

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT DARI AKAR TANAMAN KENTANG
(*Solanum tuberosum*) DALAM MEMFIKSASI N₂ DI UDARA DAN
MENGHASILKAN HORMON IAA (INDOLE ACETID ACID) SECARA IN
VITRO**

SKRIPSI

Oleh:

**EDI SURIAMAN
NIM. 05520040**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2010**

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT DARI AKAR TANAMAN KENTANG
(*Solanum tuberosum*) DALAM MEMFIKSASI N₂ DI UDARA DAN
MENGHASILKAN HORMON IAA (INDOLE ACETID ACID) SECARA IN
VITRO**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :
Fakultas Sains Dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN)
Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh :

EDI SURIAMAN
NIM. 05520040

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2010

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT DARI AKAR TANAMAN KENTANG
(*Solanum tuberosum*) DALAM MEMFIKSASI N₂ DI UDARA DAN
MENGHASILKAN HORMON IAA (INDOLE ACETID ACID) SECARA IN
VITRO**

SKRIPSI

Oleh :

**EDI SURIAMAN
NIM. 05520040**

Telah disetujui oleh :

Dosen Pembimbing I



**Dr. Ulfah Utami, M. Si
NIP. 19650509 199903 2 002**

Dosen Pembimbing II

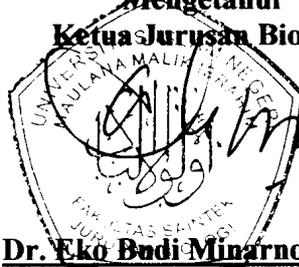


**Dr. Ahmad Barizi, MA
NIP. 19731212 199803 1 001**

Tanggal, 14 April 2010

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi



**Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd
NIP. 19630114 199903 1 001**

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT DARI AKAR TANAMAN KENTANG
(*Solanum tuberosum*) DALAM MEMFIKSASI N₂ DI UDARA DAN
MENGHASILKAN HORMON IAA (INDOLE ACETID ACID) SECARA IN
VITRO**

SKRIPSI

Oleh :

**EDI SURIAMAN
NIM. 05520040**

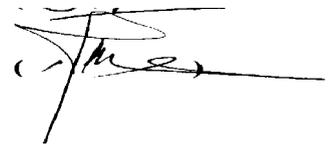
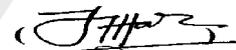
**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Tanggal, 23 April 2010

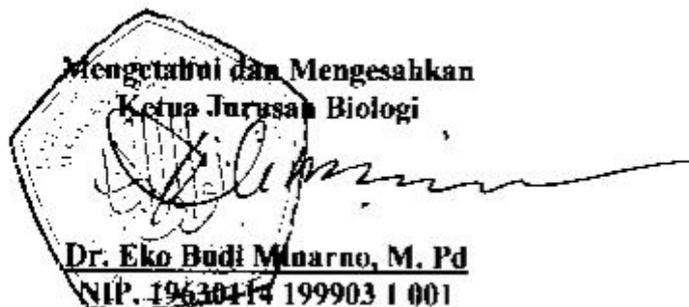
Susunan Dewan Penguji

- 1. Penguji Utama : Suyono, MP
NIP. 19710622 200312 1 002**
- 2. Ketua : Dwi Suheriyanto, MP
NIP. 19740325 200312 1 001**
- 3. Sekretaris : Dr. Ulfah Utami, M. Si
NIP. 19650509 199903 2 002**
- 4. Anggota : Dr. Ahmad Barizi, MA
NIP. 19731212 199803 1 001**

Tanda Tangan



**Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi**



**Dr. Eko Budi Munarno, M. Pd
NIP. 19630414 199903 1 001**

**SURAT PERNYATAAN
ORISINILITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Lengkap : Edi Suriaman
NIM : 05520040
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Penelitian : Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang
(*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi N₂ di Udara dan
Menghasilkan Hormon IAA (Indole Acetid Acid) secara In
Vitro

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 23 April 2010

Yang Membuat Pernyataan

Edi Suriaman
NIM. 05520040

Lembar Persembahan

Ku persembahkan karya kecil ini untuk :

Mama (Turaya) dan Papa (Sudarman) ku serta nenek ku (Ina Risa, Alm) tercinta yang telah memberikan curahan kasih sayang lahir batin, tanpa lelah serta selalu memberikan do'a dan motivasi

Terimakasih khususnya kepada bapak Eko Budi Minarno yang memberikan ijin untuk ujian susulan, bapak Ahmad Barizi, Ibu Ulfah Utami, bapak Dwi Suheriyanto dan bapak Suyono yang telah memberikan bimbingannya, beserta seluruh dosen dan guru ku berkat bapak dan Ibu saya bisa memahami dan banyak belajar arti kehidupan.

Untuk kakak ku Sri Apriani, adik-adikku Eva Rotista dan Nurul Faidah beserta kelaurgaku semuanya, terimakasih atas dukungan dan doanya.

Spesial untuk Juwita beserta keluarganya, terimakasih atas bantuan doa dan dukungannya.

My best Friends Hilda, Iffatul, Aisyatul Bariza, Nurul Afifah dan Warda. Teman-temanku Muttaqin, Edu dan Syukri Rahmadin yang selalu memberikan motivasi dan kesegaran pemikiran. Kawanku Zainal dan Mukhlis yang telah bersama-sama belajar untuk menghargai dan memaknai arti perbedaan.

Kawan-kawanku di HMI komisariat SAINTEK, teman-teman biologi angkatan 2005 dan 2006. Semoga Kesuksesan dan Kebahagiaan Selalu Menyertai Kita dalam Ridlo-Nya..... Amiiin Ya Rabbal 'Alamiin...

Terimakasih buat mbak Lil, berkat bantuan sampean memudahkan saya untuk tidak menunda wisuda tahun ini. Terimakasih juga kepada Mas Basyar, Maz Sholeh dan Maz Smile, yang telah banyak membantu saya selama saya melakukan penelitian.

MOTTO

قُلْ يَتَّقُوا أَعْمَلُوا عَلَىٰ مَكَانَتِكُمْ إِنِّي عَمِلٌ فَسَوْفَ تَعْلَمُونَ ﴿٣٩﴾

Artinya: Katakanlah: "Hai kaumku, bekerjalah sesuai dengan keadaanmu, sesungguhnya aku akan bekerja (pula), maka kelak kamu akan mengetahui (QS. Az Zumar (11): 39).



KATA PENGANTAR



Segala puji bagi Allah SWT, Al-Rahman Al-Rahim yang selalu mendengarkan segala pinta penulis dan yang telah memberikan petunjuk dan kemudahan pada penulis sehingga terselesaikannya skripsi ini.

Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan pada baginda Nabi Besar Nabi Muhammad SAW yang akan memberi syafaat kepada umatnya yang taat, Allohmma Sholli'ala Sayyidina Muhammad Wa'ala Ali Muhammad.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini, penulis tidak akan terlepas dari bimbingan, dukungan dan bantuan dari semua pihak sehingga terselesaikannya skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Imam Suprayogo, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, yang memberikan dukungan serta kewenangan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, S.U, DSc, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd Selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

4. Dr. Ulfah Utami, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
5. Dr. Ahmad Barizi, MA selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
6. Kedua orang tuaku Turaya dan Sudarman, serta Almarhum Nenekku (Ina Risa), yang selalu memberikan doa, motivasi serta nasehat-nasehat dengan penuh keikhlasan, kesabaran serta kasih sayang.
7. Kakakku (Sri Apriani), dan adik-adikku (Eva Rosita dan Nurul Faidah) beserta seluruh keluarga ku yang telah memberikan kasih sayang dan semangat yang tiada hentinya sehingga terselesaikannya skripsi ini.
8. Juwita dan seluruh keluarga besarnya terimakasih atas bantuan doa dan dukungannya.
9. Om Fauzi sekelurga yang selalu membantu dalam berbagai masalah yang dihadapi penulis dan memberikan motivasi selama penulis di Malang.
10. Kepada semua pihak yang ikut membantu penulis demi kelancaran penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, saran dan kritik dari berbagai pihak sangat penulis harapkan demi terwujudnya karya yang lebih baik di masa mendatang.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan bagi penulis khususnya. Khoirun Nash Anfa'uhum Linnash. Amin.....

Malang, 14 April 2010

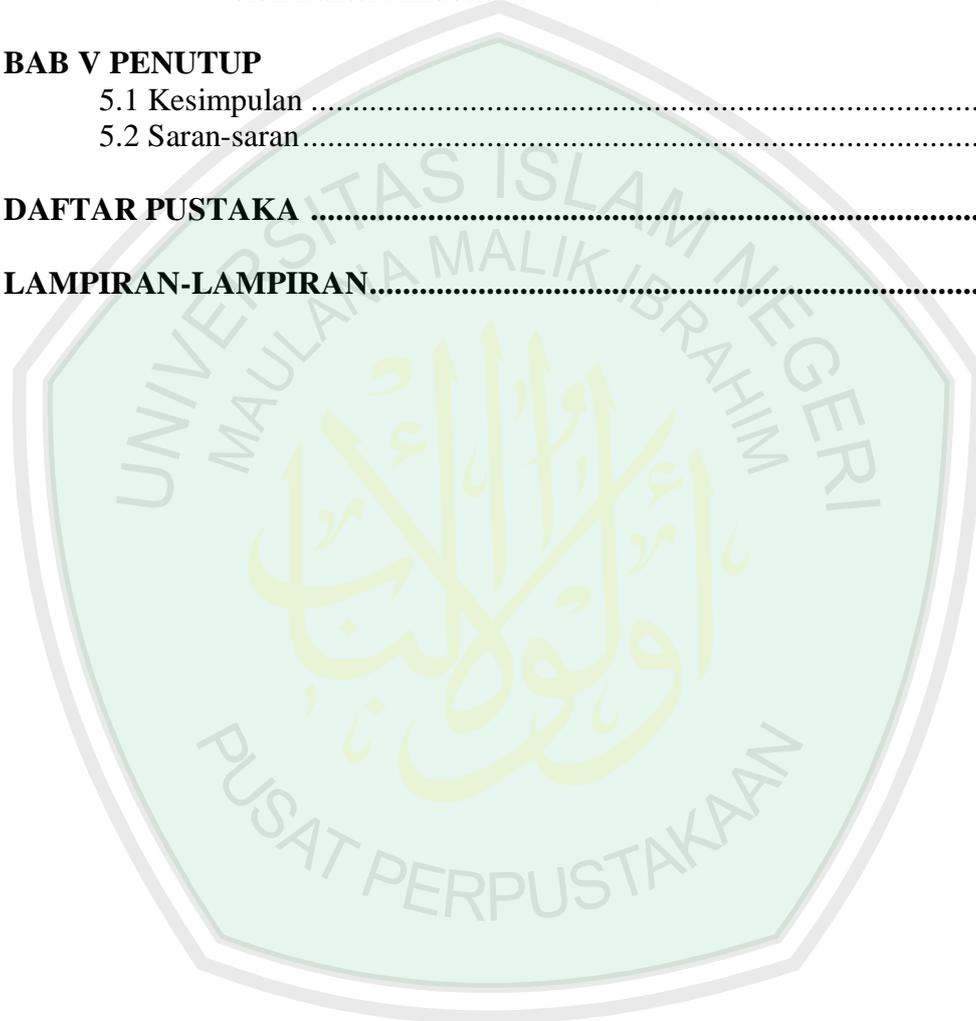
Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
ABSTRAK	ix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Deskripsi Bakteri Endofit.....	9
2.1.1 Peranan Bakteri Endofit	9
2.1.2 Mekanisme Peningkatan Pertumbuhan Tanaman oleh Bakteri Endofit	14
2.2 Deskripsi Tanaman Kentang (<i>Solanum tuberosum</i>).....	21
2.2.1 Ciri Morfologi Tanaman Kentang (<i>S. tuberosum</i>).....	21
2.2.2 Klasifikasi Tanaman Kentang (<i>S. tuberosum</i>).....	24
2.2.3 Manfaat Tanaman Kentang (<i>S. tuberosum</i>).....	24
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.3.1 Alat.....	27
3.3.2 Bahan.....	27
3.4 Variabel Penelitian	28
3.5 Prosedur Penelitian	28
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	28
3.5.2 Penyiapan dan Peremajaan Bakteri Endofit	28
3.5.3 Uji Penambatan N ₂ dan Pengukuran Hormon IAA	29
3.6 Pengumpulan dan Analisa Data	30

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kemampuan Fiksasi Nitrogen oleh Bakteri Endofit.....	31
4.2 Kemampuan Produksi Hormon IAA oleh Bakteri Endofit.....	47
4.2.1 Perubahan Warna dan pH Medium.....	47
4.2.2 Pengukuran Nilai Absorbansi Hormon IAA yang dihasilkan oleh Bakteri Endofit.....	50
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran-saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	70



DAFTAR TABEL

No.	Judul	Halaman
4.1	Nilai hasil perhitungan regresi polynomial NH_4^+	35
4.2	Nilai pH masing-masing bakteri endofit pada medium JNFB Cair	49
4.3	Nilai absorbansi IAA masing-masing bakteri endofit yang diukur pada panjang gelombang (λ) = 530 nm.....	54



DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Halaman
2.1	Tempat kolonisasi dan infeksi oleh endofit diazotrophic pada akar, gambar memperlihatkan mekanisme secara longitudinal (kiri) dan transversal (kanan).....	13
2.2	Skema siklus penambatan N ₂	17
2.3	Mekanisme produksi hormon pertumbuhan (IAA, diacetyl, acetoin, and 2,3-butanediol) pada bakteri endofit	20
2.4	Mekanisme penurunan konsentrasi etilen dalam akar oleh RPTT untuk mencegah terjadinya proses penghambatan perkembangan (pemanjangan) akar tanaman (tanda ⊥ pada gambar = penghambatan).....	21
2.5	Bagian-Bagian anatomi Umbi Kentang	23
4.1	Nilai NH ₄ yang terbentuk hasil fiksasi N di udara oleh bakteri endofit..	32
4.2	Grafik perhitungan regresi polynomial, kemampuan bakteri endofit memfiksasi N ₂ di udara	35
4.3	Nilai OD bakteri endofit pada media M63	38
4.4	Mekanisme proses fiksasi nitrogen. Proses perubahan N ₂ di udara dengan bantuan enzim nitrogenase	45
4.5	A. Warna bakteri endofit tunggal, B. Warna bakteri endofit kombinasi.	48
4.6	Reaksi pemecahan Triptofan menjadi indole dan asam piruvat.....	50
4.7	Struktur IAA dan Indol.....	53
4.8	Reaksi biosintesis indole acetid acid dari triptofan.....	56
4.9	Skema biosintesis IAA bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang berasosiasi dengan tanaman.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Halaman
Lampiran 1	Nilai Absorbansi Hasil Fiksasi N ₂ di Udara	70
Lampiran 2	Nilai Absorbansi OD bakteri endofit dalam medium M63	72
Lampiran 3	Nilai Absorbansi IAA Bakteri Endofit	73
Lampiran 4	Bakteri Endofit dalam Media M63	74
Lampiran 5	Alat Penelitian	75
Lampiran 6	Bahan Penelitian	76



ABSTRAK

Suriaman, Edi. 2010. **Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (Indol Acetid Acid) Secara In Vitro.** Dosen Pembimbing: Dr. Ulfah Utami, M.Si., Pembimbing Integrasi Sain dan Agama: Dr. Ahmad Barizi, MA.

Kata Kunci: Bakteri endofit, N₂ di udara, Hormon IAA, In vitro

Tingginya pemanfaatan pupuk kimia berkadar hara tinggi seperti Urea, ZA, TSP atau SP-36, dan KCl untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman kentang secara terus-menerus dalam jangka waktu yang lama menyebabkan lingkungan menjadi tercemar dan merusak kondisi alam, sehingga diperlukan teknologi alternatif pemupukan secara hayati yang ramah lingkungan. Salah satu teknologi hayati yang dapat dimanfaatkan adalah menggunakan bakteri endofit. Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan hidup suatu tumbuhan tanpa merugikan tanaman inangnya dan aktif dalam jaringan tersebut. Bakteri endofit memiliki banyak manfaat diantaranya dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan memproduksi fitohormon, meningkatkan produksi penyerapan mineral, fiksasi Nitrogen, mengurangi kerusakan akibat perubahan cuaca dan meningkatkan ketahanan tanaman dari penyakit.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen eksploratif yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Januari-April 2010. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi N₂ di udara dengan mengukur nilai absorbansi NH₄⁺ yang terlarut dalam media M63 tanpa mineral N menggunakan spektrofotometer. Sedangkan, untuk menguji kemampuan bakteri endofit menghasilkan hormon IAA dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi supernatan bakteri endofit yang ditambahkan dengan pereaksi salkowski menggunakan spektrofotometer. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian di ubah ke ppm (part per million) menurut hukum Beer-Lambert.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua jenis bakteri endofit baik bakteri tunggal (*Pseudomonas pseudomallei*, *Bacillus mycoides* dan *Klebsiella ozaenae*), maupun bakteri kombinasi (kombinasi *P. Pseudomallei* dengan *B. mycoides*; kombinasi *P. Pseudomallei* dengan *K. ozaenae*; kombinasi *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*; kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides* dan *K. ozaenae*) mampu memfiksasi N₂ di udara dan menghasilkan hormon IAA secara in vitro. Bakteri endofit tunggal yang mempunyai kemampuan tinggi dalam memfiksasi N₂ di udara adalah *K. ozaenae* (1,106 ppm), sedangkan bakteri kombinasi yang memiliki kemampuan tinggi menghasilkan N₂ di udara adalah kombinasi *B. mycoides* dengan *K. ozaenae* (1,399 ppm). Serta bakteri endofit tunggal yang mempunyai kemampuan tinggi menghasilkan IAA adalah bakteri tunggal *K. ozaenae* (0,98 ppm), sedangkan bakteri endofit kombinasi yang memiliki kemampuan tinggi menghasilkan IAA adalah bakteri kombinasi *P. Pseudomallei* dengan *B. mycoides* (1,16 ppm).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah SWT dalam firmanNya selalu menganjurkan agar manusia berlaku arif dan bijaksana dan tidak berbuat kerusakan di muka Bumi. Pada pengolahan pertanian misalnya, perlu dilakukan usaha pertanian secara organik menggunakan berbagai macam cara yang ramah lingkungan. Hal ini seperti tergambar dalam Firman Allah SWT dalam QS. Ar-Ruum (30):41.

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ
الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya: Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar) (QS. Ar-Rum (30):41).

Ayat di atas mengajak manusia untuk selalu memperhatikan keadaan lingkungan, dan tidak melakukan kerusakan dan mengabaikan aspek ekologi yang dapat menyebabkan menurunnya kualitas lingkungan, sehingga kondisi fisik dan biologis tanah menjadi terganggu. Salah satu contoh usaha yang dapat merusak lingkungan adalah pemberian unsur hara N menggunakan pupuk kimia berkadar hara tinggi seperti Urea, ZA, TSP atau SP-36, dan KCl secara berlebih-lebihan untuk memperoleh hasil umbi kentang yang tinggi. Padahal penggunaan pupuk kimia yang melebihi batas secara terus-menerus dalam jangka waktu yang lama menyebabkan lingkungan menjadi tercemar dan merusak kondisi alam. Selain itu,

pemupukan dengan pupuk kimia hanya mampu menambah unsur hara tanah tanpa memperbaiki sifat fisika dan biologi tanah (Nurmayulis, 2005). Selain itu, fiksasi nitrogen biologis sebagai bagian dari input nitrogen untuk mendukung pertumbuhan tanaman telah menurun akibat intensifikasi pemupukan anorganik. Oleh karena itu, kita perlu untuk memperhatikan keseimbangan di alam dan mengatur lingkungan hidup sesuai dengan jelas termaktub dalam kitab suci.

Pada kata “*La allakum yarji’un*”, dari ayat di atas menyerukan kepada manusia untuk rujuk pada alam, karena tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan Allah dapat juga dilihat dari adanya keserasian dan keseimbangan di alam dalam pelaksanaan sunnatullah atau hukum-hukum alam. Dalam konteks nikmat Allah atas segala sesuatu yang ada di alam ini untuk manusia, memelihara kelestarian alam merupakan upaya untuk menjaga limpahan nikmat Allah secara berkesinambungan (Harahap *et al*, 1997).

Pelaksanaan sunnatullah dapat juga dilakukan dengan memanfaatkan keanekaragaman hayati bakteri yang ada di alam untuk meningkatkan kesuburan tanah dan hasil pertanian, pemutusan siklus penyakit maupun hama melalui perubahan karakteristik mikroba, fisik atau kimia tanah, atau melalui peningkatan aktivitas makrofauna tanah seperti cacing tanah. Selain itu juga dapat melalui fiksasi nitrogen biologis sebagai bagian dari input nitrogen untuk mendukung pertumbuhan tanaman (Peoples *et al*, 1995 dalam Hindersah dan Simarmata, 2004).

Solusi untuk mengatasi penggunaan pupuk kimia secara berlebihan, memperbaiki kesuburan tanah dan meningkatkan kualitas tanaman adalah dengan

memanfaatkan teknologi alternatif pemupukan secara hayati yang ramah lingkungan. Salah satunya adalah dengan menggunakan bakteri endofit. Menurut Saraswati *et al* (2004), bakteri endofit merupakan bakteri rizosfir yang mampu hidup dalam jaringan tanaman (endofit), berfungsi memacu pertumbuhan dan melindungi tanaman inangnya.

Bakteri endofit hidup dalam jaringan hidup suatu tumbuhan tanpa merugikan tanaman inangnya dan aktif dalam jaringan tersebut (Barac *et al*, 2004). Bakteri endofit yang memiliki kemampuan dalam melakukan penambatan N_2 secara biologis disebut dengan bakteri endofit *diazotrof* (Susilowati *et al*, 2007). Bakteri endofit terdapat pada berbagai macam jaringan tanaman, seperti bunga, buah, daun, batang, akar, dan biji atau buah pada berbagai tanaman (Kobayashi dan Palumbo, 2000 *dalam* Hung dan Annapurna, 2004).

Bakteri endofit memiliki banyak manfaat diantaranya dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan memproduksi fitohormon, meningkatkan produksi penyerapan mineral, fiksasi Nitrogen, mengurangi kerusakan akibat perubahan cuaca dan meningkatkan ketahanan tanaman dari penyakit (Zinniel *et al*, 2002). Studi molekuler terbaru tentang bakteri endofit memperlihatkan keanekaragaman yang sangat besar dari spesies ini. Beberapa endofit terdapat dalam benih, tetapi lainnya, ada yang melalui proses kolonisasi pada tanaman. Bakteri ini dapat mengeluarkan senyawa protein untuk mempermudah dalam proses kolonisasi. Ekspresi gen tumbuhan menunjukkan bahwa, tumbuhan menyediakan tanda khusus untuk dapat dipengaruhi oleh bakteri endofit (Rosenblueth dan Martínez-Romero, 2008).

Beberapa spesies bakteri dari genus *Aerobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Klebsiella* diketahui memiliki potensi dalam memfiksasi N₂ dan menghasilkan Hormon IAA (Rosenblueth dan Martínez-Romero, 2008). Hasil penelitian Triplett (2006), menunjukkan bahwa *Klebsiella pneumonia* mampu memfiksasi nitrogen dan memacu pertumbuhan tanaman gandum. Hasil analisa lainnya, menunjukkan bahwa bakteri *Enterobacter cloacae* memiliki potensi dalam menghasilkan hormon IAA dan bakteri *Gluconacetobacter diazotrophicus* dapat meningkatkan fiksasi nitrogen pada tanaman tebu.

Menurut Khan dan Doty (2009), bakteri endofit (*Enterobacter*, *Rahnella*, *Rhodanobacter*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Xanthomonas* dan *Phyllobacterium*) yang diisolasi dari tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*), mampu memfiksasi nitrogen, menghasilkan hormon IAA dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan.

Tanaman membutuhkan hara N yang cukup besar, dan kebutuhan ini dapat dipenuhi dari aktivitas bakteri penambat N₂, baik yang berada di sekitar perakaran dan bintil akar (*rhizosfer*) maupun di dalam jaringan tanaman (*diazotrof endofit*) (Susilowati et al, 2007). Hal ini dikarenakan nitrogen adalah unsur makro primer yang merupakan komponen utama berbagai senyawa dalam tubuh tanaman. Tanaman yang tumbuh harus mengandung nitrogen dalam membentuk sel-sel baru. Nitrogen yang tersedia bagi tanaman dapat mempengaruhi pembentukan protein, dan disamping itu, juga merupakan bagian integral dari klorofil (Nyakpa et al., 1988 dalam Tirta, 2006).

Penambatan N_2 secara biologis oleh sejumlah spesies bakteri endofit memiliki keunggulan dibandingkan bakteri rizosfer, karena keberadaannya di dalam jaringan interseluler tanaman yang tidak mudah hilang, sementara hara N yang berada bebas di alam sangat bersifat labil, mudah tercuci air hujan dan erosi, dan mudah menguap ke udara. Selain itu, sejumlah bakteri endofit juga mampu menghasilkan Asam Indol Asetat (IAA) yang merupakan fitohormon golongan auksin yang berperan dalam perpanjangan sel dan organ, pembentukan akar, pergerakan tropisme, dormansi apikal, mempercepat proses pembungaan, partenokarpi, absisi, pembentukan kalus, dan inisiasi akar, pembelahan sel, dan diferensiasi jaringan vaskuler (Susilowati, 2006).

Menurut Dobereiner (1997) dalam Prakamhang (2007), endofit diazotrofik yang tinggal pada bagian dalam tanaman, dapat menghindari persaingan dengan bakteri rizosfer dan mendapatkan nutrient secara langsung dari tanaman inang.

Bakteri endofit perlu untuk dipelajari lebih jauh dalam rangka konservasi sumber daya hayati, karena jenis bakteri yang hidup berasosiasi dengan tanaman inang ini diketahui mampu menambat N_2 udara pada tanaman padi, sorgum, jagung, kedelai, dan ubi jalar, serta kemampuannya di dalam memproduksi senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman dan memproduksi metabolit sekunder (Susilowati et al, 2007). Sehingga, dilakukan penelitian dengan judul “Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum Tuberosum* L) dalam Memfiksasi N_2 di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (Indole Acetid Acid) secara In Vitro”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan Masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah bakteri endofit dari akar tanaman kentang (*S. tuberosum*) mampu memfiksasi N_2 di udara ?
2. Apakah bakteri endofit dari akar tanaman kentang (*S. tuberosum*) mampu menghasilkan hormon IAA ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dari akar tanaman kentang (*S. tuberosum*) memfiksasi N_2 di udara.
2. Untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dari akar tanaman kentang (*S. tuberosum*) menghasilkan hormon IAA.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain:

1. Memberikan informasi dan wawasan terhadap pengembangan ilmu pengetahuan biologi dan khususnya mata kuliah mikrobiologi.
2. Bakteri endofit dapat digunakan sebagai bahan alternatif pemupukan, sehingga hasil produksi tanaman kentang meningkat.
3. Dapat dijadikan sumber informasi bagi penelitian selanjutnya.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bakteri endofit yang digunakan diperoleh laboratorium mikrobiologi UIN MMI Malang yang telah diisolasi dari tanaman kentang varietas granola. bakteri endofit yang digunakan terdiri dari tiga yaitu, *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas pseudomallei* dan *Klebsiella ozaenae*.
2. Bakteri endofit yang diuji terdiri dari; Bakteri tunggal terdiri dari *P. pseudomallei*, *B. mycoides* dan *K. ozaenae*. Bakteri kombinasi terdiri dari *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides*; kombinasi *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae*; kombinasi *K. ozaenae* dengan *B. mycoides* dan kombinasi *P. pseudomallei*, *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*.
3. Uji fiksasi N₂ di udara oleh bakteri dideteksi dengan mengukur kandungan ion amonia (NH₄⁺) yang terbentuk pada media M63 menggunakan spektrofotometer berdasarkan nilai absorbansi yang terlihat dengan panjang gelombang (λ) 420 nm.
4. Uji kemampuan bakteri endofit menghasilkan hormon IAA diukur dengan metode kolorimetri menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 530 nm.
5. Untuk mengetahui nilai N yang terlarut dan IAA yang dihasilkan maka nilai absorbansi akan dirubah ke nilai ppm (ml/L) dengan menggunakan hukum Beer-Lambert, dengan rumus (A= a x b x c) (Sastrohamidjojo, 2001). Keterangan: A = Nilai Absorbansi; a = Serapan molar (harga a

tidak tergantung pada konsentrasi dan panjang lintasan radiasi); b = Tebal kuvet (cm); c = konsentrasi.



BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Bakteri Endofit

2.1.1 Peranan Bakteri Endofit

Allah SWT telah menciptakan berbagai macam jenis makhluk hidup, sedangkan pencarian dan pemanfaatannya tergantung dari manusia. Isyarat adanya makhluk hidup yang lebih kecil telah difirmankan oleh Allah SWT dalam QS. Al-Baqarah (2):26.

﴿إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ
ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا
أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ
بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ﴾ (٢٦)

Artinya: Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu^[33]. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik (QS. Al-Baqarah (2):26).

Ibnu Katsir menafsirkan bahwa kata *فَمَا فَوْقَهَا* (yang lebih rendah dari itu), menunjukkan bahwa Allah SWT kuasa untuk menciptakan apa saja, yaitu penciptaan apapun dengan obyek apa saja, baik yang besar maupun yang lebih kecil. Allah SWT tidak pernah menganggap remeh sesuatu pun yang Dia ciptakan meskipun hal itu kecil. Orang-orang yang beriman meyakini bahwa dalam

perumpamaan penciptaan yang dilakukan oleh Allah memiliki manfaat bagi kehidupan manusia (Al-Mubarak, 2006).

Pada ayat lain Allah SWT berfirman:

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ
لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

Artinya: Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir. (QS. Al-Jaatsiyah 45: 13).

Ayat di atas menunjukkan bahwa manusia dapat memanfaatkan segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT, termasuk bakteri untuk kemaslahatan kehidupan manusia. Para ahli bahasa menerangkan bahwa kata *سَخَّرَ* memudahkan atau *menundukkan* pada ayat di atas ialah sesuatu yang dapat kita tundukkan atau kita taklukkan yang berarti memudahkan (menundukkan) segala isi alam semesta untuk kepentingan manusia. Karena di dalam alam semesta dilangit dan dibumi, tidak ada sesuatu pun yang sukar untuk dipergunakan oleh manusia itu, asal saja ia suka menggunakan akal fikrian serta ilmu pengetahuannya dan suka menggusahakan untuk diambil manfaatnya, serta mengerti bagaimana mengembangkan kebaikan-kebaikan yang berasal dari benda tersebut (Assiba'i, 1993).

Jika dilihat dari sistem taksonomi, bakteri endofit merupakan makhluk hidup yang berada pada sistem yang paling rendah yang tidak dapat diamati. Sehingga jelaslah bahwa Allah SWT selain menciptakan makhluk yang dapat dilihat secara langsung, juga menciptakan berbagai macam jenis makhluk hidup yang tidak dapat

dilihat secara langsung atau lebih kecil. Bakteri endofit didefinisikan sebagai bakteri yang seluruh atau sebagian siklus hidupnya berada dalam jaringan tanaman dan berasosiasi dengan tanaman inang dengan berada dalam seluruh jaringan tanaman, tetapi tanpa menyebabkan gejala penyakit pada tanaman inang tersebut (Rodewald *et al.*, 2009).

Menurut Ramamoorthy *et al.* (2001) dalam Firmansah (2008), bakteri endofit dapat dijadikan sebagai agens pemacu pertumbuhan, bakteri endofit berasosiasi dengan jaringan internal tanaman dengan mengadakan suatu rangsangan pertumbuhan yang relatif sama seperti PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Beberapa bakteri endofit mempunyai pengaruh yang menguntungkan bagi tanaman inang, seperti memacu pertumbuhan tanaman, meningkatkan resistensi tanaman dari patogen, dan meningkatkan fiksasi N bagi tanaman. Bakteri endofit awalnya berasal dari lingkungan eksternal dan masuk ke dalam tanaman melalui stomata, lentisel, luka (seperti adanya trichomes yang rusak), melalui akar lateral dan akar yang berkecambah (Kaga *et al.*, 2009).

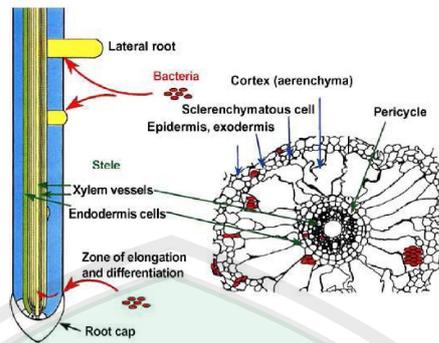
Bakteri Endofit yang mampu memfiksasi nitrogen disebut dengan bakteri endofit diazotrof. Fiksasi nitrogen dari atmosfer akan diubah ke dalam bentuk yang lebih mudah digunakan seperti amoniak. Setiap spesies dapat memfiksasi nitrogen dan kemungkinan ada juga strain yang tidak dapat memfiksasi nitrogen (Prakamhang 2007).

Endofit juga dapat memberikan keuntungan lain pada tanaman. Pertumbuhan tanaman dapat dipercepat oleh semua kelompok endofit, juga memudahkan dalam penyerapan nutrisi, atau mensintesis hormon tanaman.

Masuknya endofit secara alami dalam tanaman dapat dimanipulasi. Ketika dalam tanaman, endofit menempati relung kompetisi yang lebih tinggi dari mikroorganisme lainnya, karena endofit lebih dulu berada di tempat tersebut (Dubois *et al.*, 2006). Meningkatnya pertumbuhan tanaman berkaitan dengan produksi fitohormon seperti indole-3-acetic acid (IAA), sitokinin, dan hormon pemacu pertumbuhan lainnya, dan atau sebagian endofit dapat meningkatkan penambahan nutrisi seperti nitrogen dan fosfat (Tan dan Zou, 2001).

Ethylene dan IAA terlihat hampir pada semua aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman, mulai dari perkembangan biji sampai pada pembentukan tunas dan abscission daun. Oleh karena itu, produksi ACC deaminase and IAA sangat efisien dan penting bagi endofit untuk merangsang tanaman inang. Bakteri endofit mengandung ACC deaminase yang membantu pertumbuhan tanaman dan pada umumnya berada pada bagian akar tanaman inang dalam apoplast (Long *et al.* 2008).

Kolonisasi bakteri endofit pada lapisan luar sel (exodermis, sclerenchyma) dan korteks akar, terjadi secara inter dan intraseluler dalam waktu 2-3 minggu, menyebabkan bagian aerenchyma (korteks) menjadi berair dan ini merupakan tempat terbesar bagi terbentuknya mikrokoloni. Sebagian besar kolonisasi secara interseluler menyebabkan pengambilan nutrient, terutama karbon oleh bakteri. Kadangkala bakteri endofit mampu melakukan penetrasi ke dalam akar sampai pada *Stele*, dan juga terdapat pada parenchyma dan dalam jaringan xylem (Prakamhang 2007).



Gambar 2.1 Tempat kolonisasi dan infeksi oleh endofit diazotrophic pada akar, gambar memperlihatkan mekanisme secara longitudinal (kiri) dan transversal (kanan) (Reinhold-Hurek and Hurek, 1998 dalam Prakamhang 2007).

Paenibacillus sp. merupakan salah satu jenis bakteri rizozfer yang mengikat nitrogen, bakteri ini ditemukan sebagai endofit pada tanaman kentang (Barac *et al*, 2004). Menurut Saraswati *et al* (2004), ditinjau dari aspek ekologi, bakteri endofit penambat N₂ yang mengkolonisasi tanaman gramineae (rumput-rumputan) dapat dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu:

a) *Bakteri diazotrof endofitik fakultatif.*

Pada umumnya bakteri diazotrof endofitik tidak menyebabkan penyakit, berproliferasi di dalam jaringan, tetapi tidak membentuk endosimbion di dalam sel tanaman yang hidup. Bakteri diazotrof endofitik biasanya hidup di dalam ruang interseluler atau pembuluh xilem akar, batang, daun, dan permukaan biji. Potensi N yang disumbangkan oleh bakteri diazotrof endofitik lebih besar dari diazotrof non-endofitik, karena N yang berhasil ditambat tidak ada yang hilang. Kolonisasi bakteri diazotrof endofitik dalam jaringan tanaman dapat mengeksploitasi substrat karbon yang disuplai oleh tanaman tanpa berkompetisi dengan mikroba lain. Bakteri ini seringkali berlokasi dalam akar di bawah tanah atau berada pada jaringan yang kompak, seperti buku batang dan pembuluh xilem, sehingga bakteri ini mampu tumbuh pada

lingkungan dengan tekanan O₂ yang rendah yang sangat penting bagi aktivitas enzim nitrogenase. Beberapa bakteri diazotrof endofitik selain mampu menambat N₂ juga mampu mensekresikan asam indol-3-asetat (Saraswati *et al*, 2004).

b) *Bakteri diazotrof endofitik obligat.*

Bakteri diazotrof endofitik obligat hanya mengkolonisasi bagian dalam akar dan bagian luar (*aerial part*) tanaman, dan hanya dapat diisolasi dari tanaman inang. Bakteri yang tergolong kelompok ini ialah *Herbaspirillum seropedicae*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Azoarcus* sp., *Burkholderia* sp. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Herbaspirillum* yang diinokulasikan pada benih padi dalam larutan Hoagland yang mengandung ¹⁵N-label dapat meningkatkan 40% total nitrogen tanaman. Infeksi *Herbaspirillum* spp. pada biji tanaman padi terjadi melalui akar dan stomata kemudian ditranslokasikan melalui xilem ke seluruh bagian tanaman (Saraswati *et al*, 2004).

2.1.2 Mekanisme Peningkatan Pertumbuhan Tanaman oleh Bakteri Endofit

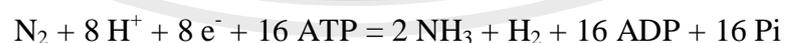
Bakteri endofit dapat mempercepat munculnya kecambah, memacu pembentukan tanaman dibawah kondisi yang merugikan dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Bakteri endofit dipercaya mampu memacu pertumbuhan tanaman melalui 2 cara yaitu; 1) secara langsung membantu penyerapan nutrisi, contoh fiksasi nitrogen, pelarutan posfat atau menambah zat besi (iron chelation), mencegah infeksi patogen melalui pembentukan agen anti jamur dan anti bakteri, sehingga dapat bersaing dengan patogen untuk mendapatkan nutrisi, atau membentuk resistensi tanaman; atau (2) secara langsung memproduksi fitohormon seperti auksin atau sitokinin, atau memproduksi enzim 1-aminocyclopropane-1-

carboxylate (ACC) deaminase, yang menurunkan level etilen tanaman (Long *et al.* 2008). Hasil penelitian Mattos *et al* (2008), menunjukkan bahwa bakteri endofit *Burkholderia kururiensis* mampu meningkatkan jumlah akar lateral dan rambut akar tanaman padi.

Agar terjadi peningkatan pertumbuhan tanaman, maka bakteri endofit juga harus sesuai dengan tanaman inang dan mampu mengkolonisai jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan patogen. Bakteri tertentu mampu mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui berbagai mekanisme, yang berjalan selama siklus hidup tanaman (Long *et al.* 2008).

a. Fiksasi N

Proses reduksi N₂ menjadi NH₄⁺ dinamakan proses penambatan atau fiksasi Nitrogen. Sejauh yang diketahui, proses ini hanya dapat dilakukan oleh mikroorganisme prokariot (Salisbury dan Ross, 1995). Mekanisme penambatan nitrogen secara biologis dapat digambarkan melalui persamaan di bawah ini. Dua molekul amonia dihasilkan dari satu molekul gas nitrogen dengan menggunakan 16 molekul ATP dan pasokan elektron dan proton (ion hidrogen) (Simanungkalit *et al.*, 2006).



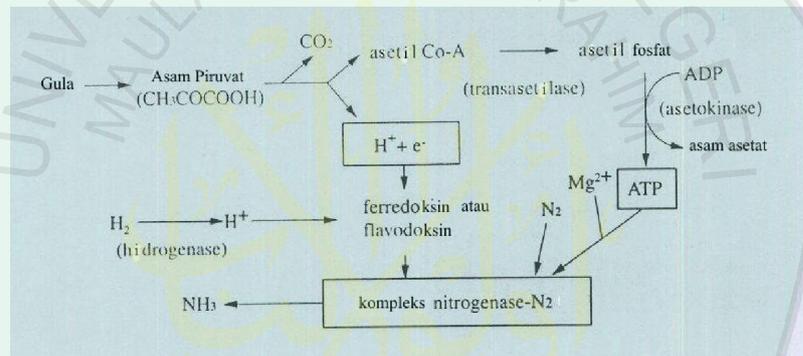
Unsur N adalah komponen utama protoplasma, terdapat dalam jumlah besar dalam bentuk teroksidasi. Bahan yang mengandung N dapat mengalami amonifikasi, nitrifikasi, dan denitrifikasi, tergantung bentuk senyawa-N dan lingkungannya. Beberapa reaksi redoks kunci dalam daur N di alam semuanya dilakukan oleh mikroba. Secara termodinamik N₂ gas adalah bentuk paling stabil

dan seimbang. Jumlah N terbesar di udara sebagai gas N_2 yang merupakan sumber utama N. Untuk memecahkan ikatan rangkap 3 $N=N$ diperlukan energi yang besar, berarti penggunaan N_2 adalah proses yang memerlukan energi besar. Hanya sejumlah kecil jasad yang dapat menggunakan N_2 dalam proses penambatan (fiksasi) N_2 , yang menyebabkan N lebih mudah digunakan yaitu dalam bentuk amonia dan nitrat (Sumarsih, 2003).

Peningkatan unsur N oleh bakteri endofit terjadi sebagai berikut: Enzim nitrogenase yang terdiri dari protein Fe dan MoFe mengubah N_2 menjadi NH_4^+ (ion amonium) selanjutnya diabsorpsi menjadi senyawa organik di dalam akar, dan NO_3^- (asam nitrat) yang lebih mobil pada xilem dan diakumulasi di vakuola akar, tajuk dan organ penyimpanan untuk menjaga keseimbangan kation-anion osmoregulasi. Penambatan N_2 (molekul nitrogen) oleh mikroba dapat terhambat bila pemberian N mineral berlebih (Saraswati *et al*, 2004).

Fiksasi Nitrogen ini melibatkan penggunaan ATP dan proses reduksi ekuivalen berasal dari metabolisme primer. Semua reaksi yang terjadi dikatalisis oleh *nitrogenase*. Nitrogenase adalah dua protein kompleks. Satu komponen, dinamakan *nitrogenase reduktase* (NR) adalah besi (Fe) berisi protein yang menerima elektron dari ferredoxin, reduktat kuat, dan kemudian mengirimkannya kekomponen lainnya dinamakan *nitrogenase* atau MoFe protein (*Iron-Molybdenum Protein*). Nitrogenase pertama kali menerima elektron dari NR dan proton dari larutan. Nitrogenase mengikat molekul dari molekul nitrogen (melepaskan H_2 pada waktu yang sama), dan kemudian menerima elektron dan proton dari NR, kemudian menambahkannya ke dalam molekul N_2 , yang akhirnya

melepaskan dua molekul amoniak NH_3 . Pelepasan molekul hidrogen H_2 , merupakan bagian dari proses fiksasi nitrogen. Cukup banyak sistem fiksasi nitrogen berisi enzim, hydrogenase, yang mendapatkan elektron dari molekul hidrogen dan mentransfernya kembali ke dalam ferredoxin, kemudian menyimpan beberapa energi metabolik yang hilang selama reduksi nitrogen (Dewi, 2007). Ferredoxin reduksi yang memasok elektron untuk proses ini diperoleh melalui fotosintesis, respirasi atau fermentasi (Simanungkalit *et al*, 2006).



Gambar 2.2 Skema siklus penambatan N_2 (Nakamura, 1970; Eady dan Postgate, 1974 dalam Saraswati *et al*, 2004).

b. Produksi Hormon Pertumbuhan

Tanaman banyak mengandung bermacam-macam komunitas bakteri endofit yang dapat memberikan pengaruh yang positif bagi pertumbuhan tanaman dan peningkatan pertumbuhan tanaman oleh bakteri dapat terjadi melalui satu atau lebih mekanisme. Frekuensi perubahan pertumbuhan tanaman menggambarkan perubahan homeostasis fitohormon yang dapat mengurangi tingkat penggunaan enzim ethylene (ET) oleh (ACC) deaminase (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) atau produksi indole acetic acid (IAA) (Long *et al*. 2008).

Asosiasi bakteri endofit dengan jaringan meristem dapat mempengaruhi pertumbuhan jaringan tanaman. Selain itu, beberapa bakteri endofit menghasilkan prekursor tertentu untuk mensintesis fitohormon (Pirttilä, 2001). Prekursor spesifik (bahan dasar) tersebut adalah triptopan (L-tryptophan). Triptopan (salah satu sumber N bagi mikroba) yang terdapat dalam eksudat akar dan bahan organik yang dapat diubah menjadi IAA (Husen, 2006).

Taghavi *et al* (2009), melaporkan bahwa mekanisme produksi hormon pertumbuhan terjadi sebagai berikut:

1. Sintesis IAA

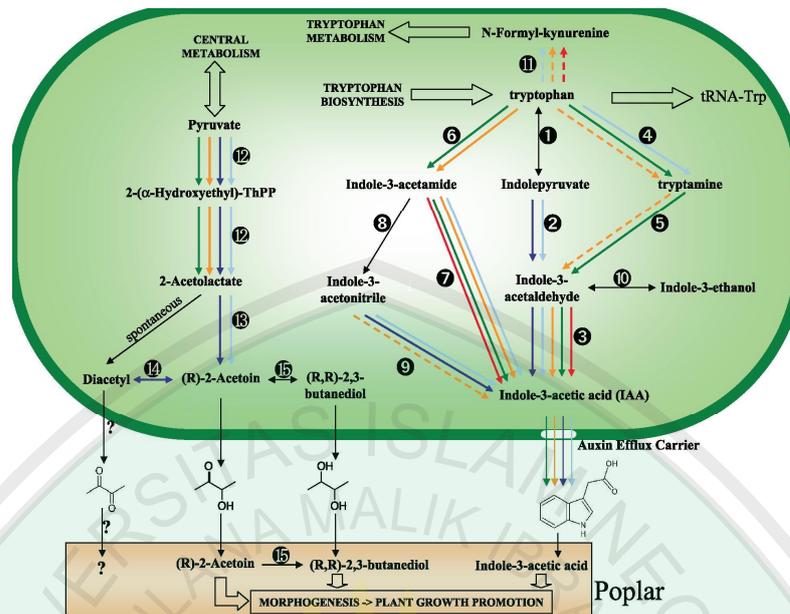
IAA termasuk fitohormon golongan auksin alami dan berperan sebagai zat pemacu pertumbuhan tanaman karena dapat meningkatkan sintesis DNA dan RNA, serta meningkatkan pertukaran proton (Aslamsyah, 2002 *dalam* Kresnawaty *et al*, 2008).

Menurut Heddy (1986) dalam Aslamsyah (2002), bahwa auksin mendorong pembelahan sel dengan cara mempengaruhi dinding sel. Lebih jelas diuraikan oleh Catala *et al* (2000) dalam Aslamsyah (2002), bahwa adanya induksi auksin dapat mengaktifasi pompa proton (ion H^+) yang terletak pada membran plasma sehingga menyebabkan pH pada bagian dinding sel lebih rendah dari biasanya, yaitu mendekati pH pada membran plasma (sekitar pH 4,5 dari normal pH 7). Aktifnya pompa proton tersebut dapat memutuskan ikatan hidrogen diantara serat selulosa dinding sel. Putusnya ikatan hidrogen menyebabkan dinding mudah merenggang sehingga tekanan dinding sel akan menurun dan dengan demikian terjadilah pelenturan sel. Pada pH rendah juga dapat mengaktifasi enzim tertentu

pada dinding sel yang dapat mendegradasi bermacam-macam protein atau konstituen polisakarida yang menyebar pada dinding sel yang lunak dan lentur, sehingga pemanjangan dan pembesaran sel dapat terjadi.

Taghavi *et al* (2009), menyatakan bahwa bakteri endofit mampu meningkatkan sintesis hormon pertumbuhan seperti IAA, yang sebagian besar dihasilkan oleh *Pseudomonas putida* W619. IAA disintesis dari tryptophan yang dapat terjadi melalui 3 (tiga) jalan alternatif (gambar 2.3) yaitu.

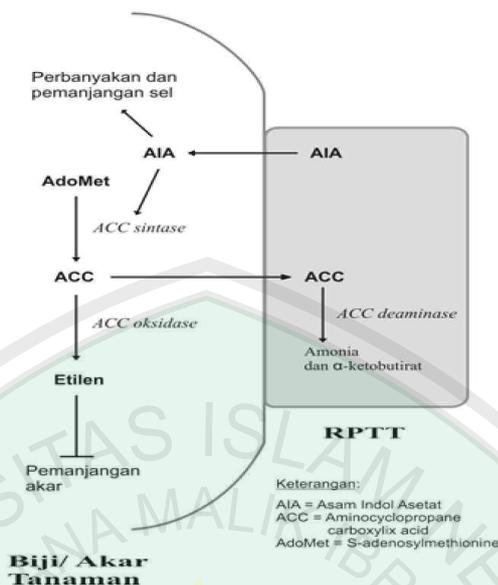
1. Jalan pertama, *tryptophan-2-monooxygenase* (IaaM) mengoksidasi *tryptophan* menjadi *indole-3-acetamide*, kemudian *indole-3-acetamide* dihidrolisis oleh *indole-acetamide hydrolase* untuk menghasilkan IAA. Hasil analisis menunjukkan bahwa gen *iaaH* diduga dimiliki oleh semua strain kecuali *Enterobacter* sp. strain 638. Selain itu, diduga bahwa enzim *tryptophan 2-monooxygenase* hanya dapat ditemukan pada *P. putida* W619 dan *Bacillus vietnamiensis*.
2. Lebih lanjut *P. putida* W619 melengkapi perjalanan sintesis IAA dengan merubah *tryptophan* menjadi *tryptamine* oleh enzim triptofan dekarboksilase, kemudian *tryptamine* dirubah menjadi *indole-3-acetaldehyde* oleh enzim amin oksidase, yang kemudian dirubah menjadi *Indole-acetic acid* oleh enzim indoleacetaldehid dehidrogenase.
3. Dari *tryptophan* kemudian dirubah menjadi asam indol piruvat oleh enzim triptofan transaminase, kemudian dirubah menjadi indol-3-acetaldehid oleh enzim indolpiruvat dekarboksilase, dan kemudian dirubah menjadi indole acetic acid (IAA) oleh enzim indole acetaldehid dehidrogenase.



Gambar 2.3 Mekanisme produksi hormon pertumbuhan (IAA, diacetyl, acetoin, and 2,3-butanediol) pada bakteri endofit (Taghavi *et al.*, 2009).

2. Metabolisme ACC

Beberapa bakteri seperti *Pseudomonas* dan *Enterobacter* mampu menghasilkan enzim ACC *deaminase* yang berfungsi menghidrolisis ACC untuk mengurangi efek negatif hormon etilen. Hormon IAA yang diproduksi mikroba di lingkungan rizosfir sebagian masuk ke dalam jaringan akar (proses kesetimbangan). Selain memacu perkembangan sel dan akar baru, hormon IAA di dalam jaringan akar juga merangsang pembentukan enzim ACC sintase yang berperan dalam sintesis ACC. Dalam proses kesetimbangan, sejumlah ACC yang terbentuk akan keluar dari akar yang selanjutnya dirombak oleh bakteri penghasil enzim ACC *deaminase* menjadi amonia dan α -ketobutirat. Hidrolisis ACC (salah satu sumber N bagi bakteri pemacu pertumbuhan) secara terus-menerus akan mengurangi jumlah ACC dan etilen di dalam akar, sehingga mengurangi pengaruh negatif etilen bagi perkembangan/pemanjangan akar tanaman (Husen, 2006).



Gambar 2.4 Mekanisme penurunan konsentrasi etilen dalam akar oleh RPTT untuk mencegah terjadinya proses penghambatan perkembangan (pemanjangan) akar tanaman (tanda \perp pada gambar = penghambatan) (Sumber: Shah *et al.*, 1997 dalam Husen, 2006)

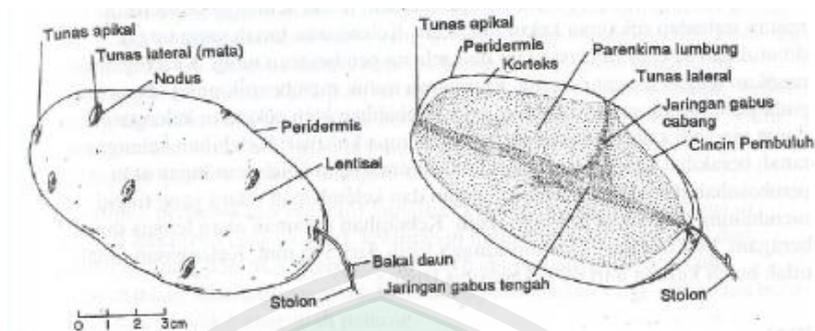
2.2 Diskripsi Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*)

2.2.1 Ciri Morfologi Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*)

Tanaman Kentang (*S. tuberosum*) merupakan suatu terna berbatang basah, dengan umbi batang pada stolonnya. Daun berseling menyirip ganjil terputus-putus. Anak daun bulat telur memanjang, berganti-ganti besar dan kecil, pada ujung terdapat anak daun yang paling besar. Warna bunga bermacam-macam, seperti putih, biru, ungu, terdapat pada tukal-tukal dengan percabangan dikotomik dengan ibu tangkai yang panjang. Buahnya buah buni yang bulat dengan kelopak yang tetap (Gembong, 1994). Tanaman kentang yang dihasilkan secara aseksual dari umbi memiliki akar serabut dengan percabangan halus, agak dangkal, dan akar adventif berserat yang menyebar; sedangkan tanaman yang tumbuh dari biji membentuk akar tunggang raping dengan akar lateral yang banyak (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Batang di atas tanah berdiri tegak, awalnya halus dan akhirnya menjadi persegi serta bercabang jika pertumbuhannya sudah beranjut. Bentuk pertumbuhan tanaman berkisar dari kompak hingga menyebar. Batang di bawah permukaan tanah (rhizoma), umumnya disebut stolon, menimbun dan menyimpan produk fotosintesis dalam umbi yang membengkak di bagian ujung. Karbohidrat ditranslokasikan sebagai sukrosa ke dalam stolon, yang pembelahan dan pembesaran selnya menyebabkan pertumbuhan umbi; sukrosa yang ditransportasikan dikonversi dan disimpan dalam bentuk butiran pati (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Secara morfologi, umbi adalah batang pendek, tebal dan berdaging dengan daun yang berubah menjadi kerak atau belang, berdampingan dengan tunas samping (aksilar), yang dikenal dengan "mata". Tunas tersebut membentuk susunan spiral yang tertekan pada permukaan umbi, dengan jumlah yang makin banyak mendekati titik apikal. 'Mata' berada pada belang ketiak daun dan tetap dominan selama perbesaran umbi. Sebenarnya, setiap mata adalah sekelompok tunas, dan setiap tunas mampu tumbuh menjadi batang (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Pembentukan umbi berkorelasi positif dengan luas daun serta berhubungan dengan umur daun (Nurhidayah dkk, 2005).



Gambar 2.5 Bagian-Bagian anatomi Umbi Kentang (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Tanaman kentang dapat tumbuh baik pada tanah yang subur, mempunyai drainase yang baik, tanah liat yang gembur, debu atau debu berpasir. Tanaman kentang toleran terhadap pH pada selang yang cukup luas, yaitu 4,5 sampai 8,0, tetapi untuk pertumbuhan yang baik dan ketersediaan unsur hara, pH yang baik adalah 5,0 sampai 6,5 (Nurmayulis, 2005).

Salah satu jenis varietas Kentang yang cukup diminati di Indonesia adalah Granola, yang mencakup 80% dari total areal penanaman dan merupakan satu satunya varietas yang ditanam di Bali. Hal tersebut merupakan alasan utama pemilihan varietas dalam penelitian ini. Alasan konsumen memilih Granola karena hasil panennya tinggi, mudah dibudidayakan, dapat digunakan untuk bermacam macam keperluan misalnya untuk sup, perkedel, dan keripik. Granola juga resisten terhadap beberapa hama dan penyakit (Rhoades *et al*, 2001).

2.2.2 Klasifikasi Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.)

Menurut Gembong (1994), klasifikasi tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L) sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Klas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Tubiflorae (Solanales, Personatae)
Familia	: Solanaceae
Genus	: <i>Solanum</i>
Spesies	: <i>Solanum tuberosum</i> L.

2.2.3 Manfaat Tanaman Kentang

Sebagai bahan makanan, kentang diketahui memiliki kandungan gizi yang tinggi. Kentang mengandung karbohidrat, protein, asam amino esensial, dan vitamin yang lengkap. Menurut Niederhauser (1993) dalam Warnita (2007), perbandingan protein dengan karbohidrat pada tanaman kentang lebih tinggi daripada tanaman sereal maupun tanaman umbi lainnya. Protein dalam kentang mengandung asam amino yang seimbang sehingga sangat baik untuk kesehatan manusia. Selain itu kandungan vitamin dalam kentang jauh lebih tinggi dibandingkan tanaman lainnya, seperti padi, gandum, dan jagung. Selanjutnya Kolasa (1993) dalam Warnita (2007), menyatakan bahwa umbi kentang tidak mengandung lemak, kolesterol, tetapi mengandung karbohidrat, sodium, serat diet, protein, vitamin A, vitamin C tinggi (sekitar \pm 50%), kalsium, zat besi dan vitamin B6 yang cukup tinggi dibanding beras.

Sebagai salah satu jenis sayuran, kentang memiliki kandungan *ascorbic acid*, *thiamin*, *niacin*, *pyridoxine* dan *pantothenis acid* yang setara dengan jenis sayuran lainnya (Adiyoga *et al*, 2004).

Selain itu, dengan Kandungan protease inhibitornya yang tinggi pada bagian isinya, kentang dapat menetralkan virus-virus tertentu dan menghambat serangan kanker. Inhibitor yang diekstrak dari kentang mempunyai kemampuan sebagai aktivitas yang sangat kuat. Selain bagian isi, kulitnya pun cukup bermanfaat. Bagian ini ternyata kaya akan asam klorogenik, yaitu polifenol yang mencegah mutasi sel-sel yang mengarah pada kanker. Dalam hal ini kulit kentang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas yang merusak sel-sel yang akan mengarah pada sejumlah penyakit, termasuk kanker. Kentang yang dibuat sop bermanfaat bagi pengobatan asam urat, ginjal, dan penyakit lambung. Selain itu juga, dapat digunakan untuk mengganti mineral dalam sistem tubuh (BPPHP, 2004).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen eksploratif. Penelitian eksperimen ini dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat bakteri endofit pada media M63 tanpa mineral N untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi N₂. Kemampuan fiksasi N₂ dideteksi dengan mengukur kandungan ion amonia (NH₄⁺) yang terbentuk pada media M63 menggunakan spektrofotometer.

Media JNFB digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA. Kemampuan bakteri endofit menghasilkan hormon IAA dideteksi menggunakan spektrofotometer. Percobaan terdiri dari isolat tunggal (*Bacillus mycoides*, *Pseudomonas pseudomallei* dan *Klebsiella ozaenae*) dan isolat kombinasi (kombinasi *P. Pseudomallei* dengan *B. mycoides*; kombinasi *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae*; kombinasi *B. mycoides* dengan *K. Ozaenae*; dan kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides* dan *K. ozaenae*).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari - April 2010. Tempat penelitian adalah di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laminar flow cabinet, autoklaf, oven, cawan petri, jarum ose, bunsen, pengaduk kaca, pinset, kertas saring, incubator, aluminium foil, mikroskop, gelas ukur, tabung reaksi, pipet volume, erlenmeyer, botol media, shaker incubator, sentrifuge, timbangan analitik, mikropipet, hot plate dan spektrofotometer.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium, media TSA (*Tryptic Soy Agar*), Media TSB (*Tryptic Soy Broth*), aquades steril, medium pertumbuhan JNFB (*James Nitrogen Free Malat Bromthymol Blue*, per liter media terdiri atas 5,0 g asam malat; 0,6 g K_2HPO_4 ; 1,8 g KH_2PO_4 ; 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1 g NaCl; 0,2 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$; 0,066 g FeEDTA; 4,5 g KOH; 2 ml BTB; 2 ml mikronutrien (pepton); pH 5,8), Media pertumbuhan M63 (KH_2PO_4 100 mM, KOH 75 mM, $MgSO_4$ 0,16 mM, $FeSO_4$ 3,9 mM dan glukosa 100 mM) dan bakteri endofit *P. pseudomallei*, *B. mycoides* dan *K. ozaenae*.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Suspensi bakteri endofit
2. Variabel terikat terdiri dari 2 yaitu:
 - a) Uji fiksasi N₂ di udara oleh bakteri dideteksi dengan mengukur kandungan ion amonia (NH₄⁺) yang terbentuk pada media M63 menggunakan spektrofotometer berdasarkan nilai absorbansi yang terlihat dengan panjang gelombang (λ) 420 nm.
 - b) Uji kemampuan bakteri endofit menghasilkan hormon IAA diukur dengan metode kolorimetri menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 530 nm.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat dengan aluminium foil, kemudian memasukkannya ke dalam autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit.

3.5.2 Penyiapan dan Peremajaan Bakteri Endofit

Penyiapan dan pemurnian bakteri endofit dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Bakteri endofit yang tumbuh pada medium TSA diremajakan pada masing-masing pada medium lempeng agar dan medium TSA miring.
2. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 35° C.

3. Kemudian memperbanyak bakteri endofit (*Bacillus mycoides*, *Pseudomonas pseudomallei* dan *Klebsiella ozaenae*) pada media TSA dan membuat bakteri kombinasi yang terdiri atas kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides*; *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae*; *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*; dan kombinasi *P. Pseudomallei*, *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*.

3.5.3 Uji Penambatan N₂ dan Pengukuran Hormon IAA

3.5.3.1 Pengukuran Kemampuan Penambatan N₂

Uji fiksasi N diudara dilakukan berdasarkan metode Ikhwan (2006). Kemampuan penambatan N₂ diukur dengan menghitung N₂ yang terlarut dalam air dalam bentuk NH₄ menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 420 nm. Isolat-isolat bakteri endofit ditumbuhkan pada media TSB cair dan di inkubasi dalam shaker inkubator selama 24 jam. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 xg. Setelah disentrifugasi, maka diambil supernatan yang terbentuk, kemudian diambil 1 ose dan ditumbuhkan pada media cair M63 tanpa penambahan mineral nitrogen. Selama 6 hari dilakukan uji kandungan NH₄⁺ dan nilai OD pada isolat yang dikembangkan.

3.5.3.2 Pengukuran Konsentrasi IAA secara Spektrofotometri.

Pengukuran IAA di-lakukan sesuai prosedur Gordon dan Weber (1951 dalam Susilowati *et al*, 2003). Kultur bakteri endofitik 500 μ l ditumbuhkan pada media JNFB cair dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hingga 7 hari. Kultur disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 xg selama 10 menit. Supernatan

dipindahkan ke tabung reaksi bersih dan steril, lalu diberi pereaksi Salkowski (20 ml FeCl_3 0,1 M; 400 ml H_2SO_4 pekat; 580 ml air suling) dengan volume yang sama. Campuran supernatan dan pereaksi diinkubasi selama 60 menit, kemudian diukur absorbansinya pada $\lambda = 530$ nm Spektrofotometer.

3.6 Pengumpulan dan Analisa Data

Data fiksasi N_2 diperoleh dari hasil analisa menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 420 nm. Pengukuran ini meliputi nilai NH_4 dengan melihat nilai absorbansinya dan nilai OD isolat bakteri endofit. Data sintesis IAA diperoleh berdasarkan nilai absorbansi IAA yang diukur pada panjang gelombang (λ) 530 nm. Analisis data penelitian kualitatif dilakukan dengan mengorganisasikan data, menjabarkannya ke dalam unit-unit, melakukan sintesa, menyusun ke dalam pola dan membuat suatu kesimpulan. Untuk mengetahui persentase kemampuan bakteri endofit memfiksasi N di udara maka di analisis menggunakan regresi polynomial.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kemampuan Fiksasi Nitrogen oleh Isolat Bakteri Endofit

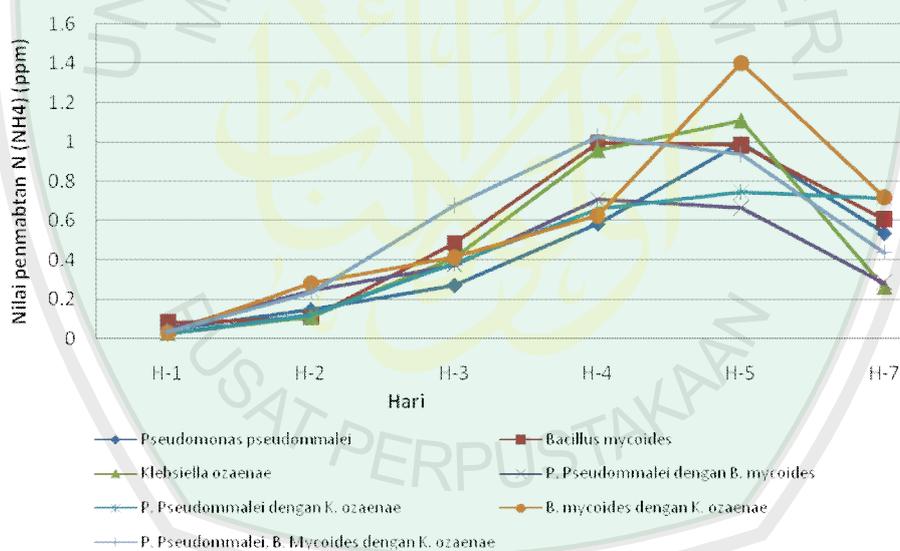
Media M63 merupakan media yang digunakan untuk menguji kemampuan fiksasi N di udara, karena pada medium ini tidak terdapat senyawa N. Sehingga tanpa unsur ini menyebabkan tidak terpenuhinya unsur-unsur yang membantu dalam menjalankan pertumbuhan bakteri dan dalam menjalankan fungsinya yang normal. Jenis bakteri sangat beragam dalam hal ini; beberapa tipe menggunakan nitrogen atmosferik, beberapa tumbuh pada senyawa nitrogen anorganik dan yang lainnya membutuhkan nitrogen dalam bentuk senyawa nitrogen organik (Pelczar dan Chan, 1986).

Sangat sedikit jumlah mikroorganisme yang mampu menggunakan N_2 sebagai sumber nitrogen dalam proses fiksasi nitrogen. Proses fiksasi nitrogen terjadi melalui serangkaian proses reduksi dan oksidasi (Madigan dan Martinko, 2006). Salisbury dan Ross (1995), menyatakan bahwa untuk mereduksi N_2 menjadi NH_4 diperlukan beberapa elektron dan ATP, yang diperoleh selama proses oksidasi pada bakteroid.

Terakado-Tonooka *et al* (2008), menyatakan bahwa karbohidrat dan fiksasi N_2 oleh bakteri diazotrof merupakan faktor pembatas bagi pertumbuhan endofit. Fiksasi N_2 ditemukan hanya ketika terdapat sumber karbohidrat, malat dan citrat yang diberikan oleh tanaman. Pada kedelai, fiksasi nitrogen sangat tergantung pada banyaknya produk fotosintesis dan aktivitas maksimal

nitrogenase yang sering diasosiasikan dengan tingginya aktivitas fotosintesis. Laporan sebelumnya menunjukkan bahwa banyaknya klorofil, merupakan salah satu indikator fotosintesis. Kuatnya ekspresi gen *nifH* juga berkorelasi dengan fotosintesis pada ubi jalar.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat-isolat bakteri endofit mampu memfiksasi N di udara. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kemampuan dari isolat bakteri tersebut untuk tumbuh pada media bebas N (Ikhwan, 2008). Hasil pengukuran NH_4^+ (ion amonium) pada bakteri tunggal dan kombinasi adalah:



Gambar 4.1. Nilai NH_4 yang terbentuk hasil fiksasi N di udara oleh bakteri endofit pada isolat tunggal dan kombinasi

K. ozaenae merupakan bakteri yang memiliki kandungan NH_4 paling tinggi (1,106 ppm) pada hari ke-5 kemudian disusul oleh *P. pseudomallei* sebesar (0,993 ppm) pada hari ke-5, dan *B. mycooides* (0,997 ppm) pada hari ke-4, kemudian nilai ion amonium masing-masing bakteri tersebut mengalami

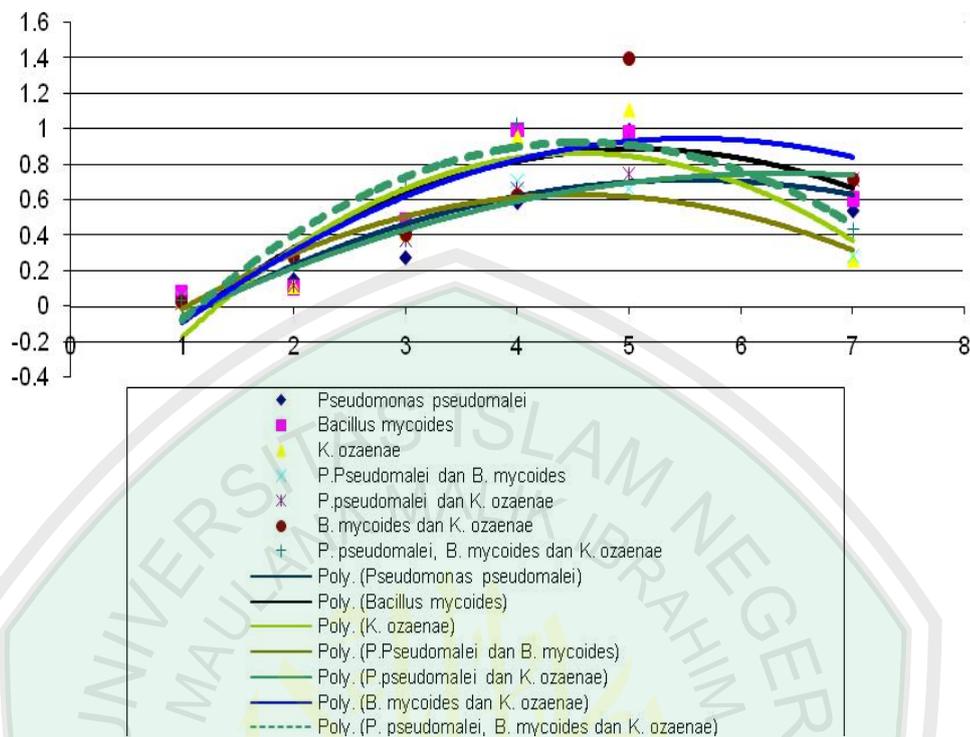
penurunan pada hari berikutnya. Kemampuan masing-masing bakteri endofit dalam memfiksasi N_2 di udara dipengaruhi oleh gen dan enzim nitrogenase yang dihasilkan oleh masing-masing jenis bakteri tersebut. Davet (2004), menyatakan bahwa pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*, 20 gen *nif* yang berbeda telah ditentukan struktur dan fungsi enzim nitrogenasenya. Hasil penelitian Desnoues *et al* (2003), menyatakan bahwa kemampuan fiksasi nitrogen ditentukan oleh karakteristik gen *nif* dan enzim nitrogenase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada *Pseudomonas stutzeri* memiliki karakteristik yang sama dengan gen yang dimiliki oleh *Klebsiella* dan *Azoarcus*. Hasil penelitian Hino dan Wilson (1957), juga menunjukkan bahwa bakteri dari genus *Bacillus* mampu memfiksasi nitrogen. Pada *Bacillus* memiliki enzim nitrat reduktase, enzim ini bertindak sebagai akseptor elektron.

Pada bakteri endofit kombinasi, bakteri yang paling tinggi menghasilkan NH_4 adalah bakteri *B. mycoides* dengan *K. ozaenae* menghasilkan 1,399 ppm pada hari ke-5; bakteri *P. pseudomallei*, *B. mycoides* dengan *K. ozaenae* 1,028 ppm pada hari ke-4; bakteri *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae* sebesar 0,746 ppm pada hari ke-5 dan bakteri kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides* sebesar 0,71 ppm pada hari ke-4.

Tingginya nilai NH_4 yang difiksasi oleh bakteri endofit kombinasi dibandingkan dengan bakteri endofit tunggal berkaitan dengan seiring meningkatnya populasi bakteri dalam media M63 tanpa mineral N. Hal ini dikarenakan bakteri yang digunakan memiliki kecepatan tumbuh yang berbeda-beda. Ketika nitrogen meningkat dalam media M63, maka dimanfaatkan oleh

populasi bakteri endofit untuk membentuk biomasanya. Ghazali (2001) dalam Sumastri (2009), menyatakan bahwa kultur campuran (kombinasi) bakteri mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon alifatik, aromatik, asfalin, dan senyawa fraksi nitrogen, sulfur, dan oksigen pada tanah yang tercemar minyak bumi dan lumpur minyak bumi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa biodegradasi dengan kultur campuran bakteri memberikan hasil yang lebih tinggi daripada kultur satu jenis bakteri, tetapi diperlukan kombinasi campuran bakteri yang dinamis dan sinergis. Darmayasa (2008), menyatakan bahwa keberadaan nitrogen dan fosfor sangat penting karena mikroorganisme memerlukannya untuk membentuk biomassa. Penurunan nilai ion NH_4 dapat disebabkan oleh menurunnya populasi yang terdapat dalam media tumbuh.

Hasil perhitungan menggunakan regresi polynomial menunjukkan bahwa persentase (R^2) kemampuan masing-masing bakteri endofit dalam memfiksasi nitrogen di udara berbeda-beda (gambar 4.2). Pada isolat *P. pseudomallei* kemampuan memfiksasi N sekitar 74,26%, sedangkan pada isolat *B. mycoides* dan *K. ozaenae* masing-masing memiliki kemampuan memfiksasi N_2 di udara sebesar 81,91% dan 75,78%. Pada isolat kombinasi, kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides* sebesar 88,8%, kombinasi *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae* sebesar 94,74%, kombinasi *B. mycoides* dengan *K. ozaenae* sebesar 70,07%, dan kombinasi *P. pseudomallei*, *B. mycoides* dan *K. ozaenae* sebesar 91,83%.



Gambar 4.2. Grafik perhitungan regresi polinomial, kemampuan bakteri endofit memfiksasi N_2 di udara

Persamaan dan nilai R^2 dapat dilihat dari tabel dibawah ini.

Tabel 4.1 Nilai hasil perhitungan regresi polinomial NH_4^+

Isolat bakteri	Persamaan	Nilai R^2
<i>P. pseudomalei</i>	$y = -0.0382x^2 + 0.4235x - 0.46$	$R^2 = 0.7426$
<i>B. mycoides</i>	$y = -0.0591x^2 + 0.5991x - 0.6292$	$R^2 = 0.8191$
<i>K. ozaenae</i>	$y = -0.0825x^2 + 0.7507x - 0.8445$	$R^2 = 0.7578$
Kombinasi <i>P. pseudomallei</i> dengan <i>B. mycoides</i>	$y = -0.0511x^2 + 0.4634x - 0.4252$	$R^2 = 0.888$
Kombinasi <i>P. pseudomallei</i> dan <i>K. ozaenae</i>	$y = -0.0277x^2 + 0.3542x - 0.3766$	$R^2 = 0.9474$
Kombinasi <i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	$y = -0.0502x^2 + 0.5576x - 0.5971$	$R^2 = 0.7007$
Kombinasi <i>P. pseudomalei</i> , <i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	$y = -0.0783x^2 + 0.7164x - 0.7111$	$R^2 = 0.9183$

Pada bakteri endofit kombinasi, terdapat dua kombinasi yang cukup tinggi menghasilkan ion NH_4 yaitu *B. mycooides* dengan *K. ozaenae* dan kombinasi bakteri *P. pseudomallei*, *B. mycooides* dengan *K. ozaenae*. Kemampuan penambatan nitrogen yang tinggi disebabkan oleh seiring dengan meningkatnya enzim yang dihasilkan oleh masing-masing jenis bakteri baik yang berfungsi dalam memfiksasi N maupun yang mampu menguraikan senyawa-senyawa tertentu sebagai faktor tumbuh, misalnya enzim fitase. Nat dan Sajidan (2009), menyatakan bahwa enzim fitase merupakan salah satu enzim yang tergolong dalam kelompok fosfatase yang mampu menghidrolisis senyawa fitat. Enzim ini berfungsi untuk mendegradasi ikatan fitat, sehingga dapat melepaskan mineral, asam amino dan protein tertentu. Bakteri yang menghasilkan enzim fitase adalah *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, dan fitase periplasma dan sitoplasma dari *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Pseudomonas spec*, *K. terrigena* dan *K. Aerogenes*. Selain itu adanya hubungan yang sinergis menyebabkan proses fiksasi nitrogen dapat berjalan dengan baik. Selain itu, faktor tumbuh yang sama menyebabkan terjadi kompetisi sehingga proses fiksasi N berjalan tidak terlalu tinggi.

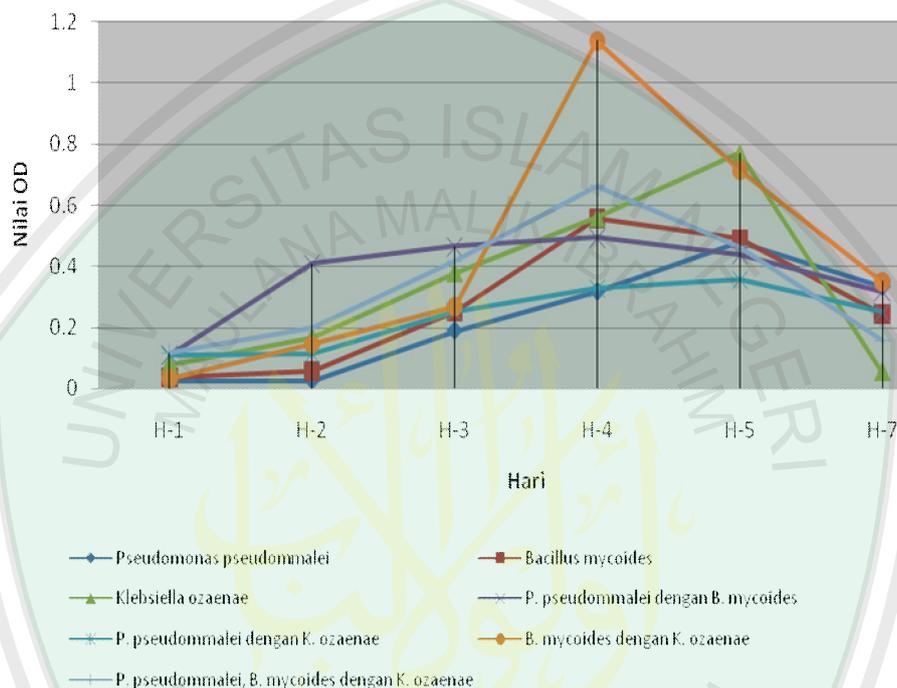
Jika dua atau lebih jasad yang berbeda ditumbuhkan bersama-sama dalam suatu medium, maka aktivitas metabolismenya secara kualitatif maupun kuantitatif akan berbeda jika dibandingkan dengan jumlah aktivitas masing-masing jasad yang ditumbuhkan dalam medium yang sama tetapi terpisah. Fenomena ini merupakan hasil interaksi metabolisme atau interaksi dalam

penggunaan nutrisi yang dikenal sebagai sintropik atau sintropisme atau sinergitik (Sumarsih, 2003).

Contoh adanya hubungan sinergitik adalah biakan campuran yang terdiri atas dua jenis mikroba atau lebih sering tidak memerlukan faktor tumbuh untuk pertumbuhannya. Mikroba yang dapat mensintesis bahan selnya dari senyawa organik sederhana dalam medium, akan mengekskresikan berbagai vitamin atau asam amino yang sangat penting untuk mikroba lainnya. Adanya ekskresi tersebut memungkinkan tumbuhnya mikroba lain. Kenyataan ini dapat menimbulkan koloni satelit yang dapat dilihat pada medium padat. Koloni satelit hanya dapat tumbuh kalau ada ekskresi dari mikroba lain yang menghasilkan faktor tumbuh esensiil bagi mikroba tersebut. Bentuk interaksi lain adalah cross feeding yang merupakan bentuk sederhana dari simbiose mutualistik. Dalam interaksi ini pertumbuhan jasad yang satu tergantung pada pertumbuhan jasad lainnya, karena kedua jasad tersebut saling memerlukan faktor tumbuh esensiil yang diekskresikan oleh masing-masing jasad (Sumarsih, 2003).

Kecepatan tumbuh bakteri endofit isolat tunggal pada media M63 per hari, dapat dilihat pada kurva pertumbuhan dibawah ini (gambar 4.2). Untuk isolat tunggal *P. pseudomallei* fase adaptasi terjadi pada hari pertama sampai dengan hari ke dua, pada hari ke tiga terjadi fase eksponensial sampai hari ke-5, dan kemungkinan fase stasioner terjadi pada hari ke-6, kemudian pada hari ke 7 terjadi fase kematian; *B.mycoides* fase adaptasi terjadi pada hari pertama, fase eksponensial terjadi pada hari ke-2 sampai hari ke-4, fase stasioner terjadi lebih pendek, kemudian pada hari ke 5 terjadi fase kematian, dan *K. ozaenae* fase

adaptasi terjadi pada hari pertama, pada hari ke-2 sudah berada pada fase eksponensial sampai pada hari ke-5, kemungkinan fase stasioner terjadi pada hari ke-6 dan pada hari ke-7 terjadi fase kematian.



Gambar 4.3 Nilai OD bakteri endofit tunggal dan kombinasi pada media M63

Kecepatan tumbuh bakteri endofit isolat kombinasi pada media M63 per hari, dapat dilihat pada kurva pertumbuhan dibawah ini. Untuk isolat kombinasi, kombinasi bakteri *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides*, fase adaptasi terjadi pada hari pertama, fase eksponensial terjadi pada hari ke-2 sampai hari ke-4, fase stasioner terjadi lebih pendek (tidak terdeteksi), kemudian pada hari ke 5 terjadi fase kematian; kombinasi *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae* fase adaptasi terjadi pada hari pertama samapi hari ke-2, fase eksponensial terjadi pada hari ke-3 sampai hari ke-4, fase stasioner terjadi lebih pendek (tidak terdeteksi), kemudian

pada hari ke 5 terjadi fase kematian; pada kombinasi *B. mycoides* dengan *K. ozaenae* fase adaptasi terjadi pada hari pertama, pada hari ke-2 sampai hari ke-4 terjadi fase eksponensial, dan pada hari ke-5 terjadi fase kematian (fase stasioner berjalan lebih pendek, tidak terdeteksi). Pada kombinasi *P. pseudomallei*, *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*, pada hari pertama terjadi fase adaptasi, kemudian pada hari ke-2 terjadi fase eksponensial sampai pada sampai pada hari ke-4, dan pada hari ke-5 terjadi fase kematian (fase stasioner berjalan lebih pendek, tidak terdeteksi).

Purwoko (2007), menjelaskan bahwa pada mikroba terjadi 4 tahap dalam fase pertumbuhan yaitu:

1. Pada *fase adaptasi*, tidak dijumpai pertambahan jumlah sel. Akan tetapi terjadi pertambahan volume sel, proses adaptasi meliputi sintesis enzim yang sesuai dengan medianya dan pemulihan terhadap metabolit yang bersifat toksik (misalnya asam, alkohol, dan basa) pada waktu di media lama.
2. *Fase perbanyakan* (eksponensial), pada fase perbanyakan sel melakukan konsumsi nutrisi dan proses fisiologis lainnya. Pada fase perbanyakan jumlah sel meningkat sampai pada batas tertentu (tidak terdapat pertambahan bersih jumlah sel), sehingga memasuki fase statis.
3. *Fase statis*, pada fase statis, biasanya sel melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang menguntungkan. Beberapa alasan yang dapat dikemukakan adalah: 1) nutrisi habis, 2) akumulasi metabolit toksik

(misalnya alkohol, asam, dan basa), 3) penurunan kadar oksigen, 4) penurunan nilai a_w (ketersediaan air).

4. *Fase kematian*, penyebab utama kematian adalah autolisis sel dan penurunan energi seluler. Beberapa bakteri hanya mampu bertahan beberapa jam selama fase statis dan akhirnya masuk ke fase kematian, sementara itu ada bakteri yang mampu bertahan sampai harian bahkan mingguan pada fase statis dan akhirnya masuk ke fase kematian. Beberapa bakteri bahkan mampu bertahan sampai puluhan tahun sebelum mati, yaitu dengan mengubah sel menjadi spora.

Perbedaan nilai OD (kerapatan optis merupakan nilai yang menunjukkan tinggi rendahnya populasi bakteri dalam suatu media) antara satu bakteri dengan bakteri lainnya menunjukkan bahwa terjadi proses pemanfaatan unsur-unsur yang terdapat pada media terutama (unsur C dan N) untuk digunakan dalam proses pertumbuhannya dan pemanfaatan sumber karbon antara jenis bakteri satu dengan yang lainnya berbeda-beda. Selain itu, kemampuan antara bakteri kombinasi satu dengan yang lainnya juga disebabkan oleh kemampuan bakteri tersebut dalam memanfaatkan substrat yang terdapat dalam media tumbuh. Aditiawati *et al* (2001), menyatakan bahwa setiap jenis bakteri pendegradasi minyak hanya mendegradasi substrat hidrokarbon dalam kisaran yang terbatas.

Menurut Thontowi *et al* (2007), kebutuhan dasar nutrisi bagi mikroorganisme untuk tumbuh adalah energi atau sumber karbon, sumber nitrogen, dan unsur anorganik. Sumber nitrogen dalam media fermentasi digunakan untuk sintesis protein di dalam sel.

Hasil uji OD pada sumber karbon yang sama yaitu glukosa, masing-masing bakteri baik bakteri tunggal maupun bakteri kombinasi laju pertumbuhan bakteri berbeda-beda. Bakteri kombinasi yang memiliki laju pertumbuhan yang paling tinggi dibandingkan dengan bakteri kombinasi lainnya adalah bakteri *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*, hal ini disebabkan oleh adanya hubungan interaksi yang positif. Sumarsih (2003), menyatakan bahwa meningkatnya kepadatan populasi, secara teoritis meningkatkan kecepatan pertumbuhan. Interaksi positif disebut juga kooperasi. Sebagai contoh adalah pertumbuhan satu sel mikroba menjadi koloni atau pertumbuhan pada fase lag (fase adaptasi). Sedangkan bakteri yang memiliki nilai OD rendah dapat disebabkan oleh adanya hubungan interaksi negatif. Sumarsih (2003), menyatakan bahwa interaksi negatif menyebabkan turunnya kecepatan pertumbuhan dengan meningkatnya kepadatan populasi. Misalnya populasi mikroba yang ditumbuhkan dalam substrat terbatas, atau adanya produk metabolik yang meracun. Interaksi negatif disebut juga kompetisi dan antagonis.

Penurunan nilai OD menunjukkan bahwa bakteri tersebut terjadi proses kematian. Menurut Thontowi *et al* (2007), penurunan populasi mikrobia disebabkan berkurangnya nutrisi penting dalam media, hal ini terjadi karena mikrobia memanfaatkan senyawa yang terkandung dalam media untuk kebutuhan metabolismenya. Komposisi dalam media menjadi berubah sebagai hasil metabolisme mikrobia yang mendegradasi senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Terjadinya proses penyerapan sel terhadap sumber nitrogen

ini menyebabkan kandungan protein di dalam media semakin berkurang dengan lamanya waktu fermentasi.

Selain itu, penurunan nilai OD bakteri endofit juga dapat disebabkan oleh rasio karbon terhadap nitrogen. Wulan *et al* (2006), melaporkan bahwa jika rasio karbon terhadap nitrogen terlalu kecil (jumlah nitrogen terlalu besar) maka akan terjadi kelebihan NH_3 yang terbentuk yang akhirnya dapat menyebabkan proses pengasaman. Proses pengasaman ini akan membuat pertumbuhan bakteri terganggu karena mengganggu kestabilan pH optimum. Jika rasio karbon terhadap nitrogen terlalu besar (jumlah unsur nitrogen kecil), maka unsur nitrogen ini akan menjadi faktor pembatas dalam metabolisme bakteri dan hal ini akan menghambat pertumbuhan bakteri. Yani dan Akbar (2010), menyatakan bahwa Nilai rasio C/N menunjukkan seberapa besar perbandingan ketersediaan karbon dan nitrogen dalam media. Penurunan kandungan karbon dalam media menunjukkan tingkat penghilangan yang termineralisasi oleh aktivitas bakteri.

Bakteri endofit yang ada mempunyai kemampuan fiksasi N relatif lebih tinggi. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai N yang terdapat dalam media bebas N. Hasil perhitungan nilai OD dan nilai NH_4 , menunjukkan bahwa meningkatnya nilai NH_4 ternyata meningkatkan pula nilai OD isolat bakteri endofit. Demikian juga sebaliknya, ketika nilai fiksasi N turun, maka nilai OD isolat bakteri endofit juga menurun. Marschner (1986) dalam Ikhwan (2008), menyatakan bahwa bakteri akan mengaktifkan enzim nitrogenase untuk memfiksasi dan mereduksi N udara, yang kemudian dirangkai dengan rantai karbon menjadi senyawa amina atau asam amino. Senyawa asam amino akan digunakan sebagai faktor

pertumbuhan, karena merupakan komponen dasar dalam pembentukan protein dan pembentukan organel sel yang lain. Enzim nitrogenase terdiri dari sub unit protein-Fe dan sub unit protein-Fe-Mo, sehingga keberadaan Fe dan Mo sangat diperlukan untuk aktifator enzim tersebut (Ikhwan, 2008).

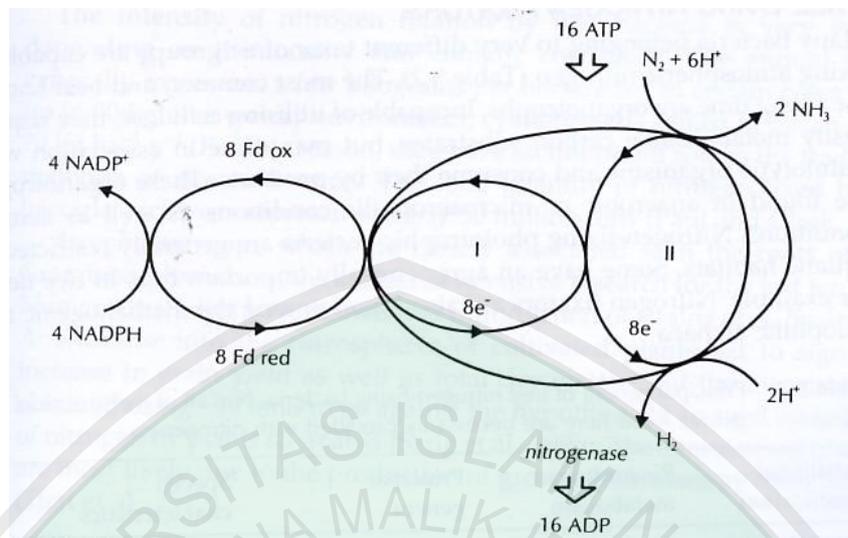
Konversi N_2 dari udara menjadi amonia dimediasi (dibantu) oleh enzim nitrogenase. Banyaknya N_2 yang dikonversi menjadi amonia sangat tergantung pada kondisi fisik, kimia, dan biologi tanah. Ketersediaan sumber energi (C-organik) di lingkungan rizosfir merupakan faktor utama yang menentukan banyaknya nitrogen yang dihasilkan. Penambahan sisa-sisa tanaman (biomassa) sebagai sumber C ke dalam tanah memacu perkembangan populasi bakteri penambat N. Ini menjelaskan mengapa jumlah nitrogen yang ditambat oleh bakteri bervariasi di tiap tempat tergantung pada ketersediaan energi dan kemampuan bakteri penambat N bersaing dengan mikroba lain yang hidup dan perkembangbiakannya juga bergantung kepada sumber energi yang sama (Simanungkalit, 2006).

Dua molekul amonia dihasilkan dari satu molekul gas nitrogen dengan menggunakan 16 molekul ATP dan pasokan elektron dan proton (ion hidrogen), seperti digambarkan pada persamaan berikut $N_2 + 8 H^+ + 8 e^- + 16 ATP = 2 NH_3 + H_2 + 16 ADP + 16 Pi$ (Simanungkalit, 2006).

Reaksi ini hanya dilakukan oleh bakteri prokariot, menggunakan suatu kompleks enzim nitrogenase. Enzim ini mengandung dua molekul protein yaitu satu molekul protein besi dan satu molekul protein molibdenbesi. Reaksi ini berlangsung ketika molekul N_2 terikat pada kompleks enzim nitrogenase. Protein

Fe mula-mula direduksi oleh elektron yang diberikan oleh ferredoksin. Kemudian protein Fe reduksi mengikat ATP dan mereduksi protein molibden-besi, yang memberikan elektron kepada N_2 , sehingga menghasilkan $NH=NH$. Pada dua daur berikutnya proses ini (masing-masing membutuhkan elektron yang disumbangkan oleh ferredoksin) $NH=NH$ direduksi menjadi H_2N-NH_2 , dan selanjutnya direduksi menjadi NH_3 . Tergantung pada jenis mikroanya, ferredoksin reduksi yang memasok elektron untuk proses ini diperoleh melalui fotosintesis, respirasi atau fermentasi (Simanungkalit, 2006).

Setelah terjadi konversi N_2 di udara menjadi NH_3 , maka proses selanjutnya adalah konversi senyawa NH_3 menjadi NH_4^+ yang merupakan senyawa yang lebih mudah diserap oleh tumbuhan. Ion NH_4^+ terbentuk dalam media, maka akan semakin menumpuk jika tidak digunakan. Adapun reaksi konversi NH_3 menjadi NH_4 adalah $NH_3 + H_2O \rightarrow NH_4 + OH$ (Supriyati, 2009).



Gambar 4.4 Mekanisme proses fiksasi nitrogen. Proses perubahan N_2 di udara dengan bantuan enzim nitrogenase, NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphat; Fd : feredoxin, I: aktivitas nitrogenase dibantu oleh protein-Fe; II: aktivitas nitrogenase dibantu oleh Protein-Fe+Mo; ATP: adenosine triphosphat; ADP: adenosine diphosphat; Pi: mineral phosphorus (Davet, 2004).

Glukosa sebagai sumber karbon utama diserap melalui proses transfer aktif yang kemudian dimetabolisme untuk menghasilkan energi dan mensintesis bahan pembentuk sel, serta sintesis metabolit (Priest dan Campbell, 1996 dalam Thontowi *et al*, 2007). Menurut Salisbury dan Ross (1995), di alam pada proses fiksasi nitrogen, sumber asli elektron dan proton yang adalah karbohidrat yang diangkut dari daun dan kemudian direspirasikan oleh bakteri. Respirasi karbohidrat pada bakteroid menyebabkan reduksi NAD^+ menjadi NADH, atau $NADP^+$ menjadi NADPH. Selain itu, pada beberapa organisme penambat nitrogen, oksidasi piruvat selama respirasi menyebabkan reduksi sebuah protein yang disebut *flavodoksin*, kemudian flavodoksin, NADH, atau NADPH mereduksi feredoksin atau protein serupa yang sangat efektif dalam mereduksi N_2 menjadi NH_4^+ .

Potensi N yang disumbangkan oleh bakteri penambat nitrogen yang hidup-bebas tidak terlalu tinggi dibandingkan bakteri endofit diazotrof, karena N yang berhasil ditambat berada di luar jaringan tanaman, sehingga sebagian hilang sebelum diserap oleh tanaman (Simanungkalit, 2006). Pelepasan nitrogen yang tidak terkendali dapat bersifat merugikan lingkungan, seperti meningkatnya kandungan nitrat pada makanan dan air, yang berdampak pada kesehatan manusia dan binatang (Edwards, 2010).

Pemanfaatan bakteri endofit ini dapat mengefisieni penggunaan N tanah, karena mampu memfiksasi atau memenuhi kebutuhan N sendiri sehingga tidak menggunakan N yang ada di dalam tanah. Oleh karena itu, ketersediaan N bagi tanaman akan lebih besar karena tidak berkompetisi untuk pemanfaatan N sehingga penggunaan pupuk N akan lebih efisien (Ikhwan, 2008).

Segala sesuatu yang dibutuhkan oleh manusia sebenarnya sudah disiapkan oleh Allah di Alam, sehingga pemanfaatannya tergantung pada manusia itu sendiri. Hal ini berkaitan dengan konteks upaya untuk menjaga limpahan nikmat Allah secara berkesinambungan. Pada QS. Al-Furqan: 2, Allah SWT berfirman:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ
فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya: Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagiNya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.

Kata “*faqaddarahu taqdiran*” memiliki makna bahwa segala sesuatu yang dijadikan Tuhan diberi-Nya perlengkapan-perengkapan dan persiapan-persiapan,

sesuai dengan naluri, sifat-sifat dan fungsinya masing-masing dalam hidup (Shihab, 2003).

Selain itu, ayat diatas menunjukkan bahwa Allah SWT telah menciptakan dan mengatur segala sesuatunya dengan serapi-rapinya. Dan dari ayat ini kita dapat menyimpulkan bahwa Allah SWT telah menciptakan sesuatu sesuai dengan ukuran dan fungsinya (Kusumadewi, 2008). Hal ini menunjukkan bahwa kita harus selalu memperhatikan keadaan lingkungan sehingga tidak terjadi kerusakan maupun pencemaran, terutama dalam bidang pertanian oleh berbagai macam penggunaan bahan kimia. Untuk mengganti peran bahan kimia, salah satunya dapat menggunakan bakteri endofit sebagai agen pupuk hayati yang ramah lingkungan.

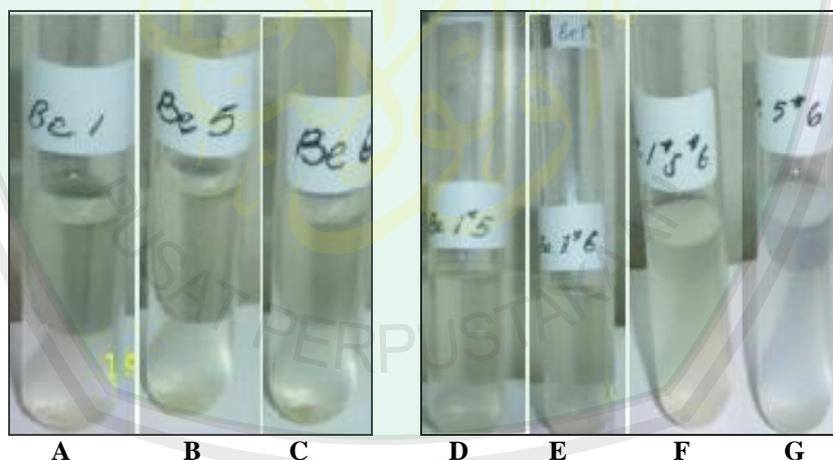
4.2 Kemampuan Produksi Hormon IAA oleh Bakteri Endofit

4.2.1 Perubahan Warna dan pH Medium

Medium isolasi yang digunakan untuk menguji produksi hormon IAA oleh bakteri endofit adalah JNFB (James Nitrogen Free Bromthymo Blue) cair yang dapat memperlihatkan reaksi yang berbeda dari setiap isolat. Beberapa isolat *endofit* tidak merubah warna media (tetap berwarna kuning) dan isolat lainnya merubah warna media menjadi biru kehijauan atau hijau (Susilowati, 2007). Kandungan pH pada medium JNFB adalah 5,7, sehingga merupakan suatu kondisi yang cukup mendukung untuk menghasilkan hormon IAA. Hasil penelitian Isminarni *et al* (2007), menunjukkan bahwa Pada pH 4 produksi IAA tidak dapat terdeteksi sedangkan pada pH 5 dapat terdeteksi. Semakin rendah pH aktivitas

enzim memproduksi IAA semakin menurun. Hal ini dikarenakan semua proses fisiologis pada makhluk hidup terkait dengan sistem enzim, diduga pada kasus ini pH dapat menurunkan aktivitas enzim yang berperan dalam produksi IAA.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa, selama pertumbuhan isolat bakteri endofit menunjukkan terjadinya perubahan warna pada setiap kultur bakteri, rata-rata menunjukkan perubahan dari warna kuning menjadi warna hijau yaitu isolat *P. pseudomallei*, *B. mycooides*, *K. ozaenae* dan pada bakteri kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycooides*; kombinasi *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae*; dan kombinasi *P. pseudomallei*, *B. mycooides* dengan *K. ozaenae*. Sedangkan warna hijau kebiruan pada isolat kombinasi *B. mycooides* dengan *K. ozaenae*.



Gambar 4.5 Warna bakteri tunggal dan bakteri kombinasi bakteri endofit pada media JNFB cair.

Keterangan:

- A : *Pseudomonas pseudomallei*
- B : *Bacillus mycooides*
- C : *Klebsiella ozaenae*
- D : Kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycooides*
- E : Kombinasi *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae*
- F : Kombinasi *P. Pseudomallei*, *B. mycooides* dengan *K. ozaenae*
- G : Kombinasi *B. mycooides* dengan *K. ozaenae*

Perubahan warna media JNFB (pH 5,8) menjadi hijau atau hijau kebiruan semua pada isolat bakteri endofit, mengindikasikan bahwa isolat-isolat bakteri tersebut menunjukkan reaksi basa (alkali). Alkalinisasi medium yang mengandung malat disebabkan malat mengalami oksidasi (Susilowati, 2006).

Oksidasi merupakan pemindahan elektron dari satu molekul ke molekul lainnya, proses oksidasi selalu disertai dengan proses reduksi, yaitu diperolehnya elektron oleh molekul yang lain. Seringkali reaksi oksidasi merupakan *dehidrogenasi*, yaitu reaksi yang menyangkut hilangnya atom hidrogen (H). Sebuah atom hidrogen terdiri dari sebuah proton (H^+) dan sebuah elektron (e^-), jadi suatu senyawa yang kehilangan atom hidrogen telah kehilangan elektron dan dengan demikian telah teroksidasi (Pelczar dan Chan, 1986).

Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa pada isolat tersebut terjadi proses alkalinisasi. Selama pertumbuhan bakteri endofit, terjadi perubahan pH media yang berkisar antara pH 6,33–8,40.

Tabel 4.2 Nilai pH masing-masing isolat bakteri endofit pada medium JNFB Cair.

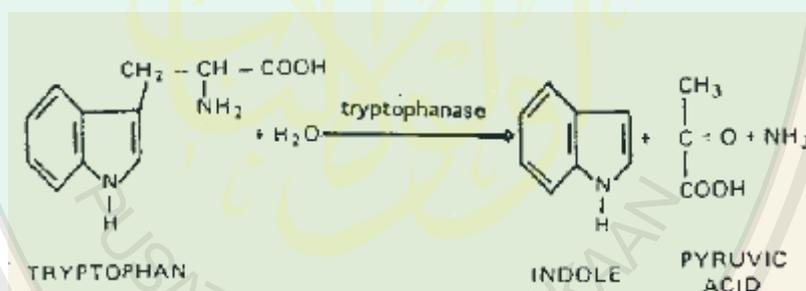
No.	Isolat	pH
1.	<i>P. pseudomallei</i>	6,33
2.	<i>B. mycooides</i>	6,64
3.	<i>K. ozaenae</i>	6,93
4.	<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>B. mycooides</i>	7,63
5.	<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	6,90
6.	<i>B. mycooides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	8,04
7.	<i>P. pseudomallei</i> , <i>B. mycooides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	8,40

Pelczar dan Chan (1986), menyatakan bahwa bila bakteri dikultivasi dalam suatu medium yang mula-mula disesuaikan pH nya, misalnya 7, maka mungkin

sekali pH ini akan berubah sebagai akibat adanya senyawa-senyawa asam dan basa yang dihasilkan selama pertumbuhannya.

4.2.2 Pengukuran nilai Absorbansi Hormon IAA

Pembentukan indol acetid acid dipengaruhi oleh adanya triptofan sebagai prekursor. Asam amino triptofan merupakan komponen asam amino yang lazim terdapat pada protein, sehingga asam amino ini dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme. Asam amino triptofan apabila dihidrolisis oleh enzim triptofamase akan menghasilkan indol dan asam piruvat (Prescott, 2002). Bakteri endofit mampu mensintesis triptofan untuk digunakan dalam proses pembentukan hormon IAA (Staley *et al*, 2009).



Gambar 4.6 Reaksi pemecahan Triptofan menjadi indole dan asam piruvat (Prescott, 2002).

Triptofan dalam medium cair JNFB diperoleh melalui pepton yang berfungsi sebagai mikronutrien. Menurut Arditti dan Ernst (1992 dalam Ramadiana *et al*, 2008), pepton mengandung 15 jenis asam amino yaitu arginin, asam aspartat, sistein, asam glutamat, glisin, histidin isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, threonin, *triptofan*, tirosin dan valin. Pepton juga

mengandung lima jenis vitamin, yaitu piridoksin, biotin, tiamin, asam nikotinat dan ribovlavin.

Untuk menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit memiliki kemampuan dalam menghasilkan hormon IAA, maka dilakukan pengukuran nilai absorbansi setelah sebelumnya di tambahkan pereaksi Salkowski. Menurut Herter (1908), pereaksi salkowski dapat diguakan untuk mendeteksi hormon IAA pada suatu organisme, selain itu juga dapat digunakan untuk mengetahui tingkah laku keasaman organsime. Crozier *et al* (1988), menambahkan bahwa reagen salkowski digunakan untuk menghitung nilai IAA setelah medium cultur disentrifugasi. Pereaksi salkowski telah digunakan secara rutin untuk melihat produksi IAA oleh bakteri mutan.

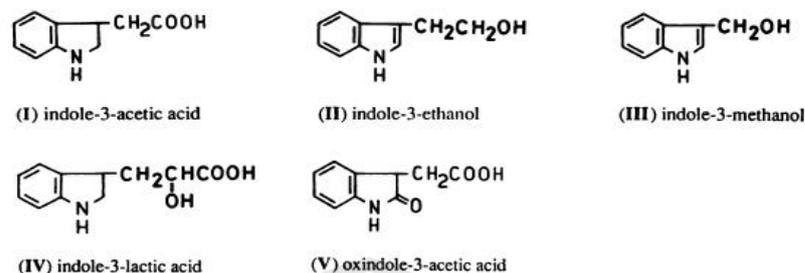
Kombinasi Fe dan asam sulphuric (H_2SO_4) sebagai pereaksi tunggal mampu meningkatkan kepekaan dalam menentukan indoleacetic acid. Akan tetapi, warna yang dihasilkan juga tidak stabil, dengan cepat terbentuk dan kemudian menghilang. Memudarnya warna pada dasarnya dapat dideteksi dengan mengadopsi standar waktu antara penambahan pereaksi dan pembacaan absorbansi. Penggunaan pereaksi ini dapat memperbaiki pembacaan nilai IAA 15 menit setelah penambahan peraksi (sampai 30 menit), serta mampu menjangkau secara maksimal warna yang telah memudar (Gordon dan Weber, 1950). Bahkan pada konsentrasi senyawa salkowski yang rendahpun, berkorelasi dengan produksi IAA (Glickmann dan Dessaux, 1995).

Waktu sangat mempengaruhi nilai IAA yang dihasilkan oleh bakteri endofit setelah penambahan pereaksi salkowski. Hal ini di dukung oleh

kemampuan supernatan untuk mensintesis IAA pada 30 menit awal, kemudian reaksi berakhir setelah 1 jam (Riguad dan Puppo, 1974).

Setelah penambahan pereaksi salkowski dan di inkubasi selama 1 jam, isolat bakteri yang terkandung dalam tabung reaksi menunjukkan perubahan warna menjadi pink dan pink transparan. Meudt dan Gaines (1967), menyatakan bahwa nilai kalorimetrik indole- 3-acetic acid (IAA) oleh enzim peroksida semuanya didasarkan pada pereaksi salkowski dengan IAA dalam reaksi oksidasi. Hasil reaksi ini akan menghasilkan warna pink jika terdapat IAA. Menurut Gordon dan Weber (1950), tingginya stabilitas dan kepadatan warna setelah penambahan pereaksi akan menentukan tingginya tingkat konsentarsi IAA. Sensitivitas dan stabilitas mencapai keseimbangan, melalui peningkatan reaksi beberapa senyawa indole lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa adanya *hydrogen peroxide* memperbesar terjadinya reaksi oksidasi, mempercepat terjadinya pembentukan warna dan kemungkinan meningkatkan intensitasnya.

Hasil uji secara kalorimetrik menggunakan spektrofotometer, menunjukkan bahwa seluruh bakteri endofit pada kultur supernatan yang diuji menghasilkan hormon IAA dengan nilai Absorbansi yang berbeda-beda pada tiap isolat baik bakteri tunggal maupun bakteri hasil kombinasi. Gosh dan Basu (2002) dalam Kumari *et al* (2008), menyatakan bahwa produksi hormon IAA dapat diketahui pada kultur supernatan dan kehadiran karbon pada medium mempengaruhi produksi hormon tersebut. Semua bakteri yang dipelajari memperlihatkan variasi produksi IAA pada sumber karbon yang sama.



Gambar 4.7 Struktur IAA dan Indol (Crozier *et al*, 1988)

Pengujian bakteri endofit dalam memproduksi Hormon IAA dilakukan dengan metode kolorimetri. Tujuh jenis bakteri diketahui mampu memproduksi IAA. Namun kandungannya beragam mulai dari 0,45-1,14 ppm (Tabel 4.2). bakteri tunggal yang paling tinggi dalam menghasilkan IAA adalah *K. ozaenae* dibandingkan dengan bakteri lainnya, hal ini kemungkinan dikarenakan kecepatan tumbuh bakteri *K. ozaenae* cepat sehingga mampu menghasilkan enzim yang lebih besar, sehingga menyebabkan sintesis hormon IAA menjadi lebih tinggi.

Bakteri endofit kombinasi yang mempunyai kemampuan tinggi menghasilkan IAA ada 2 yaitu kombinasi *B. mycooides* dengan *K. ozaenaei*; dan kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycooides* dibandingkan dengan bakteri lainnya. Hal ini dikarenakan adanya hubungan simbiosis antara bakteri yang terdapat dalam satu media tumbuh sehingga laju pertumbuhan meningkat dan menyebabkan meningkatnya enzim yang dihasilkan untuk mensintesis hormon IAA.

Tabel 4.3 Nilai konsentrasi IAA masing-masing bakteri endofit.

No.	Bakteri Endofit	Nilai AIA (ppm)
1.	<i>P. pseudomallei</i>	0,56
2.	<i>B. mycoides</i>	0,45
3.	<i>K. ozaenae</i>	0,98
4.	<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>B. mycoides</i>	1,16
5.	<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,55
6.	<i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	1,14
7.	<i>P. pseudomallei</i> , <i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,62

Pada bakteri kombinasi, jika salah satu mikroba ada yang dapat mensintesis bahan selnya dari senyawa organik sederhana dalam medium, akan mengekskresikan berbagai vitamin atau asam amino yang sangat penting untuk mikroba lainnya. Adanya ekskresi tersebut memungkinkan tumbuhnya mikroba lain. Kenyataan ini dapat menimbulkan koloni satelit yang dapat dilihat pada medium padat. Koloni satelit hanya dapat tumbuh kalau ada ekskresi dari mikroba lain yang menghasilkan faktor tumbuh esensiil bagi mikroba tersebut. Bentuk interaksi lain adalah cross feeding yang merupakan bentuk sederhana dari simbiose mutualistik. Dalam interaksi ini pertumbuhan jasad yang satu tergantung pada pertumbuhan jasad lainnya, karena kedua jasad tersebut saling memerlukan faktor tumbuh esensiil yang diekskresikan oleh masing-masing jasad (Sumarsih, 2003).

Menurut Kresnawaty *et al* (2008) dalam Khairani (2009), bahwa pada inkubasi 24 jam, IAA yang dihasilkan lebih sedikit karena masih berada dalam fase logaritmik dan juga kandungan enzim-enzim untuk mengubah triptofan menjadi IAA masih rendah. Sedangkan pada waktu inkubasi 48 jam, IAA yang dihasilkan paling tinggi karena isolat berada pada fase akhir logaritmik dan

kandungan enzim-enzim yang digunakan dalam biokonversi triptofan menjadi IAA, seperti triptofan monooksigenase, IAM hidrolase, indol-piruvat dekarboksilase dan IAAld dehidrogenase yang dihasilkan cukup banyak dan aktif sejalan dengan laju pertumbuhan. Pada waktu inkubasi 72 jam isolat telah memasuki fase kematian, sehingga produksi IAA menurun tajam. Tien *et al.*, (1979) dalam Khairani (2009), melaporkan bahwa konsentrasi IAA oleh *A. brasilense* meningkat seiring umur bakteri sampai fase stasioner.

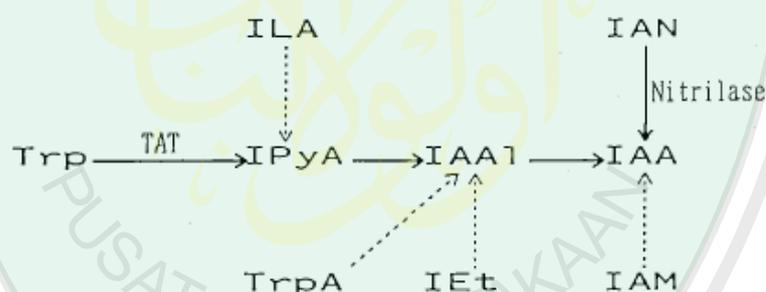
Menurut Dewi (2008), IAA mendorong pemanjangan sel batang hanya pada konsentrasi tertentu yaitu 0,9 g/l. Di atas konsentrasi tersebut IAA akan menghambat pemanjangan sel batang.

Sebagian besar produksi IAA oleh mikroorganisme terjadi melalui berbagai cara yang berbeda-beda (Yang *et al*, 2006). Menurut Ramamoorthy *et al.* (2001), bakteri endofit berasosiasi dengan jaringan internal tanaman dan mengadakan suatu rangsangan pertumbuhan yang relatif sama seperti PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacter) (Firmansah, 2008). Menurut Moore (1979) dalam Ikhwan (2008), bahwa dalam sintesa IAA ada 4 jalan yaitu:

1. Dari triptofan kemudian dirubah menjadi asam indol piruvat oleh enzim triptofan transaminase, kemudian dirubah menjadi indolacetaldehid oleh enzim indolpiruvat dekarboksilase dan kemudian dirubah menjadi asam indol asetat (IAA) oleh enzim indolacetaldehid dehidrogenase.
2. Dari triptofan kemudian dirubah menjadi triptamin oleh enzim triptofan dekarboksilase, kemudian dirubah menjadi indolacetaldehid

oleh enzim amin oksidase dan kemudian dirubah menjadi asam indolasetat (IAA) oleh enzim indolacetaldehid dehidrogenase.

3. Dari indoletanol kemudian dirubah menjadi indolacetaldehid oleh enzim indoletanol oksidase, dan kemudian dirubah menjadi asam indolasetat (IAA) oleh enzim indolacetaldehid dehidrogenase.
4. Dari indolacetonitril dirubah langsung menjadi IAA dengan bantuan enzim nitrilase. Sedangkan untuk transport metabolit (IAA) ekstraselular maka dibutuhkan sistem transport membran sel yang terdiri dari *simportter* dan *antiporter* dengan *carier* protein.

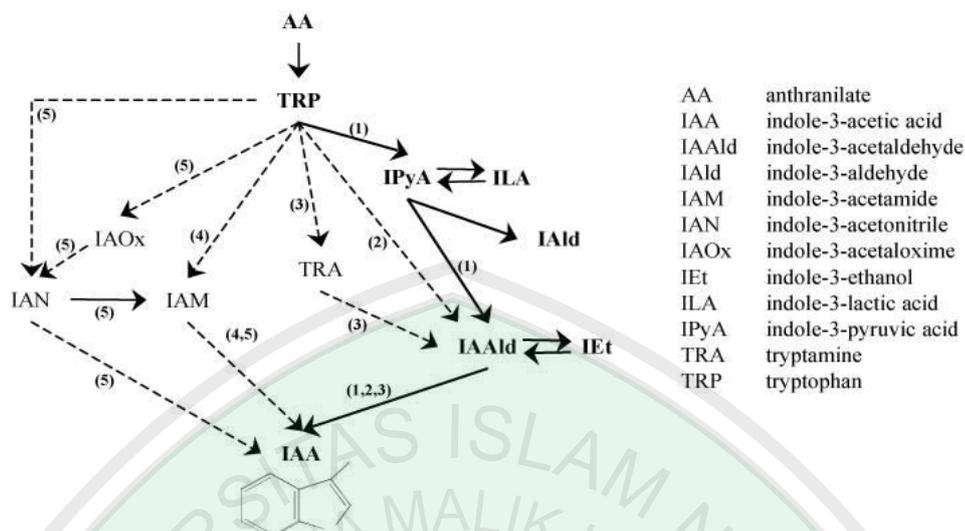


Gambar 4.8 Reaksi biosintesis indole acetid acid dari triptofan (Yamada *et al*, 1990).

Berdasarkan hasil pengamatan sebelumnya, bakteri yang digunakan merupakan bakteri dengan tipe bakteri gram negatif (*Klebsiella ozaenae* dan *Pseudomonas pseudomalei*) dan bakteri gram positif (*Bacillus mycoides*). Peningkatan produksi IAA pada isolat campuran mungkin berkaitan dengan cara biosintesis IAA dan enzim yang berperan dalam sintesis IAA.

Hasil penelitian Aryantha *et al* (2004), menunjukkan bahwa *Bacillus* mampu menghasilkan hormon IAA sebesar 34, 44 sampai 54,7 µg/ml pada media *Potato Dextrose Broth*, setelah diinkubasi selama 25 jam. Hasil penelitian Karnwal (2009), menyatakan *P. fluorescens* dan *P. aeruginosa* masing-masing mampu menghasilkan hormon IAA 4,0 µg/ml setelah diinkubasi selama 3 jam dan 3.9 µg/ml setelah diinkubasi 4 jam. Sachdev *et al* (2009), melaporkan bahwa bakteri *K. pneumoniae* strain K8 mampu menghasilkan hormon IAA sebesar 22,7 mg/l setelah diinkubasi selama 72 jam.

Menurut Idris *et al* (2007), bakteri gram negatif dalam mensintesis IAA sangat tergantung pada adanya triptofan dengan melalui indole-3-pyruvic acid (IPA), indole-3- acetamide (IAM), atau indole-3-acetonitrile (IAN), sebagai sebagai perantara yang sangat penting. Enzim-enzim yang berperan dalam proses sintesis IAA adalah AS, anthranilate synthase (*trpE*); APT, anthranilate phosphoribosyltransferase (*trpD*); TSA, tryptophan synthase (*trpAB*); AAT, tryptophan transaminase; IPyAD, indole-3-pyruvate decarboxylase (*ipdc*); AIDH, indole-3-acetaldehyde dehydrogenase (*dhaS*); TrD, tryptophan decarboxylase; AmO, amine oxidase; IAAT, IAA transacetylase (*ysnE*); TMO, tryptophan 2-monooxygenase; IAMH, indole-3-acetamide hydrolase; nitrile hydratase; and nitrilase (*yhcX*) (lihat gambar 4.10).



Gambar 4.9 Skema biosintesis IAA bakteri gram positif dan bakteri negatif yang berasosiasi dengan tanaman. Nomor anak panah 1. Jalan IPyA; 2. Tryptofan yang mengalami berbagai reaksi oksidasi; 3. Melalui TRA; dan 5. Melalui IAN. Proses sintesis IAA bakteri gram positif ditunjukkan pada garis yang tidak terputus-putus sedangkan mekanisme biosintesis IAA oleh bakteri gram negatif ditunjukkan garis yang terputus-putus (Vandeputte *et al*, 2005).

Peran dan metabolisme indole-3-acetic acid (IAA) pada bakteri gram negatif telah didokumentasi dengan baik, tetapi sangat sedikit yang mengetahui tentang proses regulasi dan biosintesis indole-3-acetic acid pada bakteri gram positif. Bakteri gram positif dalam mensintesis IAA tidak tergantung adanya penambahan tryptophan dari luar. Mekanisme biosintesis bakteri gram positif dalam mensintesis IAA terdapat pada gambar 6 (Vandeputte *et al*, 2005). Bakteri gram positif dapat mensintesis IAA melalui berbagai cara, tetapi rute utama IAA adalah melalui jalan IPA (Indole 3-pyruvic acid) dengan kemungkinan senyawa yang berperan paling besar adalah indole-3-ethanol (Idris *et al*, 2007).

Biosintesis IAA yang dilakukan oleh bakteri endofit menunjukkan bahwa di alam terjadi berbagai macam interaksi. Langit dan bumi dan segala isinya termasuk matahari, bulan, bintang, air, tanah, tumbuh-tumbuhan dan hewan

merupakan ciptaan yang saling berhubungan satu sama lainnya dan saling mempengaruhi dalam komposisi ekosistem yang serasi dan seimbang serta berjalan secara teratur, karena semua itu diatur oleh Allah SWT (Harahap *et al*, 1997).

Firman Allah SWT dalam QS Al-Hajj (22):5 menunjukkan bahwa

وَتَرَى الْأَرْضَ هَامِدَةً فَإِذَا أَنْزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاءَ اهْتَزَّتْ وَرَبَتْ وَأَنْبَتَتْ
مِنْ كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ ﴿٥﴾

Artinya: Dan kamu lihat bumi ini kering, kemudian apabila telah Kami turunkan air di atasnya, hiduplah bumi itu dan suburlah dan menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang indah (QS Al-Hajj (22):5).

Kemampuan Allah SWT dalam mengatur seluruh alam ditunjukkan pada ayat diatas. Subur tidaknya suatu tanah akan memberikan pengaruh bagi pertumbuhan tanaman. Kata “*wa anbatat*” memiliki makna mengeluarkan dan diikuti oleh kata “*kulli zauji*” berarti berbagai macam tumbuh-tumbuhan. Ketika Allah mensifati tanah dengan “menumbuhkan”, maka hal ini menunjukkan bahwa firman Allah SWT “*ahhajjat warabat*” (hiduplah bumi dan suburlah), bermakna kembali ke bumi bukan tanaman (Al-Qurtubi, 2008).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

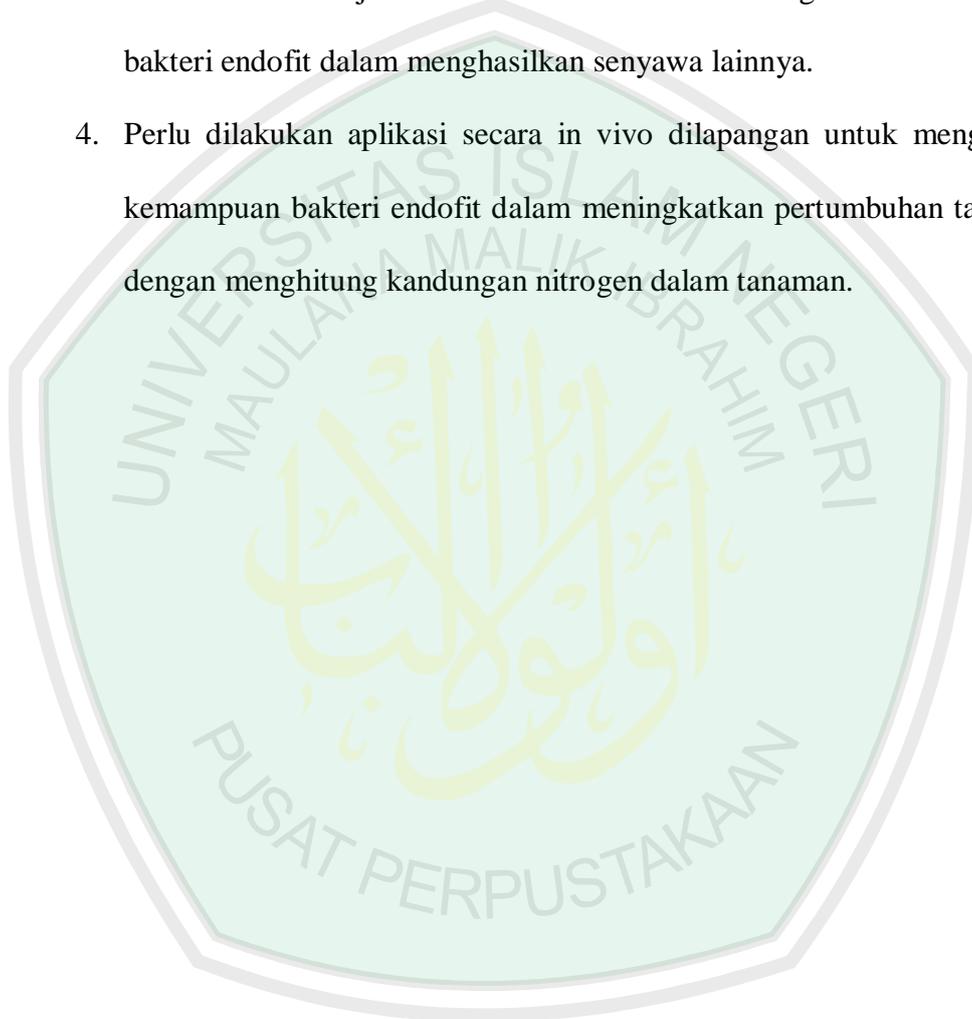
Kesimpulan dari penelitian ini adalah

1. Semua jenis bakteri endofit, baik bakteri tunggal dan bakteri kombinasi mampu memfiksasi N_2 di udara. Bakteri endofit tunggal yang mempunyai kemampuan tinggi dalam memfiksasi N_2 di udara adalah *K. ozaenae* (1,106 ppm), sedangkan bakteri kombinasi yang memiliki kemampuan tinggi menghasilkan N_2 di udara adalah kombinasi *B. mycoides* dengan *K. ozaenae* (1,399 ppm).
2. Semua jenis bakteri endofit, baik bakteri tunggal dan bakteri kombinasi mampu menghasilkan hormon IAA secara in vitro. Bakteri endofit tunggal yang mempunyai kemampuan tinggi menghasilkan IAA adalah bakteri tunggal *K. ozaenae* (0,98 ppm), sedangkan bakteri endofit kombinasi yang memiliki kemampuan tinggi menghasilkan IAA adalah bakteri kombinasi *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides* (1,16 ppm).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi N_2 di udara dengan metode lain.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan IAA dengan metode yang lainnya dan dilakukan berdasarkan kurva pertumbuhannya.
3. Perlu dilakukan uji coba secara in vitro untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa lainnya.
4. Perlu dilakukan aplikasi secara in vivo dilapangan untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan menghitung kandungan nitrogen dalam tanaman.



DAFTAR PUSTAKA

- Aditiawati, P., Pikoli, M. R., Indriani, Dea. 2001. Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. <http://elib.iatmi.or.id/uploads/2001-59.pdf>. Akses 20 April 2010
- Adiyoga, W., Suherman, R., Soetiarso, T. A., Jaya, B., Udiarto, B. K., Rosliani, R., Mussadad, D. 2004. *Profil Komoditas Kentang*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran Pusat Penelitian Dan Pengembangan Hortikultura Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian
- Al-Albani, M. N. 2008. *Shahih Ensiklopedi Hadits Qudsi Volume 1*. Surabaya: Duta Ilmu. Penerjemah Muhammad Ali Basher.
- Al-Mubarak, Shafiyurrahman. 2006. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir Jilid 1*. Bogor: Pustaka Ibnu Katsir. Penerjemah Abu Ihsan Al-Atsari.
- Al-Qurthubi. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Aryantha, N. P., Lestari, D. P dan Pangesti, N. P. D. 2004. *Potensi Isolat Bakteri Penghasil IAA dalam Peningkatan Pertumbuhan Kecambah Kacang Hijau pada Kondisi Hidroponik*. Jurnal Mikrobiologi Indonesia. Vol. 9, No. 2
- Aslamyeh, S. 2002. Peranan Hormon Tumbuh dalam Memacu Pertumbuhan Algae. http://ruduct.com/PPS702-ipb/05123/siti_aslamyeh.htm. Akses 20 April 201
- Assiba'i, Musthafa Husni. 1993. *Kehidupan Sosial Menurut Islam*. Bandung: CV. Diponegoro
- Barac, T., Taghavi, S., Borremans, B., Provoost, A., Oeyen, L., Colpaert, J. V., Vangronsveld, J dan Lelie, D. V. D. 2004. *Engineered Endophytic Bacteria Improve Phytoremediation Of Water-Soluble, Volatile, Organic Pollutants*. Nature Biotechnology Volume 22. <http://www.nature.com/naturebiotechnology>. Akses 1 Mei 2009.
- BPPHP. 2004. *Manfaat Kentang bagi Kesehatan*. Buletin Teknopro Hortikultura. Direktorat Pengolahan dan Pemasaran Hasil Hortikultura.
- Crozier, A., Arruda, P., Jasmim, J. M., Monteiro, A. M., Sandberg, G. 1988. *Analysis of Indole-3-Acetic Acid and Related Indoles in Culture Medium from Azospirillum lipoferum and Azospirillum brasilense*. Applied and Environmental Microbiology, Nov. 1988, p. 2833-2837
- Davet, P. 2004. *Microbial Ecology Of the Soil and Plant Growth*. Sciensi Publishing, Inc.

- Desnoues, N., Lin, M., Guo, X., Ma, L., Carreno-Lopez, R., dan Elmerich, C. 2003. *Nitrogen Fixation Genetics and Regulation in a Pseudomonas stutzeri strain Associated With Rice*. *Microbiology* (2003), 149, 2251–2262. DOI 10.1099/mic.0.26270-0
- Dewi, I. R. 2007. Fiksasi N Biologis pada Ekosistem Tropis. http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/rhizobia_mklh_1.pdf. Akses 1 Mei 2009.
- Dewi I. R. 2008. “Peranan dan Fungsi Fitohormon bagi Pertumbuhan Tanaman”. Makalah Falsafah Sains. Bandung: Universitas Padjadjaran press.
- Dubois, T., Coyne1, D., Kahangi, E., Turoop, L., Nsubuga, E.W.N. 2006. Endophyte-Enhanced Banana Tissue Culture: Technology Transfer Through Public-Private Partnerships in Kenya and Uganda in *ATDF Journal Vol 3 Issue 1 TOT*.
- Edwards, V. A. 2010. The Nitrogen Cycle Control Ammonia and Nitrite. <http://www.alken-murray.com/BioInfo2-03.htm>. Akses 30 Maret 2010.
- Firmansah, R. 2008. Effectiveness of Endophyte and Phylloplen Bacteria Of *Mucuna pruriens* Linn Leaves in Promoting Plant Growth and Suppressing Leaf Spot Disease (*Cercospora* sp.) on Peanut (*Aravhis hypogaea* L.). <http://www.docstoc.com/docs/2324531>. Akses 25 Mei 2009.
- Gembong, T. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Glickmann, E dan Dessaux, Y. 1995. A Critical Examination of the Specificity of the Salkowski Reagent for Indolic Compounds Produced by Phytopathogenic Bacteria. *Institut des Sciences Ve'ge'tales, Centre National de la Recherche Scientifique, F-91198 Gif-sur-Yvette, France*.
- Gordon, S. A dan Weber, R. P. 1950. Colorimetric Estimation Of Indoleacetic Acid. <http://www.plantphysiol.org/cgi/reprint/26/1/192>. Akses 4 februari 2010.
- Harahap, A., Manany, I., Ramli, Hsm., Anshari, I., Syam, I., Poetranto., Hidayah, Z., Alamsyah, T. 1997. *Islam dan Lingkungan Hidup*. Jakarta: CV. Fatma Press
- Harni, R., Munif, A., Mustika, I. 2006. *Potensi Metode Aplikasi Bakteri Endofit terhadap Perkembangan Nematoda Peluka Akar (Pratylenchus brachhyurus) pada Tanaman Nilam*. *Jurnal Littri* 12(4), ISSN 0853 – 8212.

- Hindarwati. 2008. Berita Resmi PVT: Pendaftaran Varietas Hasil Pemuliaan. Kentang *Solanum tuberosum* L. <http://ppvt.setjen.deptan.go.id/ppvtnew/BR-PVHP-Balitsa-kentang.pdf>. Akses 21 Mei 2009.
- Hindersah, R dan Simarmata, T. 2004. *Potensi Rizobakteri Azotobacter dalam Meningkatkan Kesehatan Tanah*. Jurnal Natur Indonesia 5(2): 127-133 (2004).
- Hino, S dan Wilson, P. W. 1957. *Nitrogen fixation by a facultative Bacillus*. Department of Bacteriology, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin.
- Hung, P. Q dan Annapurna, K. 2004. *Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria in Soybean (Glycine sp.)*. Omonrice 12: 92-101 (2004).
- Husen, E. S., Harni, R dan Hastuti, R. D. 2006. *Rizobakteri Pemacu Tumbuh Tanaman*. <http://balittanah.litbang.deptan.go.id/dokumentasi/buku/pupuk9.pdf>. Akses 25 Mei 2009.
- Idris, E. E., Iglesias, D. J., Talon, M., dan Borriss, R. 2007. Tryptophan-Dependent Production of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Affects Level of Plant Growth Promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. MPMI Vol. 20, No. 6, 2007, pp. 619–626. doi:10.1094/MPMI -20-6-0619.
- Ikhwan, Ali. 2008. Uji Potensi Rhizobakteri Perombak Pestisida DDT Sebagai Pupuk Hayati (Biofertilizer). *Publikasi-P2U-biofertilizer*. <http://www.ejournal.umm.ac.id/index.php/gamma/article/view/100/114>. Akses 05 Februari 2010
- Isminarni, F., Wedhastri, S., Widada, J., dan Purwanto, B. H. 2007. Penambatan Nitrogen Dan Penghasilan Indol Asam Asetat Oleh Isolat-Isolat Azotobacter Pada pH Rendah dan Aluminium Tinggi. Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan Vol. 7 No. 1 (2007) p: 23-30
- Kaga, H., Mano, H., Tanaka, F., Watanabe, A., Kaneko, S dan Morisaki, H. 2009. Rice Seeds as Sources of Endophytic Bacteria. Microbes Environ. Vol. 24, No. 2, 154–162. <http://www.soc.nii.ac.jp/jsme2/>. Akses 06 Mei 2009.
- Karnwal, A. 2009. *Production Of Indole Acetic Acid By Fluorescent Pseudomonas in the Presence of L-Tryptophan And Rice Root Exudates*. Journal of Plant Pathology (2009), 91 (1).

- Khairani, G. 2009. Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari Akar Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). SKRIPSI.
<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/13831/1/10E01104.pdf>
- Khan, Z dan Doty, S. L. 2009. *Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants*. Plant Soil DOI 10.1007/s11104-009-9908-1.
- Kresnawaty, Irma. 2008. *Optimisasi dan Pemurnian IAA yang Dihasilkan Rhizobium sp. dalam Medium Serum Lateks dengan Suplementasi Triptofan dari Pupuk Kandang*. Menara Perkebunan, 2008, 76(2), 74-82.
- Kumari, B. S., Ram, M. R dan Mallaiah, K. V. 2008. *Studies on exopolysaccharide and indole acetic acid production by Rhizobium strains from Indigofera*. Department of Microbiology, Acharya Nagarjuna University, Nagarjuna Nagar-522 510, Guntur, A. P., India.
- Kusumadewi, Tarranita. 2008. *Konsep Kota dalam Sinergis Al-Qur'an dalam Jurnal Studi Islam ULUL ALBAB*. Vol. 9, No. 2.
- Long, H. H., Schmidt, D. D., Baldwin, I. T. 2008. Native Bacterial Endophytes Promote Host Growth in a Species-Specific Manner; Phytohormone Manipulations Do Not Result in Common Growth Responses. <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0002702>. Akses 29 Mei 2009.
- Madigan, M. T dan Martinko, J. M. 2006. *Biology of Microorganism*. Eleventh Edition. Pearson Prentice Hall. American
- Mattos, K. A., Pádua, V. L.M., Romeiro¹, A., Hallack, L. F., Neves, B. C., Ulisses, T. M.U., Barros, C. F., Todeschini¹, A. R., Previato, J. O., dan Mendonça-Previato, L. 2008. Endophytic Colonization of Rice (*Oryza sativa* L.) by the Diazotrophic Bacterium *Burkholderia kururiensis* and Its Ability to Enhance Plant Growth. <http://www.scielo.br/aabc>. Akses 5 April 2009.
- Meudt, W. J dan Gaines, T. P. 1967. *Studies on the Oxidation of Indole-3-Acetic Acid by Peroxidase Enzymes. I. Colorimetric Determination of Indole-3-Acetic Acid Oxidation Products*. Plant Industry Station, Beltsville, Maryland 20705 and Georgia Coastal Plain Experiment Station, Tifton, Georgia.
- Nat, Rer dan Sajidan. 2009. Teknologi Rekombinan Enzim Fitase dan Implementasinya dalam Pembelajaran Mata Kuliah Biokimia, Genetika dan Bioteknologi.

<http://pustaka.uns.ac.id/?menu=news&option=detail&nid=196>. Akses 20 Maret 2010

- Nurmayulis. 2005. Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) yang Diberi Pupuk Organik Difermentasi, *Azospirillum* sp., dan Pupuk Nitrogen di Pangalengan dan Cisarua. Disertasi Tidak Diterbitkan. Bandung: Magister Ilmu Pertanian Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran Bandung.
- Pelczar, M. J dan Chan E.C.S.1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI-Press.
- Prakamhang, Janpen. 2007. *Microbial Communities and Their nifh Gene Expression in Rice Endophytic Diazotroph Bacteria*. A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biotechnology Suranaree University of Technology. Thailand
- Pirttilä, A. M. M. N. 2001. Endophytes in the buds of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). in Research Assessment Exercise 2007. Department of Biology Volume I. Finland: University of Oulu. <http://wwwcc oulu.fi/~biol>. Akses 10 Mei 2009.
- Prescott, Harley. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology*. Tha-Graw Hil Company: New York
- Ramadiana, S., Sari, A. P., Hapsoro, Y dan Dwi. 2008. *Hibridisasi, Pengaruh Dua Jenis Media Dasar dan Pepton terhadap Perkecambahan Biji Dan Pertumbuhan Protokorm Anggrek Dendrobium Hibrida Secara In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008.
- Rigaud, J dan Pupper, A. 1974. *Indole-3-acetic Acid Catabolism by Soybean Bacteroids*. Journal of General Microbiology.
- Rubatzky, V. E. dan Yamaguchi, Mas. 1998. *Sayuran Dunia 1: Prinsip, produksi dan Gizi Edisi Kedua*. Bandung: ITB Bandung. Penerjemah Ir. Catur Herison MSc., Universitas Bengkulu.
- Rodewald, M., T, F., Scherwinski, K., Fekete, A., Schmidt, S., Eberl, L., Schmid, J. C. S., Hartmann, A., Kopplin, P. S., Trognitz B. dan Sessitsch, A. 2009. *Interaction between potato and the endophyte Burkholderia phytofirmans*. IISBN:: 978--3--902559--28—9.
- Rosenblueth, M dan Martínez-Romero, E. 2006. *The American Phytopathological Society*. MPMI Vol. 19, No. 8:827–837.

- Sachdev, D. P., Chaudhari, H. G., Kasture, V. M., Dhavale, D. D dan Chopade, B. A. 2009. *Isolation and Characterization of Indole Acetic Acid (IAA) Producing Klebsiella pneumoniae Strains From Rhizosphere of Wheat (Triticum aestivum) and Their Effect On Plant Growth*. Indian Journal of Experimental Biology Vol. 47.
- Saraswati, R., Prihatini, T dan Hastuti, R. D. 2004. Teknologi Pupuk Mikroba Untuk Meningkatkan Efisiensi Pemupukan dan Keberlanjutan Sistem Produksi Padi Sawah. <http://balittanah.litbang.deptan.go.id/dokumentasi/buku/tanahsawah6.pdf>. Akses 25 Mei 2009.
- Sastrohamidjojo, Harjono. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Lyberty.
- Salisbury, F. B dan Ross C. W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. Bandung: ITB Bandung.
- Shihab, M. Q. 2003. *Tafsir Misbah. Pesan Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati
- Simanungkalit, R.D.M., Saraswati, Rasti., Hastuti, R. D., dan Husen, E. 2006. *Bakteri Penambat Nitrogen dalam Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian
- Staley, J. T., Doty, S. L., Xin, G., Zhang, G., dan Kang, J. W. 2009. *A diazotrophic, indole-3-acetic acid-producing endophyte from wild cottonwood*. Biol Fertil Soils. DOI 10.1007/s00374-009-0377-8.
- Sumastri. 2009. Bioremediasi Lumpur Minyak Bumi secara Pengomposan Menggunakan Kultur Bakteri Hasil Seleksi. <http://www.p4tkipa.org/data/SUMASTRI.pdf>. Akses 20 Maret 2010.
- Supriyati, Dyah. 2009. Toleransi Terhadap Sianida dan pH dari Bakteri Penambat Nitrogen SBY-5B yang Diisolasi dari Limbah PT Petrosida Gresik dalam Journal of Biological Research.
- Susilowati D.N., Saraswati, R., Elsanti dan Yuniarti E. 2003. Isolasi dan Seleksi Mikroba Diazotrof Endofitik dan Penghasil Zat Pemacu Tumbuh pada Tanaman Padi dan Jagung. Http://biogen.litbang.deptan.go.id/terbitan/prosiding/fulltext_pdf/prosiding2003_128-144_susilowati_isolasi.pdf. Akses 5 April 2009.
- Susilowati, D. N., Saraswati R., Hastuti, D., dan Yuniarti, E. 2007. *Peningkatan Serapan N pada Kedelai yang Diinokulasi Bakteri Diazotrof Endofit di Medium Vermiculit*. Indonesian Soil and Climate Journal.

- Sumarsih, Sri. 2003. Mikrobiologi Dasar. Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian UPN Veteran Yogyakarta.
- Taghavi, S., Garafola, C., Monchy, S., Newman, L., Hoffman, A., Weyens, N., Barac, T., Vangronsveld, J., Lelie, D Van Der. 2009. *Genome Survey and Characterization of Endophytic Bacteria Exhibiting a Beneficial Effect on Growth and Development of Poplar Trees*. *applied And Environmental Microbiology*, Feb. 2009, p. 748-757. Vol. 75, No. 3.
- Tan, R. X dan Zou, W. X. 2001. *Endophytes: A Rich Source Of Functional Metabolites*. Institute of Functional Biomolecule, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing
- Triplett, E. W. 2006. Nitrogen Fixation in Wheat by *Klebsiella pneumoniae* 342. <http://www.reeis.usda.gov/web/crisprojectpages/204253.html>. Akses 6 Agustus 2009.
- Terakado-Tonooka, J., Ohwaki, Y., Yamakawa, H., Tanaka, F., Yoneyama, T dan Shinsuke, F. 2008. Expressed nifH Genes of Endophytic Bacteria Detected in Field-Grown Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas* L.). *Microbes Environ*. Vol. 23, No. 1, 89–93, 2008. <http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsme2/>. Akses 20 Maret 2010.
- Thontowi, A., Kusmiati dan Nuswantara, S. 2007. *Produksi β -Glukan Saccharomyces cerevisiae dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor*. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor 16911.
- Warnita. 2007. Pertumbuhan dan Hasil Delapan Genotipe Kentang di Sumatera Barat. *Jurnal Akta Agrosia* Vol. 10 No.1 hlm 94-99. <http://bdpunib.org/akta/artikelakta/2007/94.PDF>. Akses 25 Mei 2009
- Wulan, P. PDK., Gozan, M., Arby, B dan Achmad, B. 2006. *Penentuan Rasio Optimum C:N:P Sebagai Nutrisi Pada Proses Biodegradasi Benzena-Toluena dan Scale Up Kolom Bioregenerator*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia,
- Yamada, T., Tsukamoto, H., Shiraishi, T., Nomuro, T., Oku, H. 1990. *Detect on of Indoleacetic Acid Biosynthesis in Some Species of Taphrina Causing Hyperplastic Deseases in Plant*. *Ann. Phytopath, Soc. Japan* 56:532-540.
- Yani, M dan Akbar, Y. 2010. Proses Biodegradasi Minyak Diesel oleh Campuran Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. <http://jurnal.ipb.ac.id/index.php/jurnaltin/article/view/19/17>. Akses 25 April 2010

Zinniel, D. K., Lambrecht, P., Harris, N. B., Feng, Z., Kuczarski, D., Higley, P., Ishimaru, C. A., Arunakumari, A., Barletta, R. G., dan Vidaver1, A. K. 2002. *Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 68, no. 5. American Society for Microbiology. Plant Pathology Department Papers in Plant Pathology.



LAMPIRAN 1. Nilai Absorbansi Hasil Fiksasi N₂ di Udara

Tabel 1. nilai Absorbansi Fiksasi N₂ Di udara pada Isolat tunggal

Isolat	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-7
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	0,048	0,149	0,273	0,584	0,993	0,537
<i>Bacillus mycoides</i>	0,081	0,106	0,485	0,997	0,985	0,606
<i>Klebsiella ozaenae</i>	0,028	0,113	0,411	0,955	1,106	0,261

Keterangan:

H : Hari

Tabel 2. Nilai Absorbansi Fiksasi N₂ Di udara pada Isolat kombinasi

Isolat	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-7
<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>B. mycoides</i>	0,049	0,248	0,375	0,71	0,665	0,285
<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,024	0,119	0,38	0,663	0,746	0,716
<i>B. mycoides</i> dengan <i>K. Ozaenae</i>	0,029	0,281	0,412	0,627	1,399	0,716
<i>P. pseudomallei</i> , <i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,038	0,237	0,675	1,028	0,937	0,436

Keterangan:

H : Hari

Konversi Nilai Absorbansi Hasil Fiksasi

Menurut Hukum Beer-Lambert, dengan rumus ($A = a \times b \times c$), sehingga rumusnya menjadi $A = b \times c$

Untuk mencari konsentrasi rumusnya menjadi: $c = A / b$.

Keterangan:

A = Nilai Absorbansi

a = Serapan molar (harga a tidak tergantung pada konsentrasi dan panjang lintasan radiasi) (diabaikan)

b = Tebal kuvet (cm) (diketahui tebal kuvet 1 cm)

c = konsentrasi

Lampiran 1. Lanjutan

Sehingga:

Cara Penentuan konsentrasi NH_4^+ yang dihasilkan oleh Isolat bakteri Endofit

P. pseudomallei

$$0.048 = 1 \times c$$

$$c = \frac{0.048}{1} = 0.048 \text{ ppm}$$

Tabel 3. Isolat bakteri endofit tunggal

Isolat	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-7
	Konsentrasi NH_4 dalam ppm (part per million)					
<i>P.pseudomallei</i>	0,048	0,149	0,273	0,584	0,993	0,537
<i>B.mycoides</i>	0,081	0,106	0,485	0,997	0,985	0,606
<i>K.ozaenae</i>	0,028	0,113	0,411	0,955	1,106	0,261

Keterangan:

H : Hari

Tabel 4. Isolat bakteri endofit Kombinasi

Isolat	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-7
	Konsentrasi NH_4 dalam ppm (part per million)					
<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>B. mycoides</i>	0,049	0,248	0,375	0,71	0,665	0,285
<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,024	0,119	0,38	0,663	0,746	0,716
<i>B. mycoides</i> dengan <i>K. Ozaenae</i>	0,029	0,281	0,412	0,627	1,399	0,716
<i>P. pseudomallei, B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,038	0,237	0,675	1,028	0,937	0,436

Keterangan:

H : Hari

LAMPIRAN 2. Nilai Absorbansi OD isolat bakteri endofit dalam medium M63

Tabel 5. OD Isolat tunggal

Isolat	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-7
<i>P.pseudomallei</i>	0,027	0,027	0,19	0,318	0,48	0,334
<i>B.mycooides</i>	0,036	0,056	0,25	0,557	0,49	0,244
<i>K.ozaenae</i>	0,081	0,169	0,38	0,56	0,771	0,055

Keterangan:

H : Hari

Tabel 6. OD isolat bakteri endofit Kombinasi

Isolat	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-7
<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>B. mycooides</i>	0,11	0,41	0,465	0,495	0,44	0,318
<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,109	0,115	0,251	0,33	0,357	0,25
<i>B. mycooides</i> dengan <i>K. Ozaenae</i>	0,033	0,145	0,27	1,14	0,716	0,351
<i>P. pseudomallei</i> , <i>B. mycooides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,117	0,2	0,417	0,662	0,464	0,156

Keterangan:

H : Hari

LAMPIRAN 3. Nilai Absorbansi IAA pada Isolat Bakteri Endofit

Tabel 7. Nilai Absorbansi IAA masing-masing isolat bakteri endofit,

No,	Bakteri Endofit	Nilai Absorbansi IAA
1,	<i>P. pseudomallei</i>	0,56
2,	<i>B. mycoides</i>	0,45
3,	<i>K. ozaenae</i>	0,98
4,	<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>B. mycoides</i>	1,16
5,	<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,55
6,	<i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	1,14
7,	<i>P. pseudomallei</i> , <i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,62

Konversi Nilai Absorbansi Hasil Fiksasi

Sehingga:

Nilai kandungan Senyawa NH₄ dalam media adalah:

Cara Penentuan konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh Isolat bakteri Endofit

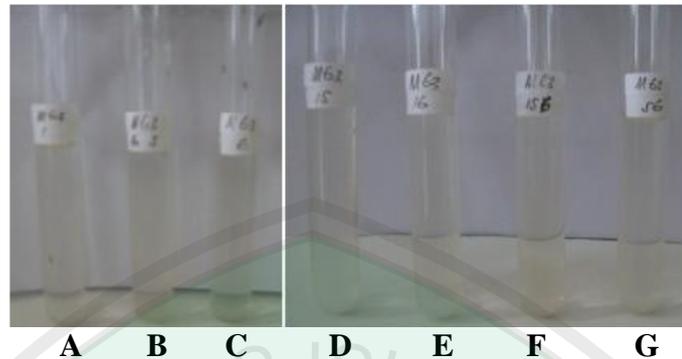
Pseudomonas pseudomallei

$$0.56 = 1 \times c \qquad c = \frac{00.56}{1} = 0.56 \text{ ppm}$$

Tabel 8. Nilai IAA yang disintesis oleh bakteri endofit adalah (ppm)

No,	Bakteri Endofit	Nilai AIA (ppm)
1,	<i>P. pseudomallei</i>	0,56
2,	<i>B. mycoides</i>	0,45
3,	<i>K. ozaenae</i>	0,98
4,	<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>B. mycoides</i>	1,16
5,	<i>P. pseudomallei</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,55
6,	<i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	1,14
7,	<i>P. pseudomallei</i> , <i>B. mycoides</i> dengan <i>K. ozaenae</i>	0,62

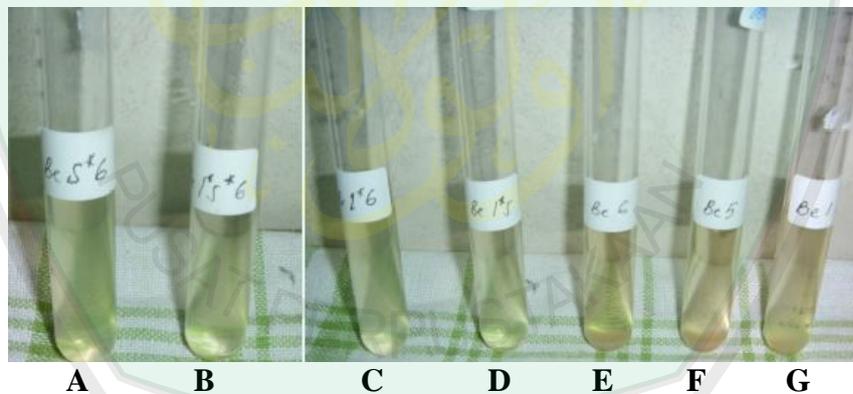
LAMPIRAN 4. Isolat Bakteri Endofit dalam Media M63



Gambar 1. bakteri endofit dalam media M63 tanpa mineral N

Keterangan:

- A: *P. pseudomallei*
 B: *B. mycoides*
 C: *K. ozaenae*
 D: *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides*
 E: *P. pseudomallei* dengan *K. Ozaenae*
 F: *P. Pseudomallei*, *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*
 G: *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*



Gambar 2. bakteri endofit dalam media JNFB

Keterangan:

- A: *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*
 B: *P. pseudomallei* dengan *B. Mycoides* dengan *K. ozaenae*
 C: *P. pseudomallei* dengan *K. Ozaenae*
 D: *P. pseudomallei* dengan *B. mycoides*
 E: *K. ozaenae*
 F: *B. mycoides*
 G: *P. pseudomallei*

LAMPIRAN 5. Alat Penelitian

(a)



(b)



(c)

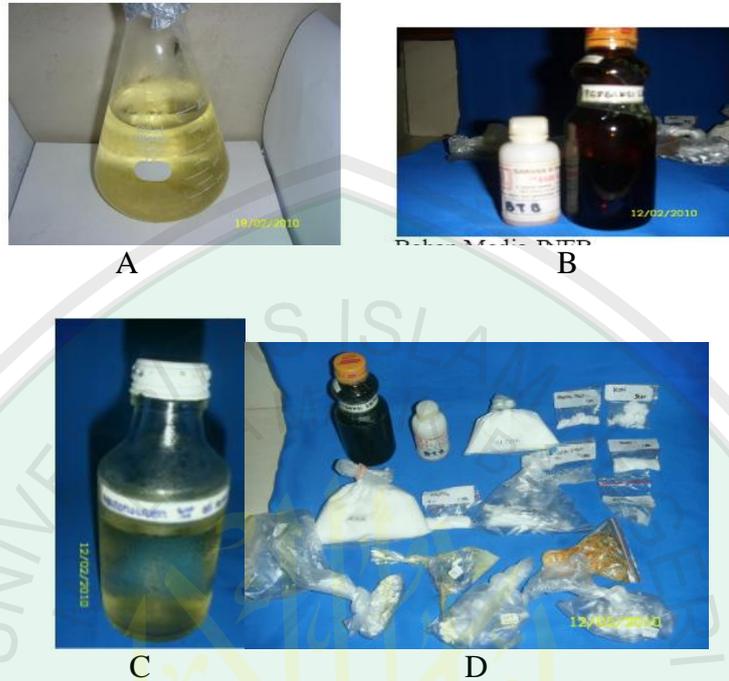


(d)



(e)

Gambar 3. Alat-Alat Penelitian: (a) Autoklav (b) Hot Plate (c) Laminar Air Flow (d) alat-alat bola hisap, beaker, erlenmeyer, spirtus, cawan dan lain-lain, (e) spektrofotometer

LAMPIRAN 6. Bahan Penelitian

Gambar 4. Bahan-bahan penelitian a. Media JNFB. b. BTB dan pereaksi Salkowksi. c. Mikronutrien. d. Bahan-bahan NaCl. KH_2PO_4 . Glukosa dan lain-lain.



DEPARTEMEN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana 50 Malang Telp. (0341) 551354 Fax. (0341) 572533

BUKTI KONSULTASI

Nama : Edi Suriaman
NIM : 05520040
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Pembimbing : Dr. Ulfah Utami, M.Si
Judul : Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (Indole Acetid Acid) secara In Vitro

No.	Tanggal	Hal yang dikonsultasikan	Tanda Tangan
1.	30 Agustus 2009	Pengajuan Bab I, II, III	1.
2.	22 September 2009	Revisi Bab I, II, III	2.
3.	5 Oktober 2009	Revisi Bab I, II, III	3.
4.	20 Oktober 2009	Acc Bab I, II, III	4.
5.	13 November 2009	Seminar Proposal	5.
6.	13 April 2010	Pengajuan Bab IV dan V	6.
7.	14 April 2010	Revisi Bab IV dan V	7.
8.	14 April 2010	Acc Bab IV dan V	8.

Malang, 30 April 2010
Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd
NIP. 196301141999031001



DEPARTEMEN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana 50 Malang Telp. (0341) 551354 Fax. (0341) 572533

BUKTI KONSULTASI

Nama : Edi Suriaman
NIM : 05520040
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Pembimbing : Dr. Ahmad Barizi, MA
Judul : Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (Indole Acetid Acid) secara In Vitro

No	Tanggal	Hal yang dikonsultasikan	Tanda Tangan
1.	12 April 2010	Pengajuan Bab I, II, III, IV dan V	1.
2.	14 April 2010	Revisi Bab I, II, III, IV dan V	2.
3.	16 April 2010	Revisi Bab I, II, III, IV, dan V	3.
4.	17 April 2010	Acc Keseluruhan	4.

Malang, 30 April 2010

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd
NIP. 196301141999031001

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Edi Suriaman S. Si
TTL : Donggobolo, 04 Januari 1987
Pendidikan : S1 Biologi
Jurusan Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Malaki Malang
Alamat : Donggobolo, Kec. Woha Bima-NTB
Email : suriamans@gmail.com

