

Eksplorasi Rizobakteri Penghasil IAA dan HCN dari Rizosfer Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz)

(Exploration of IAA and HCN Producing Rhizobacteria from Cassava [*Manihot esculenta* Crantz] Rhizosphere)

Suri Raihan Safriani¹, Lenni Fitri^{2*}, dan Yulia Sari Ismail²

¹Program Studi Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Syiah Kuala, Jl. Syekh Abdurrauf No. 3, Kopelma Darussalam, Kecamatan Syiah Kuala, Kota Banda Aceh 23111 Indonesia. Telp. (0651) 7555110; Faks. (0651) 7555110

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Jl. Syekh Abdurrauf No. 3, Kopelma Darussalam, Kecamatan Syiah Kuala, Kota Banda Aceh 23111 Indonesia. *E-mail: lennifitri@unsyiah.ac.id

Diajukan: 30 April 2020; Direvisi: 21 Oktober 2020; Diterima: 31 Oktober 2020

ABSTRACT

Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) are a group of beneficial bacteria that live in rhizosphere. These bacteria can promote plant growth through several mechanisms, such as the ones produce indole-3-acetic acid (IAA) hormone and hydrogen cyanide (HCN), and act as biocontrol agents. The use of PGPR to promote plant growth has been known to be an environmentally friendly alternative approach. The aim of this study was to explore IAA and HCN producing rhizobacteria from cassava rhizosphere soil and identify the bacteria based on morphological and biochemical characters, hypersensitive reaction test, and the ability test to produce IAA and HCN. The results showed nine bacterial isolates suspected as *Micrococcus* sp. (six isolates), *Neisseria* sp. (two isolates), and *Bacillus* sp. (one isolate). All isolates were able to produce IAA in the concentration range of 50,63–135,00 µg/ml and 232,3–333,9 µg/ml at incubation time of 2 and 4 days, respectively. All isolates were able to produce HCN. In addition, the isolates did not show hypersensitivity reactions. Further study is needed to assess the isolate application for promoting plant growth as well as a biocontrol agent of plant pathogen.

Keywords: Isolation, identification, PGPR, IAA, HCN.

ABSTRAK

Rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman atau *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) ialah sekelompok bakteri menguntungkan yang hidup di daerah rizosfer tanaman. Bakteri ini dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui beberapa mekanisme, seperti menghasilkan asam indolasetat (*indole-3-acetic acid*/IAA) dan hidrogen sianida (*hydrogen cyanide*/HCN), serta bertindak sebagai agen biokontrol. Penggunaan PGPR untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman telah diketahui sebagai alternatif yang ramah lingkungan. Tujuan penelitian ini ialah melakukan eksplorasi rizobakteri penghasil IAA dan HCN dari tanah rizosfer ubi kayu dan mengidentifikasi bakteri tersebut berdasarkan karakteristik morfologi dan biokimia, uji reaksi hipersensitif, dan uji kemampuan menghasilkan IAA dan HCN. Dari hasil penelitian didapatkan sembilan isolat bakteri yang diduga sebagai *Micrococcus* sp. (enam isolat), *Neisseria* sp. (dua isolat), dan *Bacillus* sp. (satu isolat). Semua isolat mampu menghasilkan IAA pada kisaran konsentrasi 50,63–135,00 µg/ml dan 232,3–333,9 µg/ml masing-masing dengan waktu inkubasi 2 hari dan 4 hari. Semua isolat mampu memproduksi HCN. Di samping itu, isolat tersebut tidak menunjukkan reaksi hipersensitif. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mengkaji aplikasi isolat tersebut sebagai pemacu pertumbuhan tanaman atau sebagai agen biokontrol patogen tanaman.

Kata kunci: Isolasi, identifikasi, PGPR, IAA, HCN.

PENDAHULUAN

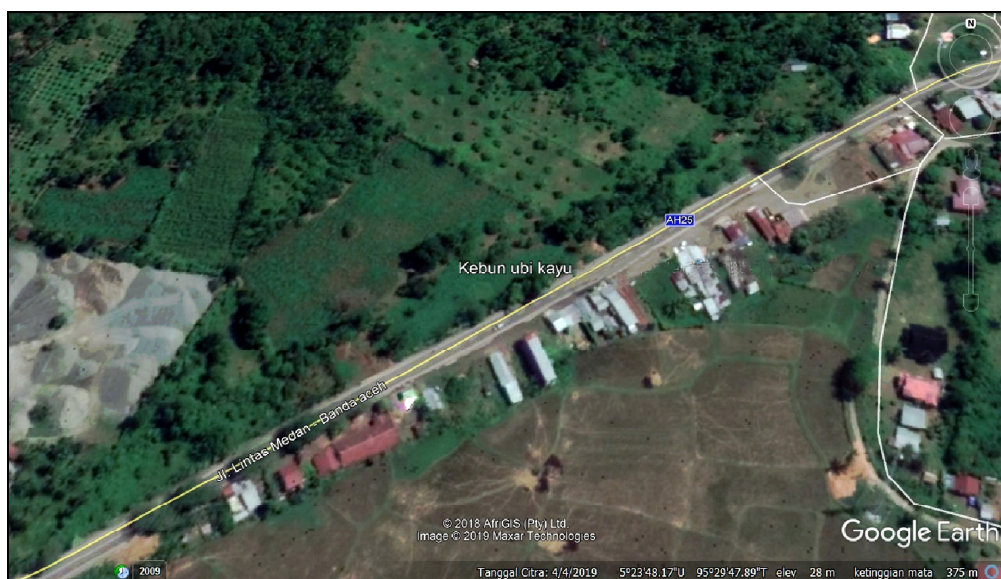
Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Selatan. Tanaman ini banyak dibudidayakan sebagai tanaman tahunan di daerah tropis dan subtropis, bonggol akar atau umbinya menjadi sumber karbohidrat utama (Hegde et al. 2017). Ubi kayu menempati urutan ketiga setelah padi dan jagung dalam memenuhi kebutuhan karbohidrat di Indonesia. Selain sebagai sumber makanan pokok, ubi kayu juga dapat digunakan sebagai bahan baku pada industri pangan, seperti produk gaplek dan tepung tapioka, dan industri farmasi seperti bioetanol (Devy et al. 2018). Karena ubi kayu merupakan tanaman berumur panjang dan dapat menghadapi berbagai penyakit selama fase pertumbuhannya, mikroorganisme yang berasosiasi dengan akar ubi kayu diduga memiliki potensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman.

Rizosfer ialah tanah di sekitar perakaran tanaman yang merupakan habitat komunitas mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme menguntungkan yang terdapat pada rizosfer adalah rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman yang dikenal sebagai *plant growth promoting bacteria* (PGPR). PGPR dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui beberapa mekanisme, seperti menambat nitrogen, menghasilkan siderofor, melarutkan kalium dan fosfat sehingga tersedia bagi tanaman, menghasilkan asam indolasetat (*indole-3-acetic acid*/IAA), serta menjadi agen biokontrol (Bhattacharyya dan Jha 2012; Masciarelli et al. 2014). Sebagai agen biokontrol, PGPR dapat menghasilkan enzim *1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid* (ACC) deaminase, hidrogen sianida (*hydrogen*

cyanide/HCN), enzim hidrolitik, dan antibiotik (Kumar et al. 2009).

Upaya meningkatkan pertumbuhan tanaman dan mengatasi serangan patogen oleh para petani saat ini semakin bergantung pada penggunaan pupuk kimia dan pestisida kimia (Glick 2012). Penggunaan bahan kimia secara terus-menerus dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan efek yang berbahaya bagi lingkungan (Adesemoye dan Kloepper 2009). Salah satu alternatif untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman yang ramah lingkungan adalah dengan penggunaan PGPR. Beberapa PGPR telah diketahui mampu menghasilkan IAA, seperti *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Streptomyces*, dan *Rhizobium* (Duca et al. 2014). Sementara itu, PGPR yang diketahui mampu menghasilkan HCN, yaitu *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, dan *Micrococcus* (Kumar et al. 2012).

Penggunaan PGPR memiliki beberapa keuntungan, yaitu tidak menimbulkan pencemaran terhadap lingkungan, tidak memerlukan aplikasi berulang karena bakteri dapat memperbanyak diri selama lingkungan mendukung perkembangannya, tidak menimbulkan efek yang merugikan terhadap organisme yang bermanfaat bagi tanaman, dan dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen (Khaeruni et al. 2010). Berdasarkan hal tersebut, eksplorasi rizobakteri penghasil IAA dan HCN dari rizosfer ubi kayu perlu dilakukan. Tujuan penelitian ini ialah melakukan eksplorasi rizobakteri penghasil IAA dan HCN dari tanah rizosfer ubi kayu dan mengidentifikasi bakteri tersebut berdasarkan



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel tanah rizosfer ubi kayu di Desa Lamleupung, Kecamatan Kuta Cot Glie, Aceh Besar.

karakteristik morfologi dan biokimia, uji reaksi hipersensitif, dan melakukan uji kemampuan menghasilkan IAA dan HCN.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA), Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. Sampel tanah yang digunakan sebagai bahan isolasi bakteri diambil dari rizosfer tanaman ubi kayu di Desa Lamleupung, Kecamatan Kuta Cot Glie, Aceh Besar (Gambar 1). Tahapan penelitian terdiri atas isolasi bakteri, karakterisasi morfologi koloni, pewarnaan Gram, uji biokimia, uji reaksi hipersensitif, uji kemampuan menghasilkan IAA, dan uji kemampuan menghasilkan HCN. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif.

Pengambilan Sampel Tanah Rizosfer

Pengambilan sampel tanah rizosfer ubi kayu dilakukan pada satu lokasi kebun ubi kayu seluas $\pm 50 \text{ m}^2$ (Gambar 1). Tanaman ubi kayu yang sehat dan subur dipilih sebagai sampel. Sebanyak lima tanaman ubi kayu dipilih secara acak, dicabut, dan tanah di sekitar perakaran diambil pada kedalaman 0–15 cm dan luas 20 cm^2 . Tanah diambil sebanyak tiga kepalan tangan dari tiap-tiap perakaran dan dikomposit. Tanah komposit dibawa ke laboratorium untuk diisolasi bakterinya.

Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan berdasarkan metode yang dijelaskan oleh Kannan et al. (2018). Tanah rizosfer ubi kayu ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam 9 ml akuades, dan diaduk beberapa menit. Pengenceran serial dilakukan dari 10^{-1} – 10^{-7} . Sebanyak $100 \mu\text{l}$ larutan sampel tanah diambil dari setiap seri pengenceran dan ditanam pada media *tryptone soya agar* (TSA) dengan metode cawan sebar, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

Karakterisasi Morfologi Koloni dan Pewarnaan Gram

Koloni murni bakteri yang tumbuh pada media TSA setelah diinkubasi selama 48 jam dikarakterisasi secara visual berdasarkan bentuk, tepian, elevasi, warna, dan tekstur koloni. Pada setiap koloni yang berbeda secara morfologi dilakukan pewarnaan Gram berdasarkan standar prosedur yang telah dijelaskan oleh Mudili (2007).

Uji Biokimia

Uji biokimia yang dilakukan, yaitu uji katalase, uji oksidase, uji *Simmons' citrate agar*, uji *methyl red*, uji *Voges-Proskauer* (VP), uji oksidatif fermentatif, dan uji fermentasi karbohidrat (glukosa, fruktosa, laktosa, sukrosa, maltosa, xilosa, arabinosa, rhamnosa, trehalosa, manitol, sorbitol, dan inositol). Uji biokimia tersebut dilakukan berdasarkan metode yang dijelaskan dalam *Cowan and Steel's Manual for the Identification Medical Bacteria* (Cowan 2004).

Uji Reaksi Hipersensitif

Uji reaksi hipersensitif dilakukan pada tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*) sehat yang berasal dari Desa Lamleupung, Kecamatan Kuta Cot Glie, Aceh Besar. Kultur bakteri yang berumur 24 jam pada media *tryptic soy broth* (TSB) diambil sebanyak $100 \mu\text{l}$, kemudian disuntikkan pada daun tembakau dengan menggunakan pipet mikro hingga membasahi permukaannya. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam. Reaksi hipersensitif ditandai dengan munculnya gejala nekrosis pada daun yang telah disuntik bakteri berupa terjadinya perubahan warna hijau daun menjadi kuning kering (Wulandari et al. 2012).

Uji Kemampuan Menghasilkan IAA

Isolat bakteri ditumbuhkan pada media TSB yang telah ditambahkan L-triptofan sebanyak $200 \mu\text{g/ml}$ dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2–4 hari. Kultur bakteri yang tumbuh disentrifugasi dengan kecepatan 4.500 rpm selama 15 menit. Sebanyak 3 ml supernatan diambil dan ditambahkan 2 ml reagen Salkowski. Campuran tersebut disimpan di tempat gelap pada suhu ruang selama 30 menit. Perubahan warna yang terjadi diamati. Perubahan warna media dari kuning menjadi merah muda menunjukkan adanya IAA yang dihasilkan oleh bakteri. Konsentrasi IAA yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Nilai yang diperoleh diinterpolasi dari kurva standar IAA (Gravel et al. 2007).

Uji Kemampuan Menghasilkan HCN

Isolat bakteri ditumbuhkan pada media *nutrient agar* (NA) yang telah ditambah glisin. Kertas saring dipotong berbentuk bundar dengan diameter 5 cm dan direndam di dalam larutan asam pikrat selama 1 menit. Kertas saring kemudian diletakkan pada bagian dalam penutup cawan petri. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 7 hari (Fitri et al. 2020). Kemampuan bakteri menghasilkan HCN ditandai

dengan terjadinya perubahan warna pada kertas saring dari kuning menjadi cokelat kemerahan (Patel dan Saraf 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Morfologi Koloni dan Pengelompokan Gram

Sebanyak sembilan isolat bakteri berhasil diisolasi dari tanah rizosfer ubi kayu dan diberi kode TRU1–TRU9. Semua isolat tersebut mempunyai karakteristik morfologi koloni yang berbeda. Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri rizosfer ubi kayu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1.000 kali. Sebanyak tujuh isolat merupakan bakteri Gram-positif dan dua isolat bakteri Gram-negatif. Delapan isolat mempunyai bentuk sel kokus dan satu isolat berbentuk basil (Tabel 1).

Bentuk koloni bakteri yang dominan ditemukan pada penelitian ini adalah bundar dengan elevasi

timbul, sedangkan tepiannya bervariasi, yaitu bergerigi, bergelombang, licin, *irregular*, dan *filamentous* (Tabel 1). Warna koloni pada umumnya krem dan tekstur *opaque*. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa terdapat 41 variasi morfologi koloni bakteri yang diisolasi dari tanah rizosfer beberapa varietas ubi kayu di Kerala, India (Suja et al. 2014). Cara-cara untuk mengidentifikasi spesies bakteri yang berbeda berdasarkan morfologi koloni umumnya dijelaskan dalam ukuran kualitatif bentuk, elevasi, tepi, permukaan, dan pigmentasi.

Karakteristik Biokimia

Karakteristik biokimia merupakan kriteria yang sangat penting untuk mengidentifikasi suatu bakteri karena setiap bakteri memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam mengurai atau menyintesis senyawa tertentu. Karakteristik biokimia kesembilan isolat bakteri rizosfer ubi kayu dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni dan pengelompokan Gram sembilan isolat bakteri rizosfer ubi kayu.

Kode isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna	Tekstur	Gram	Bentuk sel
TRU1	<i>Irregular</i>	Bergelombang	<i>Slightly umbonate</i>	Krem	<i>Opaque</i>	+	Kokus
TRU2	Bundar	Bergerigi	Timbul	Putih susu	<i>Opaque</i>	+	Kokus
TRU3	<i>Irregular</i>	<i>Irregular</i>	Datar	Krem	<i>Translucent</i>	+	Kokus
TRU4	Bundar	Bergelombang	<i>Umbonate</i>	Krem	<i>Moist</i>	+	Kokus
TRU5	Bundar	Bergerigi	<i>Umbonate</i>	Krem	<i>Moist</i>	+	Kokus
TRU6	Bundar	Bergelombang	Timbul	Krem	<i>Moist</i>	-	Kokus
TRU7	Bundar	Licin	Cembung	Krem	<i>Translucent</i>	-	Kokus
TRU8	Bundar	Bergerigi	Timbul	Krem	<i>Opaque</i>	+	Kokus
TRU9	<i>Filamentous</i>	<i>Filamentous</i>	Datar	Krem	<i>Opaque</i>	+	Basil

TRU = tanah rizosfer ubi kayu.

Tabel 2. Karakteristik biokimia sembilan isolat bakteri rizosfer ubi kayu.

Jenis uji	Kode isolat								
	TRU1	TRU2	TRU3	TRU4	TRU5	TRU6	TRU7	TRU8	TRU9
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Motilitas	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Oksidatif/fermentatif	-/+	+	-	-/+	+	+	+	+	+
SSA	+	+	+	+	+	+	+	+	-
MR	-	-	-	-	+	-	-	-	+
VP	-	-	-	+	-	+	-	+	-
Glukosa	-	+	-	-	+	+	+	+	+
Fruktosa	+	+	-	-	+	+	+	+	+
Laktosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sukrosa	-	+	-	-	+	+	+	-	-
Maltosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xilosa	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Arabinosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnosa	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Trehalosa	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Manitol	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TRU = tanah rizosfer ubi kayu, SSA = *Simmons' citrate agar*, MR = *methyl red*, VP = *Voges-Proskauer*, + = positif, - = negatif.

Berdasarkan karakteristik morfologi dan biokimia (Cowan 2004), enam isolat bakteri rizosfer ubi kayu yang didapatkan diduga sebagai *Micrococcus* sp. (*Micrococcus* sp.1 hingga *Micrococcus* sp.6), dua isolat *Neisseria* sp. (*Neisseria* sp.1 dan *Neisseria* sp.2), dan satu isolat *Bacillus* sp. (Tabel 3). Enam isolat yang diduga sebagai *Micrococcus* sp. merupakan bakteri Gram-positif dengan bentuk sel kokus. Isolat-isolat tersebut mempunyai karakter biokimia, yaitu katalase positif, oksidase positif, nonmotil, dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, dan dapat menggunakan glukosa, baik secara oksidatif maupun fermentatif. *Micrococcus* sp. dapat diisolasi dari tanah dan air. Sesuai dengan pernyataan Wieser et al. (2002), *Micrococcus* ialah bakteri Gram-positif, bentuk sel kokus, biasanya nonmotil, katalase positif, oksidase positif, hidup baik secara aerob maupun anaerob fakultatif, dan dapat menggunakan glukosa secara oksidatif atau tidak menggunakan sama sekali.

Isolat bakteri yang diduga sebagai *Neisseria* sp. merupakan bakteri Gram-negatif dengan bentuk sel kokus, mempunyai karakter biokimia katalase positif, oksidase positif, nonmotil, sitrat positif, dan dapat memfermentasi beberapa jenis karbohidrat. Sesuai dengan pernyataan Bennett et al. (2012), *Neisseria* ialah bakteri Gram-negatif, bentuk sel kokus, katalase positif, oksidase positif, dan semua spesiesnya dapat memproduksi asam dari beberapa karbohidrat secara oksidatif. *Neisseria* umumnya diisolasi dari mukosa hewan. Akan tetapi, beberapa penelitian terdahulu juga menemukan *Neisseria* sp. yang diisolasi dari tanah rizosfer tanaman. Pandey dan Singh (2013) menemukan *N. sicca* hasil isolasi dari rizosfer tanaman *Azadirachta indica*. Sementara, Aulia (2016) menemukan *Neisseria* sp. hasil isolasi dari rizosfer tanaman *Solanum tuberosum*.

Isolat yang diduga sebagai *Bacillus* sp. merupakan bakteri Gram-positif dengan bentuk sel basil, katalase positif, oksidase positif, motilitas positif, sitrat negatif, dan dapat memfermentasi glukosa. Sesuai dengan pernyataan Parvathi et al. (2009), *Bacillus* ialah bakteri Gram-positif dengan bentuk sel basil, dapat hidup baik secara aerob maupun anaerob fakultatif, katalase positif, oksidase bervariasi, motil, dapat membentuk endospora sehingga mudah beradaptasi pada berbagai habitat, dan umumnya ditemukan di tanah.

Reaksi Hipersensitif

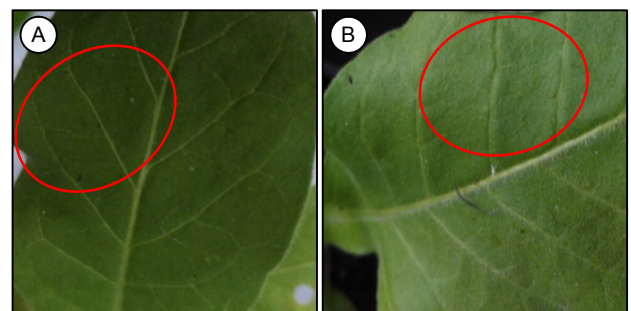
Patogenisitas kesembilan isolat bakteri rizosfer ubi kayu diuji melalui reaksi hipersensitif pada tanaman tembakau. Hasil uji kesembilan isolat adalah

negatif, yaitu tidak terjadi reaksi hipersensitif (tidak nekrosis) pada daun tembakau di area yang disuntikkan bakteri (Gambar 2). Hal ini dapat diasumsikan bahwa kesembilan isolat tidak berpotensi sebagai patogen tanaman.

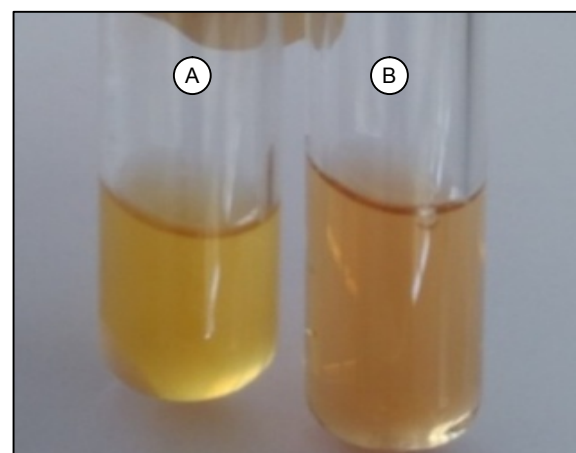
Reaksi hipersensitif merupakan bentuk cepat dari kematian sel terprogram yang terkait dengan

Tabel 3. Pendugaan identifikasi sembilan isolat bakteri rizosfer ubi kayu secara morfologi dan biokimia.

Kode isolat	Spesies
TRU1	<i>Micrococcus</i> sp.
TRU2	<i>Micrococcus</i> sp.
TRU3	<i>Micrococcus</i> sp.
TRU4	<i>Micrococcus</i> sp.
TRU5	<i>Micrococcus</i> sp.
TRU6	<i>Neisseria</i> sp.
TRU7	<i>Neisseria</i> sp.
TRU8	<i>Micrococcus</i> sp.
TRU9	<i>Bacillus</i> sp.



Gambar 2. Uji reaksi hipersensitif isolat bakteri rizosfer ubi kayu pada daun tembakau (*Nicotiana tabacum*). Lingkaran merah menunjukkan area penyuntikan pada daun tembakau: A = disuntik dengan akuades (kontrol), B = disuntik dengan isolat bakteri.



Gambar 3. Uji kemampuan isolat bakteri rizosfer ubi kayu menghasilkan IAA. Supernatan bakteri: A = sebelum ditetesi reagen Salkowski, B = setelah ditetesi reagen Salkowski.

pertahanan tanaman, dapat ditandai secara morfologi dengan pembentukan lesi nekrotik di sekitar lokasi masuknya patogen. Reaksi hipersensitif dapat diinduksi oleh fungi, oomycetes, bakteri, dan virus (Balint-Kurti 2019).

IAA yang Dihasilkan oleh Isolat Bakteri

Hasil uji secara kualitatif menunjukkan bahwa kesembilan isolat bakteri rizosfer mampu menghasilkan IAA. Adanya IAA yang dihasilkan oleh bakteri ditandai dengan perubahan warna supernatan bakteri dari kuning menjadi merah muda setelah ditetesi reagen Salkowski (Gambar 3).

Hasil analisis spektrofotometri menunjukkan bahwa kesembilan isolat bakteri dengan waktu inkubasi 2 hari mampu menghasilkan IAA pada kisaran konsentrasi 50,63–135,00 $\mu\text{g/ml}$. Konsentrasi tertinggi dihasilkan oleh *Micrococcus* sp.4. Konsentrasi IAA meningkat dengan waktu inkubasi 4 hari, pada kisaran 232,3–333,9 $\mu\text{g/ml}$, dengan konsentrasi IAA tertinggi dihasilkan oleh *Micrococcus* sp.3 (Tabel 4).

IAA yang dihasilkan oleh *Micrococcus* sp. pada penelitian ini (50,63–135,00 $\mu\text{g/ml}$) dengan waktu inkubasi 2 hari tergolong sangat tinggi dibanding

dengan hasil yang dilaporkan oleh Adesemoye dan Kloepper (2009). Pada penelitian tersebut, konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh *Micrococcus* sp. dengan waktu inkubasi yang sama berkisar antara 7,0–10,0 $\mu\text{g/ml}$. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp. dengan waktu inkubasi 2 hari (51,71 $\mu\text{g/ml}$) juga tergolong tinggi dibanding dengan hasil penelitian Huda et al. (2014). *Bacillus* sp. asal rizosfer tanaman jagung pada penelitian tersebut menghasilkan IAA dengan konsentrasi 20,1 $\mu\text{g/ml}$. Akan tetapi, hasil pada penelitian ini lebih rendah bila dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan oleh Shobha dan Kumudini (2012). *Bacillus* sp. yang diisolasi dari tanah rizosfer tanaman padi, cabai, dan kacang polong dengan waktu inkubasi yang sama mampu memproduksi IAA hingga konsentrasi 217 $\mu\text{g/ml}$. Menurut Mirza et al. (2001), konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh tiap-tiap bakteri dapat bervariasi di antara spesies dan galur tanaman yang berbeda, juga dipengaruhi oleh kondisi dan tahap pertumbuhan, serta ketersediaan substrat.

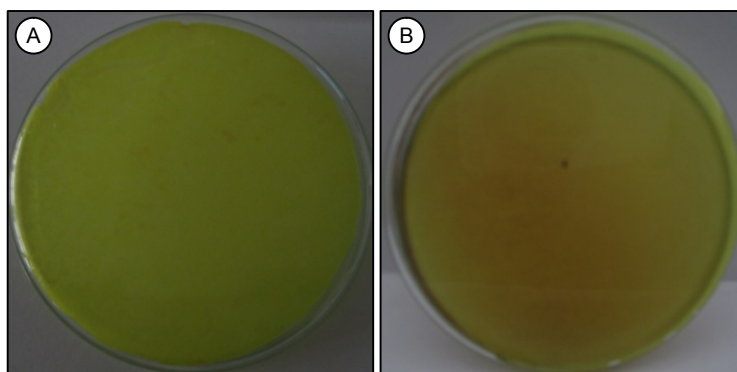
HCN yang Dihasilkan oleh Isolat Bakteri

Kesembilan isolat bakteri rizosfer ubi kayu mampu menghasilkan HCN. Dihasilkannya HCN di-

Tabel 4. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh sembilan isolat bakteri rizosfer ubi kayu diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 530 nm.

Isolat bakteri	Waktu inkubasi 2 hari		Waktu inkubasi 4 hari	
	Konsentrasi IAA ($\mu\text{g/ml}$)	Nilai absorbansi (nm)	Konsentrasi IAA ($\mu\text{g/ml}$)	Nilai absorbansi (nm)
<i>Micrococcus</i> sp.1	131,70	0,112	302,5	0,270
<i>Micrococcus</i> sp.2	127,40	0,108	232,3	0,205
<i>Micrococcus</i> sp.3	125,20	0,106	333,9*	0,299
<i>Micrococcus</i> sp.4	135,00*	0,115	323,1	0,289
<i>Micrococcus</i> sp.5	106,80	0,089	234,4	0,207
<i>Micrococcus</i> sp.6	50,63	0,037	234,4	0,207
<i>Neisseria</i> sp.1	81,98	0,066	237,7	0,210
<i>Neisseria</i> sp.2	101,40	0,084	288,5	0,257
<i>Bacillus</i> sp.	51,71	0,038	300,4	0,268

*Konsentrasi IAA tertinggi.



Gambar 4. Uji kemampuan isolat bakteri rizosfer ubi kayu menghasilkan HCN. Kertas saring pada media uji: A = tanpa isolat bakteri (kontrol), B = berisi isolat bakteri.

tandai dengan terjadinya perubahan warna kertas saring, yang diletakkan pada bagian dalam penutup cawan petri (media uji), dari kuning menjadi cokelat muda (Gambar 4). Patel dan Saraf (2017) melaporkan bahwa perubahan warna kertas saring ini menandakan adanya produksi HCN oleh isolat bakteri pada media uji.

Sejalan dengan laporan Dar et al. (2018), bakteri *Micrococcus* sp. dan *Bacillus* sp. yang diisolasi dari tanah rizosfer mampu menghasilkan HCN. *Bacillus* spp. hasil isolasi dari tanah rizosfer bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) juga mampu menghasilkan HCN (Reetha et al. 2014). HCN merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri yang terlibat dalam biokontrol terhadap patogen tanaman, yaitu sebagai antifungi yang kuat. HCN bekerja dengan cara menghambat kerja enzim yang memiliki kofaktor berupa ion logam seperti Cu^{2+} pada sitokrom C oksidase (Martínez-Viveros et al. 2010).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat-isolat bakteri rizosfer tanaman ubi kayu memiliki potensi sebagai penghasil IAA dan HCN. Isolat-isolat tersebut memiliki potensi dalam aplikasi lapangan di masa depan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman atau sebagai agen biokontrol. Oleh karena itu, studi lebih lanjut untuk mengaplikasikan isolat-isolat bakteri rizosfer ubi kayu tersebut pada tanaman perlu dilakukan.

KESIMPULAN

Sebanyak sembilan isolat bakteri berhasil diisolasi dari rizosfer ubi kayu yang diduga sebagai *Micrococcus* sp. (enam isolat), *Neisseria* sp. (dua isolat), dan *Bacillus* sp. (satu isolat). Kesembilan isolat mampu menghasilkan IAA. Konsentrasi IAA tertinggi dihasilkan oleh *Micrococcus* sp.3 (333,9 $\mu\text{g/ml}$) dengan waktu inkubasi 4 hari. Kesembilan isolat bakteri rizosfer ubi kayu mampu menghasilkan HCN. Isolat-isolat tersebut juga tidak menunjukkan reaksi hipersensitif sehingga tidak berpotensi sebagai patogen tanaman. Potensi aplikasi kesembilan isolat sebagai pemacu pertumbuhan tanaman atau sebagai agen biokontrol perlu dikaji lebih lanjut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Syiah Kuala yang telah memberikan izin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium tersebut.

KONTRIBUTOR PENULISAN

Ketiga penulis memberikan kontribusi yang setara sebagai kontributor utama dalam penulisan naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesemoye, A.O. & Kloepper, J.W. (2009) Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85 (1), 1–12.
- Aulia, D. (2016) Pengaruh perlakuan beberapa agens hayati terhadap kelimpahan bakteri rizosfer yang bersifat antagonis bagi bakteri *R. solanacearum* pada tanaman kentang dataran menengah. Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Balint-Kurti, P. (2019) The plant hypersensitive response: Concepts, control and consequences. *Molecular Plant Pathology*, 20 (8), 1163–1178.
- Bennett, J.S., Jolley, K.A., Earle, S.G., Corton, C., Bentley, S.D., Parkhill, J. & Maiden, M.C.J. (2012) A genomic approach to bacterial taxonomy: An examination and proposed reclassification of species within the genus *Neisseria*. *Microbiology*, 158 (6), 1570–1580.
- Bhattacharyya, P.N. & Jha, D.K. (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28 (4), 1327–1350.
- Cowan, S.T. (2004) *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Dar, G.H.H., Sofi, S., Padder, S.A. & Kabli, A. (2018) Molecular characterization of rhizobacteria isolated from walnut (*Juglans regia*) rhizosphere in Western Himalayas and assessment of their plant growth promoting activities. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 19 (2), 662–669.
- Devy, N.F., Syarif, A.A. & Aryawaita, A. (2018) Identifikasi penciri morfologi dan kualitas plasma nutfah lokal ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Sumatra Barat. *Buletin Plasma Nutfah*, 24 (1), 53–62.
- Duca, D., Lory, J., Patten, C.L., Rose, D. & Glick, B.R. (2014) Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106 (1), 85–125.
- Fitri, L., Ismail, Y.S., Putriani & Warzatullisna (2020) Application of rice root endophytic bacteria in Ciharang variety rice (*Oryza sativa*) seeds. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 12 (1), 21–27.
- Glick, B.R. (2012) Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica*. [Online] 2012, 963401. Tersedia pada: <https://doi.org/10.6064/2012/963401> (Diakses 4 Mei 2019).
- Gravel, V., Antoun, H. & Tweddell, R.J. (2007) Effect of indole-acetic acid (IAA) on the development of symptoms caused by *Pythium ultimum* on tomato

- plants. *European Journal of Plant Pathology*, 119 (4), 457–462.
- Hegde, V., Makesh Kumar, T., Sheela, M.N., Chandra, C.V., Koundinya, A.V.V., Anil, S.R., Muthuraj, R. & Darshan, S. (2017) Production of synthetic seed in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Root Crops*, 42 (2), 5–9.
- Huda, K., Budiharjo, A. & Raharjo, B. (2014) Bioprospeksi rizobakteri penghasil IAA (indole acetic acid) dari tanaman jagung (*Zea mays* L.) di area pertanian semi organik Desa Batur Kec. Getasan Kab. Semarang. *Jurnal Biologi*, 3 (3), 42–52.
- Kannan, M.N., Sethi, S., Badoni, A., Chamoli, V. & Bahuguna, N.C. (2018) Isolation and characterization of bacterial isolates from agriculture field soil of Roorkee region. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5, 108–110.
- Khaeruni, A., Sutariati, G.A.K. & Wahyuni, S. (2010) Karakterisasi dan uji aktivitas bakteri rizosfer lahan ultisol sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan agensia hayati cendawan patogen tular tanah secara *in vitro*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 10 (2), 123–130.
- Kumar, A., Kumar, A., Devi, S., Patil, S., Payal, C. & Negi, S. (2012) Isolation, screening and characterization of bacteria from rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: An *in vitro* study. *Recent Research in Science and Technology*, 4 (1), 1–5.
- Kumar, T.S., Swaminathan, V. & Kumar, S. (2009) Influence of nitrogen, phosphorus and biofertilizers on growth, yield and essential oil constituents in ratoon crop of davana (*Artemisia pallens* Wall.). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8 (2), 86–95.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M.A., Crowley, D.E., Gajardo, G. & Mora, M.L. (2010) Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10 (3), 293–319.
- Masciarelli, O., Llanes, A. & Luna, V. (2014) A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. *Microbiological Research*, 169 (7–8), 609–615.
- Mirza, M.S., Ahmad, W., Latif, F., Haurat, J., Bally, R., Normand, P. & Malik, K.A. (2001) Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane *in vitro*. *Plant and Soil*, 237 (1), 47–54.
- Mudili, J. (2007) *Introductory practical microbiology*. Oxford, Alpha Science International.
- Pandey, A. & Singh, A. (2013) A comparative study on secondary metabolites producing microbes isolated from rhizospheric & non-rhizospheric region of *Azadirachta indica* and *Oscimum tenuiflorum*. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 2 (1), 36–48.
- Parvathi, A., Khrisna, K., Jose, J., Joseph, N. & Nair, S. (2009) Biochemical and molecular characterization of *Bacillus pumilus* isolated from coastal environment in Cochin, India. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40 (2), 269–275.
- Patel, T. & Saraf, M. (2017) Exploration of novel plant growth promoting bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* MTP42 isolated from the rhizospheric soil of *Coleus forskohlii*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6 (11), 944–955.
- Reetha, A.K., Pavani, S.L. & Mohan, S. (2014) Hydrogen cyanide production ability by bacterial antagonist and their antibiotics inhibition potential on *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3 (5), 172–178.
- Shobha, G. & Kumudini, B.S. (2012) Antagonistic effect of the newly isolated PGPR *Bacillus* spp. on *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Applied Science and Engineering Research*, 1 (3), 463–474.
- Suja, S.P., Hegde, V., Makesh Kumar, T. & Anjanadevi, I.P. (2014) Screening of rhizobacteria associated with cassava for plant growth promotion and biocontrol potential. *Journal of Root Crops*, 40 (1), 66–73.
- Wieser, M., Denner, E.B.M., Kämpfer, P., Schumann, P., Tindall, B., Steiner, U., Vybiral, D., Lubitz, W., Maszenan, A.M. & Patel, B.K.C. (2002) Emended descriptions of the genus *Micrococcus*, *Micrococcus luteus* (Cohn 1872) and *Micrococcus lylae* (Kloos et al. 1974). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52 (2), 629–637.
- Wulandari, H., Zakiatulyaqin, Z. & Supriyanto, S. (2012) Isolasi dan pengujian bakteri endofit dari tanaman lada (*Piper nigrum* L.) sebagai antagonis terhadap patogen hawar beludru (*Septobasidium* sp.). *Perkebunan dan Lahan Tropika*, 2 (2), 23–31.
-