

KOLONISASI BAKTERI ENDOFIT PADA AKAR TUMBUHAN ANDALEH (*Morus macroura* Miq.)

ENDOPHYTIC BACTERIA COLONIZATION ON ROOT ANDALEH PLANT (*Morus macroura* Miq.)

Sisri Yandila, Dwi Hilda Putri¹, Mades Fifendy

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang

Email: 'dwihildaputri.08@gmail.com

ABSTRACT

Andalas (*Morus macroura* Miq.) has several antimicrobial active compounds in almost all tissues, including roots. Endophytic bacteria, which colonization in the roots, have the ability to produce antimicrobial active compounds as well as those produced by host plants. This study aims to isolate endophytic bacteria that colonize Andalas roots. Endophytic bacteria isolated from root tissue that has been surface sterilized by 2% sodium hypochloride. Bacteria in the tissue roots was inoculated on NA medium. Identification of endophytic bacteria was carried out macroscopically (characteristic of bacterial colonies) and microscopic (Gram staining). The results of the study obtained 16 isolates of endophytic bacteria that colonization in Andalas roots. All isolates obtained were Gram positive bacteria.

Keywords : Endophytic Bacteria, *Morus macroura* Miq, Roots, Isolation

PENDAHULUAN

Tumbuhan Andaleh merupakan maskot flora (flora identitas) daerah Sumatera Barat (Rahman, 1991). Tumbuhan ini dikenal mengandung senyawa antimikroba dan anti-tumor. Pada tumbuhan ini juga ditemukan senyawa kimia berpotensi sebagai bahan baku industri farmasi seperti hidroksitridekanil dodekanoat, triterpenoid tetrasiklik asetat, β -sitosterol, asam betulinat, triisoprenil flavanol dan morasin B (Jasmansyah, 2002). Ekstrak tumbuhan Andaleh mengandung bahan kimia yang sudah diuji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan virus HIV, anti-tumor, dan mencegah peradangan (Hakim, *et al.*, 2007).

Senyawa bioaktif yang terdapat pada suatu tanaman sangat sulit didapatkan secara langsung, karena dibutuhkan banyak biomassa atau bagian dari tanamannya. Salah satu cara yang efisien untuk memperoleh

senyawa bioaktif tersebut adalah dengan mengisolasi bakteri endofit. Bakteri endofit yang diperoleh dari bagian dalam tanaman diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan tanpa harus mengekstrak dari tanamannya (Simamarta, *et al.*, 2007).

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tumbuhan dan bersimbiosis mutualisme dengan inangnya (Kumala, *et al.*, 2008). Bakteri endofit dapat memproduksi metabolit sekunder berupa zat bioaktif yang sama dengan tanaman inang. Kelebihan produksi zat bioaktif dari mikroorganisme endofit diantaranya, mikroorganisme mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek daripada tanaman dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar (Zulkikfli, 2016).

Afifah, *et al.* (2018) dan Putri, *et al.* (2018) sudah berhasil mengisolasi bakteri endofit yang terdapat

pada batang dan daun tumbuhan Andaleh. Menurut Hidayat (2000), bakteri endofit pada tumbuhan umumnya berasal dari akar dan selanjutnya menyebar melalui jaringan *xylem* ke berbagai organ lain.

Bakteri dari daerah aerial akan menempel pada permukaan tanaman dan melakukan penetrasi melalui luka, ruang intraseluler dan mekanisme kerja enzim (Compant, *et al.*, 2010). Bakteri endofit menembus ke dalam akar tanaman, batang atau daun menggunakan enzim yang mampu menghidrolisis dinding ekstraseluler sel (Cho, *et al.*, 2007). Selain digunakan untuk menghidrolisis dinding ekstra seluler sel, enzim ini juga digunakan untuk masuk ke ruang antar sel melalui korteks akar (Reinhold, *et al.*, 2006).

Untuk mengembangkan pemanfaatan bakteri endofit perlu dilakukan proses isolasi dan identifikasi bakteri endofit yang berkolonisasi pada akar tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit yang berkolonisasi pada akar Andaleh.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penelitian FMIPA Universitas Negeri Padang, dimulai dari bulan Agustus 2017 sampai bulan Januari 2018.

Sampel Akar Tumbuhan Andaleh

Sampel akar Andaleh diperoleh dari pohon yang sudah berusia puluhan tahun di desa Andaleh Kecamatan Batipuah, Kabupaten Tanah Datar, Sumatera Barat. Pengambilan sampel pada bagian akar dilakukan dengan cara menggali tanah disekitar batang tanaman, sampai ditemukan percabangan akar, selanjutnya diambil beberapa bagian kulit akarnya.

Sterilisasi Permukaan Akar Tumbuhan Andaleh

Akar tumbuhan Andaleh dipotong dengan ukuran 1x1 cm. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit dan larutan hipoklorit 1%. Tahapan akhir, jaringan selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama 30 detik dan dicuci kembali dengan aquadest steril.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit menggunakan dua metode yaitu metode penanaman jaringan langsung dan metode pengenceran. Cara penanaman jaringan langsung yaitu, akar tumbuhan Andaleh yang sudah disterilisasi permukaan selanjutnya diinokulasikan ke dalam *petri disc* yang berisi medium NA. Semua *petri disc* diinkubasi selama 24-48 jam.

Isolasi bakteri endofit dengan metode pengenceran yaitu dengan cara menggerus jaringan menggunakan lumpang dan selanjutnya dilakukan pengenceran sampai 10^{-6} . Bakteri diinokulasikan ke medium NA dari pengenceran 10^{-4} dan 10^{-6} dengan menggunakan metode *spread plate*. *Petri disc* diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam.

Bakteri yang tumbuh, secara bertahap dimurnikan satu persatu, menggunakan metode *streak plate* (Jawetz, 2013).

Identifikasi Bakteri Endofit

Identifikasi bakteri endofit menggunakan 2 metode yaitu secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dilihat dari morfologi koloni, yaitu: bentuk, warna, ukuran, tepian, dan elevasi koloni. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan teknik pewarnaan

Gram. Selanjutnya diamati jenis Gram bakteri dan bentuk sel.

Analisis Data

Jumlah isolat bakteri endofit yang berkolonisasi pada akar tumbuhan Andaleh yang berhasil diisolasi dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi makroskopis bakteri endofit dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis dapat diamati bentuk morfologi yang berbeda dari koloni bakteri endofit yang berkolonisasi pada akar tumbuhan Andaleh.

Hasil isolasi bakteri endofit dari akar tumbuhan Andaleh diperoleh 16 isolat bakteri endofit. Sebanyak 9 isolat diisolasi dengan metode *streak plate* dan 7 isolat diisolasi dengan metode pengenceran.

Jumlah bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari akar Andaleh lebih banyak dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Afifah, *et al.* (2018) dan Putri, *et al.* (2018), dimana bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman yang sama hanya 11 dan 12 isolat (masing-masing dari batang dan daun). Jumlah populasi bakteri endofit pada suatu jaringan tumbuhan berbeda, dipengaruhi oleh umur tanaman, jenis jaringan, waktu pengambilan sampel dan lingkungan (Lamb, *et al.*, 1996). Hartmann, *et al.* (2008) berhasil mengamati bahwa mikroorganisme lebih berlimpah di tanah sekitar akar (rizosfer). Menurut Grayston *et al.* (1998), akar tanaman memancarkan banyak senyawa organik yang merangsang pertumbuhan mikroba rizosfer.

Identifikasi bakteri secara mikroskopis dilakukan dengan metode

pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram diketahui bahwa seluruh bakteri endofit yang diisolasi dari akar tumbuhan Andaleh merupakan Gram positif. Secara mikroskopis juga diketahui bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari akar tumbuhan Andaleh memiliki bentuk basil dan *coccus*. Hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada tabel 1.

Beberapa isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari akar tumbuhan Andaleh memiliki kesamaan karakter morfologi koloni dengan yang diisolasi oleh Afifah, *et al.* (2018) dan Putri, *et al.* (2018). Karakteristik bakteri yang sama dapat mengindikasikan jenis bakteri yang juga sama. Hal ini dapat menjelaskan bagaimana perjalanan bakteri endofit pada suatu tanaman, dimana umumnya berasal dari akar yang menyebar ke organ lainnya (Hidayat, 2000). Namun untuk memastikan jenis isolat yang berhasil diisolasi perlu dilakukan proses identifikasi lanjut secara biokimia dan molekular. Pada penelitian ini identifikasi biokimia dan molekular tersebut belum dilakukan. Hal ini menjadi keterbatasan pada penelitian ini.















KESIMPULAN



Penelitian ini berhasil mengisolasi 16 jenis bakteri endofit yang berkolonisasi pada akar tumbuhan Andaleh.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Dana PNBP Universitas Negeri Padang Tahun Anggaran 2017 Sesuai dengan Surat Keputusan Rektor UNP No. 071/UN35/KP/2017.

Tabel 1. Morfologi koloni bakteri endofit dari akar tumbuhan Andaleh.

KODE ISOLAT	IDENTIFIKASI MORFOLOGI	MORFOLOGI KOLONI	SEL	KODE ISOLAT	IDENTIFIKASI MORFOLOGI	MORFOLOGI KOLONI	SEL
Metode Streak				Metode Pengenceran			
ATB A1	Warna: Putih Susu Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Besar		Coccus, Gram +	JAT A10 ⁻⁴ (1)	Warna: Putih Susu Tepian: Berlekuk Bentuk: Timbul, Tidak Beraturan, Besar		Coccus Gram +
ATB A4.1	Warna: Putih Susu Tepian: Berlekuk Bentuk: Timbul, Bulat, Kecil		Basil, Gram +	JAT B10 ⁻⁶ (2)	Warna: Putih Tepian: Bergerigi Bentuk: Timbul, Bulat, Besar		Coccus Gram +
ATB C1(2)	Warna: Kuning Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Sedang		Basil, Gram +	JAT C10 ⁻⁶	Warna:Kuning Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Kecil		Coccus Gram +
JAT C4	Warna:Putih Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Sedang		Coccus Gram +	ATB A10 ⁻⁴	Warna: Putih Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Sedang		Coccus, Gram +
ATB C2	Warna: Kuning Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Kecil		Coccus Gram +	ATB A ¹⁰⁻ ⁶ (2)	Warna: Putih Tepian: bergerigi Bentuk: Timbul, Tidak Beraturan sedang		Basil, Gram +
ATP 1	Warna: Putih susu Tepian: Berombak Bentuk: Timbul, Bulat, Besar		Coccus Gram +	ATB B10 ⁻⁴	Warna: Putih Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Sedang		Coccus, Gram +
ATP 2	Warna: Kuning Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Besar		Coccus Gram +	JAT B10 ⁻⁶ (4)	Warna: Putih Susu Tepian: Berlekuk Bentuk: Timbu,Tidak Beraturan, Sedang		Coccus Gram +

ATP 3	Warna: Putih Tepian: Berombak Bentuk: Timbul, Bulat, Besar		Coccus Gram +				
JAT A4	Warna: Putih Tepian: Licin Bentuk: Timbul, Bulat, Sedang		Basil Gram +				

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N., Putri, DH., dan Irdawati. 2018. Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from the Andalas Plant Stem (*Morus macroura* Miq.). *Bioscience*. Vol 2 (1). 72-75
- Cho, K. M., Hong, S.Y., Lee, S.M., Kim, Y. H., Kahng, G.G., Lim, Y.P., Kim, H., and Yun, H.D. 2007. Endophytic Bacterial Communities in Ginseng and Their Antifungal Activity Against Pathogens. *Microbial. Ecol.* 54, 341-351.
- Compant, S., B. R Eiter, A. S Essitch, J. N Owak, C. C Lement, and E.A Barka. 2010. Endophytic Colonization of *Vitis vinifera* L. by Plant Growth-promoting Bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology* 71 : 1685 - 1693 .
- Grayston, S. J. S. Wang, C. D. Cambell, and A. C. Edwards. 1998. Selective Influence of Plant Species on Microbial Diversity in the Rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry*. Vol 30 : 369 - 378
- Hakim, E.H., Achmad, S.A., Juliawaty, L.D., Makmur, L., Syah, Y.M., Aimi, N., Kitajima, M., Takayama, H., and Ghisalberti, E.L. 2007. Prenylated Flavonoids and Related Compounds of the Indonesian *Artocarpus* (Moraceae). *J. Nat. Med.* Vol 60: 161-184.
- Hartmann, A. M. R Othballer, and M. S Chmid. 2008. Lorenz Hiltner, a Pioneer in Rhizosphere Microbial Ecology and Soil Bacteriology Research. *Plant and Soil* 312 : 7 - 14
- Hidayat, E.B. 2000. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Bandung: ITB Bandung.
- Jasmansyah. 2002. Kandungan Kimia Maskot Daerah Sumatera. [Http:www.chemistry.net_firms.com/berita/berita](http://www.chemistry.net_firms.com/berita/berita) [20 08 2002].
- Jawezt, E., Melnick., Adelberg's., Brooks, G. F., Carrol, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A. 2013. *Medical Microbiology 26th Editon*. New York :McGraw-Hill Companies, Inc.
- Kumala, S., Mangunwardoyo, W., & Arvyna, H. 2008. Fermentasi Goyang dan Diam Isolat Bakteri Endofit Buah Makassar (*Brucea javanica* L. Merr) dan Uji Aktivitas Antimikrobanya. *Prosiding Kongres Ilmiah XVI ISFI*. Yogyakarta: Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia.
- Lamb, T. G., D.W. Tonkyn, and D.A. Kluepfel. 1996. Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the Rhizosphere to Aerial Plant Tissue. *Microbiol.* 42:1112-1120.
- Putri, MF., Fifendy M., Putri, DH. 2018. Diversitas Bakteri Endofit pada Daun Muda dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroura* miq.). *Eksakta*. Vol. 19 (1).
- Rahman, M. 1991. *Flora dan Fauna Identitas Sumatera Barat*. Pemda Tk. I Sumatera Barat.
- Reinhold-Hurek B, Maes T, Gemmer S, Van Montagu M, Hurek T. An Edoglucanase is Involved in Infection of Rice Roots by the Not cellulose-metabolizing Endophyte *Azoarcus* sp. Strain BH72. 2006. *Mol Plant Microbe Interact* . Vol 19.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S., Sukiman, H. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Berkala Penelitian Hayati*, 13, 85-90.

Zulkifli, L., Soelistya, D., Jekti, D., Mahrus, N., dan Rasmi, C. 2016. Isolasi Bakteri Endofit dari *Sea Grass* Yang Tumbuh Di Kawasan Pantai Pulau Lombok dan

Potensinya Sebagai Sumber Antimikroba Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, Juli-Desember 2016: Volume 16 (2):80-93.