

# Potential *Bacillus* sp. in Producing *Indole Acetic Acid* (IAA) and Its Effect on Sprouts Root Length of Red Chili Seeds (*Capsicum annuum* L.)

## Potensi *Bacillus* sp. dalam Menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) serta Pengaruhnya terhadap Panjang Akar Kecambah Benih Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.)

Yulanda Saputri<sup>1\*</sup>, Linda Advinda<sup>2</sup>, Moralita Chatri<sup>3</sup>, Dezi Handayani<sup>4</sup>

<sup>1234</sup> Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

\*Correspondence author: [yulandasaputri15@gmail.com](mailto:yulandasaputri15@gmail.com)

**Abstract** *Indole Acetic Acid* (IAA) is a natural form of the auxin hormone found in plant roots and can stimulate plant growth. IAA functions to regulate physiological processes and stimulate plant growth such as cell lengthening and enlargement. *Bacillus* sp. including *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) whose role is to increase the germination rate of red chili seeds (*Capsicum annuum* L.). This study aims to determine the ability of *Bacillus* sp. against the length of the root sprouts of red chili seeds (*Capsicum annuum* L.). This research was conducted in August until November 2019 at the Plant Physiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Padang. The method used is descriptive and quantitative experiments. The results obtained showed that the isolate *Bacillus* sp. able to produce IAA and administration of isolates *Bacillus* sp. significant effect on root length of the red chili sprouts.

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

**Abstrak** *Indole Acetic Acid* (IAA) merupakan bentuk alami hormon auksin yang terdapat pada tanaman dan dapat memacu pertumbuhan tanaman. IAA berfungsi untuk meregulasi proses fisiologi dan menstimulasi pertumbuhan tanaman seperti pemanjangan dan pembesaran sel. *Bacillus* sp. termasuk *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang berperan meningkatkan laju perkecambahan benih cabai merah (*Capsicum annuum* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Bacillus* sp. terhadap panjang akar kecambah benih cabai merah (*Capsicum annuum* L.). Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus–November 2019 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang. Metode yang digunakan adalah penelitian deskriptif dan eksperimen kuantitatif. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. mampu menghasilkan IAA dan pemberian isolate *Bacillus* sp. berpengaruh nyata terhadap panjang akar kecambah cabai merah.

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



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and

reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2020 by author.

---

## Pendahuluan

*Indole Acetic Acid* (IAA) merupakan bentuk alami hormon auksin yang mempengaruhi banyak aspek dari pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Advinda, 2018). IAA banyak digunakan dalam bidang pertanian, hortikultura dan bioteknologi (Janani *et al.*, 2017). IAA berperan dalam menstimulasi pertumbuhan tanaman seperti pemanjangan sel, pembesaran sel, dan diferensiasi jaringan (Abd-Alla *et al.*, 2013). Hasil penelitian Wahidah dan Hasrul (2017) melaporkan hormon auksin pada konsentrasi 0,5 ppm dapat meningkatkan pembelahan sel sehingga berat massa sel semakin bertambah. Keberadaan IAA dengan konsentrasi 0,5 ppm dapat memacu pelonggaran dinding sel sehingga memudahkan air masuk ke dalam sel dan vakuola di dalam sel semakin melebar karena serapan air dari luar sehingga volume sel semakin bertambah.

Tidak hanya tanaman yang mampu menghasilkan IAA, namun beberapa jenis bakteri juga dapat menghasilkannya, seperti *Bacillus sp.* merupakan rizobakteri yang hidup dalam tanah di sekitar tanaman, dan berperan meningkatkan pertumbuhan tanaman (Puspita *et al.*, 2018). *Bacillus sp.* termasuk *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang mampu melarutkan fosfat, mensekresi siderofor, dan berperan sebagai agen hayati dengan cara menginduksi sistem kekebalan tanaman serta menghasilkan antibiotik (Compant *et al.*, 2005).

Perkecambahan biji dapat dipercepat dengan memberikan agen hayati seperti *Bacillus sp.* (Wahyuni *et al.*, 2016). Adanya tumbuh yang dihasilkan agen hayati dapat mempercepat permeabilitas masuknya air ke dalam sel, sehingga perkecambahan biji menjadi lebih cepat (Un *et al.*, 2018). Inokulasi benih gandum dan kacang ercis dengan *Bacillus sp.* isolat 31 mampu meningkatkan panjang akar tanaman dan perkecambahan benih (Egamberdieva, 2008).

## Bahan dan Metode

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah tabungreaksi, raktabungreaksi, spatula, batangpengaduk, gelasukur, *Beaker glass* (500 mL dan 200 mL), lampuspiritus, komporlistrik, sentrifus, timbangan digital, *Vortex*, *Erlenmeyer*, *Petridish*, oven, *shaker*, *Autoclave*, plastik  $\frac{1}{4}$  kg, kertas label, spidol, plastik wrap, aluminium foil, kamera digital. Untuk mengukur konsentrasi IAA digunakan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan adalah isolat *Bacillus sp.* LAHC<sub>1</sub> (B), LAHJ<sub>1</sub> (B), LAHLS (B), LAHT<sub>1</sub> (B) dan LAHCS<sub>2</sub> (B) (koleksi Advinda), NB, NA, *tryptophan* 200 µg/mL, reagen *Salkowsky*, tanah steril, *Pot tray*, akuades steril dan biji cabai merah Baja F1 Panah Merah

### Metode

#### Produksi IAA Isolat *Bacillus sp.*

Seleksi kemampuan *Bacillus sp.* menghasilkan hormon IAA dilakukan dengan cara diambil 1 mL suspensi (populasi  $3 \times 10^8$  sel/mL, skala 1 Mc.Farland's) diinokulasikan pada 4 mL medium NB yang telah ditambahkan *tryptophan*, dan diinkubasi diatas shaker kecepatan 150 rpm selama 3x24 jam. Selanjutnya kultur disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 30 menit, kemudian dipisahkan pelet dan supernatannya. 1 mL supernatan dimasukkan kedalam 2 mL reagen *Salkowsky*, dan diinkubasi selama 12 jam di ruang yang gelap. Jika terlihat warna yang dihasilkan adalah merah muda menunjukkan positif adanya IAA, sedangkan kuning menunjukkan negatif (Khan dan Doty, 2009). Adanya IAA secara kuantitatif diamati menggunakan spektrofotometer (OD 530 nm).

Konsentrasi IAA dari sampel dihitung berdasarkan kurva standar dengan IAA murni dengan menggunakan rumus regresi linear sederhana.

#### Aplikasi IAA *Bacillus sp.*

Setiap isolat *Bacillus sp.* digunakan untuk merendam 10 biji cabai merah. Perendaman dilakukan dengan cara mengambil 10 biji cabai merah kemudian direndam dengan suspensi *Bacillus sp.* (populasi  $3 \times 10^8$  sel/mL, skala 1 Mc.Farland's) selama 1x24 jam. Setiap perlakuan perendaman *Bacillus sp.* dilakukan pengulangan 3 kali. Kemudian biji yang sudah diberi perlakuan ditanam pada *pot tray*.

#### Panjang Akar Kecambah

Panjang akar dihitung setelah kecambah berumur 14 hari. Pengukuran panjang akar menggunakan penggaris dari pangkal akar sampai ujung akar.

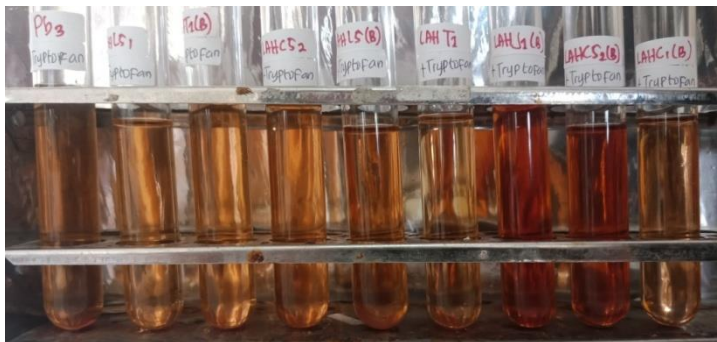
**Analisis Data**

Uji kemampuan *Bacillus* sp. dalam menghasilkan IAA dianalisis secara deskriptif yaitu data konsentrasi. Uji kemampuan isolat *Bacillus* sp. untuk mempercepat perkecambah benih cabai merah dianalisis menggunakan ANOVA dan apabila hasil yang didapat berbeda nyata dilakukan uji lanjut DNMRT dengan taraf nyata 5%.

## Hasil dan Pembahasan

**1. Produksi IAA isolat *Bacillus* sp.**

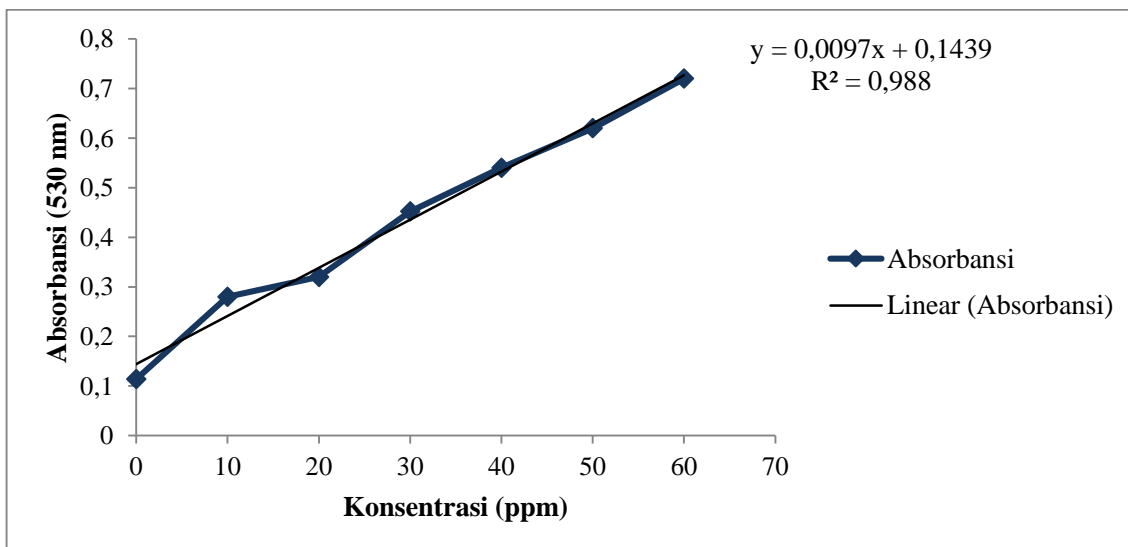
Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. LAHC<sub>1</sub> (B), LAHJ<sub>1</sub> (B), LAHLS (B), LAHT<sub>1</sub> (B) dan LAHCS<sub>2</sub> (B) mampu menghasilkan IAA. Hasil pengujian kemampuan produksi IAA isolat *Bacillus* sp. setelah diinkubasi selama 12 jam di ruangan gelap menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda pada setiap isolat (Gambar 1).



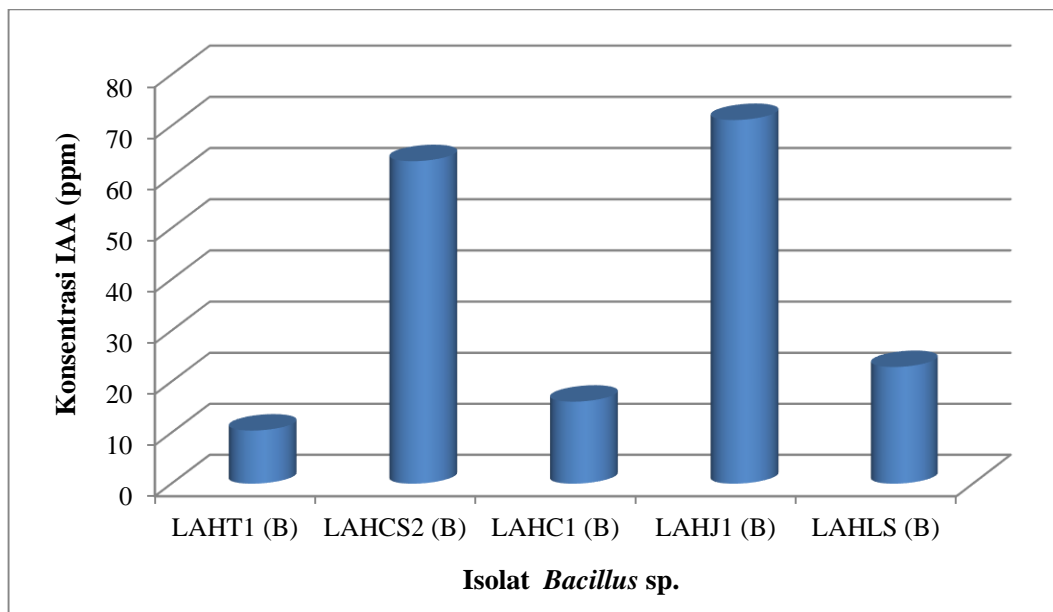
**Gambar 1.** Produksi IAA isolat *Bacillus* sp.

Hasil pengamatan warna pada semua isolat mampu membentuk warna merah muda. Namun, tingkat kepekatan pada setiap isolat berbeda. Warna merah muda pekat menunjukkan konsentrasi IAA yang dihasilkan semakin tinggi (Dewi *et al.*, 2015). Menurut Kovacs (2009) isolat yang menghasilkan IAA secara kualitatif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda karena adanya reaksi antara IAA dan Fe membentuk senyawa kompleks  $[Fe_2(OH)_2(IA)_4]$ . Sejalan dengan penelitian Puspita *et al.*, (2018) menunjukkan 4 isolat bakteri *Bacillus* sp. yang berasal dari bagian akar, batang, daun dan pelepah kelapa sawit mampu menghasilkan hormon IAA dapat dilihat dari terbentuknya warna merah muda.

Hasil pengukuran absorbansi konsentrasi IAA diperoleh dari substitusi nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear  $Y = a + bx$  dari kurva standar IAA dengan panjang gelombang 520 nm (Gambar 2). Konsentrasi tertinggi dihasilkan isolat LAHJ<sub>1</sub> (B) sebesar 71,14 ppm ditandai dengan warna merah muda pekat dan konsentrasi terendah dihasilkan isolat LAHT<sub>1</sub> (B) sebesar 10,42 ppm seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 2.** Kurva standar IAA.



Gambar 3. Konsentrasi IAA setiap isolat *Bacillus* sp.

Pada Gambar 3. terlihat bahwa semua isolat *Bacillus* sp. mampu menghasilkan hormon IAA namun konsentrasi untuk setiap isolat berbeda. Hasil penelitian Payangan (2018) melaporkan perbedaan konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh setiap isolat dipengaruhi oleh kecepatan isolat mensintesis *tryptophan* sebagai prekursor. Selain itu, masa inkubasi juga dapat mempengaruhi produksi IAA karena semakin lama inkubasi maka nutrisi yang terdapat di dalam media tumbuh akan berkurang. Wulandari *et al.*, (2019) melaporkan hasil analisis IAA dari 5 isolat *Bacillus* sp. terdapat 4 isolat yang dapat menghasilkan IAA, karena kemampuan mikroba dalam menghasilkan IAA dipengaruhi oleh spesies, tidak semua mikroba dari jenis yang sama mampu menghasilkan IAA.

## 2. Panjang akar kecambah cabai merah.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian isolat *Bacillus* sp. berpengaruh nyata terhadap panjang akar kecambah cabai merah. Kecambah yang diberi perlakuan memiliki panjang akar yang lebih baik dibanding kontrol (Tabel 1). Hal ini menunjukkan pemberian isolat *Bacillus* sp. memberikan pengaruh baik bagi kecambah. Hasil penelitian Janani *et al.*, (2017) melaporkan kacang hijau yang diaplikasi mikroorganisme memiliki panjang akar 42 mm dan 28 mm pada kontrol.

Tabel 1. Panjang akar kecambah benih cabai merah

Isolat	Panjang akar (cm)
LAHT <sub>1</sub> (B)	1,81 <sup>a</sup>
LAHCS <sub>2</sub> (B)	1,68 <sup>a</sup>
LAHC <sub>1</sub> (B)	1,67 <sup>a</sup>
LAHJ <sub>1</sub> (B)	1,62 <sup>a</sup>
LAHLS (B)	1,44 <sup>a</sup>
Kontrol	0,83 <sup>b</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada  $\alpha = 5\%$  menurut uji DMRT.

IAA merupakan hormon yang berperan dalam menstimulasi jaringan akar tanaman (Leveau dan Lindow, 2015). IAA akan berfungsi meningkatkan laju pertumbuhan akar dalam konsentrasi yang rendah namun dalam konsentrasi yang tinggi dapat menginduksi pembentukan hormon etilen yang dapat menghambat pemanjangan sel akar (Wahidah dan Hasrul, 2017). Srivastava (2002) melaporkan IAA dalam konsentrasi rendah dapat merangsang pertumbuhan radikula pada benih. Hal ini sesuai dengan yang disebutkan Patten dan Glick (2002) peningkatan pertumbuhan akar tanaman merupakan salah satu tanda yang dapat diamati apabila tanaman telah diinokulasi oleh bakteri endofit.

## Ucapan Terima Kasih

Puji syukur kehadirat Allah SWT. yang telah memberi kesempatan penulis untuk menulis artikel ini. Ungkapan terima kasih penulis tujukan kepada Ibu Dr. Linda Advinda, M.Kes sebagai pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan fikiran dalam memberikan bimbingan, arahan, saran, serta motivasi dalam menyelesaikan penelitian ini. Terima kasih kepada semua pihak yang ikut berpartisipasi memberikan bantuan kepada penulis demi kelancaran penelitian dan penulisan artikel ini.

## Daftar Pustaka

- Abd-Alla MH, El-Sayed, Rasmey M. 2013. Indole-3-Acetic Acid (IAA) Production by *Streptomyces Atrovirens* Isolated from Rhizospheric Soil in Egypt. *Journal of Biology and Earth Sciences* 3(2): 182-193.
- Advinda, L. 2018. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Yogyakarta: DEEPUBLISH.
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clement C, Barka EA. 2005. Minireview: Use of of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: prinsiples, mechanisms of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol.* 71:4951-4959.
- Dewi, T.K., Arum, E, S., Imamuddin, H, A., Antonius, S, A. 2015. Karakterisasi Mikroba Perakaran (PGPR) Agen Penting Pendukung Pupuk Organik Hayati. In *Proseding Seminar Nasional Masyi Biodiv Indonesia*. 1(2), 289-295.
- Egamberdieva, D. 2008. Plant Grow Promoting Properties of Rhizobacteria Isolated from Wheat and Pea Grown in Loamy Sand Soil. *Turk. J. Biol.* 32:9-15.
- Janani, N, Revathi, K, Rengarajan, R, Anjalai, K, And Vidhya, G. 2017. *Indole Acetic Acid* Production From *Pseudomonas Fluorescens* And Its Effect On Root Elongation of *Vigna Radiata*. *International Journal Of Current Research*. Vol.9(10):58454-58460.
- Khan, Z., dan Doty, S. L. 2009. Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. *Plant and soil*, 322(1-2), 197-207.
- Kovacs, K., Kamnev, A.A, Shchelochkov, A.G., Kuzmann, E., Medzihradzsky H,S., Mink, J., Vertes, A. 2004. Mossbauer Spectroscopic Evidence For Iron (III) Complexation and Reduction In Acidic Aqueous Solution Of Indole-3-Butyric Acid. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. Vol. 262(1):151-152.
- Leveau, J.H.J., and Lindow, S.E. 2005. Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol.71(5):2365-2371.
- Pattern C.L., dan Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indole Acetic Acid in Development of The Host Plant Root System. *Applied Environmental Microbiology* 68(8): 3795-3801.
- Payangan, R.Y. 2018. Isolasi Cendawan Rhizosfer Penghasil IAA (*Indole Acetic Acid*) Dari Tegakan Hutan Rakyat Suren. *Skripsi*. Makassar : Universitas Hasanuddin Makassar.
- Puspita, F., Saputra, S.I., Merini, J. 2018. Uji Beberapa Konsentrasi Bakteri *Bacillus* sp. Endofit untuk Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Agronomi Indonesia*. 46(3):322-327.
- Srivastava, L. M. 2002. Plant Growth and Development, Hormones and Environment. *Academic Press*. Orlando.
- Un, V., Farida, S., Tito, S, I. 2000. Pengaruh Jenis Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Perkecambahan Benih Cendana (*Santalum album* Linn.). *Indonesian Green Technology Journal*. 2355-4010.
- Wahyuni, Dwi, Tetty, Marta Linda, Wahyu, Lestari. 2016. Potensi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat Asal Tanah Gambut Riau dalam Memproduksi Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) dan Pengaruhnya Terhadap Perkecambahan Benih Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.). *Bio-site*. Vol. 02 No. 2
- Wahidah, B, F., dan Hasrul. 2017. Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh *Indole Acetic Acid* (IAA) Terhadap Pertumbuhan Tanaman Pisang Sayang (*Musa paradisiaca* L. Var Sayang) Secara In Vitro. *Jurnal Teknosains*, Vol 11. 27-41.
- Wulandari N, Irfan M, Saragih R. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria dari Rhizosfer Kebun Karet Rakyat. *Dinamika Pertanian*. 35(3): 57-64.

## Potential Fluorescent Pseudomonad Cas Isolate that Grewed in Various Formulas to Produce IAA

### Potensi Pseudomonad Fluoresen Isolat Cas yang Ditumbuhkan pada berbagai Formula untuk Menghasilkan IAA

Nola Nurdianata<sup>1</sup>, Linda Advinda<sup>2\*</sup>

<sup>1,2</sup>\*Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

\*Correspondence author: [linda\\_advinda@yahoo.com](mailto:linda_advinda@yahoo.com)

**Abstract.** The purpose of this research was to determine the potential of fluorescent pseudomonad with Cas isolates grown in various formulas to produce Indole Asetic Acid (IAA). This experiment was conducted from June to July 2020, at the Plant Physiology Laboratory of FMIPA, UNP. In this research, IAA detection was carried out by qualitative and quantitative analysis. The research was use descriptive method with fluorescent pseudomonad isolate Cas and treatment consisting of M1 (molasses 10 g/L+ ZA 5 g/L), M2 (molasses 10 g/L+ ZA 10 g/L), M3 (molasses 5 g/L+ ZA 5 g/L), M4 (molasses 5 g/L+ ZA 10 g/L), and M5 (NB 8 g/L). The results showed that the fluorescent pseudomonad of Cas isolate was able to produce IAA. This can be seen in the pink color produced after addition of Salkowsky's reagent and incubation for 12 hours in a dark room. Then, the fluorescent pseudomonad of Cas isolate grown in the M1 formula had the highest IAA concentration of 37.295 ppm, while the lowest IAA concentration was in the fluorescent pseudomonad isolate Cas formula M3 with an IAA concentration of 2.897 ppm.

**Key words:** *fluorescent pseudomonad, formula, IAA, molasses, ZA*

**Abstrak.** Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula untuk menghasilkan Indole Asetic Acid (IAA). Percobaan ini dilakukan pada bulan Juni sampai Juli 2020, bertempat di Laboraturium Fisiologi Tumbuhan FMIPA UNP. Dalam penelitian ini dilakukan deteksi IAA dengan analisis secara kualitatif dan kuantitatif. Penelitian ini merupakan penelitian deskripif dengan menggunakan pseudomonad fluoresen isolat Cas dan perlakuan yang terdiri dari M1 (molase 10 g/L+ ZA 5 g/L), M2 (molase 10 g/L+ ZA 10 g/L), M3 (molase 5 g/L+ ZA 5 g/L), M4 (molase 5 g/L+ ZA 10 g/L), dan M5 (NB 8 g/L). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pseudomonad fluoresen isolat Cas mampu menghasilkan IAA. Hal ini dapat dilihat dengan warna pink (merah muda) yang dihasilkan setelah penambahan reagen Salkowsky dan inkubasi selama 12 jam dalam ruang gelap. Kemudian, pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula M1 memiliki konsentrasi IAA tertinggi yaitu 37,295 ppm, sedangkan konsentrasi IAA yang paling rendah adalah pada pseudomonad fluoresen isolat Cas formula M3 dengan konsentrasi IAA 2,897 ppm.

**Kata kunci:** Pseudomonad fluoresen, formula, IAA, molase, ZA





## Pendahuluan

*Pseudomonad fluoresen* merupakan kelompok bakteri yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, menghambat pertumbuhan patogen, menginduksi aktivitas enzim ketahanan, memproduksi siderofor (Habazar, 2001). *Pseudomonad fluoresen* berpotensi menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) (Rosenblueth dan Martiez, 2008), sehingga keberadaannya dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman karena adanya hormon pertumbuhan yang dihasilkan (Irwansyah, 2018). Adanya hormon tumbuh yang dihasilkan *pseudomonad fluoresen* dapat mempercepat permeabilitas masuknya air kedalam sel, sehingga perkecambahan biji menjadi lebih cepat (Un dan Farida, 2018).

Mikroba dapat ditumbuhkan pada medium tumbuh buatan dalam berbagai formula dengan campuran nutrisi yang seimbang. Bahan sintesis (bahan kimiawi) dan media yang kompleks (bahan kimia tidak diketahui) digunakan untuk kultur artifisial bakteri. Unsur yang biasa digunakan dalam media sintesis adalah K, Mg, Fe, Ca, Mn, Mo, Co, Zn, NH<sub>4</sub> dan glukosa (Singh, 2007). Perbanyak *pseudomonad fluoresen* biasanya menggunakan *Nutrient Broth* (NB) yang merupakan media tumbuh keluaran pabrik. Medium NB harganya cukup mahal sehingga dicari alternatif untuk mengganti medium NB tersebut. Menurut Advinda *et al.*, (2020) perbanyak *pseudomonad fluoresen* dapat menggunakan berbagai formula baik organik maupun anorganik.

Molase adalah salah satu formula organik yang dapat digunakan sebagai media tumbuh *pseudomonad fluoresen* yang merupakan produk akhir pembuatan gula yang tidak mengandung gula yang dapat dikristalisasi dengan cara konvensional, dan masih mengandung 50 - 60% gula, asam amino dan mineral (Sebayang, 2006). Kombinasi molase dan ekstrak ragi dapat digunakan sebagai formula media tumbuh untuk agen hayati. Jumlah bakteri *Pseudomonas fluorescens* P-6 dapat mencapai  $3,7 \times 10^9$  cfu/mL bila ditumbuhkan pada formula media tumbuh yang mengandung molase dan ekstrak ragi (1:1 w/w). Sedangkan *Pseudomonas fluorescens* P-5 jumlah bakterinya  $2,3 \times 10^9$  cfu/mL pada formula media tumbuh molase dan ekstrak ragi (1:1 w/w) (Ashnei *et al.*, 2008). Sedangkan salah satu formula dari bahan anorganik adalah *Amonium sulfat* (ZA) yang merupakan senyawa kimia dengan kandungan nitrogen (N) (Widiyaningrum dkk., 2017). Nitrogen dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai nutrisi dalam pertumbuhannya (Cappucino dan Sherman, 2013), sehingga penambahan ZA pada formula media tumbuh agen hayati juga dapat dilakukan. Advinda *et al.*, (2018) menyatakan *pseudomonad fluoresen* isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula medium King's B yang ditambahkan ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O mampu memproduksi HCN yang lebih tinggi dibandingkan pada formula yang ditambahkan CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O.

Sampai saat ini belum ada informasi tentang formulasi *pseudomonad fluoresen* isolat Cas dengan menggunakan formula molase dan ZA. Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang potensi *pseudomonad fluoresen* isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula untuk menghasilkan IAA yang bertujuan untuk melihat potensi *pseudomonad fluoresen* isolat Cas yang ditumbuhkan pada berbagai formula media tumbuh dalam menghasilkan IAA.

## Bahan dan Metode

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNP dari bulan Juni-Juli 2020.

### Metode

#### Peremajaan dan perbanyak *pseudomonad fluoresen*

*Pseudomonad fluoresen* yang digunakan adalah isolat Cas. Isolat Cas diremajakan dalam cawan petri pada medium NA dengan metode gores. Diinkubasi selama 2x24 jam. Selanjutnya perbanyak inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni dalam petri, kemudian dibiakkan dalam 25 mL medium NB cair di dalam *Erlenmeyer* 100 mL, dan dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm.

#### Perbanyak inokulum dalam formula

Untuk membuat skala 1 Mc. Farland's (populasi  $3 \times 10^8$  cfu/mL) dilakukan dengan cara mengambil suspensi *pseudomonad fluoresen* isolat Cas sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam 9 mL aquades steril, kemudian dibandingkan dengan skala 1 Mc. Farland's yang sudah ada. Mengambil masing-masing 1 mL suspensi, dan memasukkan ke dalam setiap formula yang telah dipersiapkan. Kemudian dishaker selama 2 x 24 jam dengan kecepatan 100 rpm.



### Deteksi IAA

Deteksi kemampuan pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula untuk menghasilkan hormon IAA dilakukan dengan cara mengambil 1 mL suspensi (populasi  $3 \times 10^8$  sel/mL, skala 1 Mc. Farland's) diinokulasikan pada 10 mL medium NB yang telah ditambahkan *tryptophan* 200 µg/mL, dan diinkubasi di atas shaker kecepatan 150 rpm selama 3x24 jam. Selanjutnya kultur disentrifus dengan kecepatan 13.000 ppm selama 30 menit, kemudian dipisahkan pelet dan supernatannya. 1 mL supernatan dimasukkan ke dalam 2 mL reagen *Salkowsky*, dan diinkubasi selama 12 jam di ruang yang gelap. Jika terlihat warna yang dihasilkan adalah merah muda menunjukkan positif adanya IAA, sedangkan warna kuning menunjukkan negatif (Khan dan Derty, 2009). Adanya IAA secara kuantitatif diamati menggunakan spektrofotometer (OD 530 nm). Konsentrasi IAA dari sampel dihitung berdasarkan kurva standar dengan IAA rumus regresi yang digunakan adalah :

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = Variabel dependen (absorban)

x = Variabel independen (konsentrasi)

a = Konstanta

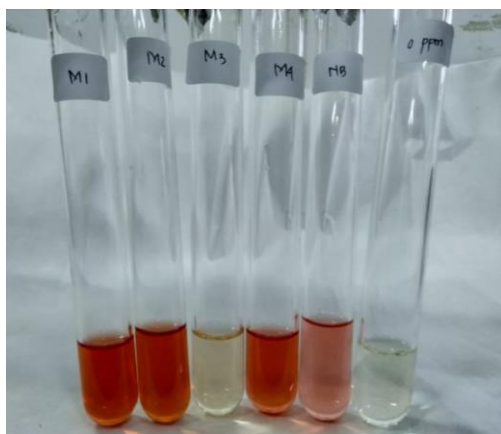
b = Koefisien regresi

### Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Pseudomonad fluoresen isolat Cas ditumbuhkan dalam berbagai formula media tumbuh, yaitu: M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L); M2 (molase 10 g/L + ZA 10 g/L); M3 (molase 5 g/L + ZA 5 g/L); M4 (molase 5 g/L + ZA 10 g/L); dan M5 (NB 8 g/L).

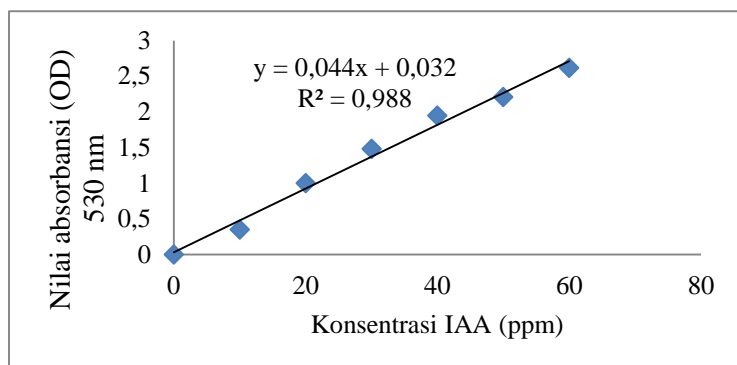
## Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian yang telah dilakukan pada pseudomonad fluoresen isolat Cas, terlihat bahwa bakteri ini mampu menghasilkan IAA. Hal ini dapat dilihat dengan warna pink (merah muda) yang dihasilkan setelah penambahan reagen *Salkowsky* dan inkubasi selama 12 jam dalam ruang gelap (Gambar 1).



Gambar 1. Isolat pseudomonad fluoresen isolat Cas setelah diberi reagen *Salkowsky*

Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh bakteri pseudomonad fluoresen isolat Cas dapat dihitung secara kuantitatif dengan terlebih dahulu membuat kurva standar IAA (Gambar 2). Pembuatan kurva standar bertujuan memperoleh suatu persamaan untuk perhitungan konsentrasi IAA dari supernatan. Kurva standar IAA diperoleh dengan mengukur nilai absorbansi larutan IAA standar berbagai konsentrasi yang telah diberi reagen *Salkowsky*. Pengukuran nilai absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan  $\lambda = 530$  nm. Hasil pengukuran diolah menjadi grafik sehingga diperoleh persamaan regresi  $y = 0,044x + 0,032$ .



Gambar 2. Kurva standar IAA

Konsentrasi IAA dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang telah ditentukan dengan mengganti peubah y pada persamaan kurva standar ( $y = 0,044x + 0,032$ ) dengan hasil pengukuran absorbansi supernatan (Tabel 1). Sehingga didapatkan nilai x yang merupakan konsentrasi IAA supernatan. Berdasarkan jenis formula media tumbuh yang digunakan dalam menumbuhkan pseudomonad fluoresen isolat Cas, menunjukkan bahwa jenis formula berpengaruh terhadap kemampuan pseudomonad fluoresen isolat Cas dalam menghasilkan IAA.

**Tabel 1.** Konsentrasi IAA yang dihasilkan pseudomonad fluoresen isolat Cas

Formula	Nilai absorbansi ( $\lambda$ : 530 nm)	Konsentrasi IAA (ppm)
M1	1,673	37,295
M2	1,642	36,591
M3	0,1595	2,897
M4	1,084	23,909
M5	0,495	10,568

Uji produksi IAA secara kuantitatif dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui data konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh pseudomonad fluoresen isolat Cas setelah ditumbuhkan dalam berbagai formula media tumbuh. Berdasarkan hasil produksi IAA oleh pseudomonad fluoresen isolat Cas, isolat yang ditumbuhkan pada formula M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L) memiliki kemampuan memproduksi IAA yang paling tinggi dibandingkan dengan isolat yang ditumbuhkan pada formula lainnya. Pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L) memiliki konsentrasi IAA tertinggi yaitu 37,295 ppm, sedangkan konsentrasi IAA yang paling rendah adalah pada pseudomonad fluoresen isolat Cas formula M3 (molase 5 g/L + ZA 5 g/L) dengan konsentrasi IAA 2,897 ppm.

Penemuan ini memberikan keuntungan untuk pertumbuhan tanaman dan pengembangan lebih lanjut mengenai formula yang bagus digunakan sebagai media tumbuh bakteri. Menurut Advinda *et al.*, (2020) perbanyak pseudomonad fluoresen dapat menggunakan berbagai formula baik organik maupun anorganik. Jumlah bakteri pseudomonad fluoresen isolat PFPj1 yang ditumbuhkan pada bahan organik molase mencapai  $2,6 \times 10^8$  cfu/mL setelah 2 minggu masa inkubasi.

## Kesimpulan

Pseudomonad fluoresen isolat Cas mampu menghasilkan IAA yang terlihat dengan adanya warna pink yang dihasilkan setelah penambahan reagen *Salkowsky* dan inkubasi selama 12 jam dalam ruang gelap. Pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L) memiliki konsentrasi IAA tertinggi yaitu 37,295 ppm, sedangkan konsentrasi IAA yang paling rendah adalah pada pseudomonad fluoresen isolat Cas formula M3 (molase 5 g/L + ZA 5 g/L) dengan konsentrasi IAA 2,897 ppm.

## Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada reviewer yang telah memberikan masukan pada artikel ini.

## Daftar Pustaka

- Advinda, L., Fifendy, M., Anhar, A. 2018. The Addition of Several Mineral Sources on Growing Media of Fluorescent Pseudomonad for the Biosynthesis of Hydrogen Cyanide. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 335 012016.
- Advinda, L., Fifendy, M., Irdawati, dan Anhar, A. 2020. The Utilization of Coconut Water and Molasses as Fluorescent Pseudomonad Propagation Medium. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT)*, 19 (2): 25-28.
- Ashnaei, S.P., Tehrani, A.S., Ahmadzadeh, M., and Behboudi, K. 2008. Production of Pseudomonad fluorescent P-5 and P-6 for Bean Damping-off Disease. *Int. J. Agri. Biol.*, 10(5): 573-576.
- Cappucino, J. G., dan Sherman, N. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. 8th edn. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Habazar, T. 2001. Aspek Imunisasi dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Secara Hayati. *Orasi Ilmiah Pada Rapat Senat Terbuka*. Padang: Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Irwansyah. 2018. Pengaruh Bakteri Pseudomonad fluoresen dan *Paenibacillus polymixa* terhadap Intensitas Penyakit Hawar Upih serta Pertumbuhan Tanaman Jagung Hibrida P27. *Skripsi*. Lampung: Universitas Lampung.
- Rosenblueth, M., dan E. Martínez-Romero. 2008. The American Phytopathological Society. *MPMI*, 19(8): 827 –837.
- Sebayang, F. 2006. Pembuatan Etanol dari molase secara fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Termobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses*, 5(2): 68 – 74.
- Singh, D.V. 2007. *Introductory Plant Pathology. Ex-Head and Emeritus Scientist: Division of Plant Pathology*. New Delhi: Indian Agricultural Research Institute.
- Un, V., dan Farida, S. 2018. Pengaruh Jenis Zat Pengatur Tumbuh terhadap Perkecambah Benih Cendana (*Santalum album* Linn.). *The Indonesian Green Technology Journal*, 7(1).
- Widyaningrum, P., Mustikamungtyas, D., dan Prayono, B. 2017. “Evaluasi Sifat Fisik Nata De Coco dengan Ekstrak Kecambah sebagai Sumber Nitrogen”, Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Sains dan Teknologi FMIPA, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, Indonesia.