

KARAKTERISASI *Bacillus* sp. PENGHASIL ASAM INDOL ASETAT ASAL RIZOSFER PERTANIAN PASANG SURUT DAN POTENSINYA SEBAGAI PEMACU PERTUMBUHAN PADI LOKAL

Adistya¹, Hasrul Satria Nur^{1,2*}, Yusriadi³

¹ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Jalan A. Yani Km. 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan, 70714

² Divisi Mikrobiologi & Bioteknologi, PS Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

³ Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat, Jalan A. Yani Km.36 Banjarbaru Kalimantan Selatan 70714

*Corresponding author: hasrulsatria@ulm.ac.id

ABSTRACT

Bacillus sp., a member of the microbe, resided in the rhizosphere, potentially in plant growth promoting through a direct or indirect mechanism - phytohormone production, i.e., ethylene, gibberellin, cytokinin, and indole acetic acid. *Bacillus* sp. from soil agriculture in tidal swamp lands was isolated. Morphological, biochemical, and physiological properties have characterized attributes of isolation. In addition, indole acetic acid production is detected using the colorimeter method with the Salkowski reagent. The capability of the isolate to regulate plant growth promotion was carried out by detecting the performance of the paddy plant on the Yoshida medium cultivated. Five isolates have been characterized as plant growth-promoting rhizobacteria, e.g., BML-1, KK, SLC-2, SLK, and SPBKK-1. Furthermore, five isolates showed differences in indole acetic acid production, with or without adding tryptophane as a precursor. Indole acetic acid production without tryptophane ranged from 0.364 – 7.046 mg.ml⁻¹. On the other hand, the indole acetic acid production by adding tryptophane in varied concentrations, viz 1, 2, and 5 mg.ml⁻¹ is respectively delineated as follows 0.819 – 8.227 mg.ml⁻¹; 1.046 – 10.727 mg.ml⁻¹; 1.954 -18.909 mg.ml⁻¹. Meanwhile, the inoculation of *Bacillus* sp. isolates improved paddy plant growth regarding yield and root fibers of paddy plants.

Keywords: *Bacillus* sp., indole acetic acid, rhizosphere, tidal swamps, tryptophane.

PENDAHULUAN

Rizosfer merupakan daerah tanah yang aktivitas sifat biologi dan kimia tanahnya dipengaruhi oleh sistem perakaran tanaman dan mikrob tanah. Secara fisiologis, perakaran tanaman

melepaskan senyawa kimia berupa asam amino, gula, dan asam organik ke daerah mintakat perakaran atau dengan peristilahan rizosfer sebagai sumber nutrisi mikrob yang dikenal dengan eksudat akar. Eksudat ini, umumnya

dapat bertindak sebagai regulator dalam interaksi biologi dan fisik antara mikroba tanah dengan akar. Eksudat akar dapat memodifikasi sifat fisika dan kimia rizosfer dan berperan pada pertumbuhan akar (Rebecca, 2005).

Mikroorganisme yang berada di perakaran tersebut dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok berdasarkan pengaruhnya terhadap tumbuhan dan jalur interaksinya dengan akar. Kelompok pertama adalah fungi dan bakteri yang masuk kedalam genus *Rhizobium* dan *Frankia* yang mampu membentuk hubungan simbiosis dengan akar tanaman inang (Broughton dan Perret, 1999), melalui pembentukan struktur nodul dan mikoriza (Trinchant *et al.*, 2001). Kelompok kedua, berasal dari kelompok bakteri yang termasuk ke dalam *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) (Bashan dan Holguin, 1998) yaitu kelompok bakteri yang dapat memacu pertumbuhan tanaman tanpa membentuk hubungan simbiosis dengan akar tanaman inang dan terdapat di berbagai habitat perakaran tanaman. Kelompok bakteri tersebut meliputi genus *Azotobacter*,

Azospirillum, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, dan *Serratia* (Dobereiner, 1992). Kelompok rizobakteria ini memiliki mekanisme berbeda dalam memacu pertumbuhan tanaman (Cattelan *et al.*, 1999).

Mekanisme rizobakteria dalam memacu pertumbuhan diantaranya dengan memproduksi atau mengubah konsentrasi hormon tumbuhan (asam indol asetat, asam giberilin, sitokinin, dan etilen), fiksasi nitrogen, menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen dengan memproduksi siderofor, β -1,3-glukanase, kitinase, antibiotik, sianida, dan sebagai pelarut fosfat (Cattelan *et al.*, 1999). Salah satu potensi rizobakteria yang banyak digunakan untuk peningkatan pertumbuhan tanaman pertanian adalah kemampuan dalam memproduksi zat pengatur tumbuh (fitohormon) (Lestari, 2007). Zat pengatur tumbuh terdiri atas lima kelompok, yaitu auksin (asam indol asetat), giberelin, sitokinin, etilen, dan asam absisat (Donald, 1994).

Asam indol asetat merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang dapat

disintesis oleh kelompok rizobakteria dalam memacu pertumbuhan tanaman. Dua strain kelompok rizobakteria yang telah diketahui kemampuannya dalam memproduksi asam indol asetat adalah *Azotobacter vinelandii* Mac 259 dan *Bacillus cereus* UW 85 (Paterno, 1997). Menurut Ryu *et al.* (2004) dan Shishido *et al.* (1996), beberapa spesies *Bacillus* yang telah diketahui berperan sebagai penghasil asam indol asetat adalah *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. brevis*, *B. polymyxa*, *B. pasteurii*, *B. amyloliquifaciens*.

Bacillus sp. merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang, dan memiliki endospora yang berfungsi sebagai bentuk pertahanan terhadap lingkungan yang ekstrem. *Bacillus* sp. termasuk kelompok rizobakteria yang berpotensi dalam memacu pertumbuhan tanaman secara langsung melalui produksi fitohormon yaitu asam indol asetat (AIA). Strain *Bacillus cereus* UW 85 memiliki kemampuan produksi AIA sebesar 4,28 $\mu\text{mol ml}^{-1}$ (Husen, 2003). AIA yang disekresikan bakteri dapat meningkatkan pertumbuhan akar tanaman secara langsung dengan menstimulasi

pemanjangan atau pembelahan sel (Widayanti, 2007). Inokulasi *Azospirillum* Az7 penghasil asam indol asetat memberikan pengaruh baik terhadap perkembangan akar padi meliputi panjang, jumlah serabut, dan bobot kering akar (Lestari, 2007). Pertumbuhan akar yang baik dapat memberikan keuntungan saat penyemaian muda dengan meningkatkan kemampuannya dalam mempertahankan diri di tanah dan memperoleh air serta nutrisi di lingkungan (Patten & Glick, 2002). Potensi bakteri *Bacillus* sp. ini dapat dimanfaatkan dalam pengembangan lahan pertanian marjinal, seperti halnya lahan pasang surut. Oleh karenanya, penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi genera *Bacilli* asal rizosfer pertanian pasang surut Kalimantan Selatan dan menguji kemampuannya dalam produksi asam indol asetat, serta mendeteksi kemampuan beberapa isolat *Bacillus* sp. dalam memacu pertumbuhan tanaman padi varietas lokal spesifikasi tanah lahan pasang surut.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel Rizosfer Pertanian Pasang Surut

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari rizosfer tanaman pertanian pasang surut. Lokasi pengambilan sampel berada di lima Kecamatan di Kabupaten Barito Kuala., yaitu Kecamatan Anjir Pasar, Anjir Muara, Alalak, Tamban dan Tabunganen. Teknik pengambilan sampel bersifat telah ditentukan (*Purposive Sampling*) pada masing-masing Kecamatan sebanyak empat Desa. Pengambilan sampel dilakukan pada kedalaman 10 – 30 cm dengan jarak 1 x 1 m sepanjang daerah perakaran. Sampel yang berupa tanah dari rizosfer dikoleksi kedalam kotak es untuk dianalisis lanjut di laboratorium (Mavingui, 1992).

Penentuan pH tanah

Penentuan pH tanah dilakukan dengan menggunakan metode elektrometer (pH-H₂O dengan rasio 1:5), yakni sebanyak 5,0 gram sampel tanah rizosfer padi pasang surut diinokulasikan ke dalam 50 ml aquades steril. Sampel diagitasi selama

30 menit pada *orbital shaker* (Edmund Buhler SM 25) dengan kecepatan 125 rpm. Berikutnya dilakukan pengukuran derajat keasaman (pH) menggunakan pH meter (Oakton pH 10 series pH/MV/°C Meter).

Isolasi *Bacillus* sp Asal Rizosfer

Isolasi *Bacillus* sp. dilakukan dengan menginokulasikan sebanyak 5,0 g sampel tanah rizosfer pertanian pasang surut ke dalam 45 ml akuades steril. Sampel diagitasi di atas *orbital shaker* selama 30 menit dan dipanaskan menggunakan *water bath* (Tipe *Grant Sub*) pada suhu 80°C selama 12 menit. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga pengenceran 10⁻⁶. Sebanyak 100 µl dari suspensi dilakukan inokulasi menggunakan metode cawan sebar pada medium *Luria Bertani Agar*. Inkubasi dilakukan dalam inkubator bakteri (*Lab Companion*) selama 24 jam dan koloni yang tumbuh dilakukan pemurnian menggunakan medium *Luria Bertani Agar* dan dilakukan karakteriasi pada tahap selanjutnya.

Karakterisasi Morfologi, Fisiologi, dan Biokimia *Bacillus* sp.

Karakterisasi morfologi *Bacillus* sp. meliputi ukuran, warna, bentuk, elevasi, tepian, bau, dan konsistensi koloni. Karakterisasi fisiologi *Bacillus* sp. dilakukan secara parsial diantaranya sebagai berikut:

A. Pewarnaan Gram

Uji pewarnaan Gram dilakukan terhadap kultur murni bakteri yang telah ditumbuhkan pada medium *Nutrient Agar* (NA) selama 18-24 jam. Biakan bakteri diambil satu *loop* penuh dengan jarum ose, diratakan pada gelas objek yang diberi sedikit akuades kemudian dikering anginkan. Pewarna Gram (kristal violet) dibubuhkan sampai menutup seluruh suspensi bakteri, dibiarkan selama 1 menit setelah itu dicuci dan dikering anginkan. Pewarna Gram (*Lugol iodine*) dibubuhkan di preparat kemudian dibiarkan selama 2 menit dan dicuci serta dikering-anginkan. Pewarna Gram (Aseton alkohol) ditetaskan dan dibiarkan selama 10 detik kemudian dicuci dan dikering-anginkan. Pewarna Gram (Safranin) ditetaskan, dibiarkan selama 1 menit kemudian

dicuci dan dikering-anginkan. Preparat ditutupi dengan gelas penutup serta diamati di bawah mikroskop binokuler (*Olympus CX - 21*). Apabila bakteri menyerap warna utama (kristal violet) maka termasuk kedalam kelompok bakteri Gram positif, sebaliknya jika dinding sel bakteri menyerap warna penutup (safranin), maka termasuk kedalam kelompok bakteri Gram negatif.

Uji konfirmasi reaksi Gram dilakukan dengan menggunakan larutan KOH 3%. Biakan bakteri diambil sebanyak satu *loop* penuh dengan jarum ose, diratakan pada gelas objek serta ditetesi dengan 2 – 3 tetes KOH 3%, kemudian ditusuk dan ditarik dengan jarum ose. Apabila terbentuk benang putih yang cukup panjang atau putus – putus menandakan bahwa isolat uji termasuk kedalam bakteri Gram negatif, dan jika mengindikasikan sebaliknya maka termasuk kelompok bakteri Gram positif (Enriquez, 1995).

B. Pewarnaan endospora

Uji pewarnaan endospora dilakukan dengan metode *Dorner*. Biakan bakteri yang telah dikulturkan selama 24 jam diambil sebanyak satu *loop* penuh dengan

jarum ose, diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan *Carbol Fuchsin*. Suspensi bakteri dalam larutan *Carbol Fuchsin* dipanaskan didalam gelas *beaker* yang berisi air selama 30 menit. Beberapa *loop* suspensi bakteri diratakan dengan nigrosin di atas gelas objek kemudian dikering anginkan. Preparat ditutupi dengan gelas penutup serta diamati di bawah mikroskop binokuler (Benson, 2001).

C. Uji katalase

Uji katalase dilakukan dengan cara mengambil biakan bakteri dengan jarum ose sebanyak satu *loop* penuh, dan ditetaskan dengan 1 – 3 tetes larutan hidrogen peroksida 3% (H₂O₂). Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya gelembung yang memberikan indikasi terbentuknya CO₂.

D. Uji pengaruh suhu

Uji pengaruh suhu dilakukan dengan mengambil biakan bakteri dengan jarum ose, diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium *Luria Bertani Agar* miring. Tabung reaksi diinkubasi pada suhu 50° C selama 24 – 72 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan koloni pada

tiap tabung reaksi (Cappucino & Sherman, 2001).

E. Uji pengaruh derajat keasaman (pH)

Uji pengaruh derajat keasaman dilakukan dengan mengambil biakan bakteri dengan jarum ose, diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium *Nutrient Broth* dengan pH variasi berbeda (pH 5, 7, 9). Tabung reaksi diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam (Enriquez, 1995).

F. Uji pengaruh tekanan osmosis

Uji pengaruh tekanan osmosis dilakukan dengan mengambil biakan bakteri dengan jarum ose, diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium *Nutrient Broth* dengan berbagai konsentrasi NaCl (5%, 7%, 10%). Tabung reaksi diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam (Cappucino & Sherman, 2001).

G. Hidrolisis pati

Uji ini dilakukan dengan mempersiapkan medium agar yang mengandung pati. Biakan bakteri digoreskan ke medium tersebut dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, larutan iodin

ditambahkan ke dalam medium untuk mengetahui keberadaan pati pada medium dengan perubahan warna medium menjadi coklat tua atau hitam. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya zona bening sekitar biakan bakteri.

H. Hidrolisis kasein

Uji ini dilakukan dengan menyiapkan medium uji *Skim Milk Agar*. Biakan bakteri digoreskan dengan metode cawan gores dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya zona bening sekitar biakan bakteri (Cappucino & Sherman, 2001).

I. Kelarutan Fosfat

Uji kelarutan fosfat dilakukan secara kuantitatif dengan mengkulturkan bakteri pada medium *Pikovskaya*. Indikator positif pelarutan fosfat ditunjukkan dengan adanya zona terang sekitar koloni bakteri setelah 7 hari inkubasi.

J. Karakterisasi Biokimia *Bacillus* sp.

Karakteristik biokimia isolat *Bacillus* sp. (BML-1, KK, SLC-2, SLK, SPBKK-1) dianalisis menggunakan *Kit Prototype Microgen TM GN-ID Identification (Microgen Bioproducts Ltd)*.

Uji Kemampuan Produksi Asam Indol Asetat

Asam Indol Asetat (AIA) yang diproduksi diukur dengan metode kalorimetri menggunakan reagen *Salkowski* (Patten & Glick, 2002). Isolat *Bacillus* sp. diinokulasikan ke dalam 10 ml medium *Nutrient Broth* yang telah ditambahkan L-triptofan sebanyak (1, 2, 5 mg ml⁻¹) dan tanpa L-triptofan sebagai kontrol. Kultur diinkubasi selama 24 jam pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 150 rpm. Sebanyak 3 ml kultur dari tiap perlakuan dimasukkan ke dalam 2 tabung mikro untuk kemudian disentrifugasi menggunakan *refrigerated centrifuge (Hitachi CT 15E/CT 15RE)* pada kecepatan 10.000 x g selama 15 menit. Filtrat yang diperoleh sebanyak 2,0 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dengan penambahan 4 ml reagen *Salkowski* dan 0,02 ml larutan *ortho-phosphoric acid 65%*. Suspensi yang diperoleh diinkubasi selama 25 menit dalam ruang gelap dan pada suhu ruang. Pengukuran serapan AIA dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer (*Spectronic 20D+ Thermo Electron*) pada panjang

gelombang 535 nm. Hasil pengukuran serapan AIA dibandingkan terhadap kurva standard AIA pada berbagai konsentrasi (Hung, 2004).

Aktifitas Pertumbuhan Isolat *Bacillus* sp.

Satu *loop* penuh biakan bakteri yang berumur 24 jam ditumbuhkan kedalam 15 ml medium *Luria Bertani Broth* dan diagitasi di atas *orbital shaker* dengan kecepatan 100 rpm dengan kondisi suhu ruang selama 6 jam. Inokulum dipindahkan ke dalam 135 ml medium *Luria Bertani Broth* yang ditambahkan 0.5 mM L-triptofan dan dikocok kembali dengan kecepatan dan kondisi yang sama. Setiap 3 jam dilakukan pengukuran turbiditas (% transmitan). Metode turbidimetri dilakukan dengan cara mengukur turbiditas dari pengenceran 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 (Widayanti, 2007).

Deteksi Pemacu Pertumbuhan Tanaman Padi

Benih padi lokal siam unus disterilkan dengan larutan 5% sodium hipoklorit (NaClO) dan dicuci kemudian dengan air mengalir selama 20 menit. Benih

direndam dalam larutan 5% sodium hipoklorit selama 30 menit dan dicuci dengan akuades paling sedikit 5 kali. Benih padi dikecambahkan pada cawan petri dengan alas kertas saring steril. Benih dikecambahkan selama 2 hari kemudian ditanam kedalam tabung reaksi 100 ml yang berisi medium tumbuh *Yoshida* (91,4 gram NH_4NO_3 ; 40,3 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 71,4 gram K_2SO_4 ; 88,6 gram CaCl_2 ; 324 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; (1,5 gram $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,074 gram $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_4\text{O}$; 0,934 gram H_3BO_3 ; 0,031 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 7,7 gram $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 11,9 gram asam sitrat (monohidrat); dan 0,035 gram $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 50 ml H_2SO_4) (Yoshida, *et al.*, 1976)) sebanyak 25 ml. Benih yang ditanam dalam medium tumbuh *Yoshida* diinokulasikan dengan 5 isolat *Bacillus* sp. (BML-1, KK, SLC-2, SLK, dan SPBKK-1) yang terkarakterisasi sebagai penghasil AIA. Benih padi lokal siam unus tersebut diinkubasi selama 6 hari pada suhu 28°C (Lestari, 2007).

Analisis Data

Pengujian kemampuan produksi asam indol asetat isolat *Bacillus* sp. asal rizosfer pertanian pasang surut Kabupaten Barito Kuala berupa data kuantitatif. Rancangan percobaan yang digunakan berupa rancangan acak kelompok (RAK) dengan konsentrasi L-triptofan sebagai perlakuan. Data kuantitatif yang dihasilkan yaitu konsentrasi asam indol asetat. Berikutnya data dianalisis dengan menggunakan ANOVA, dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan* menggunakan *software* SPSS 17.

Rancangan percobaan yang digunakan pada deteksi kemampuan isolat *Bacillus* sp. dalam memacu pertumbuhan tanaman adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan menggunakan tiga ulangan dan variabel bebas adalah isolat *Bacillus* sp. dengan enam macam perlakuan sebagai berikut:

- P₁ : kontrol (tanpa inokulasi)
- P₂ : isolat SPBKK-1 + benih padi
- P₃ : isolat SLC-2 + benih padi
- P₄ : isolat SLK + benih padi
- P₅ : isolat BML-1 + benih padi
- P₆ : isolat KK + benih padi

Variabel terikat dalam percobaan ini tanaman padi lokal. Data kuantitatif yang diperoleh meliputi panjang akar, jumlah serabut akar, tinggi tanaman dan bobot kering akar. Selanjutnya, diuji normalitas dan kehomogenannya menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan* menggunakan *software* SPSS 17 (Mattjik & Sumertajaya, 2002)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Asal Rizosfer Pertanian Pasang Surut Isolasi *Bacillus* sp. asal rizosfer berbagai tanaman pertanian pasang surut di Kabupaten Barito Kuala diperoleh sebanyak 68 isolat. Isolat yang didapat menunjukkan sebagai karakter genus *Bacillus* yaitu Gram positif (+) dan adanya endospora (**Gambar 1**). Kesemua isolat *Bacillus* diseleksi kemampuannya tumbuh pada suhu 50°C dan melarutkan fosfat. Dari seleksi ini diperoleh sebanyak 34 isolat yang mampu tumbuh pada suhu 50°C dan 13 diantaranya mampu melarutkan fosfat (**Tabel 1**).

Adapun karakter morfologi lima isolat *Bacillus* sp. penghasil asam indol asetat yaitu BML-1, KK, SLC-2, SLK, dan SPBKK-1 menunjukkan bentuk sel batang, berukuran antara 2 – 12,5 µm, bentuk koloni bulat, warna koloni putih dan krim, tepian koloni rata, elevasi koloni cembung, serta konsistensi koloni lengket. Fisiologis dan biokimia kelima isolat *Bacillus* tersebut memiliki karakter diantaranya; reaksi Gram positif (+), membentuk endospora, pH pertumbuhan 5,0 – 9,0, mampu tumbuh dengan penambahan NaCl 5% - 7%.

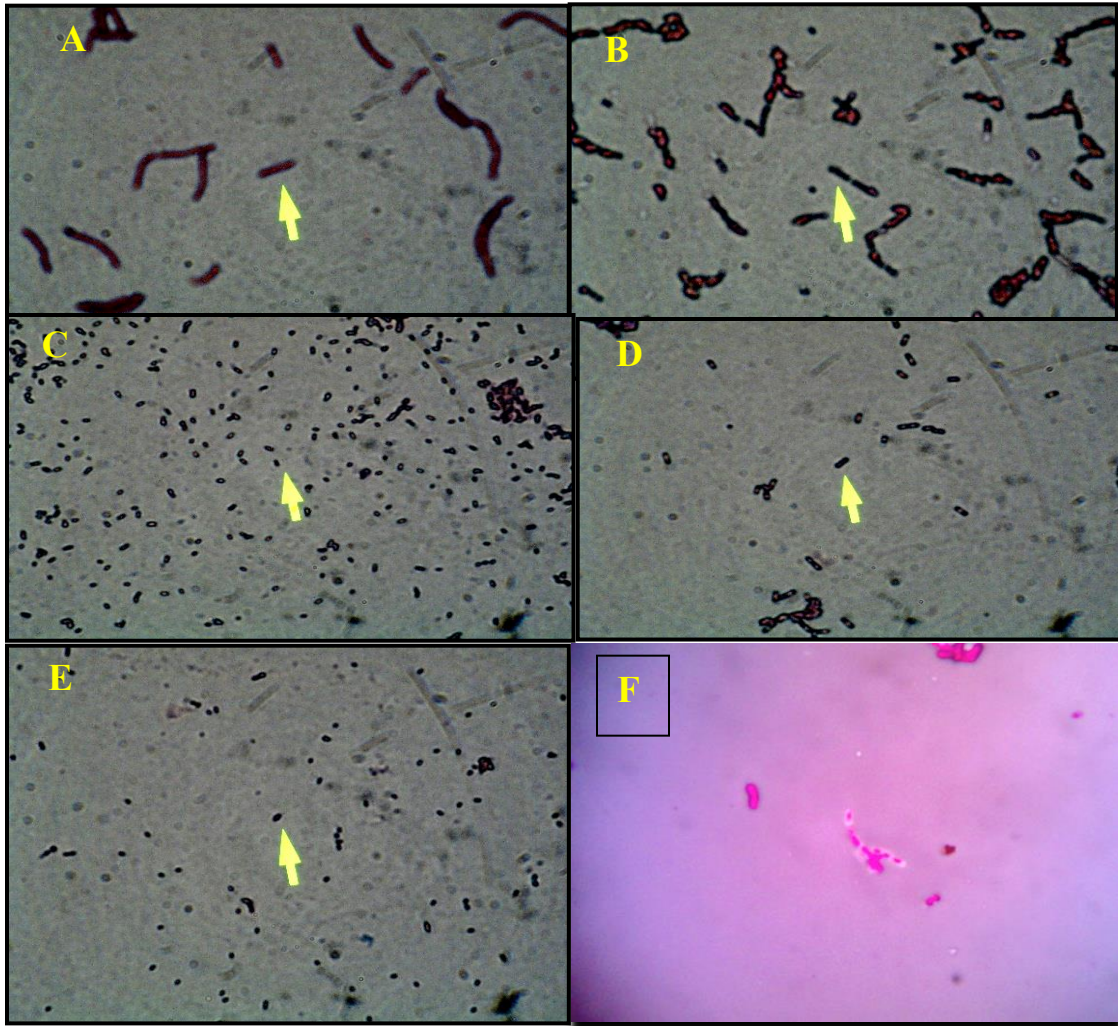
Karakter biokimia isolat **SPBKK-1** dan **SLC-2** menunjukkan hasil positif pada pembentukan asam dari glukosa; fermentasi gula dari *mannitol*, *rhamnose*, sukrosa, dan arabinosa; hidrolisis ONPG, salisin, gelatin dan arginin; serta uji katalase. Isolat **SLK** memiliki karakter biokimia yaitu membentuk asam dari glukosa; fermentasi gula dari rhamnosa dan arabinosa; memproduksi H₂S dan urease; serta hidrolisis gelatin. Sedangkan untuk isolat **BML-1** mampu menghidrolisis ONPG, urease, dan

gelatin, dan untuk isolat **KK** membentuk asam dari arabinosa, dan menghidrolisis gelatin (**Gambar 2**).

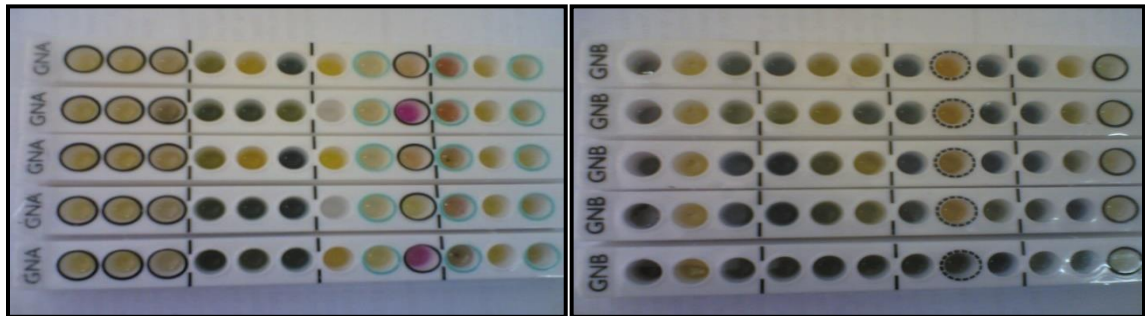
Keberadaan genera *Bacilli* Gram positif di tanah sebesar 95 % dan termasuk dalam genus *Bacillus* (Barriuso, 2008). Kelompok *Bacillus* memiliki kemampuan dalam membentuk endospora yang tahan terhadap pada kondisi panas dan kekeringan sehingga dapat dijadikan formulasi biologis, seperti halnya untuk aplikasi pada bidang pertanian (Elsorra *et al.*, 2004). Selain itu, *Bacillus* memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa volatil berupa 3-*hydroxy-2-butanone* (*acetoin*) dan 2,3-butanediol oleh *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens* yang dapat memacu pertumbuhan tanaman (Elsora *et al.* 2007).

Tabel 1. Isolat *Bacillus* sp. yang terkarakterisasi mampu tumbuh pada suhu 50°C dan melarutkan fosfat

No.	Kode Isolat	Suhu pertumbuhan (50°C)	Sumber isolat
1	BBKN	+	Rizosfer kunyit
2	SLC-1	+	Rizosfer cabe
3	SLC-2	+	Rizosfer cabe
4	BML-1	+	Rizosfer <i>Melastoma</i>
5	BML-2	+	Rozosfer <i>Melastoma</i>
6	AMLB	+	Rizosfer bayam
7	KKN-1	+	Rizosfer nenas
8	BK-3	+	Rizosfer kelapa
9	KKN-4	+	Rizosfer nenas
10	SPBP-3	+	Rizosfer padi
11	KK	+	Rizosfer katu
12	SLK	+	Rizosfer kelapa
13	SPBKK-1	+	Rizosfer kapuk



Gambar 1. Morfologi sel isolat *Bacillus* sp. penghasil asam indol asetat asal rizosfer pertanian pasang surut: A = BML-1, B = KK, C = SLC-2, D = SLK, dan E = SPBKK-1 serta F = representatif endospora; ditunjukkan dengan bentuk sel batang dan dinding sel Gram positif (+) serta adanya endospora pada perbesaran mikroskop binokuler 1000 X (Olympus CX-21).



Gambar 2. *Prototype Microgen TM GN-ID Identification (Microgen Bioproducts Ltd) :*(A) GN A panel; (B) GN B panel yang digunakan dalam uji biokimia penentuan karakter biokimia isolat *Bacillus* sp.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa strain *B. amyloliquefaciens* FZB24 mensekresikan lipopeptida dan poliketida sebagai anti-fungi dan anti-bakteri yang berperan dalam memacu pertumbuhan tanaman (Elsorra *et al.* 2007).

Karakterisasi morfologi dan fisiologi dilakukan terhadap isolat *Bacillus* sp. penghasil asam indol asetat. Kelima isolat *Bacillus* sp. menunjukkan kesamaan morfologi koloni dan sel, tetapi terdapat perbedaan pada ukuran selnya. Faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri di lingkungan diantaranya suhu, pH, dan tekanan osmosis (Benson, 2001). Isolat *Bacillus* sp. mampu tumbuh pada suhu

pertumbuhan 50°C, kisaran pH dari 5 – 9 dan tekanan osmosis pada konsentrasi NaCl antara 5% - 7%. Pengujian biokimia isolat *Bacillus* sp. menunjukkan bahwa isolat mampu memproduksi asam hanya 4 dari 10 gula yang diujikan diantaranya mannitol, arabinosa, sukrosa, dan rhamnosa. Kelima isolat tidak mampu mendekarboksilasi lisin dan arginin, memproduksi H₂S, membentuk indol dan menggunakan sitrat.

Karakteristik morfologi, fisiologi, dan biokimia isolat SPBKK-1, SLC-2, SLK dan KK menunjukkan kesamaan karakter dengan *Bacillus megaterium* dan *Bacillus cereus*. Namun, isolat *Bacillus* sp. asal rizosfer pertanian pasang surut memiliki karakter khas yang berbeda dibandingkan

dengan *Bacillus cereus* dan *Bacillus megaterium* dalam hal kemampuan tumbuh pada suhu 50°C.

Produksi Asam Indol Asetat dan Aktifitas Pertumbuhan Isolat *Bacillus* sp. Asal Rizosfer Pertanian Pasang Surut Kabupaten Barito Kuala

Asam indol asetat yang diproduksi oleh isolat *Bacillus* dengan perlakuan tanpa L-Triptofan berada pada kisaran 0,364 – 7,046 mg ml⁻¹ sedangkan dengan penambahan L-Triptofan 1, 2, dan 5 mg ml⁻¹ secara berurutan berada pada kisaran 0,819 – 8,227 mg ml⁻¹; 1,046 – 10,727 mg ml⁻¹; 1,954 – 18,909 mg ml⁻¹. Produksi asam indol asetat terendah pada perlakuan tanpa penambahan L-Triptofan dihasilkan oleh isolat SLC-1, sedangkan dengan perlakuan penambahan L-Triptofan 1, 2, dan 5 mg ml⁻¹ masing-masing dihasilkan oleh isolat KKN-1, BBKN, dan BML-1. Isolat SLC-2 memproduksi asam indol asetat pada tingkat tertinggi untuk perlakuan tanpa penambahan L-Triptofan, dan perlakuan dengan penambahan L-Triptofan 1, 2, dan 5 mg ml⁻¹ masing-masing diproduksi

oleh isolat SPBKK-1, dan KK. Semua isolat mampu memproduksi asam indol asetat tanpa penambahan L-Triptofan pada medium kulturnya, tetapi terdapat 4 isolat *Bacillus* sp. yang tidak mampu memproduksi asam indol asetat pada perlakuan L-Triptofan 1, 2, dan 5 mg ml⁻¹ diantaranya isolat AMLB, BK-3, KKN-4, dan SPBP-3.

Isolat AMLB dan KKN-4 hanya mampu memproduksi asam indol asetat pada perlakuan tanpa penambahan L-Triptofan dengan konsentrasi 0,864 mg ml⁻¹ dan 1,181 mg ml⁻¹, sedangkan isolat BK-3 dan SPBP-3 mampu memproduksi asam indol asetat pada perlakuan tanpa penambahan L-Triptofan, dan penambahan L-Triptofan 1 mg ml⁻¹.

Tabel 2. Pengaruh berbagai konsentrasi L-triptofan terhadap produksi asam indol asetat (AIA) isolat *Bacillus* sp. Asal rizosfer pertanian pasang surut

Konsentrasi L-Triptofan (mg ml ⁻¹)	Konsentrasi Asam Indol Asetat (mg ml ⁻¹)
5	5,47b
2	3,85ab
1	2,94a
0	2,31a

Keterangan: Angka pada lajur yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji jarak berganda *Duncan Multiple Range Test* (DMRT)

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi L-triptofan dan perbedaan isolat *Bacillus* sp. berpengaruh nyata terhadap produksi asam indol asetat pada taraf nyata 5%. Perlakuan penambahan 5 mg ml⁻¹ L-triptofan pada medium menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan perlakuan tanpa L-triptofan terhadap produksi asam indol asetat (**Tabel 2**). Semua isolat *Bacillus* sp. menunjukkan hasil produksi asam

indol asetat yang berbeda nyata tiap isolatnya berdasarkan pada uji jarak berganda *Duncan* dengan taraf nyata 5% (**Tabel 3**).

Tabel 3. Perbedaan produksi asam indol asetat (AIA) oleh isolat *Bacillus* sp. Asal rizosfer pertanian pasang surut

Isolat <i>Bacillus</i> sp.	Konsentrasi Asam Indol Asetat (mg ml ⁻¹)
SPBKK-1	9,94c
KK	9,69c
SLC-2	7,74c
SLK	6,39bc
SLC-1	3,18ab
BML-1	2,49ab
KKN-1	1,89a
BML-2	1,83a
BBKN	1,76a
BK-3	1,05a
SPBP-3	0,91a
KKN-4	0,29a
AMLB	0,22a

Keterangan: Angka pada lajur yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji jarak berganda *Duncan Multiple Range Test* (DMRT)

Rizobakteria mengkolonisasi akar tanaman dan memberikan manfaat pada perkembangan dan pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme. Salah satu mekanisme potensial dalam memacu pertumbuhan tanaman adalah produksi fitohormon yaitu asam indol asetat (AIA). Hampir sekitar 70% isolat *Bacillus* sp. mampu memproduksi asam indol asetat dengan tanpa penambahan L-Triptofan atau penambahan L-Triptofan pada berbagai konsentrasi (1, 2, dan 5 mg

ml⁻¹). Variasi jumlah produksi asam indol asetat oleh isolat *Bacillus* sp. terlihat dalam penelitian ini.

Produksi asam indol asetat oleh rizobakteria dapat berbeda antar spesies atau strain. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kondisi medium tumbuh, tahap pertumbuhan, dan ketersediaan substrat (Ashrafuzzaman *et al.*, 2009). *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 diketahui mampu memproduksi konsentrasi asam indol asetat paling besar setelah

dikulturkan dalam medium *Landy* pada suhu rendah (22°C) dan keterbatasan oksigen (75 rpm) (Elsorra *et al.*, 2004). Tahap pertumbuhan yang paling efektif dalam memproduksi asam indol asetat sebagai metabolit sekunder yaitu pada fase stationer (Todar, 2008). Pada fase pertumbuhan ini terjadi penurunan angka pertumbuhan, dan keterbatasan karbon yang dapat meningkatkan produksi asam indol asetat seperti pada bakteri *Az. Brasilense* (Spaepen 2007).

Asam indol asetat merupakan produk metabolit sekunder (Strzelczyk dan Pokojaska, 1984) yang dihasilkan oleh bakteri karena adanya penurunan nutrisi di lingkungan, biosintesis atau penambahan stimulus, dan penurunan angka pertumbuhan (Demain, 1998). L-Triptofan merupakan prekursor spesifik dalam biosintesis asam indol asetat oleh bakteri (Frankenberger & Poth, 1998). Penambahan L-Triptofan dalam medium kultur isolat *Bacillus* sp. dapat meningkatkan produksi asam indol asetat oleh sebagian isolat *Bacillus* sp. Namun, dengan tanpa penambahan L-Triptofan dalam medium kultur, isolat *Bacillus* sp. tetap dapat memproduksi asam indol

asetat walaupun dalam tingkat yang lebih rendah dibandingkan dengan medium kultur yang ditambahkan L-Triptofan. Sebaliknya, penambahan L-Triptofan menyebabkan beberapa isolat *Bacillus* sp. tidak mampu memproduksi asam indol asetat.

Aplikasi triptofan eksogen menunjukkan peningkatan yang besar terhadap produksi asam indol asetat oleh berbagai bakteri, seperti pada *Azospirillum*, *Pa. agglomerans*, *Ps. putida* and *Rhizobium* (Spaepen, 2007) dengan meningkatkan tingkat ekspresi enzim ipdC pada *Az. Brasilense* Sp7 dan *Ps. Putida* GR12-1. Kemampuan produksi asam indol asetat dari triptofan umumnya terdapat pada bakteri tanah, dan diasumsikan bahwa bakteri ini bergantung pada eksudat tanaman berupa triptofan. Bar dan Okon (1992) mengemukakan bahwa biosintesis asam indol asetat berkontribusi terhadap ketahanan bakteri di rizosfer melalui detoksifikasi triptofan. Penambahan triptofan pada konsentrasi lebih dari 1,4 mg ml⁻¹ dapat menghambat pertumbuhan *Az. brasilense* Sp7

Deteksi Pemacu Pertumbuhan Tanaman Padi oleh Isolat *Bacillus* sp. Asal Rizosfer Pertanian Pasang Surut Kab. Barito Kuala

Pemberian inokulasi isolat *Bacillus* sp. tidak memberikan pengaruh nyata terhadap panjang akar, jumlah serabut akar, dan tinggi tanaman, namun memberikan pengaruh nyata terhadap **bobot kering akar** pada taraf nyata 5%. Perlakuan tanpa inokulasi menghasilkan bobot kering akar lebih tinggi, jika dibandingkan dengan perlakuan inokulasi isolat *Bacillus* sp. Perlakuan isolat *Bacillus* sp. menunjukkan perbedaan nyata terhadap bobot kering akar berdasarkan uji jarak berganda *Duncan* pada taraf nyata 5% (**Tabel 4**). Jumlah serabut akar tanaman padi lebih tinggi ditunjukkan pada perlakuan inokulasi *Bacillus* sp. dibandingkan dengan tanpa inokulasi. Namun, secara statistika inokulasi *Bacillus* sp. tidak memberikan pengaruh nyata pada jumlah serabut akar. Inokulasi isolat SLK menghasilkan jumlah serabut akar terbanyak dengan nilai rerata 8,67 (**Gambar 3, 4, dan 5**). Aktifitas pemacu pertumbuhan tanaman oleh strain PGPR pada berbagai tanaman

pertanian telah banyak diketahui. Isolat *Bacillus* sp. penghasil asam indol asetat dapat meningkatkan jumlah serabut akar padi pada 6 hari setelah tanam dalam medium *Yoshida*. Sedangkan, pada penelitian Ashrafuzzaman *et al.* (2009), inokulasi bakteri bentuk batang dan Gram negatif pada perkecambahan padi dapat meningkatkan perkecambahan padi setelah 3 hari tanam, dan meningkatkan tinggi tanaman, bobot kering batang, serta panjang akar padi setelah 21 hari tanam. Selain itu, *Bacillus lentus* dan *Bacillus subtilis* asal rizosfer gandum dan kacang polong dapat meningkatkan nodulasi pada akar dan batang kacang polong dibandingkan dengan kontrol setelah 4 minggu tanam (Dilfuza, 2008).

Pengamatan tinggi tanaman, panjang akar, dan bobot kering akar padi dengan inokulasi isolat *Bacillus* sp. pada medium *Yoshida* menunjukkan hasil lebih rendah dibandingkan dengan tanpa inokulasi. Basharat *et al* (2009) melaporkan bahwa sebagian besar pertumbuhan akar terhambat oleh adanya peningkatan produksi asam indol asetat pada bakteri secara *in vitro*. Akar merupakan salah satu organ tanaman yang sensitif terhadap

fluktuasi asam indol asetat, dan respon akar terlihat pada peningkatan jumlah eksogen asam indol asetat secara luas dari pemanjangan akar primer, dan pembentukan akar lateral serta adventif (Leveau *et al.*, 2005).

Aktivitas pemacu pertumbuhan tanaman oleh *Bacillus* spp. secara langsung berhubungan dengan stimulus fitohormon. Perlakuan inokulasi bakteri *B. megaterium* MiR-4, *Bacillus* sp. ChR-1, *Bacillus* sp. NpR-1 and *Bacillus* sp. CdH-3 tercatat menurunkan panjang akar tetapi meningkatkan jumlah akar lateral, sebaliknya pada inokulasi *B. licheniformis* BP-1 and *B. cereus* MpP-1, jumlah akar lebih sedikit dibanding kontrol. Aktifitas bakteri penghasil asam indol asetat terhadap pertumbuhan akar, lebih lanjut dikonfirmasi melalui analisis korelasi. Korelasi positif secara signifikan terlihat pada hubungan antara produksi asam indol asetat dengan jumlah akar, namun hubungannya dengan panjang akar menunjukkan korelasi negatif. Korelasi ini mengindikasikan bahwa peningkatan produksi asam indol asetat oleh bakteri memiliki pengaruh

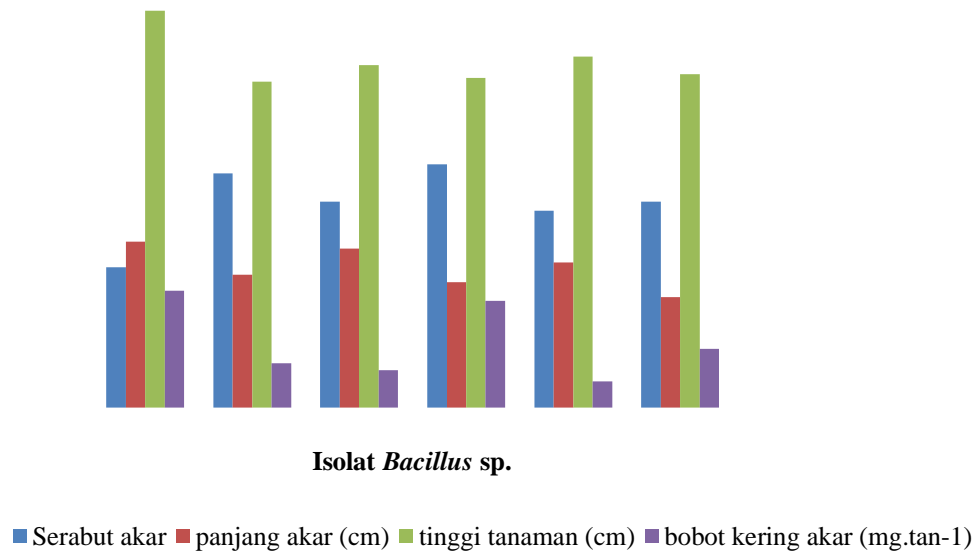
terhadap penghambatan pada pemanjangan akar (Basharat *et al.*, 2009).

Perlakuan isolat *Bacillus* sp. pada pertumbuhan padi berpengaruh nyata terhadap bobot kering akar dengan menurunkan bobot kering akar. Sebaliknya pada penelitian Basharat *et al.* (2009) menyatakan bahwa inokulasi *B. megaterium* secara signifikan meningkatkan bobot basah dan kering tanaman kacang pada kondisi *in vitro* dan tanah steril. Perbaikan bobot kering akar sebenarnya tidak mencerminkan tingginya kadar hara atau meningkatnya kapasitas penambatan N₂ di rizosfer. Peningkatan ini lebih banyak disebabkan adanya keseimbangan kadar hara di dalam tanaman. Kadar hara tertentu yang meningkat terlalu tinggi dapat meracuni tanaman dan pada gilirannya nanti akan mempengaruhi proses metabolisme tanaman, sehingga pembentukan bobot kering tanaman terhambat (Lestari *et al.*, 2007).

Tabel 4. Pengaruh inokulasi isolat *Bacillus* sp asal rizosfer pertanian pasang surut terhadap bobot kering akar tanaman padi

Kode isolat	Bobot kering akar
Kontrol	2,15b
SLK	2,01b
KK	1,59ab
SPBKK-1	1,41a
SLC-2	1,32a
BML-1	1,20a

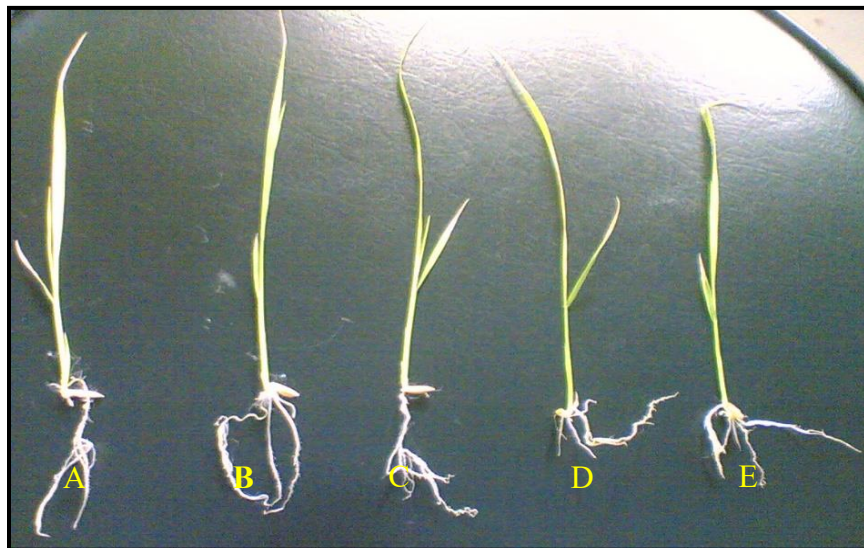
Keterangan: Angka pada lajur yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji jarak berganda *Duncan Multiple Range Test* (DMR)



Gambar 3. Pengaruh inokulasi isolat *Bacillus* sp. terhadap serabut akar, panjang akar, tinggi tanaman, dan bobot kering akar tanaman padi dalam medium perlakuan Yoshida selama 6 hari setelah tanam



Gambar 4. Deteksi kemampuan isolat *Bacillus* sp. dalam memacu pertumbuhan tanaman padi secara *in vitro* selama 6 hari Inkubasi. Medium yang digunakan sebagai mediu tumbuh tanaman padi adalah medium *Yoshida* (Yoshida *et al.*, 1976)



Gambar 5. Pengaruh inokulasi *Bacillus* sp. terhadap pertumbuhan akar padi lokal 6 hari setelah tanam: (A) isolat SPBKK-1, (B) isolat SLC-2, (C) isolat SLK, (D) isolat BML-1, (E) isolat KK.

KESIMPULAN

1. Isolat *Bacillus* sp. asal rizosfer pertanian pasang surut memiliki karakter Gram (+), membentuk endospora, mampu tumbuh pada suhu 50°C, melarutkan posfat, tumbuh pada kisaran pH 5–7, tekanan osmosis pada konsentrasi NaCl 5%-7%, dan memiliki enzim katalase serta mampu menghidrolisis kasein, pati, dan gelatin.
2. Produksi asam indol asetat oleh isolat *Bacillus* sp. meningkat oleh adanya prekursor spesifik yaitu L-Triptofan, terlihat pada peningkatan konsentrasi asam indol asetat dengan penambahan L-Triptofan pada medium kultur. Konsentrasi asam indol asetat yang dihasilkan oleh isolat *Bacillus* sp. tanpa penambahan triptofan berada pada kisaran 0,364 – 7,046 mg ml⁻¹, dan dengan penambahan L-Triptofan 1, 2, dan 5 mg ml⁻¹ secara berurutan berada pada kisaran 0,819 – 8,227 mg ml⁻¹; 1,046 – 10,727 mg ml⁻¹; 1,954 – 18,909 mg ml⁻¹.
3. Inokulasi isolat *Bacillus* sp. mampu meningkatkan jumlah serabut akar dan

bobot kering akar padi setelah 6 hari tanam dalam medium *Yoshida*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashrafuzzaman, M. Farid Akhtar Hossen, M. Razi Ismail, Md. Anamul Hoque, M. Zahurul Islam, S.M. Shahidullah and Sariah Meon. 2009. Efficiency Of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) For The Enhancement Of Rice Growth. *African Journal of Biotechnology Vol. 8 (7)*, pp. 1247-1252
- Bar T, Okon Y. 1992. Induction of Indole-3-Acetic Acid Synthesis and Possible Toxicity of Tryptophan in *Azospirillum brasiliense* Sp 7. *Symbiosis* 13. 191 – 198
- Barriuso, J. Beatriz Ramos Solano, José A. Lucas, Agustín Probanza Lobo, Ana García-Villaraco, and Francisco J. Gutiérrez Mañero. 2008. *Ecology, Genetic Diversity and Screening Strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- Bashan Y, Holguin G. 1998. Proposal for The division of Plant Growth Promoting Rhizobacteria into two Classification Biocontrol PGPB. *Soil Biology and Biochemistry*. 30: 1225 – 1228
- Basharat, Ali. Anjum Nasim Sabri, Karin Ljung, Shahida Hasnain. 2009. Quantification of indole-3-acetic acid from plant-associated *Bacillus* spp. and their phytostimulatory effect on *Vigna radiata* (L.). *World J Microbiol Biotechnol* 25:519–526
- Benson. 2001. *Microbiological Applications Lab Manual, Eighth Edition*. Mc Graw Hill Companies
- Broughton WJ, Perret X. 1999. Genealogy of Legume – Rhizobium Symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology* 2: 305 – 311
- Cappucino JG dan N Sherman. 2001. *Microbiology a Laboratory Manual, Sixth Edition*. Benjamin Cumming Publisher
- Cattelan AJ, P.G. Hartel, J.J Fuhrmann. 1999. Screening for Plant Growth Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63: 1670 – 1680
- Demain, Arnold L. 1998. Induction of Microbial Secondary Metabolism. *Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA. Internatl Microbiol* 1 : 259 – 264
- Dilfuza, Egamberdieva. 2008. Plant Growth Promoting Properties of Rhizobacteria Isolated from Wheat and Pea Grown in Loamy Sands Soil. *Turk J Biol* 32: 9 – 15
- Dobereiner, J. 1992. History and new Prospectives of Diazotrophs in Association with Non-Leguminous Plants. *Symbiosis*. 13: 1 – 13

- Donald E. Fosket. 1994. *Plant Growth and Development. A Molecular Approach*. Department of Developmental and Cell Biology School of Biological Science. University of California
- Elsorra E. Idris, H. Bochow, H. Ross, R. Borriss. 2004. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. VI. Phytohormonelike action of culture filtrates prepared from plant growth-promoting *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, FZB42, FZB45, and *Bacillus subtilis* FZB37. *Journal of Plant Diseases and Protection* 111 (6), 583–597, ISSN 0340-8159
- Elsorra E. Idris, Domingo J. Iglesias, Manuel Talon, Rainer Borriss. 2007. Tryptophan-Dependent Production of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Affects Level of Plant Growth Promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *MPMI Vol. 20, No. 6, 2007, pp. 619–626*
- Enriquez GL, LS Saniel, RR Matias, dan JL Garibay. 1995. *Laboratory Manual in General Microbiology*. Univ of The Philippines Press
- Frankenberger Jr. WT, Poth M. 1998. L-tryptophan Transaminase of A Bacterium Isolated from The Rhizosphere of *Festuca octoflora* (Graminae). *Soil Biol Biochem* 20: 299 – 304
- Hung PQ, Annapurna K. 2004. Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria in Soybean (*Glycine* sp). *Omonrice* 12: 92 – 101
- Husen, Edi. 2003. Screening of Soil Bacteria for Plant Growth Promotion Activities In Vitro. *Indonesian Journal of Agricultural Science* 4 (1): 27 – 31
- Lestari Puji, Susilowati D. N., dan Riyanti E. I. 2007. Pengaruh Hormon Asam Indol Asetat yang Dihasilkan *Azospirillum* sp terhadap Perkembangan Akar Padi. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. *Jurnal AgroBiogen* 3(2): 66 – 72
- Leveau JHJ, Lindow SE. 2005. Utilization of The Plant Hormone Indol-3 Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* strain 1290. *Appl Environ Microbiol* 71: 2365 – 2371
- Mattjik, A. A., & Sumertajaya, I. M. (2002). *Perancangan Percobaan Jilid I* (2nd ed.). Bogor: IPB Press.
- Mavingui P, Odile B, Thierry H. 1992. Genetic and Phenotypic Diversity of *Bacillus polymyxa* in Soil and in the Wheat Rhizosphere. *Appl Environ Microbiol* 58(6): 1894 – 1903
- Paterno. 1997. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Their Potential in Improving Crop Productivity*. Second Profesional Lecture, Folix D. Maramba Professorial Chain,

- Department of Soil Science, UP
Los Banos
- Patten CL, Glick BR. 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indol Acetic Acid in Development of The Host Plant Root System. *Appl Environ Microbiol* 68: 3795 – 3801
- Rebecca Lines – Kelly. 2005. *The Rhizosphere*. Department of Primary Industries. New York
- Ryu CM, Mohamed A. Farag, Chia-Hui Hu, Munagala S.Reddy, Joseph W.Kloepper, Paul W.Pare. 2004. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in Arabidopsis. *Plant Physiol* 134: 1017 – 1026
- Shishido M, Massicotte HB, Chanway CP. 1996. Effect of Plant Growth Promoting Bacillus strains on Pine and Spruce Seedling Growth and Mycorrhizal Infection. *Ann Bot* 77: 433 – 441
- Spaepen Stijn, Jos Vanderleyden, Roseline Remans. 2007. Indol-3 Acetic Acid in Microbial and Microorganism - Plant Signaling. *FEMS Microbiol Rev* 1–24
- Strzelczyk E, Pokojaska-Burdziej A. 1984. Production of auxins and gibberellin like substances by mycorrhizal fungi, bacteria and actinomycetes isolated from soil and mycorrhizosphere of pine (*Pinus silvestris* L.). *Plant and Soil* 81: 185-194
- Trinchant JC, Drevon JJ, Rigaud J. 2001. Symbiotic Nitrogen Fixation. In: Morot-Goundry JF, ed. Nitrogen Assimilation by Plants. Physiological, Biochemical, and Molecular Aspects. *Enfield (NH, USA), Plymouth (UK): Science Publishers*, 121 – 134
- Todar, Kenneth. 2008. *Textbook of Bacteriology*. The University of Wisconsin-Madison
Diakses tanggal 15 November 2008
www.textbookofbacteriology.net
- Widayanti, T. 2007. *Isolasi dan Karakterisasi Bacillus sp. Indigenus Penghasil Asam Indol Asetat Asal Tanah Rizosfer*. Skripsi. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor: Bogor (tidak dipublikasikan)
- Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA. 1976. *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice, Ed 3*. The International Rice Research Institute, Manila, The Philippines