

Potensi *Bacillus* sp. dari Tanah Kebun Raya Liwa sebagai Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA)

Fadlina Athfin, Kusuma Handayani*, Wawan A. Setiawan, dan C. Nugroho Ekowati

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung

*corresponding author: kusumahandayani@yahoo.co.id

DOI : [10.20885/ijca.vol6.iss1.art2](https://doi.org/10.20885/ijca.vol6.iss1.art2)

ARTIKEL INFO

Diterima : 06 Oktober 2022

Direvisi : 20 Desember 2022

Diterbitkan : 25 Maret 2023

Kata kunci : *Bacillus* sp., Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA), Triptofan

ABSTRAK

Tanah Kebun Raya Liwa berpotensi memungkinkan adanya populasi mikroorganisme seperti kelompok *Bacillus* sp. *Bacillus* sp. asal tanah Kebun Raya Liwa telah diketahui menghasilkan fitohormon yang berpotensi untuk membantu pertumbuhan dan perkembangan tanaman, salah satunya adalah hormon *Indole Acetic Acid* (IAA). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi *Bacillus* sp. asal tanah Kebun Rawa Liwa dalam menghasilkan hormon IAA. Metode penelitian ini meliputi pengambilan sampel tanah, pembuatan medium *Nutrient Agar* (NA), pengukuran pH tanah sampel, isolasi bakteri tanah, pemurnian dan karakterisasi *Bacillus* sp., pembuatan kurva standar IAA, dan uji potensi *Bacillus* sp. penghasil IAA yang dilakukan dengan dua cara yaitu pengukuran kandungan IAA dengan penambahan triptofan dan tanpa penambahan triptofan. Pengukuran konsentrasi IAA dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 520 nm. Data yang didapatkan disajikan dalam bentuk tabel. Hasil isolasi diperoleh 10 isolat yang mampu menghasilkan hormon IAA dengan penambahan triptofan dan tanpa triptofan. Hasil produksi IAA tertinggi tanpa penambahan triptofan adalah isolat BP 5 dengan konsentrasi 1,18 ppm, dan isolat yang mampu menghasilkan IAA tertinggi dengan penambahan triptofan yaitu isolat BP 13 dengan konsentrasi 3,90 ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat *Bacillus* sp. asal rizosfer tanah Kebun Raya Liwa dapat menghasilkan hormon IAA.

ARTICLE INFO

Received : 06 October 2022

Revised : 20 Decemberr 2022

Published : 25 March 2023

Keywords : *Bacillus* sp., Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA), Triptofan

ABSTRACT

Kebun Raya Liwa's soil has the potential to allow for a population of microorganisms such as the Bacillus sp. Bacillus sp. Kebun Raya Liwa are known to produce phytohormones that have the potential to help plant growth and development, one of which is the hormone Indole Acetic Acid (IAA). This study aims to determine the potential of Bacillus sp. from the soil of Kebun Rawa Liwa in producing IAA hormones. The research method included taking soil samples, preparing Nutrient Agar (NA) medium, measuring soil pH samples, isolating soil bacteria, purifying and characterizing Bacillus sp., preparing IAA standard curves, and testing the potency of Bacillus sp. IAA production was carried out in two ways, namely measuring the content of IAA with the

*addition of tryptophan and without the addition of tryptophan. IAA concentration was measured using a spectrophotometer with a wavelength of 520 nm. The data obtained is presented in tabular form. The isolation results obtained 10 isolates that were able to produce IAA hormone with and without tryptophan. The highest IAA production without tryptophan was isolate BP 5 with a concentration of 1.18 ppm, and the isolate that was able to produce the highest IAA with tryptophan was isolate BP 13 with a concentration of 3.90 ppm. This indicates that the isolate *Bacillus* sp. from the soil rhizosphere Kebun Raya Liwa can produce IAA hormones.*

1. PENDAHULUAN

Kebun Raya Liwa merupakan sumber bagi kekayaan tumbuhan di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan. Tema tumbuhan hias yang diusung Kebun Raya Liwa diharapkan mampu mendorong perekonomian masyarakat di sekitarnya melalui kegiatan pemberdayaan masyarakat berbasis pendayagunaan jenis-jenis tumbuhan hias Indonesia. Pengembangan keanekaragaman tumbuhan di Kebun Raya Liwa memiliki hambatan mengenai kesuburan tanah, yang mana terdapat salah satu jenis tanah yaitu laterit, sehingga menghambat pertumbuhan tanaman. Kesuburan tanah merupakan faktor penting yang perlu diperhatikan karena berdampak pada tumbuhan tersebut. Untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman tersebut dibutuhkan hormon IAA. Puspita *et al.*, (2013) menyatakan bahwa kandungan IAA yang dihasilkan berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dengan merangsang pembelahan sel, pengatur pembesaran sel dan pemacu menyerap air dan nutrisi yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman [1].

Bakteri *Bacillus* sp. sebagai agen biokontrol pemacu pertumbuhan dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi dan menghasilkan fitohormon IAA yang dapat dikembangkan menjadi agen biologis yang nantinya dapat disintesis oleh bakteri tertentu sehingga meningkatkan pertumbuhan tanaman [2]. Tanah Kebun Raya Liwa yang bervariasi didukung oleh curah hujan tahunan yang cukup tinggi mampu menjaga kondisi tanahnya dengan cukup baik, sehingga area Kebun Raya Liwa berpotensi adanya populasi kelompok *Bacillus* sp. Keberadaan bakteri tanah seperti *Bacillus* sp. berperan dalam perbaikan pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) yang menghasilkan zat pemacu tumbuh, memfiksasi nitrogen, memobilisasi fosfat dan berperan dalam kesehatan tanaman. Marista *et al.*, (2013) menyatakan, sebagian besar bakteri yang ditemukan hasil isolasi dari area perakaran tanaman mampu mensintesis IAA, salah satunya *Bacillus* sp [3]. Berdasarkan uraian di atas dan mengingat potensi *Bacillus* sp. sebagai penghasil hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) yang berperan dalam pertumbuhan serta perkembangan tanaman, maka dilakukan penelitian tentang uji potensi *Bacillus* sp. dari tanah Kebun Raya Liwa sebagai penghasil hormon *Indole Acetic Acid* (IAA).

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu cawan Petridish Pyrex, Erlenmeyer, tabung reaksi Pyrex, tabung reaksi tutup ulir Hach, jarum ose, bunsen, volumetri, mikropipet, mikrotip, oven Heraeus, mikroskop, *shaker incubator* Seiwa Rico Co. LTD EFM-60, autoklaf ALP KT-30LDP, *colony counter*, *hot plate-magnetic stirrer Gr Herb 791*, *laminar air flow ESCO Airstream BSC*, rak tabung, kulkas, gelas ukur, pH meter, vortex mixer Maxi mix II, botol semprot, *sentrifuge Fischer Scientific*, neraca digital US Solid, *beaker glass*, UV-Visible spektrofotometer *Cary 100 Conc*, plastik wrap, *aluminium foil*, korek api, dan label.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu sampel tanah tegakan Kebun Raya Liwa, aquades, alkohol, *Natrium Agar* Merck, *Natrium Borth* Merck, *L-tryptophan* Soho Nootropics, IAA sintesis, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, metanol, H_2SO_4 , cat Gram, cat spora, dan spiritus.

2.2 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang masing-masing variabelnya dengan penambahan triptofan dan tanpa penambahan triptofan pada media NB. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

2.2.1 Pengambilan Sampel Tanah

Menentukan tanah yang dijadikan tempat pengambilan sampel secara purposive sampling. Sampel tanah diambil dengan cara digali pada bagian perakaran sedalam 0-25 cm. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam plastik dan diberi label sesuai dengan lokasi pengambilan, tanggal pengambilan, kode sampel dan nama pengambil sampel.

2.2.2 Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)

Proses pembuatan medium *Nutrient Agar* (NA) dapat dilakukan dengan cara media ditimbang sebanyak 1,4 gram, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambah aquadest 500 ml. Erlenmeyer ditutup menggunakan plastik wrap dan aluminium foil, lalu dihomogenkan menggunakan hotplate stirer. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf selama \pm 30 menit, lalu larutan dituang ke dalam Petridish.

2.2.3 Pengukuran pH Tanah Sampel

Tanah sampel diukur pHnya dengan cara 1 gram sampel disuspensikan dengan akuades netral 9 mL. Suspensi tanah yang sudah dibuat kemudian diukur pHnya menggunakan kertas pH Universal.

2.2.4 Isolasi Bakteri Tanah

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran menurut Fianiray, (2018) [4]. Disiapkan tabung masing-masing berisi 9 ml aquades steril. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke tabung berisi aquades yang telah disterilkan kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah sampel menjadi encer, diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikro pipet lalu dimasukkan tabung satu untuk pengenceran 10^{-1} , kemudian diambil 1 mL dimasukkan tabung yang kedua dan dihomogenkan kembali, sehingga menjadi pengenceran 10^{-2} . Perlakuan ini dilakukan hingga tabung kelima untuk pengenceran 10^{-5} . Semua suspensi dengan pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} diambil masing-masing 1 mL dan diinokulasikan ke dalam cawan Petri yang berbeda, lalu ditambahkan media NA yang masih mencair sebanyak 15 sampai 20 mL. Setiap cawan dihomogenkan dengan menggoyangkan cawan membentuk angka delapan. Setelah itu cawan dibungkus menggunakan kertas kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator. Setelah 24 jam sampel diamati dan dihitung jumlah koloninya.

2.2.5 Pemurnian dan Karakterisasi Bakteri

Bakteri yang tumbuh pada metode pengenceran selanjutnya dimurnikan pada media NA di dalam *laminar air flow*, kemudian disimpan dalam ruangan inkubator. Identifikasi jenis bakteri dilakukan secara deskriptif dengan melihat ciri makroskopis meliputi karakteristik morfologi yang berbeda antar bakteri lainnya seperti bentuk koloni, warna koloni, tepian koloni, dan elevasi koloni [5]. Pemurnian biakan *Bacillus* sp. dilakukan dengan cara masing-masing kultur *Bacillus* sp. dalam media NA diambil 1 ose kemudian diinokulasikan ke dalam media NA pada cawan Petri yang telah padat menggunakan metode *streak plate*. Isolat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C , dilakukan pengamatan morfologi koloni secara makroskopis (visual) dan mikroskopis dengan pengecatan Gram dan spora.

2.2.6 Pembuatan Kurva Standar IAA

Pembuatan kurva standar IAA berdasarkan metode Pattern dan Glick *et al.*, (2002) [6] yaitu disiapkan 50 mL metanol yang telah dilarutkan 2,5 mg IAA (konsentrasi 50 ppm), kemudian larutan standar IAA dimasukkan ke dalam tabung reaksi menggunakan mikropipet masing-masing 20 μl (1 ppm), 100 μl (5 ppm), 200 μl (10 ppm), 300 μl (15 ppm), 400 μl (20 ppm) hingga 900 μl (45 ppm). Ditambahkan metanol sehingga volume masing-masing tabung reaksi menjadi 1000 μl . Reagen Salkowski ditambahkan sebanyak 4 ml pada masing-masing tabung reaksi, dihomogenkan dan diinkubasi selama 60 menit di suhu ruang (28°C - 30°C) pada kondisi gelap. Diamati jika terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda hingga kemerahan. Larutan standar IAA diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 520 nm. Kurva larutan standar IAA dibuat menggunakan hasil spektrofotometri yang menunjukkan hubungan antara larutan standar IAA (x) dan absorbansinya (y).

2.2.7 Uji Potensi *Bacillus* sp. Penghasil IAA

Uji kualitatif IAA dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri yang didapatkan dalam menghasilkan IAA dilakukan dengan metode Pattern dan Glick (2002) [6] dan Fatma *et al.*, (2014) [7] yang telah dimodifikasi. Isolat diinokulasi ke dalam media NB steril sebanyak 10 mL tanpa penambahan triptofan, kemudian diuji dengan penambahan triptofan sebanyak 0,01 gram/100 mL media NB, lalu dimasukkan ke 10 Erlenmeyer masing-masing sebanyak 10 mL. Isolat dishaker dengan kecepatan 100 rpm selama 6 hari dengan suhu ruang hingga isolat bakteri tumbuh pada media. Diambil masing-masing 5 mL media NB yang telah ditumbuhi isolat bakteri menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung. Isolat disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 7000 rpm, kemudian diambil 1 mL supernatan yang diperoleh dan ditambahkan dengan 4 mL reagen Salkowski (150 ml H₂SO₄, 250 mL aquades steril dan 7,5 mL FeCl₃.6H₂O 0,5 M) dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Supernatan diinkubasi pada ruangan gelap selama 1 jam kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Perubahan warna sampel menjadi merah muda setelah diinkubasi mengindikasikan bahwa isolat mampu menghasilkan IAA. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 520 nm. Selanjutnya konsentrasi IAA dihitung setelah dibandingkan dengan kurva larutan standar IAA.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 pH Tanah dan Kemampuan Bakteri dalam Menghasilkan IAA

Semua sampel tanah memiliki pH yang berkisar antara 6-7. Hasil analisis sampel tanah tersebut diperoleh 10 isolat yang mampu menghasilkan IAA tanpa penambahan prekursor triptofan, yang kemudian diuji dengan penambahan triptofan (Tabel 1).

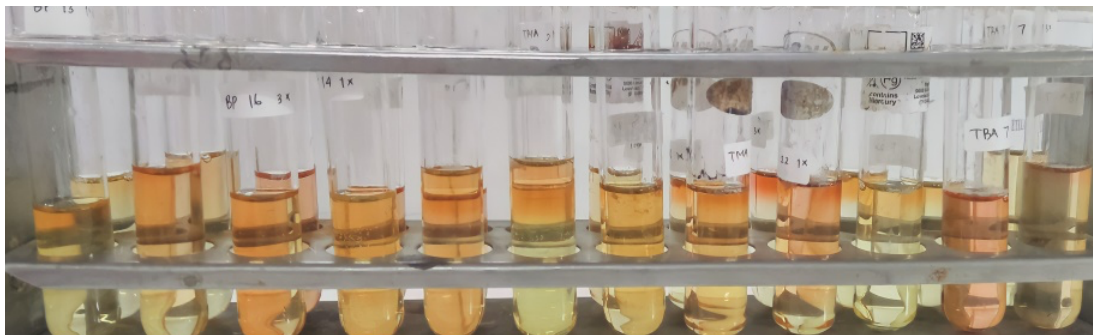
TABEL I. pH Sampel Tanah dan Isolat dari Kebun Raya Liwa yang Mampu Menghasilkan Hormon IAA

Lokasi Pengambilan Sampel	pH Sampel	Isolat bakteri	Uji Produksi IAA	
			Tanpa triptofan	Dengan triptofan
Tanah Biasa Araceae	6-7	TBA 7	+++	+++
Tanah Seresah	6-7	TSR 10	+	+++
Tanah Biopori	6-7	BP 5	+++	+++
		BP 13	+	+++
		BP 14	+++	++
		BP 16	++	++
Tanah Miring Araceae	6-7	TMA 1	+	+
		TMA 8	++	+++
		TMA 22	+++	++
		TMA 28	++	++

Keterangan: (+) IAA sedikit; (++) IAA sedang; (+++) IAA banyak

Kemampuan dari setiap isolat dalam menghasilkan IAA berbeda-beda, diketahui produksi IAA tertinggi tanpa penambahan triptofan dihasilkan dari isolat dengan kode BP 5, dan produksi IAA tertinggi dengan penambahan triptofan dihasilkan dari isolat dengan kode BP 13. Hasil supernatan isolat yang mampu menghasilkan IAA tanpa penambahan triptofan disajikan pada Gambar 1. Supernatan yang berwarna merah muda mengindikasikan adanya kandungan IAA yang terbentuk, sedangkan yang tidak mengalami perubahan warna tidak mengandung IAA atau hanya mengandung sedikit IAA [8]. Perubahan warna menjadi kemerahan pada supernatan terjadi karena adanya reaksi FeCl₃ dan HClO₄ dari reagen Salkowski dengan IAA yang membentuk senyawa kompleks *tris-(indole-3-aceto)-iron* (III) yang akan membentuk warna merah muda [9]. Mawarti *et al.*, (2017) [8] menambahkan bahwa kombinasi Fe dan H₂SO₄ dalam pereaksi Salkowski merupakan pereaksi tunggal yang mampu meningkatkan kepekaan dalam mendeteksi terbentuknya

IAA. Warna yang dihasilkan isolat bakteri *Bacillus* sp. setelah penambahan pereaksi Salkowski tidak stabil, warna akan cepat terbentuk dan kemudian memudar.



Gambar 1. Supernatan kultur *Bacillus* sp. yang mampu menghasilkan IAA tanpa penambahan triptofan.

3.2 Karakteristik Makroskopik dan Mikroskopik

Pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik meliputi karakter koloni dan karakter sel bakteri dari setiap isolat yang didapatkan.

3.2.1 Karakteristik Makroskopis

Karakteristik makroskopis meliputi koloni bakteri yang terbentuk dalam media. Morfologi koloni yang diamati yaitu bentuk, warna, tepi dan elevasi koloni. Hasil pengamatan isolat secara makroskopik disajikan dalam Tabel 2.

TABEL II. Morfologi Koloni Bakteri

Kode Isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi
TBA 7	<i>Curled</i>	Putih Bening	<i>Undulate</i>	<i>Raised</i>
TSR 10	<i>Curled</i>	Putih	<i>Serrate</i>	<i>Flat</i>
BP 5	<i>Curled</i>	Putih	<i>Serrate</i>	<i>Flat</i>
BP 13	<i>Irregular</i>	Putih Kekuningan	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>
BP 14	<i>Myceloid</i>	Putih Tulang	<i>Filamentous</i>	<i>Flat</i>
BP 16	<i>Circular</i>	Putih Kekuningan	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>
TMA 1	<i>Circular</i>	Putih	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>
TMA 8	<i>Circular</i>	Putih Tulang	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>
TMA 22	<i>Irregular</i>	Putih Kekuningan	<i>Lobate</i>	<i>Flat</i>
TMA 28	<i>Circular</i>	Putih Tulang	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>

Perbedaan karakteristik setiap isolat yang ditemukan pada setiap sampel karena adanya perbedaan lingkungan tanah, baik itu pada kelembapan tanah ataupun jenis tanah yang berada disekitaran perakaran, serta proses pengisolasian. Hasil tersebut seperti yang dikemukakan oleh Doi *et al.*, (2011) [10], yaitu faktor-faktor yang mempengaruhi komposisi komunitas mikroba tanah antara lain jenis tanah, tahap pertumbuhan, praktek pertanian, dan faktor lingkungan lainnya. Keberagaman jumlah bakteri dari setiap pohon dalam suatu tegakan tentunya dipengaruhi oleh eksudat akar dari suatu tanaman. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Patil *et al.*, (2011) [11] bahwa eksudat akar merupakan penentu keragaman dan jumlah populasi mikroorganisme yang berada pada perakaran.

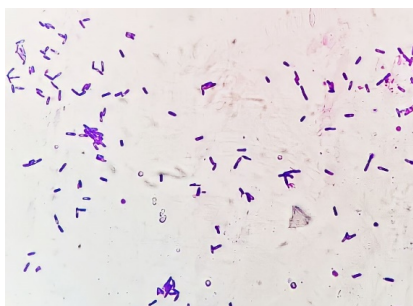
3.2.2 Karakteristik Mikroskopis

Karakteristik mikroskopis *Bacillus* sp. setelah dilakukan pengecatan Gram dan pengecatan spora semua isolat diketahui berbentuk *bacilli*, sifat Gram positif, dan memiliki spora. Hasil pengecatan spora dan pengecatan Gram yang diperoleh disajikan dalam Tabel 3.

TABEL III. Hasil Pengecatan Gram dan Pengecatan Spora

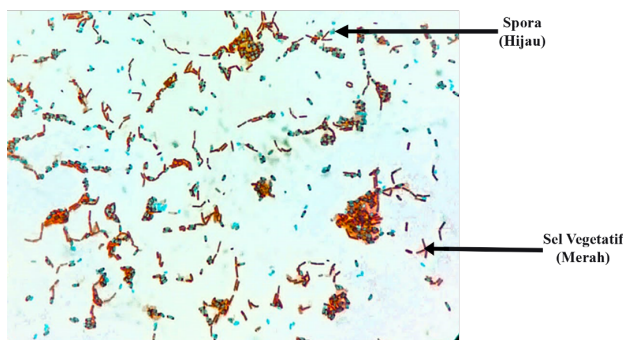
Kode Isolat	Bentuk Sel	Sifat Gram	Pengecatan Spora
TBA 7	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
TSR 10	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
BP 5	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
BP 13	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
BP 14	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
BP 16	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
TMA 1	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
TMA 8	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
TMA 22	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora
TMA 28	<i>Bacilli</i>	Positif	Berspora

Hasil penelitian diketahui bahwa bakteri *Bacillus* sp. penghasil IAA dari Kebun Raya Liwa mempunyai spora dan bersifat Gram positif karena sel berwarna ungu setelah dilakukan pewarnaan. Hal ini sesuai dengan penelitian Aini *et al.*, (2013), sel diketahui berbentuk batang dengan berkoloni seperti rantai, karakter tersebut sesuai dengan karakter *Bacillus* sp [12]. Hasil pewarnaan Gram *Bacillus* sp. ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram *Bacillus* sp. TBA 7 perbesaran 1000x.

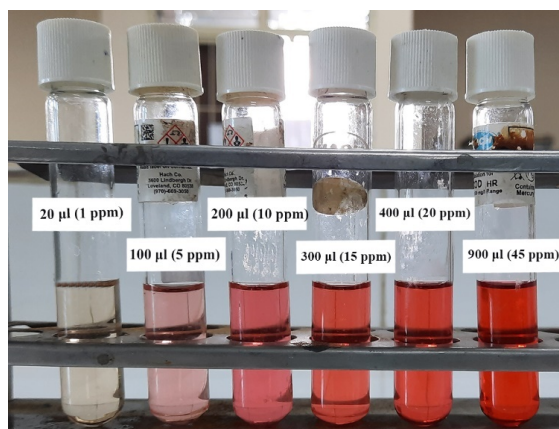
Hasil identifikasi pewarnaan spora menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. mampu menghasilkan endospora dengan bentuk endospora oval yang memiliki letak terminal dan central dari sel vegetatif bakteri, hal ini ditunjukkan dengan warna hijau pada endospora dan warna merah pada sel vegetatif bakteri (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil pewarnaan spora *Bacillus* sp. TBA 7 perbesaran 1000x

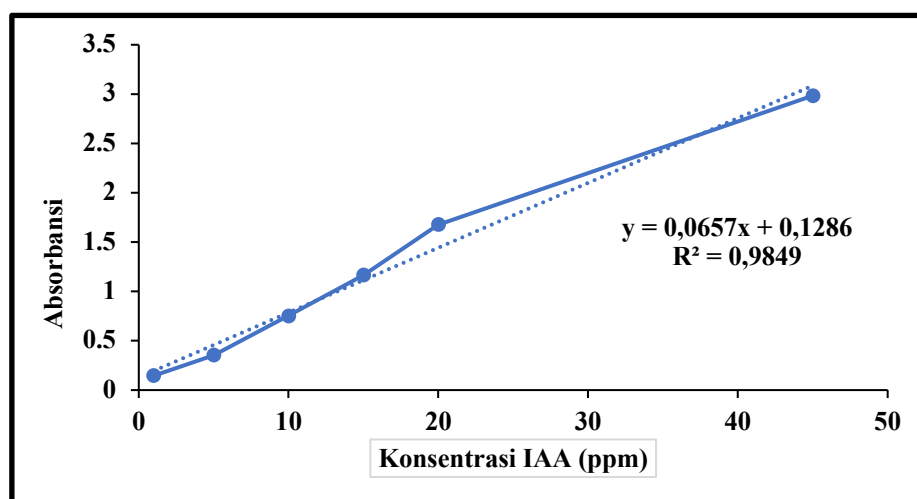
3.3 Kurva Standar Indole Acetic Acid (IAA)

IAA standar dibuat dengan konsentrasi 1, 5, 10, 15, 20, 45 ppm dan direaksikan dengan reagen Salkowski. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin pekat warna merah muda yang dihasilkan. Warna yang dihasilkan konsentrasi 1 ppm adalah berwarna kuning, 5 ppm berwarna merah muda semu, 10 ppm berwarna merah muda, 15-20 ppm berwarna kemerahan dan 45 ppm merah pekat (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil reaksi IAA sintetik dengan reagen Salkowski berdasarkan konsentrasi 20 µl (1 ppm), 100 µl (5 ppm), 200 µl (10 ppm), 300 µl (15 ppm), 400 µl (20 ppm) dan 900 µl (45 ppm)

Pembuatan kurva standar IAA dengan konsentrasi 1, 5, 10, 15, 20, 45 ppm, semakin tinggi konsentrasi IAA yang dibuat, maka hasil pengukuran absorbansi semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa IAA yang terkandung semakin banyak seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Hasil dari pengukuran spektrofotometer kurva standar IAA sintetik disajikan pada Gambar 5.



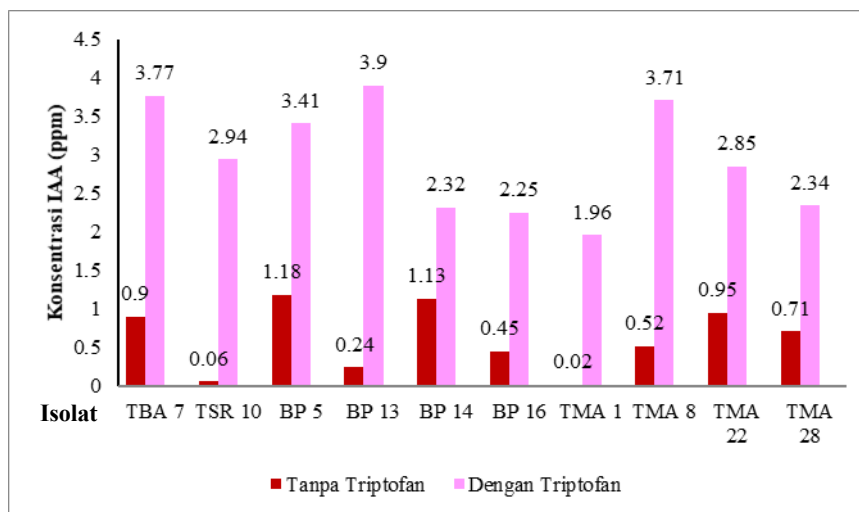
Gambar 5. Kurva Standar IAA Sintetik

Perhitungan konsentrasi IAA yang berasal dari supernatan bakteri terlebih dahulu dilakukan dengan menentukan kurva standar IAA. Pembuatan kurva standar IAA sintetik bertujuan untuk mendapatkan persamaan regresi yang digunakan untuk menghitung konsentrasi IAA yang

dihasilkan *Bacillus* sp. Hasil spektrofotometer kurva larutan standar IAA yang menunjukkan hubungan antara larutan standar IAA (x) dan absorbansinya (y) diperoleh persamaan regresi $y = 0,0657x + 0,1286$ yang dapat digunakan untuk memperoleh konsentrasi IAA isolat bakteri. Hasil kurva standar IAA akan diperoleh nilai x yang merupakan konsentrasi IAA supernatan isolat bakteri. Nilai konsentrasi IAA yang diperoleh dinyatakan dalam satuan ppm. Diketahui koefisien korelasi (r) sebesar 0,9849 yang berarti korelasi positif sangat kuat, dikarenakan kenaikan nilai x diikuti dengan kenaikan nilai y.

3.4 Penentuan Konsentrasi *Indole-3-Acetic Acid*

Berdasarkan hasil penelitian semua isolat dapat menghasilkan IAA, baik tanpa triptofan maupun dengan penambahan triptofan meskipun produksi IAA yang dihasilkan masih sangat rendah. Secara umum hasil konsentrasi hormon IAA dengan penambahan triptofan lebih tinggi daripada tanpa triptofan. Konsentrasi hormon IAA tanpa triptofan tertinggi diperoleh dari isolat *Bacillus* sp. asal tanah biopori Kebun Raya Liwa dengan kode sampel BP 5 yang memiliki konsentrasi produksi IAA sebesar 1,18 ppm. Konsentrasi hormon IAA dengan penambahan triptofan tertinggi diperoleh isolat *Bacillus* sp. asal tanah biopori Kebun Raya Liwa dengan kode sampel BP 13 yang memiliki konsentrasi produksi IAA sebesar 3,90 ppm. Hal ini diduga karena isolat yang berasal dari tanah biopori menghasilkan pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. lebih cepat sehingga mampu menghasilkan hormon IAA yang lebih banyak tersedia. Data hasil produksi IAA disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram hasil produksi IAA

Dapat dijelaskan pada Gambar 6 bahwa semua isolat *Bacillus* sp. mampu menghasilkan hormon IAA, namun konsentrasi untuk setiap isolat berbeda. Kondisi ini mungkin terjadi karena adanya perbedaan kemampuan bakteri dalam menggunakan triptofan, perbedaan mekanisme dalam mensintesis IAA, dan IAA yang dihasilkan pada fase-fase stasioner. Silitonga *et al.*, (2013) [13] menyatakan bahwa IAA disintesis sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam kondisi pertumbuhan bakteri suboptimal atau saat tersedia prekursor asam amino triptofan. Menurut Sukmadewi *et al.*, (2015) [14] IAA yang dihasilkan oleh bakteri melimpah pada fase stasioner, ketersediaan karbon yang terbatas, dan dalam kondisi lingkungan pH asam.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Chaiharn dan Lumyong *et al.*, (2011) [15], sebagian besar dari isolat bakteri akan memproduksi IAA lebih tinggi ketika ada penambahan prekursor triptofan dan sintesis IAA akan melalui jalur *Trp-pathways*. Pada kondisi alami, akar tanaman mensekresikan bahan organik termasuk triptofan yang dapat dimanfaatkan bakteri untuk biosintesis IAA [16]. Hormon IAA disintesis sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam kondisi pertumbuhan bakteri suboptimal atau saat tersedia prekursor asam amino triptofan. Biosintesis IAA oleh bakteri, dapat ditingkatkan dengan penambahan triptofan sebagai prekursor ke dalam media

tumbuh bakteri. Triptofan telah dibuktikan merupakan prekursor fisiologis dalam biosintesis auksin baik pada tanaman maupun mikroorganisme. Jalur biosintesis IAA pada bakteri dapat melalui beberapa jalur, salah satunya dapat melalui jalur *Indole-3-pyruvate*. Pada jalur ini terjadi perubahan triptofan menjadi IpyA oleh aminotransferase. Kemudian IpyA mengalami dekarboksilasi menjadi *indole-3-acetaldehyde* (IAAId) oleh enzim *indole-3-pyruvat decarboxyase* (IPDC). Fase terakhir pada jalur biosintesis ini adalah oksidasi IAAId menjadi IAA [17].

Hasil dari 10 isolat yang diuji, 2 isolat diantaranya dapat menghasilkan IAA terbaik tanpa penambahan triptofan, yaitu BP 5 dengan konsentrasi 1,18 ppm, dan BP 14 dengan konsentrasi 1,13 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. mampu menghasilkan IAA tanpa penambahan triptofan meskipun dalam jumlah yang sedikit. Isolat yang mampu menghasilkan IAA tanpa penambahan triptofan memiliki kemampuan dalam menghasilkan triptofan sendiri. Sel bakteri ini mampu meregulasi ekspresi gen untuk menghasilkan triptofan. Dalam kondisi lingkungan yang kurang triptofan, sel akan menanggapi dengan mengaktifkan jalur regulasi gen untuk menghasilkan triptofan. Namun jika kondisi lingkungan yang kaya dengan triptofan regulasi gen ini akan dinonaktifkan. Selain dari jalur triptofan operon, sel bakteri juga mampu menghasilkan triptofan dari asam amino pepton, karena pepton merupakan sumber dari karbon, nitrogen serta asam amino lain seperti tirosin dan triptofan. Kadar nitrogen organik juga dapat menjadi unsur dalam meningkatkan laju biosintesis IAA jauh lebih baik dari pada nitrogen anorganik [18].

Penambahan prekursor pada media pertumbuhan berupa triptofan mempengaruhi konsentrasi IAA yang diperoleh. Terdapat 4 isolat yang menghasilkan konsentrasi IAA tertinggi yang disintesis oleh *Bacillus* sp. setelah diuji secara kuantitatif dengan penambahan triptofan pada media pertumbuhan yaitu isolat BP 5 dengan konsentrasi 3,41 ppm, TMA 8 dengan konsentrasi 3,71 ppm, TBA 7 dengan konsentrasi 3,77 ppm, dan BP 13 dengan konsentrasi 3,90 ppm. Hal ini sesuai dengan penelitian Setiawan dan Wahyudi (2014) [19] yang mendapatkan hasil bahwa dengan adanya penambahan asam amino triptofan yang merupakan prekursor auksin, mempengaruhi peningkatan kadar auksin. Pada produksi IAA dengan penambahan triptofan isolat BP 13 lebih unggul dibandingkan dengan isolat lainnya, hal ini kemungkinan karena jumlah sel yang terdapat pada isolat BP 13 lebih banyak dibandingkan isolat lainnya. Selain itu, dapat dikarenakan adanya perbedaan spesies, faktor yang mempengaruhi kerja enzimatis, dan proses metabolisme pada bakteri. Menurut Silitonga *et al.*, (2013) [13] perbedaan produksi IAA tersebut terjadi dikarenakan bakteri masih mampu membelah diri dan secara simultan bakteri dapat mengkonsumsi IAA yang dihasilkannya sebab media pertumbuhannya miskin nutrisi. Berkurangnya nutrisi pada media pertumbuhan mempengaruhi jumlah pertumbuhan koloni *Bacillus*. Penurunan jumlah koloni bakteri disebabkan oleh berkurangnya nutrisi yang terkandung dalam media [20].

Isolat yang mampu menghasilkan IAA paling tinggi dalam uji produksi IAA tanpa triptofan, berbeda dengan uji produksi IAA dengan penambahan triptofan. Hal ini dikarenakan hasil IAA yang didapatkan dimanfaatkan kembali oleh sel bakteri untuk pertumbuhannya. Kemampuan mikroba dalam menghasilkan IAA dipengaruhi oleh spesies, tidak semua mikroba dari jenis yang sama mampu menghasilkan IAA [21]. Menurut Sukarti *et al.*, (2013) [22], perbedaan sumber isolat, kondisi kultur, tahap pertumbuhan dan ketersediaan substrat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Agustian *et al.*, (2010) [23] menyatakan bahwa produksi IAA sangat dipengaruhi oleh tingkat pertumbuhan dan ketersediaan substrat triptofan dalam media. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan triptofan pada media pertumbuhan merupakan faktor penting isolat bakteri untuk biosintesis IAA.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa diperoleh 10 isolat yang mampu menghasilkan hormon *Indole Acetic Acid* baik tanpa penambahan maupun dengan penambahan triptofan. Hasil produksi IAA tertinggi tanpa penambahan triptofan adalah isolat BP 5 dengan konsentrasi 1,18 ppm, dan isolat yang mampu menghasilkan IAA tertinggi dengan penambahan triptofan yaitu dengan isolat BP 13 dengan konsentrasi 3,90 ppm.

Daftar Pustaka

- [1] F. Puspita, D. Zul, A. Khoiri, "Potensi *Bacillus* sp. asal rizosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu sebagai rhizobacteria pemacu pertumbuhan dan antifungsi pada pembibitan kelapa sawit", *J. Online Mahasiswa Faperta Univ. Riau*, pp. 1-2, 2013.
- [2] L. Herlina, K.K. Pukan, D. Mustikaningtyas, "Kajian bakteri endofit penghasil IAA (*Indole Acetic Acid*) untuk pertumbuhan tanaman", *J. Saintek*, vol. 14, pp. 5158, 2016.
- [3] E. Marista, S. Khotimah, S., dan R. Linda, "Bakteri Pelarut Fosfat Hasil Isolasi dari Tiga Jenis Tanah Rizosfer Tanaman Pisang Nipah (*Musa paradisiaca* var. Nipah) di Kota Singkawang", *Jurnal Protobiont*, vol. 2 (2), pp. 93-101, 2013.
- [4] A. R. Fianiray, "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Podsolik Merah Kuning", (*Skripsi*) Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim. Riau, 2018.
- [5] J. G. Cappucino dan N. Sherman, "*Microbiology: A Laboratory Manual Eight Edition*", Pearson Benjamin Cummings. New York, 2008.
- [6] C. L. Pattern dan B. R. Glick, "Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system", *Appl Environ Microbiol.* Vol. 68 (8), pp. 3795-3801, 2002.
- [7] Y. S. Fatma, "Kemampuan Bakteri Endofit *Micrococcus endophyticus* G053 dalam Memproduksi IAA-Like Compound dan Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman," *Skripsi*. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor, 2014.
- [8] I. Mawarti, B. L. Fibriarti, D. Zul, R. M. Roza, A. Martina dan T. M. Linda, "Seleksi Isolat *Aktinomisetes* Asal Tanah Gambut Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar dalam Menghasilkan Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*)", *Jurnal Riau Biologia*, vol. 2, pp. 47-54, 2017.
- [9] F. T. Kholida, dan E. Zulaika. "Potensi *Azotobacter* sebagai penghasil hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*)", *J. Sains Seni ITS*, vol. 4, pp. 2337-3520, 2015.
- [10] T. Doi, J. Abe, F. Shiotsu, dan S. Morita, "Study on Rhizosphere Bacterial Community in Lowland Rice Grown With Organic Fertilizers by Using PCR-denaturing Gradient Gel Electrophoresis", *Plant Root*, vol. 5, pp. 516, 2011.
- [11] N.B. Patil, M. Gajbhiye, S.S. Ahiwale, A.B. Gunjal, B.P. Kapadnis, "Optimization of *Indole 3-acetic acid* (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolatd from sugarcane", *Intl J Environment Sci.* 2(1): 307-314, 2011.
- [12] F. N. Aini, S. Sukamto, D. Wahyuni, R.G Suhesti, dan Q. Ayyunin, "Penghambatan pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*", *Jurnal Pelita Perkebunan*, vol. 29(1), pp. 44-52, 2013.
- [13] D. M. Silitonga, N. Priyani, dan I. Nurwahyuni, "Isolasi dan uji potensi isolat bakteri pelarut fosfat dan bakteri penghasil hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) terhadap pertumbuhan kedelai (*Glycine max* L.) pada tanah kuning", *J. Saintia Biol.*, vol. 1, pp. 35-41, 2013.
- [14] D. K. T.. Sukmadewi, S. Suharjo, S. Antonius, "Uji potensi bakteri penghasil hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari tanah rizosfer cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)", *J. Biotropika*, vol. 3, pp. 91-94, 2015.
- [15] M. Chaiham, dan S. Lumyong, "Screening and Optimization of Indole-3-Acetic Acid Production and Phosphate Solubilization from Rhizobacteria Aimed at Improving Plant Growth", *Curr Microbiol.*, vol. 62, pp. 173-181, 2011.
- [16] F. Ahmad, I. Ahmad, dan M. S. Khan, M.S, "Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of *Azotobacter* and Fluorescent *Pseudomonas* in the Presence and Absence of Tryptophan", *Turk J Biol*, pp. 29-34, 2005.
- [17] H. R. Lin, H. Y. Shu dan G.H. Lin, "Biological Roles of Indole-3-Acetic Acid in *Acinetobacter baumannii*", *Microbiological Research*, vol. 216, pp. 30-39, 2018.
- [18] K. J. Narayana, P. Prabhakar, P. S. J. Krishna, Y. Venketeswarlu, dan M. Vijayalakshmi, "Indole -3-acetic acid by *Streptomyces albidoflavus*", *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, vol. 11, pp. 44-55, 2009.

- [19] Setiawan dan A. Wahyudi, “Pengaruh Giberelin Terhadap Pertumbuhan Beberapa Varietas Lada untuk Penyediaan Benih Secara Cepat”, *Bul. Littro*, 25(2): 111-118, 2014.
- [20] D. Putri, A. Munif, K. H. Mutaqin, “Lama penyimpanan, karakterisasi fisiologi dan viabilitas bakteri endofit *Bacillus* sp. dalam formula tepung”, *J. Fitopatologi Indonesia*, 12:19-26, 2016.
- [21] N. Wulandari, M. Irfan, dan R. Saragih, “Isolasi dan karakterisasi *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* dari rizosfer kebun karet rakyat”, *Jurnal Dinamika Pertanian Edisi Khusus*, 3(12): 57, 2019.
- [22] S. Sukarti, D. Zul, F. Puspita, “Uji potensi bakteri pelarut fosfat asal Bukit Batu Riau dalam menghasilkan hormon auksin sebagai pemacu pertumbuhan jagung (*Zea mays* L.)”, *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau Pekanbaru*, 2:1-8, 2013.
- [23] A. Agustian, N. Nuriyani, L. Maira dan O. Emalinda, “Rhizobakteria Penghasil Fitohormon IAA pada Rhizosfer Tumbuhan Semak Karamunting, *Titonia*, dan Tanaman Pangan”, *Jurnal Solum*, vol. 7 (1), pp. 49-60, 2010.