

**TRANSFORMASI PLASMID GFP (*GREEN FLUORESCENT PROTEIN*)
KE BAKTERI ENDOFIT POTENSIAL K2 DAN K8 DARI PISANG
KLUTUK (*Musa accuminata colla*)**

Vika Amanda Putri¹, Yasir Sidiq², Triastuti Rahayu³

Universitas Muhammadiyah Surakarta^{1,2,3}

vika.putri0377@gmail.com¹

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil transformasi GFP (Green Fluorescent Protein) ke isolat bakteri endofit potensial K2 dan K8 dari pisang klutuk (*Musa accuminata colla*). Metode yang digunakan adalah eksplorasi dengan analisis data secara deskriptif kualitatif melalui studi pustaka. Hasil penelitian menunjukkan bahwa transformasi GFP ke isolat bakteri endofit potensial K2 dan K8 dari pisang klutuk berhasil, yang ditunjukkan dengan adanya sinyal fluoresen atau pendaran hijau di bawah sinar UV. Transformasi ini juga bermanfaat untuk melacak kolonisasi bakteri endofit di dalam jaringan tumbuhan. Plasmid GFP pYL101C-sfGFP yang digunakan memiliki ukuran total 6682 bp dan mengandung gen resistensi terhadap Gentamicin (GMC). Simpulan, transformasi GFP pada isolat bakteri endofit potensial K2 dan K8 berhasil dilakukan dan memberikan manfaat penting dalam pelacakan kolonisasi bakteri endofit.

Kata Kunci: Bakteri Endofit, Gentamicin, GFP, Pisang Klutuk, Transformasi Plasmid GFP

ABSTRACT

*This study aims to determine the results of GFP (Green Fluorescent Protein) transformation into potential endophytic bacterial isolates K2 and K8 from Klutuk banana (*Musa accuminata colla*). The method used is exploratory with data analysis conducted qualitatively and descriptively through literature review. The results showed that GFP transformation into potential endophytic bacterial isolates K2 and K8 from Klutuk banana was successful, evidenced by the presence of green fluorescent signals under UV light. This transformation is also beneficial for tracking the colonization of endophytic bacteria within plant tissues. The GFP plasmid pYL101C-sfGFP used has a total size of 6682 bp and contains a gene resistant to Gentamicin (GMC). In conclusion, GFP transformation on potential endophytic bacterial isolates K2 and K8 was successfully carried out and provides significant benefits in tracking endophytic bacterial colonization.*

Keywords: *Endophytic Bacteria, Gentamicin, GFP, Klutuk Banana, GFP Plasmid Transformation*

PENDAHULUAN

Pisang merupakan salah satu buah yang banyak tumbuh di Indonesia. Pisang klutuk (*Musa balbisiana Colla*) merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Musaceae dan dapat tumbuh di alam liar (Borborah et al., 2016). Menurut Borborah et al. (2016), klasifikasi pisang klutuk adalah sebagai berikut. Pisang ini termasuk dalam Kingdom Plantae dan Divisio Spermatophyta, dengan Sub Divisio Angiospermae yang mencirikan tumbuhan berbunga. Pisang klutuk tergolong dalam Classis Monocotyledonae, Ordo Zingiberales, dan Familia Musaceae, yang merupakan keluarga pisang-pisangan. Genusnya adalah *Musa*, dengan spesies yang dikenal sebagai *Musa accuminata Colla*. Secara lokal, pisang ini disebut sebagai pisang klutuk atau pisang batu.

Green Fluorescent Protein (GFP) merupakan protein yang dapat berpendar secara alami dengan warna hijau. Protein ini menyerap sinar ultraviolet dari sinar matahari dan memancarkannya sebagai lampu hijau berenergi lebih rendah. GFP memiliki kemampuan untuk membuat kromofornya sendiri, sehingga sangat cocok digunakan dalam berbagai aplikasi rekayasa genetika. GFP sangat berguna dalam penelitian ilmiah karena memungkinkan pengamatan langsung terhadap cara kerja sel (Tsien, 1998). Penggunaan sinar ultraviolet membuat GFP bersinar hijau terang, sehingga sangat mudah untuk mendeteksi keberadaannya (Remington, 2011).

GFP sering dipilih sebagai sistem pelapor dalam penelitian genetik. Ekspresi sementara GFP dapat diamati dan direkam pada berbagai jaringan. Plasmid GFP yang diujicobakan menunjukkan tingkat ekspresi tinggi pada semua jenis jaringan. GFP digunakan dalam studi transformasi genetik karena sistem pelapor ini bersifat stabil dan tidak merusak, serta memberikan hasil yang cepat dan jelas. Kehadiran transgen GFP dalam genom dapat dikonfirmasi melalui analisis polymerase chain reaction (PCR) (Siang, 2004).

Dalam konteks bioteknologi tanaman, bakteri endofit memiliki peran penting, seperti melarutkan senyawa fosfat, mengikat nitrogen, merangsang pertumbuhan akar lateral, serta mensintesis fitohormon seperti *Indole Acetic Acid* (IAA) (Aulia, 2019). IAA merupakan hormon pertumbuhan yang memegang peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Mikroba yang mampu menghasilkan IAA dapat meningkatkan pertumbuhan dan perpanjangan akar, sehingga meningkatkan luas permukaan akar dan kemampuan tanaman dalam menyerap nutrisi dari tanah (Bolero et al., 2007).

Penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi bakteri endofit dari akar tanaman pisang klutuk (*Musa accuminata colla*). Isolasi dilakukan terhadap bakteri yang mampu menghasilkan IAA untuk mendukung pertumbuhan tanaman. Dari tanah regosol pada akar pisang klutuk, diperoleh 21 isolat bakteri endofit, dan dua di antaranya menunjukkan kemampuan menghasilkan IAA dengan tingkat sedang hingga sangat tinggi (Pertiwi & Rahayu, 2022). Namun, mekanisme bakteri endofit dalam masuk ke jaringan tanaman masih belum sepenuhnya dipahami.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan

penelitian tentang transformasi GFP ke dalam isolat bakteri endofit potensial K2 dan K8 dari pisang klutuk. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman lebih mendalam tentang interaksi bakteri endofit dengan jaringan tanaman, khususnya melalui pelabelan GFP. Penelitian ini dirangkum dalam judul Transformasi GFP (*Green Fluorescent Protein*) ke Isolat Bakteri Endofit Potensial K2 dan K8 dari Pisang Klutuk (*Musa accuminata* colla).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan (KJT) dan Laboratorium Riset Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Surakarta (UMS). Kegiatan penelitian berlangsung pada bulan Februari hingga Juli 2024 dengan menggunakan jenis penelitian eksplorasi.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi berbagai perangkat yang diperlukan untuk isolasi bakteri endofit K2 dan K8, isolasi bakteri *Escherichia coli*, ekstraksi plasmid DNA, serta transformasi plasmid GFP. Peralatan yang digunakan terdiri atas *Petri dish*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer (100 mL), gelas ukur (100 mL), *beaker glass* (100 mL), ose, spatula, bunsen, korek api, *magnetic stirrer*, timbangan, mikropipet (10 μ L, 200 μ L, 1000 μ L), *laminar air flow* (LAF), autoklaf, kulkas, shaker, centrifuge, inkubator, *water bath*, microwave, elektroforesis, *blupad dual light*, vortex, serta tip (biru, kuning, dan putih). Selain itu, digunakan pula tabung centrifuge (15 mL), tabung mikro, batang pengaduk segitiga, *Plasmid DNA Extraction Mini Kit*, alat dokumentasi, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi isolat bakteri endofit K2 dan K8, bakteri *E. coli*, larutan Tris-HCl 1 M (pH 7,5), CaCl₂, BPW (Buffer Phosphate Water)/PBS 1x, *loading dye*, DNA ladder, *gel stain*, agarosa, enzim restriksi Kpn1, larutan TF (10 mM Tris-HCl, 100 mM CaCl₂), LB (*Lactose Broth*), media NB (*Nutrient Broth*), media NA (*Nutrient Agar*), gentamisin (GMC), medium TSAA/NA+GMC, TBE 1x, es batu, akuades steril, alkohol 70%, etanol (96–100%), dan *FastDigest Green Buffer* 10x.

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan pendekatan eksplorasi, yang memungkinkan peneliti memperoleh data melalui serangkaian kegiatan penelitian serta mendokumentasikannya. Selain itu, bahan kepustakaan yang relevan disusun secara sistematis untuk mendukung analisis dan penyusunan laporan hasil penelitian. Dokumentasi yang dihasilkan berupa foto atau gambar yang merekam tahapan transformasi plasmid GFP (*Green Fluorescent Protein*) ke dalam bakteri endofit potensial K2 dan K8 yang berasal dari akar pisang klutuk (*Musa accuminata* colla).

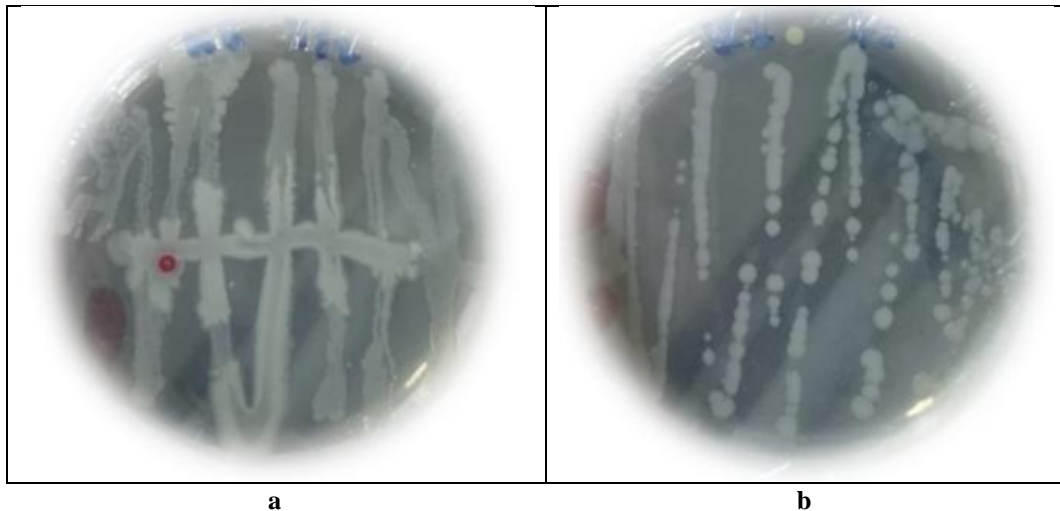
Hasil penelitian disajikan dalam bentuk visualisasi gambar serta dideskripsikan dalam bentuk narasi. Parameter keberhasilan transformasi plasmid GFP ditentukan berdasarkan pendaran hijau yang dihasilkan oleh bakteri endofit K2 dan K8 ketika disinari menggunakan sinar UV. Pendaran ini menunjukkan bahwa plasmid GFP berhasil masuk dan diekspresikan di dalam bakteri endofit.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan teknik transformasi genetik pada bakteri endofit dan aplikasinya dalam mendukung pertumbuhan tanaman.

HASIL PENELITIAN

Hasil Isolasi Bakteri Endofit K2 dan K8

Gambar 1 menampilkan koloni bakteri endofit K2 (a) dan K8 (b) yang berhasil diisolasi pada media isolasi.



Gambar 1. Koloni Bakteri Endofit K2 (a), dan Koloni Bakteri Endofit K8 (b) pada Media Isolasi

Berdasarkan Gambar 1, hasil isolasi bakteri endofit K2 dan K8 menunjukkan adanya koloni. Isolasi bakteri endofit yang dilakukan pada akar tanaman pisang klutuk menghasilkan 21 isolat yang diperoleh dari tanah regosol. Namun, dua isolat yang terpilih sebagai bakteri endofit dengan kandungan IAA sedang hingga sangat tinggi dijadikan bahan penelitian. Pemilihan dua isolat ini berdasarkan penelitian sebelumnya (Rahayu et al., 2021), yang menyebutkan bahwa dari akar pisang klutuk pada tanah regosol ditemukan 21 isolat, dan dua di antaranya mengandung IAA dalam kadar sedang hingga sangat tinggi.

Selanjutnya, kedua isolat bakteri endofit K2 dan K8 digunakan untuk penelitian mengenai cara bakteri endofit ini masuk ke dalam jaringan tanaman, karena mekanisme tersebut masih belum dapat dipastikan. Koloni bakteri endofit K2 dan K8 yang diisolasi diambil sebanyak satu ose, kemudian diinokulasikan pada media *Nutrient Agar* (NA) dan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selain itu, inokulasi bakteri juga dilakukan pada media *Nutrient Broth* (NB) dan dishaker semalaman untuk mendukung pertumbuhan bakteri lebih lanjut.

Tabel 1 menyajikan data mengenai jumlah dan aktivitas enzimatis (Asat) dari isolat bakteri endofit yang telah dikarakterisasi.

Tabel 1. Jumlah dan Asat Isolat Bakteri Endofit yang Dikarakterisasi

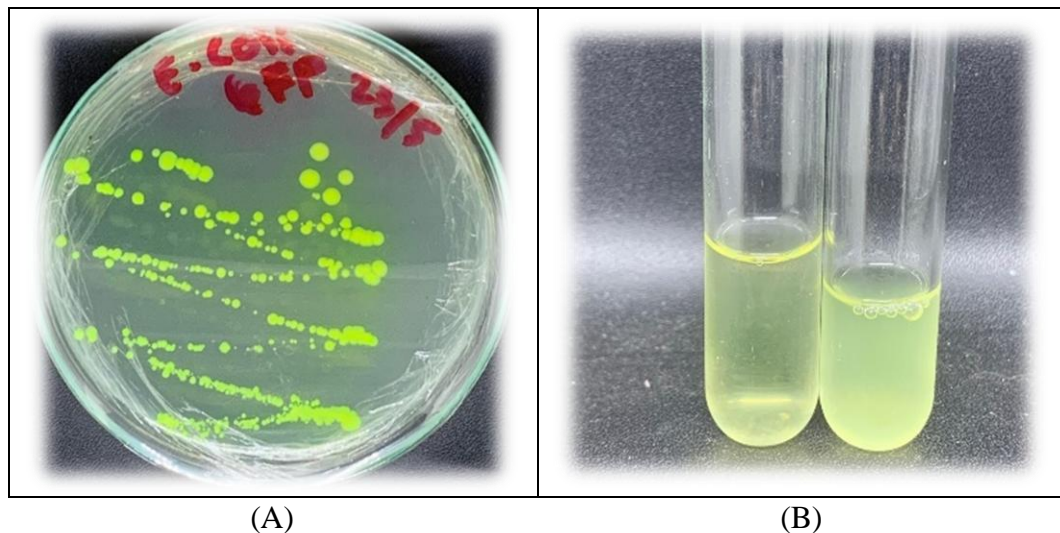
Asal Organ	Organisme Asal	Isolasi Kode	Produk IAA
Tangkai daun	klutuk banana	K2	+++
Akar	klutuk banana	K8	+++

Tabel 1 menyajikan informasi mengenai jumlah dan produk IAA (Indole-3-acetic acid) yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit yang diperoleh dari berbagai organ tanaman klutuk banana. Isolat K2 dan K8 masing-masing berasal dari tangkai daun dan akar tanaman klutuk banana, dan keduanya menunjukkan kemampuan untuk menghasilkan produk IAA, yang ditandai dengan simbol "+++" yang menunjukkan produksi yang signifikan.

IAA adalah salah satu hormon tumbuh yang sangat penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman, termasuk dalam mempengaruhi pembelahan sel, pemanjangan sel, serta pembentukan akar. Penemuan bakteri endofit yang dapat menghasilkan IAA memberi harapan besar dalam pengembangan agensia mikroba yang dapat mendukung pertumbuhan tanaman atau memiliki potensi dalam aplikasi pertanian.

Hasil Isolasi Bakteri *E. coli*

Gambar 2. menunjukkan hasil isolasi bakteri *E. coli* GFP pada media *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB).



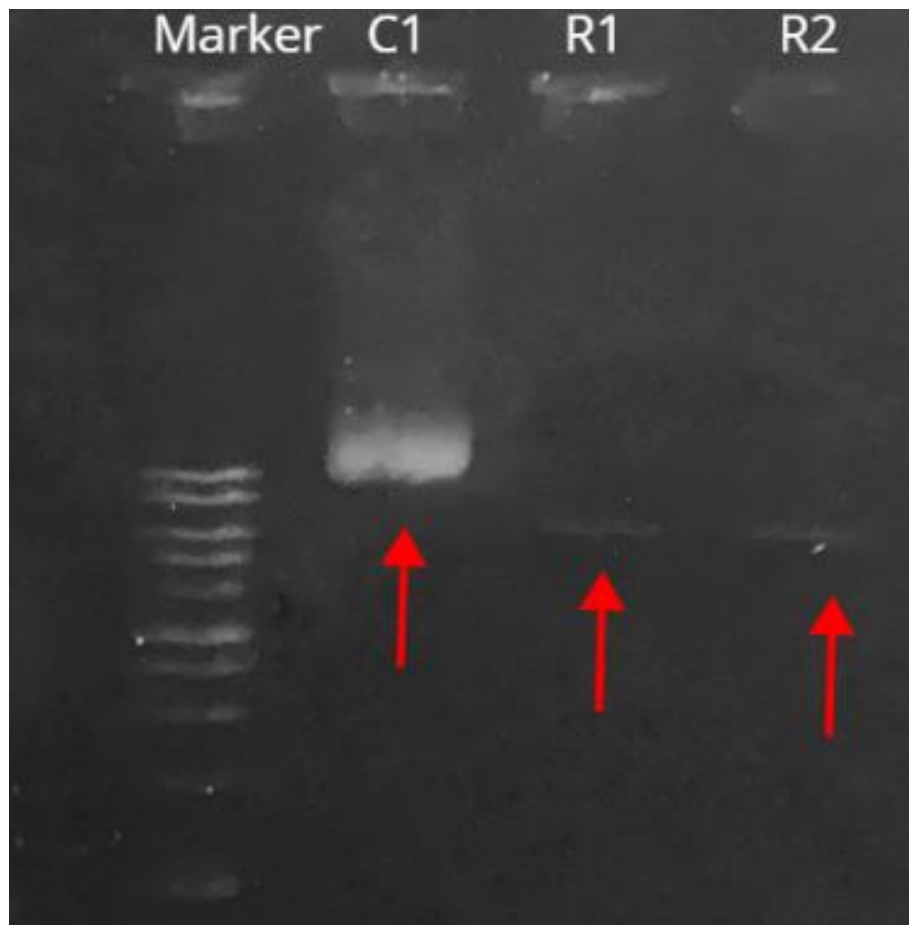
Gambar 2. Hasil Isolasi dan Inkubasi Bakteri *E. coli* GFP pada Media (A) *Nutrient Agar* (NA) dan (B) *Nutrient Broth* (NB).

Gambar 2.A menunjukkan hasil isolasi bakteri *E. coli* GFP pada media *Nutrient Agar* (NA), di mana koloni bakteri terlihat jelas setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk merupakan indikasi pertumbuhan bakteri *E. coli* GFP yang berhasil diisolasi.

Pada Gambar 2.B, terlihat perbedaan yang signifikan antara media *Nutrient Broth* (NB) yang diinokulasi dengan *E. coli* GFP dan yang tidak diinokulasi. Media yang diinokulasi menunjukkan keruh dan sedikit berwarna hijau, yang mengindikasikan pertumbuhan bakteri GFP. Hal ini menunjukkan bahwa *E. coli* GFP dapat berkembang biak dengan baik pada kondisi tersebut.

Hasil Pemotongan Plasmid

Gambar 3. menunjukkan hasil elektroforesis DNA setelah proses pemotongan plasmid GFP.



Gambar 3. Hasil Elektroforesis DNA Setelah Pemotongan Plasmid GFP

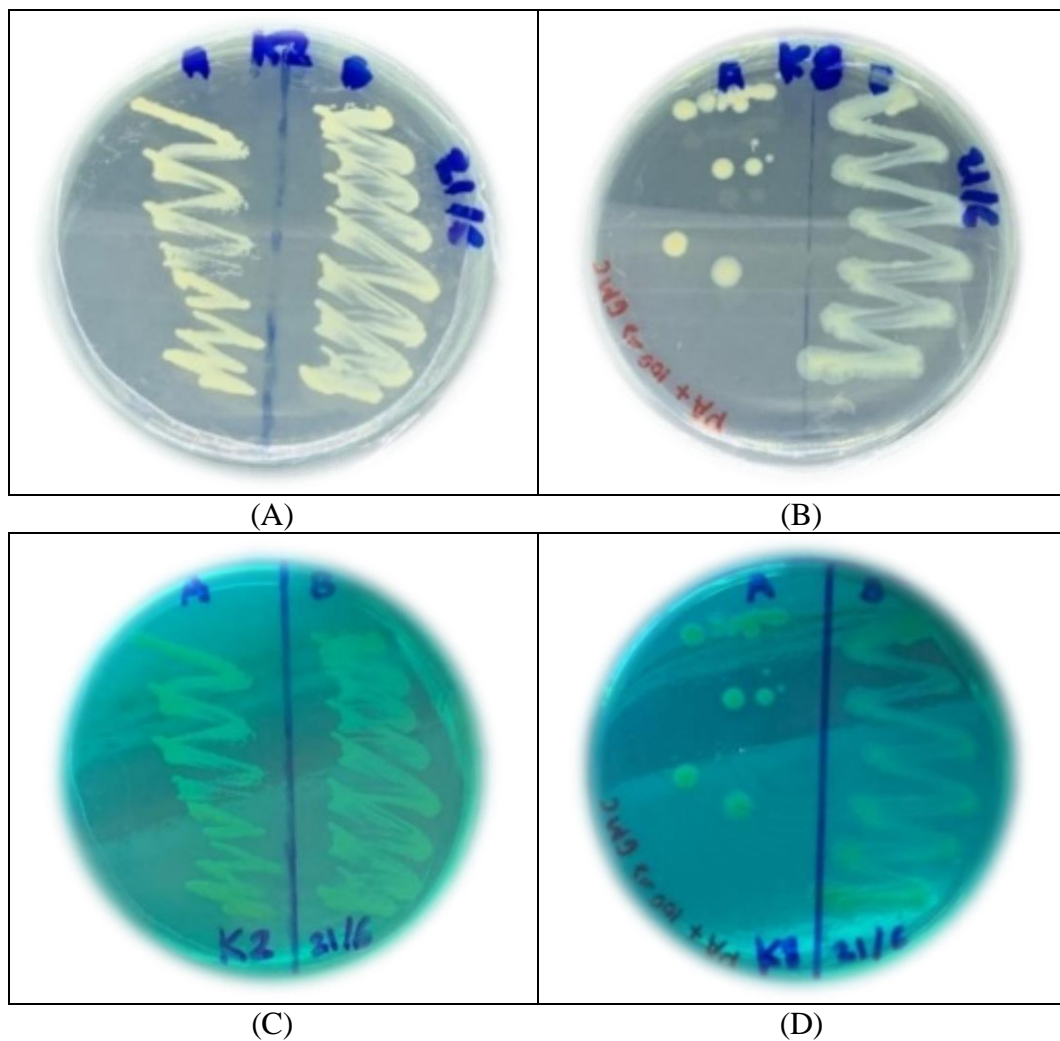
Molekul DNA yang telah diisolasi diuji kualitas dan kuantitasnya melalui elektroforesis. Sebelum proses elektroforesis, suspensi DNA dicampur dengan penyangga muatan berwarna (*loading dye*). Penambahan pewarna ini bertujuan untuk meningkatkan densitas sehingga DNA terlihat dengan jelas, serta untuk memudahkan penempatan DNA ke dalam kolom serta sebagai penanda dalam elektroforesis.

Pengecekan kualitas DNA dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% yang dilarutkan dalam 1xTBE (*Tris base-Boric acid-EDTA*). Hasil

elektroforesis menunjukkan bahwa DNA yang diuji dalam kondisi baik, dengan DNA terlihat utuh. Pita-pita DNA yang terbentuk tampak tebal dan jelas, yang menandakan bahwa DNA tersebut tidak terfragmentasi. Jika terjadi smear pada hasil elektroforesis, hal tersebut mengindikasikan bahwa DNA yang diperoleh telah rusak atau terfragmentasi, sehingga pita DNA akan tampak smear, tipis, dan tidak jelas. Pada Gambar 3., dapat dilihat terdapat empat kolom, yaitu marker, C1 (GFP yang tidak dipotong), R1 dan R2 (GFP yang dipotong).

Hasil Transformasi Plasmid

Gambar 4 menunjukkan hasil transformasi plasmid GFP pada *E. coli* yang diuji pada media *Nutrient Agar* (NA) yang mengandung antibiotik gentamicin.



Gambar 4. Hasil Transformasi Plasmid pada *E. coli* GFP dengan Antibiotik Gentamicin dan Pendaran UV

Gambar 4.A dan Gambar 4.B menunjukkan hasil transformasi plasmid GFP pada *E. coli* yang ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA) yang mengandung antibiotik gentamicin. Koloni yang terbentuk, yang dapat terlihat lebih jelas dengan pembesaran (zoom), menunjukkan bahwa plasmid GFP memiliki resistensi terhadap antibiotik gentamicin. Hal ini membuktikan bahwa *E. coli* yang telah berhasil ditransformasi dengan plasmid GFP mampu bertahan dan berkembang biak meskipun ada tekanan antibiotik, menunjukkan adanya ketahanan terhadap gentamicin yang dimiliki oleh GFP.

Pada Gambar 4.C dan Gambar 4.D, koloni yang tertransformasi diperiksa di bawah sinar ultraviolet (UV), dan seperti yang terlihat, koloni GFP memancarkan cahaya berwarna hijau. Hal ini menunjukkan ekspresi dari protein fluoresen GFP, yang hanya muncul ketika plasmid GFP berhasil ditransformasikan dan mengekspresikan gen fluoresen pada *E. coli*. Kedua hasil ini, baik resistensi antibiotik maupun pendaran UV, mengkonfirmasi keberhasilan transformasi plasmid GFP pada *E. coli*

PEMBAHASAN

Green Fluorescent Protein (GFP) atau protein hijau fluoresen merupakan protein yang dapat berpendar secara alami dengan memancarkan warna hijau. GFP menyerap sinar ultraviolet dari sinar matahari dan memancarkannya kembali dalam bentuk cahaya hijau dengan energi yang lebih rendah (Tsien, 1998). Protein ini telah dipilih dan digunakan dalam berbagai penelitian, termasuk kajian transformasi genetik, karena sifatnya yang stabil dan tidak mudah rusak. Sistem GFP menawarkan keunggulan sebagai sistem pelapor yang efektif, sehingga banyak dimanfaatkan untuk mengkaji ekspresi gen.

GFP merupakan marker ekspresi gen yang sangat populer dalam penelitian ilmiah karena efektivitasnya yang tinggi. Penggunaan GFP sebagai biomarker memungkinkan identifikasi keberadaan isolat bakteri secara visual. Plasmid GFP yang dimodifikasi menunjukkan tingkat ekspresi GFP yang tinggi pada berbagai jenis penelitian, sehingga menjadi alat yang sangat berguna dalam studi biologi molekuler dan bioteknologi.

Penggunaan transgen GFP dalam genom telah diverifikasi melalui analisis *polymerase chain reaction* (PCR). Analisis PCR memungkinkan identifikasi frekuensi ko-transformasi gen pada plasmid yang dimasukkan. Namun, dalam penelitian ini, analisis dilakukan menggunakan metode elektroforesis, yang berfungsi untuk mengamati hasil amplifikasi DNA (*deoxyribonucleic acid*).

Menurut Klug dan Cummings (1994), hasil elektroforesis yang diamati berupa pita (*band*) yang menunjukkan fragmen DNA hasil amplifikasi, dengan potongan fragmen mencerminkan jumlah pasangan basa (bp = *base pair*). Sementara itu, Wilson dan John (1994) menjelaskan bahwa elektroforesis gel biasanya menggunakan dua jenis gel, yaitu gel agarosa dan poliakrilamida. Gel

poliakrilamida digunakan untuk memisahkan DNA dengan ukuran fragmen lebih pendek. Namun, penelitian ini menggunakan gel agarosa 1%.

Gel agarosa memiliki beberapa keunggulan, di antaranya teknik preparasi gel yang sederhana dan cepat, serta sifatnya yang non-toksik, sehingga aman dan efisien untuk digunakan dalam penelitian biologi molekuler.

Isolat bakteri potensial telah menunjukkan karakteristik yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman pangan dan hortikultura melalui inokulasi pada akar tanaman (Rahayu et al., 2021). Namun, mekanisme bakteri endofit dalam memasuki jaringan tanaman masih belum dapat dipastikan.

Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi plasmid pYL101C-sfGFP dari bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) untuk kemudian ditransformasikan ke isolat bakteri endofit. Penelitian sebelumnya telah mengisolasi bakteri endofit dari akar tanaman pisang klutuk. Isolasi tersebut dilakukan terhadap bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan *Indole-3-Acetic Acid* (IAA), yang berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Dari hasil isolasi pada akar tanaman pisang klutuk yang tumbuh pada tanah regosol, ditemukan 21 isolat bakteri endofit. Di antara isolat tersebut, dua isolat terpilih sebagai bakteri endofit potensial dengan kemampuan menghasilkan IAA pada tingkat sedang hingga sangat tinggi (Rahayu et al., 2021).

Penyisipan plasmid GFP ke dalam bakteri endofit potensial memiliki manfaat utama untuk melacak proses kolonisasi bakteri endofit di dalam jaringan tanaman. Plasmid GFP yang digunakan dalam penelitian ini adalah pYL101C-sfGFP dengan ukuran total 6682 bp, serta memiliki gen resistensi terhadap gentamicin (GMC).

Hasil analisis elektroforesis DNA total menunjukkan keberadaan pita-pita DNA yang utuh. Hal ini ditandai dengan ketiadaan smear pada DNA yang dielektroforesis, di mana pita terlihat tebal dan jelas. Sebaliknya, apabila terdapat smear, kemungkinan DNA yang diperoleh mengalami kerusakan atau fragmentasi. DNA yang rusak atau terfragmentasi akan menghasilkan pita yang tampak smear, tipis, dan tidak jelas.

Pada hasil elektroforesis yang ditampilkan pada Gambar 3, terlihat empat kolom, yaitu marker, C1 (GFP yang tidak dipotong), R1, dan R2 (GFP yang telah dipotong).

Penggunaan bakteri *E. coli* didasarkan pada *E. coli* yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik salah satunya yaitu ampisilin sebesar 73%. *E. coli* yang telah diinokulasikan ke dalam medium *Nutrient Broth* (NB) membuktikan bahwa *E. coli* masih sensitif terhadap antibiotik ampisilin maupun seftriakson. Resistensi merupakan kemampuan bakteri untuk menghilangkan ataupun melemahkan daya kerja antibiotik (Drlica & Perlin, 2011). Menurut Mohammed (2014), hal ini sesuai dengan kemampuan antibiotik ampisilin dan seftriakson sebagai agen penghambat pertumbuhan pada bakteri, bahkan menunjukkan bahwa *E. coli* telah mengalami resistensi terhadap antibiotik ampisilin sebesar 95,65%. Maka dari itu pada

penelitian ini menggunakan antibiotik jenis gentamicin untuk membuktikan bahwa *E. coli* resisten terhadap antibiotik dengan takaran sejumlah 125 ul/100 ml media NA ataupun NB. Munculnya kemampuan bakteri, khususnya *Escherichia coli* untuk bersifat resisten terhadap penggunaan senyawa antibiotic (Diarra et al., 2007). sampel *E. coli* diuji untuk melihat resistensi antibiotik, hasil penelitian menunjukkan 89% diantaranya resisten terhadap antibiotik *penicillin G*, 85% *ciproflaxacin*, 63% *eritromycin* dan *sulfamethosazole/trimetoprin*, dan 59% resisten terhadap antibiotik *ampicillin* (Agustin, 2018).

Pada tahapan transformasi ditumbuhkan dalam media NA + Gentamicin dengan takaran 25 ul per media. Setelah itu kemudian diinkubasi pada suhu 37 derajat celcius, dari hasil yang didapat terbukti pada media terdapat koloni-koloni yang tumbuh dari hasil transformasi yang jika di sinari oleh UV maka akan berpendar berwarna hijau. Hal tersebut membuktikan bahwa menurut penelitian (Tsien, 1998) menyebutkan bahwa (GFP) atau *Green Fluorescent Protein* merupakan protein yang dapat berpendar secara alami, GFP sendiri berpendar warna hijau menial. Protein tersebut menyerap sinar ultraviolet dari sinar matahari, dan kemudian memancarkannya sebagai lampu hijau berenergi lebih rendah.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan menunjukkan bahwa Transformasi Plasmid GFP (*Green Fluorescent Protein*) Ke Bakteri Endofit Potensial K2 dan K8 dari Pisang Klutuk (*Musa accuminata* colla) berhasil. Hal tersebut membuktikan bahwa transformasi plasmid GFP ke dalam bakteri endofit potensial bermanfaat untuk melacak kolonisasi bakteri endofit di dalam jaringan tumbuhan. Ukuran total plasmid GFP pYL101C-sfGFP adalah 6682 bp dan memiliki gen resistensi terhadap Gentamicin (GMC). Kemudian Plasmid pYL101C-sfGFP terkonfirmasi masuk ke dalam isolat K2 dan K8 dengan seleksi antibiotik GMC dan berpendar di bawah sinar UV.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, A. L. D. (2018). PF-10 Antimicrobial resistance of bacterial strains isolated from layer chicken on poultry village in North Lombok, West Nusa Tenggara, Indonesia. *Proceedings of the 20th FAVA Congress & the 15th KIVNAS PDHI*, Bali, November 1–3, 2018, 528–530. Dikutip dari <https://journal.ipb.ac.id/index.php/hemera/article/view/23878/15748>
- Aulia, J. (2019). Identifikasi bakteri endofit pada tumbuhan kawista (*Limonia acidissima* L.). (*Skripsi*). Universitas Negeri Semarang, Semarang
- Bolero, L., Perrig, D., Masciarelli, O., Penna, C., Cassan, F., & Luna, V. (2007). Phytohormone production by three strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(6), 874–880. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0731-9>

- Borborah, K., Borthakur, S. K., & Tanti, B. (2016). *Musa balbisiana* Colla: Taxonomy, traditional knowledge, and economic potentialities of the plant in Assam, India. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 15(1), 116–120. <https://doi.org/10.5555/20163021982>
- Diarra, M. S., Silversides, F. G., Diarrasouba, F., Pritchard, J., Masson, L., Brousseau, R., Bonnet, C., Delaquis, P., Bach, S., Skura, B. J., & Topp, E. (2007). Impact of feed supplementation with antimicrobial agents on growth performance of broiler chickens, *Clostridium perfringens* and *Enterococcus* counts, and antibiotic resistance phenotypes and distribution of antimicrobial resistance determinants in *Escherichia coli* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(20), 6566–6576. <https://doi.org/10.1128/AEM.01086-07>
- Drlica, K. S., & Perlin, D. S. (2011). *Growing resistance with antibiotics: Growing resistance antibiotic*. New Jersey: Pearson Education (FT Press).
- Klug, W. S., & Cummings, M. R. (1994). *Concepts of genetics* (4th ed.). New Jersey: Prentice Hall.
- Pertiwi, R. D., & Rahayu, T. (2022). Pengaruh ekstrak akar tanaman jagung (*Zea mays*) terhadap pertumbuhan tanaman cabai merah keriting (*Capsicum annuum* L.). (Doctoral dissertation). Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahayu, T., Purwestri, Y. A., Subandiyah, S., & Wudianto, D. (2021). Potensi bakteri endosit asal tanaman pisang klutuk (*Musa balbisiana* Colla) sebagai pendukung pertumbuhan tanaman. *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 14(2), 313–324. Dikutip dari <https://journal.uinjkt.ac.id/index.php/kaunyah/article/view/19140/pdf>
- Remington, S. J. (2011). Green fluorescent protein: A perspective. *Protein Science*, 20(9), 1509-1519. <https://doi.org/10.1002/pro.684>
- Tsien, R. Y. (1998). Protein fluoresen hijau. *Annual Review of Biochemistry*, 67, 509–544. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.509>
- Siang, T. C. (2004). Optimisation of genetic transformation parameters. *Bioteknologi dan Sains Biomolekul*, 8–10. Dikutip dari https://psasir.upm.edu.my/290/1/549562_FBSB_2004_1.pdf
- Wilson, K., & Walker, J. M. (1994). *Principles and techniques of practical biochemistry*. Britania Raya: Cambridge University Press.