

## KAJIAN TOLERANSI CEKAMAN OSMOTIK BAKTERI ENDOFITIK PADI SEBAGAI PUPUK HAYATI LAHAN KERING

Ali Ikhwan, Sufianto dan Heny Dwi Sartika  
Universitas Muhammadiyah Malang  
ikhwan\_umm@yahoo.com

**ABSTRAK.** Salah satu upaya untuk mengurangi penggunaan bahan kimia dapat dilakukan dengan pemanfaatan bakteri endofit sebagai agensia pupuk hayati yang dapat mengembalikan hasil produksi secara optimum dan menjaga kesuburan tanah. Penelitian ini bertujuan untuk menguji isolat bakteri endofit sebagai agensi pupuk hayati (*biofertilizer*) pada tanaman padi yang toleran terhadap cekaman osmotik atau kekeringan.

Penelitian dilakukan dengan mengamati 5 isolat bakteri endofitik padi (IM-1, IM-3, IM-10, IM-11, IM-12) meliputi uji pertumbuhan bakteri endofitik padi pada kondisi cekaman osmotik, uji produksi hormon pertumbuhan dan metabolit osmoprotektan menggunakan *Gas Chromatograph Mass Spectrometer* QP 2010 SE.

Hasil pengamatan menunjukkan semua isolat (IM-1, IM-3, IM-10, IM-11, IM-12) mampu mensintesis 12 senyawa metabolit yang berperan sebagai hormon pengatur pertumbuhan yaitu *Trigonelline*, *Pyri-doxine*, *Indole 3 acetic acid*, *Indole 3 butyric acid*, *Kinetin*, *Pantothenic acid*, *Zeatin*, *Dehydro-vomofoliol*, *Nicotinamine*, *Tricin*,  $GA_3$ ,  $GA_1$  dan *Riboflavin*. Selain itu pada kondisi cekaman osmotik, isolat tersebut juga mensintesis *Pantothenic acid* yang berfungsi sebagai osmoprotektan sehingga tolerans terhadap cekaman osmotik atau kekeringan.

**Kata Kunci:** Cekaman, Osmotik, Bakteri, Endofitik, Padi

### PENDAHULUAN

Pertanian saat ini sangat bergantung pada penggunaan bahan-bahan kimia diantaranya pupuk sintesis, fungisida dan pestisida yang ditujukan untuk meningkatkan hasil pertanian. Penggunaan pupuk kimia ini apabila dilakukan dalam waktu yang lama akan mengakibatkan dampak negatif pada lingkungan. Salah satu upaya untuk mengurangi penggunaan bahan kimia dapat dilakukan dengan pemanfaatan bakteri endofit sebagai agensi pupuk hayati dari tanaman yang dapat mengembalikan hasil produk optimum dan menjaga kesuburan tanah.

Mikroorganisme yang umum digunakan sebagai bahan aktif pupuk hayati ialah mikroba penambat nitrogen, pelarut fosfat dan pemantap agregat (Rao, 1982). Kirchof *et al.* (1997) mengusulkan bahwa untuk mengetahui pola interaksi bakteri endofit dengan tanaman perlu dipahami mekanisme interaksinya. Interaksi antara bakteri endofit dengan tanaman padi merupakan bentuk asosiasi baru yang berpotensi dapat mengacu penggunaan bakteri endofit sebagai agensi hayati. Pola interaksi tersebut belum banyak diteliti sehingga masih banyak aspek yang belum diketahui mengenai potensi dan mekanisme bakteri endofitik tersebut pada tanaman padi.

Hasil penelitian sebelumnya telah diperoleh 32 isolat bakteri endofit padi dari beberapa varietas padi. Bakteri tersebut berpotensi sebagai agensia pupuk hayati pada tanaman padi beras merah, beras hitam, mentik wangi dan ketan merah. Namun dalam penelitian tersebut belum dikaji potensinya sebagai pupuk hayati (*biofertilizer*) pada kondisi cekaman osmotik atau kekeringan dan mekanisme interaksinya terhadap tanaman padi dan teknologi produksi sebagai pupuk hayati. Oleh karena itu, penelitian ini dimaksudkan untuk memperoleh isolat unggul bakteri endofitik padi yang toleran terhadap cekaman osmotik atau kekeringan yang berpotensi sebagai pupuk hayati di lahan kering yang siap digunakan oleh petani.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan mengamati 5 isolat bakteri endofitik padi (IM-1, IM-3, IM-10, IM-11, IM-12) meliputi uji pertumbuhan bakteri endofitik padi pada kondisi cekaman osmotik, uji kemampuan produksi hormon pertumbuhan dan sintesis metabolit osmoprotektan dengan menggunakan *Gas Chromatograph Mass Spectrometer* (GCMS).

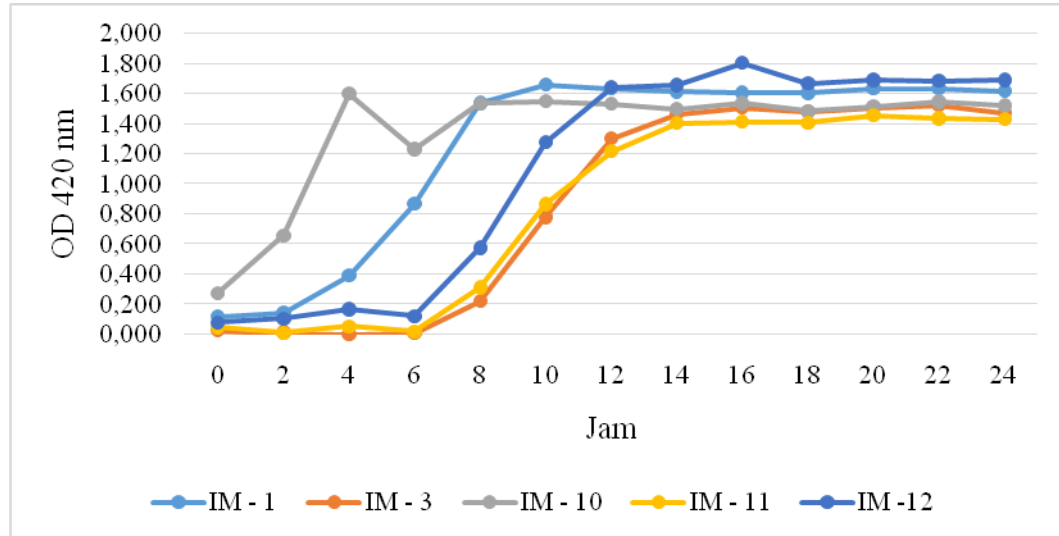
Uji pertumbuhan isolat dalam kondisi cekaman osmotik menggunakan media M63 + cekaman osmotik 0,5 g NaCl. Pertumbuhan diamati secara spektrofotometri dengan panjang gelombang 420 nm dan diamati tiap 2 jam sekali sampai mencapai pertumbuhan stasioner. Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk kurva pertumbuhan dan dianalisis kecenderungan pertumbuhannya.

Uji produksi hormon pertumbuhan dan metabolit osmoprotektan menggunakan GCMS. Isolat bakteri endofitik ditumbuhkan medium cair M63 + 2 mM triptofan + cekaman osmotik 0,5 g NaCl selama 5 hari. Sel dipanen dengan sentrifugasi 4000 rpm selama 5 menit dan supernatan yang diperoleh diambil sebanyak 2,5 ml kemudian diekstraksi dengan etanol absolut 2,5 ml divortek kuat dan dipekatkan dengan etanol dingin sebanyak. Selanjutnya disentrifugasi kembali dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit dan pelet diresuspensi dengan menggunakan etanol absolut sebanyak 100 µl dan siap dianalisis. Sampel dianalisis dengan menggunakan GCMS QP 2010 SE, dengan kolom tipe ZB - AAA (10 mL x 0,25 mm.D (Phenomenex Inc), kuantitas injeksi 1 µl, temperatur evaporasi 280 °C, gas pembawa helium, kisaran massa m/z 45 - 400 (3,33 u/detik) dan kecepatan aliran dalam kolom 0,6 ml/min.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Analisis Pertumbuhan Bakteri Endofitik Padi Pada Cekaman Osmotik (kekeringan)

Pertumbuhan isolat bakteri endofitik dapat dilihat berdasarkan nilai OD (*Optical Density*) atau nilai absorbansi yang dihasilkan. Nilai OD tersebut merupakan nilai yang menunjukkan tinggi rendahnya populasi bakteri dalam suatu media. Pada kondisi cekaman osmotik 0,5 g NaCl menunjukkan isolat IM-10 memiliki fase pertumbuhan yang sangat cepat (*fast grower*) dibandingkan isolat yang lainnya, serta fase eksponensial yang sangat cepat pada umur 8 jam setelah inokulasi. Isolat IM-1 memiliki fase adaptasi relatif singkat serta fase pertumbuhan yang relatif cepat. Isolat IM-3, IM-11, dan IM-12 menunjukkan fase adaptasi relatif lambat karena membutuhkan waktu adaptasi hingga umur 6 jam, tetapi tidak menunjukkan titik eksponensial yang berbeda. Pertumbuhan yang relatif sama terjadi pada isolat IM-3 dan IM-11. Rolfe, *et al.*, (2012) menyatakan bahwa fase adaptasi (*lag phase*) merupakan periode awal kehidupan dari populasi bakteri ketika sel-sel mulai menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru, sebelum memulai pertumbuhan eksponensial.



**Gambar 1.** Pola pertumbuhan isolat bakteri endofitik padi pada media M6 + 0,5 g NaCl

## 2. Analisis Metabolit Hormon Pertumbuhan dengan Menggunakan Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GCMS)

Uji Produksi hormon pertumbuhan dan senyawa organik dari 5 isolat bakteri endofitik padi menggunakan GCMS disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan pengamatan uji produksi hormon pertumbuhan menggunakan GCMS, diketahui bahwa semua isolat bakteri endofitik padi yang diujikan memiliki kemampuan dalam memproduksi hormon pertumbuhan. Tiga belas senyawa yang diproduksi tidak semua terdapat pada 5 isolat yang diuji, hanya isolat IM-1, IM-10 dan IM-11 yang mampu memproduksi semua senyawa sedangkan, isolat IM-3 dan IM-12 tidak memproduksi beberapa senyawa tersebut. Menurut Widiawati (2012), menyatakan bahwa tingginya nilai OD tidak menentukan besarnya konsentrasi hormon yang dihasilkan oleh suatu bakteri. Kemungkinan hal tersebut disebabkan oleh metode pengukuran OD yang hanya mendeteksi tingkat kekeruhan ekstrak, sehingga bakteri yang sudah mati pun dalam ekstrak tersebut turut terdeteksi.

**Tabel 1.** Jenis dan konsentrasi hormon pertumbuhan serta senyawa organik 5 isolat bakteri endofitik padi

Jenis Hormon Pertumbuhan dan Senyawa Organik	Konsentrasi Hormon Pertumbuhan dan Senyawa Organik 5 Isolat Bakteri Edofitik Padi (%)				
	IM-1	IM-3	IM-10	IM-11	IM-12
<i>Trigonelline</i>	0.047	-	0.040	0.008	-
<i>Pyridoxine</i>	0.122	0.104	0.106	0.097	0.111
<i>Indole 3 acetic acid</i>	0.529	0.757	0.540	0.655	0.644
<i>Indole 3 butyric acid</i>	0.857	0.934	0.873	1.193	1.324
Kinetin	0.416	0.490	0.409	0.340	-
Zeatin	0.460	0.306	0.460	0.392	0.056
<i>Dehydrovomofoliol</i>	0.072	-	0.059	0.014	0.448
<i>Nicotinamine</i>	0.320	-	0.322	0.059	0.048
Tricin	0.039	-	0.020	0.020	-
GA <sub>3</sub>	0.432	0.771	0.479	0.483	0.416
GA <sub>1</sub>	0.342	0.491	0.375	0.426	0.497
Riboflavin	0.185	-	0.191	0.202	0.081

Trigonelline (asam N-methylnicotinic) adalah metabolit dari *nicotinamide*. *Trigonelline* merupakan alkaloid dengan rumus kimia  $C_7H_7NO_2$ . Ini adalah zwitterion dibentuk oleh metilasi dari atom nitrogen dari niacin (vitamin B3). Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan *Trigonelline* paling tinggi adalah IM-1 dengan konsentrasi 0,047%.

*Pyridoxine* (vitamin B<sub>6</sub>) termasuk dalam kelompok vitamin B kompleks yang berperan penting dalam metabolisme protein, dimana piridoksal fosfat merupakan suatu koenzim untuk berbagai reaksi kimia yang berkaitan dengan metabolisme protein dan asam amino (Anonimous, 2015). Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan *pyridoxin* paling tinggi adalah IM-1 dengan konsentrasi 0,112%.

*Indole 3 Acetic Acid* (IAA) atau yang lebih dikenal dengan sebutan hormon auksin merupakan salah satu hormon endogenous yang berperan dalam memacu pertumbuhan tanaman dengan meningkatkan proses elongasi sel dan perpanjangan batang seperti halnya diferensiasi sel (Tarabily *et al.*, 2003). Pada jaringan tanaman, IAA paling banyak disintesis diberbagai bagian tubuh tanaman yang sedang aktif membelah, tumbuh, dan berkembang seperti ujung tunas, akar, kambium, daun-daun muda, bagian bunga yang sedang berkembang, buah, dan tumor pada fase pertumbuhan aktif (Rismunandar, 1999). Bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan hormon IAA paling tinggi adalah IM-3 dengan konsentrasi 0,757%.

*Indole 3 Butyric Acid* (IBA) merupakan jenis auksin sintesis yang tidak mengakibatkan tanaman teracuni pada konsentrasi tinggi dan efektif untuk membantu perakaran pada tanaman. Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan hormon IBA paling tinggi adalah IM-12 dengan konsentrasi 1.324%.

Kinetin merupakan zat pengatur tumbuh yang tergolong ke dalam sitokinin, yang dalam penggunaannya dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh lainnya. Sitokinin mempengaruhi berbagai proses fisiologi di dalam tanaman. Aktivitas yang utama dari sitokinin adalah sitokinesis atau pembelahan sel. (Wattimena, 1992). Isolat yang paling tinggi menghasilkan hormon kinetin (sitokinin) adalah IM-3 dengan konsentrasi 0,490%.

Zeatin adalah sitokinin yang disintesis secara alamiah, sedangkan kinetin dan BA adalah sitokinin sintetis (Zulkarnain, 2009). Biosintesis zeatin terutama di ujung akar dan dalam biji yang sedang berkembang (Wattimena dkk., 1992). Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan asam pantotenat paling tinggi adalah IM-12 dan IM-10 dengan konsentrasi 0.46%.

*Dehydrovomofolol* merupakan produk oksidasi, yang selanjutnya merupakan perantara dalam sintesis pada asam inhibitor-absisat perkecambahan pertumbuhan tanaman (Robert *et al.*, 1968). Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan asam pantotenat paling tinggi adalah IM-12 dengan konsentrasi 0.448%.

*Nicotinamide* adalah bentuk aktif, yang berfungsi sebagai ko-faktor dari dua koenzim, yaitu *nicotinamide adenin dinucleotide* (NAD) dan *nicotinamide adenin dinucleotide phosphate* (NADP). Dalam bentuk koenzim ini, fungsi niacin dibanyak reaksi redoks biologis yang mengaktifkan sekitar 200 dehydrogenases penting untuk transpor elektron dan reaksi pernapasan seluler lainnya. Fungsi NAD sebagai ko-faktor pembawa untuk respirasi intraseluler serta ko-faktor untuk enzim yang terlibat dalam oksidasi (katabolisme) dari lemak, protein, karbohidrat dan alkohol untuk menghasilkan energi. Fungsi NADP sebagai donor hidrogen dalam reduktif biosintesis (anabolisme), seperti di asam lemak dan sintesis steroid. Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan *Nicotinamide* paling tinggi adalah IM-10 dengan konsentrasi 0,322%.

Tricin adalah senyawa kimia O-metilasi flavon, jenis flavonoid. Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan Tricin paling tinggi adalah IM-1 dengan konsentrasi 0.039%.

Giberellin merupakan senyawa *diterpenoid*. Terdapat bermacam-macam bentuk giberellin yaitu GA<sub>1</sub>, GA<sub>2</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>52</sub>. Menurut Hutty dan Philips (1995) dalam Saut (2002) menyebutkan bahwa giberellin adalah satu kelompok dari giberellin yang mengontrol proses-proses perkembangan tanaman yang meliputi: perkecambahan, perpanjangan sel, dan perkembangan bunga dan biji. Isolat yang mampu menghasilkan hormon GA<sub>3</sub> dan GA<sub>1</sub> paling tinggi adalah IM-3 dengan konsentrasi 0.771% dan IM-12, dengan konsentrasi 0.497%.

Riboflavin merupakan pendahulu dari *mononukleotida koenzim flavin* (FMN) dan *flavin adenin dinukleotida* (FAD). Koenzim ini sangat penting dalam respirasi jaringan normal, aktivasi *pyridoxine*, triptofan untuk konversi niacin, lemak, karbohidrat, dan protein, dan glutathion reduktase dimediasi detoksifikasi. Riboflavin (vitamin B<sub>2</sub>) berfungsi sebagai koenzim untuk berbagai reaksi oksidasi-reduksi dalam beberapa jalur metabolisme dan produksi energi. Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan Ribo-flavin paling tinggi adalah IM-11 dengan konsentrasi 0.202%.

### 3. Analisis Senyawa Osmoprotektan Menggunakan Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GCMS)

Berdasarkan pengamatan pada media M63 + 0,5g NaCl isolat IM-12 memiliki *pantoteic acid* yang paling tinggi sebesar 0,270%. *Pantothenic acid* (vitamin B<sub>5</sub>) adalah butiril-beta-alanine yang juga dapat dilihat sebagai asam pantoic kompleks dengan BETA alanin. Hal ini dimasukkan ke dalam koenzim A dan melindungi sel terhadap kerusakan peroxidatif dengan meningkatkan tingkat glutathione. Vitamin B<sub>5</sub> adalah komponen koenzim A (CoA) dan bagian dari kompleks vitamin B<sub>2</sub>. Vitamin B<sub>2</sub> merupakan faktor pertumbuhan dan sangat penting untuk berbagai fungsi metabolisme, termasuk metabolisme karbohidrat, protein, dan asam lemak. Isolat bakteri endofitik padi yang memiliki kemampuan menghasilkan asam pantotenat paling tinggi adalah IM-12 dengan konsentrasi 0,270% seperti terlihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Senyawa osmoprotektan 5 isolat bakteri endofitik padi

Senyawa Osmoprotektan	Konsentrasi Hormon Pertumbuhan dan Senyawa Organik 5 Isolat Bakteri Endofitik Padi (%)				
	IM-1	IM-3	IM-10	IM-11	IM-12
<i>Pantothenic acid</i>	0.169	0.144	0.120	0.104	0.270

Pada kondisi cekaman osmotik semua bakteri endofitik mensintesis *pantoteic acid*. *Pantoteic acid* adalah senyawa amida turunan asam amino yang dapat berfungsi sebagai osmoprotektan untuk mengatasi cekaman osmotik. Senyawa osmo-protektan adalah senyawa osmotik terlarut yang berfungsi untuk menyeimbangkan tekanan osmotik sitoplasma sel dengan lingkungan. Pada *limonium latifolium* salah satu spesies halopitip dari family plumbaginaceae, beta-alanin juga termetilasi menjadi beta-alanin-betain suatu osmoprotektan. Terdapat hal yang menarik dalam sintesis beta-alanin. Beta-alanin ditemukan dapat meningkatkan respon terhadap cekaman osmotik lingkungan (Rathina-sabapahi *et al.*, 2000).

## KESIMPULAN

Hasil pengamatan menunjukkan semua isolat (IM-1, IM-3, IM-10, IM-11, IM-12) mampu mensintesis 12 senyawa metabolit yang berperan sebagai hormon pengatur pertumbuhan yaitu *Trigonelline*, *Pyridoxine*, *Indole 3 acetic acid*, *Indole 3 butyric acid*, Kinetin, *Pantothenic acid*, Zeatin, *Dehydro-vomofoliol*, *Nicotinamine*, Tricin, GA<sub>3</sub>, GA<sub>1</sub> dan Riboflavin. Selain itu pada kondisi cekaman osmotik, isolat tersebut juga mensintesis *Pantothenic acid* yang berfungsi sebagai osmoprotektan sehingga tolerans terhadap cekaman osmotik atau kekeringan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2015. Niacin and pyridoxine. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. diakses pada tanggal 30 Juli 2015.
- Mujibur, M.R. 2013. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Endofit dari Empat Jenis Tanaman Padi dalam Menambat N dan Mensintesis Hormon IAA Ekstraseluler. [Skripsi] Malang. Fakultas Pertanian-Peternakan. Universitas Muhammadiyah Malang.

- Rao, N. S. S. 1982. *Advances in Agricultural Microbiology*. Bombay: Oxford and IBH Publishing Co.
- Rathinasabapathi, B., Sigua, C.A., Ho, J. and Gage, D.A. (2000) *Osmoprotectant  $\beta$ -alanine betaine synthesis in the: S-adenosyl-L-methionine dependent N- of  $\beta$ -alanine to its betaine is via N-methyl and N, N-dimethyl  $\beta$ -alanines*. *Physiol. Plant.* 109, 225-231.
- Rismunandar. 1999. *HormonTanamandanTernak*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Roberts, D. L.; Heckman, R. A.; Hege, B. P.; Bellin, S. A. *Chem. J. Org.* 1968, 33, 3566–3569.
- Rolfe MD, Rice CJ, Lucchini S, Pin C, Thompson A, Cameron ADS, Alston M, Stringer MF, Betts RP, Baranyi J, Peck MW, Hinton JCD. 2012. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *J Bacteriol.* 194 (3):686-701.
- Saut, L. 2002. Pengaruh Perlakuan Perendaman Benih dalam Larutan GA3 dan Shiimarocks terhadap Viabilitas Benih Tomat (*Lycopersiconesculentum* Mill.), Terung (*Solanum melongena* L.) dan Cabai (*Capsicum annum* L.). [Skripsi]. Jurusan Budi Daya Pertanian. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Tarabily, K., A. H. Nassar., K. sivasithamparam. 2003. Promotion Of Plant Growth by An Auxin-Producing Isolate Of The Yeast *Williosis Saturnus* Endophytic in Maize Root. The Sixth U. A. E University Research Conference. 60-69.
- Wattimena GA, NA. Matjik, E. Syansudin, NMA. Wendi, A. Gunawan. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Bogor : Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB. Direktorat Jendral Pendidikan dan Kebudayaan.
- Widawati, S dan Muharam, A. 2012. Uji Laboratorim *Azospirillum* sp. yang Diisolasi dari Beberapa Ekosistem. *J. Hort.* 22(3):258-267
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanama., Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. PT. Bumi Aksara. Jakarta.