

POTENSI BAKTERI ENDOFIT DALAM UPAYA MENINGKATKAN PERTUMBUHAN, PRODUKSI, DAN KANDUNGAN ANDROGRAFOLID PADA TANAMAN SAMBILOTO

Potency of Endophytic Bacteria to Increase the Growth, Biomass, and Andrographolide Yields of the Bitter King

GUSMAINI¹⁾, SANDRA ARIFIN AZIZ²⁾, ABDUL MUNIF²⁾, DIDY SOPANDIE²⁾, dan NURLIANI BERMAWIE¹⁾

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor

Jalan Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111

²⁾ Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

email: gusmaini2004@yahoo.com

(Diterima Tgl. 13-3-2013 - Disetujui Tgl. 1-10-2013)

ABSTRAK

Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman yang sehat dan berperan antara lain di dalam memacu pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan senyawa-senyawa zat pengatur tumbuh, seperti IAA, GA₃, dan Sitokinin. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi potensi bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan, produksi, dan kadar andrografolid pada tanaman sambiloto. Penelitian dilakukan di rumah kaca Balitro Cimanggu Bogor pada Oktober 2011–Mei 2012. Perlakuan disusun mengikuti Rancangan Acak Kelompok, enam perlakuan dan empat ulangan. Perlakuan terdiri dari (1) kontrol, dan perlakuan bakteri endofit yaitu (2) 20BB, (3) 5MD, (4) 20BD, (5) 20CD (perlakuan 2-5 masing-masing terdiri dari 4 jenis isolat), dan (6) 90AA (isolat tunggal). Suspensi bakteri endofit (50 ml/tanaman) diberikan 4 kali yaitu pada minggu ke 3, 5, 7, dan 9 setelah tanam dengan konsentrasi 10¹⁰ spk/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit berpengaruh positif dan nyata dalam meningkatkan pertumbuhan, produksi herba segar dan kering serta andrografolid pada tanaman sambiloto lebih baik dibandingkan kontrol. Peningkatan pertumbuhan tertinggi ditunjukkan pada tinggi tanaman dan jumlah cabang primer yaitu masing-masing 24,7% (20 CD) dan 42,2% (20 BB). Produksi herba kering meningkat 25-82,81%, sejalan dengan meningkatnya serapan hara N (64,7-158,8%), P (50-100%), dan K (65-155%). Peningkatan produksi herba kering dan andrografolid terbaik diperoleh dari penggunaan 20 CD (82,81 dan 142,11%), 20 BB (88,75 dan 131,58%), dan 20 BD (65,63 dan 131,58%). Implikasi dari hasil penelitian ini bahwa bakteri endofit berpotensi untuk dikembangkan pada budidaya tanaman sambiloto.

Kata kunci: *Andrographis paniculata*, bakteri endofit, andrografolid, pertumbuhan, produksi

ABSTRACT

Endophytic bacteria live within healthy plant tissue and play important roles, such as producing compounds of plant growth regulators substances such as IAA, GA₃, and Cytokinin. The aims of this research is to evaluate the potential of endophytic bacteria to promote the growth, andrographolide content, and dry matter yield of king of bitter. The research was conducted in the greenhouse of Cimanggu Balitro in October 2011-May 2012. Treatments were arranged in a randomized complete block design with six treatments and four replications. Treatments consist of (1) control, and 5 kinds of endophytic bacteria isolates such as (2) 20BB, (3) 5MD, (4) 20BD, (5) 20CD (treatments no.2-5, consisted of 4 types of isolate), and (6) 90AA (single isolate). The highest presentage of plant height and number of primary branches were obtained from the treatment of 20CD (24.7%) and 20BB (42.2%). Increase in the dry herb

yield of 25-82.81% was in agreement with increasing in uptake of N (64.7-158.8%), P (50-100%), and K (65-155%). The best treatment with which yielding high of dry herbs and andrographolide was 20CD isolates (82.81 and 142.11%), followed with 20 BB (88.75 and 131.58%), and 20 BD (65.63 and 131.58%). The study implies that endophytic bacteria have potential for development of king of bitter cultivation.

Key words: *Andrographis paniculata*, endophytic bacteria, andrographolide, growth, yield

PENDAHULUAN

Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan karena beragam khasiatnya. Masyarakat Indonesia mengenal tanaman sambiloto sebagai salah satu campuran obat tradisional, seperti jamu. Di negara lain seperti China, India, dan negara-negara di Amerika penelitian tentang tanaman sambiloto telah berkembang luas, tidak hanya dalam hal budidaya tanaman tetapi juga isolasi bahan aktif, yaitu andrografolid dan turunannya, untuk berbagai kegunaan antara lain sebagai antibakteri dan antivirus (CALABRESE *et al.*, 2000; SINGH *et al.*, 2001; XU *et al.*, 2006), antiinflamasi (BAO *et al.* 2009), antioksidan, (AKOWUAH *et al.*, 2006), dan antikanker (MUNTHA *et al.*, 2003; RAO *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2009; CHAO dan LIN, 2010).

Pengembangan budidaya tanaman sambiloto tidak hanya difokuskan pada peningkatan produksi biomas tajuknya tetapi juga pada peningkatan kadar bahan aktif tanaman. Beragam hasil penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan produksi biomas dan andrografolid pada tanaman sambiloto antara lain pemberian pupuk (YUSRON *et al.*, 2007; RAMESH *et al.*, 2011), penggunaan mikoriza (ARPANA dan BAGYARAJ, 2007), pemberian fitohormon secara eksogen (ANURADHA *et al.*, 2010), dan identifikasi dan kuantifikasi kadar andrografolid pada beberapa tahap pertumbuhan (PARASHAR *et al.*, 2011; SHARMA dan

SHARMA, 2013). Hasil penelitian di Indonesia menunjukkan produksi herba kering berkisar 0,64-1,3 ton/ha (YUSRON *et al.*, 2007; MARIANI dan JUNAIDI, 2009), masih jauh di bawah hasil penelitian di India yang mencapai produksi herba kering berkisar 1,4-3,3 ton/ha (RAMESH *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2001).

Penyebab rendahnya produksi tersebut diperkirakan belum diperolehnya teknologi budidaya yang tepat untuk pengembangan budidaya tanaman sambiloto karena minimnya penelitian yang dilakukan. Teknologi budidaya tersebut meliputi faktor genetik, yaitu dihasilkannya aksesori/varietas yang mempunyai daya hasil tinggi, dan lingkungan yang sesuai, antara lain penggunaan input yang mampu membuat lingkungan tumbuh optimal bagi pertumbuhan tanaman sambiloto. Penelitian dilakukan untuk meningkatkan hasil herbanya belum banyak yang mengarah pada kandungan bahan aktif. Salah satu upaya dalam mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan penggunaan bakteri endofit. Peran bakteri endofit diketahui cukup signifikan dalam meningkatkan produksi tanaman tebu (DONG *et al.*, 1995), padi (GOVINDARAJAN *et al.*, 2008), dan tanaman pangan lain. Hal yang sama juga diharapkan diperoleh pada budidaya tanaman sambiloto dengan memanfaatkan bakteri endofit.

Pada umumnya, penelitian bakteri endofit pada tanaman obat hanya terfokus sebagai sumber penghasil senyawa aktif tertentu, seperti antimikroba dan antibiotik (RADJI, 2005; WINARNO, 2006; PUJIYANTO dan FERNAH, 2010; EBRAHIMI *et al.*, 2010; PAL dan PAUL, 2013), antiviral, antikanker, antiinflamasi, dan antioksidan (STROBEL dan DAISY, 2003; GUO *et al.*, 2008). Demikian pula dengan tanaman sambiloto, penelitian bakteri endofit masih terbatas sebagai antimikroba dan antibiotik (RAHARDJO dan SYARMALINA, 2006; ARUNACHALAM dan GAYATHRI, 2010; KANNAN *et al.*, 2012), antimalaria (LEVITA *et al.*, 2010), antidiabet (DOMPEIPEN *et al.*, 2011), dan diversifikasi genetik bakteri endofit (YOGIARA *et al.*, 2012), sedangkan peran bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman masih belum ada atau sangat terbatas.

Bakteri endofit diketahui dapat mengikat hara nitrogen dan melarutkan fosfat sehingga mengurangi penggunaan pupuk buatan (PEDRAZA *et al.*, 2004), memproduksi fitohormon (PUENTE *et al.*, 2009). Selain itu, bakteri endofit dapat pula meningkatkan produksi senyawa bioaktif alami (STROBEL, 2003; FIRAKOVA *et al.*, 2007; GUO *et al.*, 2008). Adanya peran tersebut diharapkan penggunaan bakteri endofit dapat memberikan dampak yang positif terhadap tanaman sambiloto.

Tujuan penelitian adalah mengevaluasi potensi bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan, produksi herba, dan kadar andrografolid pada tanaman sambiloto.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor (Balitro) dari Oktober 2011 sampai dengan Mei 2012. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan enam perlakuan dan empat ulangan. Perlakuan terdiri dari (1) kontrol, (2) isolat tunggal (90AA), dan 3 macam konsorsium bakteri endofit, yaitu (3) 20BB, (4) 5MD, (5) 20BD, dan (6) 20CD (perlakuan 3-6 masing-masing terdiri dari empat jenis isolat). Percobaan ini merupakan percobaan pot di rumah kaca. Tahapan pelaksanaan penelitian sebagai berikut:

Persiapan Benih

Benih sambiloto dikecambahkan dan ditumbuhkan dalam bak persemaian hingga muncul 2 daun (\pm 1 bulan), lalu dipindahkan dalam polibag kecil \pm 1 bulan (4-6 daun). Benih sambiloto yang digunakan yaitu aksesori Cimanggu, koleksi Balitro. Tanaman yang telah tumbuh 4-6 daun tersebut dikelompokkan sesuai dengan jumlah daun yang tumbuh agar seragam.

Persiapan Media Tanam

Tanah yang digunakan sebagai media tumbuh dalam pot adalah tanah Ultisol yang berasal dari Kebun Percobaan Cimanggu, Bogor. Tanah sebanyak 10 kg/pot dibersihkan dan disaring dari kotoran kemudian diberi pupuk kandang sebanyak 0,25 kg/pot yang diberikan 1 minggu sebelum tanam. Sifat kimia tanah dan pupuk kandang disampaikan pada Tabel 1.

Pemberian Pupuk

Pupuk SP-36 dan KCl diberikan satu minggu setelah tanam (MST), masing-masing dengan dosis 3,4 dan 2,5 g/pot, sedangkan pupuk Urea pada minggu ke 4 dan 8 setelah tanam masing-masing dengan dosis 1,7 g/pot.

Perlakuan Bakteri Endofit

Bakteri endofit diberikan sesuai perlakuan, yaitu 20BB, 90AA, 5MD, 20BB, dan 20CD, masing-masing dengan kepadatan populasi 10^{10} satuan per koloni ml^{-1} (spk ml^{-1}). Frekuensi pemberian bakteri endofit adalah 4 kali dengan selang waktu 2 minggu dan dimulai pada tanaman berumur 3, 5, 7, dan 9 MST. Cara pemberian bakteri endofit yaitu disemprotkan ke daun dan disiram ke tanah masing-masing 50 ml/tanaman.

Tabel 1. Sifat kimia tanah dan pupuk kandang yang digunakan dalam percobaan
 Table 1. Chemical properties of soil and cow manure which used in experiment

| Jenis Pengujian <i>Analysis</i> | Tanah <i>Soil</i> | Pupuk kandang sapi <i>Cow manure</i> |
|--|----------------------|---|
| pH H ₂ O | 5,95 | 8,10 |
| KCl | 5,27 | - |
| C-org (%) | 1,91 | 18,36 |
| N-total (%) | 0,20 | 1,33 |
| C/N ratio | 9,55 | 13,80 |
| P ₂ O ₅ tersedia (ppm) | 5,81 | - |
| Basa-basa | cmol/kg | % |
| Ca | 10,03 | 4,04 |
| Mg | 2,33 | 0,47 |
| K | 1,05 | 1,69 |
| Na | 0,28 | 1,69 |
| P | - | 0,61 |
| Fe | - | 0,51 |
| Total | 13,69 | - |
| KTK (cmol/kg) | 13,06 | - |
| KB (%) | 104,82 | - |
| Mn (ppm) | - | 866,26 |
| Cu (ppm) | - | 65,54 |
| Zn (ppm) | - | 240,38 |
| Pb (ppm) | - | 24,26 |
| Cd (ppm) | - | 6,12 |
| Co (ppm) | - | 3,40 |

Isolat 20BB diisolasi dari jaringan batang sambiloto dan isolat 20BD diisolasi dari jaringan daun sambiloto berasal dari daerah Ngliron, Blora, Jawa Tengah pada ketinggian 70 m dpl, masing-masing terdiri dari 4 jenis isolat. Isolat 90AA merupakan isolat tunggal yang diisolasi dari jaringan daun tanaman *Graminae* di daerah Dramaga Bogor dan isolat 20CD diisolasi dari jaringan daun sambiloto dari daerah Cimanggu Bogor Jawa Barat pada ketinggian 240 m dpl yang terdiri dari 4 jenis isolat. Isolat 5 MD diisolasi dari jaringan daun tanaman sambiloto yang dieksplorasi dari Desa Kare, Madiun, Jawa Timur pada ketinggian 750 m dpl, yang terdiri dari 4 jenis isolat. Kelima isolat tersebut diuji *hypersensitive response* (HR) (LELLIOTT dan STEAD, 1987). Hasil pengujian HR menunjukkan tidak terdapat indikasi atau potensi patogen terhadap kelima isolat bakteri endofit yang digunakan.

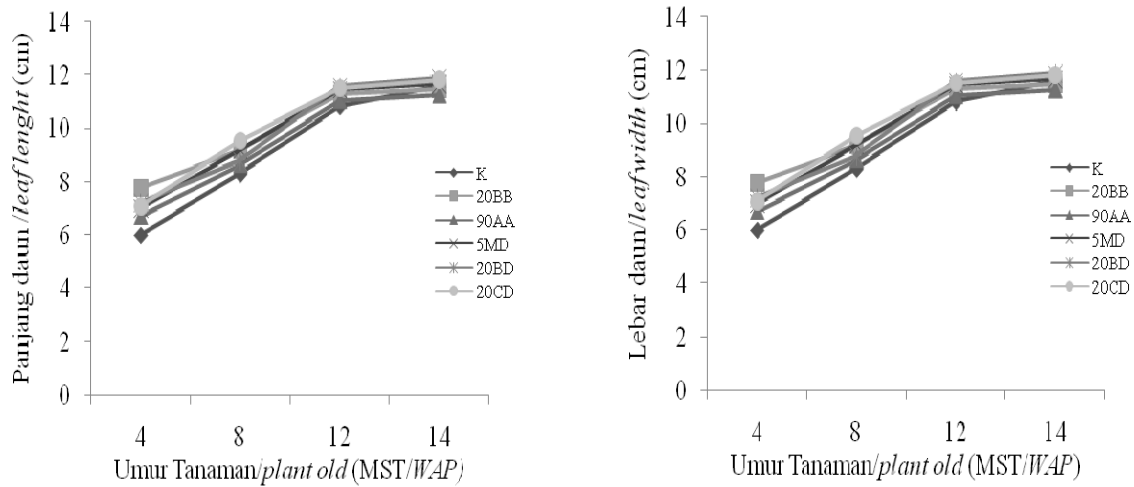
Pengamatan

Parameter pertumbuhan tanaman yang diamati adalah panjang lebar daun, tinggi tanaman, dan jumlah cabang primer dimulai 4, 8, 12, dan 14 MST. Komponen hasil diukur pada tanaman berumur 14 MST terdiri dari bobot segar dan kering biomas tanaman (daun, batang, dan herba), dan kadar hara N, P, dan K pada jaringan tanaman. Pengukuran fitohormon (IAA = *Indole Acetic Acid* dan GA₃

=*Gibberellin Acid*) menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) (SANBERG *et al.*, 1987) di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor. Kadar andrografolid diukur dengan menggunakan TLCS (*Thin Layer Chromatography Scanner*) di Balitro.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Panjang dan Lebar Daun Secara umum, pola pertumbuhan daun meningkat tajam berdasarkan parameter panjang dan lebar daun tanaman sambiloto pada umur 4-8 MST. Pada periode 8-12 MST peningkatannya sedikit dan periode 12-14 MST cenderung menurun terutama untuk lebar daun. Hal tersebut memberikan gambaran bahwa pola pertumbuhan vegetatif tanaman sambiloto, terutama panjang dan lebar daun, hanya sampai umur tanaman 14 MST. Pemberian bakteri endofit pada tanaman sambiloto umur 12 dan 14 MST ternyata tidak memberikan pengaruh yang nyata pada pertumbuhan panjang dan lebar daun (Gambar 1). Umur 12 MST merupakan awal dimulainya fase pertumbuhan generatif, sedangkan pada umur 14 MST merupakan awal terjadinya inisiasi pembungaan dan tanaman siap untuk dipanen.



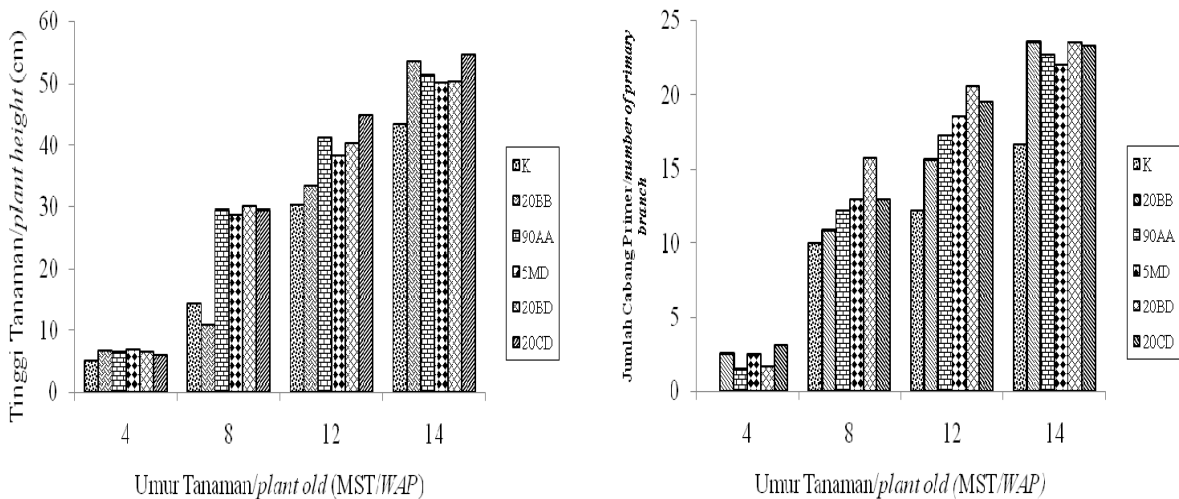
Gambar 1. Pengaruh bakteri endofit terhadap pola pertumbuhan panjang dan lebar daun tanaman Sambilito pada 4-14 MST
 Figure 1. Effect of endophytic bacteria on growth stage of leaf length and width of king of bitter at 4-14 week after planting

Tinggi Tanaman dan Jumlah Cabang Primer

Berbeda dengan pertumbuhan panjang dan lebar daun, pengamatan tinggi tanaman dan jumlah cabang primer pada umur 4-8 MST dan 8-12 MST menunjukkan masih adanya peningkatan pertumbuhan. Tinggi tanaman dan jumlah cabang primer masih meningkat meskipun tanaman sudah mulai masuk fase generatif (Gambar 2). Menurut PARASHAR *et al.* (2011), pada umur 120 hari tanaman masih mengalami pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah cabang. Pemberian bakteri endofit ternyata meningkatkan tinggi tanaman dan jumlah cabang primer

sambilito yang berumur 14 MST, masing-masing sebesar 15,7-24,7% dan 31,9-42,2%. Peningkatan tinggi tanaman secara nyata hanya terjadi pada pemberian isolat 20BB dan 20CD. Sementara itu, untuk jumlah cabang primer, semua isolat bakteri endofit terbukti memberikan pengaruh yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol (Tabel 2).

Peningkatan pertumbuhan tanaman diatas, diduga dipengaruhi oleh fitohormon yang dihasilkan oleh bakteri endofit, dalam hal ini IAA dan GA₃. Produksi fitohormon yang terdapat pada bakteri endofit berkisar 205,4-585,7 ppm IAA dan 39-60 ppm GA₃ (Tabel 3).



Gambar 2. Pengaruh bakteri endofit terhadap pola pertumbuhan tinggi dan jumlah cabang primer tanaman sambilito pada umur 4-14 MST
 Figure 2. Effect of endophytic bacteria on growth stage of plant height and number of primary branch of bitter king at 4-14 week after planting

Tabel 2. Pengaruh bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman sambiloto umur 14 MST
 Table 2. Effect of endophytic bacteria on bitter king growth at 14 WAP

| Perlakuan <i>Treatments</i> | Tinggi tanaman <i>Plant height</i> (cm) | Peningkatan tinggi tanaman <i>Increasing of plant height</i> (%) | Jumlah cabang primer <i>Number of primary branch</i> | Peningkatan jumlah cabang primer <i>Increasing of number of primary branch</i> (%) |
|--------------------------------|---|--|---|--|
| Kontrol <i>Control</i> | 43,4 b | - | 16,6 b | |
| 20BB | 53,4 a | 23,0 | 23,6 a | 42,2 |
| 90AA | 51,2 ab | 18,0 | 22,7 a | 36,7 |
| 5MD | 50,3 ab | 15,9 | 21,9 a | 31,9 |
| 20BD | 50,2 ab | 15,7 | 23,5 a | 41,6 |
| 20CD | 54,1 a | 24,7 | 23,3 a | 40,4 |
| KK CV (%) | 11,8 | - | 10,9 | - |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji 5% BNT.

Note : Numbers followed by the same letter in same column are not significantly different at 5% LSD.

Adanya kandungan fitohormon pada bakteri endofit tersebut membantu tanaman dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangannya. Produksi hormon IAA tertinggi terdapat pada isolat 20BB (585,7 ppm) dan GA₃ terdapat pada isolat 20CD (60 ppm).

Hormon tanaman mengatur beberapa aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman, seperti pembentukan dan pemeliharaan meristem (SU *et al.*, 2011). Pemberian

hormon secara eksogen yang umum dilakukan sama pengaruhnya terhadap respon sel tanaman dengan hormon endogenus yang disintesis oleh bakteri (YAMADA, 1993). Hormon berperan mempercepat pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Adanya hormon yang diproduksi oleh bakteri endofit tersebut diduga membantu memacu pertumbuhan tanaman sambiloto.

Tabel 3. Produksi hormon IAA dan GA₃ dari isolat bakteri endofit
 Table 3. IAA and GA₃ hormone productions from endophytic bacteria isolate

| Isolat <i>Isolates</i> | IAA | GA ₃ |
|---------------------------|-------|-----------------|
| | ppm | |
| 20BB | 585,7 | 54 |
| 90AA | 495,7 | 54 |
| 5MD | 205,4 | 39 |
| 20BD | 501,6 | 49 |
| 20CD | 323,1 | 60 |

Hormon pertumbuhan tanaman, selain diproduksi sendiri oleh tanaman dapat pula diperoleh dari bakteri endofit. Sejalan dengan produksi hormon yang dihasilkan oleh bakteri endofit, pertumbuhan tanaman juga meningkat. Peningkatan pertumbuhan tanaman baik tinggi tanaman maupun jumlah daun berkorelasi positif dengan sumbangan hormon yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit. Semua isolat memproduksi hormon IAA dan GA₃ dan memberikan pertumbuhan tanaman lebih baik dibanding tanpa pemberian isolat bakteri (Tabel 2 dan 3).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa produksi hormon IAA yang dihasilkan tinggi. Apabila tidak diimbangi dengan produksi GA₃ yang tinggi pula maka pertumbuhan tanaman tidak berbanding lurus dengan hormon IAA yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa produksi GA₃ merupakan faktor pembatas bagi pertumbuhan tanaman sambiloto. Hal tersebut dapat

ditunjukkan oleh respon tinggi tanaman pada pemberian isolat 20BB (585,7 ppm IAA, 54 ppm GA₃, dan tinggi tanaman 53,4 cm) dan isolat 20CD (323,1 ppm IAA dan 60 ppm GA₃, dan tinggi tanaman 54,1 cm). Namun demikian, semua isolat yang diuji menghasilkan hormon yang berkorelasi positif terhadap pertumbuhan tanaman sambiloto.

Produksi Biomasa Segar

Respon positif terhadap produksi biomasa segar ditunjukkan oleh tanaman sambiloto akibat pemberian bakteri endofit. Kelima bakteri endofit memberikan pengaruh nyata terhadap produksi segar tanaman sambiloto, baik bobot segar batang, daun, maupun bobot segar herba. Masing-masing bakteri endofit memberikan pengaruh yang bervariasi. Secara umum, kelima bakteri endofit tersebut

nyata meningkatkan bobot bahan segar dibandingkan dengan kontrol, tetapi antar bakteri endofit memberikan pengaruh yang sama terhadap produksi bahan segar (Tabel 4). Hal tersebut mengindikasikan bahwa kelima bakteri

tersebut sama baiknya dalam meningkatkan produksi bahan segar. Peningkatan bobot segar herba tertinggi terdapat pada pemberian isolat 20BD (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh bakteri endofit terhadap peningkatan produksi bahan segar tanaman sambiloto umur 14 MST
Table 4. Effect of endophytic bacteria on increasing of fresh matter yield of king of bitter at 14 WAP

| Perlakuan <i>Treatments</i> | Bobot segar batang <i>Stem fresh weight</i> | Bobot segar daun <i>Leaves fresh weight</i> | Bobot segar herba <i>Herbage fresh weight</i> | Peningkatan Bobot segar herba <i>Increasing of herbage fresh weight</i> |
|--------------------------------|--|--|--|---|
| | g/tanaman (<i>g/plant</i>) | | | (%) |
| Kontrol | | | | |
| <i>Control</i> | 5,4 b | 17,8 b | 23,2 b | - |
| 20BB | 11,7 a | 30,3 a | 42,0 a | 81,03 |
| 90AA | 12,6 a | 24,0 a | 36,6 a | 57,76 |
| 5MD | 16,2 a | 26,4 a | 42,6 a | 83,62 |
| 20BD | 16,3 a | 30,7 a | 47,0 a | 102,59 |
| 20CD | 15,4 a | 30,8 a | 46,2 a | 98,28 |
| KK CV (%) | 17,4 | 14,5 | 14,1 | - |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata dengan uji 5% BNT.
Note : Numbers followed by the same letter in same column are not significantly different at 5% LSD.

Peningkatan produksi segar herba berkisar 57,76-102,59%. Peningkatan produksi herba tersebut merupakan dampak dari peningkatan pertumbuhan. Hal tersebut juga tidak lepas dari peranan fitohormon yang dihasilkan oleh bakteri endofit. Hal yang sama juga diperoleh dari hasil penelitian HUNG *et al.* (2007) yang menunjukkan bahwa semua bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kedelai memproduksi IAA dan dapat meningkatkan produksi biomas berkisar 9-83%. Bakteri endofit juga menghasilkan hormon-hormon lain seperti auksin, sitokinin, dan giberelin (ERGUN *et al.*, 2002; KHARWAR *et al.*, 2008) yang mendukung pertumbuhan dan hasil tanaman.

Produksi Biomas Kering

Sejalan dengan pertumbuhan dan produksi bahan segar, pemberian bakteri endofit juga meningkatkan produksi bahan kering. Peningkatan produksi bahan kering baik daun, batang, maupun herba secara nyata dibandingkan dengan kontrol. Bakteri endofit yang diuji semuanya memberikan pengaruh yang berbeda dibandingkan dengan kontrol, kecuali perlakuan 90AA. Isolat 20CD memberikan produksi bobot kering herba tertinggi (11,7 g/tanaman). Namun demikian, antara kelima isolat bakteri yang diuji tidak memberikan respon yang berbeda terhadap produksi bahan kering. Hal ini berarti kelima isolat memberikan pengaruh yang sama terhadap produksi biomas kering (Tabel 5). Peningkatan bahan segar dan kering merupakan implementasi dari pertumbuhan tanaman. Peranan bakteri endofit cukup penting dalam memacu pertumbuhan tanaman. Lebih lanjut, peranan bakteri endofit tersebut juga sangat mempengaruhi produksi

bahan material tanaman. Peningkatan bobot kering herba berkisar 25-82,81%. Peningkatan bobot terendah terdapat pada perlakuan 90AA dan tertinggi ditunjukkan oleh pemberian perlakuan 20CD, diikuti 20BB, 20BD, dan 5MD. Sejalan dengan bobot segar biomas, bobot kering biomas juga memberikan respon yang sama dari kelima bakteri endofit (Tabel 6). Hal tersebut sejalan dengan penelitian HUNG *et al.* (2007), menunjukkan bahwa semua bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kedelai memproduksi IAA dan dapat meningkatkan produksi biomas kering berkisar 9-83%. Salah satu penyebab peningkatan pertumbuhan dan produksi tanaman adalah ketersediaan hara, produksi hormon yang dihasilkan oleh bakteri endofit (RAJAN dan RADHAKRISHNA, 2013), proses fiksasi hara yang dilakukan oleh bakteri endofit ((REIS *et al.*, 1994), dan pelarutan hara di dalam tanah (SESHADRI *et al.*, 2000).

Pemberian isolat bakteri endofit 90AA memberikan peningkatan produksi herba kering terendah (25%) dibandingkan keempat isolat yang lain. Hal tersebut diduga karena pada isolat tersebut merupakan isolat tunggal sehingga kurang efisien dalam menjalankan perannya seperti menyerap hara. Hal tersebut ditunjukkan pada Tabel 7, terlihat bahwa perlakuan 90AA menyerap hara terendah terutama N dan K dibandingkan dengan isolat yang lain. Hal tersebut sejalan dengan penelitian SRINIVASAN dan MATHIVANAN (2011), bahwa pemberian isolat konsorsium lebih efektif dalam meningkatkan parameter pertumbuhan tanaman dan meningkatkan produksi bunga matahari dan padi (FITRI dan GOFAR, 2009).

Tabel 5. Pengaruh bakteri endofit terhadap produksi bahan kering tanaman sambiloto umur 14 MST
 Table 5. Effect of endophytic bacteria on dry biomass yield of bitter king at 14 WAP

| Perlakuan <i>Treatments</i> | Bobot kering <i>Dry weight</i> | | | Peningkatan bobot kering herba <i>Increasing of herbage dry weight</i> (%) |
|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------|-------------------------|---|
| | Batang <i>Stem</i> | Daun <i>Leaves</i> | Herba <i>Herbage</i> | |
| | g/tanaman (g/plant) | | | |
| K | 2,2 b | 4,2 b | 6,4 b | - |
| 20BB | 3,7 a | 7,1 a | 10,8 a | 68,75 |
| 90AA | 3,1 ab | 4,9 ab | 8,0 ab | 25,00 |
| 5MD | 4,0 a | 6,5 ab | 10,5 a | 60,06 |
| 20BD | 4,0 a | 6,6 a | 10,6 a | 65,63 |
| 20CD | 4,1 a | 7,6 a | 11,7 a | 82,81 |
| KK CV (%) | 18,5 | 16,8 | 17,8 | - |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu kolom, tidak berbeda nyata dengan uji 5% BNT.

Note : Numbers followed by the same letter in each column are not significantly different at 5% LSD.

Bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman *Bradyrhizobium japonicum* juga dapat memproduksi IAA dan GA₃ (BOIERO *et al.*, 2007). Pada tanaman mangrove, bakteri endofit selain berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman juga berperan sebagai agen biokontrol (UTAMI, 2011). Peran sebagai agen biokontrol sangat diperlukan tanaman dalam menghadapi organisme pengganggu tanaman. Adanya dua peran tersebut merupakan salah satu faktor yang dapat menentukan keberhasilan dari suatu budidaya pertanaman.

Kadar dan Serapan Hara N, P, K dalam Jaringan Tanaman

Hasil analisis ragam menunjukkan pemberian bakteri endofit tidak berbeda nyata dalam meningkatkan kadar N, P, dan K. Meskipun demikian, pemberian bakteri endofit mampu meningkatkan serapan hara N, P, dan K (Tabel 6). Peningkatan tersebut sejalan dengan produksi bahan kering tanaman. Serapan hara tanaman dipengaruhi oleh kadar hara yang terkandung di dalam tanaman dan produksi bahan kering tanaman tersebut. Pemberian bakteri endofit mampu meningkatkan bahan kering tanaman. Hal tersebut berdampak terhadap peningkatan serapan hara.

Tabel 6. Pengaruh bakteri endofit terhadap kadar dan serapan hara N, P, dan K pada tanaman sambiloto
 Table 6. Effect of endophytic bacteria on N, P, and K content and uptake of king of bitter

| Perlakuan | Kadar hara (%) <i>Nutrient content (%)</i> | | | Serapan Hara (g/tan) <i>Up take (g/plant)</i> | | |
|------------------------|---|--------|--------|--|--------|----------|
| | N | P | K | N | P | K |
| Kontrol <i>Control</i> | 3,80 a | 0,37 a | 4,57 a | 0,17 c | 0,02 c | 0,20 d |
| 20BB | 3,38 a | 0,30 a | 3,94 a | 0,35 ab | 0,03 b | 0,42 abc |
| 90AA | 3,74 a | 0,37 a | 4,26 a | 0,28 b | 0,03 b | 0,33 c |
| 5MD | 4,09 a | 0,32 a | 4,21 a | 0,40 a | 0,03 b | 0,41 bc |
| 20BD | 3,67 a | 0,36 a | 4,24 a | 0,38 ab | 0,04 a | 0,44 ab |
| 20CD | 3,70 a | 0,38 a | 4,33 a | 0,44 a | 0,04 a | 0,51 a |
| KK CV (%) | 12,5 | 9,8 | 11,7 | 19,54 | 19,03 | 16,21 |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada satu yang kolom, tidak berbeda nyata dengan uji 5% BNT.

Note : Numbers followed by the same letter in same column are not significantly different at 5% LSD.

Semua isolat bakteri endofit yang diaplikasikan nyata meningkatkan serapan hara dibandingkan dengan kontrol. Seperti halnya dengan produksi bahan tanaman, pemberian isolat 90AA menyerap hara lebih rendah dibandingkan dengan keempat isolat lain. Peningkatan serapan hara pada tanaman tersebut diduga bakteri endofit dapat memfiksasi hara, terutama N yang ada di atmosfer, dan penyediaan hara melalui proses mineralisasi bakteri. Tanaman inang memperoleh hara dapat secara langsung maupun tidak langsung. Tanaman inang secara langsung berasosiasi atau

bersimbiosis dengan bakteri mengikat hara dari udara dan secara tidak langsung, yaitu setelah bakteri mati terjadi proses mineralisasi dari bakteri tersebut sehingga hara tersedia bagi tanaman (HUREK dan HUREK, 1998).

Peningkatan serapan hara tersebut juga dapat diakibatkan karena bakteri endofit yang digunakan mampu memproduksi hormon GA₃. Hormon tersebut mampu memacu serapan hara N, P, dan K. Hormon GA₃ mengatur pertumbuhan tanaman melalui peningkatan divisi dan pemanjangan sel (EID dan LAILA, 2006). Hal tersebut juga

sejalan dengan penelitian pada tanaman sambiloto (VIJAKUMARI, 2003) dan croton (*Codiaeum variegatum*) (SOAD *et al.*, 2010).

Kadar dan Produksi Andrografolid

Hanya 3 jenis isolat bakteri endofit, yaitu 20BB, 20BD, dan 20CD yang nyata meningkatkan kadar andrografolid dibandingkan dengan kontrol, sedangkan isolat 90AA dan 5MD tidak memberikan pengaruh nyata

terhadap peningkatan kadar andrografolid yang terkandung di dalam tanaman sambiloto, demikian pula dengan produksi andrografolid yang dihasilkan (Tabel 7). Pada tanaman obat untuk memperoleh produksi metabolik sekunder yang tinggi, upaya yang dilakukan tidak hanya memfokuskan pada peningkatan kadar bahan aktifnya, tetapi juga untuk meningkatkan produksi biomas tanaman melalui proses metabolik primernya.

Tabel 7. Pengaruh bakteri endofit terhadap kadar dan produksi andrografolid pada tanaman sambiloto
Table 7. Effect of endophytic bacteria on content and yield of andrographolide at king of bitter

| Perlakuan <i>Treatments</i> | Kadar Andrografolid <i>Andrographolide</i> <i>content</i> (%) | Peningkatan kadar Andrografolid <i>Increasing of</i> <i>Andrographolide</i> <i>content</i> (%) | Produksi Andrografolid <i>Andrographolide</i> <i>yield</i> (g/plant) | Peningkatan produksi Andrografolid <i>Increasing of</i> <i>Andrographolide</i> <i>yield</i> (%) |
|--------------------------------|--|--|---|--|
| Kontrol | 3,17 b | | 0,19 c | |
| 20BB | 4,09 a | 29,02 | 0,44 ab | 131,58 |
| 90AA | 3,19 b | 0,63 | 0,25 bc | 31,58 |
| 5MD | 3,17 b | 0,00 | 0,34 abc | 78,95 |
| 20BD | 4,10 a | 29,33 | 0,44 ab | 131,58 |
| 20CD | 3,92 a | 23,67 | 0,46 a | 142,11 |
| KK CV(%) | 18,80 | - | 19,10 | - |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata dengan uji 5% BNT.
Note : Numbers followed by the same letter in same column are not significantly different at 5% LSD.

Adanya hormon yang terkandung di dalam bakteri endofit, tidak hanya memacu pertumbuhan tanaman, tetapi juga meningkatkan kadar bahan aktif. Andrografolid dan GA₃ adalah senyawa aktif yang mempunyai biosintesis yang sama, yaitu dari golongan terpenoid (DUBAY *et al.* 2003; SRIVASTAVA dan AKHILA, 2010). Biosintesis golongan terpenoid mempunyai lintasan asam mevalonat pada sitosol atau non mevalonat pada plastid yang disintesis dari isopentenil pirofosfat (IPP) (CROTEU *et al.*, 2000). Pemberian GA₃ eksogen dapat meningkatkan pasokan IPP ke lintasan pembentukan andrografolid yang mengakibatkan peningkatan kandungan andrografolid.

Pemberian hormon secara eksogen, baik GA₃ maupun IAA, mampu meningkatkan produksi dan kadar andrografolid (GUDHATE *et al.*, 2009) serta kadar tanin pada tanaman jati belanda (SYAHID *et al.*, 2010). Pemberian hormon baik secara eksogen maupun endogen memberikan dampak yang sama terhadap tanaman (YAMADA, 1993). Hal tersebut mengindikasikan bahwa hormon yang dihasilkan oleh sel bakteri endofit mempunyai dampak yang sama terhadap peningkatan kadar dan bahan aktif yang dihasilkan tanaman dengan pemberian hormon eksogen. Secara umum, kelima bakteri endofit berpotensi dalam memacu pertumbuhan tanaman serta produksi dan kadar andrografolid. Namun, apabila dilihat dari peningkatan kadar dan produksi andrografolid yang berada di posisi tiga teratas, yaitu 20BB, 20BD, dan 20CD yang dapat direkomendasikan untuk diuji lebih lanjut.

KESIMPULAN

Bakteri endofit memberikan pengaruh positif dalam meningkatkan pertumbuhan, produksi herba segar dan kering tanaman, serta produksi andrografolid pada tanaman sambiloto dibandingkan kontrol. Peningkatan tertinggi terlihat pada tinggi tanaman dan jumlah cabang primer masing-masing 24,7% (20CD) dan 42,2% (20BB). Produksi herba kering meningkat berkisar 25-82,81%, sejalan dengan meningkatnya serapan hara N (64,7-158,8%), P (50-100%), dan K (65-155%). Isolat 20CD, 20BB, dan 20BD memberikan peningkatan produksi herba kering dan andrografolid terbaik masing-masing berturut-turut 82,81 dan 142,11%, 88,75 dan 131,58%, dan 65,63 dan 131,58%. Implikasi dari hasil penelitian ini bahwa bakteri endofit berpotensi untuk dikembangkan pada budidaya tanaman sambiloto.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian yang telah mendanai penelitian ini melalui program KKP3T TA 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- AKOWUAH, G.A., I. ZHARI, I. NORHAYATI, and A. MARIAM. 2006. HPLC and HPTLC densitometric determination of andrographolides and antioxidant potential of *Andrographis paniculata*. *J. Food Compos. Anal.* 19: 118-126.
- ANURADHA, V.E., C.A. JALEEL, M.A. SALEM, M. GOMATHINAYAGAM, and R. PANNEERSELVAM. 2010. Plant growth regulators induced changes in antioxidant potential and andrographolide content in *Andrographis paniculata* Wall.ex Nees. *Pest. Biochem. and Physi.* 98: 312-316.
- ARPANA, J. and D.J. BAGYARAJ. 2007. Respon of kalmegh to arbuscular mychorrhizal fungus and a plant growth promoting rhizomicroorganism at two levels of phosphorus fertilizer. *Am.-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci.* 2(1): 33-38.
- ARUNACHALAM, C. and P. GAYATHRI. 2010. Studies on bioprospecting of endophytic bacteria from the medicinal plant of *Andrographis paniculata* for their antimicrobial activity and antibiotic susceptibility pattern. *Inter. J. Curr. Pharm. Res.* 2(4): 63-68.
- BAO, Z., S. GUAN, C. CHENG, S. WU, S.H. WONG, D.M. KEMENY, B. LEUNG, and W.S.F WONG. 2009. A novel anti inflammatory role for andrographolide in asthma via inhibition of the nuclear factor-kb pathway. *Am. J. of Respi. and Critic. Care Med.* 179: 657-665.
- BOIERO, L., D. PERRIG, O. MASCIARELLI, C. PENNA, F. CASSÁN, and V. LUNA. 2007. Phytohormone production by three strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 74:874-880.
- CALABRESE, C., S.H. BERMAN, J.G. BABISH, X. MA, L. SHINTO, M. DORR, K. WELLS, C.A. WENNER, and L.J. STANDISH. 2000. A phase I trial of andrographolide in HIV positive patients and normal volunteers. *Phytother. Res.* 14: 333-338.
- CHAO, W.W. and B.F. LIN. 2010. Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian). *Chinese Medicine.* 5:1-15.
- CHEN, L., H. JIN, L. DING, H. ZHANG, X. WANG, Z. WANG, J. LI, C. QU, Y. WANG, and H. ZHANG. 2007. On-line coupling of dynamic microwave-assisted extraction with high-performance liquid chromatography for determination of andrographolide and dehydroandrographolide in *Andrographis paniculata* Nees. *J. Chromatogr.* 1140: 71-77.
- CROTEAU, R.T.M., N.G. KUTCHAN, and N.G. LEWIS. 2000. Natural products (secondary metabolites). *Dalam: Buchanan B., W. Gruissem, and R. Jones (eds.). Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists. p. 1250-1318.
- DOMPEIPEN, E.J., Y. SRIKANDACE, W.P.P. SUHARSO, H. CAHYANA, and P. SIMANJUNTAK. 2011. Potensial endophytic microbes selection for antidiabetic bioactive compounds production. *Asian J. of Biochem.* 6(6): 465-471.
- DONG, Z., M. HEYDRICH, K. BERNARD, and M.E. McCULLY. 1995. Further evidence that the N₂-fixing endophytic bacterium from the intercellular spaces of sugarcane stems is *Acetobacter diazotrophicus*. *Appl. and Env. Microbiol.* 61(5): 1843-1846.
- DUBAY, V.S., R. BHALLA, and R. LUTHRA. 2003. Review: An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plant. *J. Biosci.* 28(5): 637-646.
- EBRAHIMI, A., S. ASGHARIAN, and S. HABIBIAN. 2010. Antimicrobial activities of isolated endophytes from some Iranian native medicinal plants. *Iranian J. Pharm. Sci.* 6(3): 217-222.
- EID, R.A. and B.H.A. LAILA. 2006. Response of croton plants to gibberellic acid, benzyl adenine and ascorbic acid application. *World J. Agr.Sci.* 2(2): 174-179.
- ERGUN, N., S.F. TOPCUOGLU, and A. YILDIZ. 2002. Auxin (indole-3-acetic acid), gibberellic acid (GA₃), abscisic acid (ABA), and cytokinin production by some species of Mosses and Lichens. *Turk. J. Bot.* 26: 13-18.
- FIRAKOVA, S., M. STURDIKOVA, and M. MUCKOVA M. 2007. Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. *Biologia.* 62(3): 251-257.
- FITRI, S.N.A. and N. GOFAR. 2009. Increasing of rice yield by using growth promoting endophytic bacteria from swamp land. *J. Trop. Soil.* 15(3): 271-276.
- GOVINDARAJAN, M., J. BALANDREAU, S.W. KWON, H.Y. WEON, and C. LAKSHMINARASIMHAN. 2008. Effect of the inoculation of *Burkholderia vietnamensis* and related endophytic diazotrophic bacteria on grain yield of rice. *Microb. Ecol.* 55(1): 21-27.
- GUDHATE, P.P., D.P. LOKHANDE, and K.N. DHUMA. 2009. Role of plant growth regulators for improving andrographolide in *Andrographis paniculata*. *Res. Article.* 5(19): 249-253.
- GUO, B., Y. WANG, X. SUN, and K. TANG. 2008. Bioactive natural products from endophytes: A Review. *Appl. Biochem. and Microbiol.* 44(2): 136-142.
- HUNG, P.Q., S.M. KUMAR, V. GOVINDSAMY, and K. ANNAPURNA. 2007. Isolation and characterization of endophytic bacteria from wild and cultivated soybean varieties. *Biol. Fertil. Soils.* 44: 155-162.
- HUREK, B.R. and T. HUREK. 1998. Life in grasses: Diazotrophic endophytes. *Trends in Microbiol.* 4: 139-144.
- KANNAN, V.R., C.S. SUMATHI, V. BALASUBRAMANIAN, N. RAMESH, and P. RAJESH. 2012. Exploration of defense mechanisms on endophytic microbial isolates from selected traditional medicinal plants. *Int. J. Med. Res.* 1(6): 315-320.
- KHARWAR, R.N., V.C. VERMA, G. STROBEL, and D. EZRA. 2008. The endophytic fungal complex of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Current Sci.* 2: 228-233.

- LELLIOTT, R.A. and D.E. STEAD. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 216 pp.
- LEVITA, J., A. NAWAWI, A. MUTALIB, and S. IBRAHIM. 2010. Andrographolide: a review of its anti-inflammatory activity via inhibition of NF-kappaB activation from computational chemistry aspects. *Inter. J. Pharm.* 6(5): 569-576.
- MARIANI, S.M. and A. JUNAIDI. 2009. Pengaruh intensitas naungan dan kombinasi pemupukan N dan P terhadap pertumbuhan, produksi simplisia, serta kandungan andrographolida pada sambiloto (*Andrographis paniculata*). Makalah Seminar Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB. 5 hlm.
- MUNTHA, K.R., V.B.R. MOPURU, G. DUVVURU, M.M. MADUGULA, C. CRISTELLE, and B. BERNARD. 2003. A flavone and an unusual 23-carbon terpenoid from *Andrographis paniculata*. *Phytochemistry*. 62: 1271-1275.
- PAL, A. and A.K. PAUL. 2013. Bacterial endophytes of the medicinal herb *Hygrophila spinosata*. Anders and their antimicrobial activity. *British J. of Pharm. Res.* 3(4): 795-806.
- PARASHAR, R., A. UPADHYAY, J. SINGH, S.K. DIWEDI, and N.A. KHAN. 2011. Morpho-physiological evaluation of *Andrographis paniculata* at different growth stage. *World J. of Agri. Sci.* 7(2): 124-127.
- PEDRAZA, R.O., A.R. MATA, M.L. XIQUI, and B.E. BACA. 2004. Aromatic amino acid aminotransferase activity and indole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. *FEMS Microb. Letters*. 233: 15-21.
- PUENTE, M.E., C.Y. LI, and Y. BASHAN. 2009. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. *Environ. and Experimen. Bot.* 66: 402-408.
- PUJIYANTO, S. dan R.S. FERNIAH. 2010. Aktivitas inhibitor alpha-glukosidase bakteri endofit PR-3 yang diisolasi dari tanaman pare (*Momordica charantia*). *Bioma*. 12(1): 1-5.
- RADJI, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2: 113-126.
- RAHARDJO, D. dan SYARMALINA. 2006. Uji antimikroba metabolit sekunder bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman sambiloto [*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees] terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Candida albicans*. <http://perpusffup.univpancasila.ac.id/index.php?author=%22Rahardjo%2C+Dianawaty%22&search=Search>. [diunduh Tgl. 19 Juli 2013].
- RAJAN, A.S. and RADHAKRISHNA D. 2013. Effect of endophytic bacteria on the rooting and establishment of cutting of *Hibiscus rosasinensis*. *IOSR J. Agri. And Veter. Sci.* 3(2): 17-21.
- RAMESH, G., M.B. SHIVANNA, and A.S. RAM. 2011. Interactive influence of organic manures and inorganic fertilizers on growth and yield of kalmegh (*Andrographis paniculata* Nees.). *Inter. Res. J. Plant Sci.* 2(1): 16-21.
- RAO, Y.K., G. VIMALAMMA, C.V. RAO, and C.V.Y. TZENG. 2004. Flavonoids and andrographolides from *Andrographis paniculata*. *Phytochemistry*. 65: 2317-2321.
- REIS, M.V., F.L. OLIVER, and J. DOBEREINER. 1994. Improved methodology for isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and confirmation of its endophytic habitat. *World J. Microb. Biotech.* 10: 101-105.
- SANBERG, G., A. CROZIER, A. ERNSTSEN, and B. SUNDBERG. 1987. High performance liquid chromatography and the analysis of indole-3-acetic acid and some of its decarboxylated catabolites in scots pine (*Pinus sylvestris* L.). 73-89. *Dalam: Linskens HF, Jackson JF (eds.) High Performance Liquid Chromatography in Plant Sciences*. London: Springer-Verlag. 241 p.
- SESHADRI, S., R. MUTHUKUMARASAMY, LAKSHMINARASIMHAN, and S. IGNACIMUTHU. 2000. Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraeferans*. *Curr Sci.* 79: 565-567.
- SHARMA, M. and R.G. SHARMA. 2013. Identification, purification, and quantification of andrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Ness by HPTLC at different stages of life cycle of crop. *J. Curr. Chem. Pharm Sci.* 3(1): 23-32.
- SINGH, A.K., H.P. SINGH, A. SINGH, K. SINGH, and M.M. GUPTA. 2001. Domestication and evaluation of Kalmegh (*Andrographis paniculata*) populations. *J. Med. Arom. Plant Sci.* 23: 63-68.
- SOAD, M.M.I., LOBNA, S. TAHA, and M.M. FARAHAT. 2010. Vegetative growth and chemical constituents of croton plants as affected foliar application of benzyl adenine and gibberellic acid. *J. Am. Sci.* 6(7): 126-130.
- SRINIVASAN, K. and MATHIVANAN. 2011. Plant growth promoting microbial consortia mediated classical biocontrol of sunflower necrosis virus disease. *J. Biopest.* 4(1): 65-72.
- SRIVASTAVA, N. and A. AKHILA. 2010. Biosynthesis of andrographolide in *Andrographis paniculata*. *Phytochemistry*. 71: 1298-1304.
- STROBEL, G.A. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Review. Microb. and Infec.* 5: 535-544.
- STROBEL, G.A. and B. DAISY. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol. and Mol. Biol. Rev.* 67(4): 491-502.
- SU, Y.H., Y.B. LIU, and X.S. ZANG. 2011. Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development. *Mol. Plant.* 28: 1-10.
- SYAHID, S.F., N.V. KRISTINA, dan D. SESWITA. 2010. Pengaruh komposisi media terhadap pertumbuhan kalus dan kadar tannin dari daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) secara *in vitro*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 16 (1): 1-5.

- UTAMI, U. 2011. Isolation, identification, and antimicrobial activities selection of endophytic bacterial from mangrove plantation *Brugulera gymnorrhiza*. *Inter. J. of Acad. Res.* 3 (1): 187-194.
- VIJAKUMARI, B. 2003. Influence of foliar spray by GA₃ and IAA on the growth attributes of *Androraphis paniculata* L. *J. Phyt.Res. Phys. Soc.* 12: 161-163.
- WANG, G., Y. WANG, I.D. WILLIAMS, H.H. SUNG, X. ZHANG, D. ZHANG, R. JIANG, X. YAO, and W. YE. 2009. Andrographolactone a unique diterpene from *Andrographis paniculata*. *Tetrahedron Lett.* 50: 4824-4826.
- WINARNO, E.K. 2006. Produksi alkaloid oleh mikroba endofit yang diisolasi dari batang kina *Cinchona ledgeriana* Moens dan *Cinchona pubescens* Vahl. (*Rubiaceae*). *J. Kimia Indonesia.* 1(2): 59-66.
- XU, Y., R.L. MARSHALL, and T.K.S. MUKKUR. 2006. An investigation on the antimicrobial activity of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide in vitro. *Asian J. Plant Sci.* 5: 527-530.
- YAMADA, T. 1993. The role of auxin in plant - disease development. *Ann. Rev. Phytopathol.* 31: 253-257.
- YOGIARA, S., SOKA, S. MAGDALENA, and D. RACHELIA. 2012. The genetic diversity of endophytic and phyllosphere bacteria from several Indonesian herbal plants. *Makara J. Sci.* 16(1): 39-45.
- YUSRON, M., GUSMAINI, dan M. JANUWATI. 2007. Pengaruh pola tanam sambiloto - jagung serta dosis pupuk organik dan alam terhadap produksi dan mutu sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri.* 13(4): 147-154.