

# EFEKTIVITAS LAMA INKUBASI SUPERNATAN RHIZOBIA SETELAH PENAMBAHAN REAGEN SALKOWSKI TERHADAP PRODUKSI HORMON *Indole Acetic Acid*

Ramdana Sari<sup>1, a)</sup> dan Retno Prayudyaningsih<sup>1</sup>

Balai Penelitian dan Pengembangan Lingkungan Hidup dan Kehutanan Makassar  
Jln. Perintis Kemerdekaan Km. 16,5, Makassar, Sulawesi Selatan

<sup>a)</sup> email: ramdana\_sari@yahoo.co.id

**Abstrak.** Rhizobia sebagai bakteri penambat nitrogen simbiotik juga menghasilkan fitohormon *Indole Acetic Acid* (IAA) yang mampu merangsang perkembangan akar. Aplikasi rhizobia dalam revegetasi lahan bekas tambang diperlukan untuk menghadapi kondisi tapak yang miskin unsur hara dan kepadatan tanah tinggi. Penambatan nitrogen dan produksi IAA oleh Rhizobia diharapkan membantu pertumbuhan tajuk dan akar tanaman. Namun demikian, produksi hormon IAA oleh rhizobia bervariasi tergantung jenis bakteri, kondisi media pertumbuhan dan lama inkubasi supernatan setelah penambahan reagen Salkowski. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengaruh lama inkubasi supernatan yang berasal dari kultur rhizobia setelah penambahan reagen Salkowski terhadap produksi IAA. Isolat bakteri rhizobia dari lahan bekas tambang nikel ditumbuhkan pada media Luria Bertani selama 7 hari. Supernatan yang terbentuk kemudian diinkubasi selama 30, 60, 90 dan 120 menit setelah penambahan reagen. Hormon IAA yang dihasilkan kemudian diukur menggunakan spektrofotometer *UV-Visible*. Hasil pengujian menunjukkan sebanyak 31 isolat dari 40 isolat Rhizobia yang diuji menghasilkan hormon IAA tertinggi pada inkubasi selama 120 menit. Hal ini mengindikasikan semakin lama supernatan bereaksi dengan reagen maka IAA yang terbentuk juga semakin banyak. Waktu inkubasi yang menghasilkan hormon IAA tertinggi ini dapat dijadikan dasar untuk tahap uji produksi IAA oleh rhizobia selanjutnya.

**Kata kunci:** *Indole Acetic Acid*, Inkubasi, Reagen Salkowski, Rhizobia, Supernatan

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Mikroba tanah merupakan salah satu komponen biotik penyusun tanah yang memiliki jumlah dan jenis melimpah. Keberadaan mikroba pada ekosistem tanah sangat penting, karena berperan pada siklus hara, dekomposisi bahan organik dan kesuburan tanah baik secara langsung maupun tidak langsung. Salah satu kelompok mikroba tanah yang berperan dalam siklus unsur hara, khususnya Nitrogen adalah Rhizobia. Bakteri ini mampu melakukan hubungan simbiosis dengan legum melalui pembentukan bintil pada akar tanaman inang. Rhizobia hidup pada daerah perakaran (rhizosfer). Kondisi rhizosfer sangat menguntungkan Rhizobia karena akar mensekresikan metabolit tanaman berupa asam organik dan mineral (eksudat akar) yang digunakan bakteri untuk tumbuh dan berkembang (Parewa *et al.*, 2014: 101). Kemampuan rhizobia menambat nitrogen hanya terjadi ketika bakteri tersebut bersimbiosis dengan akar legum. Potensi lain bakteri Rhizobia adalah kemampuannya menghasilkan hormon pertumbuhan, seperti hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) (Kumari *et al.*, 2009: 10). Kemampuan rhizobia menambat nitrogen dari atmosfer dan mengubahnya menjadi bentuk yang tersedia bagi tanaman (Hendriyani *et al.*, 2009: 149) serta menghasilkan fitohormon (Mahagiani, 2010: 2) menyebabkan bakteri ini dapat dimanfaatkan sebagai biofertilizer (A'ini, 2013: 232).

Pemanfaatan Rhizobia sebagai biofertilizer untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman diharapkan juga berdampak terhadap perbaikan kesuburan tanah. Terlebih apabila aplikasi rhizobia dilakukan dalam revegetasi lahan bekas tambang. Pattimahu (2004: 5) menyatakan salah satu kerusakan ditinjau dari aspek kimia yang terjadi pada lahan bekas tambang adalah rendahnya kandungan unsur N, P, Ca, Mg dan K yang dibutuhkan oleh tanaman. Selain itu, struktur tanah

yang padat pada lahan bekas tambang menyebabkan laju penetrasi akar tanaman menjadi terhambat sehingga daerah pemanjangan akar menjadi semakin pendek. Oleh karena itu kondisi tapak lahan bekas tambang tidak mampu mendukung pertumbuhan tanaman sehingga upaya reklamasi pun umumnya mengalami kendala. Parewa *et al.* (2014: 102) menyatakan bahwa PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) seperti *Rhizobia* mampu meningkatkan kesuburan tanah dan mendukung pertumbuhan tanaman. *Indole Acetat Acid* yang dihasilkan *Rhizobia* mampu meningkatkan jumlah rambut akar dan akar lateral tanaman sehingga penyerapan nutrisi di dalam tanah menjadi maksimal (Larosa *et al.*, 2013: 43).

Potensi *rhizobia* dalam menghasilkan fitohormon dapat diketahui dengan melakukan uji biokimia. Ummamie *et al.* (2013: 578) menyatakan bahwa tujuan dari uji biokimia adalah untuk mengidentifikasi mikroba secara fisiologis berdasarkan reaksinya terhadap suatu uji tertentu. Produksi IAA oleh *rhizobia* bervariasi tergantung pada jenis bakteri dan kondisi media pertumbuhannya. Supernatan dari kultur *rhizobia* yang telah diinkubasi kemudian ditambahkan reagen Salkowski untuk menentukan kandungan hormon IAA yang dihasilkan. Reagen Salkowski akan bereaksi dengan supernatan dan akan menghasilkan warna merah setelah diinkubasi dengan waktu tertentu. Perubahan supernatan menjadi warna merah merupakan indikator terbentuknya IAA (Zulaika dan Laili, 2015: 4). Isolat *Rhizobia* yang diisolasi dari lahan bekas tambang nikel terbukti mampu menghasilkan hormon IAA setelah penambahan reagen Salkowski selama 30 menit (Sari dan Prayudyaningsih, 2018: 5). Suriaman (2010: 51) menyatakan waktu sangat mempengaruhi nilai IAA yang dihasilkan oleh bakteri endofit, seperti *Rhizobia*, setelah penambahan reagen Salkowski. Informasi durasi inkubasi yang tepat sangat diperlukan agar IAA yang dihasilkan oleh *Rhizobia* optimal. Oleh karena itu penentuan lama inkubasi supernatan *Rhizobia* yang telah ditambahkan reagen Salkowski terhadap produksi IAA sangat perlu dilakukan.

## Tujuan

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan lama inkubasi supernatan kultur *Rhizobia* setelah penambahan reagen Salkowski terhadap konsentrasi IAA yang dihasilkan. Durasi waktu inkubasi yang menghasilkan IAA tertinggi dapat dijadikan dasar dalam uji produksi IAA selanjutnya oleh *Rhizobia*.

## METODE

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminary air flow*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *shaker*, *vortex*, *autoclave*, timbangan digital, spektrofotometer *UV-Visible*, sentrifuse, Erlenmeyer, spoit dan spatula. Bahan-bahan yang digunakan adalah media LB (*Luria Bertani*) yang terdiri Tryptone Water 15 gr/L, Yeast extract 5 gr/L, aquadest 1 L; reagen Salkowski berupa  $H_2SO_4$  150 ml,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  7.5 ml, aquadest 250 ml;  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  terdiri dari  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  10.65 gr,  $HNO_3$  2 ml, aquadest 100 ml; kapas; dan aluminium foil. Isolat *rhizobia* yang digunakan adalah hasil isolasi dari tanah lahan bekas tambang nikel di Konawe Utara (Prayudyaningsih *et al.*, 2015). Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2016 di Laboratorium Mikrobiologi, Balai Penelitian dan Pengembangan Lingkungan Hidup dan Kehutanan Makassar.

### Teknik Pengumpulan Data

Sebanyak 40 isolat *rhizobia* yang diisolasi dari lahan bekas tambang nikel di Konawe Utara (Prayudyaningsih *et al.*, 2015: 33) diuji kemampuan dalam menghasilkan hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) pada penelitian ini. Untuk mengetahui kemampuan *rhizobia* dalam menghasilkan hormon pertumbuhan IAA secara *in vitro*, maka isolat-isolat tersebut ditumbuhkan dalam 20 ml media LB (*Luria Bertani*) cair dan diinkubasi selama 7 hari di atas shaker dengan kecepatan 100 rpm. Kandungan IAA yang dihasilkan *rhizobia* lebih tinggi setelah 7 hari inkubasi (Sari dan Prayudyaningsih, 2018: 7). Kultur *rhizobia* kemudian disentrifuse dengan kecepatan 4.000 rpm selama 12 menit. Konsentrasi IAA dapat dideteksi secara kualitatif dengan metode kolorimetri menggunakan reagen Salkowski. Sebanyak 2 ml supernatan isolat *Rhizobia* diambil dan ditambahkan 1 ml reagen Salkowski, selanjutnya didiamkan selama 30 menit (Sari dan

Prayudyaningsih, 2018: 3). Analisis selanjutnya dilakukan secara kuantitatif dengan metode spektrofotometri. Supernatan yang telah ditambahkan reagen Salkowski kemudian divortex hingga homogen. Warna pink yang terbentuk setelah penambahan reagen Salkowski diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 520 nm (Gordon dan Weber, 1951: 192). Untuk membandingkan produksi hormon IAA berdasarkan lama inkubasi supernatan setelah penambahan reagen Salkowski, maka pengukuran dilakukan pada inkubasi 60, 90 dan 120 menit.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Kultur rhizobia yang telah diinkubasi selama 7 hari diduga mengandung metabolit sekunder bakteri berupa hormon *Indole Acetic Acid* (IAA). Hormon ini mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Untuk mengetahui kandungan IAA yang terbentuk, maka supernatan yang berasal dari kultur rhizobia ditambahkan reagen Salkowski. Hormon IAA dapat dideteksi dengan menggunakan reagen Salkowski (Larosa *et al.*, 2013: 44). Supernatan yang telah ditambahkan reagen Salkowski menunjukkan perubahan warna bervariasi. Beberapa supernatan berubah menjadi warna merah muda, orange dan lainnya tidak mengalami perubahan warna (tetap berwarna kuning). Perubahan warna supernatan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Supernatan yang berasal dari kultur rhizobia (a) Supernatan yang belum ditambahkan reagen Salkowski; (b) Perubahan warna supernatan setelah ditambahkan reagen Salkowski

Sari dan Prayudyaningsih (2018: 5) yang menginkubasi supernatan rhizobia selama 30 menit menunjukkan beberapa warna supernatan yang bervariasi, yaitu 2 supernatan yang berwarna merah muda, 22 supernatan berwarna orange dan 6 supernatan berwarna kuning. Warna supernatan setelah inkubasi selama 60, 90 dan 120 menit relatif tidak menunjukkan perubahan warna yang signifikan. Untuk mengetahui kandungan IAA pada supernatan serta perubahan yang terjadi setelah masa inkubasi supernatan yang berbeda-beda, maka analisis dilanjutkan dengan metode kuantitatif. Kandungan IAA pada supernatan yang diinkubasi pada beberapa waktu yang bervariasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan hormon *Indole Acetic Acid* pada supernatan setelah penambahan reagen Salkowski

Kode Isolat Rhizobia	Kandungan IAA (ppm)			
	30 menit*	60 menit	90 menit	120 menit
A2.1T2	0.271	0.283	0.291	0.300
A2.1T5	0.374	0.380	0.387	0.396
A2.2T1	0.519	0.553	0.565	0.577
A2.2T6	0.342	0.351	0.355	0.355
A2.21T6	0.222	0.230	0.230	0.246
A2.4T8	0.585	0.630	0.646	0.663
BF A2.1.4	0.385	0.403	0.406	0.410
BF A2.2.1	0.518	0.512	0.504	0.516
BF A2.2.13	0.261	0.277	0.280	0.287
BF A2.3.4	0.449	0.457	0.459	0.475
A3.1.1	0.521	0.535	0.548	0.558

A3.1.2	0.357	0.366	0.369	0.382
A3.2.5	0.308	0.317	0.325	0.333
A3.3.4	0.361	0.368	0.373	0.381
A3.3.5	0.425	0.433	0.442	0.465
A1.2.1	0.570	0.586	0.609	0.633
A1.3.7	0.409	0.414	0.418	0.429
A6.1.11	1.105	1.287	1.407	1.481
A6.2.5	0.377	0.390	0.395	0.407
A6.1.13	0.474	0.488	0.489	0.495
A6.3.9	0.548	0.579	0.587	0.600
HT 1.5	0.606	0.663	0.690	0.711
HT 2.6	0.595	0.604	0.605	0.605
HT 3.2	0.610	0.630	0.636	0.638
HT 3.4	0.495	0.537	0.542	0.552
HT 3.9	0.675	0.683	0.696	0.703
HT 4.1	0.788	0.801	0.887	0.814
HT 4.4	0.599	0.601	0.613	0.620
HT 4.5	0.532	0.549	0.556	0.569
HT 5.2	1.039	1.119	1.167	1.200
HL 1.3	0.651	0.731	0.769	0.800
HL 4.1	0.818	0.875	0.814	0.906
HL 5.4	0.340	0.347	0.357	0.367
HL 6.2	0.587	0.578	0.567	0.567
HL 6.7	0.736	0.773	0.794	0.790
A1.1 SB1	0.328	0.341	0.341	0.345
A1.1 SB8	0.314	0.324	0.317	0.317
A3.3 SB3	0.394	0.403	0.398	0.395
A3.3 SB4	0.285	0.298	0.306	0.307
A3.1 SB5	0.432	0.447	0.433	0.425

Keterangan : warna kuning menunjukkan kandungan IAA tertinggi yang dihasilkan; \* sumber (Sari dan Prayudyaningsih, 2018: 7)

Hasil pengukuran kandungan IAA dengan spektrofotometer *UV-Visible* menunjukkan semakin lama waktu inkubasi mampu meningkatkan produksi IAA oleh sebagian besar isolat.. Namun demikian beberapa isolat justru mengalami penurunan produksi IAA akibat semakin lamanya inkubasi. .Sebanyak 2 isolat (BF A2.2.1 dan HL 6.2) menghasilkan IAA lebih banyak setelah inkubasi supernatan selama 30 menit (Sari dan Prayudyaningsih, 2018: 7), tetapi setelah inkubasi 60, 90 dan 120 menit justru menurun produksi IAAnya. Sementara 3 isolat rhizobia (A1.1 SB8, A3.3 SB3 dan A3.1 SB5) menghasilkan IAA terbanyak pada inkubasi supernatan selama 60 menit dan 4 isolat lainnya (A2.2T6, HT 2.6, HT 4.1 dan HL 6.7) pada inkubasi selama 90 menit.produksi IAAnya lebih tinggi dibanding inkubasi 30, 60 dan 120 menit.

## Pembahasan

Fitohormon merupakan senyawa organik yang dihasilkan oleh tanaman atau mikroorganisme dan mampu mendukung pertumbuhan tanaman. Meskipun senyawa tersebut terdapat dalam jumlah yang relatif sedikit di alam, tetapi memiliki pengaruh sangat besar terhadap pertumbuhan dan produktivitas tanaman. *Indole acetic acid* (IAA) merupakan salah satu fitohormon golongan auksin alami yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, induksi pertumbuhan akar, serta perkembangan bunga dan buah (Kukavica *et al.*, 2007: 319). IAA dapat ditemukan pada hampir semua jenis tanaman (Leveau dan Lindow, 2005: 2365).

Hormon IAA dikelompokkan menjadi 2 jenis berdasarkan asal produksinya, yaitu IAA endogen yang dihasilkan oleh tumbuhan itu sendiri dan IAA eksogen yang dihasilkan oleh organisme atau mikroorganisme selain tumbuhan (Aini, 2006: 232). Hormon IAA endogen disintesis pada bagian ujung akar, batang dan saat pembungaan sehingga belum banyak dihasilkan pada awal perkecambahan (Mahagiani, 2010: 6). Haq dan Dahot (2007: 731) menyatakan bahwa IAA endogen yang disintesis pada meristem tanaman diperlukan saat elongasi (pemanjangan) sel

berlangsung (sebelum terjadi diferensiasi sel) sedangkan IAA eksogen membantu memperbaiki mutu tunas dan pembentukan akar. Kelebihan IAA eksogen yaitu dapat langsung bekerja pada sel sehingga lebih cepat merangsang pertumbuhan dan perkembangan tanaman sedangkan IAA endogen baru dapat bekerja setelah selesai di produksi melalui jalur metabolisme yang panjang (Mahagiani, 2010: 2). Vessey (2003: 573) menambahkan bahwa IAA eksogen dapat menghasilkan vitamin dan asam organik yang mampu merangsang pertumbuhan bulu akar.

Hormon IAA merupakan produk utama dari metabolisme L-triptofan pada beberapa mikroorganisme, termasuk rhizobia (Mohite, 2013: 638). Senyawa L-tryptophan merupakan prekursor dalam biosintesis IAA pada tanaman dan mikroba (Khalid *et al.*, 2004: 474). Rhizobakteri yang hidup di daerah perakaran mampu mensintesis IAA sebagai metabolit sekundernya karena area ini banyak mengandung eksudat akar (eksudat akar mengandung triptofan) (Jumadi *et al.*, 2015: 46). Jalur pembentukan IAA yang bergantung pada triptofan umum terjadi pada bakteri (Andanawarih, 2008: 12). Manulis *et al.* (1998: 634) menyatakan bahwa *Bradyrhizobium* mensintesis IAA melalui jalur indole-3-pyruvic acid (IPyA). Markosim *et al.*, (2011: 17) menjelaskan bahwa bakteri penghasil IAA (Auksin) memiliki gen Tms 1 yang mensintesis enzim Tryptophan-mono-oxygenase untuk mengubah triptofan menjadi Indole-3-acetamid dan gen Tms 2 yang mensintesis enzim Indole-3-acetamid hydrolase untuk mengkonversi Indole-3-acetamid menjadi Indole-3-Acetic Acid (IAA). Sedangkan enzim-enzim yang dibutuhkan dalam biokonversi triptofan menjadi IAA, seperti triptofan monooksigenase, IAM hydrolase, indole-piruvat dekarboksilase dan IAAid dehydrogenase (Lasmini *et al.*, 2014: 60). Sintesis IAA dihasilkan setelah fase stasioner (Markosim *et al.*, 2011: 17).

Media Luria Bertani (LB) merupakan media tumbuh rhizobia yang mengandung tryptone (tryptone mengandung banyak senyawa aromatik tryptofan) (Aini *et al.*, 2006: 58). Oleh karena itu, media LB mampu merangsang terbentuknya enzim untuk sintesis IAA pada bakteri rhizobia. Koga *et al.* (1991: 705) menambahkan bahwa media LB mengandung karbon yang rendah, tetapi triptofan dan sumber mineral yang dikandungnya mampu menjaga kekuatan ion dan berperan dalam produksi fitohormon. Kadar glukosa yang rendah didalam media bertujuan agar bakteri memanfaatkan tryptofan sebagai sumber energi ketika glukosa sudah habis dan mengkonversinya menjadi IAA (Markosim *et al.*, 2011: 16). Reagen Salkowski dapat bereaksi dengan asam indol piruvat yang diduga terdapat pada filtrat (supernatan) yang diuji sehingga menyebabkan terbentuknya warna merah (Patten dan Glick, 2002: 3797). Glickmann dan Dessaux (1995: 793) menambahkan bahwa Salkowski dapat mendeteksi senyawa-senyawa antara dalam sintesis IAA, seperti triptofan, triptamin, triptofol, asam indol piruvat, asam indol laktat (ILA) dan indol asetamida (IAM).

Supernatan yang telah ditambahkan reagen Salkowski menunjukkan perubahan warna yang bervariasi setelah 30 menit inkubasi, yaitu warna merah muda, orange dan lainnya tidak mengalami perubahan warna (tetap berwarna kuning) (Sari dan Prayudyansih, 2018: 5). Supernatan yang berwarna merah muda mengindikasikan adanya kandungan IAA yang terbentuk sedangkan yang tidak mengalami perubahan warna tidak mengandung IAA atau hanya mengandung sedikit IAA (Mawarti *et al.*, 2017: 40). Perubahan warna menjadi kemerahan pada supernatan terjadi karena adanya reaksi  $\text{FeCl}_3$  dan  $\text{HClO}_4$  dari reagen Salkowski dengan IAA yang membentuk senyawa kompleks tris-(indole-3-aceto)-iron (III) yang akan membentuk warna merah muda (Kholida dan Zulaika, 2015: 3519). Perubahan warna supernatan setelah diinkubasi selama 60, 90 dan 120 menit tidak menunjukkan perubahan yang signifikan. Untuk mengetahui kandungan IAA yang terbentuk serta perubahan kandungan IAA pada keempat waktu inkubasi supernatan, maka dilakukan pengukuran IAA dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Visible*.

Kandungan IAA yang dihasilkan isolat rhizobia bervariasi berdasarkan lama inkubasi supernatan setelah penambahan reagen Salkowski. Umumnya kandungan IAA tertinggi yang dihasilkan pada inkubasi supernatan selama 120 menit. Hal ini dapat dilihat pada 31 isolat Rhizobia. Sebanyak 4 isolat menghasilkan IAA tertinggi pada 90 menit inkubasi, 3 isolat menghasilkan IAA tertinggi pada 60 menit inkubasi dan 2 isolat lainnya menghasilkan IAA tertinggi pada 30 menit inkubasi. Widyasari *et al.* (2016, 56) dan Suriaman (2010: 54) menginkubasi supernatan rhizobakteri setelah penambahan reagen Salkowski selama 60 menit dan menghasilkan hormon IAA sebanyak 6.01 – 125.14 ppm. Sedangkan Tarigan *et al.* (2013: 46) menginkubasi supernatan rhizobakteri penambat nitrogen selama 20 menit dan menghasilkan IAA sebesar 18.0 – 33.3 ppm. Hal ini menunjukkan waktu inkubasi optimal pada setiap jenis bakteri berbeda-beda untuk menghasilkan hormon IAA yang lebih banyak.

Mawarti *et al.* (2017: 40) menambahkan kombinasi Fe dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dalam pereaksi Salkowski merupakan pereaksi tunggal yang mampu meningkatkan kepekaan dalam mendeteksi

terbentuknya IAA. Warna yang dihasilkan pada supernatan tidak stabil (cepat terbentuk kemudian menghilang) (Suriaman, 2010: 52). Penggunaan reagen (pereaksi) ini dapat membaca nilai IAA pada 15 menit setelah penambahan pereaksi sampai 30 menit berikutnya, serta mampu menjangkau secara maksimal warna yang telah memudar (Gordon dan Weber, 1950).

Taiz dan Zeiger (2002) dalam Wahyuni et al. (2016: 38) menyatakan proses pertumbuhan tanaman (pertambahan tinggi) terjadi ketika hormon IAA meningkatkan sintesis enzim yang menyebabkan ion  $H^+$  dipompa keluar dari sitoplasma sehingga pH sitoplasma menjadi asam. Taiz dan Zeiger (2002) dalam Wahyuni et al. (2016: 38) menambahkan kondisi asam di sitoplasma menyebabkan enzim yang berperan memotong ikatan antara dinding sel menjadi aktif. Ditambahkan oleh Wijayati et al. (2005: 19) bahwa kondisi pH asam akan mengaktifkan enzim-enzim pemutus ikatan polisakarida, seperti glukonase (menghidrolisis rantai utama hemiselulosa), enzim transglukosidase (memotong dan menggabungkan selulase) dan enzim pektinase (menghidrolisis rantai penyusun pektin). Proses hidrolisis tersebut menyebabkan dinding sel menjadi longgar sehingga air masuk ke dalam sel dan tekanan turgor meningkat. Watimena (1991) dalam Wahyuni et al. (2016: 38). Meningkatnya tekanan turgor menyebabkan sel mengembang sehingga terjadi pemanjangan sel. Proses pemanjangan dinding sel tersebut diakhiri dengan proses pembentukan dinding sel yang baru dengan memanfaatkan enzim *xyloglucans endotransglykoxylase* yang berperan dalam pembentukan dinding sel (Wahyuni et al., 2016: 38).

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Kadar hormon *Indole Acetic Acid* yang dihasilkan oleh isolat rhizobia indigenous dari lahan bekas tambang nikel bervariasi tergantung lama inkubasi supernatan setelah penambahan reagen Salkowski. Sebanyak 31 isolat rhizobia dari 40 isolat uji menghasilkan IAA tertinggi pada inkubasi supernatan selama 120 menit, 4 isolat menghasilkan IAA tertinggi pada 90 menit inkubasi, 3 isolat menghasilkan IAA tertinggi pada 60 menit inkubasi dan 2 isolat lainnya menghasilkan IAA tertinggi pada 30 menit inkubasi. Hal ini mengindikasikan semakin lama supernatan bereaksi dengan reagen maka IAA yang terbentuk juga semakin banyak. Waktu inkubasi optimal setiap jenis bakteri berbeda-beda untuk menghasilkan hormon IAA yang lebih banyak. Waktu inkubasi yang menghasilkan hormon IAA terbanyak dapat dijadikan dasar untuk tahap uji produksi IAA oleh rhizobia selanjutnya.

### Saran

Pengujian produksi kandungan IAA oleh isolat Rhizobia indigenous dari lahan bekas tambang nikel setelah penambahan reagen Salkowski menunjukkan sebagian besar meningkat dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Berdasarkan hasil penelitian ini belum dapat ditentukan waktu inkubasi optimal sebagian besar isolat Rhizobia tersebut untuk menghasilkan IAA terbanyak. Oleh karena itu masih perlu penelitian lanjutan dengan variasi waktu inkubasi yang lebih lama agar dapat diketahui waktu inkubasi yang menyebabkan penurunan kandungan IAA. Pada akhirnya dapat dipastikan waktu inkubasi yang tepat untuk menghasilkan IAA terbanyak.

## DAFTAR PUSTAKA

- A. Khalid, M. Arshad and Z. A. Zahir, *Journal of Applied Microbiology* **96**, 473-480 (2004).
- A. Widyasari, Wijanarka, B. Raharjo dan M. Setyowati, *Jurnal Biologi* **5**, 51-61 (2016).
- A. Wijayati, Solichatun dan Sugiyarto, *Biofarmasi* **3**, 16-21 (2005).
- B. Kukaciva, A. Mitrovic, M. Mojovic and S. V. Jovanovic, *Archives of Biological Sciences* **59**, 319-326 (2007).
- B. Mohite, *Journal of Soil Sciences and plant Nutrition* **13**, 638-649 (2013).

- B. S. Kumari, M. R. Ram dan K. V. Mallaiah, *African Journal of Microbiology Research* **3**, pp. 010-014 (2009).
- C. L. Patten and B. R. Glick, *Applied and Environmental Microbiology* **68**, p. 3795-3801 (2002).
- D. V. Pattimahu, *Makalah Falsafah Sains Pascasarjana IPB Bogor*, 1-18 (2004).
- D. Wahyuni, T. M. Linda dan S. Lestari, *Biosite Biologi Sains Terapan* **2**, 32-38 (2016).
- E. Glickmann and Y. Dessaux, *Applied and Environmental Microbiology* **61**, p. 793-796 (1995).
- E. Suriaman, *Skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang*, 2010.
- E. Zulaika dan N. Laili, *Prosiding Seminar Nasional Biologi, Universitas Tadulako, Palu*, 2015.
- F. T. Kholida dan E. Zulaika, *Jurnal Sains dan Seni ITS* **4**, 2337-3520 (2015).
- H. P. Parewa, J. Yadav, A. Rakshit, V. S. Meena and N. Karthikeyan, *Agriculture for Sustainable Development* **2**, 101-116 (2014).
- I. Mahagiani, *Tesis, Institute Pertanian Bogor*, 2010.
- I. Mawarti, B. L. Fibriarti, D. Zul, R. M. Roza, A. Martina dan T. M. Linda, *Jurnal Riau Biologia* **2**, 47-54 (2017).
- I. S. Hendriyani dan N. Setiari, *Jurnal Sains dan Matematika* **17**, 145-150 (2009).
- I. U. Haq and M. U. Dahot, *Pakistan Journal of Biological Sciences* **10**, 726-733 (2007).
- J. H. J. Leveau and S. E. Lindow, *Applied and Environmental Microbiology* **71**, p. 2356-2371 (2005).
- J. K. Vessey, *Plant and Soil* **255**, 571-586 (2003).
- J. Koga, T. Adachi and H. Hidaka, *Agricultural and Biological Chemistry* **55**, 701-706 (1991).
- L. Ummamie, Rastina, Erina, T. R. Ferasyi, Darniati dan A. Azhar, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner* **1**, 574-583 (2017).
- N. Aini, Sutarno dan A. Susilowati, *Biofarmasi* **4**, 55-64 (2006).
- O. Jumadi, Liawati dan Hartono, *Jurnal Bionature* **16**, 43-48 (2015).
- R. Prayudyaningsih, A. D. Mangopang, B. W. Broto, R. Sari, E. Kurniawan, Hajar dan F. Ansari, *Laporan Hasil Penelitian, Balai Penelitian Kehutanan Makassar* (2015).
- R. S. Tarigan, I. Jamilah dan Elimasni, *Saintia Biologi* **1**, 42-48 (2013).
- R. Sari dan R. Prayudyaningsih, *Prosiding Seminar Nasional Biologi, Universitas Hasanuddin, Makassar*, 2018.
- S. A. Gordon and R. P. Weber, *Plant Physiology* **26**, 192-195 (1951).
- S. Andanawarih, *Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor*, 2008.
- S. Manulis, A. H. Chesner, M. T. Brandi, S. E. Lindow and I. Barash, *Molecular Plant-Microbe Interactions* **11**, 634-642 (1998).
- S. Markosim, A. Amar dan B. Sukmadi, *Seminar Hasil Riset Gebyar Kampus Institut Teknologi Indonesia*, 2011.
- S. F. Larosa, E. Kusdiyantini, B. Raharjo dan A. Sarjiya, *Jurnal Biologi* **2**, 42-54 (2013).
- T. Lasmini dan E. S. Soetarto, *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi* **2**, 56-62 (2014).
- Z. F. A'ini, *Faktor Exacta* **6**, 231-240 (2013).