANAP3 pada media kitin agar-agar (0.5% koloid kitin) pada hari ke-7 inkubasi.

ditandai dengan tidak terbentuknya hifa aerial pada area yang kontak dengan goresan bakteri yang endofit yang diuji. Zona hambat yang dihasilkan oleh isolat tersebut menyebabkan berubahnya bentuk hifa atau malforasi, seperti hifa mengalami lisis, melilit dan menggulung, membengkok, kerdil, dan bercabang, yang teramati secara mikroskopis. Malforasi hifa fungi diduga disebabkan oleh mekanisme hiperparasitisme isolat bakteri pada fungi sehingga dinding sel fungi terdegradasi. Kontak antibakteri dan fungi menyebabkan isolat bakteri antagonis menghasilkan senyawa atau metabolit sekunder berupa antimikrob sehingga menyebabkan rusaknya hifa fungi tersebut. Selain metabolit sekunder, enzim litik seperti kitinase dan glukonase juga berperan dalam proses nekrosis dan lisis hifa (Widiantini *et al.* 2018).

Metabolit sekunder pada bakteri diproduksi ketika bakteri dalam kondisi cekaman seperti hara dan kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Bakteri memproduksi metabolit sekunder yang tidak digunakan lagi untuk proses pertumbuhan, tetapi digunakan untuk pertahanan diri dan kompetisi dengan mikroba lain dalam mendapatkan hara, habitat, oksigen, dan lain-lain. Mekanisme penghambatan terjadi ketika pertumbuhan hifa dari fungi *F. proliferatum* yang relatif cepat menjadi suatu ancaman untuk bakteri dapat memicu isolat bakteri dalam menyintesis metabolit sekunder untuk bertahan terhadap infeksi fungi (Rahma *et al.* 2021).

Indeks penghambatan merupakan nisbah dari nilai rata-rata diameter koloni fungi pada perlakuan bakteri dan rata-rata diameter koloni fungi pada kontrol. Indeks persentase penghambatan tertinggi dalam pertumbuhan *F. proliferatum* (52,6%) diperlihatkan oleh



Gambar 3 Pengaruh isolat bakteri pada pertumbuhan *F. proliferatum* pada hari ke-7 di media PDA yang diinkubasi pada suhu 26°C; diamati secara makroskopis dan mikroskopis pada perbesaran 100x10 (a) hifa normal, (b) hifa menggulung dan melilit, (c) hifa hancur

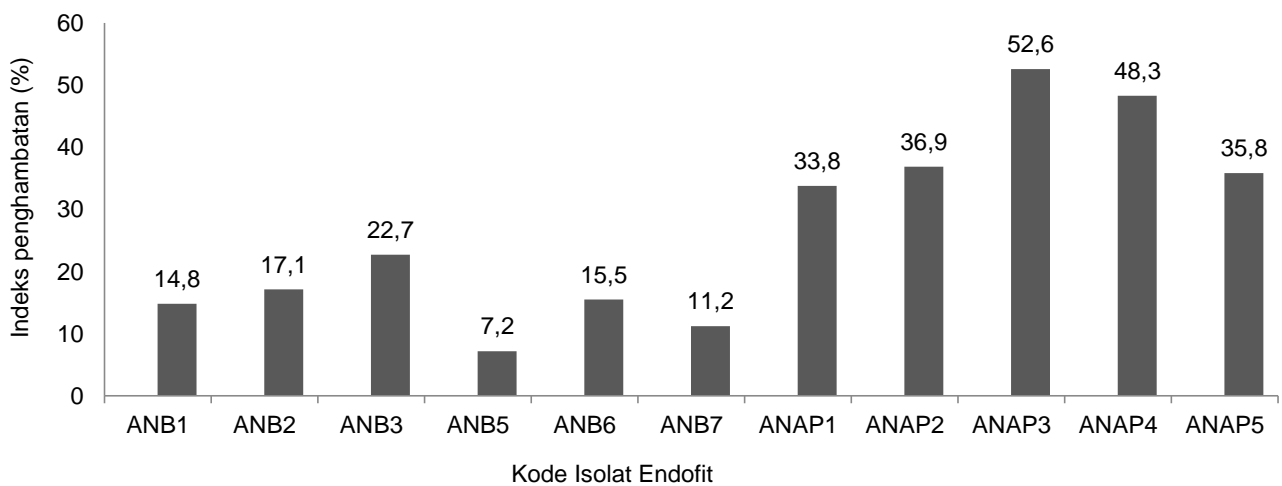
ANAP3 (Gambar 4). Pada uji sebelumnya, ANAP3 tidak terdeteksi mampu menghasilkan kitinase pada media kitin agar-agar sehingga diduga penghambatan pertumbuhan fungi disebabkan oleh mekanisme lain. Walaupun tidak menghasilkan kitinase, bakteri dapat mengeluarkan enzim lain pendegradasi dinding sel fungi seperti protease dan glukonase. Bakteri endofit juga diketahui mampu menghambat pertumbuhan fungi melalui beberapa mekanisme, seperti kompetisi nutrisi dan mengeluarkan senyawa metabolit yang bersifat antibiosis terhadap fungi (Zhang *et al.* 2012). Hal tersebut juga dapat dilihat dari hifa yang tidak mengalami lisis akan tetapi mengalami perubahan morfologi menjadi menggulung dan melilit. Gejala ini berbeda dengan mekanisme ANAP5 yang memiliki aktivitas enzim kitinolitik yang menyebabkan hifa fungi menjadi lisis (Gambar 3). Kemampuan bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan fungi menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat menjadi alternatif agen pengendali hayati *F. proliferatum*.

Aktivitas Bakteri Endofit dalam Memproduksi IAA

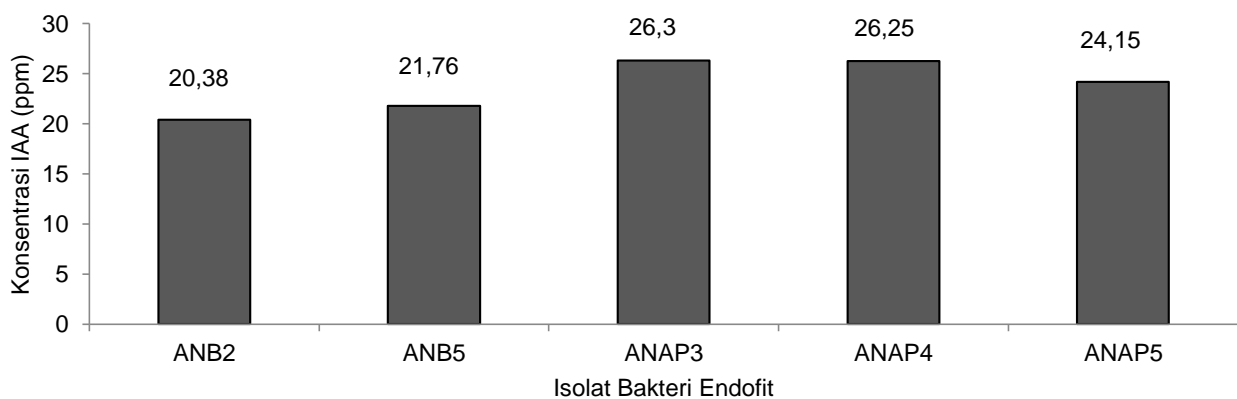
Hasil uji produksi IAA secara kuantitatif menunjukkan 5 dari 13 isolat bakteri mampu menghasilkan hormon IAA, yakni ANB2, ANB5, ANAP3, ANAP4, dan

ANAP5 (Gambar 5). Proses isolasi ANAP3, ANAP4, dan ANAP5 pada penelitian sebelumnya menggunakan media TSB + 0,1% triptofan (Antika 2022). Berdasarkan hasil yang diperoleh, ANPA3 dan ANAP4 mampu menghasilkan hormon IAA tertinggi, yaitu ± 26,3 ppm. Bakteri yang dikayakan saat isolasinya dengan triptofan memiliki aktivitas produksi IAA yang lebih tinggi dibandingkan yang saat isolasinya tidak melalui tahap pengayaan (ANB2 dan ANB5). Hasil ini mengindikasikan bahwa keberadaan triptofan dapat menjadi prekursor dalam produksi IAA.

Pada proses produksi hormon IAA secara kuantitatif, media pertumbuhan bakteri endofit juga ditambah dengan 0,1% triptofan. Triptofan merupakan prekursor biosintesis IAA pada bakteri melalui jalur *indole-pyruvate acid* (IPA) (Denaya *et al.* 2021). Triptofan telah dibuktikan merupakan prekursor fisiologis dalam biosintesis auksin baik pada tanaman maupun mikroorganisme (Li *et al.* 2018; Nonhebel 2015). IAA merupakan salah satu dari auksin yang paling aktif secara fisiologis yang berperan penting selama pembentukan dan pertumbuhan vegetatif tanaman (Zhao *et al.* 2001). Hormon ini dapat diproduksi oleh tanaman secara endogen, tetapi IAA yang dihasilkan belum optimum, sehingga membutuh-



Gambar 4 Indeks Penghambatan *F. proliferatum* oleh isolat bakteri endofit.



Gambar 5 Konsentrasi IAA yang diproduksi oleh isolat bakteri endofit.

kan IAA yang berasal dari luar tanaman (IAA eksogen). IAA eksogen dapat berasal dari mikroorganisme yang hidup di sekitar rizosfer ataupun endofit tanaman. Keberadaan bakteri endofit yang menghasilkan hormon IAA akan meningkatkan pertumbuhan tanaman inangnya. Riberio dan Cardoso (2012) melaporkan bahwa IAA yang disintesis mikroorganisme pada daerah rizosfer dan endofit dapat meningkatkan jumlah rambut akar, ukuran, dan jumlah akar adventif.

Beberapa jenis bakteri endofit penghasil IAA di antaranya *Bacillus pumilus*, *Spingobacterium thalpophilum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Agrobacterium tumefaciens*, dan *Enterobacter aerogenes*, yang berasal dari tanaman *Withania somnifera* (L). (Soundar Raju *et al.* 2020). *Sphingomonas* sp. juga mampu menghasilkan IAA yang diisolasi dari *Tephrosia apollina* (Khan *et al.* 2014). Jenis bakteri lainnya ialah *Enterobacter cloacae* yang diisolasi dari batang *Ocimum sanctum* dan mampu menghasilkan IAA 17,807 ug/mL (Panigrahi *et al.* 2020). Bakteri pemacu pertumbuhan dapat bereaksi secara langsung dalam tanaman dengan menghasilkan fitohormon, vitamin, atau molekul organik yang mudah diserap oleh akar, atau secara tidak langsung melalui ameliorasi hara mineral dengan cara pelarutan dan mineralisasi unsur hara tertentu.

Farida *et al.* (2018) menyatakan bahwa aplikasi bakteri penghasil IAA yang telah ditemukan dapat dicampur dengan tanah gambut untuk menanam benih tanaman. Bakteri dalam tanah tersebut dapat menempel pada akar kecambah, kemudian memanfaatkan eksudat akar berupa triptofan untuk menghasilkan IAA. Senyawa IAA yang dihasilkan bakteri tersebut dapat digunakan kembali oleh tanaman sebagai pemacu pertumbuhan. Dalam penelitian ini, bakteri endofit dicirikan dalam hal kemampuan biostumulannya sebagai pelarut fosfat dan produksi IAA dan kemampuannya sebagai bioprotektan dalam menghasilkan kitinase dan senyawa antifungi. Didapatkan 2 bakteri yang positif pada semua uji, yaitu ANAP3 dan ANAP5. Bakteri ANPA3 merupakan bakteri yang memiliki aktivitas tertinggi dalam produksi IAA dan aktivitas antifungi dalam menghambat *F. proliferatum*, sementara ANAP5 adalah bakteri yang memiliki aktivitas pelarutan fosfat tertinggi.

KESIMPULAN

Penelitian ini telah berhasil mencirikan 13 bakteri endofit asal perakaran nanas sebagai biostimulan melalui uji pelarut fosfat dan produksi IAA serta bioprotektan melalui uji enzim kitinase dan penghasil senyawa antifungi yang menghambat pertumbuhan *F. proliferatum*. Dua isolat bakteri, ANAP3 dan ANAP5, dicirikan memiliki semua aktivitas biostimulan dan bioprotektan yang diujikan. Kedua bakteri tersebut berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen PGPB dengan mekanisme biostimulan dan bioprotektan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas hibah internal ITERA melalui skema GBU45 dengan nomor No. B/763F/IT.9/PT.01.03/2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Antika WP. 2022. *Potensi bakteri endofit dan rizosfer dari akar nanas (Ananas comosus L.) asal lahan gambut sebagai PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria)*. [Skripsi]. Lampung: Institut Teknologi Sumatra.
- Arora NK. 2013. *Plant microbe symbiosis: Fundamentals and Advances*. India (IN): Springer. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1287-4>
- Arisna TSW, Asri MT. 2019. Potensi isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah (*Allium ascalonium*) sebagai bakteri pelarut fosfat. *Lentera Bio*. 8(3): 260–267.
- Asril M, Yuni, L. 2020. Isolasi bakteri pelarut fosfat genus pseudomonas dari tanah masam bekas areal perkebunan karet di kawasan Institut Teknologi Sumatra. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 21(1): 40–48. <https://doi.org/10.29122/jtl.v21i1.3743>
- Asril M, Lisafitri Y, Niswati A, Dirmawati SR, Rismawati, Rini IA, Oktaviani I. 2021. Assessment of Phosphate Solubilization and Indole Acetic Acid Production of Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Acid Soils, Lampung, Indonesia. *Proc 3rd KOBICongr Int Natl Conf (KOBICINC 2020)*. 14: 469–477. <https://doi.org/10.2991/absr.k.210621.080>
- Asril M, Lisafitri Y, Siregar BA. 2022. Antagonism activity of phosphate solubilizing bacteria against *Ganoderma philippii* and *Fusarium oxysporum* of Acacia plants. *Journal of Multidisciplinary Applied Natural Science*. 2(2): 82–89. <https://doi.org/10.47352/jmans.2774-3047.118>
- Asril M, Lisafitri Y, Niswati A, Dirmawati S, Wibowo R, Sipriyadi S. 2023. The potential of phosphate solubilizing and plant growth promoters of *Burkholderia territorii* EF.NAP 1 isolated from acid soils for the conservation of formerly rubber plantation land. *International Journal of Conservation Sciences* 14(1): 317–330.
- Aung TN, Nourmohammadi S, Sunitha EM, Myint M. 2011. Isolation of endophytic bacteria from green gram and study on their plant growth promoting activities. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2(3): 525–537
- Bashan Y, Kamnev AA, Bashan LE. 2013. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a

- proposal for an alternative procedure. *Biology and Fertility of Soils*. 49: 465–479. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0737-7>
- Berg G, Hallmann J. 2006. Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. *Microbial Root Endophytes*. Springer. 53–69. https://doi.org/10.1007/3-540-33526-9_4
- Choudary DK, Johri BN. 2008. Interaction of *Bacillus* sp. and Plants with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 74(1): 874–880.
- Denaya S, Yulianti R, Pambudi A, Effendi Y. 2021. Novel microbial consortium formulation as plant growth promoting bacteria (PGPB) agent. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 1–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/637/1/012030>
- Farida FN, Maya N, Alami NH. 2018. Uji potensial isolat khamir dari rhizosfer mangrove Wonorejo dan Gunung Anyar sebagai agen penghasil IAA. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 8(1): 4–8. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v8i1.41855>
- Fatmawati U, Yulin L, Anja M, Abdjad AN, Aris TR. 2018. Isolation of actinomycetes from maize rhizosphere from Kupang, East Nusa Tenggara Province, and evaluation of their antibacterial, antifungal and extracellular enzyme activity. *Indonesian Journal of Biotechnology*. 23(1): 40–47. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.33064>
- Fitriyanti D, Mubarak NR, Tjahjoleksono A. 2017. Characterization of phosphate solubilizing bacteria and nitrogen fixing bacteria from limestone mining region. *Malaysian Journal of Microbiology*. 13(3): 147–155. <https://doi.org/10.21161/mjm.95016>
- Hadiati S, Indriani LNP 2008. *Budidaya Nanas*. Jakarta (ID): Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika Press.
- Agisti A, Alami NH, Hidayati TN, 2019. Isolasi dan identifikasi bakteri penambat nitrogen non-simbiotik pada lahan restorasi dengan metode *legume cover crop* di Daerah Pasirian Lumajang Jawa Timur. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*. 3(2): 17–25.
- Keneni A, Assefa F, Prabu PC. 2010. Isolation of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of Faba bean of Ethiopia and their abilities on solubilizing insoluble phosphates. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 12(1): 79–89
- Khalida FT, Zulaika. 2015. Potensi *Azotobacter* sebagai penghasil hormon IAA (indole-3-acetic acid). *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 4(2): 75–77.
- Khan AL, Waqas M, Kang SM, Al-Harrasi A, Hussain J, Al-Rawahi A, Al-Khiziri S, Ullah I, Ali L, Jung HY, Lee IJ. 2014. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *The Journal of Microbiology*. 52(8): 689–695. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4002-7>
- Kuntari Z, Sumpono, Nurhamidah. 2017. Aktivitas antioksidan metabolit sekunder bakteri endofit akar tanaman. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*.1(2): 80–84. <https://doi.org/10.33369/atp.v1i2.3483>
- Li M, Guo R, Yu F, Chen X, Zhao H, Li H, Wu J. 2018. Indole-3-acetic acid biosynthesis pathways in the plant-beneficial bacterium *Arthrobacter pascens* zz21. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(2): 1-15 <https://doi.org/10.3390/ijms19020443>
- Nonhebel HM. 2015. Tryptophan-independent indole-3-acetic acid synthesis: critical evaluation of the evidence. *Plant Physiology*. 169(2): 1001–1005. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01091>
- Numan M, Bashir S, Khan Y, Mumtaz R, Shinwari ZK, Khan AL. 2018. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. *Microbiology Research*. 209: 21–32. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.02.003>
- Panigrahi S, Mohanty S, Rath CC. 2020. Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 isolated from *Ocimum sanctum* with indole acetic acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. *South African Journal of Botany*. 134: 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.017>
- Paul D, Sinha SN. 2017. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 with antibacterial potential from river Ganga, India. *Annals of Agrarian Science*. 15(1): 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2016.10.001>
- Pradana AP, Abdul M, Supramana. 2016. Bakteri endofit asal berbagai akar tanaman sebagai agens pengendali nematode puru akar *Meloidogyne incognita* pada tomat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 12(3): 75–82. <https://doi.org/10.14692/jfi.12.3.75>
- Rahma N, Rodesia MR, Queendy V. 2021. Aktivitas antifungi isolat aktinomisetes arboretum Universitas Riau terhadap *Fusarium oxysporum* dan *Ganoderma boninense*. *Jurnal Al Kauniah*: 12(1): 73–88. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v12i1.8793>
- Rai M. 2006. *Handbook of Microbial Biofertilizer*. Canada (CA): CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781482277760>
- Ranjan A, Mahalakshmi MR, Sridevi M. 2013. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacterial species from different crop fields of Salem, Tamil Nadu, India. *Internasional Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurology Disease*. 3(1): 29–33. <https://doi.org/10.4103/2231-0738.106982>

- Ratmini NPS. 2012. Karakteristik dan pengelolaan lahan gambut untuk pengembangan pertanian. *Jurnal Lahan Suboptimal*. 1(2): 197–206.
- Reyes I, Valery A, Valduz Z. 2006. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. *Plant Soil*. 287(1–2): 69–75. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9061-z>
- Ribeiro CM, Cardoso EJBN. 2012. Isolation, Selection and Characterization of Root-Associated Growth Promoting Bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*). *Microbiological Research*. 167(2): 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.03.003>
- Sagervanshi A, Kumari P, Nagee A, Patel RR. 2012. Media optimization for inorganic phosphate solubilizing bacteria isolated from Anand agriculture soil. *International Journal of Life Science and Pharma Research*. 2(3): 245–255.
- Saragih A. 2013. Bioactive microbial metabolites. *Journal of antibiotics*: 58(1): 1–26. <https://doi.org/10.1038/ja.2005.1>
- Shahab S, Ahmed N, Khan N. 2009. Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PSBs. *African Journal of Agriculture Research*. 4(11): 1312–1316.
- Selvi K, Paul J, Vijaya V, Saraswathi K. 2017. Analyzing the efficacy of phosphate solubilizing microorganisms by enrichment culture techniques. *Biochemistry & Molecular Biology Journal*. 3(1): 1–7.
- Sharma T, Rai N. 2015. Isolation of plant hormone (indole-3-acetic acid) producing rhizobacteria and study on their effects on tomato (*Lycopersicon esculentum*) seedling. *International Journal of Pharmacy Technology Research*. 7(1): 99–107
- Soundar Raju C, Aslam A, Thangadurai D, Sangeetha J, Kathiravan K, Shajahan A. 2020. Indole acetic acid (IAA) producing endophytic bacteria on direct somatic embryogenesis and plant regeneration of *Exacum travancoricum* Bedd. *Vegetos*. 33(4): 690–702. <https://doi.org/10.1007/s42535-020-00159-w>
- Suryanto D, Irawati N, Munir E. 2011. Isolation and characterization of chitinolytic bacteria and their potential to inhibit plant pathogenic fungi. *Microbiology Indonesia*. 5(2): 144–148. <https://doi.org/10.5454/mi.5.3.8>
- Triyana DA, Isnawati. 2022. Uji produksi IAA pada galur isolat bakteri produsen IAA rhizosfer jagung (*Zea mays*) melalui induksi mutasi. *Jurnal Lentera Biology*. 11(2): 284–92.
- Utami AD, Suryo W, Rahayu W, Priyo C. 2020. Keanekaragaman mikrob fungsional rizosfer nanas dengan berbagai tingkat produktivitas. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 25(4): 584–591. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.4.584>
- Verma K, Garg N. 2019. Detection of chitinase on chitin agar plates. *International Journal of Science and Research*. 8 (2): 1186–1189.
- Varga T, Hixson KK, Ahkami AH, Sher AW, Barnes ME, Chu RK, Doty SL. 2020. Endophyte-promoted phosphorus solubilization in *Populus*. *Frontiers in Plant Science*. 11. 567918. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.567918>
- Vikram A, Alagawadi AR, HAMzehzarghani H, Krishnaraj PU. 2007. Factors related to the occurrence of phosphate solubilizing bacteria and their isolation in Vertisols. *International Journal of Agricultural Research*. 2(7): 571–580. <https://doi.org/10.3923/ijar.2007.571.580>
- Widiantini E, Yulia, Nasahi C. 2018. Potensi antagonisme senyawa metabolit sekunder asal bakteri endofit dengan pelarut methanol terhadap fungi *G. boninense*. *Agrikultur*. 29(1): 55–60. <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v29i1.17870>
- Zain NM, Taufiq B, Irawan S. (2018). Kontribusi nitrogen dari bakteri endofit pada tanaman padi. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*: 14(1): 1–9. <https://doi.org/10.17146/jair.2018.14.1.4152>
- Zhang D, Spadaro D, Valente S, Garibaldi A, Gullino ML. 2012. Cloning, characterization, expression and antifungal activity of an alkaline serine protease of *Aureobasidium pullulans* PL5 involved in the biological control of postharvest pathogens. *Internasional Journal of Food Microbiology*. 153: 453–464. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.016>
- Zhao Y, Christensen SK, Fankhause C, Cashman JR. 2001. A role of flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science*. 29(1): 306–309. <https://doi.org/10.1126/science.291.5502.306>