

The Ability of Fluorescent Pseudomonad to Produce *Indole Acetic Acid (IAA)*

Kemampuan pseudomonad fluoresen dalam Menghasilkan *Indole Acetic Acid (IAA)*

Maysyarah Ardiana, Linda Advinda*

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: linda_advinda@yahoo.com

Abstract

Fluorescent pseudomonads are a group of bacteria derived from the rhizosphere of plants. Fluorescent pseudomonads have potential as plant growth promoters capable of producing Indole Acetic Acid (IAA). This study aims to determine the ability of fluorescent pseudomonads to produce IAA. The fluorescent pseudomonad isolates used were Pf31 isolate from longan rhizosphere (*Dimocarpus longan*), Pf32 from cassava rhizosphere (*Manihot esculenta*), Pf33 from guava rhizosphere (*Psidium guajava*), Pf35 from galangal rhizosphere (*Alpinia galanga*), Pf36 from galangal from the rhizosphere of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*), Pf37 from the rhizosphere (*Alocasia* sp.), Pf38 from the rhizosphere of celery (*Apium graveolens*), Pf39 from the rhizosphere of turmeric (*Curcuma longa*), and Pf40 from the rhizosphere (*Oxalis* sp.). This research is a descriptive study which was carried out by detecting the ability of fluorescent pseudomonads to produce IAA using the spectrophotometric method. The results obtained showed that the fluorescent pseudomonads isolates Pf31, Pf32, Pf33, Pf35, Pf36, Pf37, Pf38, Pf39, and Pf40 had the ability to produce IAA with the highest concentration produced by isolate Pf36 which was 9.86 ppm and the lowest concentration was produced by isolate Pf31. ie 4.26 ppm.

Key words: *fluorescent pseudomonad, Indole Acetic Acid (IAA)*

Abstrak

Pseudomonad fluoresen merupakan kelompok bakteri yang berasal dari rizosfir tanaman. Pseudomonad fluoresen memiliki potensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman yang mampu menghasilkan Indole Acetic Acid (IAA). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan pseudomonad fluoresen dalam menghasilkan IAA. Isolat pseudomonad fluoresen yang digunakan adalah isolat Pf31 berasal dari rizosfir lengkeng (*Dimocarpus longan*), Pf32 berasal dari rizosfir singkong (*Manihot esculenta*), Pf33 berasal dari rizosfir jambu biji (*Psidium guajava*), Pf35 berasal dari rizosfir lengkuas (*Alpinia galanga*), Pf36 berasal dari rizosfir jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*), Pf37 berasal dari rizosfir (*Alocasia* sp.), Pf38 berasal dari rizosfir seledri (*Apium graveolens*), Pf39 berasal dari rizosfir kunyit (*Curcuma longa*), dan Pf40 berasal dari rizosfir (*Oxalis* sp.). Penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang dilakukan dengan deteksi kemampuan pseudomonad fluoresen dalam menghasilkan IAA menggunakan metode spektrofotometri. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pseudomonad fluoresen isolat Pf31, Pf32, Pf33, Pf35, Pf36, Pf37, Pf38, Pf39, dan Pf40 memiliki kemampuan dalam menghasilkan IAA dengan konsentrasi tertinggi dihasilkan oleh isolat Pf36 yaitu 9,86 ppm dan konsentrasi terendah dihasilkan oleh isolat Pf31 yaitu 4,26 ppm..

Kata kunci: *pseudomonad fluoresen, Indole Acetic Acid (IAA)*

Pendahuluan

Pseudomonad fluoresen merupakan kelompok bakteri yang hidup berkoloni di sekitar perakaran tanaman dengan kemampuannya mengendalikan patogen tanaman. Menurut Advinda (2020) pseudomonad fluoresen merupakan salah satu agen biokontrol yang dapat diisolasi dari perakaran tanaman. Hass dan Defago (2005) menyatakan, disamping mampu mengendalikan patogen, pseudomonad fluoresen juga mampu memproduksi hormon pertumbuhan tanaman, serta berperan sebagai agens pengendali hayati melalui mekanisme dalam penginduksian ketahanan tanaman. Beberapa bakteri yang dilaporkan termasuk ke dalam kelompok agen biokontrol yaitu *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, dan *Streptomyces* (Shoda, 2000). Sebagai agen biokontrol pseudomonad fluoresen mampu menekan keberadaan patogen tanah dengan mengkolonisasi permukaan akar tanaman, memproduksi senyawa antibiotik dan anti jamur, serta mempermudah penyerapan Fe (Supriadi, 2006). Selain itu bakteri pseudomonad fluoresen juga dikenal sebagai biofertilizer (Anhar et al., 2012). Biofertilizer adalah bahan yang mengandung mikroorganisme hidup yang dapat diaplikasikan pada tanah dan tumbuhan sehingga mampu meningkatkan nutrisi tanaman (Abat, 2006).

Pseudomonad fluoresen dapat diisolasi dari rizosfir berbagai jenis tanaman. Rizosfir merupakan tanah yang terdapat di antara serabut perakaran tanaman yang dipengaruhi oleh eksudasi perakaran dan mikroorganisme tanah (Sukmadi, 2013). Mikroorganisme rizosfir berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan memberikan manfaat yang berkelanjutan untuk mengurangi penggunaan pestisida (Munif dan Awaludin, 2011). Pseudomonad fluoresen sebagai agen biokontrol dapat mengendalikan beberapa penyakit tanaman dengan kemampuannya menghasilkan senyawa siderofor (Probawati et al., 2021). Advinda et al., (2004) menyatakan pseudomonad fluoresen isolat PfPj1 yang diisolasi dari akar tanaman pisang jantan memiliki potensi dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang dan menghambat perkembangan penyakit Blood Disease Bacteria (BDB).

Kemampuan bakteri sebagai pupuk hayati dalam menghasilkan hormon IAA merupakan kriteria penting dalam upaya pemanfaatan bakteri sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman. IAA adalah hormon auksin dalam bentuk alami yang terdapat pada tanaman, hormon ini dapat mempengaruhi cepatnya pertumbuhan tanaman, meningkatkan proses elongasi sel, diferensiasi sel, dan perpanjangan batang (Advinda, 2018; Tarabilly et al., 2003). Sehingga, untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dapat dimanfaatkan bakteri penghasil IAA ini (Aryantha et al., 2004).

Beberapa spesies bakteri dari genus *Pseudomonas*, *Aerobacter*, *Bacillus*, dan *Klebsiella* memiliki kemampuan dalam menghasilkan IAA. Istiqomah et al., (2017) dalam penelitiannya menyatakan *B. subtilis* isolat UB-ABS2 dan UB-ABS6 menghasilkan IAA sebesar 1,09 ppm dan 0,69 ppm. Sukmadewi et al., (2015) menyatakan isolat bakteri yang berasal dari rizosfir tanaman cengkeh (TKCI) mampu menghasilkan hormon IAA dengan konsentrasi tinggi mencapai 32,84 ppm. Sedangkan Sukmadi (2013) menyatakan isolat bakteri yang berasal dari rizosfir tanaman kangkung nomor 1 (KR1) memiliki konsentrasi yang lebih rendah yaitu 10,99 ppm.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: *Erlenmeyer*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, *beaker glass* (500 mL dan 200 mL), spatula, batang pengaduk, gelas ukur, pipet tetes, lampu spiritus, kompor listrik, sentrifus, timbangan digital, *vortex*, *waterbath*, mikropipet, tip, jarum ose, *oven*, *shaker*, *autoclave*, kertas label, spidol, plastik wrap, *aluminium foil*, kertas saring, plastik ukuran 1 kg, pinset, kamera handphone, dan alat-alat tulis. Untuk mengukur konsentrasi IAA menggunakan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat pseudomonad fluoresen yaitu Pf31 berasal dari rizosfir lengkeng (*Dimocarpus longan*), Pf32 berasal dari rizosfir singkong (*Manihot esculenta*), Pf33 berasal dari rizosfir jambu biji (*Psidium guajava L*), Pf35 berasal dari rizosfir lengkuas (*Alpinia galanga*), Pf36 berasal dari rizosfir jahe merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*), Pf37 berasal dari rizosfir (*Alocasia sp.*), Pf38 berasal dari rizosfir seledri (*Apium graveolens*), Pf39 berasal dari rizosfir kunyit (*Curcuma longa*), dan Pf40 berasal dari rizosfir (*Oxalis sp.*) (koleksi Advinda, 2021), medium NA, medium NB, medium Pikovskaya's, medium NB + tryptophan, reagen Salkowsky, dan akuades steril.

Metode

Deteksi kemampuan pseudomonad fluoresen menghasilkan IAA

Deteksi kemampuan pseudomonad fluoresen dalam menghasilkan IAA dilakukan dengan cara mengambil 1 mL suspensi pseudomonad fluoresen (populasi 3×10^8 sel/mL, skala 1 Mc. Farland's) kemudian diinokulasikan pada 10 mL

medium NB yang telah ditambahkan *tryptophan* 200 µg/mL, dan diinkubasi di atas *shaker* kecepatan 150 rpm selama 3x24 jam. Tahap selanjutnya kultur tersebut disentrifus dengan kecepatan 4.000 rpm selama 30 menit, kemudian dipisahkan pelet dan supernatannya. 1 mL supernatant dimasukkan ke dalam 2 mL reagen *Salkowsky*, dan diinkubasi selama 12 jam di ruang yang gelap. Apabila terlihat warna merah muda maka menunjukkan positif menghasilkan IAA, sedangkan warna kuning menunjukkan negatif (Khan dan Dortsy, 2009). Untuk melihat adanya IAA secara kuantitatif diamati menggunakan spektrofotometer (OD 530 nm). Konsentrasi IAA dari sampel dihitung berdasarkan kurva standar IAA dengan rumus regresi yang digunakan adalah

Rumus:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = Variabel dependen (absorban)

x = Variabel independen (konsentrasi)

a = Konstanta

b = Koefisien regresi

Analisis Data

Data uji kemampuan isolat pseudomonad fluoresen dalam menghasilkan IAA dianalisis secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

IAA merupakan fitohormon auksin alami dan berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman karena mampu meregulasi banyak proses fisiologi penting yang meliputi pembelahan dan perkembangan sel, differensiasi sel dan sintesis protein (Idris *et al.*, 2007). Pseudomonad fluoresen isolat Pf31, Pf32, Pf33, Pf35, Pf36, Pf37, Pf38, Pf39, dan Pf40 di uji kemampuannya dalam menghasilkan IAA baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Hasil pengujian produksi IAA isolat pseudomonad fluoresen secara kualitatif setelah diinkubasi selama 12 jam di ruangan gelap menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda dengan gradasi yang berbeda pada setiap isolat, dan dapat dilihat pada (Gambar 1).

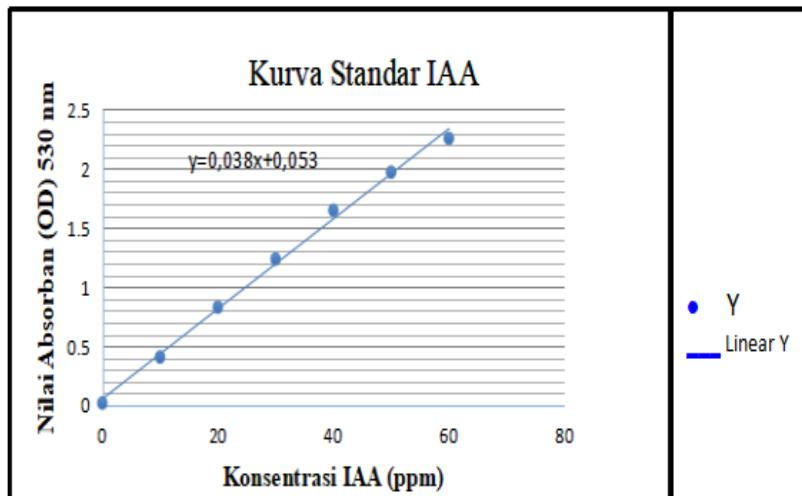


Gambar 1. Produksi IAA isolat pseudomonad fluoresen

Berdasarkan Gambar 1. terlihat bahwa secara kualitatif perubahan warna yang terjadi pada masing-masing isolat berbeda. Adanya perubahan warna menjadi warna merah muda dengan gradasi yang berbeda pada masing-masing isolat setelah ditetes larutan reagen *Salkowsky* dan diinkubasi di tempat gelap selama 12 jam menunjukkan bahwa pseudomonad fluoresen Pf31, Pf32, Pf33, Pf35, Pf36, Pf37, Pf38, Pf39, dan Pf40 memiliki kemampuan menghasilkan IAA. Pseudomonad fluoresen isolat Pf36 menunjukkan warna merah muda lebih pekat dari pada isolat lainnya. *Salkowsky* adalah reagen pewarna yang dapat digunakan untuk menguji senyawa indol dan turunannya yaitu salah satunya IAA (Joule dan Mills,

2000). Konvas (2009) menyatakan apabila warna merah muda semakin pekat menunjukkan kandungan IAA yang dihasilkan oleh bakteri semakin tinggi.

Produksi IAA yang sudah diketahui secara kualitatif, di uji kembali secara kuantitatif menggunakan uji spektrofotometri dengan panjang gelombang 530 nm. Hal ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi IAA yang dihasilkan setiap isolat. Hasil pengukuran konsentrasi produksi IAA diperoleh dari substitusi nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear yaitu $y=0,038x+0,053$ yang diperoleh dari kurva standar IAA, yang dapat dilihat pada (Gambar 2).



Gambar 2. Kurva Standar IAA

Sehingga didapatkan nilai x yang merupakan konsentrasi IAA setiap isolat pseudomonad fluoresen seperti terlihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Konsentrasi IAA setiap isolat pseudomonad fluoresen (ppm)

Rizosfir Tanaman	Kode Isolat	Konsentrasi IAA (ppm)
Lengkeng (<i>Dimocarpus longan</i>)	Pf31	4,26
Singkong (<i>Manihot esculenta</i>)	Pf32	5,55
Jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>)	Pf33	5,84
Lengkuas (<i>Alpina galanga</i>)	Pf35	5,47
Jahe Merah (<i>Zingiber officinale var. Rubrum</i>)	Pf36	9,86
Alocasia (<i>Alocasia</i> sp.)	Pf37	6,39
Seledri (<i>Apium graveolens</i>)	Pf38	6,28
Kunyit (<i>Cucurma longa</i>)	Pf39	7,31
Oxalis (<i>Oxalis</i> sp.)	Pf40	6,71

Berdasarkan (Tabel 1), terlihat konsentrasi IAA yang dihasilkan dari masing-masing isolat berbeda. Konsentrasi IAA tertinggi dihasilkan oleh isolat Pf36 yaitu 9,86 ppm ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah muda yang lebih pekat dari isolat pseudomonad fluoresen lainnya. Sedangkan konsentrasi IAA terendah dihasilkan oleh isolat Pf31 yaitu 4,26 ppm ditunjukkan dengan perubahan warna yang sedikit dan tidak pekat. Sehingga dapat dibuktikan

bahwa baik secara kualitatif ataupun kuantitatif isolat pseudomonad fluoresen memiliki kemampuan dalam menghasilkan IAA dengan variasi konsentrasi yang berbeda-beda ditunjukkan dari perbedaan warna yang dihasilkan. Pada penelitian Imamudin *et al.*, (2015) menyatakan produksi IAA dari 10 isolat *P. fluorescens* didapatkan konsentrasi yang paling tinggi yaitu pada isolat B16ST1-3 sebesar 18,99 ppm dan produksi IAA terkecil pada isolat B6ST1-4 sebesar 1,22 ppm.

Produksi IAA dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya *tryptophan*. Asam amino *tryptophan* adalah komponen asam amino yang pada umumnya terdapat pada protein, sehingga dapat dengan mudah digunakan oleh mikroorganisme. Asam amino *tryptophan* apabila dihidrolisis oleh enzim triptofamase akan menghasilkan indol dan asam piruvat (Prescott, 2002). Khairani (2009) menambahkan perbedaan kondisi lingkungan pada saat pengambilan sampel, lama inkubasi, dan kemampuan bakteri dalam mengkonversi *tryptophan* yang terkandung dalam media juga mempengaruhi produksi IAA.

Pada umumnya IAA diproduksi dari proses metabolisme L-*tryptophan* oleh beberapa mikroorganisme termasuk bakteri *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) (Shahab *et al.*, 2009). Setiap bakteri PGPR mampu menghasilkan hormon tumbuh yang berbeda-beda seperti auksin, giberalin, dan sitokinin (Spapen, 2009). Pertumbuhan bakteri juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi produksi IAA. Hasil penelitian Patil *et al.*, (2011) menyatakan bakteri mulai menghasilkan IAA pada fase awal pertumbuhan dan mencapai hasil maksimum pada awal fase stasioner. Dewi *et al.*, (2015) menegaskan pernyataan tersebut karena produksi hormon IAA oleh bakteri akan melimpah pada fase stasioner disaat kondisi pertumbuhan menurun, ketersedian karbon terbatas, dan dalam kondisi lingkungan pH asam.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian deteksi kemampuan psedomonad fluoresen dalam menghasilkan IAA dari berbagai isolat rizosfir tanaman didapatkan hasil bahwa pseudomonad fluoresen isolat Pf31, Pf32, Pf33, Pf35, Pf36, Pf37, Pf38, Pf39 dan Pf40 memiliki kemampuan dalam menghasilkan IAA dengan konsentrasi tertinggi dihasilkan oleh isolat Pf36 yaitu 9,86 ppm dan konsentrasi terendah dihasilkan oleh isolat Pf31 yaitu 4,26 ppm.

Ucapan Terima Kasih

Puji syukur kehadirat Allah SWT. yang telah memberi kesempatan penulis untuk menulis artikel ini. Ungkapan terima kasih penulis tujuhan kepada Ibu Dr. Linda Advinda, M.Kes. sebagai pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan fikiran dalam memberikan bimbingan, arahan, saran, serta motivasi dalam menyelesaikan penelitian ini. Terima kasih kepada semua pihak yang ikut berpartisipasi memberikan bantuan kepada penulis demi kelancaran penelitian dan penulisan artikel ini.

Daftar Pustaka

- Abat B. 2006. Growth of Agriculturally Important Pseudomonas sp, on Beer Waste in Peat. *Thesis*. Middle East; Technical University.
- Advinda L. 2020. Pseudomonad Fluoresen Agens Biokontrol *Blood Disease Bacteria* (BDB) Tanaman Pisang. *Monografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Advinda L, Alberida H & Anhar A. 2004. Kajian Histopatologis Akar Tanaman Pisang yang Diinokulasikan dengan Bakteri *Ralstonia solanacearum* E.F Smith. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Advinda L, Fifendy M & Anhar A. 2018. The Addition of Several Mineral Sources on Growing Media of Fluorescent Pseudomonad for the Biosynthesis of Hydrogen Cyanide. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 335 012016.
- Anhar A, Linda A & Listi H. 2012. Pengaruh Frekuensi Pemberian Biofertilizer pseudomonad fluoresen terhadap Pertumbuhan Tanaman Padi Gogo. Jurnal Saintek. 4(5): 6-15.
- Aryantha P, I Nyoman, Dian P & Nurmi P. 2004. Potensi Isolat Bakteri Penghasil IAA dalam Peningkatan Pertumbuhan Kecambah Kacang Hijau Pada Kondisi Hidropotik. Jurnal Mikrobiologi Indonesia. 9(2): 43-46.
- Dewi TK, E S Arum, H Imamuddin & S Antonius. 2015. Karakterisasi Mikroba perakaran (PGPR) agen Penting pendukung pupuk organik Hayati. Prosiding Seminar Nasional Masyi Biodiv Indonesia. 1(2): 289-295.
- Haas D & Defago G. 2005. Biological Control Of Soil-borne Pathogens by Fluorescent Pseudomonads. Natural Review of Microbiology. 3: 307-319.

- Idris EE, DJ Iglesias, M Talon & R Borrius. 2007. *Tryptophan*- Dependent Production of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Affects Level of Plant Growth Promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. Molecular Plant-Microbe Interaction. 20: 619-626.
- Imamuddin H, Dewi TK, Agustiyani D & Antonius S. 2015. Kelimpahan Bakteri Pseudomonad fluoresen yang diisolasi dari Tanah Perakaran Sorgum di sscs. Seminar Nasional Hasil Penelitian Unggulan Bidang Pangan Nabati Okoh, A.I. 2006. Biodegradation Alternative in the Clean Up of Petroleum Hydrocarbon Pollutants. Biotechnol and Molecular Biology. 1(2): 38-50.
- Istiqomah I, Aini LQ & Abadi AL. 2017. Kemampuan B. Subtilis Dan P. Fluorescens dalam Melarutkan Fosfat dan Memproduksi Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Tomat. Buana Sains. 17(1):75.
- Joule JA & K Mills. 2000. *Heterocyclic Chemistry*. Oxford: Blackwell Science.
- Khairani, G. 2009. Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari Akar Tanaman Jagung (*Zea Mays L.*). Skripsi. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Khan Z & Doty SL. 2009. Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. Plant and soil. 322(1-2): 197-207.
- Kovavcs K. 2009. Applications of Mossbauer Spectroscopy in Plant Physiology. ELTE Chemistry Doctoral School, ELTE Institute of Chemistry, Budapest. *Disertasi*.
- Munif A & Awaludin Hip. 2011. Potensi Bakteri Endofit dan Rhizosfer dalam Meningkatkan Pertumbuhan Jagung. Prosiding Seminar Nasional Seralia 2011. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Patil NB, Gajbhiye M, Ahiwale SS, Gunjal AB & Kapadnis BP. 2011. Optimization of *Indole 3-acetic acid* (IAA) production by *Acetobacter Diazotrophicus* L1 isolated from sugarcane. Intl J Environ Sci. 2(1): 307-314.
- Prescott H. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology*. New York: Tha-Graw Hil Company.
- Probowati W, Nugraheni, Ika A, Aryani & Titin. 2021. Efektifitas Pupuk Cair *Pseudomonas fluorescens* Agensi Pengendali Hayati Terhadap Penyakit Mosaik Tanaman Kakao. Bioekspimen. 7 (1): 42-49.
- Shahab S, Ahmed N & Khan NS. 2009. *Indole Acetic Acid* Production and Enhanced Plant Growth Proton by Indigenous PDBs. African Journal of Agricultural Research. 4(11). 1312-1316.
- Shoda M. 2000. Bacterial control of plant disease. Journal of Bioscience and Bioengineering. 89(6): 51.5-512.
- Spaepen S & J Vanderleyden Y Okon. 2009. Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. Adv Bot Res. 51: 283-320.
- Sukmadewi DKT, Suharjono S & Antonius S. 2015. Uji Potensi Bakteri Penghasil hormon IAA(*Indole Acetic Acid*) dari tanah rizosfer cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.). Biotropika. Jurnal of Tropical Biologi. 3(2): 91-94.
- Sukmadi RB. 2013. Aktivitas Fitohormon Indole-3-acetic Acid (IAA) dari Beberapa Isolat Bakteri Rizosfir dan Endofit. J Sains dan Teknologi Indonesia. 13(3): 221-227.
- Supriadi. 2006. Analisis Risiko Agens Hayati Untuk Pengendalian Patogen Pada Tanaman. Jurnal Litbang Pertanian. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. 25(3): 75-80.
- Tarably K, AH Nassar & K Sivasithamparam. 2003. Promotion Of Plant Growth By An Auxin- Producing Isolate Of The Yeast *Williopsis saturnus* Endophytic In Maize Roots. The Sixth U. A. E University Research Conference. 60-69.