

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* L.)

Tanaman bawang merah (*Allium cepa* L.) merupakan salah satu komoditas sayuran yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Bawang merah merupakan tanaman umbi-umbian semusim multiguna yang memiliki nilai ekonomis tinggi (Aisyah *et al.*, 2023). Bawang merah termasuk salah satu komoditas sayuran unggulan di Indonesia. Produksi bawang merah mencapai 1,82 juta ton pada tahun 2020 dan naik 10,4% pada tahun 2021 (BPS, 2021). Komoditas bawang merah merupakan sumber pendapatan yang memberikan kontribusi cukup tinggi terhadap perkembangan ekonomi wilayah (Sadaruddin *et al.*, 2017).

Menurut Dwijoseputro (2016), bawang merah dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Classis : Monocotyledonae
Ordo : Liliales
Familia : Liliaceae
Genus : *Allium*
Species : *Allium cepa* L.

Rachmawati (2019) menyebutkan bahwa struktur morfologi tanaman bawang merah terdiri atas beberapa bagian seperti daun, batang, bunga, umbi, dan akar (Gambar 2.1). Daun tanaman bawang merah memiliki tangkai yang relatif pendek dengan bentuk bulat seperti pipa atau silinder berongga, memiliki panjang sekitar 15-40 cm, dan meruncing pada bagian ujung daun (Vebrita, 2017). Daun tanaman bawang merah berwarna hijau tua atau hijau muda. Daun tanaman bawang merah yang sudah tua akan menguning, tidak setegak daun yang masih muda, dan akhirnya mengering dari bagian ujung tanaman (Annisava & Solfan, 2014).

Tanaman bawang merah memiliki batang sejati berbentuk cakram sebagai tempat melekatnya perakaran dan mata tunas sebagai titik tumbuh (Rahmat & Herdi, 2017). Bagian atas batang berupa batang semu yang tersusun dari pelepah-pelepah daun. Batang yang berada di dalam tanah akan berubah fungsinya menjadi umbi lapis (Prayitno, 2015).

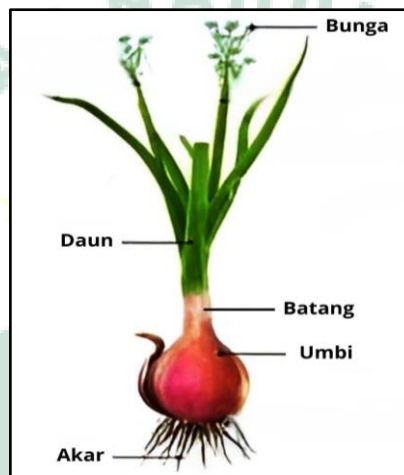
Bunga bawang merah merupakan bunga majemuk berbentuk tandan. Setiap tandan mengandung 50-200 kuntum bunga yang tersusun melingkar berbentuk payung. Setiap kuntum bunga terdiri dari 5-6 helai daun bunga berwarna putih, 6 benang sari berwarna hijau atau kekuning-kuningan, 1 putik, dan bakal buah berbentuk hampir segitiga. Bunga bawang merah berbentuk bulat dengan ujungnya tumpul membungkus biji berjumlah 2-3 butir. Biji bawang merah berwarna putih, tetapi akan berubah menjadi hitam setelah tua (Sitompul, 2017). Bunga bawang merah termasuk bunga sempurna yang dapat melakukan penyerbukan sendiri, dengan bantuan serangga, maupun dengan bantuan manusia (Loou & Titahena, 2014).

Umbi bawang merah merupakan umbi lapis dengan biji berkeping satu atau monokotil. Umbi bawang merah dapat berbentuk bulat, lonjong, dan pipih (Fajriyah, 2017). Lapisan pembungkus siung umbi bawang merah sekitar 2-3 lapisan yang tipis dan mudah kering. Besar kecilnya siung umbi bawang merah tergantung pada banyak dan tebalnya bagian lapisan pembungkus umbi (Efendi *et al.*, 2017). Umbi bawang merah terdiri atas calon-calon tunas yang dapat tumbuh jika ditanam. Pertumbuhan tunas ditandai dengan munculnya daun pada tunas umbi bawang merah. Tunas daun dapat tumbuh menjadi batang dan pada pangkalnya akan membentuk umbi baru yang tetap menempel dengan umbi utamanya (Tambunan *et al.*, 2014).

Umbi bawang merah mengandung vitamin B1, thiamin, riboflavin, asam nikotinat, serta mengandung rhizokalin yang dapat merangsang pertumbuhan akar tanaman (Tarigan *et al.*, 2017; Irni *et al.*, 2019). Pamungkas & Puspitasari (2018) menyebutkan bahwa ekstrak bawang merah mengandung auksin endogen yang dihasilkan dari umbi lapis. Terdapat calon tunas di dalam umbi lapis, sedangkan pada sisi luarnya terdapat tunas lateral. Tunas muda pada bawang merah

menghasilkan auksin alami berupa *Indole Acetic Acid* (IAA). Hormon IAA disintesis oleh bakteri endofit tertentu di dalam jaringan tanaman bawang merah sebagai pemacu pertumbuhan (Herlina *et al.*, 2016).

Akar tanaman bawang merah terdiri dari akar pokok (*primary root*) yang berfungsi sebagai tempat tumbuh akar adventif (*adventitious root*) dan bulu akar yang berfungsi menopang berdirinya tanaman serta menyerap air dan zat hara dari dalam tanah (Rahmat & Herdi, 2017). Bawang merah memiliki akar serabut dengan sistem perakaran dangkal dan bercabang terpenjar. Jumlah perakaran tanaman bawang merah dapat mencapai 20-200 akar. Diameter akar bervariasi antara 0,5-2 mm (Nuraisyah *et al.*, 2022).



Gambar 2.1 Morfologi tanaman bawang merah (Sumber: Rachmawati, 2019)

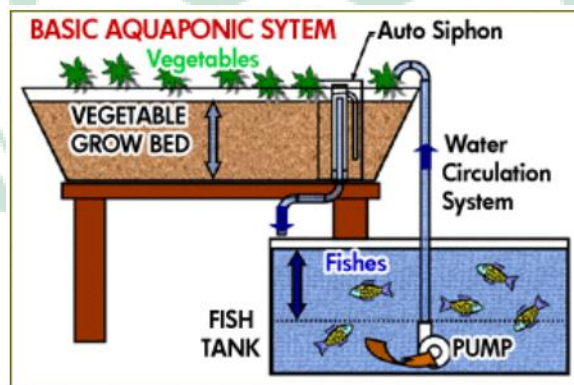
Tanaman bawang merah menyerap unsur hara makro dari dalam tanah seperti Nitrogen, Fosfat, dan Kalium (Triadiawarman *et al.*, 2022). Unsur hara Nitrogen, Fosfat, dan Kalium berperan penting dalam proses fotosintesis, ketiga unsur hara tersebut dapat diubah menjadi energi untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman (Firmansyah, 2017). Bakteri endofit tertentu di dalam jaringan tanaman bawang merah memiliki kemampuan menghasilkan hormon IAA, menambat Nitrogen, melarutkan Fosfat, dan melarutkan Kalium yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman (Wandita *et al.*, 2018; Ummah *et al.*, 2019).

2.2 Akuaponik

Akuaponik merupakan sistem pertanian berkelanjutan yang mengkombinasikan hidroponik (budidaya tanaman tanpa media tanah) dengan akuakultur (budidaya ikan) dalam satu lingkungan (Zulhelman, 2016). Sistem ini mengadopsi sistem ekologi pada lingkungan alamiah yang di dalamnya terdapat hubungan simbiosis mutualisme antara tanaman dan ikan (Sastro, 2016). Sistem akuaponik digunakan untuk menghemat penggunaan lahan dan air, serta meningkatkan efisiensi usaha melalui pemanfaatan nutrisi dari sisa pakan dan metabolisme ikan sebagai nutrisi untuk tanaman (Zidni *et al.*, 2013).

Somerville *et al.* (2014) menyebutkan bahwa komponen-komponen utama pada sistem akuaponik meliputi *fish tank*, *vegetable grow bed*, *pump*, dan *plumbing* (Gambar 2.2).

1. *Fish tank* (tangki ikan), digunakan sebagai tempat memelihara ikan
2. *Vegetable grow bed* (tempat tanaman tumbuh), berfungsi sebagai tempat bakteri-bakteri dan sebagai biofilter.
3. *Pump* (pompa), digunakan untuk mengalirkan air dari tangki ikan ke tempat tanaman tumbuh.
4. *Plumbing* (pipa saluran penghubung), digunakan untuk menghubungkan air dari tangki ikan ke tempat tumbuhnya tanaman.



Gambar 2.2 Komponen sistem akuaponik (Sumber: Budiman, 2018)

Akuaponik merupakan teknik alternatif budidaya tanaman dan ikan dalam satu wadah (Nugraheni, 2013). Akuaponik memanfaatkan air secara terus menerus

dari pemeliharaan ikan ke tanaman dan sebaliknya dari tanaman ke kolam ikan. Inti dari sistem akuaponik adalah penyediaan air yang optimum untuk masing-masing komoditas dengan memanfaatkan sistem resirkulasi. Sistem akuaponik menggunakan air yang mengalir untuk terus bersirkulasi (Handayani, 2018). Pompa listrik akan mengalirkan air yang mengandung kotoran ikan sebagai sumber nutrisi bagi tanaman. Air kemudian disaring dan dikembalikan ke kolam ikan dibawahnya dengan kondisi jernih (Zulhelman, 2016).

Prinsip dari sistem kerja akuaponik yaitu tanaman memanfaatkan unsur hara yang berasal dari kotoran ikan. Kotoran ikan yang dibiarkan terlalu lama di kolam akan bersifat toksik bagi ikan. Tanaman dan medianya berfungsi sebagai filter vegetasi yang menyaring air dan menguraikan zat toksik tersebut menjadi zat yang tidak berbahaya bagi ikan. Penggantian air pada sistem akuaponik tidak diperlukan karena air yang bersifat toksik terhadap ikan akan difilter oleh bakteri nitrifikasi sehingga ikan tetap sehat (Manuhara *et al.*, 2018). Tanaman pada sistem akuaponik juga akan memberikan oksigen kepada ikan melalui air yang sudah tersaring oleh media tanam (Sastro, 2016).

Sistem budidaya akuaponik memiliki beberapa keunggulan antara lain: dapat diterapkan pada pekarangan sempit; tidak memerlukan media tanam berupa tanah; tidak memerlukan penyiraman; bebas kontaminan; dapat mengurangi penggunaan pupuk yang tidak ramah lingkungan; dan dapat meningkatkan ketersediaan produk tanaman (Pattillo, 2017). Akuaponik sangat prospektif untuk dikembangkan di tempat yang air dan tanahnya langka serta mahal, seperti di wilayah perkotaan, di daerah kering, padang pasir, serta pulau-pulau kecil (Sastro, 2016).

Faktor utama yang menentukan keberhasilan budidaya dengan sistem akuaponik adalah media tanam dan kualitas air (Somerville *et al.*, 2014). Media tanam yang digunakan dalam sistem akuaponik sebaiknya menggunakan media yang memiliki daya saring yang baik sehingga mampu menyaring kotoran atau sisa pakan ikan supaya air yang mengalir kembali ke kolam menjadi bersih (Sastro, 2016). Media tanam sebagai tempat tumbuh dan berkembangnya akar tanaman pada sistem budidaya akuaponik memiliki peranan antara lain: mendukung pertumbuhan

dan aktivitas mikroba nitrifikasi; *buffering* hara; dan sebagai agen filtrasi senyawa toksik dari sistem budidaya ikan di bawahnya (Utami *et al.*, 2015). Media tanam yang umumnya dipakai dalam sistem akuaponik diantaranya *expanded clay* atau *hydroton*, *zeolit*, batu apung, *rockwool*, sekam, dan batu *split* (Firdaus *et al.*, 2018).

Parameter kualitas air menjadi faktor penting dalam mengoptimalkan produksi akuaponik karena secara langsung berdampak kebutuhan nutrisi tanaman dan kesehatan ikan. Tingkat parameter kualitas air yang tidak tepat dapat menyebabkan masalah seperti penurunan pertumbuhan tanaman dan perkembangbiakan ikan. Kandungan makronutrien yang terdiri dari nitrat (NO_3) dan amonium (NH_4) yang merupakan bagian dari Nitrogen (N), Fosfat (P), dan Kalium (K) pada kualitas air sistem akuaponik perlu diperhatikan untuk kepentingan produksi biomassa tanaman, di sisi lain juga menjadi lingkungan yang baik untuk kehidupan ikan (Tyson *et al.*, 2011). Bittsanszky *et al.* (2016) telah mendata konsentrasi makronutrien pada sistem akuaponik dalam penelitiannya yang dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Konsentrasi makronutrien pada sistem akuaponik (Bittsanszky *et al.*, 2016)

Makronutrien	Konsentrasi (mg/L)	Rasio Konsentrasi
Total N	10,6	30,3
P	6,6	5,59
K	50,8	6,7

Nitrat dapat dimanfaatkan dengan mudah oleh tanaman. Ikan dapat mentolerir konsentrasi Nitrat hingga 400 mg/L. Konsentrasi nitrat tinggi (>250 mg/L) akan berdampak negatif pada tanaman dan menyebabkan pertumbuhan vegetatif yang berlebihan dan akumulasi nitrat berbahaya di daun, yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Pada konsentrasi nitrat yang tinggi direkomendasikan untuk mengganti air dan mempertahankan nitrat pada konsentrasi 5-150 mg/L (Deswati *et al.*, 2021).

Amonium merupakan bentuk senyawa Nitrogen dalam air limbah yang telah mengalami nitrifikasi. Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 22 tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup,

konsentrasi amonium dalam air yang diperbolehkan yaitu 0,1 mg/L untuk kelas 1, 0,2 mg/L untuk kelas 2, dan 0,5 mg/L untuk kelas 3. Konsentrasi amonium yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya eutrofikasi pada badan air yang menyebabkan berkurangnya oksigen terlarut. Hal tersebut dapat menyebabkan kematian pada ikan, udang atau biota air lainnya apabila oksigen terlarut dalam air kurang dari 2 mg/L (Wijaya & Putra, 2021).

Fosfat merupakan unsur penting dalam siklus nutrisi yang terlibat dalam pertumbuhan tanaman, metabolisme energi dan fungsi sekunder (Wiyantoko *et al.*, 2017). Keberadaan Fosfat dalam air yang melebihi batas baku mutu dapat menyebabkan eutrofikasi yang dapat memicu pertumbuhan alga secara masif. Alga yang mati akan menyebabkan yang berbahaya bagi kehidupan akuatik (Tobing & Hayati, 2024). Konsentrasi Fosfat dalam air perlu dijaga agar tersedia dalam jumlah yang cukup bagi tanaman, namun tidak melebihi batas yang dapat mengakibatkan masalah pada ekosistem perairan.

Kalium merupakan salah satu jenis mineral makro yang dibutuhkan organisme dalam jumlah yang sedikit (Sardans & Penuelas, 2021). Keberadaan Kalium dalam ekosistem perairan memiliki peran penting untuk proses fisiologis (Allison *et al.*, 2013). Kalium dalam sistem akuatik berperan dalam mempercepat dekomposisi bahan organik yang berkontribusi terhadap siklus nutrisi yang sehat (Supono, 2015).

2.3 Pupuk Organik Cair (POC) Bekas Maggot (Kasgot)

Pupuk organik adalah pupuk yang terbentuk dari proses konversi bahan-bahan organik menjadi bahan yang lebih sederhana dengan menggunakan bantuan mikroorganisme (Warintan *et al.*, 2021). Pupuk organik mengandung unsur penting seperti Nitrogen (N), Fosfat (P), dan Kalium (K) yang dapat meningkatkan produktivitas tanaman pertanian (Sondakh *et al.*, 2017). Pupuk organik dapat berbentuk padat dan cair. Pupuk organik berbentuk padat dikenal dengan pupuk kompos atau pupuk kandang, sedangkan pupuk organik berbentuk cair dikenal dengan Pupuk organik cair (POC) (Warintan *et al.*, 2021).

Pupuk organik cair lebih efektif digunakan dibandingkan pupuk organik padat karena pengaplikasiannya pada tanaman dinilai lebih mudah. Pupuk organik cair dapat meningkatkan pembentukan klorofil pada daun sehingga dapat meningkatkan energi dan daya tahan tanaman, merangsang pertumbuhan cabang, serta mengurangi gugur daun (Putri *et al.*, 2022). Beberapa penelitian melaporkan penggunaan POC untuk pemupukan pada tanaman kacang hijau (*Vigna radiata* L.), bawang merah (*Allium ascalonicum* L.), caisim (*Brassia juncea*), dan petsai (*Brassia chinensis*) (Hanisar, 2015; Rambe *et al.*, 2019; Alakhyar *et al.*, 2019; Napilia, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa pemanfaatan POC pada tanaman pertanian sudah sangat umum bagi petani.

Salah satu jenis POC adalah POC bekas maggot (kasgot) yang merupakan hasil sisa biokonversi yang dilakukan oleh larva lalat *black soldier fly* (BSF) atau lebih dikenal dengan istilah maggot. Biokonversi adalah cara fermentasi sampah organik dengan menggunakan bantuan organisme hidup. Larva BSF dapat mengurai sampah-sampah organik dengan baik dan cepat sehingga bermanfaat untuk mengurangi pencemaran lingkungan (Kastolani, 2019). Pemanfaatan larva BSF sebagai makroorganisme pengurai sampah merupakan bentuk inovatif dalam pengolahan sampah (Agustin *et al.*, 2023). Kemampuan mendegradasi sampah oleh larva BSF dikatakan lebih efektif dibandingkan dengan serangga lainnya karena larva BSF dinilai cukup aman bagi kesehatan manusia, dapat mengurangi populasi lalat rumah, dan dapat mereduksi kontaminasi sampah terhadap bakteri patogenik *Escherichia coli* (Rahmah, 2021).

Beberapa produk yang dihasilkan dari biokonversi sampah organik oleh larva BSF yaitu instar awal larva BSF yang dapat dimanfaatkan sebagai umpan ikan, stadium prepupa larva BSF yang dapat dikeringkan dan dibuat tepung untuk campuran pakan ternak, dan bekas maggot (kasgot) yang merupakan residu dari biokonversi sampah organik oleh larva BSF. Bekas maggot ada yang berbentuk padat dan cair, namun keduanya dapat digunakan sebagai pupuk organik (Yuwono & Mentari, 2018).

Bekas maggot yang berbentuk cair atau dikenal sebagai lindi BSF mengandung beberapa elemen makro dan mikro yang terlarut selama proses

dekomposisi sampah organik. Rahmah (2021) telah melakukan analisis sampah organik terdekomposisi oleh larva BSF pada dua sampel dengan umur dekomposisi 15 dan 30 hari yang dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Analisis sampah organik terdekomposisi oleh larva BSF (Rahmah, 2021)

Parameter	Satuan	Standar	Umur dekomposisi	
			15 hari	30 hari
Suhu	°C	<40°	27,8	28,2
Warna	-	Hitam	Hitam	Hitam
Nitrogen (N)	%	>0,4	1,82	3,60
Karbon (C)	%	9,8-32	14,62	27,58
Fosfor (P ₂ O ₅)	%	>0,1	1,43	0,14
Rasio C/N	-	10-20	8	8
Kalium (K ₂ O)	%	>0,22	5,44	7,88
Cobalt (Co)	Ppm	<34	7,9	0,9
Seng (Zn)	Ppm	<500	150	132
Kalsium (Ca)	%	<25,5	4,58	4,24
Magnesium (Mg)	%	<0,6	0,51	0,24
Besi (Fe)	%	<2,0	2,09	0,98
Mangan (Mn)	%	<0,1	0,218	0,018

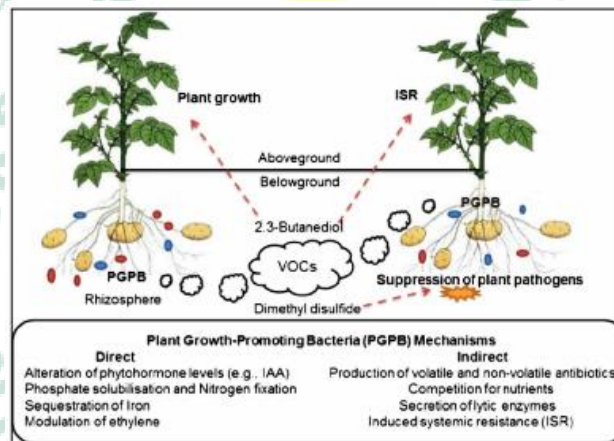
Hasil analisis sampah organik terdekomposisi oleh larva BSF yang dibandingkan dengan standar baku mutu dalam SNI 19-7030-2004 tentang Spesifikasi Kompos dari Sampah Organik Domestik diketahui bahwa sampel yang berumur 15 hari memiliki mutu hasil dekomposisi yang kurang baik karena parameter rasio C/N, Besi (Fe), dan Mangan (Mn) tidak memenuhi baku mutu. Sampel yang berumur 30 hari memiliki mutu hasil dekomposisi yang lebih baik dari sampel umur 15 hari karena hanya parameter C/N yang tidak memenuhi baku mutu (Rahmah, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa hasil dekomposisi sampah organik oleh larva BSF relatif baik digunakan sebagai pupuk organik pada umur dekomposisi 30 hari.

Proses terbentuknya lindi BSF dimulai dari pencernaan organik oleh larva yang memecah bahan organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana.

Seiring dengan proses ini, lindi akan mengumpul di dasar substrat sebagai hasil dari dekomposisi sampah organik tersebut. Lindi larva BSF merupakan salah satu pupuk organik cair yang dikenal dengan POC kasgot (Suwirnen *et al.*, 2022).

2.4 Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB)

Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) atau bakteri pemacu pertumbuhan tanaman merupakan bakteri menguntungkan yang dapat meningkatkan kualitas pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme (Yanti *et al.*, 2022). Bakteri PGPB dapat berperan memacu pertumbuhan tanaman melalui mekanisme secara langsung maupun tidak langsung (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Mekanisme PGPB (Velivelli *et al.*, 2014)

Bakteri PGPB secara langsung berperan sebagai pemacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman karena menghasilkan fitohormon seperti *Indole Acetic Acid* (IAA), *Gibberellic Acid* (GA), dan sitokinin (Vandana *et al.*, 2017). Kemampuan bakteri PGPB dalam menghasilkan fitohormon memiliki peran penting bagi tanaman antara lain: berperan dalam proses perkecambahan biji; pertumbuhan akar; modifikasi sistem perakaran pada lahan kritis; peningkatan biomassa akar; dan pembentukan batang dan daun (Fraile *et al.*, 2015). Bakteri PGPB secara langsung juga dapat berperan sebagai penyedia unsur hara bagi tanaman dengan menambat Nitrogen di udara serta melarutkan Fosfat dan Kalium yang terikat dalam tanah (Wandita *et al.*, 2018). Bakteri PGPB juga mampu berasosiasi dengan tanaman pada

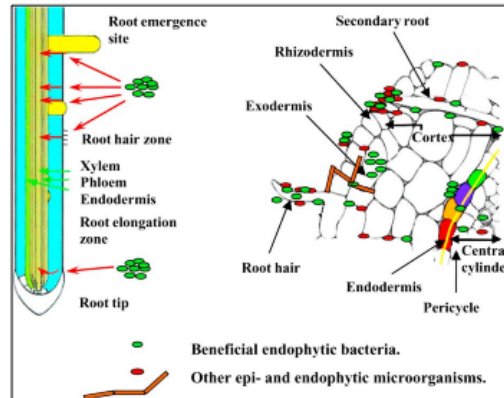
tanah yang terkontaminasi logam dan berperan secara langsung dalam pertumbuhan tanaman dan akumulasi logam (Tangapao, 2020).

Bakteri PGPB secara tidak langsung memberikan kontribusi terhadap pertumbuhan tanaman inang, antara lain: mampu mengurangi atau melindungi tanaman dari organisme fitopatogen; meningkatkan induksi resistensi tanaman inang terhadap patogen dan parasit; memproduksi siderofor; menghasilkan enzim hidrolitik; dan mampu menghasilkan antibiotik (Pratiwi, 2019). Bakteri PGPB berupa bakteri yang dapat berasosiasi dengan tanaman yang berasal dari sekitar perakaran (rhizosfer), permukaan daun (filosfer) ataupun bagian dari tanaman (endofit) (Khabbaz *et al.*, 2019).

2.4.1 Bakteri Endofit

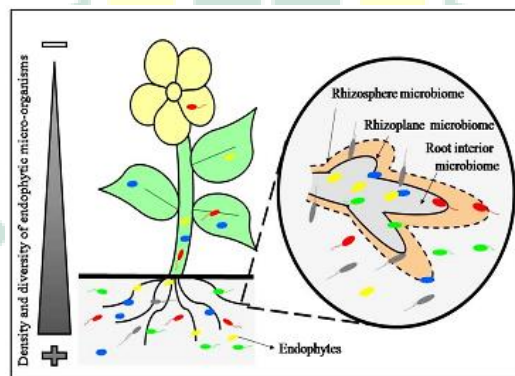
Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman sehat seperti biji, akar, batang, dan daun (Sianipar *et al.*, 2020). Bakteri endofit memiliki tempat hidup yang relatif terlindungi serta mendapatkan nutrisi yang memadai di dalam jaringan tanaman (Malfanova, 2013). Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman inang secara simbiotik dengan membentuk koloni selama periode tertentu dari siklus hidupnya tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit (Suriani & Muis, 2016).

Santoyo *et al.* (2016) menyebutkan bahwa mekanisme invasi bakteri endofit ke dalam jaringan tanaman dapat dilakukan dengan berbagai cara. Bakteri endofit awalnya berasal dari lingkungan eksternal tanaman dan dapat masuk ke dalam tanaman melalui stomata, lentisel, luka alami, trachoma yang rusak, titik tumbuh akar lateral, radikula yang sedang tumbuh, dan jaringan akar meristematik yang tidak terdiferensiasi. Compant *et al.* (2010) menyebutkan bahwa bakteri dapat membentuk koloni pada suatu jaringan tanaman secara sistemik dengan melakukan endosimbiosis, baik di dalam sel maupun dalam jaringan pembuluh tanaman (Gambar 2.3).



Gambar 2.4 Kolonisasi bakteri endofit pada tanaman (Compant *et al.*, 2010)

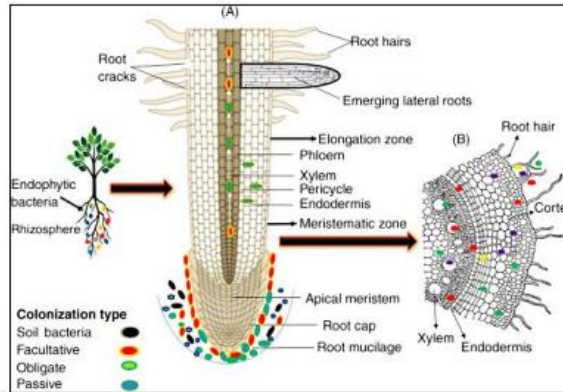
Jumlah bakteri endofit pada jaringan tanaman umumnya berkisar antara 10^2 - 10^7 CFU/mL (Syamsafitri *et al.*, 2021). Tangapao (2020) menyebutkan bahwa densitas populasi bakteri endofit pada tipe bagian tanaman berbeda-beda (Gambar 2.4). Densitas populasi bakteri tertinggi terdapat pada akar tanaman karena akar menjadi bagian utama bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman (Yandila *et al.*, 2018).



Gambar 2.5 Densitas dan diversitas mikroba endofit pada jaringan tanaman (Santos *et al.*, 2018)

Hurek (2015) menyebutkan bahwa bakteri rhizosfer dapat masuk ke dalam jaringan tanaman melalui rambut akar, zona pemanjangan, ujung akar atau pada titik munculnya akar sekunder. Bakteri selanjutnya menginvasi dan mengkolonisasi sel-sel tanaman, ruang antar sel, bahkan pada jaringan vaskular menjadi bakteri endofit (Gambar 2.5). Kolonisasi bakteri endofit spesifik hanya memungkinkan bagi bakteri rhizosfer yang spesifik hidup pada tanaman inang (Tangapao, 2020).

Vandana *et al.* (2017) menyebutkan bahwa bakteri rhizosfer yang mampu melewati pertahanan tanaman akan menjadi bakteri endofit.



Gambar 2.6 Kolonisasi bakteri rhizosfer menjadi endofit (Kumar *et al.*, 2020)

Bakteri endofit sebagai PGPB memiliki dua peran utama, yaitu sebagai biostimulan dan biokontrol pada tanaman. Peran bakteri PGPB sebagai biostimulan berfungsi membantu menyediakan kebutuhan unsur hara dari dalam tanah untuk tanaman dan memacu pertumbuhan tanaman. Bakteri PGPB sebagai biokontrol berfungsi menekan dan menghambat perkembangan fitopatogen yang menyerang tanaman (Suryanti *et al.*, 2023).

Bakteri endofit diketahui banyak dimanfaatkan di bidang pertanian sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman, penambat Nitrogen bebas, dan agen penghambat pertumbuhan mikroba patogen pada tanaman (Tangapao, 2020; Tamba *et al.*, 2016; Lestari, 2017). Beberapa bakteri endofit juga diketahui banyak dimanfaatkan di bidang kesehatan sebagai bahan baku obat seperti antibiotik, antikanker, antioksidan, antiinflamasi, imunosupresan, dan antidiabetes (Christina *et al.*, 2013; Ramadhan *et al.*, 2018; Kuntari *et al.*, 2017; Gouda *et al.*, 2016; Fatin *et al.*, 2018).

Bakteri endofit telah diisolasi dari beragam tanaman (Nongkhlaw & Joshi, 2014). Berikut adalah genus bakteri yang ditemukan sebagai endofit pada berbagai jenis tanaman yaitu *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Actinomycetes*, *Aeromonas*, *Afipia*, *Agrobacterium*, *Agromonas*, *Alcaligenes*, *Alcanivorax*, *Allorhizobium*, *Alteromonas*, *Aminobacter*, *Aquaspirillum*, *Arthrobacter*, *Aureobacterium*, *Azoarcus*,

Azomonas, Azorhizobium, Azotobacter, Azospirillum, Bacillus, Beijerinckia, Blastobacter, Blastomonas, Brachymonas, Bradyrhizobium, Brenneria, Brevundimonas, Burkholderia, Chelatobacter, Chromobacterium, Chryseomonas, Comamonas, Corynebacterium, Delftia, Derxia, Devosia, Enterobacter, Flavimonas, Flavobacterium, Flexibacter, Frankia, Halomonas, Herbaspirillum, Matsuebacter, Mesorhizobium, Methylobacterium, Moraxella, Nevskia, Nocardia, Ochrobactrum, Pantoea, Pectobacterium, Phenylbacterium, Phyllobacterium, Photobacterium, Porphyrobacter, Pseudoalteromonas, Pseudomonas, Psychrobacter, Ralstonia, Renibacterium, Rhizobacter, Rhizobium, Rhizomonas, Rhodanobacter, Rhodococcus, Shewanella, Sinorhizobium, Sphingobacterium, Sphingomonas, Spirillum, Stenotrophomonas, Streptomyces, Thauera, Variovorax, Vibrio, Xanthomonas, Xylella, Zoogloea, Zymobacter, Zymomonas. Beberapa isolat bakteri endofit dari tanaman tersebut merupakan genus dominan dengan jumlah yang melimpah dan jarang ditemukan (Tangapao, 2020).

Bakteri endofit dapat ditemukan pada semua jenis tanaman seperti rumput-rumputan, pohon berkayu, herba, dan algae (Prayoga *et al.*, 2021). Pencarian bakteri endofit yang berasal dari beragam tanaman dilakukan dengan tujuan memperkaya koleksi mikroba (Rau *et al.*, 2018). Isolat bakteri endofit yang diisolasi dari beragam tanaman perlu dikarakterisasi dan diidentifikasi untuk mengetahui kemampuan fisiologi dan jenisnya sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut di berbagai bidang (Irwandi *et al.*, 2023).

2.4.2 Karakterisasi Bakteri Endofit sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman

Karakterisasi bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan tanaman secara *in vitro* dapat diketahui melalui kemampuannya dalam menghasilkan hormon IAA; menambatkan Nitrogen; melarutkan Fosfat; dan melarutkan Kalium (Asrul, 2019).

1. Bakteri Endofit sebagai Penghasil Hormon IAA

Bakteri endofit penghasil hormon IAA dapat membantu memacu pertumbuhan tanaman. *Indole Acetic Acid* (IAA) merupakan fitohormon golongan auksin yang berperan dalam mengontrol beberapa proses fisiologi tumbuhan, termasuk perkembangan dan pembelahan sel serta diferensiasi

jaringan tumbuhan (Kholida & Zulaika, 2015). Hormon IAA dibedakan menjadi dua, yaitu IAA endogen yang berasal dari tanaman itu sendiri dan IAA eksogen yang dihasilkan oleh beberapa mikroorganisme seperti bakteri dan jamur (Astriani, 2015). Hormon IAA yang dihasilkan oleh bakteri disintesis menggunakan jalur metabolisme L-triptofan (Tallapragada *et al.*, 2015). Akar merupakan salah satu organ tanaman yang paling sensitif terhadap fluktuasi IAA serta bertanggung jawab dalam meningkatkan jumlah IAA eksogen yang berguna bagi proses elongasi akar primer, pembentukan akar lateral dan akar adventif (Herlina *et al.*, 2017).

Penelitian dalam skala *in vitro* untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA dapat dilakukan dengan pemberian L-triptofan sebagai prekursor dalam pembentukan IAA dan reagen *Salkowsky* untuk mendeteksi adanya hormon IAA yang disintesis oleh isolat bakteri (Celedon *et al.*, 2016). Indikator kemampuan bakteri dalam menghasilkan hormon IAA dapat dilihat dari perubahan warna isolat menjadi merah (Astriani & Murtiyaningsih, 2018). Berbagai bakteri endofit yang telah diketahui mampu menghasilkan IAA yaitu *Burkholderia cepacia*, *B. seminalis*, dan *Lysobacter* sp. (Tallapragada *et al.*, 2015; Putrie *et al.*, 2017).

2. Bakteri Endofit sebagai Penambat Nitrogen

Nitrogen dibutuhkan tanaman untuk proses sintesis asam amino, protein, klorofil, koenzim, dan asam nukleat (Sari & Prayudyaningsih, 2015). Bakteri endofit mampu mengikat nitrogen bebas di udara dan mengubahnya menjadi ammonia (NH_3) dengan bantuan enzim *nitrogenase* (Huslina & Harahap, 2019). Ammonia (NH_3) hasil fiksasi bakteri kemudian mengalami amonifikasi menjadi ammonium (NH_4). Ammonium selanjutnya berubah menjadi nitrit dan nitrat yang diabsorpsi oleh tanaman melalui nitrifikasi (Sanchez, 2019).

Karakterisasi dalam skala *in vitro* untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam menambatkan Nitrogen dapat dilakukan menggunakan media selektif *Nitrogen Free Bromothymol Blue* (NfB) pada uji kualitatif dan

reagen *Nessler* pada uji kuantitatif (Dewi & Trimulyono, 2024). Indikator kemampuan bakteri dalam menambatkan Nitrogen dapat dilihat dari perubahan warna media NfB dari hijau menjadi biru dan besarnya nilai konsentrasi Nitrogen yang dapat ditambatkan oleh isolat bakteri endofit (Fatimah *et al.*, 2022; Herawati & Yuntarso, 2017). Berbagai bakteri endofit dari kelompok *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Gluconoacetobacter*, dan *Serratia* diketahui mampu menambatkan Nitrogen (Huslina & Harahap, 2019)

3. Bakteri Endofit sebagai Pelarut Fosfat

Fosfat merupakan hara makro yang sangat dibutuhkan tanaman sebagai penyusun berbagai macam protein, fosfolipid, koenzim, substrat metabolisme, dan transfer energi. Kekurangan Fosfat dapat menyebabkan tanaman kerdil dan pemasakan buah menjadi lambat (Berin *et al.*, 2020). Fosfat di tanah dalam bentuk terikat yaitu $Al(OH)_2H_2PO_4$, $Fe(OH)_2H_2PO_4$, $Ca_{10}PO_4F_2$, $Ca_5(PO_4)_3OH$, dan $Ca_3(PO_4)_2$ yang tidak mampu diserap oleh tanaman (Asrul & Aryantha, 2020). Mengubah Fosfat menjadi terlarut (H_2PO_4 dan HPO_4^{2-}) dapat dilakukan dengan bantuan bakteri pelarut Fosfat (Maghfiroh, 2017). Golongan bakteri endofit dari *Bacillus* dan *Actinomycetes* umumnya diketahui mempunyai kemampuan melarutkan fosfat (Husen *et al.*, 2022). Menurunkan pH dan mengeluarkan zat organik merupakan cara bakteri pelarut Fosfat untuk membebaskan Fosfat terikat menjadi terlarut (Sugianto *et al.*, 2018).

Karakterisasi dalam skala *in vitro* untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam melarutkan Fosfat dapat dilakukan menggunakan media selektif *Pikovskaya* agar pada uji kualitatif dan penambahan pelarut P pekat serta hidrazin sulfat pada uji kuantitatif (Prajono & Kusuma, 2012). Indikator kemampuan bakteri dalam melarutkan Fosfat dapat dilihat dari munculnya zona bening pada permukaan media *Pikovskaya* agar dan besarnya nilai konsentrasi Fosfat yang dapat dilarutkan oleh isolat bakteri endofit (Hidayahtulloh & Setiawati, 2022; Nuraisya *et al.*, 2020).

4. Bakteri Endofit sebagai Pelarut Kalium

Kalium bersama Nitrogen dan Fosfat termasuk unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman dalam jumlah sedikit dalam bentuk ion K^+ (Asrul, 2019). Kalium berperan dalam proses metabolisme tanaman seperti fotosintesis, respirasi, kofaktor enzim, regulasi stomata, dan sintesis protein (Macik *et al.*, 2020). Kalium umumnya melimpah di tanah, namun masih terikat dalam bentuk $(K, Na)AlSi_3O_8$ dan $K(AlSi_3)O_{10}(OH)_2$ serta belum bisa diserap oleh tanaman. Kalium hanya bisa diserap oleh tanaman dalam bentuk ion K^+ (Asrul, 2019; Cahyaningsih, 2019). Pelepasan ion K^+ dari mineralnya dibutuhkan proses fiksasi ion K (Munawar, 2011). Penyediaan ion K^+ di dalam tanah dapat dilakukan dengan bantuan mikroorganisme pelarut Kalium (potassium). Mekanisme mikroorganisme dalam melarutkan Kalium dengan cara *acidolysis*, *exchange reaction*, *complexolysis*, *chelations*, dan produksi asam organik (Bashir *et al.*, 2017).

Karakterisasi dalam skala *in vitro* untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit dalam melarutkan Kalium dapat dilakukan menggunakan media selektif *Alexandrov* agar (Jaya *et al.*, 2021). Indikator kemampuan bakteri dalam melarutkan Kalium dapat dilihat dari munculnya zona bening pada permukaan media *Pikovskaya* agar (Istiyova & Santosa, 2023). Bakteri *Pseudomonas*, *Acidithiobacillus*, *Ferrooxidans*, dan *Bacillus* merupakan bakteri yang diketahui mampu melarutkan Kalium (Istiqomah *et al.*, 2017).

2.5 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri adalah upaya mengeksplorasi bakteri berdasarkan ciri-ciri yang dimiliki untuk mengetahui potensi dan keanekaragaman bakteri (Yuka *et al.*, 2021). Identifikasi bakteri dapat dilakukan secara konvensional maupun molekuler. Identifikasi bakteri secara konvensional dapat dilakukan dengan pengamatan morfologi bakteri secara makroskopis dan mikroskopis menggunakan metode pewarnaan Gram. Identifikasi bakteri secara molekuler dapat dilakukan dengan menggunakan analisis sekuensing gen 16S rRNA (Wulandari & Purwaningsih, 2019).

2.5.1 Identifikasi Morfologi Bakteri

Setiap spesies bakteri memiliki morfologi makroskopis dan mikroskopis yang berbeda-beda. Menurut Hidayat *et al.* (2014), morfologi bakteri yang berbeda-beda menunjukkan ciri khas dari kelompok bakteri tertentu. Identifikasi morfologi bakteri bermanfaat untuk mempermudah dalam proses pengelompokan bakteri (Wardhani *et al.*, 2020). Identifikasi bakteri dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis (Wulandari & Purwaningsih, 2019).

Identifikasi bakteri secara makroskopis dilakukan dengan mengamati secara langsung morfologi koloni bakteri antara lain: bentuk; tepian; elevasi; dan warna koloni (Wulandari & Purwaningsih, 2019). Bakteri yang diinokulasi pada media yang bervariasi akan menunjukkan karakteristik makroskopis yang berbeda-beda pada pertumbuhannya (Sabdaningsih *et al.*, 2013). Menurut Zuraidah *et al.* (2020), bakteri yang diinokulasi pada media *Nutrient Agar* (NA) dapat memiliki karakteristik makroskopis koloni sebagai berikut:

1. Bentuk koloni: bulat (*Circular*); lonjong (*spindle*), berbenang (*filamentous*), tidak teratur (*Irregular*), serupa akar (*rhizoid*).
2. Tepi koloni: utuh (*entire*), berombak (*lobate*), bergerigi (*rhizoid*), berbenang (*filamentous*), keriting (*curled*).
3. Elevasi atau permukaan koloni: rata (*flat*), timbul-datar (*raised*), cembung (*convex*), membukit (*umbonate*).
4. Warna koloni: putih, krem, kuning, hampir bening.

Karakterisasi bakteri secara mikroskopis dilakukan dengan metode pewarnaan Gram untuk mengamati morfologi koloni sel bakteri yang meliputi bentuk sel bakteri dan sifat Gram bakteri setelah pewarnaan (Wulandari & Purwaningsih, 2019). Pewarnaan Gram merupakan suatu metode untuk membedakan bakteri menjadi dua kelompok besar, yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif berdasarkan struktur dinding selnya (Kristinawati *et al.*, 2022). Sopialena (2016) menyebutkan bahwa terdapat beberapa reagen yang dibutuhkan dalam pewarnaan Gram antara lain:

1. Kristal violet, yaitu zat warna utama untuk mewarnai struktur peptidoglikan dinding sel.

2. Larutan iodine, yaitu senyawa yang digunakan sebagai penguat warna utama.
3. Alkohol atau aseton, yaitu reagen yang digunakan untuk melunturkan ikatan zat warna dengan peptidoglikan.
4. Safranin, yaitu zat warna penutup untuk mewarnai kembali sel-sel yang telah kehilangan zat warna utama setelah perlakuan dengan alkohol.

Selama proses pewarnaan Gram, dinding sel bakteri Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal akan mempertahankan zat warna kristal violet. Penambahan larutan iodine setelah kristal violet akan membentuk ikatan kompleks dengan peptidoglikan sehingga ketika diluruhkan dengan alkohol peptidoglikan akan tetap mengikat warna kristal violet dan bakteri akan tampak berwarna biru atau ungu ketika diamati di bawah mikroskop (Rimadhini *et al.*, 2020). Dinding sel bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, sehingga peptidoglikan tidak dapat mengikat kuat ikatan zat warna kristal violet dan iodine. Ikatan kristal violet dan iodine akan mudah diluruhkan oleh alkohol. Pewarna safranin akan mewarnai ulang peptidoglikan yang tidak lagi mengikat kristal violet sehingga bakteri akan tampak berwarna merah ketika diamati di bawah mikroskop (Damayanti *et al.*, 2024).

2.5.2 Identifikasi Molekuler Bakteri

Identifikasi bakteri secara molekuler telah menjadi metode utama untuk mempelajari keanekaragaman mikroorganisme (Amman *et al.*, 1995). Metode identifikasi mikroorganisme secara molekuler berdasarkan profil genetik berkembang pesat sejak ditemukan instrumen-instrumen biologi molekuler, khususnya instrumen *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang ditemukan oleh Karry Mullis pada tahun 1983 (Susilo *et al.*, 2024). Penemuan teknik lain seperti sekuensing DNA juga telah merevolusi bidang sains dan teknologi khususnya bidang genetika dan molekuler (Sogandi, 2018).

Bakteri merupakan mikroorganisme kosmopolit dengan jumlah dan jenis serta sifat yang beragam dan dapat dijumpai di hampir semua tempat (Hasyimuddin *et al.*, 2016). Jumlah bakteri yang sangat melimpah menyebabkan masih banyaknya

bakteri yang sampai saat ini belum dapat diidentifikasi secara menyeluruh. Pengidentifikasian bakteri secara makroskopik maupun mikroskopik seringkali menjadi kurang akurat dikarenakan beberapa bakteri memiliki ciri makroskopik maupun mikroskopik yang sama (Noer, 2021).

Standar baru untuk mengidentifikasi bakteri secara molekuler mulai dikembangkan pada tahun 1980 (Woese *et al.*, 1985). Para ahli menemukan bahwa terdapat hubungan filogenetik pada bakteri yang dapat ditentukan dengan membandingkan daerah tertentu dari kode genetik (Noer, 2021). Akihary & Kolondam (2020) menyebutkan bahwa daerah genetik dalam bakteri meliputi gen yang mengkode pada daerah 5S, 16S, dan 23S *ribosomal Ribonucleic Acid* (rRNA). Bagian dari DNA yang paling umum digunakan untuk tujuan taksonomi mikroorganisme kelompok bakteri adalah gen 16S rRNA karena alasan kecepatan analisis dan kepraktisannya (Setiawan *et al.*, 2017). Gen lainnya seperti 5S dan 23S dinilai lebih sulit untuk diterapkan dalam identifikasi bakteri (Akihary & Kolondam, 2020). Beberapa kasus juga menyebutkan bahwa gen 5S dan 23S kurang akurat jika dilakukan analisis filogenetik (Jusuf, 2001).

Gen 16S rRNA adalah salah satu gen yang telah dikarakterisasi dengan baik sehingga digunakan dalam identifikasi bakteri (Fachrial *et al.*, 2022). Urutan gen 16S rRNA memiliki panjang sekitar 1.550 bp dan terdiri dari daerah yang dilestarikan atau *conserved regions* (Yang *et al.*, 2016). Daerah ini merupakan bagian yang membedakan antarorganisme. Penggunaan primer dalam amplifikasi sekuens akan mengenali *conserved regions* dan mengamplifikasinya sehingga akan diperoleh sekuens yang khas pada organisme tersebut (Buermans & Dunnen, 2014).

Gen 16S rRNA bersifat *universal* untuk bakteri sehingga hubungan filogeni dapat diukur antarsemua spesies bakteri (Attallah *et al.*, 2014). Secara umum, perbandingan urutan gen 16S rRNA memungkinkan diferensiasi antarorganisme di tingkat genus pada semua filum utama bakteri dengan tujuan mengklasifikasikan galur di berbagai tingkat, termasuk dalam tingkat spesies dan subspecies (Johnson *et al.*, 2019). Keistimewaan analisis sekuensing dengan menggunakan gen 16S rRNA untuk identifikasi bakteri telah dirangkum oleh Zhao *et al.* (2021) :

1. Mengidentifikasi bakteri langka dan bakteri-bakteri yang memiliki profil fenotipik unik.
2. Mengidentifikasi bakteri yang memiliki pertumbuhan lambat (seperti *Mycobacterium*) yang mungkin memakan waktu 6-8 minggu untuk tumbuh dalam kultur.
3. Gen 16S rRNA digunakan untuk identifikasi rutin
4. Berperan dalam penemuan spesies dan genus bakteri baru.
5. Mendeteksi bakteri yang tidak dapat dikultur dan mendiagnosis infeksi yang disebabkan.

Langkah-langkah yang diperlukan dalam menganalisis daerah 16S rRNA bakteri adalah sebagai berikut (Gambar 2.7):

1. Ekstraksi DNA Bakteri

Terdapat beberapa metode ekstraksi DNA yang dapat digunakan untuk sekuensing 16S rRNA. Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada sumber sampel DNA dan tingkat kemurnian yang diinginkan (Nugroho *et al.*, 2022). Proses ekstraksi DNA diawali dengan menghancurkan membran sel untuk melepaskan DNA. Metode yang umum digunakan pada ekstraksi DNA bakteri adalah dengan memotong enzim *lysozyme*. Enzim ini memotong peptidoglikan yang merupakan komponen utama dalam dinding sel bakteri. *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) kemudian ditambahkan untuk menghancurkan lapisan lemak pada membran sel (Kamaliah, 2017). Protein sel yang menyelubungi dan melindungi DNA juga dapat menghambat kemampuan menganalisis DNA. Protein dapat dilisiskan dengan menambahkan proteinase K (Triasih *et al.*, 2020). Protein sel yang telah dirusak dapat diekstraksi menggunakan pelarut fenol. Pelarut fenol dapat mengendapkan protein, tetapi mampu mempertahankan asam nukleat (DNA dan RNA) tetap dalam larutan (Adhiyanto *et al.*, 2020).

2. Amplifikasi gen 16S rRNA

DNA yang telah diekstraksi digunakan sebagai cetakan untuk mengamplifikasi segmen sekitar 500 atau 1.500 bp dari urutan gen 16S rRNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Nugroho *et al.*,

2022). Primer yang umum atau primer *universal* yang komplementer dengan daerah yang dilestarikan digunakan sehingga daerah tersebut dapat diamplifikasi dari bakteri apa saja. Produk PCR kemudian dimurnikan untuk menghilangkan kelebihan primer dan nukleotida (Darmawati *et al.*, 2014).

3. Elektroforesis

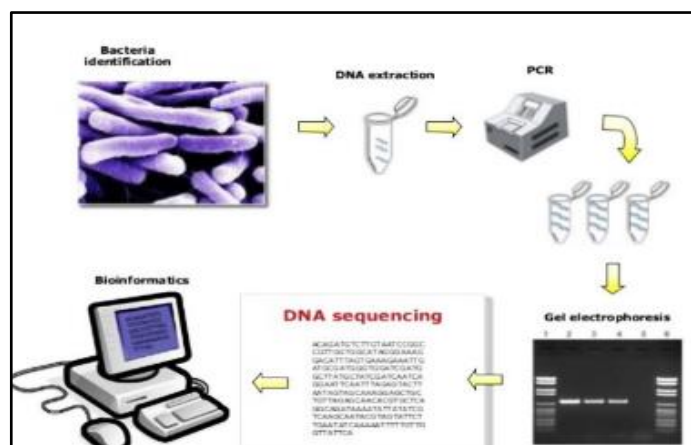
Gen yang telah diamplifikasi selanjutnya divisualisasikan dengan menggunakan elektroforesis gel. Visualisasi dideteksi dengan sinar *UV* pada *UV-transiluminator* (Kepel & Fatimawali, 2015). Hasil deteksi ini dapat didokumentasikan menggunakan alat khusus yang disebut *Gel Documentation System (Gel-Doc)* (Yuenieni, 2019).

4. Sekuensing DNA

Sekuensing DNA dapat dilakukan baik dengan Metode Sanger atau dengan menggunakan *Sequencers DNA modern* (Tasma *et al.*, 2018). Hasil dari proses sekuensing DNA berupa kromatogram dari nukleotida fragmen DNA target (Sogandi, 2018).

5. Membandingkan Hasil Sekuensing dengan Bank Data

Sogandi (2018) menyebutkan bahwa hasil sekuensing kemudian digunakan untuk melakukan pencarian kemiripan sekuens dengan *database* yang tersedia. Teknik yang umum digunakan adalah *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dengan menggunakan situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Sumber data lain yang dapat digunakan diantaranya adalah *Ribosomal Data-base Project* (RDP-II), *Ribosomal Database Project European Molecular Biology Laboratory*, *Smart Gene IDNS*, dan *Ribosomal Differentiation of Medical Microorganisms* (RIDOM) (Cole *et al.*, 2014; Teng *et al.*, 2018).



Gambar 2.7 Tahapan identifikasi menggunakan metode 16S rDNA (Sumber: Noer, 2021)

Hasil sekuensing DNA dari produk PCR yang telah dilakukan pensejajaran *primer forward* dan *reverse* umumnya disebut sebagai sekuens konsensus (Fachrial *et al.*, 2022). Sekuen konsensus kemudian dibandingkan dengan data sekuens yang tersedia di database menggunakan situs tertentu. *Software* yang umum digunakan adalah NCBI dengan menggunakan teknik BLAST yang akan memberikan informasi mengenai bakteri apa yang memiliki kesamaan dengan urutan DNA sampel sehingga dapat digunakan untuk identifikasi bakteri (Cole *et al.*, 2014). BLAST melakukan pencarian sekuens homolog dengan cara menyaring data sesuai dengan filter yang ditentukan untuk menemukan kemiripan sekuens pada *database* (Anwar *et al.*, 2022). Hasil analisis sekuensing yang telah dilakukan BLAST selanjutnya masih perlu dilakukan analisis pohon filogenetik untuk mengetahui hubungan kekerabatannya. Analisis pohon filogenetik menggunakan data molekuler dapat menggambarkan hubungan kekerabatan dan evolusi antarspesies (Subari *et al.*, 2021).

Analisis pohon filogenetik adalah analisis yang bertujuan untuk menyusun hubungan filogenetik yang digambarkan dalam suatu garis bercabang-cabang seperti pohon yang disebut pohon filogenetik (Subari *et al.*, 2021). Pohon filogenetik menunjukkan hubungan antarorganisme berdasarkan karakteristik, latar belakang genetik, dan hubungan evolusioner. Pohon filogenetik terdiri atas sejumlah nodus dan cabang. Setiap nodus menggambarkan proses spesiasi selama terjadinya evolusi, sedangkan panjang cabang mewakili jumlah perubahan yang

terjadi pada karakter antarorganisme. Karakter yang sangat mirip akan berdekatan di dalam percabangan. Pola percabangan yang terbentuk dari suatu pohon filogenetik disebut topologi (Mas'ud *et al.*, 2018).

Konstruksi pohon filogenetik dapat dilakukan langsung di situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) atau menggunakan aplikasi *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) (Sogandi, 2018). Salah satu tahapan penting dalam mengkonstruksi pohon filogenetik adalah *alignment*, yaitu membandingkan sisi yang homolog dan variabel antarsekuens sehingga diperoleh nilai similaritas (Mas'ud *et al.*, 2018). Terdapat tiga tahap penting dalam konstruksi pohon filogenetik antara lain: penyejajaran sekuens yang bertujuan memastikan bahwa data yang digunakan dapat dibandingkan secara konsisten; pembuatan pohon filogenetik menggunakan metode statistik yang dapat mempresentasikan hubungan kekerabatan antarspesies atau kelompok taksonomi yang dianalisis; dan pengujian kendala pohon filogenetik yang telah dikonstruksi dengan metode *bootstrap* (evaluasi pohon filogenetika) dengan uji statistik (Pangsuma & Hidayat, 2023).

Konstruksi pohon filogenetik dikategorikan menjadi dua metode, yaitu *distance based method* dan *character based method*. *Distance base method* adalah metode yang didasarkan pada nilai indeks *p-distance* (jarak perbedaan antara dua atau banyak sekuens). *Neighbor-Joining* (NJ) dan *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) merupakan metode yang termasuk *distance based method*. *Character based method* adalah metode yang mengacu langsung pada urutan basa nukleotida atau asam amino dalam konstruksi pohon filogenetik. *Maximum-Parsimony* (MP), *Maximum-Likelihood* (ML), dan *Boyesian Inference* (BI) termasuk dalam *character based method* (Li, 2001).

2.6 Penelitian Terdahulu

Terdapat beberapa penelitian terdahulu yang memiliki keterkaitan dengan penelitian tentang Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Asal Akar Tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Sistem Akuaponik sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman yang disajikan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Penelitian terdahulu

No	Peneliti	Judul	Hasil Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1.	Nofiyanti, S.S., Rahayu, Y.S. (2023)	Isolasi bakteri endofit akar tanaman bawang merah (<i>Allium cepa</i> L.) sebagai penghasil hormon <i>Indole-3-Acetic Acid</i> (IAA).	Terdapat 12 isolat bakteri endofit akar bawang merah yang mampu menghasilkan hormon IAA dengan kisaran rata-rata konsentrasi sebesar 5,018 ppm sampai dengan 15,180 ppm. Isolat bakteri endofit dengan konsentrasi tertinggi berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman bawang merah dalam upaya peningkatan produktivitas tanaman bawang merah.	Penelitian ini sama-sama mengisolasi bakteri endofit asal akar tanaman bawang merah dan melakukan uji penghasil hormon IAA secara kualitatif dan kuantitatif.	Penelitian ini menggunakan varietas bawang merah yang berbeda dengan sistem budidaya akuaponik. Penelitian ini tidak hanya menguji bakteri endofit yang menghasilkan hormon IAA saja, tetapi penelitian ini juga melakukan uji penambahan Nitrogen, pelarutan Fosfat, dan pelarutan Kalium.
2.	Wandita, R.H., Pujiyanto, S. Supriyadi, A., Hastuti, R.D. (2018)	Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit pelarut fosfat dan penghasil <i>hydrogen cyanide</i> (HCN) dari tanaman bawang merah (<i>Allium cepa</i> L.).	Hasil penelitian ini diperoleh 251 isolat bakteri endofit. Berdasarkan hasil karakterisasi, isolat unggul yang mampu melarutkan Fosfat dengan diameter rata-rata 0,45 cm adalah isolat II.B.ID.3 dan 11	Penelitian ini sama-sama mengisolasi bakteri endofit pada tanaman bawang merah. Penelitian ini juga sama-sama menguji kemampuan bakteri endofit	Penelitian ini hanya mengisolasi bakteri endofit asal akar bawang merah saja. Penelitian ini juga menggunakan varietas tanaman bawang merah dan sistem budidaya yang berbeda.

		isolat mampu menghasilkan HCN tinggi. Isolat-isolat tersebut dapat digunakan sebagai agen <i>Plant Growth Promoting Bacteria</i> (PGPB) sehingga nantinya dapat bermanfaat dalam meningkatkan pertumbuhan dan produksi bawang merah serta sebagai biokontrol dalam menekan patogen.	dalam melarutkan Fosfat.	Penelitian ini tidak hanya melakukan uji pelarutan Fosfat saja, tetapi juga melakukan uji penghasil hormon IAA, uji penambatan Nitrogen, dan uji pelarutan Kalium melalui analisa kualitatif dan kuantitatif. Media yang digunakan dalam uji pelarut fosfat berbeda pada penelitian ini.	
3.	Arisna & Asri (2019)	Potensi isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah (<i>Allium ascalonicum</i>) sebagai bakteri pelarut Fosfat	Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 5 isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah yang menunjukkan adanya asam organik sebagai indikasi pelarut Fosfat. Isolat bakteri yang memiliki konsentrasi Fosfat terlarut paling besar yaitu isolat AA2 dengan konsentrasi sebesar 63,016 ppm. Sedangkan konsentrasi Fosfat paling	Penelitian ini sama-sama mengisolasi bakteri endofit pada akar tanaman bawang merah. Penelitian ini juga sama-sama menguji kemampuan isolat bakteri endofit sebagai pelarut Fosfat.	Penelitian ini menggunakan varietas bawang merah yang berbeda serta sistem yang berbeda. Penelitian ini tidak hanya menguji potensi bakteri endofit sebagai pelarut Fosfat saja, tetapi penelitian ini juga melakukan uji penghasil hormon IAA, penambatan Nitrogen dan pelarutan Kalium.

rendah sebesar
35, 965 pada
hari ke-5
inkubasi.

4. Ummah, R., Asri, M.T., Yakub, P. (2019) Potensi isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum*) sebagai penambat Nitrogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat lima isolat bakteri endofit akar bawang merah yang mampu menambat nitrogen. Isolat yang paling berpotensi dalam penambatan Nitrogen adalah isolat A99 karena memiliki nilai akumulasi tertinggi selama masa inkubasi, yaitu rata-rata 2,90 mg/L dengan jumlah sel bakteri sebesar $9,21 \times 10^6$ sel/ml. Penelitian ini sama-sama mengisolasi bakteri endofit pada akar tanaman bawang merah. Penelitian ini juga sama-sama menguji kemampuan isolat bakteri endofit sebagai penambat Nitrogen. Penelitian ini menggunakan varietas bawang merah yang berbeda serta sistem budidaya yang berbeda. Penelitian ini tidak hanya menguji potensi bakteri endofit sebagai penambat Nitrogen saja, tetapi penelitian ini juga melakukan uji penghasil hormon IAA, pelarutan Fosfat dan pelarutan Kalium.
5. Afa, M., Sadimantara, G.R., Rahni, N.M., Sutariati, G.A.K. (2020) Isolation & characterization of rhizobacteria from local shallots rhizosphere as promoting growth of shallot (*Allium ascalonicum* L.). Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi isolat rhizobacteria dapat meningkatkan vigor dan viabilitas benih bawang merah. Kemampuan rhizobacteria untuk meningkatkan viabilitas dan kekuatan benih baik secara langsung. Penelitian ini sama-sama melakukan uji penghasil hormon IAA dan uji penambatan Nitrogen pada isolat bakteri untuk mengetahui potensinya sebagai pemacu pertumbuhan tanaman. Pada penelitian ini menggunakan isolat bakteri endofit asal akar bawang merah. Penelitian ini tidak hanya melakukan uji penghasil hormon IAA, dan uji penambatan Nitrogen, tetapi juga meneliti uji pelarutan Fosfat dan uji

maupun tidak langsung berkaitan dengan kemampuan rhizobacteria untuk menghasilkan hormon pertumbuhan IAA, melarutkan Fosfat, dan memfiksasi Nitrogen. Penelitian ini menemukan 16 isolat rhizobacteria yang mampu mensintesis hormon IAA, 19 isolat mampu memfiksasi Nitrogen, dan 13 isolat mampu melarutkan Fosfat.

pelarutan Kalium melalui analisa kualitatif dan kuantitatif.