

## Potensi Isolat Bakteri Endofit Akar Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) sebagai Penambat Nitrogen

### *The Potency of Endophytic Bacteria Isolates in Onion (*Allium ascalonicum*) Roots as Nitrogen Fixer*

Rokhmatul Ummah\*, Mahanani Tri Asri, Pramita Yakub

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

\* e-mail: rokhmatalummah@mhs.unesa.ac.id

#### ABSTRAK

Lima isolat bakteri endofit telah diisolasi dari akar tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum*), yaitu isolat AA2, AA7, AA8, AA9, dan AA10. Kelima isolat tersebut diketahui mampu mereduksi nitrat pada uji fisiologi sehingga diduga berpotensi sebagai penambat nitrogen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeskripsikan kemampuan akumulasi amonium isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah sebagai penambat nitrogen, mendeskripsikan isolat mana yang paling berpotensi dalam penambatan nitrogen, serta menjelaskan hubungan antara nilai akumulasi amonium dengan jumlah sel bakteri endofit. Metode dalam penelitian ini adalah observasi dari nilai akumulasi amonium serta jumlah sel bakteri pada kelima isolat bakteri endofit akar bawang merah, yaitu AA2, AA7, AA8, AA9 dan AA10. Pengukuran nilai akumulasi amonium dilakukan selama enam hari masa inkubasi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm, sedangkan jumlah sel bakteri dihitung dengan haemositometer. Data akumulasi amonium dan jumlah sel bakteri endofit dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima isolat bakteri endofit akar bawang merah mampu menambat nitrogen. Isolat yang paling berpotensi dalam penambatan nitrogen adalah isolat AA9, 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. Berdasarkan hasil perhitungan jumlah sel bakteri, dapat diketahui bahwa nilai akumulasi amonium memiliki hubungan berbanding lurus dengan jumlah sel bakteri endofit terutama pada saat fase perbanyakan.

**Kata kunci:** bakteri endofit; akar bawang merah; penambat nitrogen

#### ABSTRACT

Five endophytic bacteria isolates have been isolated from onion roots, named isolates AA2, AA7, AA8, AA9, and AA10. The five isolates were known to be able to reduce nitrate in physiology test, so it was suspected to be potential as nitrogen fixer. The purpose of this research was to describe ammonium accumulation capability of bacteria isolates of onion roots as nitrogen fixer, describe which isolates are the most potential in nitrogen fixation, and explain the relationship between ammonium accumulation value and endophytic bacteria cells number. The method in this research was observation of ammonium accumulation value and bacteria cells number in five bacteria isolates of onion roots, that's AA2, AA7, AA8, AA9, and AA10. Measurements of ammonium accumulation values were performed during six days incubation period using a spectrophotometer at 410 nm, meanwhile the number of bacteria cells were calculated by haemocitometer. Data of ammonium accumulation and endophytic bacteria cells number were analyzed descriptively quantitatively. The results showed that the five isolates were able to nitrogen fixation. The most potential isolates in nitrogen fixation is AA9, because it has the highest accumulated value, which is an average 2,90 mg/L with bacteria cells number is  $9,21 \times 10^6$  sel/ml. Based on calculation of bacteria cells number, it can be seen that the ammonium accumulation value has directly related to the number of endophytic bacteria cells, especially during the log phase.

**Key words:** endophytic bacteria; onion roots; nitrogen fixation

#### PENDAHULUAN

Bawang merah merupakan salah satu jenis sayuran yang kebutuhannya tidak dapat dihindarkan dari masyarakat, terutama konsumen keluarga (Nur dan Thohari, 2005). Penelitian tentang bawang merah telah dilakukan oleh Prasetya (2016), yaitu mengisolasi bakteri endofit

dari akar bawang merah (*Allium ascalonicum*) yang berasal dari pertanian Nganjuk. Bakteri yang berhasil diisolasi sejumlah 11 isolat dan 5 jenis diantaranya mampu mereduksi nitrat pada uji fisiologi, sehingga bakteri tersebut diduga dapat menambat nitrogen. Akan tetapi, potensi kelima isolat tersebut dalam menambat nitrogen belum

diketahui. Nitrat merupakan salah satu indikator penambatan nitrogen yang kemudian akan direduksi menjadi amonium (Vionita dkk., 2015).

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme di dalam jaringan tanaman yang sehat pada fase tertentu bahkan selama siklus hidupnya dan memiliki kemampuan sebagai bakteri penambat nitrogen untuk membantu tanaman dalam memperoleh unsur hara N (Bandara dkk., 2006; Van Elsas dkk., 2007). Unsur hara tersebut seringkali hilang akibat proses volatilisasi, nitrifikasi, denitrifikasi, erosi maupun tercuci bersama air, padahal unsur ini dapat meningkatkan kandungan klorofil serta proses fotosintesis sehingga pertumbuhan tanaman akan lebih baik (Ashari, 2006; Tania dkk., 2012).

Aktivitas penambatan nitrogen oleh bakteri endofit dapat diketahui dengan menghitung jumlah akumulasi amoniumnya (Amanah dkk., 2017). Hal ini dikarenakan, N<sub>2</sub> yang ditambat oleh bakteri akan diubah menjadi ion amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (Tortora dkk., 2007). Pengubahan N<sub>2</sub> menjadi NH<sub>4</sub><sup>+</sup> dibantu oleh enzim nitrogenase. Penggunaan bakteri endofit *diazotrof* ini bermanfaat untuk meminimalisir jumlah N sintetik, meningkatkan produksi dan pendapatan di bidang pertanian dengan modal yang lebih murah.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian mengenai potensi isolat bakteri endofit dari akar tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum*) sebagai penambat nitrogen perlu dilakukan, karena dapat membantu proses penyerapan unsur hara N. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan kemampuan akumulasi amonium isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah sebagai penambat nitrogen, mendeskripsikan isolat mana yang paling berpotensi dalam penambatan nitrogen, serta menjelaskan hubungan antara nilai akumulasi amonium dengan jumlah sel bakteri endofit.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 22 Januari - 9 Februari 2018. Uji kemampuan penambatan nitrogen isolat bakteri endofit akar bawang merah (*A. ascalonicum*) dilakukan di Laboratorium Fisiologi Gedung C10 dan Laboratorium IPA Terpadu Gedung C12 Universitas Negeri Surabaya. Data dianalisis di Laboratorium Mikrobiologi Gedung C9 Universitas Negeri Surabaya. Metode dalam penelitian ini adalah observasi. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu media selektif NMS (*Nitrate Mineral Salts*), reagen *Nessler*,

larutan NH<sub>4</sub>Cl (0,125 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; 0,75 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm), isolat bakteri endofit (AA2, AA7, AA8, AA9, dan AA10), larutan NaCl 0,9%, *Methylene Blue* 0,01%, spiritus, alkohol 70%, *aluminium foil*, kapas, dan plastik Polypropylene.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain LAF (*Laminar Air Flow*), autoklaf, oven, jarum ose, lampu spiritus, inkubator, *vortex*, tabung reaksi, pipet, gelas ukur, labu Erlenmeyer, gelas beaker, botol vial, *shaker*, sentrifus, tabung sentrifus, *syringe*, timbangan analitik, *hot plate*, spektrofotometer, haemositometer, mikroskop, dan alat tulis. Isolat bakteri endofit diremajakan terlebih dahulu pada media NMS padat, setelah itu diinkubasi pada suhu ruang 25-30°C selama 24 jam. Bakteri yang sudah diinkubasi selama 24 jam, diambil 4 ose kemudian dimasukkan dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% dan dihomogenkan dengan *vortex*. Masing-masing suspensi bakteri sebanyak 3 mL diambil dan dimasukkan dalam 297 mL media NMS cair pada labu Erlenmeyer dengan jumlah bakteri awal sebesar 10<sup>6</sup> sel/ml. Bakteri diinkubasi selama 6 hari untuk diukur nilai akumulasi amonium dan jumlah sel bakterinya setiap hari. Pengukuran awal akumulasi amonium juga dilakukan untuk mendapatkan data awal nilai akumulasi amonium.

Akumulasi amonium diukur setiap hari dengan cara masing-masing kultur bakteri endofit diambil sebanyak 7 ml kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg. Setelah itu, mengambil 5 ml supernatannya dan menambahkan 0,2 ml reagen *Nessler* kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25-30°C. Supernatan isolat bakteri diukur akumulasi amoniumnya menggunakan spektrofotometer (λ=410 nm). Nilai akumulasi amonium dapat diketahui dengan menghitung melalui persamaan linier kurva dari larutan standart (Gordon dan Weber, 1951):

$$\text{Amonium} = \frac{y - a}{b}$$

Keterangan:

y = absorbansi

a = interstep

b = koefisien regresi

Sel bakteri dihitung jumlahnya dengan metode perhitungan langsung (*direct count*) menggunakan haemositometer. Kategori sel bakteri yang dihitung adalah sel yang tidak menyerap *Methylene Blue* pada mikroskop. Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan cara 1 ml suspensi bakteri dimasukkan dalam botol vial kemudian ditetesi dengan 1 tetes *Methylene Blue* 0,01% dan dihomogenkan. Suspensi tersebut

diambil dengan menggunakan *syringe* steril sebanyak 0,1-0,5 ml kemudian diletakkan pada tepi kaca penutup haemositometer.

Perhitungan sel dilakukan dengan perbesaran rendah dan pada 80 buah kotak kecil yang terletak pada bagian tengah dan berukuran 1 mm<sup>2</sup>. Pengukuran jumlah sel dihitung dengan menggunakan rumus (Herold dan Rasooly, 2009):

$$\text{Sel/ml} = \frac{n \times 1000}{0,2 \times 0,1}$$

Keterangan:

- n = jumlah bakteri
- 1000 = konstanta pengubah satuan mm<sup>3</sup> menjadi ml
- 0,2 = luas ruang hitung yang dipilih
- 0,1 = kedalaman ruang hitung

Data yang diperoleh berupa angka jumlah akumulasi NH<sub>4</sub><sup>+</sup> dan jumlah sel bakteri endofit dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Data akumulasi amonium antar isolat dideskripsikan dan dibandingkan untuk mengetahui isolat yang paling tinggi dalam menambat nitrogen. Selain itu, data jumlah sel bakteri juga dihubungkan dengan hasil akumulasi amonium untuk

mengetahui hubungan antara jumlah sel bakteri dengan kemampuan dalam menambat nitrogennya.

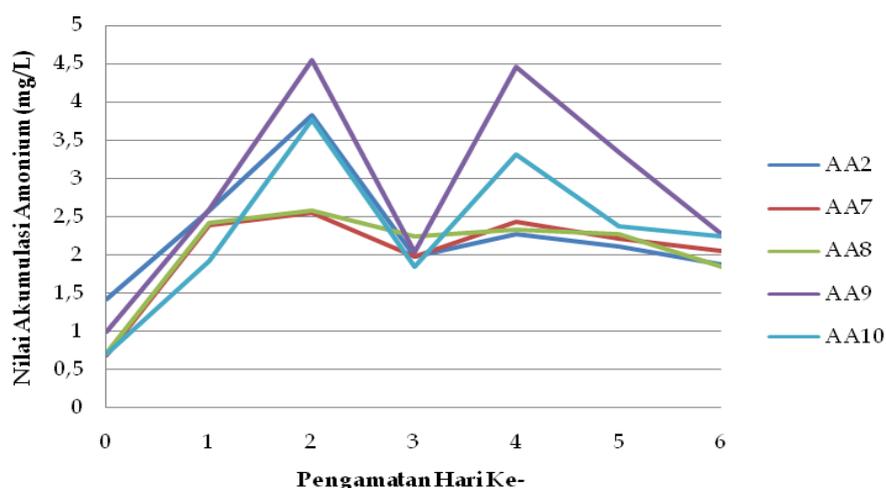
### HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah (AA2, AA7, AA8, AA9 dan AA10) mampu menambat nitrogen yang ditandai dengan adanya nilai akumulasi amonium yang dihasilkan (Tabel 1).

Data di atas menunjukkan bahwa nilai akumulasi amonium mengalami fluktuasi dari hari ke-0 hingga hari ke-6. Nilai akumulasi amonium meningkat pada hari pertama hingga hari ke-2, kemudian pada hari ke-3 mengalami penurunan, akan tetapi naik kembali pada hari ke-4. Setelah itu, nilai akumulasi turun pada hari ke-5 sampai ke-6. Isolat bakteri mampu mengakumulasi amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) secara optimal pada hari ke-2 dan ke-4, yaitu berkisar antara 2-4 mg/L (Gambar 1).

**Tabel 1.** Hasil pengukuran akumulasi amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah (*A. ascalonicum*)

Jenis isolat	Rata-rata akumulasi amonium hari ke- (mg/L)						
	0	1	2	3	4	5	6
AA2	1,41	2,57	3,83	1,97	2,27	2,11	1,87
AA7	0,69	2,38	2,54	1,97	2,43	2,21	2,05
AA8	0,72	2,42	2,58	2,24	2,34	2,28	1,86
AA9	1,00	2,61	4,55	2,04	4,45	3,35	2,27
AA10	0,71	1,91	3,76	1,84	3,32	2,38	2,25



**Gambar 1.** Nilai akumulasi amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah (*A. ascalonicum*)

Rata-rata nilai akumulasi amonium tertinggi dihasilkan oleh isolat AA9. Isolat AA9 mampu menghasilkan akumulasi amonium sebesar 4,55 mg/L pada hari ke-2 dan 4,45 mg/L pada hari ke-4. Selain itu, pada hari ke-6 pengamatan, nilai akumulasi amonium dari isolat AA9 tetap memiliki nilai tertinggi jika dibandingkan dengan isolat lainnya, yaitu sebesar 2,27 mg/L (Gambar 1).

Nilai akumulasi  $\text{NH}_4^+$  terendah dari kelima isolat bakteri endofit dihasilkan oleh isolat AA7. Isolat ini memiliki nilai rata-rata akumulasi sebesar 2,04 mg/L selama 7 hari masa inkubasi. Selain itu, isolat yang memiliki nilai rata-rata terendah kedua adalah isolat AA8. Isolat AA8 memiliki nilai rata-rata akumulasi amonium yang tidak jauh berbeda dengan isolat AA7, yaitu 2,06 mg/L.

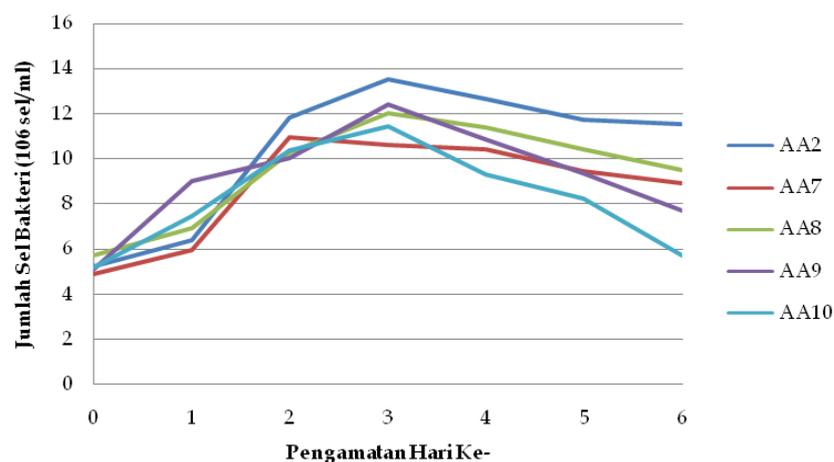
Tiap isolat bakteri selain diukur akumulasi amoniumnya, dihitung juga jumlah sel bakteri endofit pada uji potensi penambatan nitrogen. Perhitungan jumlah sel dilakukan untuk mengetahui hubungan antara hasil akumulasi amonium dengan jumlah sel bakteri endofit. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa tiap isolat bakteri memiliki jumlah sel bakteri yang berbeda-beda (Gambar 2).

Jumlah sel bakteri endofit akar bawang merah mengalami fluktuasi selama masa inkubasi, yaitu hari ke-0 sampai hari ke-6. Rata-rata kelima isolat bakteri endofit mengalami

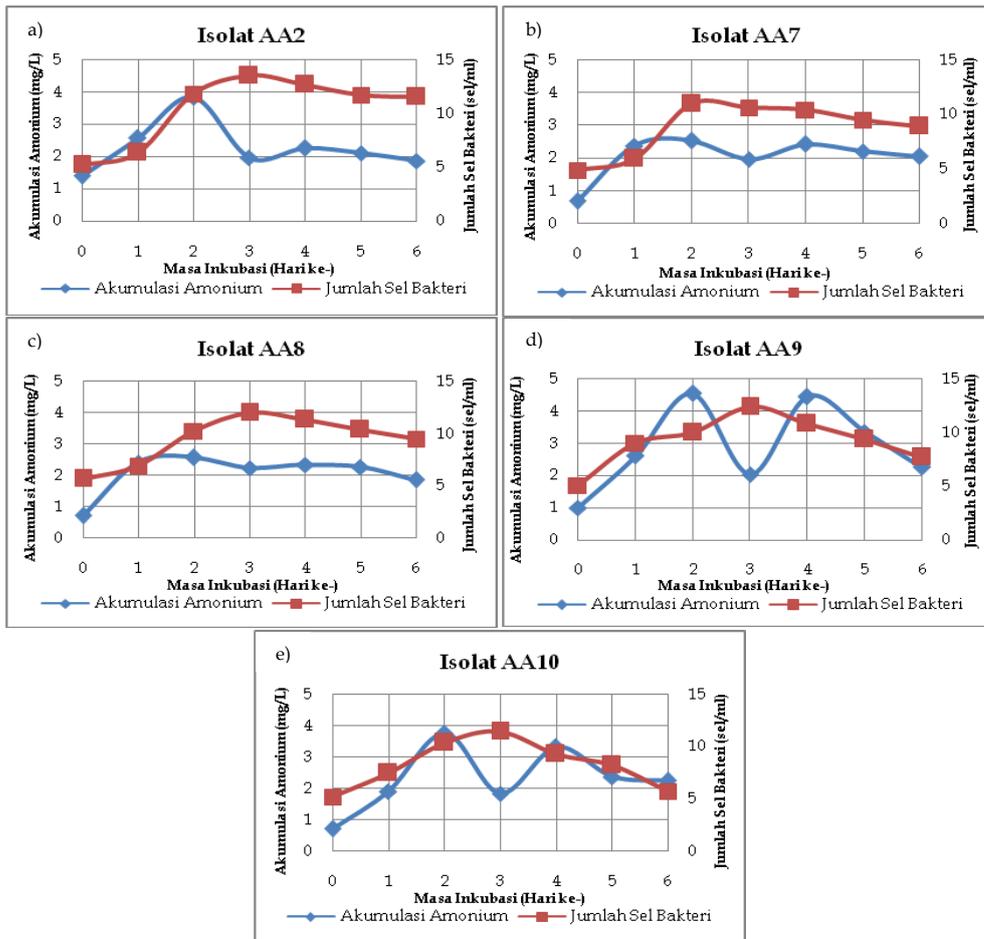
kenaikan jumlah sel bakteri sampai hari ke-3, setelah itu jumlah sel bakteri mulai menurun dari hari ke-4 sampai hari ke-6 (Gambar 2).

Isolat bakteri endofit mengalami fase adaptasi (*lag phase*) pada hari ke-1, kecuali isolat AA9 yang langsung mengalami fase perbanyakan (*log phase*). Keempat isolat bakteri lainnya (AA2, AA7, AA8, dan AA10) mengalami peningkatan jumlah sel bakteri tertinggi pada hari ke-2. Peningkatan ini menunjukkan bakteri sedang mengalami fase perbanyakan (*log phase*). Fase ini terus terjadi sampai hari ke-3.

Isolat bakteri endofit akar bawang merah rata-rata mulai mengalami penurunan jumlah sel bakteri setelah berada pada fase perbanyakan, yaitu pada hari ke-4 hingga hari ke-6. Penurunan jumlah sel tersebut terjadi karena bakteri mulai mengalami fase kematian (*death phase*). Akan tetapi, isolat AA7 memiliki perbedaan dengan keempat isolat lainnya. Isolat ini mengalami fase statis pada hari ke-3 dan ke-4 karena jumlah sel bakterinya tidak menurun dalam jumlah yang besar. Isolat AA7 mulai mengalami fase kematian pada hari ke-5 sampai ke-6. Pada pengamatan hari ke-6, isolat AA2 memiliki jumlah sel bakteri yang lebih banyak jika dibandingkan dengan keempat isolat lainnya, yaitu sebesar  $11,55 \times 10^6$  sel/ml. Nilai akumulasi amonium yang diproduksi oleh sel bakteri berhubungan dengan jumlah sel bakteri tiap isolat (Gambar 3).



**Gambar 2.** Jumlah sel bakteri endofit akar tanaman bawang merah (*A. ascalonicum*)



**Gambar 3.** Hubungan akumulasi amonium dengan jumlah sel bakteri endofit akar tanaman bawang merah (*A. ascalonicum*)

Keterangan: a) isolat AA2, b) isolat AA7, c) isolat AA8, d) isolat AA9, e) isolat AA10

Nilai akumulasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) terus meningkat pada saat sel bakteri berada pada fase adaptasi dan perbanyakkan pada hari ke-2. Akan tetapi, nilai tersebut menurun pada hari ke-3 disaat sel bakteri masih berada pada *log phase*. Setelah itu, pada hari ke-4 nilai akumulasi amonium mulai meningkat sedangkan jumlah sel bakteri mulai menurun. Penurunan jumlah sel bakteri selanjutnya juga mempengaruhi nilai akumulasi amonium yang terus menurun hingga hari ke-6 (Gambar 3).

**PEMBAHASAN**

Potensi isolat bakteri endofit akar bawang merah AA2, AA7, AA8, AA9, dan AA10 dalam menambat nitrogen dapat diketahui dengan mengukur nilai akumulasi amoniumnya selama 6 hari. Hasil akumulasi dari kelima isolat tersebut memiliki nilai yang berbeda-beda. Hal ini dikarenakan kemampuan bakteri untuk memanfaatkan nutrisi dalam media tumbuh berbeda-beda (Suriaman, 2010). Nutrisi yang terdapat dalam media diantaranya unsur Fe dan

Mo yang diperlukan saat membentuk enzim nitrogenase. Selain itu, terdapat sumber N berupa  $\text{KNO}_3$  yang ada di dalam media NMS untuk membantu akumulasi  $\text{NH}_4^+$  (amonium).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai akumulasi amonium tertinggi dari kelima isolat rata-rata didapatkan pada hari ke-2 dengan kisaran 2-4 mg/L (Gambar 1). Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa isolat AA9 memiliki nilai rata-rata akumulasi tertinggi jika dibandingkan dengan isolat lainnya, yaitu sebesar 2,90 mg/L sehingga berpotensi besar dalam menambat nitrogen. Nilai rata-rata akumulasi amonium terendah ialah isolat AA7, yaitu sebesar 2,04 mg/L.

Penelitian yang dilakukan oleh Vionita dkk. (2015) menyatakan bahwa isolat bakteri endofit B3 akar ubi jalar (*Ipomoea batatas*) var. Papua Patippi merupakan isolat yang berpotensi untuk *biofertilizer* karena nilai akumulasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) yang dihasilkan stabil selama enam hari pengamatan. Berdasarkan hasil penelitian ini, diketahui isolat AA9 merupakan isolat bakteri

endofit akar tanaman bawang merah (*A. ascalonicum*) yang memiliki nilai akumulasi amonium tertinggi jika dibandingkan dengan keempat isolat lainnya. Isolat ini dapat direkomendasikan sebagai *biofertilizer*. Potensi isolat AA9 dapat diaplikasikan pada tanaman sehingga lebih mudah dalam mendapatkan unsur hara N dalam bentuk amonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Tanaman akan menggunakan sumber nitrogen untuk kelangsungan metabolismenya (Khan dan Doty, 2009).

Nilai akumulasi amonium mengalami fluktuasi dari hari ke-0 hingga hari ke-6. Fluktuasi ini disebabkan oleh adanya fluktuasi jumlah bakteri pengakumulasi amonium (Amanah, 2016). Nilai akumulasi amonium mulai meningkat pada hari pertama saat bakteri berada pada fase adaptasi. Bakteri akan mulai aktif mensintesis enzim nitrogenase pada fase adaptasi, sehingga akan meningkatkan proses penambatan nitrogen (Monod, 2007; Setiawati dkk., 2008). Peningkatan nilai akumulasi amonium terus terjadi hingga hari kedua pengamatan.

Penurunan nilai akumulasi amonium selanjutnya terjadi pada hari ketiga disaat jumlah sel bakteri terus meningkat (fase perbanyakan) (Gambar 3). Amanah (2016) menjelaskan bahwa sumber nitrogen berupa  $\text{NH}_4^+$  yang diproduksi oleh bakteri dimanfaatkan untuk proses pertumbuhannya. Senyawa amonium akan dirombak menjadi asam amino yang digunakan untuk proses pembelahan sel sehingga jumlah sel bakteri endofit akan meningkat (Purwoko, 2007).

Bakteri mengakumulasi amonium kembali pada hari ke-4 setelah terjadi penurunan nilai akumulasi amonium. Hal ini sesuai dengan penelitian Purwoko (2007) yang menjelaskan bahwa enzim nitrogenase akan disintesis kembali oleh bakteri endofit disaat sumber N tidak tersedia dalam jumlah yang banyak. Molekul nitrogen akan direduksi dengan 8 elektron dan 16 ATP menjadi amonium, hidrogen, 16 ADP dan 16 Pi melalui proses transfer elektron (Iwata dkk., 2012). Begitu juga sebaliknya, ketika nilai akumulasi amonium sudah maksimal, maka kerja enzim nitrogenase akan berhenti. Akan tetapi, pada hari ke-4 jumlah sel bakteri menurun. Hal ini dikarenakan pada fase kematian, amonium yang dihasilkan berasal dari lisisnya bakteri endofit (Amanah, 2016).

Nilai akumulasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) terus mengalami penurunan pada hari ke-5 hingga hari ke-6 seiring dengan menurunnya jumlah sel bakteri dikarenakan berada pada fase kematian. Bakteri akan mempertahankan sel dari kematian dengan mengubah amonium menjadi nitrogen

organik (Purwoko, 2007). Tujuan menghitung jumlah sel bakteri adalah untuk mengetahui hubungan antara hasil akumulasi amonium dengan jumlah sel bakterinya.

Jumlah sel bakteri juga mengalami fluktuasi seperti nilai akumulasi amonium. Pertumbuhan sel bakteri terdiri dari beberapa fase, yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*log phase*), fase statis, dan fase kematian (*death phase*). Pada fase adaptasi, bakteri melakukan penyesuaian dalam menambat nitrogen sampai sintesis sel maksimal (Kusnadi dkk., 2003). Rata-rata semua isolat mengalami fase adaptasi, kecuali isolat AA9 yang langsung mengalami perbanyakan jumlah sel (Gambar 2). Fase adaptasi (*lag phase*) dapat terjadi lebih cepat, yaitu pada jam ke-8 kemudian pertumbuhan langsung meningkat sampai jam ke-24 (Amanah, 2016; Jha dan Saraf, 2012). Windusari dkk. (2014) menyatakan bahwa cepatnya fase adaptasi terjadi karena bakteri telah mampu beradaptasi dengan lingkungan secara baik sehingga bakteri dapat langsung memanfaatkan medium pertumbuhannya untuk proses pembelahan sel-selnya.

Peningkatan jumlah sel bakteri terjadi akibat adanya pembelahan sel sebagai hasil dari penambatan nitrogen pada fase perbanyakan. Fase statis terjadi jika jumlah sel bakteri mengalami peningkatan atau penurunan dengan jumlah sedikit, karena jumlah bakteri yang membelah sebanding dengan jumlah bakteri yang mati. Hal ini terjadi ketika bakteri tidak banyak bermetabolisme sehingga konsentrasi enzim maupun hasil dari metabolismenya konstan (Monod, 2007). Isolat AA7 merupakan satu-satunya isolat yang mengalami fase statis pada hari ke-3 hingga hari ke-4, karena memiliki selisih pertumbuhan yang kecil. Keempat isolat lainnya tidak mengalami fase statis dikarenakan sebagian bakteri hanya mampu beradaptasi selama beberapa jam pada fase ini, setelah itu langsung menuju pada fase kematian (*death phase*) (Purwoko, 2007).

Penurunan jumlah sel bakteri endofit merupakan salah satu tanda terjadinya fase kematian pada bakteri. Fase kematian mulai terjadi pada pengamatan hari ke-4 hingga ke-6. Isolat AA2 memiliki jumlah sel bakteri yang tinggi sampai hari terakhir pengamatan, karena sumber nitrogennya lebih dimanfaatkan untuk pembelahan sel-selnya. Oleh karena itu, amonium yang diakumulasi isolat AA2 memiliki nilai terkecil jika dibandingkan dengan isolat lainnya. Fase kematian ini akan terjadi jika sumber nutrisi (N) yang ada dalam media menurun, sehingga nilai akumulasi amoniumnya juga ikut menurun

(Kusnadi dkk., 2003). Hal tersebut dikarenakan akumulasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) merupakan produk penambatan nitrogen yang dilakukan oleh bakteri, selain itu juga menjadi sumber N dalam pertumbuhan bakteri (Vionita dkk., 2015).

### SIMPULAN

Isolat bakteri endofit dari akar tanaman bawang merah (*A. ascalonicum*), yaitu AA2, AA7, AA8, AA9, dan AA10 dapat mengakumulasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Isolat AA9 merupakan isolat bakteri endofit akar tanaman bawang merah (*A. ascalonicum*) yang dapat mengakumulasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) tertinggi, yaitu rata-rata sebesar 2,90 mg/L selama 6 hari masa inkubasi. Nilai akumulasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) berhubungan dengan jumlah sel bakteri endofit, yaitu nilai akumulasi amonium akan meningkat seiring dengan pertumbuhan sel bakteri sampai fase perbanyakkan, kemudian nilai akumulasi menurun dan kembali meningkat pada saat jumlah bakteri mulai menurun hingga hari terakhir pengamatan yang selanjutnya diikuti oleh penurunan nilai akumulasi amonium juga.

### DAFTAR PUSTAKA

- Amanah I, 2016. Potensi Konsorsium Isolat Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) Varietas Papua Patippi dalam Menambat Nitrogen secara *in Vitro*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya.
- Amanah I, Yuliani dan Lisdiana L, 2017. Potensi Konsorsium Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) Varietas Papua Patippi dalam Menambat Nitrogen. *Jurnal Lentera Bio Vol. 6 (1): 10-15*.
- Ashari S, 2006. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Jakarta: UI Press.
- Bandara WMMS, Seneviratne G and Kulasoorya SA, 2006. Interactions Among Endophytic Bacteria and Fungi: Effects and Potentials. *Journal of Biosci Vol. 31: 645-650*.
- Gordon SA and Weber RP, 1951. Colorimetric Estimation of Indoleacetic Acid. *Journal of Plant Physiol Vol. 26 (1): 192-195*.
- Herold KE and Rasooly A, 2009. *Lab on a Chip Technology: Biomolecular Separation and Analysis*. Norfolk: Caister Academic Press.
- Iwata K, Yu SS, Azlin NN and Omori T, 2012. Ammonia Accumulation of Novel Nitrogen-Fixing Bacteria. *Journal of Biotechnology-Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life ISBN: 978-953-51-0151-2*.
- Jha CK and Saraf M, 2012. Evaluation of Multispecies Plant-Growth-Promoting Consortia for the Growth Promotion of *Jatropha curcas L.* *Journal of Plant Growth Regul Vol. 31: 588-598*.
- Khan Z and Doty SL, 2009. Characterization of Bacterial Endophytes of Sweet Potato Plants. *Journal of Plant Soil Vol. 10: 1-10*.
- Kusnadi, Periswati, Sulasmi AM, Purwaningsih W and Rochintaniawati D, 2003. *Microbiology*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Monod, 2007. The Growth of Bacterial Cultures. *Journal of Microbiol Vol. 3: 371-394*.
- Nur S dan Thohari, 2005. *Tanggap Dosis Nitrogen dan Pemberian Berbagai Macam Bentuk Bolus terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Bawang Merah (Allium ascalonicum L.)*. Brebes: Dinas Pertanian Kabupaten Brebes.
- Prasetya IAW, 2016. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Kitinolitik Endofit pada Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) dan Potensinya dalam Menghambat Pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya.
- Purwoko T, 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Setiawati MR, Arief DH, Suryatmana P dan Hudaya R, 2008. *Formulasi Pupuk Hayati Bakteri Endofitik Penambat  $\text{N}_2$  dan Aplikasinya untuk Meningkatkan Hasil Tanaman Padi*. Bandung: Universitas Padjadjaran Bandung.
- Suriaman E, 2010. Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi  $\text{N}_2$  di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (Indole Acetic Acid) secara *in Vitro*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Malang: Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Tania N, Astina dan Budi S, 2012. Pengaruh Pemberian Pupuk Hayati terhadap Pertumbuhan dan Hasil Jagung Semi pada Tanah Podsolik Merah Kuning. *Jurnal Sains Mahasiswa Pertanian Vol. 1 (1): 10-15*.
- Tortora GJ, Funke BR and Case CL, 2007. *Microbiology an Introduction. International Edition (9th Ed.)*. San Francisco: Pearson Education, Inc.
- Van Elsas JD, Jansson JK and Trevors JT, 2007. *Modern Soil Microbiology. Second Edition*. New York: CRC Press.
- Vionita Y, Rahayu YS dan Lisdiana L, 2015. Potensi Isolat Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) dalam Penambatan Nitrogen. *Jurnal Lentera Bio Vol. 4 (2): 124-130*.
- Windusari Y, Boky JT dan Nata R, 2014. Iradiasi Sinar Gamma untuk Menentukan Nilai  $\text{LD}_{50}$  *Staphylococcus aureus* sebagai Upaya Awal Pembuatan Vaksin Mastitis. *Jurnal Biologi 1-9*.