

**Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Pada Tanaman Teh (*Camellia Sinensis* (L.) O. Kuntze) Produktif dan Belum Menghasilkan Klone GMB 7 Dataran Tinggi**

***Isolation and Characterization of Endophyte Bacteria on Highland Productive and Young Tea Plant (*Camellia Sinensis* (L.) O. Kuntze) GMB 7 Clone***

**Eko PRANOTO<sup>1)</sup>, Gilang FAUZI<sup>2)</sup> dan HINGDRI<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup> Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung

<sup>2)</sup> Mahasiswa Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung

Email: ekounpad@gmail.com

**Abstract.** The purpose of this experiment was to explore the endophyte bacteria on highland young tea plant GMB 7 clone in Indonesia Research Institute for Tea and Cinchona, Gambung. The experiment was conducted at Microbiology Laboratory of PPTK Gambung. The isolation was done by spread method and pour method. The isolate source was taken from leaves, stems, and roots of tea plant. The media that used was TSA (Tryptic Soy Agar) media. The macroscopic morphology observation was done to observe the morphology of endophyte bacteria colonies. The result obtained that total of endophyte bacteria isolate on young tea plant was 13 isolates, that were five isolates from leaves, four isolates from stems and roots. On productive tea plant obtained 11 isolates, that were three endophyte bacteria isolate in leaves and also in stems, and five isolates in roots. The result showed one isolate of endophyte bacteria that have similar characteristic on every tissue of plant (leaves, stems, and roots). And the result also showed one endophyte bacteria isolate that have filaments around the colonies on the roots sample from young tea plant.

**Keywords:** young and productive tea plant, GMB 7 clone, endophyte bacteria, highlands.

**Abstrak.** Tujuan penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi bakteri endofit pada tanaman teh belum menghasilkan klon GMB 7 pada dataran tinggi di Pusat Penelitian Teh dan Kina, Gambung. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi PPTK Gambung. Isolasi dilakukan dengan cara metode sebar dan metode tuang. Sumber isolat diambil dari bagian daun, batang, dan akar tanaman. Media yang digunakan adalah media TSA (*Tryptic Soy Agar*). Pengamatan morfologi makroskopik dilakukan untuk mengamati bentuk koloni bakteri endofitik tersebut. Dari hasil penelitian diperoleh jumlah isolat bakteri endofit pada TBM sebanyak 13 isolat, yaitu isolat pada bagian daun terdapat lima isolat, empat isolat pada bagian batang dan bagian akar. Dari hasil pengamatan terdapat satu isolat dengan karakteristik yang hampir sama pada setiap jaringan (daun, batang, dan akar) tanaman. Selain itu juga terdapat isolat bakteri yang memiliki filamen-filamen di sekitar koloni yaitu isolat yang berasal dari bagian akar tanaman teh yang belum menghasilkan. Sedangkan bakteri endofit pada TM sebanyak 11 isolat, yaitu pada bagian daun terdapat tiga isolat, pada bagian batang tiga isolat dan pada bagian akar lima isolat. Dari hasil pengamatan terdapat satu isolat dengan karakteristik yang hampir sama pada setiap jaringan (daun, batang, dan akar) tanaman. Dan juga terdapat isolat bakteri yang memiliki filamen-filamen di sekitar koloni yaitu isolat yang berasal dari bagian akar tanaman teh menghasilkan, sama halnya dengan tanaman teh belum menghasilkan.

**Kata kunci:** TBM dan TM teh, klon GMB 7, bakteri endofit, dataran tinggi.

## PENDAHULUAN

Bakteri endofitik adalah bakteri yang seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya menempati jaringan tanaman hidup dan tidak menyebabkan infeksi penyakit pada

tanaman (Sturz dan Nowak, 2000). Menurut Quadt-Hallmann, *et al.*, (1997), mekanisme invasi bakteri endofitik ke dalam jaringan tanaman dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain masuk melalui stomata, lentisel, luka alami, trachoma yang rusak,

titik tumbuh akar lateral, radikula yang sedang tumbuh, jaringan akar meristematik yang tidak terdiferensiasi, serangan pada dinding sel rambut akar, melalui enzimatik degradasi ikatan polisakarida dinding sel. Jalan alternatif lainnya diduga bakteri masuk melalui penyerapan unsur hara tanaman secara pasif akibat transpirasi tanaman.

Usuki dan Narisawa (2007) menyatakan, mekanisme interaksi simbiosis antara tanaman dengan bakteri endofitik adalah terjadinya pertukaran nutrisi dimana bakteri memfiksasi  $N_2$  menjadi tersedia bagi tanaman dalam bentuk  $NH_3$  serta menghasilkan fitohormon berupa IAA, Sitokinin, dan berbagai senyawa lainnya. Tanaman mentransferkan karbon/gula dan asam amino, jenis gula terutama sukrosa dan glukosa untuk bakteri endofitik.

Bakteri Endofitik memiliki beberapa manfaat antara lain, penambat  $N_2$  dari udara, menghasilkan fitohormon seperti asam asetat indole-3 (IAA), sitokinin, memacu pertumbuhan dan lain-lain (Setiawati, dkk, 2009). Bakteri Endofitik Penambat  $N_2$  dapat meningkatkan penambatan nitrogen dari udara. Pada tanaman tebu kultivar tertentu di Brazil yang dapat mengurangi setengah dari kebutuhan nitrogen melalui aktivitas penambatan  $N_2$ , yaitu lebih dari 150 kg ha<sup>-1</sup> tahun<sup>-1</sup> N (Boddey *et al.*, 1995). Peningkatan konsentrasi pupuk hayati bakteri endofitik penambat  $N_2$  cenderung meningkatkan serapan N tanaman secara nyata. (Mieke dkk., 2008).

Beberapa bakteri endofit dapat menghasilkan hormon yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman. Salah satu hormon yang dihasilkan oleh mikroba endofit adalah IAA (*Indole Acetic Acid*) atau yang lebih dikenal dengan sebutan auksin. Auksin berperan sebagai hormon pemacu tumbuh pada tanaman dan biasanya ditemukan pada jaringan meristem (Spaepen *et al.*, 2007). Bakteri endofitik mempunyai potensi untuk membantu dalam meningkatkan ketahanan tanaman teh dengan menghasilkan fitohormon serta meningkatkan produktivitas tanaman teh dengan memfiksasi nitrogen di udara.

Tanaman teh telah dibudidayakan secara luas di lebih dari 30 negara dan telah

memberikan kontribusi yang tidak sedikit bagi perekonomian negara-negara tersebut. Negara-negara yang tercatat sebagai produsen teh terbesar di dunia diantaranya: China, India, Srilanka, Jepang, Kenya, Bangladesh, dan Indonesia. Perkembangan perkebunan teh yang cepat tidak hanya mendorong pemenuhan kebutuhan dalam negeri, tetapi mendorong usaha peningkatan ekspor non migas sehingga diharapkan menjadi andalan utama penghasil devisa. Nilai ekspor teh Indonesia pada tahun 2007 sebesar 125 juta US \$ (Suwanto dan Octavianty, 2010). Hasil tanaman teh yang digunakan untuk minuman adalah pucuk daun. Selain untuk penyegar minuman teh juga memiliki kandungan polifenol dan fluorida manfaat untuk kesehatan seperti anti kanker dan gigi sehat (Pambudi, 2000).

Banyak hal yang mempengaruhi produktivitas tanaman teh seperti jenis tanah, iklim, unsur hara, serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) dan budidaya tanaman/kultur teknis. Kemampuan bakteri endofitik memiliki kelebihan yaitu: keseluruhan hasil produk berupa fitohormon dan fiksasi N dapat seluruhnya digunakan oleh tanaman karena bakteri endofitik berada didalam jaringan tanaman. Dengan melakukan penelitian ini kita dapat mengetahui karakteristik bakteri endofitik yang terdapat pada tanaman teh belum menghasilkan di dataran tinggi, khususnya klon GMB 7.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi PPTK Gambung. Klon yang digunakan adalah klon GMB 7; tanaman F1 yang diperoleh dari persilangan antara klon Malabar 2 sebagai tetua betina dan Pasir Sarongge 1 sebagai tetua jantan. Klon Malabar 2 merupakan klon anjuran tahun 1955 yang mempunyai potensi hasil tinggi (Handayani, 2005). Bahan tanaman digunakan adalah bagian daun, batang dan akar tanaman teh belum menghasilkan (TBM). Masing-masing bagian yang diambil merupakan jaringan muda dan sehat.

Metode ekstraksi tanaman diawali dengan mencuci bahan tanaman yang didapatkan dari lapangan. Setiap bagian tanaman

ditimbang sebesar satu gram. Bagian permukaan bahan tanaman disterilkan dengan menggunakan alkohol 70% selama 60 detik kemudian dibilas sebanyak dua kali (2x) dengan menggunakan air aquadest steril. Bagian tanaman diekstrak menggunakan mortar steril didalam laminar air flow. Pengenceran ekstrak dilakukan hingga 1.000 kali (10-3).

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah Tryptic Soy Agar (TSA) Merck. Media TSA merupakan media selektif yang digunakan untuk mengisolasi mikroba endofitik yang ada pada tanaman teh. Metode isolasi yang digunakan adalah metode sebar dan metode tuang.

Formula Media TSA gr/liter terdiri dari (i) Peptone Casein 15 gr, (ii) Peptone Soymeal 5.0 gr, (iii) Sodium Chloride 5.0 gr, (iv) Agar-agar 15 gr. Media dibuat dengan cara: (i) Melarutkan 40 gram campuran media ke dalam 1 liter air distilasi (aquades); (ii) Memanaskan dengan air mendidih atau aliran uap hingga homogeny; (iii) Sterilisasi ke dalam autoklaf selama 15 menit pada

121°C; serta (iv) pH dimodifikasi dengan asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) hingga 5.5 pada 25 °C.

Penelitian ini menggunakan metode eksplorasi untuk mendapatkan isolat bakteri endofitik yang berasal dari tanaman teh dataran tinggi. Parameter pengamatan dalam penelitian ini berupa jumlah bakteri dan karakteristik koloni. Karakterisasi bakteri yang diamati adalah bentuk, tepian koloni, ukuran, elevasi, dan warna.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi bakteri endofit tumbuh cepat pada media TSA (*Tryptic Soy Agar*) dan berbagai jenis bakteri endofitik yang tumbuh menghasilkan koloni yang khas dalam penampilannya. Pengamatan morfologi makroskopik koloni bakteri endofitik dilakukan dengan mengamati karakteristik koloni (pengamatan pada plate agar) berupa: bentuk (*shape*), tepi (*edge*), ketinggian (*elevation*), dan warna (*colour*). Hasil pengamatan morfologi bakteri endofit dicantumkan pada Tabel 1 dan 2 berikut.

**Tabel 1.** Karakteristik morfologi koloni bakteri endofitik pada TBM Teh.

No.	Isolat	Bentuk ( <i>shape</i> )	Tepi ( <i>edge</i> )	Ketinggian ( <i>elevation</i> )	Warna ( <i>colour</i> )	Keterangan
<b>Metode sebar</b>						
1.	<b>Daun</b> Isolat 1 Isolat 2 Isolat 3	Irregular Circular Circular	Halus Halus Halus	Datar Cembung Cembung	Putih susu Putih susu Putih susu	<b>3 isolat</b> berlendir berlendir Tdk berlendir
2.	<b>Batang</b> Isolat 4 Isolat 5	Irregular Circular	Halus Halus	Datar Datar	Putih susu Putih susu	<b>2 isolat</b> Tdk berlendir Tdk berlendir
3.	<b>Akar</b> Isolat 6 Isolat 7	Irregular Irregular	Halus Halus	Datar Datar	Putih susu Putih susu	<b>2 isolat</b> Tdk berlendir Tdk berlendir
<b>Metode tuang</b>						
4.	<b>Daun</b> Isolat 8 Isolat 9	Irregular Irregular	Undulate Undulate	Datar Datar	Putih susu Putih susu	<b>2 isolat</b> Tdk berlendir Tdk berlendir
5.	<b>Batang</b> Isolat 10 Isolat 11	Irregular Irregular	lobate Halus	Datar Datar	Putih susu Kuning	<b>2 isolat</b> Tdk berlendir berlendir
6.	<b>Akar</b> Isolat 12 Isolat 13	Circular sproading	Halus Berfilamen	Datar Datar	Putih susu Putih susu	<b>2 isolat</b> Tdk berlendir Tdk berlendir

**Tabel 2.** Karakteristik morfologi koloni bakteri endofit pada TM Teh.

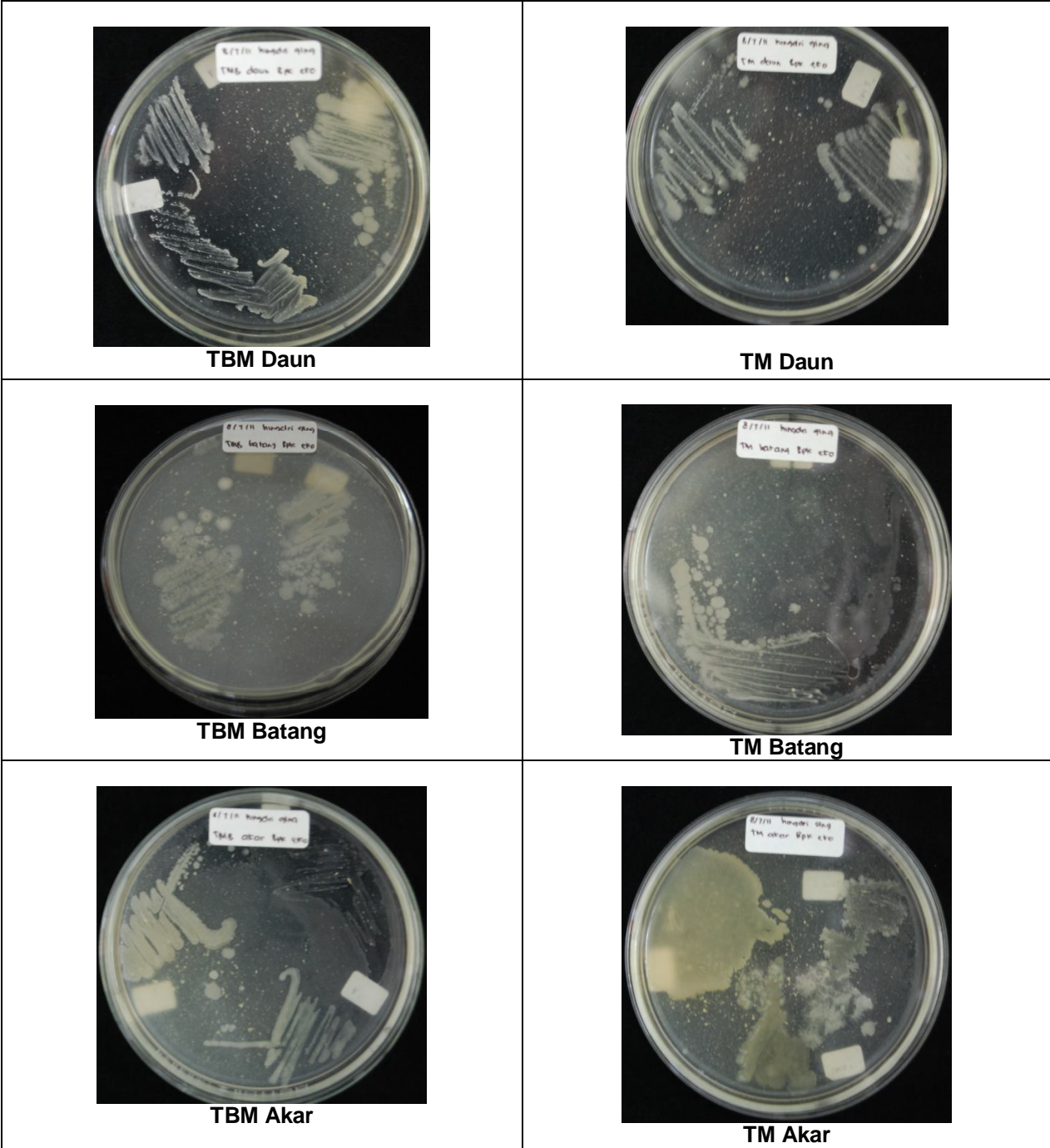
No.	Isolat	Bentuk (shape)	Tepi (edge)	Ketinggian (elevation)	Warna (colour)	Keterangan
<b>Metode sebar</b>						
1.	<b>Daun</b> Isolat 14 Isolat 15	Irregular Irregular	Kasar Undulate	Datar Datar	Putih susu Putih susu	<b>2 isolat</b> Tdk berlendir berlendir
2.	<b>Batang</b> Isolat 16	Irregular	Kasar	Datar	Putih susu	<b>1 isolat</b> Tdk berlendir
3.	<b>Akar</b> Isolat 17 Isolat 18 Isolat 19	Irregular Irregular Circular	Berfilamen Halus Halus	Datar Datar Cembung	Putih susu Putih susu Kekuningan	<b>3 isolat</b> Tdk berlendir Tdk berlendir Berlendir
<b>Metode tuang</b>						
4.	<b>Daun</b> Isolat 20	Irregular	Undulate	Datar	Putih susu	<b>1 isolat</b> Tdk berlendir
5.	<b>Batang</b> Isolat 21 Isolat 22	Irregular Irregular	Undulate Halus	Datar Cembung	Putih susu Kekuningan	<b>2 isolat</b> Tdk berlendir Tdk berlendir
6.	<b>Akar</b> Isolat 23 Isolat 24	Irregular Irregular	Halus Berfilamen	Datar Datar	Putih susu Putih susu	<b>2 isolat</b> Tdk berlendir Tdk berlendir

Jumlah populasi bakteri endofit yang dapat diisolasi pada bagian jaringan hidup bagian daun, batang dan akar tanaman teh belum menghasilkan (TBM) maupun pada tanaman menghasilkan (TM) tersebar merata dimana setiap bagian jaringan terdapat 3-4 isolat bakteri. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit dapat hidup dalam setiap jaringan (daun, batang, akar) tanaman teh dataran tinggi baik pada tanaman teh menghasilkan (TM) maupun tanaman belum menghasilkan (TBM).

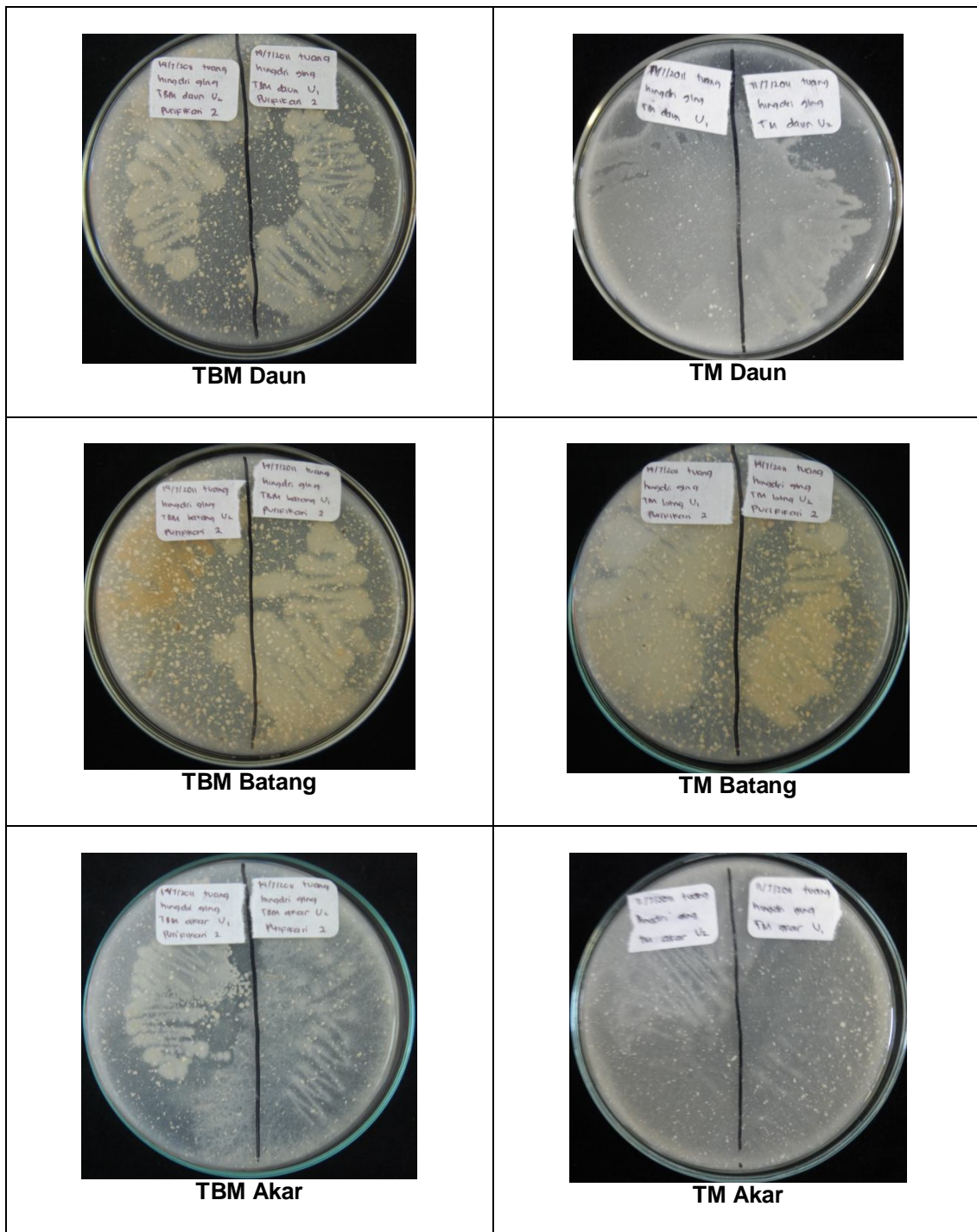
Isolat pada tanaman teh bagian akar baik TBM maupun TM didapatkan isolat bakteri berfilamen. Hal ini terlihat dari penampakan makroskopik koloni yang menunjukkan

filament-filament pada sekitar koloni. Isolat tersebut adalah TBM Isolat 13 dari akar, TM Isolat 17 dan 24 juga dari akar. Pengenceran ekstrak yang dilakukan sebanyak  $10^{-3}$  memungkinkan isolat tersebut didapatkan dalam proses pengisolasian.

Total jumlah isolat yang didapatkan dari hasil pengamatan sebanyak 13 isolat bakteri endofitik pada TBM teh dan 11 isolat dari TM dengan secara umum memiliki karakteristik yang sama. Isolat yang didapatkan kemudian dipurifikasi dengan tujuan untuk mendapatkan isolat murni suatu mikroba. Gambar isolat pada setiap jaringan tanaman dapat dilihat pada Gambar 1 sampai 3 berikut.



Gambar 1. Isolat Bakteri Endofitik Metode Sebar



Gambar 2. Isolat Bakteri Endofitik Metode Tuang

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh jumlah isolat bakteri endofit pada tanaman teh belum menghasilkan (TBM) sebanyak 13, yaitu isolat pada bagian daun terdapat 5 (lima) isolat, 4 (empat) isolat pada bagian batang

dan bagian akar. Dari pengamatan diperoleh bahwa terdapat satu isolat dengan karakteristik yang hampir sama pada setiap jaringan (daun, batang, akar) tanaman. Dan juga terdapat isolat bakteri yang memiliki filamen-filamen disekitar koloni yaitu isolat yang berasal dari bagian akar tanaman teh belum menghasilkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Boddey RM, de Oliveira DC, Urguiaga S, Reis VM, de Olivares FL, Baldani VLD, and Dobereiner J.** 1995. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice, Contributions and prospect for improvement. *Plant Soil* 174: 195-209.
- Handayani T.** 2005 Pengaruh Dosis Mikoriza Vesikular Arbuskular (MVA) terhadap pertumbuhan bibit teh (*Camellia sinensis* L. (O) Kuntze) klon gambung 7 dan gambung 9. UNPAD. Jatinangor Bandung
- Mieke R, Dedeh HA, Pujawati S, dan Ridha H.** 2008. Peningkatan Populasi Bakteri Endofitik, Bobot kering Tanaman, Serapan N, Bobot Gabah Kering Panen Tanaman Padi Akibat Aplikasi Pupuk Cair Hayati Bakteri Endofitik Penambat N<sub>2</sub> pada Tanaman Padi. Penelitian Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Pambudi, J.** 2000. Potensi Teh Sebagai Sumber Zat Gizi dan Perannya dalam Kesehatan. Dalam Prosiding Seminar Sehari Teh untuk Kesehatan Bandung 17 Oktober 2000. PPTK Gambung.
- Quadt-Hallmann A, Benhamou N, and Kloepper JW.** 1997. Bacterial endophytes in cotton: mechanisms of entering the plant. *Can. J. Microbiol.* 43: 577-582.
- Setiawati MR, Dedeh HA, Pujawati S, dan Ridha H.** 2009. Formulasi Pupuk Hayati Bakteri Endofitik Penambat N<sub>2</sub> dan Aplikasinya Untuk Meningkatkan Hasil Tanaman Padi. Fakultas Pertanian UNPAD. Bandung.
- Spaepen S, Vanderleyden J and Remans R.** 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol Rev.* 31(4): 425-448.
- Sturz AV, and Nowak J.** 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecology* 15: 183–190.
- Suwarto dan Ovtavianty Y.** 2010. Budi Daya 12 Tanaman Perkebunan Unggulan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Usuki F and Narisawa K.** 2007. A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage. *Mycologia*, 99(2): 175–184.