KARAKTERISTIK MORFOLOGI DAN FISILOGI BAKTERI ENDOFIT DAN RIZOBAKTERI DARI TANAMAN CENGKEH SEHAT

Fina Dwimartina^{1*}, Tri Joko², dan Triwidodo Arwiyanto³

^{1*} Fakultas Pertanian, Universitas Wiralodra, Indramayu

^{2,3} Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

* dwimartinafina@gmail.com

Abstrak

Salah satu faktor penentu dalam pengendalian penyakit adalah penggunaan bibit unggul yang memiliki kualitas dan kuantitas yang baik. Penggunaan agens pengendali hayati yang membentuk simbiosis mutualisme pada tanaman inangnya dapat dijadikan sebagai salah satu upaya untuk mendapatkan bibit cengkeh yang unggul dan berkualitas. Bakteri endofit dan rizobakteri telah dilaporkan sebagai agens pengendali hayati potensial untuk banyak penyakit tanaman karena keamanan pada manusia dan organisme non-target. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi sifat fisiologi dan morfologi isolat bakteri endofit dan rizobakteri yang didapat dari tanaman cengkeh. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitopatologi Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian UGM. Penelitian rumah kaca dilaksanakan di Rumah Kaca Fakultas Pertanian. Penelitian dilaksanakan selama 8 bulan. Pengujian yang dilakukan meliputi isolasi bakteri endofit dan rizobakteri, serta karakterisasi morfologi dan fisiologi isolat bakteri. Sebanyak 46 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari akar, batang, daun, dan bunga cengkeh yang sehat. Juga, 66 isolat diisolasi dari tanah di sekitar daerah rizosfer. Berdasarkan hasil identifikasi sifat morfologi dan fisiologi membuktikan bakteri endofit dan rizobakteri yang diujikan memiliki kesamaan karakter dengan *Bacillus* spp.

Kata kunci : identifikasi, karakterisasi, bakteri endofit, rizobakteri, tanaman cengkeh

Abstract

One of the determining factors in disease control is the use of superior seeds which have good quality and quantity. The use of biological control agents that form a symbiotic mutualism in their host plants can be used as an effort to obtain superior and quality clove seeds. Endophytic bacteria and rhizobacteria have been reported as potential biological control agents for many plant diseases because of their safety in humans and non-target organisms. The purpose of this study was to identify the physiological and morphological characteristics of endophytic and rhizobacterial isolates obtained from clove plants. The research was conducted at the Phytopathology Laboratory of the Department of Plant Pests and Diseases, UGM Faculty of Agriculture. Greenhouse research was carried out at the Greenhouse of the Faculty of Agriculture. The research was conducted for 8 months. The tests carried out included isolation of endophytic

bacteria and rhizobacteria, as well as characterization of the morphology and physiology of bacterial isolates. A total of 46 endophytic bacterial isolates were isolated from healthy clove roots, stems, leaves and flowers. Also, 66 isolates were isolated from the soil around the rhizosphere area. Based on the results of the identification of morphological and physiological characteristics, it was proven that the endophytic and rhizobacterial bacteria tested had the same character as *Bacillus* spp.

Keyword: identification, characterization, endophytic bacteria, rhizobacteria, clove plants

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara konsumen cengkeh terbesar di dunia. Pada mulanya, cengkeh hanya dipergunakan untuk obat-obatan. Namun dalam perkembangannya, pemanfaatan cengkeh menjadi lebih luas, yaitu sebagai rempah-rempah, bahan baku parfum, dan sumber eugenol. Bagian tanaman yang paling banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan adalah bunganya. Di Indonesia, cengkeh banyak digunakan sebagai campuran dalam pembuatan rokok kretek. Berdasarkan penggunaannya, sebanyak 85-95% konsumsi cengkeh nasional digunakan untuk industri rokok kretek. Oleh karena itu sejak tahun 1960-an terjadi perluasan areal cengkeh yang luar biasa untuk dapat berswasembada cengkeh (Anonim, 2015).

Menurut Semangun (2008) perluasan areal penanaman cengkeh diikuti oleh peningkatan masalah penyakit tanaman, bahkan penyakit-penyakit tertentu dapat berkembang secara epidemik dan menimbulkan kerugian yang besar. Berikut ini beberapa contoh penyakit yang sering ditemui pada tanaman cengkeh, yaitu, penyakit embun jelaga yang disebabkan oleh *Capnodium* sp. dengan gejala pada permukaan daun dan batang terdapat lapisan hitam merata yang mudah dikelupas dari daun tetapi jaringan daun dibawahnya tetap hijau. Selain itu, penyakit yang disebabkan oleh jamur patogen akar *Rigidoporus lignosus* penyebab penyakit layu pada tanaman cengkeh (Juliarta *et al.*, 2015). Penyakit lainnya adalah cacar daun cengkeh yang disebabkan oleh jamur *Phyllosticta syzygii* menyebabkan gejala pada daun muda yang berwarna kemerahan, terdapat

bagian daun yang melepuh. Pada daun yang sudah berwarna hijau, mula-mula terdapat bagian-bagian yang berwarna lebih muda, kemudian melepuh seperti cacar yang berbintik-bintik hitam. Tahap selanjutnya, becak-becak ini akan membentuk bintik-bintik cacar dengan bagian permukaannya cembung dan bagian bawah cekung (Semangun, 2008).

Lebih lanjut Semangun pada tahun 2008 menyatakan salah satu penyakit yang dapat menimbulkan masalah serius pada tanaman cengkeh adalah penyakit Bakteri Pembuluh Kayu Cengkeh (BPKC). Penyakit ini disebabkan oleh patogen berupa bakteri yang menyerang bagian pembuluh kayu cengkeh, sehingga sering disebut sebagai “penyakit bakteri pembuluh kayu cengkeh” atau penyakit BPKC. Penyakit ini mengakibatkan kerusakan tertinggi pada pertanaman cengkeh yaitu sebesar 10-15%.

Penyakit BPKC disebabkan oleh bakteri yang diidentifikasi sebagai *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*. Bakteri ini mempunyai kisaran inang yang sempit, hanya dapat menyerang cengkeh dan sedikit jenis tumbuhan yang mempunyai kekerabatan dekat dengan suku *Myrtaceae*. Cara penularannya pun sangat khusus, yaitu oleh Cercopoid marga *Hindola* (Eden-Green *et al.*, 1987). Di Sumatera terdapat *Hindola fulva* dan di Jawa Barat terdapat *Hindola striata*. Penyakit BPKC juga dapat disebarkan oleh bibit-bibit cengkeh yang terinfeksi, tetapi belum menunjukkan gejala (Semangun, 2008). Pengetahuan mengenai penyakit BPKC dirasa masih kurang untuk dapat dipakai sebagai dasar pengelolaan penyakit. Sampai sekarang belum ada cara yang memuaskan untuk menyembuhkan tanaman yang sudah sakit. Pengendalian penyakit pada tanaman cengkeh sampai saat ini masih mengandalkan pestisida. Akan tetapi penggunaan pestisida yang terus menerus menimbulkan dampak negatif, yaitu mencemari lingkungan, membunuh serangga bukan sasaran (parasitoid, predator, dan penyerbuk), serta terbentuknya resistensi.

Penggunaan agensia pengendali hayati pada dasarnya adalah pemanfaatan dan penggunaan mikroorganisme untuk mengendalikan penyakit. Mikroorganisme yang banyak diteliti umumnya adalah mikroorganisme yang berasosiasi dengan tanaman terutama yang berasosiasi mutualisme seperti PGPR. Di samping rizosfer, beberapa bakteri juga ditemukan hidup di dalam jaringan tanaman seperti biji, akar, batang, bunga, buah dan daun (Hung *et al.*, 2007; Tanawy, 2009). Bakteri-bakteri tersebut mampu hidup dan berkolonisasi dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan dampak negatif, yang sering disebut dengan sifat endofit. Dengan berbagai kemampuannya dalam mendukung tanaman, bakteri yang diisolasi dari jaringan tanaman dan daerah sekitar perakaran tanaman atau rizobakteri menjadi salah satu kandidat yang dapat

dikembangkan sebagai agens hayati. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, bakteri yang diisolasi dari jaringan tanaman dan daerah sekitar perakaran tanaman diketahui berkemampuan mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Beberapa genus bakteri yang tergolong sebagai rizobakteri seperti *Bacillus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* dan *Burkholderia* banyak ditemukan hidup di dalam jaringan tanaman. Hardoim *et al.* (2008) menyatakan bahwa bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman pada umumnya merupakan bakteri yang hidup di sekitar perakaran dan berpenetrasi melalui celah yang terbentuk pada akar, luka permukaan yang disebabkan oleh nematoda maupun melalui stomata. Bakteri tersebut mempunyai materi genetik yang dapat menyebar di dalam jaringan tanaman.

Dari latar belakang yang dikemukakan, dapat dirumuskan masalah diantaranya hingga saat ini belum ada penelitian yang meninjau pengaruh bakteri yang diisolasi dari jaringan tanaman dan daerah perakaran cengkeh serta mikroorganisme yang berasosiasi dengan tanaman terutama yang berasosiasi mutualisme seperti PGPR untuk meningkatkan pertumbuhan dan menekan penyakit BPKC yang sering dialami tanaman cengkeh. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan menyeleksi berbagai bakteri hasil isolasi dari jaringan tanaman cengkeh dan mikroorganisme yang berasosiasi dengan tanaman.

Tujuan penelitian ini adalah: 1. Melakukan isolasi bakteri endofit dan rizobakteri dari tanaman cengkeh; 2. Mengkarakterisasi isolat bakteri endofit dan rizobakteri dari tanaman cengkeh secara morfologi dan fisiologi.

Bahan dan Metode

Bakteri endofit dan rizobakteri didapat dari hasil isolasi jaringan tanaman cengkeh sehat yang diambil dari PT. Perkebunan Cengkeh Selokaton, Sukorejo, Kabupaten Kendal, Jawa Tengah (Dwimartina *et al.*, 2017).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat isolasi bakteri, alat sterilisasi, timbangan, mikroskop, seperangkat alat uji molekuler (PCR, elektroforesis, sentrifus, pipet mikro, dll), lampu uv, kamera dan alat tulis.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitopatologi Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian UGM. Penelitian rumah kaca dilaksanakan di Rumah Kaca Fakultas Pertanian. Penelitian dimulai dari bulan Agustus 2016 sampai dengan April 2017.

Pengambilan Sampel Tanaman di Lapangan Sampel Tanaman Sehat

Sampel tanaman sehat diambil di kebun milik PT. Perkebunan Cengkeh. Tanaman dipilih dari populasi tanaman yang menunjukkan kondisi paling baik diantara tanaman lainnya. Kondisi yang dilihat yaitu kesuburan maupun kesehatan tanaman cengkeh. Tujuan pengambilan sampel adalah untuk mendapatkan isolat bakteri endofit antagonis dari dalam jaringan tanaman sehat. Unit sampel berupa ranting, bunga, akar dan daun dari tanaman yang menunjukkan kondisi pertumbuhan yang paling baik. Sampel diletakkan di dalam amplop kertas dan dimasukkan ke dalam plastik sebelum digunakan untuk isolasi bakteri endofit (Ismiyatuningsih, 2016).

Sampel Tanah

Sampel tanah diambil di kebun milik PT. Perkebunan Cengkeh dari daerah perakaran (rizosfer) tanaman sehat. Tanaman dipilih dari populasi tanaman yang menunjukkan kondisi pertumbuhan paling baik. Tujuan pengambilan sampel adalah untuk mendapatkan isolat rizobakteri antagonis dari tanah sekitar perakaran tanaman cengkeh.

Isolasi Bakteri

Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi dilakukan di Laboratorium Fitopatologi Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian UGM dengan mengadaptasi metode isolasi yang dilakukan oleh Hallmann *et al.* (1997). Bagian akar, ranting, dan daun dipotong-potong dan dicuci dengan air yang mengalir untuk dihilangkan partikel tanah maupun kotoran yang masih menempel pada jaringan tanaman tersebut. Jaringan tanaman disterilisasi permukaannya dengan cara direndam dalam larutan NaClO 0.05% selama 5 menit, dan dibilas empat kali dengan akuades steril, dengan menggunakan pinset steril jaringan tanaman yang tidak lunak dicelupkan ke dalam petridish yang berisi ethanol 70% dan dilewatkan diatas api bunsen untuk proses sterilisasi, untuk bagian jaringan yang lunak hanya direndam alkohol 70%. Jaringan yang sudah disterilkan ditempelkan pada medium *Tryptone Soya Agar* (TSA) untuk memastikan bahwa tidak ada kontaminan yang terbawa. Jika dalam waktu 48 jam terdapat mikroba yang tumbuh pada TSA (kontrol) maka jaringan tersebut tidak digunakan dalam proses selanjutnya. Setelah diketahui tidak ada mikroba yang tumbuh, sampel jaringan tersebut digerus dan ditambahkan 3 ml *Tryptone Soya Broth* (TSB) kemudian suspensi jaringan yang telah dilumatkan tersebut diletakkan di atas media TSA dan diratakan dengan *L-glass*, kemudian diinkubasikan selama 48 jam.

Isolasi Rizobakteri

Isolasi dilakukan di Laboratorium Fitopatologi Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian UGM. Isolasi dilakukan menggunakan metode pengenceran bertingkat. Sebanyak 10 gram tanah masing-masing sampel tanah dimasukkan kedalam gelas erlenmeyer berisi 90 ml aquades steril, kemudian divortex selama 5 menit. Suspensi dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril sampai diperoleh pengenceran 10^{-10} . Masing-masing suspensi dari pengenceran 10^{-5} - 10^{-10} diambil 100 μ l dan ditumbuhkan ke medium Nutrient Agar (NA) dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu kamar dengan ulangan sebanyak tiga kali. Koloni isolat dimurnikan dengan teknik gores (*Streak Plate Method*) sampai diperoleh koloni sel tunggal (Hamaki *et al.*, 2005). Teknik ini dilakukan secara berulang sampai diperoleh koloni yang tumbuh terpisah sebagai indikasi awal kemurniannya (Dwimartina *et al.*, 2017).

Uji Morfologi

Uji morfologi koloni bakteri yang diamati mengikuti Capuccino dan Sherman (2002) dengan mengamati warna koloni, ukuran koloni, bentuk koloni, keadaan koloni, dan bentuk pinggir koloni bakteri yang mendekati dengan karakteristik bakteri *Bacillus subtilis* spp.

Uji Fisiologi

Uji Gram dengan KOH 3%

Uji yang dilakukan adalah uji Gram menggunakan KOH 3%. Isolat bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose dan dicampur dengan KOH 3% yang telah ditetaskan di gelas objek lalu dicampur dan diamati. Apabila terbentuk lendir dan terasa lengket ketika jarum inokulasi diangkat, maka hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri golongan Gram negatif dan sebaliknya jika tidak terbentuk lendir dan tidak lengket maka bakteri tersebut adalah bakteri golongan Gram positif (Schaad *et al.*, 2001).

Uji Pewarnaan Gram

Preparat yang telah difiksasi dengan isolat, kemudian ditetesi larutan kristal violet sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 20 detik, selanjutnya dicuci di bawah air mengalir dan dikeringanginkan. Larutan iodine ditetaskan sebanyak 2-3 tetes di atas permukaan preparat dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci di bawah air mengalir dan dikeringanginkan. Larutan etil alkohol 95% ditetaskan setetes demi setetes di atas permukaan lapisan preparat sampai kristal violet tercuci dan

kemudian dicuci di bawah air mengalir dan dikeringanginkan. Larutan safranin ditetaskan di atas permukaan kaca obyek dan didiamkan selama 20 detik, dicuci di bawah air mengalir dan dikeringanginkan. Preparat diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 1000x dengan bantuan minyak imersi (Cappucino dan Sherman, 1992).

Uji Oksidase

Uji oksidase menggunakan kertas saring yang telah diberi larutan p-amino dimethylaniline-oxalat 1% (Kovács, 1956). Satu ose koloni bakteri dioleskan di atas tetesan p-amino dimethylaniline-oxalat 1%. Jika koloni berubah warna menjadi ungu maka menunjukkan hasil positif dan jika tidak adanya perubahan warna ungu menunjukkan hasil negatif.

Uji Katalase

Isolat bakteri digoreskan secara aseptis ke gelas objek dan kemudian pada permukaannya ditetesi sebanyak satu tetes larutan H_2O_2 3%. Hasil positif ditandai dengan timbulnya gas atau gelembung udara di sekitar goresan bakteri tersebut (Harley dan Prescott, 2002).

Uji Hidrolisis Arginin

Hidrolisis arginin diuji dengan menumbuhkan isolat dalam media Moeller's lysine decarboxylase broth dengan tambahan lisin (LDC). Hasil positif ditunjukkan dengan berubahnya warna media menjadi merah setelah masa inkubasi selama 24 jam pada suhu kamar (Harley dan Prescott, 2002).

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri Endofit

Dari hasil isolasi didapat sebanyak total 46 isolat bakteri endofit dari bagian akar, batang, daun, dan bunga tanaman cengkeh sehat dari lahan milik PT. Perkebunan Cengkeh, Selokaton, Sukorejo, Kabupaten Kendal, Jawa Tengah, berturut-turut 10 isolat berasal dari bagian akar, 7 isolat berasal dari bagian batang, 12 isolat berasal dari bagian daun, dan 17 isolat berasal dari bagian bunga.

Isolasi Rizobakteri

Sebanyak total 66 isolat rizobakteri berhasil diisolasi dari bagian tanah sekitar perakaran tanaman cengkeh sehat dari lahan milik PT. Perkebunan Cengkeh, Selokaton, Sukorejo, Kabupaten Kendal, Jawa Tengah.

Sifat morfologi koloni bakteri

Berdasarkan 46 isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi ditemukan adanya perbedaan morfologi koloni, warna dan bentuk bakteri. Diketahui adanya 6 morfotip yang berbeda, yaitu koloni bakteri berwarna kuning terang melingkar berlendir *entire*, putih pucat tidak teratur tidak berlendir *undulate*, putih transparan melingkar berlendir *entire*, putih pucat melingkar tidak berlendir *entire*, putih pucat kecoklatan tidak teratur tidak berlendir *undulate*, dan kuning gelap menuju orange melingkar berlendir *entire*. Hasil isolasi menunjukkan bahwa bakteri yang memiliki warna koloni putih pucat tidak teratur tidak berlendir *undulate* merupakan bakteri yang dominan ditemukan, dengan frekuensi sebesar 43,47%. Menurut Hallmann *et al.* (1997), mekanisme invasi bakteri endofit ke dalam jaringan tanaman dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain masuk melalui stomata, lentisel, luka alami, trikoma yang rusak, titik tumbuh akar lateral, radikula yang sedang tumbuh, jaringan akar meristematik yang tidak terdiferensiasi, serangan pada dinding sel rambut akar, melalui enzim yang mendegradasi ikatan polisakarida dinding sel. Jalan alternatif lainnya diduga bakteri masuk melalui penyerapan unsur hara tanaman secara pasif akibat transpirasi tanaman, kemudian bakteri endofit tumbuh dan hidup di jaringan vaskular dari tanaman inangnya (Stone *et al.*, 2000). Jaringan vaskular (pembuluh) terdapat di seluruh tubuh tanaman, mengangkut air dan unsur hara dari akar menuju tunas (Campbell *et al.*, 2002).

Berdasarkan morfologi warna koloni dan bentuk rizobakteri yang didapatkan, diperoleh 1 morfotipe yang sama, yaitu koloni bakteri berwarna putih pucat tidak teratur tidak berlendir *undulate* (Gambar 1). Hasil isolasi menunjukkan bahwa rizobakteri yang memiliki warna koloni putih pucat tidak teratur tidak berlendir *undulate* merupakan bakteri yang dominan ditemukan (Tabel 1). Kuswinanti *et al.* (2014) dalam penelitiannya menunjukkan hasil dari rizosfer tanaman kentang, padi, bambu dan terung belanda, serta dua jenis bahan organik berhasil diisolasi sebanyak 74 isolat bakteri, yang terdiri atas 31 isolat rizobakteri dari rizosfer pertanian dan 43 isolat dari bahan organik.

Gambar 1. Contoh perbedaan bentuk koloni bakteri yang berhasil diisolasi

Tabel 1. Morfologi isolat bakteri endofit dan rizobakteri dari tanaman cengkeh.

Morfologi Bakteri Endofit dan Rizobakteri													
No	A	B	C	D (mm)	E	F	No	A	B	C	D (mm)	E	F
1	Daun 1-1	M	KT	2-3	Be	<i>E</i>	57	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
2	Daun 1-2	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	58	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
3	Daun 1-3	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	59	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
4	Daun 1-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	60	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
5	Daun 1-5	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	61	Tanah 10-7	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
6	Daun 1-6	M	PT	1-2	Be	<i>E</i>	62	Tanah 10-7	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
7	Batang 1-1	M	PT	1-2	Be	<i>E</i>	63	Tanah 10-7	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
8	Batang 1-2	M	KT	2-3	Be	<i>E</i>	64	Tanah 10-7	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
9	Bunga 1-1	M	KT	2-3	Be	<i>E</i>	65	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
10	Bunga 1-2	M	PT	1-2	Be	<i>E</i>	66	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
11	Bunga 1-3	M	PP	3-4,5	TBe	<i>E</i>	67	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
12	Akar 1-1	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	68	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
13	Akar 1-2	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	69	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
14	Akar 1-3	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	70	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
15	Akar 1-4	TT	K	2-3	TBe	<i>U</i>	71	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
16	Akar 1-5	M	PP	3-4,5	TBe	<i>E</i>	72	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
17	Akar 2-1	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	73	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
18	Akar 2-2	M	PT	1-2	Be	<i>E</i>	74	Tanah 10-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
19	Daun 2-1	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	75	Tanah 10-5	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
20	Daun 2-2	TT	K	2-3	TBe	<i>U</i>	76	Tanah 10-5	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
21	Daun 2-3	M	PP	3-4,5	TBe	<i>E</i>	77	Tanah 10-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
22	Bunga 2-1	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	78	Tanah 10-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
23	Bunga 2-2	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	79	Tanah 10-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
24	Bunga 2-3	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	80	Tanah 10-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
25	Bunga 2-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	81	Tanah 10-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
26	Bunga 2-5	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	82	Tanah 10-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
27	Bunga 2-6	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	83	Tanah 10-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>
28	Bunga 2-7	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>	84	Tanah 10-4	TT	PP	3-4	TBe	<i>U</i>

29	Bunga 2-8	TT	PP	3-4	TBe	U	85	Tanah 10-3	TT	PP	3-4	TBe	U
30	Bunga 2-9	TT	PP	3-4	TBe	U	86	Tanah 10-3	TT	PP	3-4	TBe	U
31	Bunga 2-10	TT	PP	3-4	TBe	U	87	Tanah 10-3	TT	PP	3-4	TBe	U
32	Bunga 2-11	TT	PP	3-4	TBe	U	88	Tanah 10-3	TT	PP	3-4	TBe	U
33	Bunga 2-12	TT	K	2-3	TBe	U	89	Tanah 10-3	TT	PP	3-4	TBe	U
34	Batang 2-1	TT	K	2-3	TBe	U	90	Tanah 10-3	TT	PP	3-4	TBe	U
35	Batang 2-2	M	PP	3-4,5	TBe	E	91	Tanah 10-2	TT	PP	3-4	TBe	U
36	Batang 2-3	M	KT	2-3	Be	E	92	Tanah 10-2	TT	PP	3-4	TBe	U
37	Akar 3-1	M	KT	2-3	Be	E	93	Tanah 10-2	TT	PP	3-4	TBe	U
38	Akar 3-2	M	KT	2-3	Be	E	94	Tanah 10-2	TT	PP	3-4	TBe	U
39	Akar 3-3	M	PP	3-4,5	TBe	E	95	Tanah 10-2	TT	PP	3-4	TBe	U
40	Batang 3-1	M	KT	2-3	Be	E	96	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
41	Batang 3-2	M	KG MO	1-2	Be	E	97	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
42	Bunga 3-1	M	PP	3-4	TBe	E	98	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
43	Bunga 3-2	TT	K	2-3	TBe	U	99	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
44	Daun 3-1	M	KT	2-3	Be	E	100	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
45	Daun 3-2	M	PP	3-4	TBe	E	101	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
46	Daun 3-3	M	KT	2-3	Be	E	102	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
47	Tanah 10-9	TT	PP	3-4	TBe	U	103	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
48	Tanah 10-9	TT	PP	3-4	TBe	U	104	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
49	Tanah 10-9	TT	PP	3-4	TBe	U	105	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
50	Tanah 10-9	TT	PP	3-4	TBe	U	106	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
51	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	U	107	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
52	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	U	108	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
53	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	U	109	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
54	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	U	110	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
55	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	U	111	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U
56	Tanah 10-8	TT	PP	3-4	TBe	U	112	Tanah 10-1	TT	PP	3-4	TBe	U

Keterangan: A= Kode sampel, B= Bentuk, C= Warna, D= Ukuran, E= Keadaan, F= Pinggiran., M= Melingkar, TT= Tidak Teratur., KT= Kuning Terang, PP= Putih Pucat, PT= Putih Transparan, K= Kecoklatan, KGMO= Kuning Gelap Menuju Orange., Be= Berlendir, TBe= Tidak Berlendir., U= Undulate, E= Entire.

Karakterisasi Fisiologi Isolat Bakteri Endofit dan Rizobakteri

Hasil uji Gram menggunakan KOH 3% yang dilakukan pada isolat bakteri endofit dan rizobakteri menunjukkan hasil kedua bakteri tersebut masuk kedalam bakteri Gram positif (Gambar 2). Isolat bakteri endofit dan rizobakteri bereaksi positif (+) pada uji Oksidase dan Katalase, sedangkan pada uji Hidrolisis Arginin bakteri endofit dan rizobakteri bereaksi negatif (-). Hasil uji fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit dan rizobakteri terpilih memiliki kesamaan karakter dengan *Bacillus* spp.

Gambar 2. Koloni bakteri berbentuk batang (basil)

Untuk mengetahui bentuk morfologi, maka dilakukan pengecatan pada bakteri menggunakan safranin dan diamati pada mikroskop. Hasil pengamatan morfologi menggunakan mikroskop dari isolat bakteri endofit dan rizobakteri yang terlihat dari bakteri berbentuk batang (basil). Metode pewarnaan dari morfologi ini mengikuti metode pewarnaan yang preparatnya sudah terlebih dahulu dimatikan dengan cara dilewatkan di atas busen sebelum diberi pewarna safranin. Morfologi basil ini pada umumnya dapat menggambarkan jenis dari suatu genus bakteri. Menurut Dwijoseputro (2005) basil adalah morfologi sel dari bakteri yang berbentuk batang atau silinder. Bentuk basil ini merupakan salah satu bentuk dari 3 morfologi bakteri yang ada pada sel prokariot (basil, kokus, dan spiral). Terdapat 3 jenis bentuk pada morfologi basil yaitu monobacillus yang merupakan bakteri berbentuk batang tunggal, diplobacillus yang merupakan bakteri berbentuk batang yang tersusun berpasangan, dan streptobacillus yang merupakan bakteri berbentuk batang yang tersusun seperti rantai.

Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil isolasi, didapat sebanyak total 46 isolat bakteri endofit dari bagian akar,

batang, daun, dan bunga tanaman cengkeh sehat.

2. Sebanyak total 66 isolat rizobakteri berhasil diisolasi dari bagian tanah sekitar perakaran tanaman cengkeh sehat.
3. Diketahui adanya 6 morfotip yang berbeda, yaitu koloni bakteri berwarna kuning terang melingkar berlandir *entire*, putih pucat tidak teratur tidak berlandir *undulate*, putih transparan melingkar berlandir *entire*, putih pucat melingkar tidak berlandir *entire*, putih pucat kecoklatan tidak teratur tidak berlandir *undulate*, dan kuning gelap menuju orange melingkar berlandir *entire*.
4. Hasil isolasi menunjukkan bahwa rizobakteri yang memiliki warna koloni putih pucat tidak teratur tidak berlandir *undulate* merupakan bakteri yang dominan ditemukan.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penulisan karya tulis ini, khususnya PT. Perkebunan Cengkeh, Selokaton, Sukorejo, Kabupaten Kendal, Jawa Tengah, Tim Pembimbing dan Tim Penelaah atas arahan dan masukannya.

Daftar Pustaka

- Anonim. (2015). Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Cengkeh 2014-2016. Direktorat Jenderal Perkebunan. Jakarta, Indonesia.
- Cappucino, J.C. dan Sherman, N. (1992). *In microbiology: A Laboratory Manual 3rd edition*. New York: Benjamin/Cumming Pub.co.
- Champbell, N.A., Reece, J.B., dan Mitchell, L.G. (2002). *Biology, fifth edition (Biologi, Edisi Kelima)*. 352-357.
- Dwidjoseputro, D. (2005). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan, Malang. 103p.
- Dwimartina, F., Arwiyanto, T., dan Joko, T. (2017). Potetial of Endophytic and Rhizobacteria as an Effective Biocontrol for *Ralstonia syzygii* subsp. *Syzygii*. *Asian Journal of Plant Pathology*, 11:11-198.
- Eden-Green, S.J., Balfas, R., dan Jamalius. (1987). Transmission of xylem limited bacteria causing Sumatra Disease of cloves in Indonesia by tube building Cercopoids, *Hindola* spp. (Homoptera: Machaerotidae). *Proc. Workshop Leafhoppers and Planthoppers of Econ. Importance*, Provo, Utah, Amerika Serikat.

- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., dan Kloepper, J. W. (1997). Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. *Journal Microbiology*. 43: 895-914.
- Hamaki, T., Suzuki, M., Fudou, R., Jojima, Y., Kajiura, T., Tabuci, A., Sen, K., dan Shibai, H. (2005). Isolation of novel bacteria and *actinomycetes* using soil-extract agar medium. *Journal Bioscience and Bioengineering*. 99(5): 485-492.
- Hardoim, P.R., Overbeek, L.S.V., & Elsas, J.D.V. 2008. Properties of Bacterial Endophytes and Their Proposed Role in Plant Growth. *Trends in Microbiology*. 463-471.
- Harley & Prescott. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology 5th Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies.
- Hung, P.Q., Kumar, S.M., Govindsamy, V., dan Annapurna, K. (2007). Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria from Wild and Cultivated Soybean Varieties. *Biology Fertilizer Soils*. 155-162.
- Ismiyatuningsih, T. Joko dan S. Hartono. (2016). Survey and detection of *Pectobacterium atrosepticum* in major potato-growing areas in Central Java Province, Indonesia. *Ilmu Pertanian*. 1: 1-6.
- Juliarta, I.K., Sudana, M. dan Adiartayasa, W. (2015). Pengendalian Jamur Akar Putih (*Rigidoporus* sp.) Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) secara Hayati dan Nabati di Rumah Kaca. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 4(2): 93-99.
- Kovács, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*. 178:703.
- Kuswinanti, T., Baharuddin., dan Sukmawati, S. (2014). Efektivitas Isolat Bakteri dari Rizosfer dan Bahan Organik Terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* pada Tanaman Kentang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 10(2): 68-72.
- Lestari, P., Suryadi, Y., Susilowati, D.N., Priyatno, T.P. dan Samudra, I.M. (2015). Karakterisasi Bakteri Penghasil Asam Indol Asetat dan Pengaruhnya Terhadap Vigor Benih Padi. *Berita Biologi*. 14(1): 18-28.
- Schaad, N.W., Bones, J.B. dan Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria*. APS Press, St. Paul Minnesota.
- Semangun, H. (2008). *Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. 459-466.
- Stone, J.K., Bacon, C.W. dan White, J.F.Jr. (2000). An overview of endophytic microbes: endophytism. *Microbial endophytes*. New York: Marcel Dekker, Inc: 3-29.
- Tanawy, E. A. (2009). Acquainting with Salt Tolerant Endophytic Bacteria Isolated from Rice. *Plant Growth*. 1(2): 72-79.