



BAKTERI ENDOFIT TANAMAN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) PENGHASIL ASAM INDOL ASETAT (AIA)

ENDOPHYTIC BACTERIA FROM LIME (*Citrus aurantifolia*) THAT PRODUCES INDOLE ACETIC ACID

Oktira Roka Aji*, Iva Dita Lestari

Program Studi Biologi, Universitas Ahmad Dahlan, Jl Ring Road Selatan, DI.Yogyakarta 55191

**Corresponding author: oktira.aji@bio.uad.ac.id*

Naskah Diterima: 29 Oktober 2019; Direvisi: 9 Februari 2020; Disetujui: 5 April 2020

Abstrak

Bakteri endofit hidup dalam suatu tanaman tanpa menyebabkan gangguan bagi tanaman yang berperan penting dalam menstimulasi pertumbuhan tanaman, yaitu dengan memproduksi fitohormon seperti asam absisat, asam indol asetat, dan sitokinin. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, menyeleksi, dan mengidentifikasi bakteri endofit yang terdapat pada daun, batang, dan akar tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Isolat bakteri endofit diseleksi berdasarkan kemampuannya dalam menghasilkan asam indol asetat (AIA). Isolat bakteri endofit ditumbuhkan pada media *nutrient broth* (NB) yang ditambah dengan L-triptofan. Konsentrasi AIA dihitung dengan penambahan reagen salkowski dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Identifikasi bakteri endofit dilakukan dengan analisis uji biokimia. Isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi sebanyak 12 isolat, yaitu 4 isolat dari daun, 4 isolat dari batang, dan 4 isolat dari akar. Hasil pengamatan pada uji AIA menunjukkan bahwa semua isolat bakteri endofit dapat menghasilkan hormon AIA. Isolat yang menghasilkan konsentrasi hormon AIA tertinggi adalah isolat B2 (6,51 ppm). Isolat bakteri yang berhasil diidentifikasi berasal dari genus *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Staphylococcus*. Bakteri endofit yang dapat menghasilkan AIA berpotensi dikembangkan sebagai *biofertilizer* untuk meningkatkan produktivitas tanaman.

Kata kunci: Asam indol asetat; Bakteri endofit; *Citrus aurantifolia*

Abstract

*Endophytic bacteria live inside plants without causing disruption to plants and play an important role in stimulating plant growth. This study aims to isolate endophytic bacteria from lime plant (*Citrus aurantifolia*) and characterize its ability to produce indole acetic acid (IAA). Bacterial isolates were grown on media supplemented with L-tryptophan as IAA precursor. The bacterial supernatant was mixed with salkowski reagents and then measured using a spectrophotometer at 530 nm. Bacterial identification was carried out using biochemical characteristic analysis. A total of 12 endophytic bacterial isolates were successfully isolated from leaves, stem and roots of plants. Quantitative test results showed that all isolates can produce IAA. The highest concentration of IAA was produced by B2 (6.51 ppm). Biochemical analysis indicated that the isolates were from the genus *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Staphylococcus*. Endophytic bacteria that can produce IAA have the potential to be developed as biofertilizers to increase crop productivity.*

Keywords: *Citrus aurantifolia*; Endophytic bacteria; Indole acetic acid

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v13i2.13044>

PENDAHULUAN

Bakteri endofit adalah bakteri yang dapat membentuk koloni dalam jaringan internal tanaman (Suhando, Kusumawardhani, & Aditiawati, 2016). Keberadaan bakteri tersebut tidak menimbulkan gejala penyakit pada tanaman. Setiap tanaman merupakan habitat bagi bakteri endofit yang hidup di dalamnya. Bakteri endofit pada tanaman sangat beragam. Beberapa yang telah berhasil diisolasi merupakan kelompok *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, dan *Firmicutes* (Rosenblueth & Romero, 2006). Jenis dan kondisi tanaman yang berbeda menyebabkan jenis bakteri endofit pada tanaman bervariasi (Prasetyoputri & Ines, 2006). Bakteri endofit memiliki tempat hidup yang relatif stabil dan terlindungi karena hidup di dalam tanaman. Tanaman dapat menyediakan *nutrient* yang memadai, sedangkan bakteri endofit merangsang pertumbuhan tanaman dan menekan mikroorganisme patogen (Malfanova, 2013). Bakteri endofit memberi keuntungan bagi tanaman, karena dapat memproduksi *siderophore*, memproduksi fitohormon (asam absisat, asam indol asetat, dan sitokinin), menambat nitrogen dari udara, dan lain-lain (Susilowati, Saraswati, Elsanti, & Yuniarti, 2003; Tian, Cao, & Zhang, 2015). Selain berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, bakteri endofit juga dapat berkontribusi dalam proses fitoremediasi serta menghasilkan antibiotik ataupun senyawa bioaktif lainnya (Ryan, Germaine, Franks, Ryan, & Dowling, 2008). Kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif terjadi karena adanya koevolusi atau transfer genetik dari tanaman inang (Duan, Jiang, Cheng, Heikkila, & Glick, 2013). Peran penting bakteri endofit bagi tanaman membuat bakteri tersebut berpotensi dikembangkan sebagai *biofertilizer* untuk meningkatkan produktivitas tanaman, sehingga mengurangi penggunaan pupuk kimia sintetis yang berdampak buruk terhadap lingkungan.

Asam indol asetat (AIA) adalah salah satu hormon pertumbuhan penting tanaman yang termasuk dalam golongan auksin. Hormon tersebut berperan dalam pembelahan sel, pemanjangan sel, pertumbuhan akar, dominasi apikal, pembungaan, absisi daun, gerak tropisme pada tanaman, dan lain-lain

(Zhang, Wei, Luo, Wei, & Guo, 2016). Hormon AIA dapat dihasilkan oleh tanaman, bakteri, dan fungi (Duca, Lorv, Patten, Rose, & Glick, 2014). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa bakteri endofit penghasil AIA dapat memberikan dampak positif terhadap tanaman. Aplikasi bakteri penghasil AIA pada tanaman terbukti meningkatkan pertumbuhan tanaman, di antaranya pada tanaman kacang tanah, jagung, gandum, tebu, dan lain-lain (Mattos et al., 2008).

Jeruk nipis merupakan tanaman obat keluarga yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bumbu masakan, bahan minuman, maupun bahan pengobatan. Saat ini, informasi tentang keberadaan bakteri endofit pada tanaman masih terbatas, khususnya tanaman jeruk nipis. Eksplorasi tentang bakteri endofit penting dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang paling baik dalam mendukung pertumbuhan tanaman. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi, mengkarakterisasi dan mengidentifikasi bakteri endofit dari tanaman jeruk nipis yang memiliki kemampuan menghasilkan AIA.

MATERIAL DAN METODE

Isolasi Bakteri Endofit

Sampel tanaman diambil dari tanaman jeruk nipis yang diambil dari kebun budi daya jeruk di Warungboto, Yogyakarta. Sampel tanaman berupa daun, batang, dan akar dipilih yang tidak terdapat cacat dan tidak menunjukkan gejala penyakit. Masing-masing sampel diambil sebanyak 5 buah. Sampel daun, batang, dan akar tanaman jeruk nipis masing-masing dicuci, berturut-turut direndam pada larutan alkohol 70% selama 4 menit, larutan sodium hipoklorit 2,5% selama 4 menit, dan alkohol 70% selama 4 menit untuk mensterilkan permukaan luar organ tanaman tersebut. Setelah itu, sampel dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Masing-masing sampel dipotong-potong menjadi 0,5 cm secara aseptis lalu dimasukkan ke dalam 1 mL 0,85% NaCl. Campuran tersebut dihomogenisasi dengan *vortex* lalu diambil sebanyak 0,1 mL untuk diinokulasikan ke dalam media *nutrient agar* (NA). Sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25 °C. Sebagai kontrol, akuades steril bilasan terakhir dari tahap sterilisasi permukaan dimasukkan ke dalam media NA.

Koloni bakteri yang tumbuh pada media NA yang telah diberi sampel, kemudian diisolasi menggunakan metode 4 garis kuadran pada media NA untuk mendapatkan kultur murni. Tiap kultur murni ditumbuhkan pada 2 media NA baru. Satu kultur yang disimpan pada suhu 4 °C digunakan sebagai kultur stok. Kultur lainnya yang disimpan pada suhu 25 °C digunakan untuk kultur kerja. Kultur murni diamati morfologi koloninya, meliputi *margin*, *elevation*, *form*, dan warna koloni. Setiap kultur murni juga diwarnai dengan pewarnaan gram untuk mengetahui tipe gram dan bentuk selnya.

Uji Kuantitatif Asam Indol Asetat

Isolat bakteri endofit yang didapatkan kemudian ditumbuhkan di dalam media *nutrient broth* (NB) yang ditambah dengan L-triptofan 0,2 mg/mL. Bakteri endofit diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25 °C. Kultur cair disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 25 menit. Supernatan yang diperoleh diambil sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan reagen salkowski sebanyak 4 mL, dan didiamkan selama 30 menit. Warna merah yang terbentuk pada supernatan menunjukkan bahwa bakteri endofit positif menghasilkan hormon AIA. Intensitas warna merah pada supernatan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Nilai absorbansi dicatat dan dibandingkan dengan kurva standar AIA. Pengujian tiap sampel dilakukan secara duplo.

Pembuatan Kurva Standar Asam Indol Asetat

Larutan stok AIA 0,1 mg/mL dibuat dengan cara melarutkan 1 mg AIA serbuk pada 10 mL akuades steril. Variasi konsentrasi standar AIA dibuat dari konsentrasi 0 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Nilai absorbansi masing-masing konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm.

Uji Biokimia Bakteri

Tiga isolat bakteri endofit penghasil hormon AIA tertinggi kemudian diuji biokimia melalui uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, manitol, sukrosa), uji hidrolisis pati, uji sulfur, indol dan motilitas (SIM), uji sitrat,

uji katalase, uji urease, dan uji *voges proskauer* (VP). Hasil uji biokimia dicocokkan dengan sumber referensi buku *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9th ed.) (Bergey & Holt, 1993) untuk mengetahui identitas bakteri.

HASIL

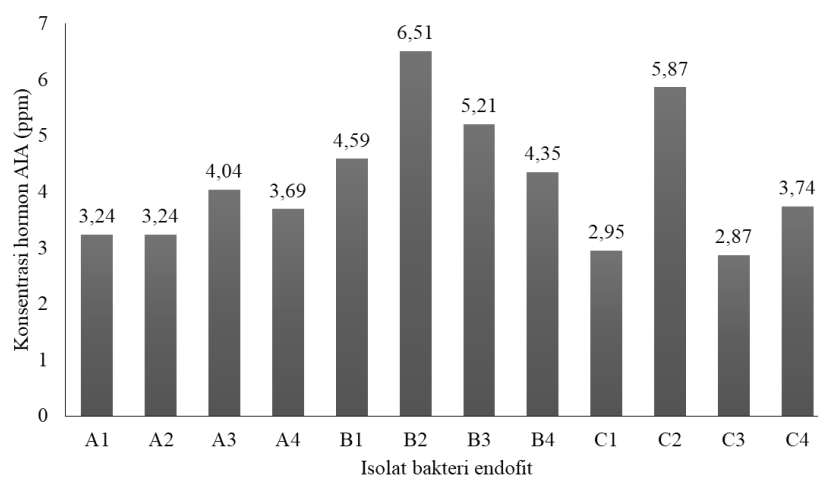
Isolasi bakteri endofit dilakukan untuk mendapatkan bakteri dari daun, batang, dan akar tanaman jeruk nipis. Pada tahap isolasi, bakteri yang diperoleh sebanyak 12 isolat, yaitu 4 isolat dari daun, 4 isolat dari batang, dan 4 isolat dari akar. Metode sterilisasi permukaan yang dilakukan terhadap sampel cukup efektif. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya bakteri yang tumbuh pada media NA yang diberi akuades bilasan terakhir pada tahap sterilisasi permukaan. Oleh karena itu, isolat bakteri yang diperoleh pada penelitian ini kemungkinan besar merupakan bakteri endofit.

Bakteri endofit dari tanaman jeruk nipis yang telah diperoleh, kemudian dikulturkan secara berulang menggunakan metode 4 garis kuadran untuk mendapatkan kultur murni. Kultur murni yang telah diperoleh dari masing-masing organ tanaman kemudian diamati lebih lanjut. Pengamatan yang dilakukan berupa pengamatan morfologi koloni dan sel. Berdasarkan hasil yang ditampilkan pada Tabel 1, morfologi koloni isolat bervariasi. Sebagian besar bakteri merupakan bakteri berbentuk basil. Berdasarkan karakter morfologi, isolat yang berhasil diisolasi kemungkinan berbeda spesies, sehingga perlu dianalisis lebih lanjut.

Isolat bakteri endofit kemudian ditumbuhkan pada media cair untuk dilihat kemampuannya dalam menghasilkan AIA. Media yang digunakan adalah media yang telah disuplementasi dengan L-triptofan 0,2 mg/mL. Hasil pengamatan karakteristik isolat bakteri endofit menunjukkan bahwa semua isolat bakteri endofit dapat menghasilkan hormon AIA (Gambar 1). Kemampuan isolat bakteri endofit dalam menghasilkan AIA bervariasi, tergantung dari jenis isolatnya. Konsentrasi AIA yang dihasilkan oleh isolat bervariasi antara 2,87 sampai 6,51 ppm. Isolat yang menghasilkan konsentrasi hormon AIA tertinggi, yaitu isolat B2 (6,51 ppm). Konsentrasi hormon AIA terendah, yaitu dihasilkan oleh isolat C3 sebesar 2,87 ppm.

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri endofit dari tanaman jeruk nipis

Organ asal	Kode isolat	Margin	Elevation	Bentuk koloni	Warna koloni	Gram	Bentuk sel
Daun	A1	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Positif	Basil
	A2	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Negatif	Basil
	A3	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Positif	Kokus
	A4	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	Kuning gading	Negatif	Basil
Batang	B1	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Negatif	Basil
	B2	<i>Entire</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Negatif	Basil
	B3	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Negatif	Basil
	B4	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	Kuning gading	Negatif	Basil
Akar	C1	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Negatif	Basil
	C2	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Positif	Basil
	C3	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Positif	Basil
	C4	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	Putih susu	Positif	Basil

**Gambar 1.** Hasil pengukuran hormon AIA yang dihasilkan oleh bakteri endofit tanaman jeruk nipis**Tabel 2.** Hasil identifikasi bakteri endofit dari tanaman jeruk nipis

Kode isolat	Glukosa	Laktosa	Manitol	Sukrosa	Pati	Sulfur	Indol	Motilitas	Sitrat	Katalase	Urease	VP	Bakteri
A1	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>Bacillus</i> sp.
A2	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter</i> sp.
A3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	<i>Staphylococcus</i> sp.
A4	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Pseudomonas</i> sp.
B1	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter</i> sp.
B2	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter</i> sp.
B3	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	<i>Enterobacter</i> sp.
B4	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Pseudomonas</i> sp.
C1	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	<i>Pseudomonas</i> sp.
C2	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>Bacillus</i> sp.
C3	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	<i>Bacillus</i> sp.
C4	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	<i>Bacillus</i> sp.

Seluruh isolat kemudian dianalisis lebih lanjut untuk diketahui spesiesnya. Identifikasi dilakukan dengan metode uji biokimia. Hasil uji biokimia yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil yang telah diperoleh kemudian dicocokkan dengan ciri-ciri fisiologis bakteri yang tercantum dalam *Bergey's manual of determinative bacteriology (9th edition)* (Bergey & Holt, 1993). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat bakteri berasal dari genus *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Staphylococcus*.

PEMBAHASAN

Bakteri endofit menempati hampir seluruh organ tanaman, mulai dari daun, batang, dan akar. Bakteri ini awalnya dapat berasal dari lingkungan luar kemudian masuk ke dalam tanaman melalui stomata, luka, dan akar (Herlina, Pukan, & Mustikaningtyas, 2017) dan melakukan kolonisasi. Hasil isolasi bakteri endofit diperoleh sebanyak 12 isolat. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis, semua isolat tersebut memiliki karakteristik yang hampir sama. Semua bakteri yang diperoleh kemudian dianalisis lebih lanjut. Pada penelitian ini diperoleh bakteri gram negatif lebih banyak dibandingkan bakteri gram positif, yaitu diperoleh sebanyak 7 isolat bakteri gram negatif dan 5 isolat bakteri gram positif. Bakteri yang pernah dilaporkan hidup sebagai endofit berasal dari gram negatif maupun positif termasuk dari *Alpha-*, *Beta-* dan *Gammaproteobacteria* serta *Actinobacteria* dan *Firmicutes* (Bacon & Hilton, 2006).

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri ditemukan bahwa jenis bakteri dari masing-masing organ tersebut berbeda-beda. Bakteri endofit tanaman jeruk nipis yang berhasil diisolasi pada penelitian ini berasal dari genus *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Staphylococcus*. Isolat yang berhasil diisolasi dari bagian daun paling beragam dibandingkan bagian lain, yaitu terdiri dari genus *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Staphylococcus*. Bagian batang didominasi oleh *Enterobacter* sp. sedangkan bagian akar didominasi oleh *Bacillus* sp. Menurut Prasetyoputri dan Ines (2006), keragaman jenis bakteri endofit dipengaruhi oleh kondisi tanaman.

Kepadatan populasi bakteri di dalam tanaman dipengaruhi oleh faktor biotik maupun abiotik, yaitu jenis tanaman, fase pertumbuhan, nutrisi, dan lain-lain (Hallman, Quadt-Hallman, Mahaffee, & Kloepper, 1997; Kuklinsky-Sobral et al., 2004). Kepadatan populasi bakteri endofit diperkirakan terbesar adalah pada bagian akar yang mencapai 10^5 CFU/g (Hallman et al., 1997). Jumlah tersebut lebih besar dibandingkan populasi bakteri pada bagian organ lain. Pada penelitian ini, jumlah isolat bakteri endofit yang diperoleh dari masing-masing organ jumlahnya sama, yaitu 4 isolat. Namun, hal ini belum tentu menunjukkan kepadatan yang sesungguhnya pada tanaman yang digunakan sebagai sampel. Menurut Hardoim, Van, Verbeek, Van, dan Isas (2008), tidak semua bakteri endofit dapat dikulturkan. Hal ini disebabkan beberapa bakteri endofit bersifat endofit obligat.

Bakteri endofit memiliki hubungan simbiosis mutualisme dengan tanaman inang. Tanaman inang memberikan tempat tinggal yang terlindungi dan nutrisi, sedangkan bakteri endofit memberikan keuntungan bagi tanaman, salah satunya melalui produksi fitohormon. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua isolat bakteri endofit dapat menghasilkan hormon AIA (Gambar 1.). Warna merah yang terbentuk pada sampel setelah ditetesi reagen salkowski merupakan hasil interaksi antara AIA dengan Fe sehingga terbentuk kompleks $[\text{Fe}_2(\text{OH})_2(\text{IA})_4]$. Semakin pekat warna merah yang terbentuk maka konsentrasi hormon AIA yang dihasilkan oleh isolat bakteri tersebut semakin tinggi. Nilai konsentrasi dihitung menggunakan kurva standar yang telah dibuat menggunakan larutan standar AIA.

Media untuk uji AIA merupakan media *nutrient broth* yang ditambahkan dengan L-triptofan. Senyawa L-triptofan merupakan asam amino yang berperan sebagai prekursor dalam biosintesis AIA. Penambahan senyawa tersebut dimaksudkan agar bakteri dapat terstimulasi memproduksi AIA. L-triptofan merupakan prekursor biosintesis AIA pada bakteri maupun tanaman. Penambahan konsentrasi L-triptofan dapat meningkatkan produksi AIA pada bakteri *Pseudomonas* sp. (Ahmad, Ahmad, & Khan, 2005). L-triptofan dapat diperoleh bakteri dari tanaman atau sel yang rusak (Spaepen, Jos, & Roseline, 2007).

Menurut Padder, Bhat, dan Kuldeep (2017), konsentrasi optimum L-triptofan untuk produksi AIA berbeda pada tiap bakteri dan kisaran 0,2 mg/mL merupakan konsentrasi optimum. Tidak semua bakteri menggunakan L-triptofan dalam sintesis AIA, yang dapat terjadi melalui 2 jalur, yaitu *tryptophan dependent* dan *tryptophan independent*. Kedua jalur ini ditemukan pada tanaman maupun mikroorganisme (Spaepen et al., 2007; Mano & Nemoto, 2012; Sitbon, Astot, Edlund, Crozier, & Sandberg, 2000). Pada tiap bakteri dapat memiliki lebih dari satu macam jalur sintesis AIA (Khan et al., 2016).

Saat ini, jalur *tryptophan dependent* sudah lebih banyak dipelajari dibandingkan jalur *tryptophan independent*. Jalur *tryptophan dependent* pada bakteri dibagi lagi menjadi 3 jalur, yaitu jalur *indole-3-pyruvic acid* (IPA), jalur *indole-3-acetamide* (IAM), dan jalur *indole-3-acetonitrile* (IAN) (Taghavi et al., 2009; Patten & Glick, 2002; Duca et al., 2014). Sebagai contoh, pada bakteri *Azospirillum* memiliki lebih dari satu jalur sintesis AIA, yaitu melalui jalur IPA dan IAM (Duca et al., 2014). Produksi AIA oleh bakteri dipengaruhi oleh jenis bakteri, kondisi lingkungan dan ketersediaan substrat (Tsavkelova, Cherdyntseva, Botina, & Netrusov, 2007; Samavat, Besharati, & Behboudi, 2011; Herlina et al., 2017). Bakteri endofit yang dapat menghasilkan AIA diantaranya, yaitu *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bulkhoderia*, *Enterobacteria*, *Azotobacter*, dan *Azospirillum* (Kuklinsky-Sobral et al., 2004; Cassan, Vanderleyden, & Spaepen, 2014).

Tanaman mengatur pertumbuhannya dengan menghasilkan fitohormon. Bakteri endofit juga berkontribusi dalam menghasilkan fitohormon tersebut. Saxena (2014) dan Duca et al. (2014) melaporkan bahwa banyak ditemukan bakteri endofit yang mampu menghasilkan AIA. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi hormon AIA tertinggi dihasilkan oleh bakteri endofit yang diperoleh dari organ batang. Pei et al. (2017) yang mengisolasi bakteri endofit dari *Dendrobium officinale* juga menemukan bahwa bakteri endofit penghasil hormon AIA diperoleh paling banyak pada organ batang.

Hormon AIA termasuk golongan hormon auksin yang umumnya terdapat pada tanaman

yang berperan penting dalam pertumbuhan dan reproduksi tanaman (Taghavi et al., 2009). Hormon tersebut pertama kali ditemukan pada tanaman, walaupun saat ini jalur sintesis AIA paling banyak dipelajari pada bakteri (Duca et al., 2014). Auksin mengontrol semua aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Grossmann, 2010). Auksin berperan penting dalam pemanjangan batang, dominansi apikal, inisiasi akar lateral, pemanjangan sel, pembelahan sel, diferensiasi sel, dan lain-lain (Zhao, 2010; Tarabily, 2008; Spaepen et al., 2007). Pada tanaman dikotil, auksin berperan pada pembentukan akar lateral, sedangkan pada tanaman monokotil berperan dalam pembentukan akar adventif (McSteen, 2010). Auksin beredar melalui floem dan terakumulasi pada jaringan tertentu, khususnya pada jaringan meristem tanaman (Spaepen et al., 2007; Eklund et al., 2010). Pada mikroorganisme, AIA berperan sebagai molekul sinyal karena AIA memengaruhi ekspresi gen pada beberapa bakteri (Yuan, Liu, Saenkham, Kerr, & Nester, 2008). AIA berperan sebagai molekul efektor dalam interaksi antara tanaman dengan bakteri penghasil AIA serta interaksi antar bakteri penghasil AIA (Fu et al., 2015).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa pada konsentrasi tertentu hormon AIA yang dihasilkan oleh bakteri endofit dapat meningkatkan jumlah rambut akar serta pemanjangan akar lateral dan akar primer (Lestari, Susilowati, & Riyanti, 2007; Ryan et al., 2008; Shi, Lou, & Li, 2009). Pada konsentrasi yang terlalu tinggi, AIA juga dapat menghambat pertumbuhan akar (Davies, 1995). Beberapa peneliti juga telah melaporkan bahwa aplikasi bakteri endofit penghasil AIA pada tanaman dapat membantu tanaman lebih tahan terhadap stres atau cekaman lingkungan, yaitu kekeringan dan serangan agen penyakit (Cassan et al., 2014; Belimov et al., 2015).

Bakteri penghasil AIA sangat beragam di antaranya merupakan epifit, endofit, metilotrofik, *Cyanobacteria* dan ditemukan pada tanah maupun perairan (Sergeeva, Liaimer, & Bergman, 2002). Bakteri endofit penghasil AIA diantaranya berasal dari genus *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Pantoea*, dan *Streptomyces*

(Apine & Jadhav, 2011). Semua isolat bakteri endofit diidentifikasi dengan menggunakan metode uji biokimia. Hasil uji biokimia yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 2. Pada penelitian ini, isolat bakteri penghasil AIA tertinggi adalah isolat B2 yang diisolasi dari bagian batang. Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa kemungkinan isolat tersebut berasal dari genus *Enterobacter*.

Genus *Enterobacter* memiliki kemampuan menghasilkan hormon AIA sehingga dapat memacu pertumbuhan tanaman (Magnani, Didonet, Cruz, Pedrosa, & Souza, 2010). Beberapa penelitian menemukan bahwa gen *ipdC* yang mengkode enzim *indolepyruvate decarboxylase* terdapat pada *Enterobacter cloacae* dan *Enterobacter agglomerans* (Koga, Adachi, & Hidaka, 1991; Zimmer, Hundeshagen, & Niederau, 1994; Patten & Glick, 2002; Ryu & Patten, 2008). Enzim tersebut merupakan enzim yang berperan dalam sintesis AIA melalui jalur IPA. Hal ini menandakan bahwa kemungkinan *Enterobacter* melakukan sintesis AIA melalui jalur IPA pada *tryptophan dependent pathway*. Tidak menutup kemungkinan *Enterobacter* memiliki jalur lain pada biosintesis AIA. Beberapa *Enterobacter* yang diketahui hidup sebagai endofit pada tanaman dan mampu menghasilkan AIA di antaranya yaitu *Enterobacter cloacae* (Macedo-Raygoza et al., 2019), *Enterobacter ludwigii* (Susilowati, Ningsih, Riyanti, Setyowati, & Mulya, 2002), *Enterobacter* sp. LX3 (Chi et al., 2018), *Enterobacter* sp. Sal 3 (Dhungana, Sabitri, & Kazuhito, 2019), *Enterobacter* sp. DMKU-RP206 (Srisuk, Nantana, Varunya & Pumin, 2018), dan *Enterobacter* sp. 638 (Taghavi, Lelie, Hoffman, Zhang, & Walla, 2010).

Genus *Bacillus* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang dan mampu membentuk endospora. Bakteri tersebut diperkirakan dapat menstimulasi pertumbuhan tanaman melalui produksi hormon AIA (Widayanti, 2007). Selain dapat mendukung pertumbuhan tanaman, *Bacillus* juga banyak digunakan sebagai agen biokontrol atau pengendali penyakit tanaman (Chen et al., 2010). Pada penelitian ini, bakteri *Bacillus* sp. (kode isolat C2) dapat menghasilkan AIA dengan konsentrasi 5,87 ppm. Jumlah tersebut kemungkinan masih dapat ditingkatkan jika

dilakukan optimasi produksi. Menurut Srinivasan, Holl, dan Peterson (1996), spesies *Bacillus* dapat menghasilkan konsentrasi AIA yang berbeda-beda dengan kisaran 0,4–4,88 ppm. Pada *Bacillus subtilis* ZJB-063 ditemukan gen *oxd* yang berkaitan dengan jalur IAN pada *tryptophan dependent pathway* sehingga kemungkinan *Bacillus* melakukan sintesis AIA melalui jalur ini (Zheng et al., 2008). Menurut Asril (2017), *Bacillus* dapat memproduksi AIA tanpa penambahan L-tryptofan pada media, sehingga kemungkinan bakteri tersebut juga dapat menghasilkan AIA melalui jalur *tryptophan independent* dengan menggunakan asam amino aromatik lain. Beberapa *Bacillus* yang diketahui hidup sebagai endofit pada tanaman dan mampu menghasilkan AIA di antaranya yaitu *Bacillus cereus* (Susilowati et al., 2002), *Bacillus amyloliquenfaciens* (Susilowati et al., 2002), *Bacillus subtilis* LK14 (Khan et al., 2016), *Bacillus megaterium* (Grunenvaldt et al., 2018), *Bacillus aryabhatai* MF693121.1 (Bhutani, Rajat, Monika, & Pooja, 2018).

Pada penelitian ini, genus *Pseudomonas* dapat ditemukan pada organ daun, batang, dan akar. Bakteri *Pseudomonas* banyak dilaporkan hidup sebagai endofit dan ditemukan di berbagai organ tanaman. Beberapa spesies *Pseudomonas* yang diketahui merupakan bakteri endofit dan dapat menghasilkan AIA yaitu *Pseudomonas putida* (Bharucha, Patel, & Trivedi, 2013), *Pseudomonas aeruginosa* (Devi, Pandey, Rawat, Sharma, & Pandey, 2017), *Pseudomonas fluorescens* (Chen et al., 2017), *Pseudomonas azotoformans* (Goryluk et al., 2018), *Pseudomonas stutzeri* (Lata, Li, Silva, Moraes, & Halda-Alija, 2006) dan *Pseudomonas protegens* (Etminani & Harighi, 2018). Dalam hal mendukung pertumbuhan tanaman, *Pseudomonas* memiliki kemampuan untuk memproduksi fitohormon (giberelin, AIA), memproduksi *siderophore*, melarutkan fosfat anorganik, memiliki aktivitas protease, nitrogenase, dan protease serta memiliki aktivitas anti-fitopatogen (Devi et al., 2017; Pandya & Desai, 2014).

Staphylococcus merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus. *Staphylococcus* ditemukan pada beberapa tanaman seperti anggur, kedelai, tomat, bambu, dan lain-lain (Campisano et al, 2014; Hung & Annapurna,

2004; Nawangsih, Damayanti, Wiyono, & Kartika, 2011; Yuan, Fang, & Zhan, 2015). Pada penelitian ini, *Staphylococcus* hanya ditemukan pada organ daun dan jumlahnya lebih sedikit dibandingkan genus bakteri yang lain. Lopes, Carpentieri-Pipolo, Oro, Pagliosa, dan Degrassi (2016) menemukan *Staphylococcus* pada daun dan batang tanaman kedelai yang beberapa diantaranya dapat memproduksi AIA. Beberapa spesies *Staphylococcus* yang berhasil diisolasi dari tanaman, yaitu *Staphylococcus epidermidis* (Nawangsih et al., 2011), *Staphylococcus sciuri* (Yuan et al., 2015), *Staphylococcus cohnii* (Ruiza, Agaras, de Werrab, Wall, & Valverde, 2011) dan *Staphylococcus warneri* (Das, Park, Choi, & Baek, 2018).

Isolat bakteri endofit penghasil AIA dapat dijadikan agen untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Penggunaan bakteri yang dapat mendukung pertumbuhan tanaman atau umumnya dikenal dengan istilah *plant growth promoting bacteria* (PGPB) dapat bermanfaat untuk meningkatkan produktivitas tanaman. Menurut Etesami, Alikhani, dan Hosseini (2015), uji AIA merupakan metode skrining awal yang efektif untuk menyeleksi kemampuan isolat bakteri endofit yang terbaik dalam mendukung pertumbuhan tanaman. Jika telah diperoleh isolat bakteri endofit penghasil AIA, dapat dilanjutkan dengan uji kemampuan yang lain seperti misalnya kemampuan dalam menambat nitrogen, produksi ACC deaminase, produksi siderofor, dan lain-lain.

PGPB berpotensi dikembangkan untuk dijadikan alternatif pengganti penggunaan pupuk, pestisida atau suplemen tanaman yang berasal dari senyawa kimia sintetis (Khan et al., 2016). Seperti yang telah diketahui bahwa penggunaan senyawa kimia sintetis pada pertanian dalam jumlah yang banyak dapat memberikan dampak buruk bagi lingkungan. Oleh karena itu, penggunaan PGPB ini dapat menjadi alternatif solusi yang ramah lingkungan untuk meningkatkan produktivitas tanaman agar dapat terwujud pertanian yang berkelanjutan.

SIMPULAN

Bakteri endofit tanaman jeruk nipis yang berhasil diisolasi adalah sebanyak 12 isolat bakteri yaitu 4 isolat dari daun, 4 isolat dari

batang, dan 4 isolat dari akar. Semua isolat bakteri endofit dapat menghasilkan AIA. Isolat yang menghasilkan konsentrasi AIA tertinggi adalah isolat B2 (6,51 ppm). Hasil identifikasi dengan metode uji biokimia menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diperoleh pada penelitian ini berasal dari genus *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Staphylococcus*. Optimasi lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui kemampuan optimal bakteri dalam menghasilkan AIA melalui optimasi media, kondisi inkubasi, umur inokulum, waktu panen, dan lain-lain.

REFERENSI

- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M.S. (2005). Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29, 29-34.
- Apine, O. A., & Jadhav, J. P. (2011). Optimization of media for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM. *Journal of Applied Microbiology*, 110(5), 1235-1244.
- Asril, M. (2017). Uji potensi *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli* dalam menghasilkan indole acetid acid (IAA) tanpa menggunakan triptofan pada media pertumbuhan. *Journal of Science and Aplicative Technology*, 1(22), 82-86.
- Bacon, C., & Hinton, D. (2006). Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility. In S. S. Gnanamanickam (Eds.), *Plant-Associated Bacteria* (pp. 155-194) Netherlands: Springer.
- Belimov, A. A., Dodd, I. C., Safronova, V. I., Shaposhnikov, A. I., Azarova, T. S., Makarova, N. M., ... Tikhonovich, I. A. (2015). Rhizobacteria that produce auxins and contain 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid deaminase decrease amino acid concentrations in the rhizosphere and improve growth and yield of well-watered and water-limited potato (*Solanum tuberosum*). *Annals of Applied Biology*, 167(1), 11-25. doi: 10.1111/aab.12203.

- Bergey, D. H., & Holt, J. G. (1993). *Bergey's manual of determinative bacteriology 9th edition*. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Bharucha, U., Patel, K., & Trivedi, U. B. (2013). Optimization of indole acetic acid production by *Pseudomonas putida* UB1 and its effect as plant growth-promoting *Rhizobacteria* on mustard (*Brassica nigra*). *Agricultural Research*, 2, 215-221. doi: 10.1007/s40003-013-0065-7.
- Bhutani, N., Rajat, M., Monika, N., & Pooja, S. (2018). Optimization of IAA production by endophytic *Bacillus* spp. from *Vigna radiata* for their potential use as plant growth promoters. *Israel Journal of Plant Sciences*, 65(1), 1-2. doi: 10.1163/22238980-00001025.
- Campisano, A., Antonielli, L., Pancher, M., Yousaf, S., Pindo, M., & Pertot, I. (2014). Bacterial endophytic communities in the grapevine depend on pest management. *PLoS ONE*, 9(11), e112763. doi: 10.1371/journal.pone.0112763.
- Cassan, F., Vanderleyden, J., & Spaepen, S. (2014). Physiological and agronomical aspect of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33(2), 440-459. doi: 10.1007/s00344-013-9362-4.
- Chen, F., Wang, M., Zheng, Y., Luo, J., Yang, X., & Wang, X. (2010). Quantitative changes of plant defense enzyme and phytohormone in biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt by *Bacillus subtilis* B579. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(4), 675-684.
- Chen, B., Luo, S., Wu, Y., Ye, J., Wang, Q., Xu, X., ... Yang, X. (2017). The effects of the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* Sasm05 and IAA on the plant growth and cadmium uptake of *Sedum alfredii* Hance. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2538. doi: 10.3389/fmicb.2017.02538.
- Chi, Q., Tang, W., Liu, L., Meng, J., Dong, X., Chen, W., & Li, X. (2018). Isolation and properties of *Enterobacter* sp. LX3 capable of producing indoleacetic acid. *Applied Sciences*, 8(11), 1-11 doi: 10.3390/app8112108.
- Pei, C., Mi, C., Sun, L., Liu, W., Li, O., & Hu, X. (2017). Diversity of endophytic bacteria of *Dendrobium officinale* based on cultur-dependent and culture-independent methods. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 31(1), 112-119.
- Das, G., Park, S., Choi, J., & Baek, K. (2018). Anticandidal potential of endophytic bacteria isolated from *Dryopteris uniformis* (Makino). *Jundishapur Journal of Microbiology*, 12(1), e69878. doi: 10.5812/jjm.69878.
- Davies, P. J. (1995). *Plant hormone: Physiology, biochemistry, and molecular biology*. Boston: Kluwer academic.
- Devi, K., Pandey, G., Rawat, A., Sharma, G., & Pandey, P. (2017). The endophytic symbiont-*Pseudomonas aeruginosa* stimulates the antioxidant activity and growth of *Achyranthes aspera* L. *Frontiers in Microbiology*, 8(1897), 1-14. doi: 10.3389/fmicb.2017.01897.
- Dhungana., Sabitri, A., & Kazuhito, I. (2019). Effects of co-inoculation of indole-3-acetic acid-producing and degrading bacterial endophytes on plant growth. *Horticulturae*, 5(17),1-9. doi: 10.3390/horticulturae5010017.
- Duan, J., Jiang, W., Cheng, Z., Heikkila, J. J., & Glick, B. R. (2013). The complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas* sp. UW4. *PLOS ONE*, 8(3), 1-19. doi: 10.1371/journal.pone.0058640.
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid inplant-microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106(1), 85-125. doi: 10.1007/s10482-013-0095-y.
- Eklund, D. M., Thelander, M., Landberg, K., Staldal, V., Nilsson, A., Johansson, M., ... Sundberg E. (2010). Homologues of the *Arabidopsis thaliana* SHI/STY/LRP1 genes control auxin biosynthesis and affect growth and development in the moss *Physcomitrella patens*. *Development*, 137(8), 1275-1284. doi:10.1242/dev.039594.

- Etesami, H., Alikhani, H. A., & Hosseini, H. M. (2015). Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents. *MethodsX*, 2, 72-78. doi: 10.1016/j.mex.2015.02.008.
- Etminani, F., & Harighi, B. (2018). Isolation and identification of endophytic bacteria with plant growth promoting activity and biocontrol potential from wild pistachio trees. *The Plant Pathology Journal*, 34(3), 208-217. doi: 10.5423/PPJ.OA.07.2017.0158.
- Fu, S. F., Wei, J. Y., Chen, H. W., Liu, Y. Y., Lu, H. Y., & Chou, J. Y. (2015). Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interaction of fungi with other organisms. *Plant Signaling & Behavior*, 10(8), e1048052.
- Goryluk-Salmonowicz, A., Orzeszko-Rywka, A., Piórek, M., Rekosz-Burlaga, H., Otlowska, A. O., Gozdowski, D., & Błaszczuk, M. (2018). Plant growth promoting bacterial endophytes isolated from polish herbal plants. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 17(5), 101-110. doi: 10.24326/asphc.2018.5.9.
- Grossmann, K. (2010). Auxin herbicides: Current status of mechanism and mode of action. *Pest Management Sciences*, 66(2), 113-20. doi: 10.1002/ps.1860.
- Grunenvaldt, R., Degenhardt-Goldbach, J., Tomasi, J., Santos, G., Vicente, V., & Deschamps, C. (2018). *Bacillus megaterium*: An endophytic bacteria from callus of *Ilex paraguariensis* with growth promotion activities. *Biotechnología Vegetal*, 18(1), 3-13.
- Hallman, J., Quadt-Hallman, A., Mahaffee, W., & Kloepper, J. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(10), 895-914.
- Hardoim, P. R., Van, O., Verbeek, L. S., Van, E., & Isas, J. D. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology*, 16(10), 463-471. doi: 10.1016/j.tim.2008.07.008.
- Herlina, L., Pukan, K., & Mustikaningtyas, D. (2017). The endophytic bacteria producing IAA (indole acetic acid) in *Arachis hypogaea*. *Cell Biology & Development*, 1(1), 31-35. doi: 10.13057/cellbioldev/t010106.
- Hung, P., & Annapurna, K. (2004). Isolation and characterization of endophytic bacteria in soybean (*Glycine* sp.). *Omonrice*, 12, 92-101.
- Khan, A. L., Halo, B. A., Elyassi, A., Ali, S., Al-Hosni, K., Hussain, J., ... Lee, I. (2016). Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 21, 58-64. doi:10.1016/j.ejbt.2016.02.001
- Koga, J., Adachi, T., & Hidaka, H. (1991). Molecular cloning of the gene for indolepyruvate decarboxylase from *Enterobacter cloacae*. *Molecular and General Genetics*, 226(1-2), 10-16.
- Kuklinsky-Sobral, J., Araujo, W. L., Mendes, R., Geraldi, I.O., Pizzirani-Kleiner, A.A., & Azevedo, J. L. (2004). Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology*, 6(12), 1244-1251.
- Lata, H., Li, X., Silva, B., Moraes, R., & Halda-Alija, L. (2006). Identification of IAA-producing endophytic bacteria from micropropagated *Echinacea* plants using 16S rRNA sequencing. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 85(3), 353-359. doi: 10.1007/s11240-006-9087-1.
- Lestari, P., Susilowati, D. N., & Riyanti, E. I. (2007). Pengaruh hormon asam indolasetat yang dihasilkan *Azospirillum* sp. terhadap perkembangan akar padi. *Jurnal AgroBiogen*, 3(2), 66-72.
- Lopes, K. B. D., Carpentieri-Pipolo, V., Oro, T. H., Pagliosa, E. S., & Degrassi, G. (2016). Culturable endophytic bacterial communities associated with fieldgrown soybean. *Journal of Applied Microbiology*, 120(3), 740-55. doi: 10.1111/jam.13046.

- Macedo-Raygoza, G. M., Valdez-Salas, B., Prado, F. M., Prieto, K. R., Yamaguchi, L. F., Kato, M. J., ... Beltran-Garcia, M. J. (2019). *Enterobacter cloacae*, an endophyte that establishes a nutrient-transfer symbiosis with banana plants and protects against the black sigatoka pathogen. *Frontier Microbiology*, 10, 804. doi: 10.3389/fmicb.2019.00804.
- Magnani, G. S., Didonet, C. M., Cruz, L. M., Pedrosa, E. O., & Souza, E. M. (2010). Diversity of endophytic bacteria in Brazilian sugarcane. *Genetic and Molecular research*, 9(1), 250-258.
- Malfanova, N. V. (2013). Endophytic bacteria with plant growth promoting and biocontrol abilities (Doctoral dissertation). Leiden University, Netherlands.
- Mano, Y., & Nemoto, K. (2012). The pathway of auxin biosynthesis in plants. *Journal of Experimental Botany*, 63(8), 2853-2872. doi: 10.1093/jxb/ers091.
- Mattos, K. A., Padua, V. L. M., Romerio, A., Hallack, L. F., Neves, B. C., Ulisses, T. M. U., ... Mendoca, P. L. (2008). Endophytic colonization of rice (*Oryza sativa* L.) by the diazotrophic bacteria *Burkholderia kururiansis* and its ability. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 80(3), 477-493.
- McSteen, P. (2010). Auxin and monocot development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(3), a001479. doi: 10.1101/cshperspect.a001479.
- Nawangsih, A., Damayanti, I., Wiyono, S., & Kartika, J. (2011). Selection and characterization of endophytic bacteria as biocontrol agents of tomato bacterial wilt disease. *HAYATI Journal of Biosciences*, 18(2), 66-70. doi.org/10.4308/hjb.18.2.66.
- Padder, S. A., Bhat, Z. A., & Kuldeep. (2017). Isolation and characterization of indole-3-acetic acid producing bacterial root endophytes associated with brown sarson (*Brassica rapa* L.). *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology*, 5(3), 69-74.
- Pandya, N. D., & Desai P. V. (2014). Screening and characterization of GA3 producing *Pseudomonas monteilii* and its impact on plant growth promotion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(5), 110-115.
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002). Regulation of indole acetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationary-phase sigma factor RpoS. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(7), 635-642.
- Prasetyoputri, A., & Ines. A. (2006). Mikroba endofit: Sumber molekul acuan baru yang berpotensi. *BioTrends: Majalah Populer Bioteknologi*, 1(2), 13-15.
- Rosenblueth, M., & Romero, E. M. (2006). Bacterial endophyte and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(8), 827-837.
- Ruiza, D., Agaras, B., de Werrab, P., Wall, L. G., & Valverde, C. (2011). Characterization and screening of plant probiotic traits of bacteria isolated from rice seeds cultivated in Argentina. *Journal of Microbiology*, 49(6), 902-912. doi: 10.1007/s12275-011-1073-6.
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A. F., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2008). Bacterial endophytes: Recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters*, 278(1), 1-9.
- 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. *Bacteriology*, 190(21), 7200-7208.
- Samavat, S., Besharati, H., & Behboudi, K. (2011). Interaction of *Rhizobia* cultural filtrates with *Pseudomonas fluorescens* on bean damping-off control. *Journal of Agricultural Science and Technology (Iran)*, 13(6), 965-976.
- Saxena, S. (2014). Microbial metabolite for development of ecofriendly agrochemical. *Allelopathy Journal*, 33(1), 1-24.
- Sergeeva, E., Liaimer, A., & Bergman, B. (2002). Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by *Cyanobacteria*. *Planta*, 215(2), 229-238.

- Shi, Y., Lou, K., & Li, C. (2009). Isolation, quantity distribution and characterization of endophyte microorganisms within sugar beet. *African Journal of Biotechnology*, 8(5), 835-840.
- Sitbon, F., Astot, C., Edlund, A., Crozier, A., & Sandberg, G. (2000). The relative importance of tryptophan-dependent and tryptophan-independent biosynthesis of indole-3-acetic acid in tobacco during vegetation growth. *Planta*, 211(5), 715-721. doi: 10.1007/s004250000338.
- Spaepen, S., Jos, S., & Roseline, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism and microorganism signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425-48. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x.
- Srinivasan, M., Holl, F. B., & Peterson, D. J. (1996). Influence of indole acetic acid producing *Bacillus* isolate on the nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* under gnotobiotic condition. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(10), 1006-1014. doi: 10.1139/m96-129.
- Srisuk., Nantana., Varunya, S., & Pumin, N. (2018). Production of indole-3-acetic acid by *Enterobacter* sp. DMKU-RP206 using sweet whey as a low-cost feed stock. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(9), 1511-1516. doi: 10.4014/jmb.1804.04043.
- Suhandono, S., Kusumawardhani, M. K., & Aditiawati, P. (2016). Isolation and molecular identification of endophytic bacteria from rambutan fruits (*Nephelium Lappaceum* L.) Cultivar Binjai. *HAYATI Journal of Biosciences*, 23(1), 1-6. doi: 10.1016/j.hjb.2016.01.005.
- Susilowati, D. N., Saraswati, R., Elsanti., & Yuniarti, E. (2003, September 23-24). *Isolasi dan seleksi mikroba diazotrof endofitik dan penghasil zat pemacu tumbuh pada tanaman padi dan jagung*. Paper presented at the Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman, Bogor, Indonesia. Retrieved from http://biogen.litbang.pertanian.go.id/terbitan/pdf/prosiding2003_128-144_susilowati_isolasi.pdf
- Susilowati., N., D., Riyanti, E. I., Setyowati, M., & Mulya, K. (2002). Indole-3-acetic acid producing bacteria and its application on the growth of rice. In T. Arisuryanti, Maryani, Z. Rohmah, L. Hidayati, & G. R. Aristya (Eds.), *Inventing Prosperous Future through Biological Research and Tropical Biodiversity Management*. AIP Conference Proceedings, Indonesia. Retrieved from <https://aip.scitation.org/doi/pdf/10.1063/1.5050112>
- Taghavi, S., Lelie, D., Hoffman, A., Zhang, Y., Walla, M., Vangronsveld, J., ... Monchy, S. (2009). Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(3), 748.
- Taghavi, S., Lelie, D., Hoffman, A., Zhang, Y-B., & Walla, M. D. (2010). Genome sequence of the plant growth promoting endophytic bacterium *Enterobacter* sp. 638. *PLOS Genetics*, 6(5), 1-15. doi: 10.1371/journal.pgen.1000943.
- Tarabily, K. A. (2008). Promotion of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic aciddeaminase-producing streptomycete actinomycetes. *Plant Soil*, 308(1), 161-174.
- Tian, B., Cao, Y., & Zhang, K. (2015). Metagenomic insights into communities, functions of endophytes, and their associates with infection by root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Scientific Reports*, 5(17087), 1-15. doi: 10.1038/srep17087.
- Tsavkelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., Botina, S. G., & Netrusov, A. I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological Research*. 162(1), 69-76.

- Widayanti, T. (2007). Isolasi dan karakterisasi *Bacillus* indigenus penghasil asam indolasetat asal tanah rizosfer (Skripsi sarjana). Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Yuan, Z. C., Liu, P., Saenkham, P., Kerr, K., & Nester, E. W. (2008). Transcriptome profiling and functional analysis of *Agrobacterium tumefaciens* reveals a general conserved response to acidic condition (pH 5,5) and a complex acid-mediated signaling involve in *Agrobacterium* plant interactions. *Journal of Bacteriology*, *190*(2), 494-507. doi: 10.1128/JB.01387-07.
- Yuan, Z., Fang, L., & Zhan, G. (2015). Isolation of culturable endophytic bacteria from moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and 16S rDNA diversity analysis. *Archives of Biological Sciences*, *67*(3), 63-63. doi: 10.2298/ABS141212063Y.
- Zhang, C., Wei, D. D., Luo, P., Wei, A. C., & Guo, G. Q. (2016). The biosynthesis of auxin. *Plant Growth Regulation*, *78*(3), 275-285.
- Zhao, Y. (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, *61*(1), 49-64. doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112308.
- Zheng, Y., Chen, J., Liu Z., Wu, M., Xing, L., & Shen, Y. (2008). Isolation, identification and characterization of *Bacillus substilis* ZJB-063, a versatile nitrile converting bacterium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *77*(5), 985-993.
- Zimmer, W., Hundeshagen, B., & Niederau, E. (1994). Demonstration of the indolepyruvate decarboxylase gene homologue in different auxin-producing species of the *Enterobacteriaceae*. *Canadian Journal of Microbiology*, *40*(12), 1072-1076.