



DIVERSITAS BAKTERI ENDOFIT PADA DAUN MUDA DAN TUA TUMBUHAN ANDALEH (*Morus macroura* miq.)

Moca Faulina Putri, Mades Fifendy, Dwi Hilda Putri *

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang
e-mail : dwi_hildaputri@yahoo.com
DOI : 10.24036/eksakta/vol19-iss01/122

ABSTRACT

Endophytic microbes are microscopic living organisms (bacteria and fungi) that live in plant tissues (xylem and phloem), leaves, roots, fruit, and stems. These microbes live symbiosis of mutual benefit. Morus macroura miq. or Andaleh is a native plant of western Sumatra that is considered rare. The purpose of this study was to isolate and identify entophytic bacteria found in young leaves and old leaves andaleh taken from the village Andaleh, Kec. Batipuah West Sumatra. The methods used to isolate endophytic bacteria from andaleh leaves are spread plate and streak plate. Identification of endophytic bacteria in macroscopic or colony morphology. A total of 12 isolates of endophytic bacteria from young andaleh leaf and 8 isolates of endophytic bacteria from andaleh leaf. Identification Microscopic using gram staining obtained bacteria 18 gram positive endophytic bacterial isolates and 2 isolate gram negative bacteria.

Keywords: *Endophytic bacteria, Morus macroura miq, Isolation, leaves*

PENDAHULUAN

Mikroba endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis (bakteri dan jamur) yang hidup di dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang. Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan. Mikroba endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman melawan herbivora, serangga, atau jaringan yang patogen (Tanaka *et al.*, 1999).

Mekanisme invasi bakteri endofitik ke dalam jaringan tumbuhan dapat dilakukan dengan beberapa cara. Bakteri dapat masuk melalui stomata, lentisel, luka alami, trachoma yang rusak, titik tumbuh akar lateral, radikula yang sedang tumbuh,

dan jaringan akar meristematik yang tidak terdiferensiasi. Serangan pada dinding sel rambut akar oleh enzimatik juga dapat menjadi jalan masuknya bakteri ke dalam tanaman (Hallman *et al.*, 1997).

Bakteri di dalam jaringan tanaman kemudian berkoloni di titik tempat dia masuk atau menyebar ke seluruh bagian tumbuhan melalui *xylem* (Zulkifli dkk, 2016). Mikroorganisme ini dapat hidup di dalam pembuluh vaskular atau di ruang intersel atau stomata (Zinniel *et al.* 2002).

Bakteri endofit memiliki sifat yang sangat unik dimana fisiologi tumbuhan yang berasal dari spesies yang sama namun tumbuh pada lingkungan yang berbeda, maka bakteri endofit yang dihasilkan akan berbeda pula sesuai

kondisinya lingkungannya (Hung and Annapurna, 2004).

Morus Macroura atau lebih dikenal dengan andaleh merupakan salah satu tumbuhan asli Sumatera Barat. Tumbuhan ini tergolong ke dalam salah satu tumbuhan langka endemik Indonesia terutama Sumatera (Dahlan, 1994).

Keberadaan tumbuhan andaleh menjadi langka disebabkan faktor endogen (dioceous) yaitu sulit melakukan perbanyakan secara generatif dan faktor eksogen (lingkungan yang kritis dan ekstrim) yang menyebabkan sulitnya dalam pertumbuhan dan perkembangannya (Swandra dkk, 2012). Menurut Yelmida (2007) dari daun andaleh telah ditemukan dua senyawa dari golongan *triterpen* dan *steroid* yaitu *triterpen tetrasiklik asetat* dan β -*sitosterol*.

Daun merupakan bagian tumbuhan yang berfungsi untuk menjalankan sintesis senyawa-senyawa organik dengan menggunakan cahaya sebagai sumber energi yang diperlukan, suatu proses yang dikenal sebagai fotosintesis. Proses pengubahan energi berlangsung dalam organel sel khusus yang disebut kloroplas, tempat penyimpan pigmen klorofil (Fahn, 1982). Disamping itu, pada daun juga banyak menyimpan produk metabolit sekunder.

Menurut Symasuardi dkk (2015), Warna daun tua, permukaan daun bagian atas dan bawah menunjukkan perbedaan warna mulai dari hijau muda, hijau sampai hijau tua. Warna daun muda tidak memiliki perbedaan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri endofit pada daun tua dan daun andaleh.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan Agustus 2017 sampai Januari

2018 di Laboratorium Penelitian Biologi FMIPA UNP.

Sampel daun andaleh diperoleh dari pohon andaleh yang berusia puluhan tahun di Desa Andaleh, Kec. Batipuh, Kabupaten Tanah Datar, Sumatera Barat. Daun yang diambil adalah daun tua dan daun muda.

Medium yang digunakan sebagai nutrisi pertumbuhan bakteri adalah medium NA (*nutrien agar*).

Isolasi bakteri endofit dari daun andaleh

Daun disterilisasi menggunakan alkohol 70%, hipoklorit 1% dan aquades. Sampel daun andaleh dipotong dengan ukuran 1x1cm (Tomita, 2003), daun tua dan daun muda diletakkan pada cawan petri yang berbeda. Daun yang telah disterilisasi permukaannya ditanam diatas medium NA dengan posisi tulang daun mengenai medium (Tomita, 2003), diinkubasi terbalik pada suhu ruang selama 24-48 jam. Selanjutnya mengambil 1 ose bakteri yang pada bagian sudut daun dan diinokulasi ke agar lempeng dengan metode streak plate.

Sisa daun yang telah disterilisasi di gerus menggunakan lumpang alu dan dilakukan pengenceran sampai 10^{-2} , kemudian di sebar ke medium NA sebanyak 0,1 mL menggunakan metode spread plate, selanjutnya diinkubasi secara terbalik pada suhu ruang selama 24-48 jam.

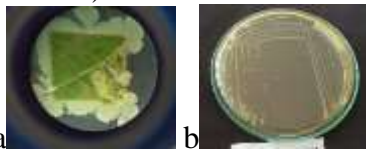
Setiap koloni yang terbentuk dimurnikan kembali hingga benar-benar mendapatkan koloni tunggal (Jawetz *et al.*, 2013).

Pengamatan secara makroskopis dengan melihat morfologi koloni bakteri. Pengamatan secara makroskopis dilihat dari morfologi koloni bakteri, yaitu : bentuk koloni, warna, ukuran, bentuk, tepian, dan elevasi koloni,

Data dianalisis secara deskriptif dengan menghitung jumlah isolat bakteri endfit yang berhasil diisolasi dari sampel.

Hasil Dan Pembahasan

Sebanyak 12 isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari daun muda andaleh dan daun tua 8 isolat. Pada daun muda dengan metode streak plate, bakteri diambil dari setiap sudut daun yang ditanam di agar lempeng didapatkan 2 isolat dan daun tua 2 isolat (kode isolat JDM dan JDT), metode spread plate bakteri diambil dari setiap sudut daun kemudian dilakukan pengenceran hingga 10^{-6} di dapatkan pada daun muda 5 isolat dan daun tua 3 isolat yang berbeda (kode isolat JDM dan JDT), dan didapatkan 5 isolat dari daun muda dan daun tua 3 isolat yang berbeda dari hasil gerus daun andaleh menggunakan metode spread plate (DM dan DT).



a. Bakteri endofit yang tumbuh pada daun (2x24 jam) b. koloni tunggal bakteri endofit

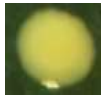



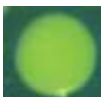
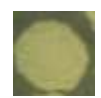


Identifikasi makroskopis bakteri endofit menggunakan mikroskop stereo. Morfologi koloni bakteri endofit dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Identifikasi morfologi isolat bakteri endofit daun muda andaleh

No	Kode isolat	Morfologi koloni	Foto
1	DM 1.1	Warna : putih Ukuran: sedang Bentuk: bundar Tepian :licin Elevasi: timbul	
2	DM 2.1	Warna : kuning Ukuran: sedang Bentuk: bundar Tepian : licin Elevasi: datar	

3	DM 2.2	Warna :putih Ukuran: sedang Bentuk: bundar dgn tepian karang Tepian :berombak Elevasi: berbukit-bukit	
4	DM 3.1	Warna :putih Ukuran: kecil Bentuk: bundar Tepian licin Elevasi: timbul	
5	DM 6.2	Warna :putih Ukuran: besar Bentuk: kosentris Tepian :licin Elevasi :datar	
6	DM 1B	Warna :putih Ukuran: sedang Bentuk: tak beraturan Tepian :berlekuk Elevasi :timbul	
7	DM 2C	Warna :kuning Ukuran: sedang Bentuk: bundar Tepian :licin Elevasi :timbul	
8	JDM 1.1.10 ⁻⁴	Warna : cream Ukuran: besar Bentuk: tak beraturan Tepian :berombak Elevasi :timbul	
9	JDM 1.1.10 ⁻⁶	Warna :putih, tepi bening Ukuran: sedang Bentuk: bundar Tepian :licin Elevasi :timbul	
10	JDM 1.2.10 ⁻⁶	Warna :cream Ukuran: sedang Bentuk: bundar Tepian :licin Elevasi :timbul	
11	JDM 1.3.10 ⁻⁶	Warna :putih Ukuran: besar Bentuk: bundar Tepian :licin Elevasi :timbul	
12	JDM 2.1.10 ⁻⁴	Warna : putih Ukuran: kecil Bentuk: bundar Tepian :licin Elevasi :timbul	

Tabel 2. Identifikasi isolat bakteri endofit daun tua andaleh

No	Kode isolat	Morfologi koloni	Foto
1	DT 2.1	Warna :kuning pucat Ukuran:sedang Bentuk:bundar Tepian :licin Elevasi:timbul	
2	DT 1.2	Warna :putih Ukuran:besar Bentuk:bundar Tepian :licin Elevasi:timbul	
3	DT 3.2	Warna :kuning,tepi putih Ukuran:sedang Bentuk:bundar Tepian licin Elevasi:timbul	
4	JDT 1B	Warna : putih Ukuran: sedang Bentuk:bundar Tepian :licin Elevasi:timbul	
5	JDT 2C	Warna :kuning Ukuran: sedang Bentuk:bundar Tepian :licin Elevasi :timbul	
6	JDT 2.1.10 ⁻⁶	Warna :cream Ukuran: sedang Bentuk: bundar Tepian :kerang Elevasi:timbul	
7	JDT 1.1.10 ⁻⁶	Warna:kuning Ukuran:sedang Bentuk:bundar Tepian :licin Elevasi :datar	
8	JDT 3.2.10 ⁻⁶	Warna : cream tepi putih Ukuran:sedang Bentuk:bundar Tepian :licin Elevasi :timbul	

12 isolat bakteri endofit pada daun muda dan 8 isolat pada daun tua yang berhasil diisolasi dari tumbuhan andaleh dengan ciri morfologi yang berbeda.

Menurut Bhore dan Sathisha (2010) menyatakan bahwa bakteri endofit pada satu tanaman inang umumnya terdiri atas beberapa genus dan spesies. Keragaman bakteri endofit dalam suatu tanaman dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah. Pada beberapa kasus, tanaman dengan jenis atau spesies yang sama memiliki bakteri endofit yang tidak selalu sama.

Pada masa inkubasi, bakteri telah menunjukkan pertumbuhan pada 1x24 jam, namun pada potongan daun andaleh yang ditanam ke media NA diinkubasi selama 2x24 jam. Penelitian ini mengacu pada Zinniel *et al* (2002), yang menyatakan bahwa waktu pemilihan inkubasi selama minimal 2 hari bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh merupakan bakteri endofit, bukan bakteri kontaminan.

Jumlah isolat bakteri endofit yang didapatkan dari daun muda lebih banyak di bandingkan daun tua, karena metabolit sekunder lebih banyak pada daun muda dibandingkan daun tua. Dari hasil penelitian Astiti (1993), daun jati mengandung beberapa senyawa fenolik diantaranya adalah asam vanilat, asam salisilat, asam ferulat, asam kumarat, asam galat, asam benzoate dan asam kafeat, dimana kandungan senyawa – senyawa tersebut lebih banyak pada ekstrak daun Jati muda dibandingkan pada ekstrak daun jati tua. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Achakzai *et al.* (2009) , pada daun muda memiliki kandungan alkaloid dan saponin yang tinggi serta cenderung berkurang seiring bertambahnya usia daun.

Identifikasi mikroskopis bakteri endofit dengan metode pewarnaan gram menggunakan mikroskop binokuler, dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Bakteri yang diwarnai dengan metode gram dibagi menjadi dua kelompok. Pada kelompok bakteri gram

positif mempertahankan zat pewarna ungu kristal dan tampak berwarna ungu tua. Sedangkan pada kelompok bakteri gram negatif akan terjadi kehilangan ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi warna merah safranin, tampak berwarna merah (Bibiana, 1994).

Tabel 2. Pewarnaan gram isolat bakteri endofit daun muda andaleh.

Kode isolat	Pewarnaan gram	Bentuk sel
DM 1.1.	Positif	Basil
DM 2.1	Negatif	Basil
DM 2.2	Positif	Basil
DM 3.1	Positif	Basil
DM 6.2	Positif	Basil
JDM 1B	Positif	Basil
JDM 2C	Positif	Basil
JDM 1.1.10 ⁻⁴	Positif	Basil
JDM 1.1.10 ⁻⁶	Positif	Cocus
JDM 1.2.10 ⁻⁶	Positif	Cocus
JDM 1.3.10 ⁻⁶	Positif	Basil
JDM 2.1.10 ⁻⁶	Negatif	Basil

Tabel 3. Pewarnaan gram isolat bakteri endofit daun tua andaleh.

Kode isolat	Pewarnaan gram	Bentuk sel
DT 1.2	Positif	Cocus
DT 2.1	Positif	Cocus
DT 3.2	Positif	Cocus
JDT 1B	Positif	Cocus
JDT2C	Positif	Cocus
JDT 1.1.10 ⁻⁶	Positif	Cocus
JDT 2.1.10 ⁻⁶	Positif	Basil
JDT 3.2.10 ⁻⁶	Positif	Basil

Penelitian ini berhasil mengisolasi 12 isolat bakteri endofit dari daun muda andaleh dan 8 isolat bakteri endofit dari daun tua andaleh. Namun belum diketahui isolat bakteri endofit memiliki kemampuan anti mikroba. Untuk penelitian lanjutan perlu dilakukan uji aktivitas antimikroba daun andaleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Achakzai, Abdul Kabir Khan., Achakzai, Palwasha., Masood, Ayesha., Kayani, Safdar Ali And Tareen ,Rasool Bakhsh. 2009. Response Of Plant Parts And Age On The Distribution Of Secondary Metabolites On Plants Found In Quetta. *J. Bot.* Vol 41 (5). Hal 2129-2135.
- Astiti,N.P.A. 1993. Kandungan Senyawa Fenolik Ekstrak daun Jati (*Tectona grandis* L.f) serta Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Jamur yang Hidup Pada Permukaan Kayu Jati. Tesis. Program Pascasarjana. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Bhore, S.J., dan Sathisha G. 2010. Screening of Endophytic Colonizing Bacteria for Cytokinin-Like Compounds: Crude Cell-FreeBroth of Endophytic Colonizing Bacteria Is Unsuitable in Cucumber Cotyledon Bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences.* Vol 6 (4). Hal 345-352.
- Bibiana, W Lay. 1994. *Analisis Mikroba Di Laboratorium.* Jakarta: PT Raja Grafindo
- Dahlan, S. 1994. Mengenal *Morus macroura* Miq. Maskot Flora Sumatera Barat. *Jurnal Penelitian Andalas* 4 (15) Hal: 17-20.
- Fahn, A. 1982. *Plant Anathomy Thirrd Edition.* England: Pargamon Press.
- Hung, Pham Quang And Annapurna K. 2004. Isolation And Characterization Of Endophytic Bacteria In Soybean (*Glycine Sp.*) *Omonrice* .Vol.12 . Hal 92 -101.
- Jawetz, E., Joseph, L., M., Edward., A., A., Geo, F.B., Janet, S.B and L.N.O. 2013. *Medical Microbiology* 26th Edition. New Delhi: EGC.
- Swandra Eron., Idrisdan M., Netty W., Surya. 2012. Multiplikasi Tunas

- Andalas (*Morus macroura* Miq. var. *macroura*) dengan Menggunakan Thidiazuron dan Sumber Eksplan Berbeda secara *In Vitro*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.)*. Vol 1 (1) Hal 63-68.
- Syamsuardi, Jamsari, dan Jawati Sri. Morphological and genetic diversity of andalas tree (*Morus macroura* Miq.) identity flora of West Sumatra, and its sustainable utilization. 2015. Prosiding Workshop Improving appre Prosiding Workshop ciation and awareness on conservation of high value indigenou wood species of Sumatra. International tropical timber organization (ITTO). Pekanbaru.
- Tanaka M, Sukiman H, Takebayashi M, Saito K, Suto M, Prana MS, dan Tomita F,.1999. Isolation, Screening and Phylogenetic Identification of Endophytes from Plants in Hokaido Japan and Java Indonesia. *Microbes and Environment* . Vol 14 (4). Hal 237–241.
- Tomita, F. 20s03. Endophytes in Southeast Asia and Japan: their taxonomic diversity and potential applications. *Fungal Diversity* 14: 187-204.
- Yelmida, A. 2007. Beberapa Senyawa Non Aromatis Dari Daun Andalas (*Morus macroura* Miq.). *Jurnal Riset Kimia*. Vol 1(1). Hal 79-83.
- Zinnieal, D.K., P. Lambrech., N.B. Harris., Z. Feng., D. Kuczmarsi., P. Higley., C.A. Ishimaru., A. Arunakumari., R. G. Barletta and A. K. Vidaver. 2002. Isolation And Characterization of Endophytic Colonizing Bacteri from Agronoric Cropss and Primitive Plants. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 68 (5). Hal 2198-2208.
- Zulkifli Lalu., Jekti Dwi Soelistya Diah., Mahrus., Lestari Nur, dan Rasmi, Dewa Ayu Citra. 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*. Vol 16 (2) Hal 80-93.