

**OPTIMASI WAKTU INKUBASI DAN KADAR TRYPTOPHAN
TERHADAP PRODUKSI HORMON INDOLE ACETIC ACID (IAA)
ISOLAT *Streptomyces hygroscopicus* SUBSP. *hygroscopicus* STRAIN I18**

(SKRIPSI)

Oleh

**MIA FITRIANI
NPM 1717021055**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

**OPTIMASI WAKTU INKUBASI DAN KADAR TRYPTOPHAN
TERHADAP PRODUKSI HORMON INDOLE ACETIC ACID (IAA)
ISOLAT *Streptomyces hygroscopicus* SUBSP. *hygroscopicus* STRAIN I18**

Oleh

**MIA FITRIANI
1717021055**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

OPTIMASI WAKTU INKUBASI DAN KADAR *TRYPTOPHAN* TERHADAP PRODUKSI HORMON *INDOLE ACETIC ACID (IAA)* ISOLAT *Streptomyces hygroscopicus* SUBSP. *hygroscopicus* STRAIN I18

Oleh

Mia Fitriani

Proses pertumbuhan tanaman memerlukan hormon, misalnya hormon auksin yang berguna untuk mempercepat pertumbuhan suatu tanaman. Hormon auksin dapat dihasilkan oleh tanaman itu sendiri dan makhluk hidup seperti Actinomycetes. Actinomycetes merupakan jenis rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman yang dapat mempengaruhi secara langsung dan tidak langsung proses pertumbuhan tanaman. Salah satu spesies dari kelas Actinomycetes yang dapat menghasilkan senyawa fitohormon IAA adalah *Streptomyces hygroscopicus*. Dalam pertumbuhan, IAA dapat berperan dalam proses perkembangan tanaman, pemanjangan akar, pucuk, dan pematangan buah. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung dengan 2 tahap penelitian. Tahap pertama mengetahui waktu optimum inkubasi isolat *Streptomyces hygroscopicus* dalam menghasilkan IAA dan tahap kedua mengetahui pengaruh penambahan *Tryptophan* dalam menghasilkan IAA. Pengukuran dilakukan pada hari inkubasi 4-11 dan penambahan *Tryptophan* yaitu 0 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, 4 mg/mL, 5 mg/mL, dan 6 mg/mL yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Parameter pada penelitian ini adalah perubahan warna merah supernatan yang direaksikan dengan reagen *Salkowski*, jika terdapat perubahan warna maka diukur menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 530 nm. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan hasil dianalisis menggunakan persamaan regresi polinomial ortogonal. Kesimpulan dari penelitian ini diperoleh waktu optimum inkubasi *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 adalah hari ke-9 dengan konsentrasi IAA sebesar 14,3 ppm dan penambahan *Tryptophan* optimum adalah 5 mg/mL dengan konsentrasi IAA sebesar 18,4 ppm.

Kata Kunci : Hormon auksin, Actinomycetes, *Streptomyces hygroscopicus*
Tryptophan.

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF INCUBATION TIME AND TRYPTOPHAN LEVELS ON THE PRODUCTION OF THE INDOLE ACETIC ACID (IAA) ISOLATE *Streptomyces hygroscopicus* SUBSP. *hygroscopic* STRAIN I18

By

Mia Fitriani

The process of plant growth requires hormones, such as the hormone auxin which is useful for accelerating the growth of a plant. Auxin hormones can be produced by plants themselves and living things such as Actinomycetes. Actinomycetes is a type of plant growth-promoting rhizobacteria that can directly and indirectly affect plant growth processes. One of the species from the Actinomycetes class that can produce IAA phytohormones is *Streptomyces hygroscopicus*. In growth, IAA can play a role in the process of plant development, elongation of roots, shoots, and fruit ripening. This research was conducted at the Laboratory of Microbiology FMIPA University of Lampung with 2 stages of research. The first stage is to determine the optimum incubation time is *Streptomyces hygroscopicus* in producing IAA and the second stage is to determine the effect of the addition of Tryptophan in producing IAA. Measurements were made on incubation days 4-11 and the addition of Tryptophan was 0 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, 4 mg/mL, 5 mg/mL and 6 mg/mL, each treatment was repeated 3 times. The parameter in this study is the red color change of the supernatant which is reacted with Salkowski's reagent, if there is a color change then it is measured using a spectrophotometer with a wavelength of 530 nm. The design used was Completely Randomized Design (CRD) and the results of the analysis used orthogonal polynomial regression equations. The conclusion of this research is that the optimum incubation time of *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopic* strain I18 was the 9th day with IAA concentration of 14.3 ppm and the optimum addition of Tryptophan was 5 mg/mL with IAA concentration of 18.4 ppm.

Keywords: Auxin hormone, Actinomycetes, *Streptomyces hygroscopicus*
Tryptophan.

Judul Skripsi

: **OPTIMASI WAKTU INKUBASI DAN KADAR
TRYPTOPHAN TERHADAP PRODUKSI
HORMON INDOLE ACETIC ACID (IAA)
ISOLAT *Streptomyces hygroscopicus*
SUBSP. *hygroscopicus* STRAIN I18**

Nama Mahasiswa

: **Mia Fitriani**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **1717021055**

Jurusan/Program Studi

: **Biologi/S1 Biologi**

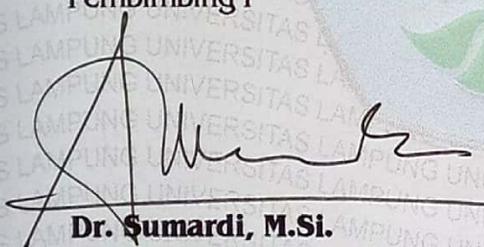
Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**


MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

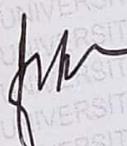
Pembimbing I



Dr. Sumardi, M.Si.

NIP 19650325 199103 1 003

Pembimbing II



Dra. Martha Lulus Lande, M.P.

NIP 19560813 198511 2 001

2. Ketua Jurusan Biologi



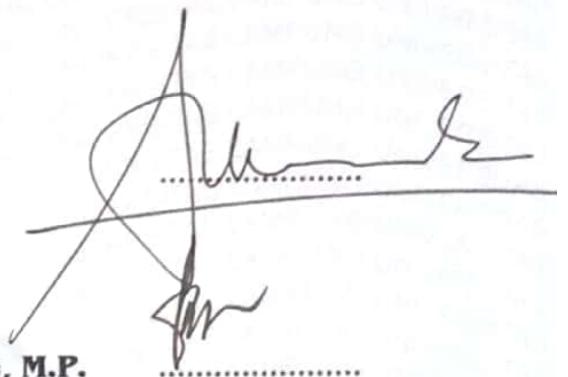
Drs. M. Kanedi, M.Si.

NIP 19610112 199103 1 002

MENGESAHKAN

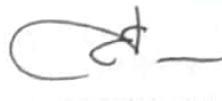
1. Tim Penguji

Ketua Penguji : **Dr. Sumardi, M.Si.**



Anggota Penguji : **Dra. Martha Lulus Lande, M.P.**

Penguji Utama : **Dra. C. Nugroho Ekowati, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Sriipto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **05 Agustus 2021**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mia Fitriani
NPM : 1717021055
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

“OPTIMASI WAKTU INKUBASI DAN KADAR TRYPTOPHAN TERHADAP PRODUKSI HORMON INDOLE ACETIC ACID (IAA) ISOLAT *Streptomyces hygroscopicus* SUBSP. *hygroscopicus* STRAIN I18”.

adalah **benar** karya saya sendiri, baik gagasan, data, maupun pembahasannya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh hasil skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk keperluan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 29 November 2021
Yang Menyatakan,



Mia Fitriani
NPM. 1717021055

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Way Kanan pada tanggal 05 Januari 2000 dari pasangan Bapak Syafaruddin dan Ibu Holipah, anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis menempuh pendidikan sekolah dasar di SDN 01 Simpang Asam tahun 2005–2011. Penulis melanjutkan pendidikan Menengah di SMPN 03 Baradatu, Kabupaten Way Kanan tahun 2011 – 2014 dan dilanjutkan ke SMAN 1 Baradatu pada tahun 2014– 2017.

Pada tahun 2017, penulis resmi terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN. Selama menempuh pendidikan sarjana, Penulis pernah menjadi Anggota dan Bendahara Bidang Komunikasi Informasi dan Hubungan Masyarakat Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila. Penulis juga pernah menjadi Asisten Mikrobiologi Umum dan Bioteknologi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Pada awal tahun 2020 penulis melaksanakan kerja praktik di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan di Bandar Lampung (BPOM) dengan judul “Uji Cemaran Mikroba Patogen *Salmonella* sp. Pada Sampel Pangan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan di Bandar Lampung”. Pada pertengahan tahun 2020 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di desa Haji Mena, Kecamatan Natar, Lampung Selatan serta pada tahun 2021 penulis melakukan penelitian di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Maka skripsi ini ku persembahkan kepada:

Bapak syafaruddin dan ibu Holipah yang aku cintai, yang telah memberikan kasih sayang dan kesempatan untuk melanjutkan pendidikan S1. Terimakasih telah menjadi salah satu alasan terbesar untuk menyelesaikan pendidikan ini. Terimakasih atas segala hal yang tidak bisa disebutkan, semoga kedepannya dapat membanggakan and hope you are always healthy. "Amin".

Kakak Zulkarnain yang telah memberikan semangat, motivasi dan dukungan dalam menyelesaikan pendidikan.

Adik Nurjanah yang selalu membantu dan memberikan semangat dalam hal apapun.

Bapak dan ibu dosen yang telah mendidik dan memberi motivasi dalam hal perkuliahan, dunia kerja dan lain sebagainya.

Sahabat-sahabatku, teman seperjuanganku yang selalu memberikan semangat dan selalu ada saat suka maupun duka. Semoga kedepannya dimudahkan.

Almamater Tercinta.

MOTTO

*“Tidak ada kesuksesan melainkan dengan pertolongan Allah”
(Q.S Huud:88)*

*“Berpikirlah Positif, Tidak Peduli Seberapa Keras Kehidupanmu.”
(Ali Bin Abi Thalib)*

“Tak ada yang abadi, sedihmu, sakitmu dan sulitmu. Tak ada yang abadi, senangmu, banggamu, mudahmu. Maka jangan berlebihan untuk segala sesuatu.”

*Tidak semua hal akan berjalan sesuai keinginanmu. Pada satu waktu, impianmu akan dipukul mundur, harapanmu terpatahkan dan langkahmu akan diberhentikan paksa.
(Alfialghazi)*

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Puji syukur atas kehadirat Allah SWT atas berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan SKRIPSI dengan judul "**Optimasi Waktu Inkubasi dan Kadar Tryptophan Terhadap Produksi Hormon Indole Acetic Acid (IAA) Isolat Streptomyces hygroscopicus Subsp. *hygroscopicus* Strain I18**" adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M. T. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
2. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S. Si., M. Si. selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Sumardi, M.Si. selaku Pembimbing 1 yang telah memberikan arahan dalam penulisan dan pelaksanaan penelitian.
5. Ibu Dra. Martha Lulus Lande, M.P. selaku Pembimbing II dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan dalam penulisan dan pelaksanaan penelitian.
6. Ibu Dra. C. N. Ekowati selaku Pembahas yang telah memberikan saran dalam pelaksanaan dan penulisan laporan akhir Skripsi.

7. Alfin Cantika dan Ayu Ismawanti selaku tim IAA *Squad* yang telah berjuang bersama, selalu memberikan semangat, saling mengingatkan dan segala bantuannya. *Succes always for us, maybe the world is not good but keep running until our goals are realized.*
8. Bapak Achmad Arifiyanto, M.Si yang telah membantu dan memberikan bimbingan dalam penelitian.
9. Ibu Oni Mastuti S. Si sebagai Laboran Mikrobiologi yang telah membantu dan memberikan semangat dalam penelitian. *Always spirit and happy bu.*
10. Berliana, Cindy, Ulin, dan Agung yang telah membantu dan memberikan semangat selama penelitian, sukses selalu Tim. *Nice to meet prospective great people, see you soon.*
11. Sahabat dan teman ku semasa perkuliahan T.Indah, Hardina, Rome, Syalma Yuyun, Mica, Mauli, Ramdan dan semua orang baik yang tidak bisa disebutkan.
12. Sahabatku Oktariani Pratama yang memberikan dukungan disaat dunia sedang tidak baik. *Let's make our dreams come true.*
13. Biologi angkatan 2017, Kelas B 2017, Keluarga Mintuy, Pimpinan Himbio periode 2018/2019, dan Bipolar yang telah memberikan warna dalam perkuliahan.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi sedikit harapan semoga Allah SWT memberikan balasan pahala yang terbaik bagi pihak yang telah membantu dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh,

Bandar Lampung, 27 November 2021

Mia Fitriani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	3
1.4. Kerangka Pikir.....	3
1.5. Hipotesis Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i> (PGPR)	6
2.2. Actinomycetes	7
2.2.1. <i>Streptomyces</i>	9
2.2.2. <i>Streptomyces hygroscopicus</i> Subsp. <i>hygroscopicus</i> Strain I18....	10
2.3. Fitohormon	12
2.3.1. Pengertian Fitohormon.....	12
2.3.2. Hormon Auksin.....	12
2.4. <i>Tryptophan</i> sebagai Prekursor IAA.....	14
2.4.1. Jalur Biosintesis IAA dengan <i>Tryptophan</i> sebagai Prekursor	15
2.5. Reaksi IAA dengan <i>Salkowski</i>	16
III. METODE PENELITIAN	17
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	17
3.3. Rancangan Percobaan	18
3.4. Prosedur Kerja	20
3.4.1. Pembuatan Kurva Standar <i>Indole Acetic Acid</i> (IAA)	20
3.4.2. Produksi IAA Isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> Subsp. <i>hygroscopicus</i> Strain I18.....	21
3.4.2.1. Pembuatan Media	21
3.4.2.2. Peremajaan Inokulum Bakteri	21
3.4.2.3. Pembuatan Starter Inokulum Bakteri	22

3.4.2.4. Produksi IAA untuk Menentukan Waktu Optimum Inkubasi Isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> Subsp. <i>hygroscopicus</i> Strain I18	22
3.4.2.5. Produksi IAA dengan Penambahan <i>Tryptophan</i> Isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> Subsp. <i>hygroscopicus</i> Strain I18.....	23
3.5. Analisis Data	24
3.6. Diagram Alir Penelitian	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1. Hasil.....	27
4.1.1. Kurva Standar <i>Indole Acetic Acid</i> (IAA)	27
4.1.2. Waktu Optimum Inkubasi Isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> Subsp. <i>hygroscopicus</i> Strain I18 dalam Menghasilkan Hormon <i>Indole Acetic Acid</i> (IAA)	29
4.1.3. Produksi IAA dengan Penambahan <i>Tryptophan</i> Isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> Subsp. <i>hygroscopicus</i> Strain I18	31
4.2. Pembahasan	33
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1. Simpulan	36
5.2. Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18 inkubasi 14 hari	10
2. Isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18 dibawah pemindaian mikroskop elektron pada perbesaran 5000x	11
3. Struktur IAA	12
4. Struktur <i>Tryptophan</i>	14
5. Jalur biosintesis IAA dengan <i>Tryptophan</i> sebagai Prekursor	15
6. Struktur Kompleks Fe dengan <i>Indole 3 Acetate</i> [$\text{Fe}_2(\text{OH})_2(\text{IA}_2)$]	16
7. Kurva Standar IAA Sintetik	28
8. Hasil reaksi IAA sintetik direaksikan dengan reagen <i>Salkowski</i> Berdasarkan konsentrasi (ppm)	28
9. Produksi IAA selama inkubasi.....	30
10. Hasil reaksi ekstrak kasar IAA dengan reagen <i>Salkowski</i> Isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18.....	31
11. Produksi IAA dengan penambahan <i>Tryptophan</i>	32
12. Reaksi ekstrak kasar IAA dengan reagen <i>Salkowski</i> variasi penambahan <i>Tryptophan</i> pada isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18	33
13. Media produksi hari ke-4 sampai 11 isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp <i>hygroscopicus</i> strain I18 dalam menghasilkan IAA.....	44
14. Media produksi dengan penambahan <i>Tryptophan</i> isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18 dalam menghasilkan IAA...	45

15. Supernatan direaksikan dengan reagen <i>salkowski</i> untuk menentukan waktu optimum inkubasi hari ke-4 sampai 11.....	46
16. Media ISP4 cair.....	47
17. Koloni <i>Streptomyces hygroscopicus</i>	47
18. Reagen <i>Salkowski</i>	47
19. Pengamatan mikroskopik <i>Streptomyces hygroscopicus</i>	47
20. Media ISP4 direaksikan dengan reagen <i>Salkowski</i>	47
21. Media ISP 4 agar.....	47
22. Hasil spektrofotometer	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata letak percobaan untuk menentukan waktu optimum inkubasi isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18 dalam menghasilkan IAA	19
2. Tata letak percobaan penambahan <i>Tryptophan</i> isolat <i>Streptomyces</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18 dalam menghasilkan IAA	19
3. Hasil pengukuran spektrofotometer kurva standar IAA sintetik.....	27
4. Hasil produksi IAA isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18 inkubasi hari ke-4 sampai 11.....	29
5. Hasil produksi IAA isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18 dengan penambahan <i>Tryptophan</i> 0-6 mg/mL.....	31
6. Interpretasi hubungan / korelasi (r) antara variabel bebas dan terikat.....	48
7. Data persamaan polinomial ortogonal waktu optimum inkubasi.....	48
8. Data persamaan polinomial ortogonal penambahan <i>Tryptophan</i>	49
9. Data untuk menentukan nilai R^2 waktu optimum inkubasi.....	49
10. Data untuk menentukan nilai R^2 penambahan <i>Tryptophan</i> optimum.....	49
11. Perhitungan nilai y dan x optimum waktu inkubasi produksi IAA <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18.....	50
12. Perhitungan nilai y dan x optimum penambahan <i>Tryptophan</i> produksi IAA isolat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> strain I18	50
13. Perbandingan konsentrasi IAA isolat <i>Streptomyces</i>	51
14. Nilai absorbansi pengukuran IAA waktu optimum inkubasi.....	51
15. Nilai absorbansi pengukuran IAA penambahan <i>Tryptophan</i>	51

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hormon tumbuhan diperlukan sebagai pembawa pesan kimiawi yang dapat mempengaruhi kemampuan tumbuhan untuk merespons lingkungan dan mempercepat pertumbuhan suatu tanaman. Salah satu fitohormon yang diperlukan dalam pertumbuhan tanaman adalah hormon auksin. Turunan auksin antara lain adalah *Indole Acetic Acid* (IAA) yang merupakan auksin alami, sedangkan auksin sintetis antara lain adalah *Naphthaleneacetic acid* (NAA), *Indole-3-butyric acid* (IBA), *2,4-Dichlorophenoxyacetic acid*, Dicamba, Picloram, *Trichlorophenoxyacetic acid*. Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) dapat dihasilkan oleh tanaman itu sendiri yaitu di jaringan meristematik seperti diujung akar dan tunas. Jumlah IAA yang dihasilkan oleh tanaman sedikit, sehingga perlu tambahan dari luar yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme.

Hormon IAA ini merupakan kelompok auksin utama yang berfungsi sebagai molekul sinyal penting dalam pengaturan perkembangan tanaman, pemanjangan akar dan mengaktivasi enzim (Ryu dan Patten, 2008). IAA berpengaruh besar pada perkembangan tanaman dengan meningkatkan serapan hara dengan produksi akar yang lebih panjang dan meningkatkan jumlah rambut akar lateral (Panigrahi *et al.*, 2019). Fitohormon IAA yang diperlukan oleh tanaman dapat dihasilkan oleh bakteri rizosfer. Bakteri rizosfer adalah bakteri yang terdapat pada daerah perakaran dan dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman secara langsung dan tidak langsung,

bakteri rizosfer biasanya merupakan PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Ryu & Patten, 2008). Strain PGPR yang diketahui menghasilkan auksin antara lain Actinomycetes, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Kocuria*, dan *Enterobacter* (Couillerot *et al.*, 2013).

Salah satu genus Actinomycetes yaitu *Streptomyces* yang berpotensi menghasilkan fitohormon jenis IAA. Pada penelitian Vejan *et al.* (2016) diketahui bahwa *Streptomyces* memiliki kemampuan untuk mensintesis molekul IAA yang dapat langsung membantu tanaman inang untuk pertumbuhan dan diferensiasi. Pada penelitian De Fretes *et al.* (2015) dijelaskan bahwa isolat *Streptomyces* sp. mampu menghasilkan IAA dan dapat dimanfaatkan sebagai agen *biostimulant* (senyawa organik alami) yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan meningkatkan respon tanaman terhadap cekaman.

Menurut penelitian Khamna *et al.* (2010) bahwa bakteri jenis *Streptomyces* sp. terdapat di tanah rizosfer dapat menjadi sumber penghasil hormon IAA. Produksi hormon IAA biasanya dipengaruhi oleh penambahan prekursor berupa *Tryptophan* pada media pertumbuhan. Pada penelitian Goudjal *et al.* (2013) menyatakan bahwa waktu inkubasi dan konsentrasi *Tryptophan* berpengaruh dalam menghasilkan IAA. Pada penelitian tersebut diketahui waktu inkubasi tertinggi pada hari ke-8 dan konsentrasi *Tryptophan* paling baik dalam menghasilkan IAA adalah 5 mg/mL. Pada penelitian De Fretes *et al.* (2015) hasil terbaik terdapat pada waktu inkubasi hari ke-5 dan hasil konsentrasi *Tryptophan* maximum dalam menghasilkan IAA isolat *Streptomyces* MSI yaitu 2 mg/mL, sedangkan isolat *Streptomyces* BR27 adalah 1 mg/mL.

Informasi terkait waktu inkubasi dan penambahan kadar *Tryptophan* optimum dalam menghasilkan IAA oleh isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 belum diketahui. Oleh karena itu, penelitian

ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 mampu menghasilkan hormon IAA dengan waktu optimum inkubasi dan penambahan kadar *Tryptophan* yang dapat membantu tanaman dalam pertumbuhan. Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian produksi IAA isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 ini perlu dilakukan.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui waktu optimum inkubasi isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam menghasilkan hormon IAA.
2. Mengetahui kadar *Tryptophan* optimum dalam menghasilkan IAA isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18.

1.3. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu mengetahui bahwa bakteri *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dapat menghasilkan hormon IAA yang berguna untuk pertumbuhan tanaman seperti membantu proses pemanjangan akar, meningkatkan kesuburan tanah sehingga dapat dimanfaatkan oleh petani dalam meningkatkan hasil pertanian.

1.4. Kerangka Pikir

Proses pertumbuhan tanaman memerlukan hormon, misalnya hormon auksin yang berguna untuk mempercepat pertumbuhan suatu tanaman. Hormon auksin dapat dihasilkan oleh tanaman itu sendiri, dan makhluk hidup seperti Actinomycetes. Actinomycetes merupakan jenis rizobakteri pemacu pertumbuhan. Actinomycetes dapat menghasilkan fitohormon IAA, hormon IAA berperan dalam proses perkembangan tanaman, seperti

perkembangan akar, pucuk, perkembangan buah dan proses pematangan. Produksi IAA oleh bakteri bervariasi, dapat dipengaruhi oleh waktu inkubasi, ketersediaan asam amino dan sumber N lainnya.

Waktu inkubasi dapat mempengaruhi kadar IAA yang dihasilkan karena konsentrasi IAA akan meningkat seiring dengan umur kultur sel mikroorganisme hingga memasuki fase stasioner. Pada fase awal eksponensial produksi IAA masih sedikit, hal ini dipengaruhi oleh kandungan enzim-enzim yang berperan dalam proses sintesis *Tryptophan* menjadi IAA masih rendah. Produksi hormon IAA paling optimal yaitu pada fase stasioner, karena enzim-enzim yang berperan dalam biokonversi *Tryptophan* menjadi hormon IAA telah terbentuk. Enzim yang berperan yaitu *Tryptophan monoooksigenase, indole 3 acetamid hydrolase, amino transferase, indole-3-piruvat dekarboksilase, indole-3-acetaldehyde dehydrogenase, Tryptophan dextarboxylase, amine-oxidase* dan *Nitrilase*. Enzim-enzim tersebut juga aktif sejalan dengan laju metabolisme bakteri. Penurunan produksi hormon IAA yaitu pada saat memasuki fase kematian karena terjadi kerusakan beberapa enzim akibat penumpukan sisa metabolisme dan menurunnya sumber karbon yang terkandung pada media pertumbuhan, sumber karbon digunakan mikroorganisme untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bagi metabolisme sel.

Kemampuan bakteri dalam memanfaatkan nutrisi berbeda-beda, penggunaan nutrisi oleh bakteri tergantung aktivitas metabolisme yang dilakukan. Bakteri mampu mengurai dan menggunakan nutrisi yang kompleks seperti karbohidrat, protein, lemak, dan asam amino. Dalam menghasilkan IAA, bakteri menggunakan asam amino *Tryptophan* yang terdapat pada media pertumbuhan kemudian disintesis menjadi IAA. Kadar *Tryptophan* pada media dapat mempengaruhi bakteri dalam menghasilkan IAA, karena jumlah bakteri yang terdapat di media hanya menghasilkan sisi aktif enzim berbanding lurus dengan jumlah bakteri. Pertumbuhan sel yang

cepat menyebabkan sintesis hormon IAA menjadi lebih tinggi, sehingga hormon IAA yang dihasilkan lebih besar.

1.5. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Diketahui waktu optimum inkubasi isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam menghasilkan hormon IAA.
2. Diketahui kadar *Tryptophan* optimum dalam menghasilkan hormon IAA isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)*

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) adalah rhizobakteri yang dapat memacu pertumbuhan tanaman, terdapat di daerah akar tanaman atau di dalam jaringan tanaman. Rizobakteri merupakan bakteri tanah yang terdapat pada permukaan akar, dapat memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara langsung dan tidak langsung.

Pengaruh secara langsung yaitu membantu perolehan sumber daya seperti nitrogen, fosfor, mineral esensial dan menghasilkan hormon tanaman. Sedangkan secara tidak langsung yaitu dapat mengurangi efek penghambatan berbagai patogen pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam bentuk agen biokontrol (Ahemed & Kibret, 2014). PGPR sebagai agen biokontrol karena dapat mengurangi tingkat penggunaan bahan kimia pertanian. Strain PGPR dapat melindungi dari penyakit tanaman sehingga PGPR merupakan aplikasi praktis yang dapat digunakan dalam bidang pertanian dan hortikultura (Kloepper *et al.*, 2004). Penggunaan PGPR adalah alternatif untuk mengatasi masalah yang disebabkan oleh efek samping pemakaian bahan kimia (Shailendra Singh, 2015).

Rizobakteri mampu merangsang pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme misalnya perbaikan nutrisi tanaman, produksi, regulasi fitohormon, dan penekanan organisme penyebab penyakit. Pada penelitian Yousef (2018) didapatkan hasil bahwa pupuk hayati alternatif yang baik dan dapat digunakan sebagai pupuk yang aman, ramah lingkungan serta dapat digunakan sebagai bioinokulan untuk mendorong pertumbuhan dan

perkembangan tanaman di bawah tekanan. Bakteri juga memiliki potensi penghasil IAA dalam kondisi salinitas, yang dapat menstimulasi pertumbuhan tanaman.

Rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman dapat diklasifikasikan menjadi *Ekstraseluler Plant Growth Promoter Rhizobacteria* disebut dengan istilah EPGPR dan *Intraseluler Plant Growth Promoter Rhizobacteria* disebut dengan istilah IPGPR (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). EPGPR terdapat di rizosfer, di *rhizoplane*, atau di ruang antar sel-sel korteks akar, sementara IPGPR umumnya berada di dalam struktur nodul khusus sel akar. Bakteri yang termasuk dalam EPGPR adalah *Streptomyces*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* dan *Serratia*. Sedangkan bakteri yang termasuk dalam IPGPR adalah keluarga *Rhizobiaceae*, *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* dan *Rhizobium* (Shailendra Singh, 2015).

2.2. Actinomycetes

Actinomycetes termasuk rizobakteri Gram positif, berbentuk batang, tidak tahan asam, bersifat anaerob fakultatif, dan memiliki filamen berupa hifa dan miselium. Ciri morfologi yang membedakan Actinomycetes dengan bakteri lain yaitu pertumbuhan koloni melekat erat pada permukaan agar. Dalam pengamatan secara makroskopik (langsung), bakteri diamati lebih berlendir jika dibandingkan dengan Actinomycetes, sedangkan pada jamur terlihat memiliki benang-benang. Ukuran koloni Actinomycetes relatif lebih kecil daripada koloni jamur (Shariffah-Muzaimah *et al.*, 2015).

Koloni Actinomycetes yang ditumbuhkan pada media agar dapat menyerupai koloni bakteri dan jamur. Beberapa actinomycetes memiliki morfologi koloni filamentous dengan hifa berfilamen seperti jamur, tetapi terdapat pula koloni Actinomycetes dengan tekstur seperti bubuk mirip dengan morfologi koloni bakteri (Arifuzzaman *et al.*, 2010). Actinomycetes

memiliki variasi dalam bentuk, elevasi, opasitas, margin, warna, dan ukuran. Actinomycetes dapat ditemukan di daratan maupun perairan, seperti hutan tropis, hutan mangrove, dan laut. Actinomycetes dapat diisolasi dari tanah, air, maupun sedimen. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dari Actinomycetes adalah ketersediaan nutrisi, temperatur tanah, pH, dan kelembaban (Wulandari dan Sulistyani, 2016).

Faktor pertumbuhan salah satunya yaitu ketersediaan nutrisi pada media pertumbuhan, media pertumbuhan mengandung nutrisi yang berbeda-beda sehingga dapat berpengaruh pada pigmen bakteri yang ditumbuhkan (Nanjwade *et al.*, 2010). Kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan pada pertumbuhan bakteri adalah karbon (C), nitrogen (N), fosfor (P), sulfur (S), kalium (K), magnesium (Mg), kalsium (Ca), natrium (Na) dan besi (Fe), serta mikronutrien yang dibutuhkan yaitu tembaga (Cu), mangan (Mn), seng (Zn), nikel (Ni), molibdenum (Mo), dan kobalt (Co). Media pertumbuhan untuk jenis Actinomycetes harus mengandung karbon dan nitrogen lebih banyak dibanding dengan media pertumbuhan untuk jenis bakteri lain (Wulandari dan Sulistyani, 2016). Pada penelitian Gozari (2016) menyatakan bahwa Actinomycetes lebih banyak tumbuh pada media *Starch Nitrate Agar*, karena pada media tersebut banyak mengandung pati dan nitrat sehingga dapat digunakan sebagai sumber karbon dan nitrogen isolat tersebut (Ghanem *et al.*, 2000). Pada bidang pertanian Actinomycetes merupakan salah satu bakteri yang berperan penting dalam pertumbuhan tanaman, Actinomycetes diketahui dapat meningkatkan jumlah bintil, berat pucuk, hasil produksi serta sebagai biokontrol pada tanaman buncis (Sreevidya *et al.*, 2016)

Peran Actinomycetes sebagai biokontrol salah satunya dapat menghambat penyakit patogen pada nanas yaitu *Dickeya Zeae*. Hasil isolasi dari tanah perkebunan nanas diperoleh 45 isolat Actinomycetes, 34 isolat Actinomycetes menunjukkan daya hambat terhadap penyakit patogen pada nanas dan 14 isolat Actinomycetes memiliki zona yang lebih besar dari

kontrol positif (Aeny *et al.*, 2018). Dalam penelitian Gurung (2009) didapatkan hasil isolasi dari tanah kering di daerah pegunungan Everest sebanyak 79 strain Actinomycetes. Velmurugan (2015) menjelaskan bahwa hasil isolasi didapatkan 56 strain Actinomycetes dari sedimen tambak udang di India. Populasi Actinomycetes yang menyebar di berbagai habitat misalnya di tanah, air tawar, air laut, dan ekosistem mangrove sehingga dapat mudah diisolasi dan dimanfaatkan (Sengupta *et al.*, 2015).

2.2.1. *Streptomyces*

Tanah memiliki nilai produktivitas yang tinggi karena terdiri dari berbagai macam organisme hidup didalamnya. Jenis mikroorganisme yang paling mendominasi di dalam tanah adalah *Streptomyces*. *Streptomyces* adalah prokariot yang merupakan salah satu genus dari kelas Actinomycetes (Owaga E.E, 2009). Strain *Streptomyces* tumbuh dengan baik pada suhu 20°C- 40°C, pH basa dan konsentrasi garam sampai dengan kadar 8%. Distribusi *Streptomyces* sp. di ekosistem beragam dikarenakan kemampuan beradaptasi di berbagai kondisi lingkungan, sehingga mampu bertahan hidup pada suhu tinggi, tanah asin dan pH basa (Sreevidya *et al.*, 2016). Sifat fisiologis dari strain *Streptomyces* yaitu mampu memproduksi enzim arginin dihidrolase, urease, protease, β -glukosidase dan β -galaktosidase (Nurkanto & Agusta, 2015). *Streptomyces* juga berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan, dan memiliki aktivitas antimikroba yang diisolasi dari rizosfer daerah lumpur sidoarjo (Arifiyanto *et al.*, 2020).

Menurut Kämpfer (2006) klasifikasi *Streptomyces* adalah sebagai berikut :

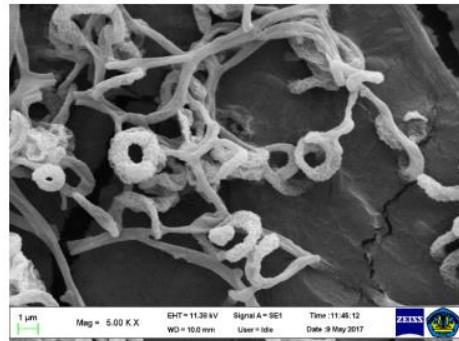
Kingdom : Bacteria
Phylum : Actinobacteria
Class : Actinomycetes
Order : Actinomycetales
Family : Streptomycetaceae
Genus : *Streptomyces*
Spesies : *Streptomyces* sp.

2.1.2. *Streptomyces hygroscopicus* Subsp. *hygroscopicus* Strain I18



Gambar 1. Isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 inkubasi 14 hari (Aeny et al., 2018).

Koloni isolat *Streptomyces hygroscopicus* berbentuk bulat dengan permukaan bertepung, memiliki bagian tepi yang bening dan melekat erat pada permukaan media. *Streptomyces hygroscopicus* yang telah diidentifikasi menggunakan mikroskop elektron memiliki bentuk spora bervariasi dari melingkar ke ellipsoidal, dan permukaan spora beraneka ragam dari yang halus sampai bertekstur tepung kasar (Aeny et al., 2018).



Gambar 2. Isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 di bawah pemindaian mikroskop elektron pada perbesaran 5000x (Aeny *et al.*, 2018).

Penelitian ini menggunakan isolat Actinomycetes jenis *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18, dilaporkan bahwa isolat tersebut berpotensi sebagai agen biokontrol *Dickeya zaeae* yang menyebabkan penyakit busuk lunak pada nanas. Isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 diperoleh dari proses isolasi bakteri tanah dari empat lokasi perkebunan nanas yang ada di Lampung, yaitu Terbanggi Besar (Lampung Tengah), Way Jepara (Lampung Timur), Astomulyo-Punggur (Lampung Tengah), dan Mulyajaya Tulang Bawang Tengah (Tulang Bawang Barat) (Aeny *et al.* 2018).

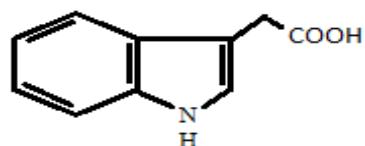
Isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 merupakan hasil isolasi di salah satu jenis tanah perkebunan nanas, jenis tanah perkebunan nanas terbanggi besar Lampung Tengah merupakan jenis tanah ultisol (Mahfut dkk., 2015). Sebaran jenis tanah ultisol sangat luas, meliputi hampir 25% dari total daratan Indonesia. Sifat-sifat tanah ultisol dapat menghambat pertumbuhan tanaman, diantaranya yaitu kondisi tanah yang masam, tekstur tanah liat berpasir, kandungan bahan organik rendah, dan kejenuhan aluminium yang tinggi (Nurul dkk., 2006).

2.3. Fitohormon

2.3.1. Pengertian Fitohormon

Fitohormon (*phytohormone*) berasal dari bahasa Yunani yaitu “*phytoes*” yang artinya tanaman dan “*hormaein*” yang artinya zat perangsang. Jadi fitohormon dapat didefinisikan sebagai zat-zat yang dapat merangsang pertumbuhan dan mengatur proses fisiologi tanaman. Fitohormon (hormon tumbuh tanaman) sangat penting untuk membantu mempercepat pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Sukmadi *et al.*, 2013).

2.3.2. Hormon Auksin



Gambar 3. Struktur IAA (Kholida dan Zulaika, 2015)

IAA adalah fitohormon yang berada di bawah kelompok auksin dan membantu dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan merangsang pemanjangan sel, inisiasi akar, perkecambahan biji dan pertumbuhan bibit. Pada penelitian Sreevidya *et al.*, (2016) menyatakan bahwa isolat *Streptomyces* sp. berfungsi sebagai agen biokontrol dan dapat menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA). Pada penelitian ini didapatkan bahwa salah satu *Streptomyces* sp. dapat meningkatkan panjang pucuk, akar dan meningkatkan jumlah nodul dalam pertumbuhan bibit kacang Arab.

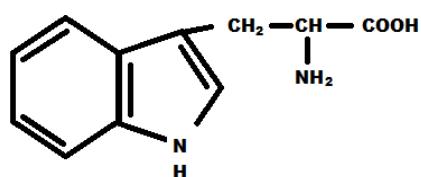
Dalam menghasilkan IAA, Actinomycetes memiliki kemampuan yang berbeda-beda. Actinomycetes menghasilkan auksin dengan adanya prekursor seperti *Tryptophan*. Kadar *Tryptophan* yang tinggi akan

terdapat dalam eksudat akar dari tumbuhan tersebut sehingga dapat meningkatkan biosintesis IAA oleh Actinomycetes (Ryu dan Patten, 2008).

Dalam pertumbuhan tanaman terdapat beberapa faktor yang dapat mengendalikan perkecambahan dan dormansi benih, termasuk hormon tumbuhan yang dihasilkan oleh bakteri tumbuhan dan tanah. Interaksi antara hormon tumbuhan dan gen tumbuhan mempengaruhi perkecambahan biji. Perkecambahan biji dikendalikan oleh sejumlah mekanisme yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan embrio, yang akhirnya menghasilkan produksi tanaman baru (Miransari dan Smith, 2014). Konsentrasi IAA meningkat seiring dengan umur kultur sampai bakteri mencapai fase stasioner, respons tanaman terhadap IAA yang dihasilkan mikroba berbeda-beda bergantung pada spesies tanaman dan konsentrasi IAA yang dilepaskan. Pertumbuhan sistem perakaran inang distimulasi oleh bakteri yang memproduksi IAA. Keuntungan dari asosiasi tanaman dengan bakteri adalah mensuplai sebanyak produk metabolit fiksasi karbon oleh tumbuhan ke rizosfer sebagai eksudat (Patten and Glick, 2002).

Auksin terbagi menjadi beberapa jenis antara lain : *Indole Acetic Acid* (IAA), *Indole Butyric Acid* (IBA), α *Naphthaleneacetic Acid* (NAA), dan *2,4-dichlorophenoxy acetic acid* (2,4-D). Auksin yang dihasilkan didalam tumbuhan disebut *endogenous*, di dalam tumbuhan IAA diproduksi dalam jaringan meristematik yang aktif, misalnya dihasilkan pada tunas apikal dan ujung akar. Sedangkan jenis auksin IBA dan NAA merupakan auksin sintetis (Arimarsetiowati & Ardiyani, 2012).

2.4. *Tryptophan* sebagai Prekursor IAA

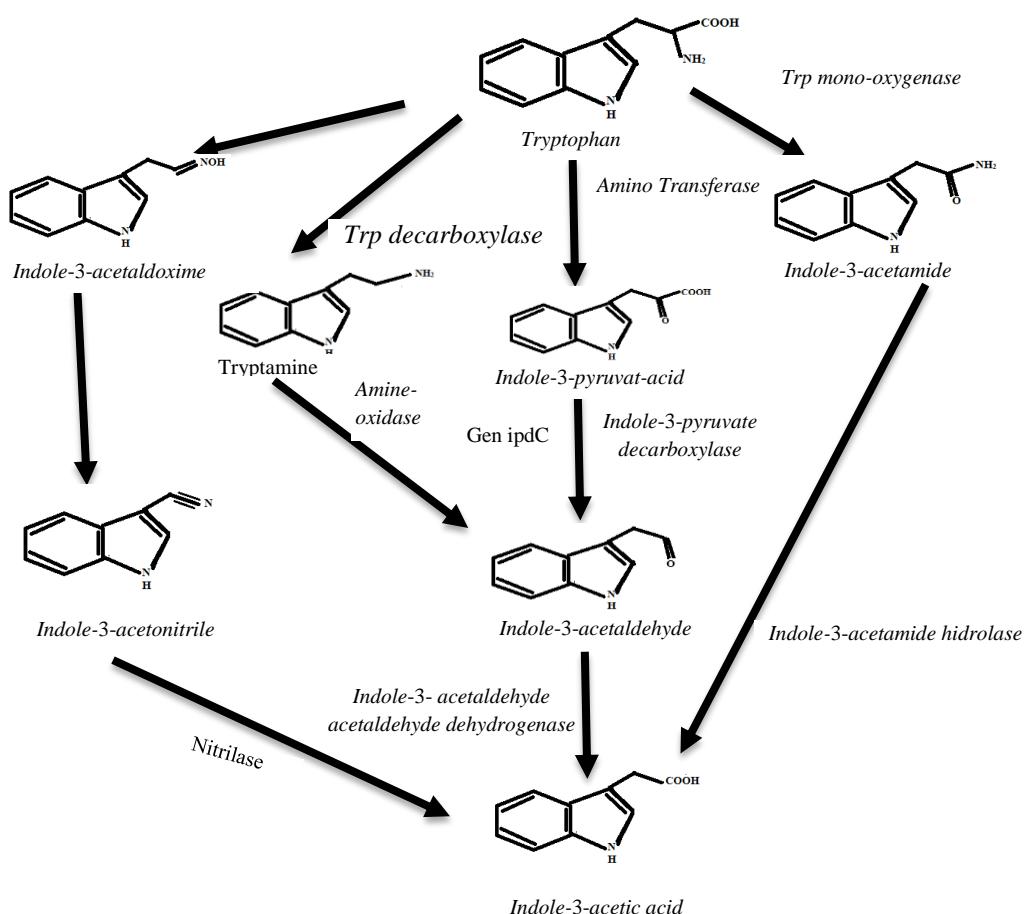


Gambar 4. Struktur *Tryptophan*

Tryptophan secara fisiologis merupakan prekursor biosintesis auksin pada tumbuhan tingkat tinggi dan mikroorganisme. Eksudat akar merupakan sumber utama *Tryptophan* di dalam tanah. *Tryptophan* yang ada di rizosfer memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan akar tanaman serta hasil panen. *Tryptophan* adalah prekursor produksi IAA di tanaman dan mikroorganisme. Media produksi yang ditambahkan *Tryptophan* dan direaksikan dengan reagen *Salkowski* menghasilkan warna merah muda hingga merah, menunjukkan jumlah IAA yang dihasilkan berbeda-beda setiap isolat, sehingga dapat disimpulkan bahwa produksi auksin tergantung pada karakteristik fenotip mikroorganisme, pertumbuhan bakteri, aktivasi metabolismik, ekspresi gen yang mengkode enzim pada proses biosintesis IAA, konstanta sintetik dan media pertumbuhan bakteri (Etesami *et al.*, 2009).

Kadar *Tryptophan* yang tinggi dalam eksudat akar dapat dipengaruhi oleh varietas atau spesies tanaman yang berbeda, sehingga dapat mendukung aktivitas mikroorganisme untuk produksi IAA. Pada penelitian Khamna *et al.*, (2010) didapatkan bahwa isolat *Streptomyces* yang diisolasi dari tanah *C. citratus rhizosphere* menunjukkan kemampuan yang tinggi dalam menghasilkan IAA.

2.4.1 Jalur Biosintesis IAA dengan *Tryptophan* sebagai Prekursor



Gambar 5. Jalur biosintesis IAA (Danapriatna, 2014).

Pada proses biosintesis IAA memiliki empat jalur yang dijelaskan oleh Danapriatna (2014) sebagai berikut :

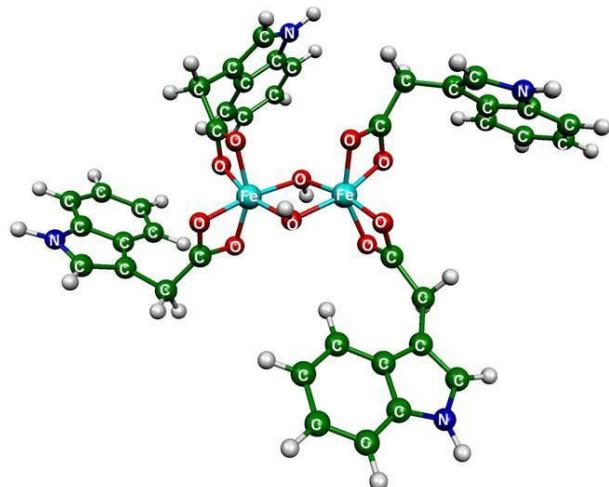
1. Jalur *Indole-3-acetamide* (IAM) merupakan jalur terbaik yang terdapat pada bakteri. Terdapat 2 jalur yaitu pertama *Tryptophan* dikonversikan menjadi IAM oleh enzim *Tryptophan-2-monoxygenase* (IaaM), dikode oleh gen *iaaM*. Tahap kedua adalah mengkonversi IAM menjadi IAA dengan bantuan enzim *IAM hydrolase* (IaaH), dikode oleh gen *iaaH*.
2. Jalur *Indole-3-pyruvate* (IPyA) adalah jalur utama untuk biosintesis IAA pada tanaman, tetapi melalui jalur IPyA terjadi juga pada bakteri. Tahap pertama pada jalur ini adalah konversi dari *Tryptophan* menjadi IPyA

oleh *aminotransferase (transamination)*. Tahap kedua yaitu IPyA mengalami dekarboksilasi menjadi *indole-3-acetaldehyde* (IAAld) oleh *indole-3-pyruvate decarboxylase* (ipdC). Langkah terakhir adalah IAAld dioksidasi menjadi IAA.

3. Jalur *Tryptamine* terdapat pada bakteri, diawali dengan proses dekarboksilasi *Tryptophan* menjadi *tryptamine* (TAM). Kemudian TAM secara langsung dikonversi menjadi IAA oleh *amine oxidase*.
4. Pada jalur *Indole-3-acetonitrile* (IAN) yaitu *Tryptophan* dikonversi menjadi IAN (*Indole-3-acetonitrile*), kemudian IAN dikonversi menjadi IAA dengan bantuan enzim *Nitrilase hydratase* .

2.5. Reaksi IAA dan Salkowski

Reaksi kimia antara besi (III) dengan *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) menghasilkan ikatan kompleks $[\text{Fe}_2(\text{OH})_2(\text{IAA})_4]$ yang mengakibatkan perubahan warna menjadi merah muda hingga merah. Perubahan warna tersebut diakibatkan karena adanya interaksi antara IAA dengan Fe sehingga elektron bebas dari ligan mengisi orbital d yang terdapat di Fe^{3+} .



Gambar 6. Struktur kompleks Fe dengan *Indole 3 Acetate* $[\text{Fe}_2(\text{OH})_2(\text{IAA})_4]$ (Kovács et al., 2006).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan April 2021, di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Pengukuran kandungan IAA dilakukan di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *laminar air flow*, autoklaf, botol gelap, tabung reaksi, *beaker glass*, volumetri 1 mL dan 25 mL, bola hisap, rak tabung, Erlenmeyer 50 mL dan 250 mL, sumbat, kertas label, spektrofotometer, bunsen, timbangan analitik, tisu, masker, sarung tangan, jarum ose, spatula, oven, *hot plate*, *magnetic stirrer*, pipet tetes, mikrotip, mikroskop.

Bahan- bahan yang digunakan dalam uji Kualitatif : *Tryptophan*, auksin jenis IAA, media ISP 4 (*International Streptomyces Project 4*) yang terdiri dari *Starch soluble*, K₂HPO₄, (NH₄)₂SO₄, CaCO₃, Agar, reagen *Salkowski* (H₂SO₄ pekat 150 mL, akuades 250 mL, dan FeCl₃.6H₂O 7,5 mL (dibuat dengan FeCl₃.6H₂O 10,65 gram, HN₃ 2 mL, akuades 100 mL) (Sari *et al.*, 2014).

3.3. Rancangan Percobaan

Produksi IAA isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dilakukan dengan 2 tahap penelitian, tahap pertama yaitu menentukan waktu optimasi produksi hormon IAA dan tahap kedua yaitu menentukan penambahan *Tryptophan* optimum pada media produksi IAA. Tahap pertama yaitu pembuatan starter yang diinkubasi pada *shaker incubator* selama 7 hari. Kemudian media ISP 4 cair dibuat untuk produksi IAA dengan ditambahkan 2 mg/mL *Tryptophan*. Media produksi pada inkubasi hari ke-4 sampai dengan 11 direaksikan dengan reagen *Salkowski* dan diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm.

Tahap kedua pada penelitian ini yaitu perlakuan penambahan *Tryptophan* pada media produksi dengan konsentrasi 0 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, 4 mg/mL, 5 mg/mL, 6 mg/mL. Media produksi ISP 4 tersebut dimasukan starter perbandingan 1:10 (1 mL starter : 10 mL media) dan diinkubasi dengan waktu optimum yang telah diketahui. Media produksi yang telah diinkubasi disentrifugasi dan direaksikan dengan reagen *Salkowski*. Untuk mengetahui kadar IAA diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm.

Metode yang digunakan dalam penelitian produksi IAA isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 yaitu metode kuantitatif dan penelitian dirancang menggunakan rancangan acak lingkungan (RAL). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Media produksi yang digunakan adalah media ISP 4 cair (*International Streptomyces Project 4*) dan diatur pHnya menjadi 6. Indikator yang dilihat yaitu terjadi perubahan warna pada media produksi setelah direaksikan dengan reagen *Salkowski*, perubahan warna media menjadi merah muda hingga merah.

Tabel 1. Tata letak percobaan untuk menentukan waktu optimum inkubasi isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam menghasilkan IAA.

I₄₋₁	I₆₋₁	I₈₋₃	I₁₀₋₃	I₅₋₁	I₇₋₃
I₅₋₃	I₁₁₋₁	I₉₋₁	I₆₋₂	I₇₋₁	I₆₋₃
I₇₋₂	I₈₋₁	I₁₀₋₁	I₅₋₂	I₈₋₂	I₉₋₂
I₁₁₋₂	I₁₀₋₂	I₁₁₋₃	I₄₋₃	I₉₋₃	I₄₋₂

Keterangan:

- I₄** : Inkubasi Hari 4
- I₅** : Inkubasi Hari 5
- I₆** : Inkubasi Hari 6
- I₇** : Inkubasi Hari 7
- I₈** : Inkubasi Hari 8
- I₉** : Inkubasi Hari 9
- I₁₀** : Inkubasi Hari 10
- I₁₁** : Inkubasi Hari 11
- I- 3** : Ulangan ke-1 sampai ke-3

Tabel 2. Tata letak percobaan penambahan *Tryptophan* isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam menghasilkan IAA.

T₀₋₁	T₁₋₁	T₃₋₃	T₀₋₃	T₅₋₁	T₁₋₃	T₃₋₂
T₃₋₁	T₂₋₁	T₄₋₁	T₁₋₂	T₂₋₂	T₆₋₁	T₄₋₃
T₆₋₂	T₅₋₃	T₂₋₃	T₅₋₂	T₄₋₂	T₀₋₂	T₆₋₃

Keterangan :

- T₀** : Tanpa penambahan *Tryptophan*
- T₁** : Penambahan *Tryptophan* 1 mg/mL
- T₂** : Penambahan *Tryptophan* 2 mg/mL
- T₃** : Penambahan *Tryptophan* 3 mg/mL
- T₄** : Penambahan *Tryptophan* 4 mg/mL
- T₅** : Penambahan *Tryptophan* 5 mg/mL
- T₆** : Penambahan *Tryptophan* 6 mg/mL
- I- 3** : Ulangan ke-1 sampai ke-3

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1. Pembuatan Kurva Standar *Indole Acetic Acid* (IAA)

Pembuatan kurva standar *Indole Acetic Acid* (IAA) dengan cara membuat larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm. IAA ditimbang sebanyak 0,01 gram dan dilarutkan dalam 100 mL metanol. Larutan IAA tersebut masing-masing dimasukkan 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), dan 400 μ L (40 ppm). Masing-masing ditambahkan metanol hingga volume larutan menjadi 1000 μ L, kemudian ditambahkan reagen *Salkowski* sebanyak 2 mL pada setiap tabung reaksi dan diinkubasi selama 60 menit di suhu ruang (28°C-30°C) pada kondisi gelap. Setelah diinkubasi dilihat perubahan warna larutan menjadi merah muda hingga merah. Larutan standar IAA diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm (Astriani *et al.*, 2014).

Kurva standar IAA dibuat untuk memperoleh suatu persamaan regresi linear yang digunakan untuk menghitung konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18. Kurva standar IAA yang dibuat menunjukan hubungan antara larutan standar IAA (x) dan absorbansinya (y). Konsentrasi IAA diperoleh menggunakan persamaan regresi sebagai berikut:

$$y = a + bx$$

Keterangan :

a = Intercept

b = slope

y = Absorbansi

x = Konsentrasi

Konsentrasi IAA dapat dihitung dengan mengganti peubah y pada persamaan regresi kurva standar IAA sintetik dengan hasil pengukuran absorbansi supernatan yang telah direaksikan dengan reagen *Salkowski*.

3.4.2. Produksi IAA Isolat *Streptomyces hygroscopicus* Subsp. *hygroscopicus* Strain I18

3.4.2.1. Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam peremajaan inokulum bakteri adalah ISP 4 padat dan untuk produksi IAA menggunakan media ISP 4 cair. Adapun pembuatan media ISP 4 padat yaitu dengan bahan bahan *Starch soluble* 10 gram, K₂HPO₄ 1 gram, MgSO₄.7H₂O 1 gram, NaCl 1 gram, (NH₄)₂SO₄ 2 gram, CaCO₃ 2 gram, agar 20 gram, akuades 1 liter. Bahan-bahan tersebut dimasukan ke dalam *beaker glass* dan di dihomogenkan di *hot plate*, kemudian media tersebut dimasukan Erlenmeyer steril dan dilakukan sterilisasi di autoklaf selama 15 menit.

3.4.2.2. Peremajaan Inokulum Bakteri

Media ISP 4 padat dituang ke dalam cawan petri sebanyak 15-20 mL dan ditunggu hingga memadat. Isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dikultur dengan menggunakan media ISP 4 padat dengan cara isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 diambil 1 ose dan diinokulasikan dengan metode *streak* kuadran ke dalam media ISP 4 yang telah di *plating*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-7 hari.

3.4.2.3. Pembuatan Starter Inokulum Bakteri

Pembuatan starter isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dengan cara memasukan 1 ose isolat ke dalam media ISP 4 cair dan diinkubasi selama 7 hari pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang (28°C-30°C).

3.4.2.4. Produksi IAA untuk Menentukan Waktu Optimum Inkubasi Isolat *Streptomyces hygroscopicus* Subsp. *hygroscopicus* Strain I18.

Media ISP 4 cair dibuat dengan penambahan *Tryptophan* sebagai prekursor, media produksi IAA ditambahkan *Tryptophan* sebanyak 2 mg/mL dengan pH yang diatur menjadi 6. Starter isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 yang telah diinkubasi, dimasukan ke dalam media yang telah dibuat dengan perbandingan 2 : 20 (2 mL starter : 20 mL media). Kemudian diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm kondisi gelap pada suhu ruang (28°C-30°C).

Pengukuran kadar IAA dilakukan pada hari ke-4 sampai 11, dengan cara mengambil media produksi sebanyak 2 mL dan sentrifugasi kecepatan 8000 rpm dengan waktu 10 menit untuk memisahkan supernatan dan pelet (Larosa *et al.*, 2013). Supernatan yang telah terpisah diambil 1 ml dan direaksikan dengan 2 mL reagen *Salkowski*, kemudian diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang (28°C-30°C) dan kondisi gelap. Dilihat perubahan warna yang terjadi, jika terjadi perubahan warna menjadi merah muda hingga merah dapat disimpulkan bahwa isolat dapat memproduksi hormon IAA dan dilakukan pengukuran absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm (Astriani *et al.*, 2014).

Pembuatan kontrol pada uji menggunakan media ISP 4 cair tanpa penambahan inokulum bakteri. Media ISP 4 disentrifugasi kecepatan 8000 rpm dengan waktu 10 menit untuk memisahkan supernatan dan pelet. Supernatan yang telah terpisah sebanyak 1 mL direaksikan dengan reagen *Salkowski* 2 mL dan di inkubasi selama 60 menit pada kondisi gelap. Pengukuran absorbansi kontrol menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm.

Hasil absorbansi pada pengukuran spektrofotometer panjang gelombang 530 nm, akan dianalisis menggunakan persamaan regresi linear kurva standar IAA yaitu $y = ax + b$. Analisis tersebut untuk mengetahui nilai x atau konsentrasi IAA yang dihasilkan isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18.

3.4.2.5. Produksi IAA dengan Penambahan *Tryptophan* Isolat *Streptomyces hygroscopicus* Subsp. *hygroscopicus* Strain I18.

Setelah mendapat data mengenai waktu optimum inkubasi isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam memproduksi IAA, media ISP 4 cair dibuat dengan ditambahkan *Tryptophan* 0 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, 4 mg/mL, 5 mg/mL, dan 6 mg/mL dengan pH 6. Masing-masing media tersebut ditambahkan starter dengan perbandingan 2 : 20 (2 mL starter : 20 mL media). Kemudian diinkubasi pada *shaker incubator* dengan suhu ruang (28°C-30°C) dalam kondisi gelap dengan waktu optimum isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam menghasilkan IAA. Pengukuran kandungan IAA dengan mengambil 2 mL produksi metabolit sekunder dimasukkan ke tabung reaksi dan sentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm dengan waktu 10 menit untuk memisahkan supernatan dan pelet. Supernatan akan digunakan untuk pengujian kadar IAA, dengan cara mengambil 1 mL supernatan

dan direaksikan dengan reagen *Salkowski* 2 mL, kemudian diinkubasi 60 menit pada kondisi gelap. Pengukuran absorbansi untuk mengetahui kandungan IAA menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm (Larosa *et al.*, 2013).

3.5. Analisis Data

Data uji pengaruh waktu optimum inkubasi dan penambahan *Tryptophan* isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam menghasilkan hormon IAA dianalisis menggunakan persamaan regresi polinomial ortogonal. Analisis menggunakan metode polinomial ortogonal karena variabel yang digunakan dalam penelitian ini memiliki jarak yang sama dan bersifat kuantitatif. Analisis tersebut dapat mendekripsi perlakuan optimal untuk menghasilkan hasil yang optimal, tujuannya untuk mendapatkan titik potong (x dan y), dimana x adalah perlakuan optimal dan y adalah respon/hasil optimal.

Sistem Persamaan Regresi Polinomial Ortogonal

$$\begin{pmatrix} N & \sum X & \sum X^2 \\ \sum X & \sum X^2 & \sum X^3 \\ \sum X^2 & \sum X^3 & \sum X^4 \end{pmatrix} \begin{Bmatrix} a \\ b \\ c \end{Bmatrix} = \begin{pmatrix} \sum Y \\ \sum XY \\ \sum X^2Y \end{pmatrix}$$

Dari rumus persamaan di atas digunakan untuk menentukan nilai D, D1, D2, dan D3 dengan aturan *cramer* (menghitung determinan variasi). Untuk mengetahui hasil hitung nilai D, D1, D2, dan D3 menggunakan metode kofaktor. Nilai D, D1, D2, D3 digunakan untuk mencari nilai a, b dan c pada persamaan regresi polinomial ortogonal.

$$a = \frac{D1}{D}$$

$$b = \frac{D2}{D}$$

$$c = \frac{D3}{D}$$

Dari rumus di atas, kemudian diketahui nilai regresi polinomial ortogonal $y = a + bx + cx^2$, dari persamaan tersebut dapat diketahui nilai duga x dan y optimum.

Untuk mengetahui nilai R^2 yaitu

$$R^2 = 1 - \frac{SS\ Error}{SS\ Total} = 1 - \frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum(y_i - \bar{y})^2}$$

Keterangan:

y_i = observasi respon ke-i

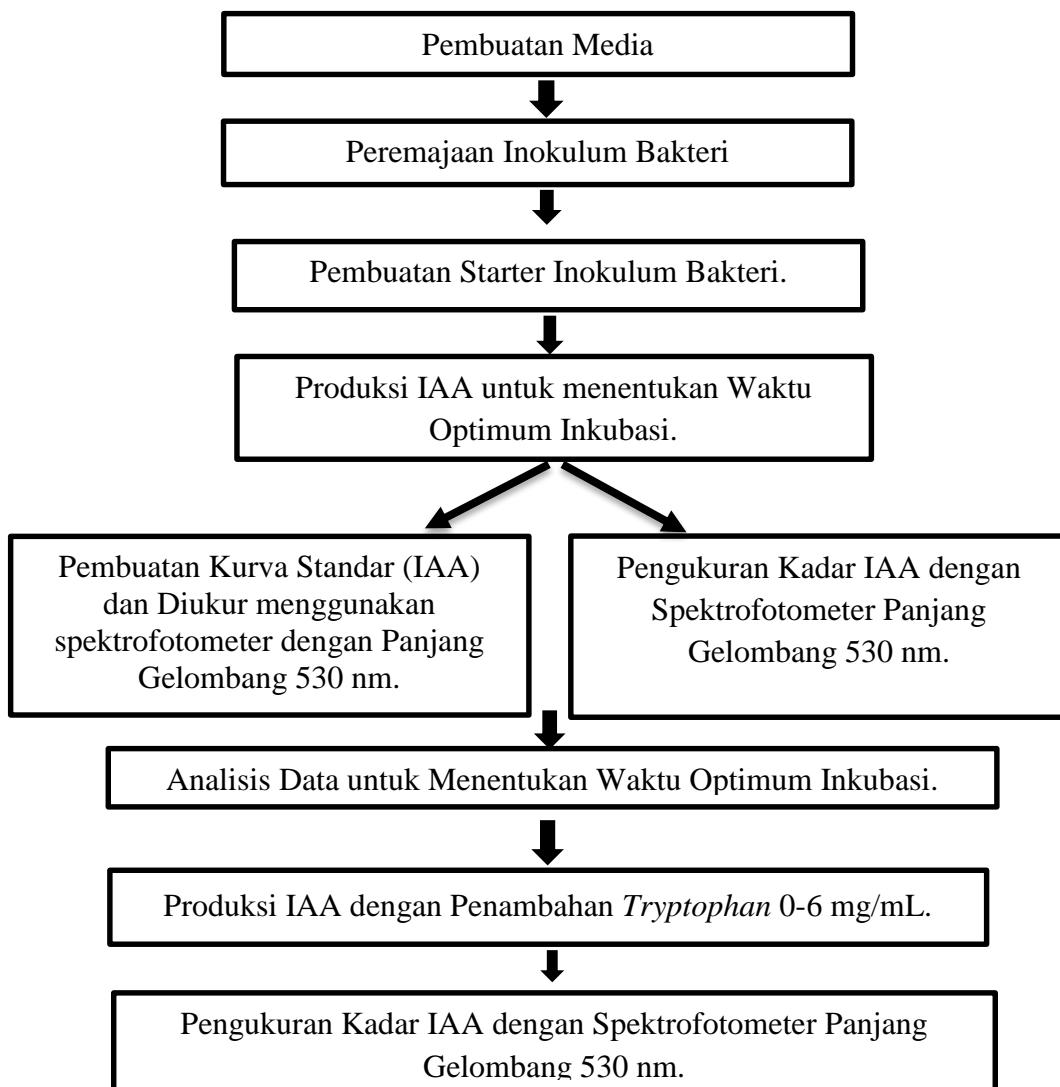
\hat{y}_i = ramalan respon ke-i

\bar{y} = rata-rata

Untuk mengetahui nilai korelasi/r

$$R = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum(y_i - \bar{y})^2}} \text{ atau } \sqrt{R^2}$$

3.6. Diagram Alir Penelitian



V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan

1. Waktu optimum inkubasi isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam menghasilkan IAA yaitu pada pengukuran hari ke- 9 dengan konsentrasi IAA sebesar 14,3 ppm.
2. Hasil penambahan kadar *Tryptophan* yang optimum dalam meningkatkan hasil produksi hormon IAA yaitu dengan penambahan *Tryptophan* sebanyak 5 mg/mL dengan konsentrasi IAA sebesar 18,4 ppm.

5.2. Saran

Adapun saran dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan aplikasi langsung ke tanaman untuk melihat pengaruh isolat *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus* strain I18 dalam membantu pertumbuhan tanaman.
2. Perlu membandingkan media produksi yang terjangkau dan mudah didapatkan oleh petani sehingga dapat diaplikasikan dengan mudah

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-allah, M. H., & Rasmey, A. 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), B182-B193–B193.
- Aeny, T. N., Prasetyo, J., Suharjo, R., Dirmawati, S. R., Efri, & Niswati, A. (2018). Short communication: Isolation and identification of actinomycetes potential as the antagonist of *dickeya zeae* pineapple soft rot in Lampung, Indonesia. *Biodiversitas*, 19(6), 2052–2058.
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1–20.
- Arifiyanto, A., Surtiningsih, T., Ni'matuzahroh, Fatimah, Agustina, D., & Alami, N. H. (2020). Antimicrobial activity of biosurfactants produced by actinomycetes isolated from rhizosphere of Sidoarjo mud region. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101513.
- Arifuzzaman, M., Khatun, M. R., & Rahman, H. (2010). Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activity. *African Journal of Biotechnology*, 9(29), 4615–4619.
- Arimarsetiowati, R., & Ardiyani, F. (2012). Pengaruh Penambahan Auxin Terhadap Pertunasan dan Perakaran Kopi Arabika Perbanyak Somatic Embryogenesis. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 28(2), 82–90.
- Astriani, F., Fibriarti, B. L., Zul, D., Program, M., Bidang, B., Jurusan, M., Fakultas, B., Dan, M., Pengetahuan, I., Kampus Bina, A., & Pekanbaru, W. (2014). Seleksi Isolat Jamur dalam Menghasilkan Hormon IAA (Indol Acetic Acid) Asal Tanah Gambut Rimbo Panjang Kabupaten Kampar. *Jom Fmipa*, 1(2), 1–11.
- Campbell, N. A. & J. B. Reece. (2010). *Biologi*, Edisi Kedelapan Jilid 1. Terjemahan: Damaring Tyas Wulandari. Jakarta: Erlangga.

- Couillerot, O., Ramírez-Trujillo, A., Walker, V., Von Felten, A., Jansa, J., Maurhofer, M., Défago, G., Prigent-Combaret, C., Comte, G., Caballero-Mellado, J., & Moënne-Locoz, Y. (2013). Comparison of prominent Azospirillum strains in Azospirillum-Pseudomonas- Glomus consortia for promotion of maize growth. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(10), 4639–4649.
- Danapriatna, N. (2014). Faktor Yang Mempengaruhi Biosintesis Iaa Oleh Azospirillum. *Jurnal Ilmiah Solusi*, 1(2), 82–88.
- De Fretes, C. E., Sembiring, L., & Purwestri, Y. A. (2015). Characterization of Streptomyces spp. Producing Indole-3-acetic acid as Biostimulant Agent. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 18(2), 83.
- Detraksa, J. (2018). *Sugarcane Seedling Growth Promotion by Indole Acetic Acid (IAA) Producing Streptomyces sp . AS14-2 Isolated from Rhizosphere of Sugarcane and Rice*. 6, 179–188.
- Etesami, H., Alikhani, H., & Akbari, A. (2009). Evaluation of plant growth hormones production (IAA) ability by Iranian soils rhizobial strains and effects of superior strains application on wheat growth. *World Appl Sci J*, 6(11), 1576–1584.
- Ghanem, N. B., Sabry, S. A., El-Sherif, Z. M., & Abu El-Ela, G. A. (2000). Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *Journal of General and Applied Microbiology*, 46(3), 105–111.
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu, F., & Zitouni, A. (2013). Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara: Indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(10), 1821–1829.
- Gozari, M., Mortazavi, M. S., Bahador, N., Tamadoni Jahromi, S., & Rabbaniha, M. (2016). Isolation and screening of antibacterial and enzyme producing marine actinobacteria to approach probiotics against some pathogenic vibrios in shrimp Litopenaeus vannamei. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(2), 630–644.
- Gurung, T. D., Sherpa, C., Agrawal, V. P., & Lekhak, B. (1970). Isolation and Characterization of Antibacterial Actinomycetes from Soil Samples of Kalapatthar, Mount Everest Region. *Nepal Journal of Science and Technology*, 10, 173–182.
- Idris, E. S. E., Iglesias, D. J., Talon, M., & Borriss, R. (2007). Tryptophan-dependent production of Indole-3-Acetic Acid (IAA) affects level of plant growth promotion by Bacillus amyloliquefaciens FZB42. *Molecular Plant*-

- Microbe Interactions*, 20(6), 619–626.
- Kämpfer, P 2006. The Family Streptomyces, Part 1 : Taxonomy BT-The Prokaryotik.
- Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J. F., & Lumyong, S. (2010). Indole-3-acetic acid production by Streptomyces sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *EurAsian Journal of Biosciences*, 32(May 2009), 23–32.
- Kloepper, J. W., Reddy, M. S., Rodriguez-Kabana, R., Kenney, D. S., Kokalis-Burelle, N., Martinez-Ochoa, N., & Vavrina, C. S. (2004). Application for rhizobacteria in transplant production and yield enhancement. *Acta Horticulturae*, 631, 217–229.
- Kovács, K., Kamnev, A. A., Mink, J., Németh, C., Kuzmann, E., Megyes, T., Grósz, T., Medzihradszky-Schweiger, H., & Vértes, A. (2006). Mössbauer, vibrational spectroscopic and solution X-ray diffraction studies of the structure of iron(III) complexes formed with indole-3-alkanoic acids in acidic aqueous solutions. *Structural Chemistry*, 17(1), 105–120.
- Larosa, S. F., Kusdiyantini, E., Raharjo, B., & Sarjiya, A. (2013). Kemampuan Isolat Bakteri Penghasil Indole Acetic Acid (Iaa) Dari Tanah Gambut Sampit Kalimantan Tengah. *Jurnal Biologi*, 2(3), 41–54.
- Mahfut, T., Buchari, H., Manik, K. E. S., & Cahyono, P. (2015). Kandungan Bahan Kasar dan Sifat Fisik Tanah Ultisol di Lahan Perkebunan Nanas Terbanggi Besar Lampung Tengah. *Agrotek Tropika*, 3(1), 155–159.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G., & Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by Rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(3), 293–319.
- Miransari, M., & Smith, D. L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110–121.
- Myo, E. M., Ge, B., Ma, J., Cui, H., Liu, B., Shi, L., Jiang, M., & Zhang, K. (2019). Indole-3-acetic acid production by Streptomyces fradiae NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth. *BMC Microbiology*, 19(1), 1–14.
- Nanjwade, B. K., Chandrashekara, S., Shamarez, A. M., Goudanavar, P. S., & Manvi, F. V. (2010). Isolation and morphological characterization of antibiotic producing actinomycetes. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(3), 231–236.

- Nurkanto, A., & Agusta, A. (2015). Identifikasi Molekular dan Karakterisasi Morfo-Fisiologi Actinomycetes Penghasil Senyawa Antimikroba. *Jurnal Biologi Indonesia*, 11(2), 195–203.
- Nurul, W., Teknologi, D. A. N., Tanah, P., & Untuk, U. (n.d.). *Hapludults Kandiudults Palehumults Plintudults Paleudults Luas berdasarkan batuan pembentuk tanah (ha) Sedimen M ...*
- Owaga E.E, O. C. . and C. . N. E. (2009). Isolasi Dan Aktivitas Antimikroba Aktinomycetes Dari Tanah Karst Taman Wisata Bantimurung Asal Maros Sulawesi Selatan. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 9(3), 1–8.
- Panigrahi, S., Mohanty, S., & Rath, C. C. (2019). Characterization of endophytic bacteria Enterobacter cloacae MG00145 isolated from Ocimum sanctum with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. *South African Journal of Botany*, 000, 1–10.
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3795–3801.
- Ryu, R. J., & Patten, C. L. (2008). Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by tyrr in *Enterobacter cloacae* UW5. *Journal of Bacteriology*, 190(21), 7200–7208.
- Sari, R., Prayudyaningsih, R., Penelitian, B., Hidup, L., Perintis, J., Km, K., & Selatan, S. (2014). *Efektivitas Lama Inkubasi Supernatan Rhizobia Setelah Penambahan Reagen Salkowski Terhadap Produksi Hormon Indole Acetic Acid*. 49–55.
- Sasirekha, B., Shivakumar, S., & Sullia, S. B. (2012). Statistical optimization for improved indole-3-acetic acid (iaa) production by *pseudomonas aeruginosa* and demonstration of enhanced plant growth promotion. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(4), 863–873.
- h, A., & Bhattacharyya, M. (2015). Antimicrobial activities of actinomycetes isolated from unexplored regions of Sundarbans mangrove ecosystem. *BMC Microbiology*, 15(1), 1–16.
- Shailendra Singh, G. G. (2015). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 07(02), 96–102.
- Shariffah-Muzaimah, S. A., Idris, A. S., Madiyah, A. Z., Dzolkhifli, O., Kamaruzzaman, S., & Cheong, P. C. H. (2015). Isolation of actinomycetes

- from rhizosphere of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) for antagonism against *Ganoderma boninense*. *Journal of Oil Palm Research*, 27(1), 19–29.
- Sreevidya, M., Gopalakrishnan, S., Kudapa, H., & Varshney, R. K. (2016). Exploring plant growth-promotion actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 85–95.
- Sukmadi, R. B., Puspittek, K., Serpong, G., & Selatan, T. (2013). *Aktivitas Fitohormon Indole-3-Acetic Acid (IAA) Dari Beberapa Isolat Bakteri*. 221–227.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. (2016). Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A review. *Molecules*.
- Velmurugan, S., John, S. T., Nagaraj, D. S., Ashine, T. A., Kumaran, S., & Pugazhvendan, S. R. (2015). Original Research Article Isolation of Actinomycetes from Shrimp Culture Pond and Antagonistic to Pathogenic *Vibrio* spp . and WSSV. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(7), 82–92.
- Wulandari, S., & Sulistyani, N. (2016). Pengaruh Media Terhadap Pertumbuhan Isolat Actinomycetes Kode Al35 Serta Optimasi Produksi Metabolit Antibakteri Berdasarkan Waktu Fermentasi dan pH. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(2), 186–198.
- Yousef, N. M. H. (2018). Capability of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) for producing indole acetic acid (IAA) under extreme conditions. *European Journal of Biological Research*, 8(4), 174–182.