

Isolation of endophytic bacteria from the roots of *Gliricidia sepium* and their ability as IAA-producing bacteria and phosphate solubilizers

Nurul Rizqiyah^{1*}, Lalu Zulkifli^{1,2}, Agus Ramdani^{1,2}

¹Program Studi Magister Pendidikan IPA Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;

²Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;

Article History

Received : June 08th, 2022

Revised : June 25th, 2022

Accepted : July 18th, 2022

*Corresponding Author:

Nurul Rizqiyah,

Universitas Mataram, Mataram,
Indonesia

Email: nrpiki18@gmail.com

Abstract: This study aimed to isolate endophytic bacteria from the roots of the gamal plant and to test its ability to solubilize anorganic phosphate and to produce IAA (indol acetic acid). The steps in this study were the isolation of endophytic bacteria from the roots of the gamal plant taken from Woja District, Dompu Regency, the IAA test, and the phosphate solubility test using the colorimetric method. And then carried out the characterization of cells, colonies and biochemical properties of isolates. In this study, 6 isolates of endophytic bacteria from the roots of gamal plants were obtained which can dissolve phosphate, of which two isolates, namely ATG1 and ATG4 with phosphate solubility indices ranging from 3 and 4. These two isolates were also capable of producing IAA, with concentrations 16.48 and 17.72 ppm, respectively. Most of the isolates were Gram positive bacteria and were in the form of bacilli. The endophytic isolates obtained above are isolates that have the potential to be candidates for components of the biofertilizer formulation consortium in the future.

Keywords: *Gliricidia sepium*, root, endophytic bacteria, phosphate, IAA

Pendahuluan

Indonesia adalah negara dengan keanekaragaman hayati flora dan fauna yang tinggi di Indonesia merupakan sumberdaya yang sangat potensial untuk meningkatkan kesejahteraan masyarakat jika dikelola dengan baik. Mengutip data dari BPS (2005) melaporkan bahwa luas lahan pertanian Indonesia sekitar 20 juta ha. Salah satu aspek penting dalam pengembangan pertanian saat ini adalah efisiensi penggunaan pupuk dengan tetap menjaga kesuburan tanah yang berkelanjutan dan mengurangi efek eutrofikasi. Seiring dengan kondisi perubahan iklim telah terjadi penurunan produktivitas sebagai akibat terjadinya stress lingkungan. Berkaitan dengan hal ini, telah banyak penelitian yang menunjukkan peran signifikan komunitas bakteri dalam membantu tanaman untuk menyesuaikan diri dengan berbagai macam cekaman baik abiotik maupun biotik. Salah satu cara untuk mengatasi masalah di atas adalah dengan memanfaatkan bakteri endofit. Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit, berpotensi digunakan sebagai agen

pengendalian hayati dan pemicu pertumbuhan tanaman (Simarmata, 2007; Sathisha, B., 2010). Mikroba berperan penting dalam meningkatkan produktivitas tanaman (Kloepper 1994; Glick 1995).

Pertumbuhan tanaman sangat dipengaruhi oleh penggunaan pupuk anorganik, penggunaan bahan anorganik secara terus menerus berdampak tidak baik bagi sifat fisik, kimia, dan biologi tanah, hal ini menyebabkan kemampuan tanah dalam mendukung ketersediaan hara dan kehidupan mikroorganisme dalam tanah menurun. Oleh karena itu jika tidak segera diatasi maka dalam jangka waktu tidak terlalu lama lahan-lahan tersebut tidak mampu lagi memproduksi secara optimal dan berkelanjutan (Parnata, 2004). Upaya pemanfaatan bahan organik sangat sudah diupayakan, tetapi masih belum optimal. Karena bahan organik memiliki kelebihan untuk meningkatkan kesuburan kimia, fisik, dan biologi tanah, serta mengandung zat pengatur tumbuh yang penting untuk pertumbuhan tanaman. Penggunaan bahan organik dengan memanfaatkan jenis mikroorganisme menjadi alternatif penunjang kebutuhan unsur hara dalam tanah. Bahan organik mengandung unsur hara makro, mikro,serta

mikroorganisme yang berpotensi sebagai perangsang pertumbuhan, dan agen pengendali hama dan penyakit tanaman sehingga baik digunakan sebagai dekomposer, pupuk hayati, dan pestisida organik (Purwasasmita, 2009). Kemampuan mikroorganisme dalam mendukung pertumbuhan tanaman karena mikroorganisme dapat merombak bahan organik dan anorganik sehingga membantu penyediaan unsur unsur hara di dalam tanah.

Salah satu sifat mikroorganisme yang penting terkait penyediaan unsur hara adalah kemampuannya sebagai pelarut fosfat terdiri atas bakteri. Kelompok bakteri pelarut fosfat yang banyak terdapat pada lahan pertanian di Indonesia berasal dari genus *Enterobacter* dan *Mycobacterium* (Gunarto dan Nurhayati, 1994).

Mikroorganisme ini hidup terutama di sekitar perakaran tanaman, yaitu di daerah permukaan tanah sampai kedalaman 25 cm dari permukaan tanah. Keberadaan mikroorganisme ini berkaitan dengan banyaknya jumlah bahan organik yang secara langsung mempengaruhi jumlah dan aktivitas hidupnya. Akar tanaman mempengaruhi kehidupan mikroorganisme dan secara fisiologis mikroorganisme yang berada dekat dengan daerah perakaran akan lebih aktif daripada yang hidup jauh dari daerah perakaran. Di dalam tanah fosfat dapat berbentuk organik dan anorganik yang merupakan sumber fosfat penting bagi tanaman. Fosfat organik berasal dari bahan organik, sedangkan fosfat anorganik berasal dari mineral-mineral yang mengandung fosfat.

Mekanisme pelarutan fosfat secara kimia merupakan mekanisme pelarutan fosfat utama yang dilakukan oleh mikroorganisme. Pelarutan fosfat secara biologis terjadi karena mikroorganisme tersebut menghasilkan enzim antara lain enzim fosfatase (Lynch, 1983) dan enzim fitase (Alexander, 1977). Fosfatase merupakan enzim yang akan dihasilkan apabila ketersediaan fosfat rendah. Fosfatase diekskresikan oleh akar tanaman dan mikroorganisme dan di dalam tanah yang lebih dominan adalah fosfatase yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Joner *et al.*, 2000). Pada proses mineralisasi bahan organik, senyawa fosfat organik diuraikan menjadi bentuk fosfat anorganik yang tersedia bagi tanaman dengan bantuan enzim fosfatase. Enzim fosfatase dapat memutuskan fosfat yang terikat oleh senyawa organik menjadi bentuk yang tersedia. Penguraian fosfat ini tidak lepas dari peran bakteri-bakteri dalam pemecahan

setiap unsur hara tersebut. selain itu, bakteri juga mampu menjadi agen pertumbuhan tanaman.

Beberapa bakteri diketahui mampu menghasilkan dan mensintesis Indole-3-Acetic Acid (IAA) seperti *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Serratia* dan *Pseudomonas*. Frankenberger dan Arshad (1995), menambahkan bahwa produksi IAA sangat bervariasi antar spesies dan strain dalam genera yang sama dan juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, tingkat pertumbuhan dan ketersediaan substrat seperti asamamino. IAA merupakan salah satu hormon pertumbuhan yang berperan untuk memacu pertumbuhan karena memicu pembelahan dan pembesaran sel tanaman terkait dengan pertunasan pembentukan akar (Haq & Dahot 2007). Terdapat beberapa bakteri yang dapat menghasilkan IAA diantaranya *Pseudomonas* sp. dan *Azotobacter* sp. (Isroi 2002).

Bakteri *Azotobacter* sp. dapat menguraikan N menjadi amonium dan menghasilkan fitohormon. Selain itu bakteri *Azotobacter* sp. dapat pula memperbaiki tajuk, tinggi dan akar tanaman. Selain menghasilkan hormon tumbuh seperti IAA, bakteri juga mampu menghasilkan vitamin dan berbagai asam organik yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan bulu-bulu akar.

Beberapa tahun terakhir ini penggalian sumber daya mikrobial yakni bakteri yang terdapat didalam jaringan tanaman mulai banyak mendapat perhatian salah satunya pada tanaman bawang merah. Bakteri endofit yang biasa bersimbiosis dengan tanaman juga dapat menjadi sumber strain yang menjanjikan dibandingkan dengan bakteri rizosfer karena kurangnya kompetisi dengan bakteri lain dalam apoplast. Hubungan simbiosis antara bakteri endofit dengan tanaman dapat bersifat netral, mutualisme atau komensalisme (Bacon & Hinton, 2006). Bakteri endofit adalah bakteri yang mengkolonisasi jaringan tanaman sehat tanpa menyebabkan gejala atau luka pada inangnya dan dapat hidup pada bagian tanaman seperti akar, batang, dan daun. Bakteri endofit dapat berperan sebagai Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan cara memproduksi zat pengatur tumbuh dan meningkatkan ketersediaan nutrisi (Glickman *et al.*, 1995), meningkatkan induksi resistensi tanaman inang terhadap patogen dan parasit, membantu fiksasi nitrogen, dan menghasilkan antibiotik (Bhore *et al.*, 2010). Beberapa bakteri endofit tersebut diketahui dapat melarutkan Fosfat dan menghasilkan IAA.

Salah satu family tumbuhan yang dapat digunakan sebagai sumber isolat adalah tumbuhan family leguminoceae (Lestari&Sasongko, 2014). Leguminosae yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber isolat adalah *Gliricidia sepium* yang diketahui dapat tumbuh dengan baik pada lahan kritis (Restu dan Mappangaja, 2005).

Diperkirakan bahwa kemampuan tumbuh yang baik dari tanaman gamal pada lahan kritis didukung oleh adanya bakteri yang memiliki karakter sebagai PGPB (plant growth promoting bacteria), misalnya memiliki kemampuan sebagai pelarut fosfat dan penghasil IAA. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari akar tumbuhan gamal dan selanjutnya mengkarakterisasi dan menguji potensinya sebagai PGPR khususnya terkait kemampuannya sebagai pelarut fosfat dan penghasil IAA.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium mikrobiologi dan laboratorium kimia Jurusan Pendidikan MIPA FKIP Universitas Mataram dari bulan April 2021 – Desember 2021.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain adalah alkohol 70 %, Natrium Hipoklorit (NaOCl) 4%, aquades, tissue, Nutrien Agar (NA), Trypticase Soy Agar (TSA), akar gamal (*Gliricidia sepium*), NaCl 0,9% steril, larutan Kristal violet, larutan lugol, alkohol 70 %, larutan safranin, media NB dan NA (NB), NaCl 0,9 %, media MHA, media sulfit indol motility (SIM) agar, reagent hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%, reagent dimetil-p-fenildiamina hidroklorida 1%, reagent konvaks, media urea agar miring, mediasimmon citrate agar, media MR-VP (metil red – voges proskauer), reagent metil red, reagent barit A dan reagent barit B, NaCl 0,5%, pepton 1%, phenored 1 ml, glukosa 0,2%, sukrosa 0,2%, maltose 0,2%, manitol 0,2%, laktosa 0,2%, medium triple sugar iron agar (TSIA), dan media Pikovskaya

Metode

Isolasi bakteri endofit.

Sampel akar tanaman gamal diambil dari daerah dari Kecamatan Woja Kabupaten Dompus, NTB. Sampel akar selanjutnya dibersihkan dengan air yang mengalir dan dipotong-potong dengan ukuran 5 cm. Potongan sampel tersebut kemudian disterilisasi permukaannya dengan rendam kedalam

alkohol 70% selama 1 menit, Natrium Hipoklorit 4 % selama 5 menit, dibilas dengan aquades sampai hilang aroma dari hipoklorit dan dikeringkan dalam laminar airflow. Potongan sampel yang sudah disterilisasi di potong-potong sepanjang ± 0,5 cm kemudian ditanam dalam media TSA. Media yang sudah mengandung sampel tersebut diinkubasi pada suhu 32^oC dan diamati setiap hari sampai ada pertumbuhan koloni. Selanjutnya terhadap koloni yang tumbuh dilakukan permunian dan selanjutnya disimpan pada media agar miring untuk stock uji selanjutnya.

Uji pelarutan fosfat.

Media Pikovskaya digunakan dalam analisis kualitatif aktivitas pelarutan fosfat dengan Plate screening method. Isolat diinokulasi pada media dengan teknik spot di tengah plate agar secara aseptik. Media selanjutnya diinkubasi pada 28 C ± 2 C selama 7 hari. Zona bening di sekitar koloni yang sedang tumbuh menunjukkan pelarutan fosfat dan diukur sebagai indeks kelarutan fosfat (Edi-Premono, et al., 1996). Sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan broth culture-vanadomolybdo- phosphoric metode dalam media pikovskaya yang mengandung 5000 mg/ml TCP. Kemampuan pelarutan fosfat dari masing-masing isolat diuji menggunakan tricalcium phosphate. Secara aseptik diambil 2 ose isolat kemudian diinokulasikan kedalam media NaCl steril dan di shaker dengan perbandingan kekeruhan Mac Farland 1. Isolat yang sudah dilakukan perbandingan kemudian diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam erlemeyer 25 ml yang berisi media Pikovskaya cair dengan 3 kali pengulangan. Media diinkubasi menggunakan *inkubator shaker* dengan suhu ruang selama dan kecepatan 200 rpm. Konsentrasi fosfat yang terlarut dalam media dihitung secara periodik setiap 2 hari selama 8 hari (Santosa, 2007 dalam Saraswati *et al.*, 2007). Kurva standar dibuat dengan melarutkan 0.02 gr monopotassium fosfat sebagai stok awal yang selanjutnya dibuat pengenceran. Larutan kurva standar yang sudah disiapkan dibaca pada spektrofotometer pada 430 nm. Kurva standar dibuat dengan plotting absorpsi vs konsentrasi P untuk memperoleh persamaan garis regresi yang akan digunakan dalam estimasi fosfat terlarut pada isolate yang diuji.

Uji Penghasil IAA:

Isolat bakteri penghasil IAA dilakukan dengan menggunakan teknik pengenceran serial dengan TSB (Trypticase Soy Broth) sebagai medianya. Koloni yang tumbuh di TSB dipindahkan ke media TSB lainnya dalam duplo (set ganda). Setelah tumbuh selama 24-48 jam, satu set ditambahkan dengan 1 ml larutan Salkowsky untuk setiap cawan petri (1 set); set lainnya digunakan untuk tes lebih lanjut. Ketika koloni berubah merah muda, itu berarti bahwa isolate menghasilkan IAA secara positif. Selanjutnya, dilakukan uji kuantitatif produksi IAA diukur menggunakan metode kolorimetri (Patten & Glick, 2002). Media yang digunakan untuk analisis adalah TSB 50% (setengah kekuatan), dengan komposisi sebagai berikut: 10 g Pepton 10 g, NaCl 2,5 g, Agar-agar, dan air suling 1000 mL. Setelah media disterilkan, prekursor L-Tryptophan 200 ppm ditambahkan ke médium. Untuk Uji kuantitatif dilakukan

pengukuran pada pada λ 530 nm Sebelum analisis kurva standar IAA dibuat.

Karakterisasi biokimia dan fisiologi isolat bakteri:

Uji yang dilakukan dalam karakterisasi morfologi bakteri yaitu pengecatan Gram bakteri endofit dan karakterisasi biokimia dilakukan uji motilitas dan uji katalase, uji hidrolisis pati, uji indol, uji hidrolisis urea, uji *simmon citrate*, uji fermentasi karbohidrat, uji TSI (*Tripel Sugar Iron*).

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Endofit

Isolat dari tanaman gamal (*Gliricidia sepium*) yang berasal dari Desa Bali-bunga Kelurahan Kandai II Kecamatan Woja Kabupaten Dompu diperoleh 6 isolat bakteri endofit (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat bakteri endofit akar tumbuhan gamal

Bagian Tumbuhan Gamal	Jumlah Isolat	Kode Isolat
Akar	6	ATG ₁ , ATG ₂ , ATG ₃ , ATG ₄ , ATG ₅ , ATG ₆

Isolat yang diperoleh kemudian dilakukan karakterisasi isolat yang potensial dengan melakukan pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan melihat bentuk koloni, permukaan, tepi dan warna koloni. Pengamatan mikroskopis meliputi pewarnaan Gram dan uji biokimia. Untuk uji kemampuan melarutkan fosfat bakteri endofit dari tumbuhan gamal dilakukan dengan dua cara yaitu pengujian secara kualitatif dengan melihat adanya zona bening pada media pikovskaya padat dan pengujian secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer dengan melihat nilai absorbansinya. Kemudian untuk uji kemampuan penghasil IAA menggunakan spektrofotometri dengan melihat nilai absorbansinya.

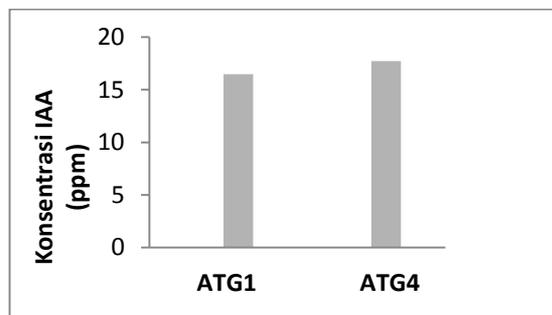
Uji Kuantitatif Kemampuan Penghasil IAA Bakteri Endofit

Adapun data konsentrasi dari dua isolat bakteri endofit akar tanaman gamal (*Gliricidia sepium*) dengan kemampuan sebagai penghasil IAA dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolate endofit ATG1 dan ATG4

No	Isolat	Rata-rata	Konsentrasi IAA (ppm)
1.	ATG ₁	0,788	16,48027
2.	ATG ₄	0,851	17,72299

Data perhitungan diatas dihitung berdasarkan Persamaan yang diperoleh yaitu $y = 19,83x + 0,853$. Hasil yang didapatkan yaitu konsentrasi IAA tertinggi sebesar 17,72 ppm terdapat pada isolat ATG₄, disusul oleh isolat ATG₁ sebesar 16,48 ppm. Kedua isolat ini termasuk bakteri Gram positif, dengan bentuk sel



Gambar 1. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolate ATG1 dan ATG4..

Aktivitas Bakteri Endofit pada uji Kemampuan Melarutkan Fosfat

Uji kemampuan melarutkan fosfat di uji secara kualitatif berdasarkan zona bening yang dihasilkan pada media pikovskaya padat dan uji kuantitatif dilihat dari nilai absorbansinya.

Uji Kemampuan Melarutkan Fosfat Secara Kualitatif

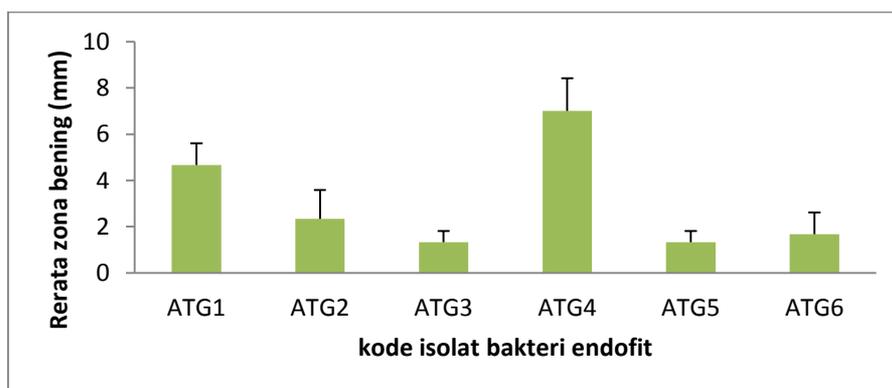
Secara kualitatif diameter zonabening yang terbentuk disekitar isolatdihitung dengan menggunakan rumusindeks kelarutan fosfat menurut Sharon *etal.* (2016) dan uji kuantitatif dihitung berdasarkan nilai absorbansi hasil spektrofotometer.

Tabel 3. Indeks kelarutan fosfat isolate bakteri endofit

Kode isolat	Diameter koloni (mm)	Zona bening (mm)	IKF
ATG ₁	2,3	4,6	3
ATG ₂	1,6	2,3	2,4
ATG ₃	1,6	1,3	1,8
ATG ₄	2,3	7	4
ATG ₅	2,3	1,3	1,5
ATG ₆	1,6	1,6	2

Kemampuan bakteri endofit dalam melarutkan fosfat berbeda-beda. Secara kualitatif indeks kelarutan fosfat berkisar antara 1,5-4. Dalam penelitian ini indeks kelarutan fosfat tertinggi yaitu pada isolat ATG₄ dengan nilai

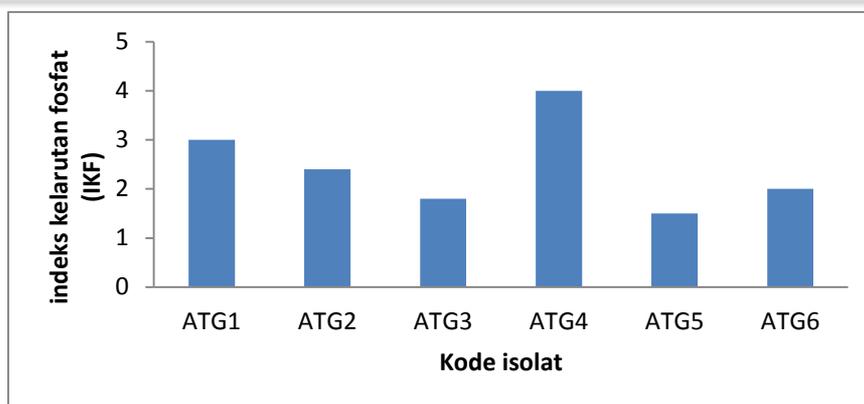
indeks 4 mm dan yang terkecil dihasilkan oleh isolat ATG₅ dengan nilai indeks 1,5 mm. Grafik rata-rata zona bening dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 2 Rata-rata zona bening yang terbentuk oleh isolate bakteri endofit pada media Pikovskaya padat.

Berdasarkan nilai zona bening pada media Pikovskaya padat maka dihitung nilai indeks kelarutan fosfat menggunakan rumus indeks kelarutan fosfat menurut Sharon *etal.* (2016).

$$IKF = \frac{DK + ZB}{DK}$$

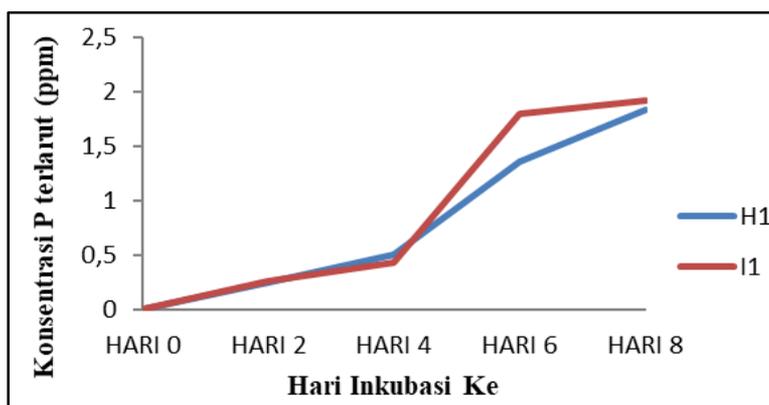


Gambar 3 Indeks kelarutan fosfat bakteri endofit pada media pvikovskaya padat.

Uji Kemampuan Melarutkan Fosfat Secara Kuantitatif

Uji kemampuan melarutkan fosfat secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan alat

spektrofotometer yang diatur panjang gelombangnya pada 430 nm. Data hasil pengukuran nilai absorbansi kelarutan fosfat dapat dilihat pada Tabel dibawah ini.



Gambar 4 Konsentrasi fosfat terlarut (ppm) pada media Pikovskaya cair.

Karakterisasi Biokimia

Uji biokimia pada penelitian ini meliputi uji motilitas, uji katalase, uji hidrolisis pati, uji

simmon sitrat, uji TSI dan uji fermentasi karbohidrat (Glukosa, Sukrosa, Laktosa, dan Maltosa).

Tabel 4 Hasil uji biokimia isolat bakteri endofit akar tumbuhan gamal

Sifat isolat	Bakteri endofit					
	ATG ₁	ATG ₂	ATG ₃	ATG ₄	ATG ₅	ATG ₆
Motilitas	+	+	-	+	-	-
Katalase	-	-	-	-	-	-
Hidrolisis pati	+	-	-	+	-	-
Indol	-	-	-	-	+	-
Simmon citrate	-	-	-	-	-	-
TSI	+	+	+	+	+	+
Ferementasi karbohidrat	+	-	-	+	-	-

Keterangan: Uji Triple Sugar Iron (TSI), Uji Simon's Citrate (SC), negatif (-), positif (+)

Isolat bakteri endofit akar tumbuhan gamal menunjukkan karakter biokimia dan fisiologis yang bervariasi (Taebel 4).

Bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil melalui banyak cara, termasuk produksi fitohormon IAA dan memproduksi siderophor (Jalgaonwala dan Mahaja, 2011). Mekanisme penekanan penyakit dari bakteri endofit bersifat tidak langsung berupa induksi ketahanan. Bakteri endofit diintroduksi pada benih sehingga dapat melindungi tanaman pada saat patogen masuk (Resti *et al.*, 2013). Hallman *et al.*, (2000) menyatakan strain bakteri endofit dari awal dapat mengkolonisasi jaringan korteks akar dan merangsang pertahanan tanaman. Sifat terpenting bagi bakteri endofit untuk mampu sebagai agen pengendali hayati adalah kemampuan kolonisasi yang cepat pada jaringan inang. Kelompok *Bacillus* dapat menekan insidensi dan severitas dari berbagai penyakit pada berbagai tanaman. Mekanisme yang terjadi pada penekanan penyakit tersebut adalah induksi ketahanan sistemik (Induced Systemic Resistance) (Klopper *et al.*, 2004).

Penelitian Handini dan Nawangsih (2014) yaitu menentukan keefektifan bakteri endofit dan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman sebagai agen hayati untuk penyakit layu bakteri pada tomat. Isolat bakteri perakaran pemacu pertumbuhan adalah *Bacillus*. Beberapa mikroorganisme zat beracun yang dikenal sebagai toksin. Toksin yang dihasilkan mikroorganisme mungkin disekresikan ke medium disekitarnya (eksotoksin) atau disimpan didalam selnya (endotoksin) sebagai bagian dari sel tersebut. Banyak mikroorganisme terutama bakteri gram negatif, tidak mengsekresikan toksin terlarut dari sel utuh lagi hidup, tetapi menghasilkan endotoksin yang dilepaskan hanya bila sel nya hancur. Dibandingkan dengan eksotoksin, endotoksi relatif lebih stabil terhadap panas tidak membentuk toksoid dan kurang toksik (Dwidjoseputra, 2005).

Berdasarkan pada hasil penelitian yang diperoleh 6 isolat bakteri endofit yang telah diisolasi dari tanaman gamal (*Gliricidia sepium*) terdapat 2 isolat bakteri endofit yang menunjukkan adanya kemampuan dalam melarutkan fosfat yaitu isolat ATG1 dan ATG4. Keempat isolat bakteri endofit tersebut menunjukkan kemampuannya dalam melarutkan

fosfat dengan terbentuknya zona bening disekitar isolat. Indeks kelarutan fosfat secara kualitatif dihitung dengan menggunakan ketentuan rumus dari Sharon *et al.* (2016). Berdasarkan indeks kelarutan fosfat secara kualitatif, isolat bakteri dengan kode ATG₄ dan ATG₁ merupakan isolat dengan indeks kelarutan fosfat tertinggi yang secara berurutan memiliki indeks kelarutan fosfat sebesar 4 dan 3. Zona bening yang dihasilkan oleh isolat-isolat tersebut menunjukkan adanya aktivitas pelarutan fosfat oleh bakteri endofit tersebut. Zona bening terbentuk akibat terlarutnya fosfat tidak terlarut menjadi bentuk terlarut oleh bakteri pelarut fosfat karena bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim fosfatase (Larasati dkk, 2018).

Kemampuan melarutkan fosfat secara kuantitatif yang telah dilakukan diperoleh hasil yaitu 4 isolat bakteri endofit menunjukkan nilai absorbansi yang berbeda dengan nilai absorbansi pada kontrol. Larutan kontrol dibuat dengan tidak menginokulasikan bakteri apapun sehingga hanya berisi media fosfat yang sukar larut. Adanya perbedaan nilai absorbansi antara isolat ATG₂, ATG₆, ATG₃ dan ATG₅ dengan kontrol ini menunjukkan adanya aktivitas pelarutan fosfat oleh bakteri endofit tersebut pada media Pikoskaya cair yang mengandung Ca₃(PO₄)₂ sebagai sumber fosfat. Sedangkan untuk 2 isolat yang lain yang menunjukkan nilai absorbansi yang cukup dekat dengan kontrol menunjukkan bahwa tidak ada aktivitas pelarutan fosfat oleh bakteri endofit dan menunjukkan masih tingginya kadar fosfat yang sukar larut. Hasil uji kuantitatif ini menunjukkan bahwa bakteri endofit yang sebelumnya membentuk zona bening pada media pvikoskaya padat belum cukup efektif untuk menentukan bakteri tersebut mampu melarutkan fosfat. Selvi *et al.* (2017) menyatakan bahwa setiap bakteri pelarut fosfat yang diuji secara kualitatif dan kuantitatif menunjukkan kemampuan dalam meningkatkan kelarutan fosfat pada media pvikoskaya cair berbeda.

Kesimpulan

Dalam penelitian ini diperoleh 6 isolat bakteri endofit akar tumbuhan gamal yang dapat melarutkan fosfat, dimana dua isolat, yaitu ATG1 dan ATG4 dengan indeks kelarutan fosfat berkisar 3 dan 4. Kedua isolate ini juga

merupakan isolate yang mampu menghasilkan IAA. Isolat endofit yang diperoleh di atas merupakan isolate yang potensial dijadikan kandidat komponen konsorsium formulasi biofertilizer di masa yang akan datang.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Rektor Universitas Mataram, karena sebagian pendanaan penelitian ini disupport dari bantuan pendanaan penelitian melalui dana PNPB tahun 2020 kepada LZ, dengan no kontrak: 2632/UN18.L1/PP/2020. Terima kasih juga disampaikan kepada ketua dan laboran pada laboratorium mikrobiologi FKIP Unram atas bantuan teknis dan kerjasamanya.

Referensi

- Alexander, M. (1977). *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd Ed. John Wiley and Sons. New York. 467p.
- Bhore SJ, & Sathisha G. (2010). Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumercotyledon bioassay. *World J. Agric. Sci.* 6 (4): 345-352. URL : [http://www.idosi.org/wjas/wjas6\(4\)/2.df](http://www.idosi.org/wjas/wjas6(4)/2.df)
- Castillo U, et al. (2003). Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* sp.NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia*. *FEMS Microbiol. Lett.* 224: 180-190. DOI: [https://doi.org/10.1016/S03781097\(03\)0426-9](https://doi.org/10.1016/S03781097(03)0426-9)
- Dwidjosaputro, D. (2005). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Frankenberger WT, Arshad M. 1995. *Phytohormones in Soils: Microbial Production and Function*. New York: Marcel Dekker. DOI: 10.1201/9780367812256
- Gunarto, L. & L. Nurhayati (1994). Karakterisasi dan identifikasi bakteri pelarut fosfat pada tanah-tanah di Indonesia. Makalah disampaikan pada Seminar Tahunan 1994 Hasil Penelitian Tanaman Pangan, Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor, 29-30 Maret 1994. DOI: 10.24114/jbio.v2i2.4219
- Glick, B. R., Karaturovic, D. M., & Newell, P. C. (1995). A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Canadian journal of microbiology*, 41(6), 533-536. DOI: <https://doi.org/10.1139/m95-070>
- Hallman J, Hallmann AQ, Miller WG, Sikkora RA, & Lindow SE. (2000). Endohyptic colonization of plants by the biocontrol agent *Rhizobium etli* G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. *Phytopathol.* 91: 10 No. 2. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.4.415>
- Handini ZVT & Nawangsih AA., (2014). Keefektifan bakteri endofit dan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman dalam menekan penyakit layu bakteri pada tomat. *Jurnal fitopalogi Indonesia*. ISSN: 2339-3479. Vol. 10 No. 2. DOI : <https://doi.org/10.14692/jfi.10.2.61>
- Haq I, Dahot MU. (2007). Micro-propagation efficiency in banana (*Musa* spp.) under different immersion systems. *Pak J Biol Sci* 10:726-733. DOI: 10.3923/pjbs.2007.726.733
- Isroi (2002). Bioteknologi bakteri untuk pertanian organik. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0412/17/ilpeng/1442850>. Htm. [21 Juli 2012]. URL: <http://www.ijbps.net/.../39.pdf>
- Jalgaonwala RE & Mahara RT. (2011). Isolation and characterization of endophytic bacteria from roots of *Pongamia glabra* Vent. *Int. J. Pharma and Bio Sci.* 1: 280-287. URL: <https://www.jstor.org/stable/42950891>
- Joner, E.J., I.M. Aarle, and M. Vosatka. (2000). Phosphatase activity of extraradical arbuscular mycorrhiza hyphae: a review. *Plant Soil* 226: 199- 210. DOI: <https://doi.org/10.7454/mss.v15i1.877>
- Juniarti Departemen Biokimia, F. K. (2011). Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara Journal of Science*. DOI:

- <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259>
- Kloepper JW, Ryu CM, & Zhang S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus spp.* *Phytophatol.* 94: 1259-1266. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>
- Kloepper, J. W. (1994). Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems). *Azospirillum/plant associations*, 187, 137-166.
- Larasati, E. D., Rukmi M. G. I., Kusdiyantini E. dan Ginting R. C. B. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat dari Tanah Gambut. *Bioma*. 20 (1): 1-8.
- Lestari, V., & Sasongko, H. (2014). Keanekaragaman Jenis Suku Leguminosae di Kawasan Plawangan Taman Nasional Gunung Merapi Sebagai Alternatif Sumber Belajar Biologi Siswa SMA Kelas X. *Jurnal Penelitian Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 1(1), 129-132.
- Lynch, J.M. 1983. *Soil Biotechnology*: Blackwell Sci. Pub. Co., London. 191 p. <http://36.89.24.67.82/layananjabar/opac/detail-opac?id=26448>
- Parnata, A.S. 2004, Pupuk Organik Cair Aplikasi dan Manfaatnya. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Purwasasmita, M. 2009. Pemanfaatan Larutan MOL. <http://riefarm.blogspot.com/>
- Tanggal akses 2 Juli 2012. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.213167-178>
- Resti Z, Habazar T, Putra DP, Nasrun. 2013. Skrining dan identifikasi Isolat Bakteri Endofit Untuk Mengendalikan Penyakit Hawar Daun Bakteri Pada Bawang Merah. *J. HPT Tropika*. Vol. 13, No. 2: 167-178. <https://doi.org/10.2459/perennial.v2i1.150>
- Restu, M. dan B. Mappangaja. 2005. Produksi Polong Dan Biji Tanaman Gamal (*Gliricidia Sepium*) Dari Berbagai Provenansi Dengan Pemupukan NPK.
- Selvi, K. B., Paul J., Vijaya V. and Saraswathi K. 2017. Analyzing the Efficacy of Phosphate Solubilizing Microorganism by Enrichment by Culture and Techniques. *Biochemistry and Molecular Biology Journal*. 1 (1):1-7. DOI 10.23869/331
- Simarmata, R., Lekatompessy, S., & Sukiman, H. (2007). Isolasi Bakteri Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura Procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antibakteri. *Berkala Penelitian Hayati*, 13(1), 85-90.
- Sharon, J. A., Hathwaik L.T., Glenn G.M., Imam S. H. dan Lee C. C. 2016. Isolation of Efficient Phosphate Solubilizing Bacteria Capable of Enhancing Tomato Plant Growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 16 (2): 525-536.