



The Ability of Soil Bacteria from Liwa Botanical Gardens to Produce Indole Acetic Acid Hormone (AIA)
(Kemampuan Bakteri Tanah Asal Kebun Raya Liwa Dalam Menghasilkan Hormon Asam Indol Asetat (AIA))

Christina Nugroho Ekowati*, Agung Sanjaya, Suratman, dan Sumardi

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
*Corresponding author: ecoli.lacto@gmail.com

Abstrak	Abstract
<p>Hormon AIA berperan besar dalam memperbesar dan memperpanjang sel, pembelahan sel, khususnya pada daerah ujung tanaman. Bakteri yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan hormon AIA diantaranya <i>Enterobacter sp.</i>, <i>Azospirillum sp.</i>, <i>Klebsiella sp.</i>, <i>Alcaligenes faecalis</i>, <i>Azoarcus sp.</i>, <i>Serratia sp.</i>, <i>Azotobacter sp.</i>, <i>Cyanobacteria</i>, <i>Erwinia herbicola</i>, <i>Pseudomonas sp.</i>, <i>Rhizobium</i>, <i>Bradyrhizobium</i>, <i>Agrobacterium tumafaciens</i>. Sintesis AIA ini memerlukan senyawa tambahan berupa triptopan. Namun beberapa bakteri mampu memproduksi AIA tanpa penambahan prekursor. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri penghasil hormon AIA dari tanah Kebun Raya Liwa. Pada ini diawali dengan isolasi bakteri tanah asal Kebun Raya Liwa, selanjutnya dilakukan uji kemampuan produksi AIA secara kuantitatif tanpa penambahan triptopan. Pengujian produksi AIA secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan media <i>Nutrien Broth</i> dengan metode spektrofotometri dengan penambahan reagen salkowsky dan dilakukan pengamatan setelah 72 jam inkubasi. Data yang didapatkan disajikan dalam bentuk tabel. Hasil penelitian didapatkan 9 isolat yang mampu menghasilkan hormon AIA dengan kadar yang berbeda. Isolat penghasil AIA tertinggi yaitu isolat DT1 dengan kadar 114 ppm yang mempunyai karakteristik berbentuk bacil berwarna putih susu dan tidak berspora.</p> <p>Kata kunci: bakteri AIA, hormon AIA</p>	<p><i>AIA hormone plays a role in enlarging and elongating cells, and cell division, especially at the tip of the plant. Bacteria that have the ability to produce IAA hormones include Enterobacter sp., Azospirillum sp., Klebsiella sp., Alcaligenes faecalis, Azoarcus sp., Serratia sp., Azotobacter sp., Cyanobacteria, Erwinia herbicola, Pseudomonas sp., Rhizobium, Bradyrhizobium, Agrobacterium tumafaciens. The synthesis of AIA requires an additional compound in the form of tryptophan. However, some bacteria can produce AIA without the addition of precursors. The goal of this study was to obtain isolates of AIA hormone-producing bacteria from the soil of the Liwa Botanical Gardens. This begins with the isolation of soil bacteria from the Liwa Botanical Gardens, then a quantitative test of AIA production capability is carried out without the addition of tryptophan. Qualitative testing of AIA production was carried out using Nutrien Broth media with spectrophotometric methods with the addition of Salkowsky reagent and observations were made after 72 hours of incubation. The data obtained are presented in tabular form. The results showed that 9 isolates were able to produce the AIA hormone at different levels. The highest AIA-producing isolate was the DT1 isolate with a concentration of 114 ppm which had the characteristics of a milky white bacillus and no spores.</i></p> <p>Keywords: <i>AIA Bacteria, AIA Hormone</i></p>

PENDAHULUAN

Kebun Raya Liwa merupakan salah satu tujuan ekowisata dan berfungsi sebagai kawasan perlindungan tumbuhan secara ex-situ dan menjadi representasi flora Taman Nasional Bukit Barisan Selatan (Sukimin & Sholihah, 2018). Upaya pengembangan keanekaragaman hayati di Kebun Raya Liwa ini memiliki tantangan yaitu rendahnya kesuburan tanah yang berupa jenis tanah laterit. Kesuburan tanah merupakan faktor penting yang perlu diperhatikan karena berdampak pada keragaman flora yang ada. Parameter kesuburan tanah dapat dilihat dari kandungan unsur hara dan populasi mikroba tanah terutama di zona rizosfer.

Bakteri rizosfer sangat berpengaruh terhadap kelangsungan hidup tumbuhan sehubungan dengan kemampuan dalam menghasilkan fitohormon pertumbuhan, sebagai penambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kemampuannya menghambat patogen. Kebanyakan bakteri rizosfer merupakan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) seperti yaitu *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Pseudomonas* dengan kemampuan aktivitas efisiensi pelarut fosfat, PMEase asam-basa dan produksi hormon AIA yang berhasil diisolasi dari tanah perkebunan karet di daerah Lampung (Widiawati, 2015).

Peranan hormon ini diantaranya memperbesar dan memperpanjang sel, pembelahan sel, khususnya pada daerah ujung tanaman. Peningkatan pada ujung akar juga sangat mempengaruhi kesuburan tanaman sehingga zona atau daerah penyerapan unsur hara semakin luas (Rubio, *et.al.*, 2000). Bakteri yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan hormon AIA diantaranya *Enterobacter sp.*, *Azospirillum sp.*, *Klebsiella sp.*, *Alcaligenes faecalis*, *Azoarcus sp.*, *Serratia sp.*, *Azotobacter sp.*, *Cyanobacteria*, *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas sp.*, *Rhizobium*,

Bradyrhizobium, *Agrobacterium tumefaciens*, dan bakteri sulphur (Rosyida & Nugroho, 2017). Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan bakteri yang mampu menghasilkan fitohormon berupa Asam Indol Asetat (AIA).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penelitian ini dilakukan sejak bulan Juli 2020 saat pengambilan sampel tanah dari Kebun Raya Liwa. Kegiatan pengujian sampel dilakukan di laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA, dan di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung pada bulan Januari sampai Mei 2021.

Alat yang dipergunakan pada penelitian ini diantaranya *laminar air flow*, *autoclave*, botol gelap, tabung reaksi, beaker glass, pipet volumetri, bola hisap, rak tabung, *drygalsky*, ose bulat, ose runcing, *hot plate*, pipet tetes, timbangan analitik, tissue, spektrofotometer, *sentrifuge*, inkubator, spatula, cawan petri, oven, mikroskop, *magnetic stirrer*, bunsen, *micropipette*, *microtip*, gunting, oven, mikroskop cahaya, erlenmayer, dan gelas ukur.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya *Nutrien Agar*, *Nutrien Broth*, akuades, Reagen Salkowski (H_2SO_4 pekat, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, akuades), *Nutrien Agar*, *Sodium Chloride*, *Indole-3-acetic acid* sintetik, alkohol, kantong plastik tahan panas, garam fisiologis 0,90%, kapas, kain kasa, spritus, tissue, label, korek api.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling* berdasarkan jenis tanah. Sampel berupa tanah datar,

tanah datar *araceae*, tanah miring *araceae*, tanah biopori dan tanah serasah. Sampel diambil dari lima lokasi pada Kebun Raya Liwa dan setiap lokasi diambil 2 titik dengan kedalaman 0-25 cm dan berat 250 gram. Sampel yang diambil selanjutnya dimasukkan ke dalam plastik steril yang sudah diberi label dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung untuk diisolasi bakterinya.

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah asal Kebun Raya Liwa

Sampel tanah ditimbang masing-masing sebanyak 1 g dan dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml garam fisiologis 0,90% sebagai pengenceran 10^{-1} . Serial pengenceran dilakukan hingga 10^{-5} . Selanjutnya sebanyak 1 ml suspensi dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} . Kemudian dinokulasikan dengan cara *pour plate* pada media *Nutrien Agar*. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 3 hari. Purifikasi koloni dilakukan pada media NA dengan cara kuadran, dan isolat murni yang morfologi koloninya berbeda diinokulasikan ke media NA miring di dalam tabung reaksi. Pengamatan morfologi koloni diamati secara visual dan mikroskopis dengan pengecatan Gram.

Uji Potensi Bakteri Penghasil Asam Indol Asetat

Uji kualitatif AIA ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri yang didapatkan dalam pembentukan AIA. Isolat yang didapatkan dibuat suspensi dalam 9 ml akuades dengan kepadatan sel $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Kepadatan suspensi berdasarkan kekeruhan yang dibandingkan dengan larutan Mc. Farland 0,5. Suspensi bakteri diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi 9 ml *Nutrien Borth*. Selanjutnya erlenmeyer dibungkus dengan aluminium foil, supaya tidak tembus oleh cahaya. Kemudian erlenmeyer digoncang selama 3 hari inkubasi di atas *shaker incubator*.

Pengamatan dilakukan 2 kali pada hari kedua (48 jam) dan hari ketiga (72 jam). Pengamatan dilakukan dengan cara dua ml inokulum yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Supernatan yang terbentuk diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan reagen salkowski 2 ml dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 1 jam. Tiga isolat yang menunjukkan kepekaan diuji lanjut secara kuantitatif dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada gelombang 530 nm untuk mengetahui kadar AIA yang dihasilkan. Data hasil spektrofotometri supernatan dibandingkan dengan data hasil spektrofotometri kurva standar AIA (A'ini, 2013).

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan cara membuat larutan induk konsentrasi 100 ppm. Larutan Induk AIA tersebut masing-masing dipipet ke dalam tabung reaksi sebanyak 50 μ l (5 ppm), 100 μ l (10 ppm), 150 μ l (15 ppm), 200 μ l (20 ppm), 250 μ l (25 ppm), 300 μ l (30 ppm), 350 μ l (35 ppm), 400 μ l (40 ppm), 450 μ l (45 ppm), 500 μ l (50 ppm). Lalu ditambahkan metanol sehingga volume masing-masing tabung reaksi menjadi 1000 μ l. Kemudian ditambahkan reagen pewarna sebanyak 2 ml pada masing-masing tabung reaksi. Selanjutnya dihomogenkan dan diinkubasi selama 60 menit di suhu ruang ($28^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$) pada kondisi gelap. Setelah di inkubasi kemudian dilihat perubahan warna larutan menjadi merah muda hingga kemerahan. Larutan standar AIA diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm (Astriani, dkk. 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran pH sampel tanah menunjukkan bahwa tanah tersebut digolongkan pada tanah netral dengan pH berkisar antara 6-7. Hasil pengamatan karakter morfologi koloni bakteri dan karakter mikroskopik sel

disajikan dalam Tabel 1. Sedangkan karakter mikroskopik sel disajikan dalam tabel 2.

Tabel 1. Karakter morfologi koloni bakteri tanah asal kebun raya liwa

Kode Isolat	Karakter Morfologi Koloni			
	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi
DT1	Tidak beraturan	Putih Susu	<i>Undulate</i>	<i>Raised</i>
MA1	Tidak beraturan	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>
BP1	Bulat	Putih	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>
DT2	Tidak beraturan	Kekuningan	<i>Lobate</i>	<i>Flat</i>
MA2	Bulat	Putih	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>
SH1	Bulat	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>
BP2	Tidak beraturan	Kekuningan	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>
DT3	Tidak beraturan	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>
BP3	Bulat	Putih	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>

Tabel 2. Karakter morfologi sel bakteri

Kode Isolat	Karakter Morfologi Sel	
	Gram	Bentuk Sel
DT1	Negatif	Batang
MA1	Positif	Bulat
BP1	Positif	Batang
DT2	Positif	Batang
MA2	Negatif	Batang
SH1	Positif	Batang
BP2	Negatif	Batang
DT3	Positif	Batang
BP3	Negatif	Batang

Secara kualitatif isolat yang mampu menghasilkan hormon AIA ditandai dengan adanya perubahan warna pada supernatant hasil sentrifugasi menjadi kemerahan. Perubahan warna ini terbentuk akibat adanya reaksi AIA dengan reagen Salkowski. Sehingga perubahan warna menjadi kemerahan menandakan adanya kandungan AIA dalam supernatant. Kemampuan memproduksi AIA dari isolat bakteri tanah asal Kebun Raya Liwa disajikan pada Tabel 3.

memproduksi AIA tanpa penambahan Tryptophan

Isolat	Rata-rata (ppm)
DT1	114
BP3	73,7
MA1	60,7

Setiap isolat menghasilkan AIA bervariasi, diantara 9 isolat yang diuji diperoleh 3 isolat dengan potensi sebagai penghasil AIA tinggi, yaitu DT1, BP3, MA1 masing-masing menghasilkan AIA sebesar 114 ppm, 73,7 ppm, dan 60,7 ppm.

Tabel 3. Konsentrasi 3 isolat tertinggi dalam

Dari data yang didapatkan isolat dengan kode TB1 B2 dapat menghasilkan hormon AIA dengan kadar paling tinggi yaitu 114 ppm. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya enzim seperti *amino transferase*, *Trp decarboxylase*, *Trp mono-oxygenase*, *indole-3-pyruvate decarboxylase*, *amine-oxidase*, *indole-3-acetamide hidrolase*, *indole-3-acetaldehyde dehydrogenase*, dan *nitrilase* yang dihasilkan oleh bakteri untuk produksi hormon AIA. Perubahan warna yang dihasilkan karena adanya reaksi antara AIA dengan reagen salkowski yang membentuk ikatan kompleks $[Fe_2(OH)_2(IA)_4]$. Reaksi ini terbentuk karena Fe yang didonorkan oleh reagen salkowski berikatan dengan AIA yang dihasilkan oleh bakteri (Dewi, dkk., 2016).

Salkowski merupakan reagen pewarna yang dimanfaatkan untuk menguji keberadaan senyawa indol dan turunannya (Joule & Mills, 2000). Semakin pekat warna merah yang dihasilkan dari supernatant yang ditambahkan dengan salkowski menandakan bahwa AIA yang dihasilkan semakin tinggi (Patil, 2011).

Pada penelitian A'ini, yang dilakukan dikawasan Taman Nasional Gunung Gede didapatkan 10 isoalat yang mampu menghasilkan hormon AIA dengan kadar paling tertinggi 9,923 ppm (A'ini, 2013). Perbedaan lokasi pengambilan sampel menjadi faktor penting yang memengaruhi perbedaan konsentrasi AIA yang dihasilkan. Karena disetiap lokasi pengambilan sampel memiliki pH, kelembapan dan unsur hara yang berbeda, selain itu bakteri yang mendominasi pada setiap lokasi juga berbeda sehingga mengakibatkan perbedaan hasil yang signifikan terhadap konsentrasi AIA yang diperoleh.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapatkan yaitu isolat yang disolasi dari tanah Kebun Raya Liwa didapatkan 9 isolat yang mampu menghasilkan hormon AIA dengan

parameter perubahan warna secara kualitatif. Isolat yang memiliki kadar tertinggi dalam menghasilkan hormon AIA yaitu DT1 dengan konsentrasi 114 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Astriani, Fenny., Fibriarti, B.L., Zul, Delita., (2014). Seleksi Isolat Jamur Dalam Menghasilkan Hormon AIA (*Indole-3-Acetic Acid*) Asal Tanah Gambut Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar. *JOM FMIPA*. 1 (2) : 1-11.
- A'ini, Z. F. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil AIA (*Indole-3-Acetic Acid*) dari Tanah dan Air di Situgunung, Sukabumi. *Faktor Exacta*. 6 (3) :231-240.
- Dewi, T. K., J. Suryanggono, D. Agustiyanti. (2016). Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Penghasil Hormon Tumbuh AIA (*Indole-3-Acetic Acid*) dan Bakteri Perombak Protein dari Tanah Pertanian Tual, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jawa Tengah, hal. 271-276.
- Joule, J.A. dan K. Mills. (2000). *Heterocyclic Chemistry*. Blackwell Science. Oxford.
- Rosyida, R., dan Nugroho, A. S. (2017). Pengaruh Dosis Pupuk Majemuk NPK dan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) terhadap Bobot Basah dan Kadar Klorofil Daun Tanaman Pakcoy (*Brassica rapa L.*). *Bioma*. Vol 6 (2), 42–56.
- Rubio, M. G. T., S. A. V Olata, J.B Castillo dan P.M Nieto. (2000). Isolation of *Enterobacteria*, *Azotobacter sp.* And *Peudomona sp.* Producers of AIA and Siderophore from Colombian Rice Rhizosphere. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*. 32 : 171-176.
- Sukimin., dan S.M. Sholihah. (2018). *Warta Kebun Raya*. Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor.

Patil, V. (2011). Production of Indole Acetic Acid by *Azotobacter* sp. *Recent Reseach in Science and Technology*. 3(12): 14-16.

Widiawati, sri. (2015). Isolasi dan Aktivitas *Plan Growt Promoting Rhizobacteria* (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*) dari Perkebunan.