



## POTENSI BAKTERI ENDOFIT ASAL TANAMAN PISANG KLUTUK (*Musa balbisiana* Colla) SEBAGAI PENDUKUNG PERTUMBUHAN TANAMAN

### CHARACTERISTICS OF ENDOPHYTIC BACTERIA FROM KLUTUK BANANA PLANT (*Musa balbisiana* Colla) AS PLANT GROWTH PROMOTER

Triastuti Rahayu<sup>1,2</sup>, Yekti Asih Purwestri<sup>4,5</sup>, Siti Subandiyah<sup>5,6</sup>, Donny Widiyanto<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Prodi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. Yani Tromol Pos I Pabelan Kartasura  
Surakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Prodi Bioteknologi Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Utara, Berek, Yogyakarta, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Mikrobiologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta,  
Indonesia

<sup>4</sup>Laboratorium Biokimia, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta,  
Indonesia

<sup>5</sup>Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Utara, Berek, Yogyakarta, Indonesia

<sup>6</sup>Departemen Hama dan Penyakit, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta,  
Indonesia

\*Corresponding author: donny@faperta.ugm.ac.id

Naskah Diterima: 14 Januari 2021; Direvisi: 23 Agustus 2021; Disetujui: 9 September 2021

#### Abstrak

Bakteri endofit yang terdapat di tanaman pisang Klutuk dan keterkaitannya dengan sifat ketahanan tanaman pisang Klutuk pada cekaman biotik dan abiotik belum dilaporkan dalam publikasi ilmiah. Sebanyak 93 isolat bakteri endofit telah diperoleh dari pisang Klutuk, tetapi belum diketahui kemampuannya sebagai pendukung pertumbuhan tanaman (PPT). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter isolat-isolat bakteri endofit dari pisang Klutuk sebagai pendukung pertumbuhan tanaman. Kelompok bakteri Gram positif dan negatif ditentukan dengan metode pewarnaan Gram. Kemampuan memfiksasi nitrogen ( $N_2$ ), memproduksi asam indol asetat (AIA), dan antagonisme terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) diuji untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri endofit sebagai pendukung pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 87,10% isolat bakteri endofit dari tanaman pisang Klutuk merupakan kelompok bakteri Gram negatif dan 82,80% (77 isolat bakteri) menunjukkan karakter tunggal atau ganda sebagai PPT. Di dalam kelompok isolat tersebut, terdapat berturut-turut 60, 38, dan 20 bakteri yang mampu memfiksasi  $N_2$ , menghasilkan AIA, dan antagonisme terhadap Foc. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit dari pisang Klutuk didominasi oleh bakteri kelompok Gram negatif yang memiliki kemampuan sebagai pendukung pertumbuhan tanaman.

**Kata kunci:** Bakteri endofit; Pendukung pertumbuhan tanaman (PPT); Pisang Klutuk

#### Abstract

The role of endophytic bacteria on the biotic and abiotic resistance of Klutuk banana plants has never been reported. A total of 93 endophytic bacterial isolates were obtained from Klutuk banana plants in a previous study, but their potency as Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) is not elucidated. This study aims to characterize those 93 endophytic bacterial isolates. Gram staining was performed to differentiate between Gram-positive and negative bacteria among the isolates. The ability to fix nitrogen ( $N_2$ ), produce indole acetic acid (IAA) and antagonize *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) were also examined to determine their potency as PGPB. The results showed that 87.1% of the endophytic bacterial isolates were Gram-negative bacteria and 83.87% (78 bacterial isolates) had single or multiple traits of PGPB. Among the isolates, 60, 38, and 20 bacteria were able to fix  $N_2$ , produce IAA, and antagonize Foc, respectively. The results indicated that the endophytic bacteria inhabiting Klutuk banana plant are dominated by Gram-negative PGPB.

**Keywords:** Endophytic bacteria; Klutuk banana; Plant Growth Promoting (PGP)

**Permalink/DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v14i2.19140>

## PENDAHULUAN

Bakteri endofit merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang berada di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala sakit (Bulgarelli, Schlaeppi, Spaepen, van Themaat, & Schulze-Lefert, 2013; Hardoim et al., 2015). Bakteri endofit bermanfaat sebagai pendukung pertumbuhan tanaman (PPT) baik secara langsung maupun tidak langsung. Mekanisme langsung meliputi fiksasi nitrogen ( $N_2$ ), penghasilan asam indolasetat (AIA), aktivitas *1-aminocyclopropane-1-carboxylate* (ACC) deaminase, melarutkan besi (Fe), dan fosfor (P). Mekanisme tidak langsung terjadi melalui penghambatan fitopatogen sehingga pertumbuhan tidak terganggu (Santoyo, Moreno-Hagelsieb, Orozco-Mosqueda, & Glick, 2016).

Pada penelitian sebelumnya, telah diisolasi bakteri endofit dari organ akar, bonggol, dan tangkai daun pisang Klutuk yang tumbuh di lahan tanah regosol dan grumusol. Hasil isolasi tersebut mendapatkan 93 isolat tetapi belum diketahui sifatnya. Jumlah isolat yang diperoleh dari akar paling banyak yaitu 25 dan 26 isolat, berikutnya dari tangkai daun yaitu 22 dan 13 isolat, dan paling sedikit dari bonggol yaitu 6 dan 1 isolat. Masing-masing dari pisang Klutuk yang tumbuh di tanah regosol dan grumusol (Rahayu et al., 2018, belum dipublikasikan).

Sifat yang akan diuji pada penelitian ini adalah reaksi terhadap pewarnaan Gram dan karakter sebagai Pendukung Pertumbuhan Tanaman (PPT). Informasi terkait pengelompokan bakteri berdasar pewarnaan Gram sangat penting untuk diketahui mengingat bakteri Gram positif dan negatif merespon secara berbeda pada cekaman lingkungan (Mai-Prochnow, Clauson, Hong, & Murphy, 2016). Karakterisasi sebagai PPT sangat diperlukan untuk mengetahui potensi isolat bakteri endofit dari tanaman pisang Klutuk yang dikenal sebagai kultivar pisang liar yang tahan terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Ravi, Uma, Vaganan, & Mustafa, 2013; Sutanto, 2014; Tripathi & Odipio, 2008). Ketahanan pisang Klutuk terhadap cekaman lingkungan selain ditentukan faktor genetik juga dipengaruhi oleh faktor mikroorganisme yang berasosiasi

di dalamnya, khususnya bakteri endofit. Asosiasi mikroorganisme-tanaman merupakan interaksi yang penting, karena komunitas mikroorganisme tersebut merupakan genom kedua tanaman yang sangat penting untuk mendukung dan melindungi pertumbuhan tanaman (Berendsen, Pieterse, & Bakker, 2012).

Penelitian tentang karakterisasi bakteri endofit sebagai PPT dari beberapa kultivar pisang sudah banyak dilakukan seperti pisang Cavendish (Ngamau, Matiru, Tani, & Wangari, 2012), pisang 'Tropis' dan 'Galil 18' (Fernandes et al., 2013), pisang 'Prata Anã' (Andrade et al., 2014; Matos, Gomes, Nietzsche, & Xavier, 2017; Souza et al., 2013), pisang Rasthali, pisang Hill, Co1, Nattu Poovan, dan pisang Merah (Karthik, Pushpakanth, Krishnamoorthy, & Senthilkumar, 2017). Data tentang karakter bakteri endofit dari pisang Klutuk sebagai PPT masih sangat terbatas, padahal data tersebut diperlukan untuk pengembangan pupuk hayati tanaman pisang atau tanaman lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter isolat-isolat bakteri endofit dari pisang Klutuk sebagai pendukung pertumbuhan tanaman.

## MATERIAL DAN METODE

### Isolat Mikroorganisme

Bakteri endofit berjumlah 93 isolat berasal dari akar, bonggol, dan tangkai daun pisang Klutuk yang tumbuh di tanah regosol dan grumusol merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM (Tabel 1). Jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* (Foc) (koleksi laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman UGM) digunakan untuk uji kemampuan antagonisme isolat bakteri endofit.

### Media Pertumbuhan dan Pengujian

Media pertumbuhan bakteri dan jamur yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA) (*Oxoid*), *Trypticase Soy Agar* (TSA) (*Oxoid*), dan *Potato Dextrose Agar* (PDA) (*Oxoid*). Medium semi solid *Nitrogen Free Bromothymol Blue* (NFb) merupakan medium untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfiksasi  $N_2$ .

**Tabel 1.** Jumlah dan asal isolat bakteri endofit yang dikarakterisasi

Organ tanaman pisang Klutuk sebagai sumber isolat	Jumlah isolat pada tanah		Jumlah
	Regosol	Grumusol	
Akar	25	26	51
Bonggol	6	1	7
Tangkai daun	22	13	35
Jumlah	53	40	93

Pewarnaan Gram dilakukan mengikuti prosedur standar (Cappuccino & Welsh, 2019). Sel bakteri diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000x. Bakteri yang selnya teramati berwarna merah dikelompokkan sebagai bakteri Gram negatif, dan yang berwarna ungu dikelompokkan sebagai bakteri Gram positif.

Sebanyak 5  $\mu$ L suspensi sel bakteri (OD= 1,0 ABS,  $\lambda$ = 540 nm) diinokulasikan ke dalam tabung berisi 7,5 mL medium semisolid NFB dan diinkubasi pada suhu 28 °C selama 7 hari. Terbentuknya pelikel mengindikasikan kemampuan bakteri dalam memfiksasi N<sub>2</sub> (Andrade et al., 2014). Semakin tebal pelikel, yang terbentuk, berarti semakin kuat kemampuan bakteri dalam memfiksasi N<sub>2</sub>.

Isolat bakteri ditumbuhkan pada medium NA dengan penambahan triptofan 100 ppm dan diinkubasi 48 jam pada suhu kamar. Koloni bakteri yang terbentuk ditetesi reagen Salkowski (12 g/L FeCl<sub>3</sub> dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (7,9 mol/L)) dan diinkubasi dalam gelap. Koloni bakteri yang membentuk warna merah menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan IAA (Wang et al., 2016).

Semakin banyak IAA yang dihasilkan, maka intensitas warnanya semakin kuat.

Kemampuan antagonisme isolat bakteri terhadap jamur Foc diuji dengan metode *dual culture* pada medium PDA. Biakan jamur Foc pada blok agar diameter 10 mm diinokulasikan di tengah cawan petri yang berisi medium PDA dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari (Sekhar & Thomas, 2015). Isolat bakteri endofit yang berumur 2 hari pada medium TSA, digoreskan dengan jarak 2 cm dari koloni Foc, dan diinkubasi pada suhu 28 °C selama 7 hari. Jari jari koloni Foc diukur untuk menghitung persen daya hambatnya menggunakan rumus, yaitu Penghambatan (%)= [(R - r)/ R x 100]. Keterangan: r= Jari-jari koloni jamur yang berlawanan dengan koloni bakteri dan R= Jari-jari maksimum koloni jamur dari koloni bakteri (Lamsal, Kim, Kim, & Lee, 2012).

## HASIL

Hasil pengelompokan isolat bakteri dan uji kemampuannya dalam memfiksasi N<sub>2</sub>, menghasilkan AIA, dan kemampuan antagonismenya terhadap Foc, secara lengkap disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil karakterisasi isolat bakteri endofit dari tiga organ tanaman pisang Klutuk yang tumbuh di tanah regosol dan grumusol

Jenis tanah	Asal organ	No	Kode isolat	Kelompok Gram	Fiksasi N	Produksi AIA	Antagonisme terhadap Foc (%)
Regosol	Akar	1	aK1	Negatif	++	+	+
		2	aK2	Negatif	+	++++	+
		3	aK3	Negatif	+	++	-
		4	aK4	Negatif	-	-	-
		5	aK5	Negatif	+++	+	-
		6	aK6	Negatif	++	-	-
		7	aK7	Negatif	+++	++	+
		8	aK8	Negatif	+	+++	-
		9	aK9	Negatif	-	+	+
		10	aK10	Negatif	++	+++++	-

Jenis tanah	Asal organ	No	Kode isolat	Kelompok Gram	Fiksasi N	Produksi AIA	Antagonisme terhadap Foc (%)
		11	aK12	Negatif	+	+	-
		12	aK14	Negatif	++	+++++	-
		13	aK43	Negatif	-	+	-
		14	aK45A	Negatif	-	+	-
		15	aK45B	Positif	++	-	-
		16	aK110	Negatif	+	-	-
		17	aK111	Negatif	-	+++++	-
		18	aK112	Positif	-	-	-
		19	aK113	Negatif	+++	-	-
		20	aK114	Negatif	-	+	++
		21	aK115	Negatif	++	-	+++
		22	aK117	Negatif	-	+++	++
		23	aK118	Negatif	+	-	++
		24	aK119	Negatif	+++	-	-
		25	aK120	Negatif	+	+	-
	Tangkai daun	1	dK15	Negatif	-	-	-
		2	dK16	Negatif	+	-	-
		3	dK17	Positif	+	-	-
		4	dK18	Positif	-	-	+
		5	dK19	Negatif	+	-	-
		6	dK20	Positif	+	-	-
		7	dK21	Negatif	-	-	-
		8	dK22	Negatif	+++	+++	-
		9	dK23	Negatif	-	-	+
		10	dK24	Negatif	++	+	-
		11	dK25	Positif	++	+++	-
		12	dK26	Negatif	+++	-	-
		13	dK27	Positif	+	++	-
		14	dK28	Negatif	+	++++	+
		15	dK46	Negatif	-	++	-
		16	dK47	Negatif	+++	-	-
		17	dK48	Positif	+	-	-
		18	dK97	Negatif	++	+	-
		19	dK50	Negatif	++	-	-
		20	dK104	Negatif	+	+++	-
		21	dK106	Negatif	-	-	-
		22	dK107	Positif	-	+++	-
	Bonggol	1	bK29	Negatif	++	-	-
		2	bK30	Negatif	-	+	-
		3	bK51	Negatif	+	-	-
		4	bK53	Negatif	++	-	+
		5	bK56	Negatif	++	-	-
		6	bK102	Positif	+++	-	++
Grumusol	Akar	1	aK31	Negatif	-	++	-
		2	aK32	Negatif	++	-	-
		3	aK33	Negatif	+	+	++

Jenis tanah	Asal organ	No	Kode isolat	Kelompok Gram	Fiksasi N	Produksi AIA	Antagonisme terhadap Foc (%)
		4	aK34	Negatif	+	-	-
		5	aK35	Negatif	+	+++	-
		6	aK37	Negatif	+	++++	-
		7	aK38	Negatif	++	-	+++
		8	aK40	Negatif	++	+	++
		9	aK68	Negatif	+	-	-
		10	aK69	Negatif	-	-	-
		11	aK70	Negatif	-	-	-
		12	aK72	Negatif	-	-	-
		13	aK73	Negatif	-	++	-
		14	aK75	Negatif	-	+	-
		15	aK76	Negatif	+	-	-
		16	aK77	Negatif	++	-	-
		17	aK79	Negatif	-	+++	-
		18	aK80	Negatif	++	-	-
		19	aK81	Negatif	+++	-	-
		20	aK82	Negatif	+	+	-
		21	aK83	Negatif	+	-	+
		22	aK85	Negatif	++	-	-
		23	aK86	Negatif	+++	-	+
		24	aK88	Negatif	-	-	-
		25	aK94	Negatif	++	-	-
		26	aK95	Negatif	+	-	-
	Tangkai daun	1	dK57	Negatif	-	-	-
		2	dK58A	Negatif	+	++++	+++
		3	dK58B	Negatif	-	-	-
		4	dK59	Negatif	-	-	-
		5	dK60	Negatif	+	-	-
		6	dK61	Negatif	-	-	-
		7	dK63	Negatif	-	-	-
		8	dK65	Negatif	-	-	-
		9	dK66	Negatif	-	-	-
		10	dK67	Negatif	+	+	-
		11	dK98	Positif	-	++	-
		12	dK99	Negatif	+	-	-
		13	dK101	Negatif	-	-	+
	Bonggol	1	bK96	Positif	+	-	-

## Keterangan:

- = tidak memiliki kemampuan
- + = memiliki kemampuan rendah
- ++ = memiliki kemampuan sedang
- +++ = memiliki kemampuan agak tinggi
- ++++ = memiliki kemampuan tinggi
- +++++ = memiliki kemampuan sangat tinggi

## Pengelompokan Isolat Bakteri

Kelompok bakteri Gram negatif teridentifikasi lebih dominan dibandingkan

bakteri Gram positif pada semua organ tanaman pisang, yaitu 87,10% dan 12,90%, kecuali pada bonggol pisang yang tumbuh di tanah grumusol (Tabel 3). Dari data tersebut

juga terlihat bahwa dominasi kelompok bakteri Gram negatif lebih besar pada pisang yang tumbuh di tanah grumusol dibandingkan dengan yang tumbuh di tanah regosol.

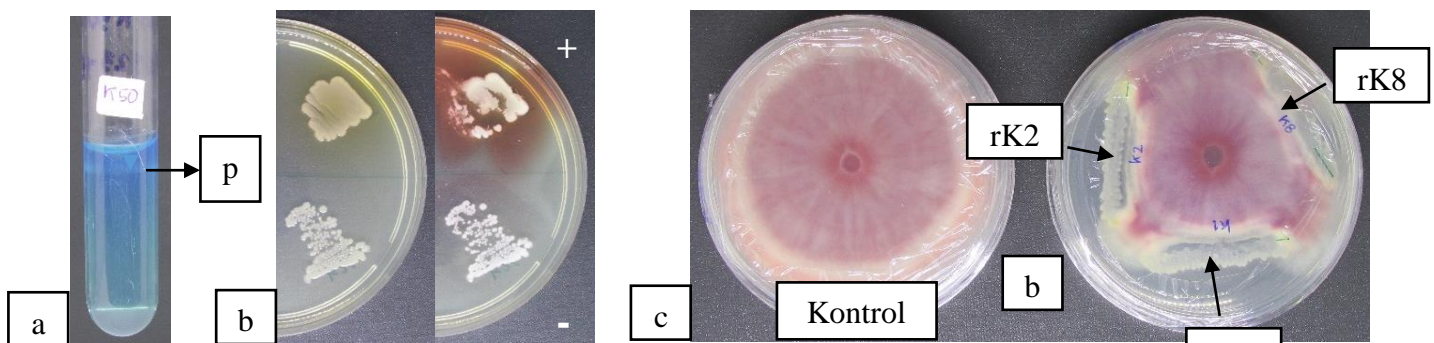
**Tabel 3.** Jumlah dan persen dominasi isolat bakteri endofit dari tiga organ tanaman pisang Klutuk yang tumbuh di tanah regosol dan grumusol berdasarkan hasil pewarnaan Gram

Organ tanaman pisang	Jenis tanah	Kelompok Gram		Dominasi (%)
		Negatif	Positif	
Akar	Regosol	23	2	92,00
	Grumusol	26	0	100,00
Tangkai daun	Regosol	15	7	68,22
	Grumusol	12	1	92,31
Bonggol	Regosol	5	1	83,33
	Grumusol	0	1	0
Total isolat		81 isolat (87,10%)	12 isolat (12,90%)	

### Isolat Bakteri Endofit Pemfiksasi N<sub>2</sub>, Penghasil AIA, dan Penghambat Pertumbuhan Foc

Bakteri pendukung pertumbuhan tanaman (PPT) lazimnya memiliki kemampuan untuk memfiksasi N<sub>2</sub> dan menghasilkan AIA yang keduanya berpengaruh langsung pada pertumbuhan tanaman. Kemampuan isolat bakteri memfiksasi N<sub>2</sub> ditunjukkan dengan kemampuannya membentuk pelikel pada medium NFb (Gambar 1A), sedangkan kemampuan memproduksi AIA ditunjukkan dengan berubahnya warna koloni menjadi merah setelah ditetesi reagen Salkowski

(Gambar 1B). Kemampuan melindungi pertumbuhan tanaman dari patogen akan melengkapi fungsinya sebagai bakteri PPT. Kemampuan tersebut tercermin pada aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). Bakteri dinyatakan memiliki aktivitas menghambat apabila keberadaannya pada medium pertumbuhan yang sama menghalangi pertumbuhan koloni Foc seperti yang terlihat pada Gambar 1C, koloni Foc tampak terhambat oleh isolat bakteri rK1, rK2, dan rK8 apabila dibandingkan dengan kontrol.



**Gambar 1.** Fotograf hasil uji kemampuan fiksasi N<sub>2</sub>, penghasilan AIA, dan antagonisme terhadap Foc. Pelikel terbentuk jika bakteri mampu memfiksasi N<sub>2</sub> (a), koloni bakteri yang berwarna merah setelah ditetesi reagen Salkowski mengindikasikan kemampuannya menghasilkan AIA (b), dan kemampuan antagonisme tercermin ada ketidakmampuan kolonisasi Foc melampaui koloni bakteri rK1, rK2, dan rK8 (tanda panah) (c)

Sebagian besar bakteri endofit menunjukkan karakter sebagai PPT (82,80%) baik ganda maupun tunggal dan hanya 17,20% isolat yang tidak menunjukkan karakter sebagai PPT (Tabel 4). Sebanyak 7,53% isolat

mempunyai tiga karakter yang diuji, 29,03% isolat mempunyai dua karakter, dan 46,24% isolat mempunyai satu karakter. Dominasi bakteri endofit yang berkarakter sebagai PPT dijumpai pada semua organ pisang baik yang

tumbuh di tanah regosol maupun grumusol. Jenis tanah menunjukkan perbedaan terkait persen isolat bakteri endofit yang mempunyai karakter sebagai PPT, pada tanaman pisang yang tumbuh di tanah regosol dijumpai lebih banyak bakteri endofit yang memiliki karakter sebagai PPT.

Karakter isolat bakteri endofit sebagai pemfiksasi N<sub>2</sub> dijumpai paling banyak yaitu 60 isolat, diikuti kemampuan memproduksi AIA yaitu 38 isolat, dan kemampuan menghambat Foc paling sedikit yaitu 20 isolat (Tabel 5).

**Tabel 4.** Jumlah dan persen (%) isolat bakteri endofit berdasar jumlah karakter sebagai pendukung pertumbuhan tanaman (PPT)

Jenis tanah	Organ tanaman	Jumlah isolat yang mempunyai karakter sebagai PPT				Bakteri PPT (%)
		3 karakter	2 karakter	1 karakter	0 karakter	
Regosol	Akar	3	12	8	2	92,00
	Tangkai daun	1	6	12	3	86,36
	Bonggol	0	2	4	0	100,00
Grumusol	Akar	2	6	14	4	84,62
	Tangkai daun	1	1	4	7	46,15
	Bonggol	0	0	1	0	100,00
Total isolat		7 (7,53%)	27 (29,03%)	43 (46,24%)	16 (17,20%)	

**Tabel 5.** Jumlah isolat bakteri endofit berdasar karakter sebagai pendukung pertumbuhan tanaman

Jenis tanah	Organ tanaman	Fiksasi N <sub>2</sub>	Produksi AIA	Antagonisme terhadap Foc
Regosol	Akar	17	16	8
	Tangkai daun	15	9	3
	Bonggol	5	1	2
Grumusol	Akar	18	9	5
	Tangkai daun	4	3	2
	Bonggol	1	0	0
Jumlah		60	38	20

Beberapa isolat bakteri endofit dinyatakan berpotensi sebagai PPT apabila mempunyai lebih dari satu karakter dan atau memiliki kemampuan di atas rata-rata (minimal ++). Sebagai contoh adalah isolat dK22 berpotensi memproduksi AIA dan memfiksasi N<sub>2</sub>, bK10 berpotensi memfiksasi N<sub>2</sub> dan antagonisme terhadap Foc, aK117 dan dK58A berpotensi memproduksi AIA dan antagonisme terhadap Foc (Tabel 2).

## PEMBAHASAN

Koleksi isolat bakteri endofit dari tanaman pisang Klutuk didominasi kelompok bakteri Gram negatif (Tabel 2 dan 3). Zona perakaran tanaman pisang Klutuk sebagai lingkungan yang mungkin lebih cocok untuk kelompok bakteri Gram negatif bisa menjadi penyebab terjadinya fenomena tersebut,

mengingat bakteri endofit sebagian besar masuk ke tanaman melalui perakaran. Terdapat 2 (dua) faktor penting yang juga terlibat dalam kolonisasi bakteri ke dalam jaringan tanaman yaitu kemotaksis dan motilitas (Allard-Massicotte et al., 2016). Tanaman melepaskan eksudat akar yang mengandung asam organik, asam amino, dan protein sebagai atraktan bagi bakteri rizosfer dan bergerak menuju akar menggunakan flagella (Bacilio-Jiménez et al., 2003; Kox & Jetten, 2015; Santoyo et al., 2016; Yuan et al., 2015). Sebagian besar kelompok bakteri Gram negatif memiliki flagella dan sistem sekresi I, II, III, VI (Xu, 2014) yang membantu kolonisasinya ke dalam jaringan tanaman. *Fimbriae* atau polisakarida permukaan sel juga membantu perlekatan sel bakteri ke permukaan tanaman yang selanjutnya masuk ke dalam

jaringan akar melalui retakan karena munculnya rambut akar atau akar lateral (Kandel, Joubert, & Doty, 2017).

Hasil tersebut di atas selaras dengan penelitian yang melaporkan bahwa tanaman pisang dikolonisasi oleh anggota dari ordo *Xanthomonadales*, *Pseudomonadales*, *Enterobacteriales*, dan *Legionellales* yang merupakan anggota kelas *Gammaproteobacteria*. Anggota ordo tersebut merupakan kelompok bakteri Gram negatif dan dilaporkan menentukan ketahanan suatu tanaman (Köberl, Dita, Martinuz, Staver, & Berg, 2017). Pada tingkat genera, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Herbaspirillum*, dan *Klebsiella* (Afzal, Shinwari, Sikandar, & Shahzad, 2019), *Serratia*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Enterobacter*, *Raoultella*, *Yokenella*, *Bacillus*, *Yersinia*, dan *Ewingella* berasosiasi dengan tanaman pisang dan merupakan kelompok bakteri Gram negatif (Ngamau et al., 2012).

Isolat bakteri dari tanaman pisang Klutuk sebagian besar memiliki karakter sebagai pendukung pertumbuhan tanaman baik ganda maupun tunggal (Tabel 4) dengan kemampuan memfiksasi N<sub>2</sub> memproduksi AIA, dan antagonisme terhadap Foc masing-masing sebanyak 60 isolat, 38 isolat, dan 20 isolat (Tabel 5). Nitrogen dan AIA sangat diperlukan untuk pertumbuhan vegetatif tanaman. AIA juga berperan dalam ketahanan tanaman terhadap kondisi stres (Ahemad & Kibret, 2014), sedangkan kemampuan antagonisme terhadap Foc sangat penting mengingat Foc merupakan salah satu jamur perusak utama tanaman pisang (Ploetz, 2015). Data tersebut menunjukkan keterkaitan ketahanan tanaman pisang Klutuk terhadap cekaman lingkungan dengan keberadaan bakteri endofit yang berasosiasi di dalamnya.

Dilaporkan bahwa kesehatan dan ketahanan tanaman terhadap cekaman lingkungan didukung oleh keberadaan bakteri endofit (Köberl et al., 2017; Suhaimi et al., 2017), tetapi belum ada publikasi ilmiah yang melaporkan tentang karakter isolat bakteri endofit sebagai PPT pada kultivar pisang resisten dan rentan. Penelitian terkait hal tersebut perlu dilakukan untuk mengetahui keterlibatan bakteri endofit dalam ketahanan tanaman pisang.

Karakter sebagai pemfiksasi N<sub>2</sub> paling banyak dimiliki oleh isolat bakteri endofit dari pisang Klutuk dibanding karakter yang lain (Tabel 5). Data ini menunjukkan kesamaan dengan penelitian Ngamau et al. (2012) yang melakukan karakterisasi bakteri endofit sebagai PPT dari Musa AAA dan Musa AAB. Kemampuan memfiksasi N<sub>2</sub> ini sangat penting karena N<sub>2</sub> yang melimpah di atmosfer tidak dapat langsung dimetabolisme oleh tanaman. N<sub>2</sub> tersebut harus dirubah menjadi amonia melalui proses fiksasi N<sub>2</sub> oleh mikroorganisme simbiotik atau non simbiotik seperti bakteri endofit. Beberapa bakteri endofit non simbiotik yang dikenal mampu memfiksasi N<sub>2</sub> adalah *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae* subsp. *dissolvens*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter bugandensis*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumonia*, *Acinetobacter pittii* (Napitupulu, Kanti, & Sudiana, 2019), *Bacillus paramycooides*, *Bacillus endophyticus*, *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus cereus*, dan *Brevibacterium sediminis* (Borah, Das, Mazumdar, & Thakur, 2019). Keberadaan bakteri endofit pemfiksasi N<sub>2</sub> pada tanaman pisang sangat penting karena tanaman pisang memerlukan N dalam dosis tinggi terutama pada tahap pertumbuhan awal dan harus sering ditambahkan (Robinson & Saúco, 2010).

Kemampuan memproduksi AIA oleh bakteri endofit sangat membantu pertumbuhan tanaman karena AIA berfungsi untuk gametogenesis, embriogenesis, pertumbuhan bibit, dan perkembangan bunga (Zhao, 2010). Adanya AIA endogen tersebut, pertumbuhan tanaman akan lebih cepat. Persentase kemampuan menghambat pertumbuhan Foc paling sedikit (Tabel 5). Kemampuan ini sangat diperlukan oleh tanaman pisang mengingat tanaman pisang sangat rentan oleh serangan *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Foc ini merupakan fitopatogen tanaman pisang yang paling merusak (Warman & Aitken, 2018) dan menyebabkan penurunan produksi pisang dunia.

Dari 93 isolat, terpilih beberapa isolat yang menunjukkan karakter sebagai PPT potensial sehingga perlu dilakukan identifikasi dan karakterisasi lebih lanjut. Isolat dK22, aK117, dK58A, dan bK10 masing-masing berpotensi untuk dua karakter PPT yang diuji.



Isolat-isolat yang mampu menghasilkan AIA tinggi seperti aK2, aK8, aK14, aK111, dK25, dK28, dK104, dK107, aK35, aK37, dan aK79 dapat diaplikasikan untuk mempercepat pertumbuhan tanaman karena salah satu fungsi AIA adalah untuk pertumbuhan bibit (Zhao, 2010). Isolat aK5, aK7, aK113, aK119, dK26, dK47, aK81, dan aK86 mampu memfiksasi N<sub>2</sub> tinggi. Dengan kemampuan ini, isolat-isolat tersebut dapat diaplikasikan ke tanaman untuk menggantikan pupuk N buatan. Pupuk N buatan yang berlebih tidak ramah lingkungan karena menjadi salah satu sumber pencemar lingkungan dan eutrofikasi (Kox & Jetten, 2015). Isolat aK115, aK33, dan aK38 berpotensi menghambat pertumbuhan *Foc* yang dapat diaplikasikan pada tanaman pisang (Tabel 2).

Bakteri endofit dapat diaplikasikan ke tanaman dalam bentuk tunggal atau konsorsium. Dari beberapa penelitian, aplikasi pupuk hayati berbasis mikroorganisme dalam bentuk konsorsium menunjukkan hasil yang lebih bagus (Barra, Inostroza, Mora, Crowley, & Jorquera, 2016; Sharma, Vishnoi, Dubey, & Maheshwari, 2018; Vanegas & Uribe-Vélez, 2014). Dalam bentuk tunggal dapat menggunakan isolat aK2, aK7, dK28, aK40, dan dK58A karena isolat-isolat tersebut mempunyai semua karakter sebagai PPT yang diujikan dengan kemampuan sedang-tinggi (Tabel 2). Untuk formula dalam bentuk konsorsium dapat menggabungkan 2 atau 3 isolat dengan karakter PPT yang berbeda sehingga karakternya saling melengkapi. Sebagai contoh adalah aK10 + aK115; aK38 + aK37 + aK5, atau dK58A + aK5 (Tabel 1) sehingga konsorsium pupuk hayati tersebut mempunyai karakter PPT lengkap yang diperlukan oleh tanaman.

Jenis tanah terlihat kurang berpengaruh dibandingkan organ tanaman terhadap pengelompokan Gram maupun karakter sebagai pendukung pertumbuhan tanaman (Tabel 3, 4, dan 5). Hasil ini selaras dengan data yang diperoleh dari tanaman Peony (Yang, Liu, & Ye, 2017) dan Agave (Coleman-Derr et al., 2015). Tampaknya genotipe tanaman lebih berpengaruh terhadap perekrutan bakteri endofit karena proses perlekatan bakteri rizosfer ke permukaan akar dimodulasi oleh eksudat akar yang spesifik

untuk setiap jenis tanaman (Bais, Weir, Perry, Gilroy, & Vivanco, 2006; Compant, Samad, Faist, & Sessitsch, 2019).

## SIMPULAN DAN SARAN

Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit yang menghuni pisang Klutuk didominasi oleh kelompok bakteri Gram negatif. Bakteri endofit tersebut memiliki kemampuan sebagai pendukung pertumbuhan tanaman (memfiksasi N<sub>2</sub>, menghasilkan AIA, dan menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)). Isolat-isolat yang berpotensi sebagai pendukung pertumbuhan tanaman perlu dilakukan identifikasi dan karakterisasi lebih lanjut termasuk uji *in planta* untuk melihat pengaruhnya secara *in vivo*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Kementerian Ristek Dikti melalui Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi melalui Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri (BPPDN) yang telah memberikan biaya untuk penelitian.

## REFERENSI

- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221(December 2018), 36-49. doi: 10.1016/j.micres.2019.02.001.
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1-20. doi: 10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- Allard-Massicotte, R., Tessier, L., Lécuyer, F., Lakshmanan, V., Lucier, J. F., Garneau, D., & Bearegard, P. B. (2016). *Bacillus subtilis* early colonization of *Arabidopsis thaliana* roots involves multiple chemotaxis receptors. *mBio*, 7(6), 1-10. doi: 10.1128/mBio.01664-16.
- Andrade, L. F., Lariisse, G., Dorasio, O., Nietsche, S., Xavier, A. A., Costa, M. R., & Silva, G. (2014). Analysis of the abilities of endophytic bacteria associated with banana tree roots to

- promote plant growth. *Journal of Microbiology*, 52(1), 27-34. doi: 10.1007/s12275-014-3019-2.
- Bacilio-Jiménez, M., Aguilar-Flores, S., Ventura-Zapata, E., Pérez-Campos, E., Bouquelet, S., & Zenteno, E. (2003). Chemical characterization of root exudates from rice (*Oryza sativa*) and their effects on the chemotactic response of endophytic bacteria. *Plant and Soil*, 249(2), 271-277. doi: 10.1023/A:1022888900465.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 233-266. doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159.
- Barra, P. J., Inostroza, N. G., Mora, M. L., Crowley, D. E., & Jorquera, M. A. (2016). Bacterial consortia inoculation mitigates the water shortage and salt stress in an avocado (*Persea americana* Mill.) nursery. *Applied Soil Ecology*, 2561, 1-9. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.11.012.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Review Trends in Plant Science*, 17(8), 478-486. doi: 10.1016/j.tplants.2012.04.001.
- Borah, A., Das, R., Mazumdar, R., & Thakur, D. (2019). Culturable endophytic bacteria of *Camellia* species endowed with plant growth promoting characteristics. *Journal of Applied Microbiology*, 127(3), 825-844. doi: 10.1111/jam.14356.
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., van Themaat, E. V. L., & Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 64(1), 807-838. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120106.
- Cappuccino, E., & Welsh, C. (2019). *Microbiology a laboratory manual*. United States of America: Pearson.
- Coleman-Derr, D., Desgarenes, D., Fonseca-Garcia, C., Gross, S., Clingenpeel, S., Woyke, T., & Tringe, S. (2015). Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. *New Phytologist*, 798-811. doi: 10.1111/nph.13697.
- Compant, S., Samad, A., Faist, H., & Sessitsch, A. (2019). A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research*, 19, 29-37. doi: 10.1016/j.jare.2019.03.004.
- Fernandes, T. P., Nietsche, S., Costa, M. R., Aparecida, A., Francine, D., Silva, G., & Pereira, T. (2013). Potential use of endophytic bacteria to promote the plant growth of micropropagated banana cultivar Prata Anã. *African Journal of Biotechnology*, 12(31), 4915-4919. doi: 10.5897/AJB2012.2958.
- Hardoim, P. R., Overbeek, L. S. Van, B. G., Pirttilä, M., Compant, S., Campisano, A., & Döring, M. (2015). The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293-320. doi: 10.1128/MMBR.00050-14.
- Kandel, S., Joubert, P., & Doty, S. (2017). Bacterial endophyte colonization and distribution within plants. *Microorganisms*, 5(4), 77. doi: 10.3390/microorganisms5040077.
- Karthik, M., Pushpakanth, P., Krishnamoorthy, R., & Senthilkumar, M. (2017). Endophytic bacteria associated with banana cultivars and their inoculation effect on plant growth. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 00(00), 1-9. doi: 10.1080/14620316.2017.1310600.
- Köberl, M., Dita, M., Martinuz, A., Staver, C., & Berg, G. (2017). Members of Gammaproteobacteria as indicator species of healthy banana plants on *Fusarium* wilt-infested fields in Central America. *Scientific Reports*, 7(March), 1-9. doi: 10.1038/srep45318.
- Kox, M. A., & Jetten, M. (2015). Microbes for sustainable agriculture. In B. Lugtenberg

- (Eds.) *Principles of plant-microbe interactions*. Switzerland: Springer, Cham.
- Lamsal, K., Kim, S. W., Kim, Y. S., & Lee, Y. S. (2012). Application of rhizobacteria for plant growth promotion effect and biocontrol of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* on pepper. *Mycobiology*, 40(4), 244-251. doi: 10.5941/MYCO.2012.40.4.244.
- Mai-Prochnow, A., Clauson, M., Hong, J., & Murphy, A. B. (2016). Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Scientific Reports*, 6(November), 1-11. doi: 10.1038/srep38610.
- Matos, A., M. D., Gomes, I. C. P., Nietsche, S., & Xavier, A. A. (2017). Phosphate solubilization by endophytic bacteria isolated from banana trees. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 1-10.
- Napitupulu, T. P., Kanti, A., & Sudiana, I. M. (2019). The physiological character of bacteria isolated from banana's rhizosphere from Malaka, East Nusa Tenggara, and their role on plant growth promotion on marginal land. *Berita Biologi*, 18(3). doi: 10.14203/beritabiologi.v18i3.3748.
- Ngamau, C. N., Matiru, V. N., Tani, A., & Wangari, C. (2012). Isolation and identification of endophytic bacteria of bananas (*Musa spp.*) in Kenya and their potential as biofertilizers for sustainable banana production. *African Journal of Microbiology Research*, 6(34), 6414-6422. doi: 10.5897/AJMR12.1170.
- Ploetz, R. C. (2015). Management of *Fusarium* wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. *Crop Protection*, xxx, 1-9. doi: 10.1016/j.cropro.2015.01.007.
- Ravi, I., Uma, S., Vaganan, M. M., & Mustaffa, M. M. (2013). Phenotyping bananas for drought resistance. *Frontiers in Physiology*, 4 FEB(February), 1-15. doi: 10.3389/fphys.2013.00009.
- Robinson, J. C., & Saúco, V. G. (2010). Bananas and plantains 2<sup>nd</sup> edition vol. 0. In J. Atherton (Eds.), *Series: Crop production science in horticulture* (pp. 19). London, United Kingdom: CAB International.
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, Ma-del, C., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92-99. doi: 10.1016/j.micres.2015.11.008.
- Sekhar, A. C., & Thomas, P. (2015). Isolation and identification of shoot-tip associated endophytic bacteria from banana cv, grand naine and testing for antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *American Journal of Plant Sciences*, 6(April), 943-954.
- Sharma, C. K., Vishnoi, V. K., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2018). A twin rhizospheric bacterial consortium induces systemic resistance to a phytopathogen *Macrophomina phaseolina* in mung bean. *Rhizosphere*, 5(January), 71-75. doi: 10.1016/j.rhisph.2018.01.001.
- Souza, S. A., Xavier, A. A., Costa, M. R., Cardoso, A. M. S., Pereira, M. C. T., & Nietsche, S. (2013). Endophytic bacterial diversity in banana 'Prata Anã' (*Musa spp.*) roots. *Genetics and Molecular Biology*, 264, 252-264.
- Suhaimi, N. S. M., Goh, S. Y., Ajam, N., Othman, R. Y., Chan, K. G., & Thong, K. L. (2017). Diversity of microbiota associated with symptomatic and non-symptomatic bacterial wilt-diseased banana plants determined using 16S rRNA metagenome sequencing. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(9), 1-10. doi: 10.1007/s11274-017-2336-0.
- Sutanto, A. (2014). *Karakterisasi molekuler ketahanan beberapa kultivar pisang (Musa spp.) terhadap penyakit layu panama (Fusarium oxysporum f.sp. cubense)*. Bogor: Sekolah Pascasarjana IPB.
- Tripathi, L., & Odipio, J. (2008). A rapid technique for screening banana cultivars for resistance to *Xanthomonas* wilt. *European Journal of Plant Pathology*, 121(February 2015), 9-19. doi: 10.1007/s10658-007-9235-4.
- Vanegas, J., & Uribe-Vélez, D. (2014). Selection of mixed inoculants exhibiting

- growth-promoting activity in rice plants from undefined consortia obtained by continuous enrichment. *Plant and Soil*, 375(1-2), 215-227. doi: 10.1007/s11104-013-1960-1.
- Wang, Y., Yang, C., Yao, Y., Wang, Y., Zhang, Z., & Xue, L. (2016). The diversity and potential function of endophytic bacteria isolated from *Kobresia capillifolia* at alpine grasslands on the Tibetan. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(9), 2153-2162. doi: 10.1016/S2095-3119(15)61248-5.
- Warman, N. M., & Aitken, E. A. B. (2018). The movement of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (sub-tropical race 4) in susceptible cultivars of banana. *Frontiers in Plant Science*, 871(November), 1-9. doi: 10.3389/fpls.2018.01748.
- Xu, L. (2014). Protein secretion systems in bacterial pathogens. *Frontiers in Biology*, 9(6), 437-447. doi: 10.1007/s11515-014-1333-z.
- Yang, R., Liu, P., & Ye, W. (2017). Illumina-based analysis of endophytic bacterial diversity of tree peony (*Paeonia* Sect. Moutan) roots and leaves. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(4), 695-705. doi: 10.1016/j.bjm.2017.02.009.
- Yuan, J., Zhang, N., Huang, Q., Raza, W., Li, R., Vivanco, J. M., & Shen, Q. (2015). Organic acids from root exudates of banana help root colonization of PGPR strain *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6. *Scientific Reports*, 5(July), 1-8. doi: 10.1038/srep13438.
- Zhao, Y. (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, 61(May), 49-64. doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112308.