

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Morfologi Isolat Bakteri Endofit

Bakteri endofit juga hidup di dalam akar tanaman kentang. Akar menentukan kemampuan tanaman untuk menyerap nutrisi dan air, pertumbuhan akar ditentukan oleh area daun yang aktif melakukan fotosintesis karena akar bergantung pada penangkapan energi oleh daun. Pada saat suplai energi terbatas, maka energi yang ada digunakan oleh jaringan tanaman yang paling dekat dengan lokasi fotosintesis. Oleh karena itu akar menerima energi hanya pada saat ada kelebihan energi yang diproduksi melalui fotosintesis yang tidak digunakan untuk pertumbuhan bagian atas dari tanaman (Dewi, 2007). Bakteri endofit yang diperoleh dari akar tanaman kentang yang sehat ditumbuhkan di dalam cawan dengan media YPDA (*Yeast Potato Dextrose Agar*). Pertumbuhan isolat bakteri di media YPDA dapat dilihat pada gambar 4.1.



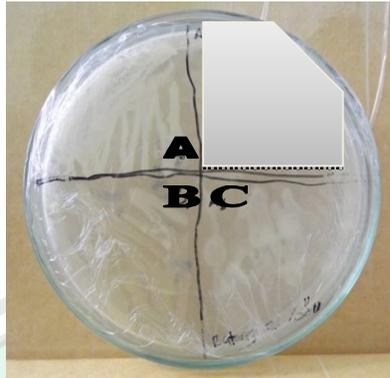
**Gambar 4.1:** Pertumbuhan isolat bakteri endofit pada media padat YPDA

Kolonisasi bakteri endofit pada lapisan luar sel (exodermis, sclerenchyma) dan korteks akar, terjadi secara inter dan intraseluler dalam waktu 2-3 minggu,

menyebabkan bagian aerenchyma (korteks) menjadi berair dan ini merupakan tempat terbesar bagi terbentuknya mikrokoloni. Sebagian besar kolonisasi secara interseluler menyebabkan pengambilan nutrient, terutama karbon oleh bakteri. Kadangkala bakteri endofit mampu melakukan penetrasi ke dalam akar sampai pada Stele, dan juga terdapat pada parenchyma dan dalam jaringan xylem (Prakamhang 2007).

Gambar 4.1 menunjukkan adanya pertumbuhan beberapa isolat bakteri endofit pada media padat YPDA seperti yang ditandai pada huruf A sampai dengan F. Lalu dari 6 isolat akar, diseleksi hanya digunakan 3 isolat yang memiliki morfologi berbeda saja. Kemudian bakteri endofit dari akar tanaman kentang ditumbuhkan pada media kuadran cawan sehingga dihasilkan isolat murni. Isolat murni dapat dilihat pada gambar 4.2.

Zinniel dkk (2002), menyatakan bahwa selain mampu melindungi tanaman dari serangan patogen, kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi nitrogen juga membantu meningkatkan tinggi tanaman. Adanya kemampuan isolat bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman disebabkan karena bakteri endofit mampu memproduksi fitohormon, meningkatkan produksi penyerapan mineral, fiksasi nitrogen, mengurangi kerusakan akibat perubahan cuaca dan meningkatkan ketahanan tanaman dari penyakit.



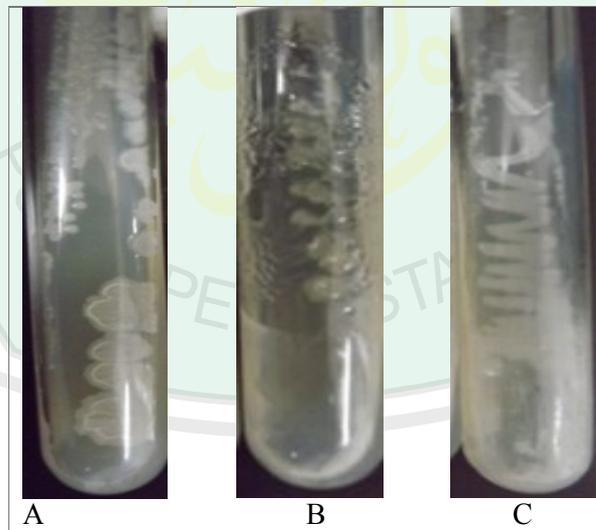
**Gambar 4.2:** Pertumbuhan isolat murni bakteri endofit akar tanaman kentang.

Berdasarkan gambar 4.2 menunjukkan karakteristik koloni yang berbeda pada masing-masing isolat. Isolat A menunjukkan ciri-ciri berbentuk koloni *circular* artinya tepian teratur, tidak patah, tepi koloni bergerigi (*serrate*), ukuran koloni lebar (*large*), dan warna koloni putih. Elevasi merupakan sudut pertumbuhan koloni pada permukaan agar, pada isolat A digambarkan cembung atau *convex*. Isolat B menunjukkan ciri-ciri tepian teratur, tidak patah, elevasi datar, tidak nyata, warna koloni putih kekuningan, tepi koloni berbentuk lekukan seperti gelombang (*undulate*), dan memiliki ukuran koloni sedang. Isolat C menunjukkan ciri-ciri tepian teratur, tidak patah, elevasi datar, tidak nyata, warna koloni putih kekuningan, tepi koloni menyebar, dan memiliki ukuran koloni lebar (*large*). Keterangan ini dapat dilihat pada tabel 4.1 sebagai berikut:

**Tabel 4.1:** Hasil pengamatan isolat pertumbuhan koloni dari Bakteri Endofit akar tanaman kentang

Identifikasi Awal	Isolat Pertumbuhan Koloni		
	A	B	C
Bentuk koloni	Tepian teratur, tidak patah ( <i>circular</i> )	Tepian teratur, tidak patah ( <i>circular</i> )	Tepian teratur, tidak patah ( <i>circular</i> )
Elevasi	Cembung	Datar, elevasi tidak nyata ( <i>Flat</i> )	Datar, elevasi tidak nyata ( <i>Flat</i> )
Warna koloni	Putih	Putih kekuningan	Putih
Tepi koloni	Bergerigi ( <i>serrate</i> )	Lekukan seperti gelombang ( <i>undulate</i> )	Tepian menyebar ( <i>Filamentous</i> )
Ukuran koloni	Lebar ( <i>large</i> )	Sedang (Moderate)	Lebar ( <i>large</i> )

Selanjutnya dari isolat murni dipindahkan dalam media miring untuk menghasilkan isolat tunggal. Isolat tunggal dapat dilihat pada gambar 4.3 sebagai berikut:



**Gambar 4.3:** Pertumbuhan isolat tunggal bakteri endofit

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni bakteri endofit dari tiap isolat tunggal ditunjukkan dalam tabel 4.2 yaitu sebagai berikut:

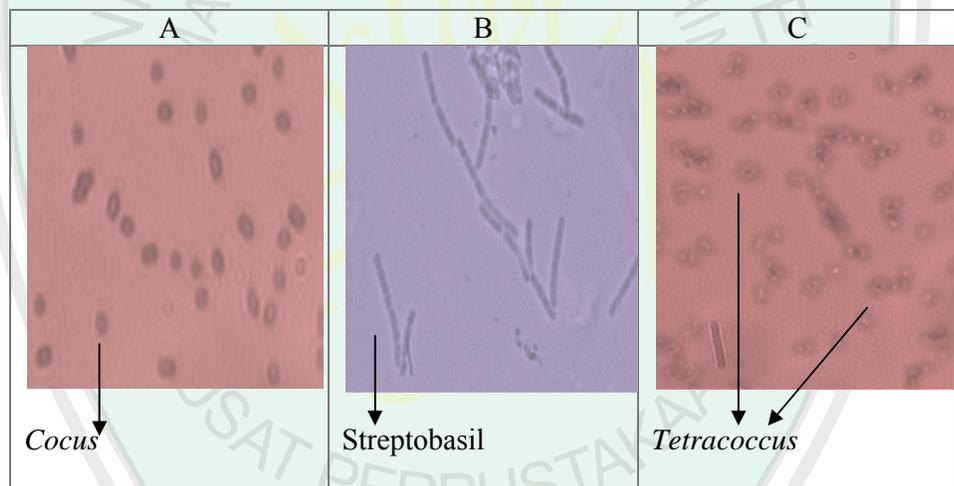
**Tabel 4.2:** Hasil pengamatan isolat morfologi koloni dari Bakteri Endofit akar tanaman kentang

Identifikasi Awal	Isolat Morfologi Koloni		
	A	B	C
Bentuk	Tipis, Menyebar ( <i>Effuse</i> )	Sinambung dengan tepian tidak rata ( <i>Echinulate</i> )	Sinambung dengan tepi rata ( <i>Filiform</i> )
Kelimpahan Pertumbuhan	Banyak	Banyak	Banyak
Letak pertumbuhan	Permukaan agar	Permukaan agar	Permukaan agar
Permukaan	Kasar	Mengkilap	Mengkilap
Tepi	Tidak rata	Tidak rata	Rata
Warna	Putih	Kuning	Putih
Konsistensi	Tidak tembus cahaya ( <i>opaque</i> )	Tidak tembus cahaya ( <i>opaque</i> )	Tidak tembus cahaya ( <i>opaque</i> )

Berdasarkan tabel 4.2 diketahui bahwa isolat morfologi koloni bakteri endofit A memiliki bentuk yang tipis, menyebar; pertumbuhan koloni banyak; letak pertumbuhan pada permukaan agar; permukaan kasar; tepi tidak rata; berwarna putih; konsistensi ini dapat dievaluasi berdasarkan banyaknya cahaya yang dilewatkan pada koloni yang tumbuh seperti isolat A yang menunjukkan tidak tembus cahaya. Isolat miring bakteri endofit B memiliki bentuk sinambung dengan tepian tidak rata; pertumbuhan koloni banyak; letak pertumbuhan pada permukaan agar; permukaan mengkilap; tepi tidak rata; berwarna kuning; dan tidak tembus cahaya. Isolat miring bakteri endofit C memiliki bentuk sinambung dengan tepi rata; pertumbuhan koloni banyak; letak pertumbuhan pada permukaan agar; permukaan mengkilap; tepi rata; berwarna putih; dan tidak tembus cahaya.

Pengamatan Gram pada isolat A menunjukkan bakteri Gram negatif dan bakteri berbentuk kokus. Pengamatan Gram pada isolat B menunjukkan Gram positif dan bentuk bakteri streptobasil. Gram positif memiliki ciri berwarna merah

karena mempertahankan kristal violet, selain itu bakteri Gram positif mempunyai lapisan peptidoglikan yang lebih tebal. Pengamatan Gram pada isolat C menunjukkan bakteri Gram negatif dan bentuk bakteri tetrakokus. Bakteri Gram negatif yaitu kebalikan Gram positif, di mana bakteri tersebut akan kehilangan warna ungunya setelah dicuci dikarenakan peptidoglikan Gram negatif lebih tipis dan jika dicuci dengan alkohol akan berubah warna menjadi merah. Bakteri endofit yang telah diperoleh dari akar tanaman kentang berbentuk kokus, streptobasil dan tetrakokus. Hasil pewarnaan Gram dan bentuk bakteri tersebut dapat dilihat pada gambar 4.4 sebagai berikut:



**Gambar 4.4:** Hasil Pewarnaan Gram bakteri endofit (A) Gram negatif (merah), (B) Gram positif (ungu) dan (C) Gram negatif (merah).

Pengamatan ini telah sesuai dengan Campbell dkk (2008), bahwa struktur dinding sel akan menentukan respon pewarnaan. Bakteri Gram positif yang sebagian dinding selnya mengandung peptidoglikan akan menjerat warna violet. Bakteri Gram negatif memiliki lebih sedikit peptidoglikan yang terletak di suatu gel periplasmik antara membrane plasma dan suatu membrane bagian luar. Zat

warna violet yang digunakan dalam pewarnaan Gram sangat mudah dibilas dari bakteri Gram negatif, akan tetapi selnya tetap menahan zat warna merah.

Kultur bakteri dilakukan setelah diperoleh isolat tunggal bakteri endofit dari akar, batang dan umbi *Solanum tuberosum* L. Media kultur yang digunakan adalah Luria Bertani (LB).



**Gambar 4.5 :** Kultur bakteri endofit dari akar tanaman kentang

Berdasarkan hasil pengamatan pada media kultur cair, bakteri endofit lebih cenderung pada kondisi anaerob. Hasil pengamatan tersebut dapat dilihat pada tabel 4.3 berikut :

**Tabel 4.3:** Pengamatan Pertumbuhan Bakteri pada Media Cair dan Pengamatan Kebutuhan O<sub>2</sub>

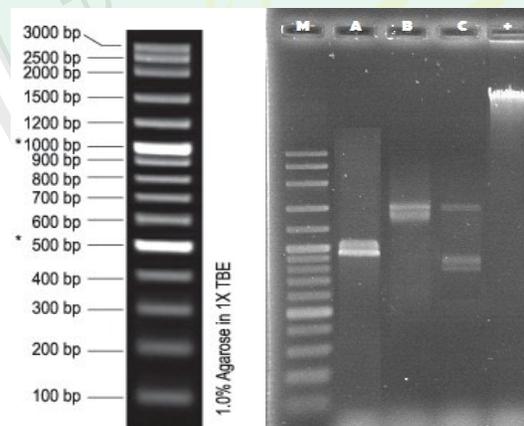
No.	Isolat	Pertumbuhan pada media cair	Ciri morfologi berdasarkan O <sub>2</sub>
1.	A	Menyebar tetapi tidak banyak bakteri yang tumbuh pada media ( <i>Uniform turbidity</i> )	Fakultatif anaerob
2.	B	Pertumbuhan yang menyebar ( <i>Flouculent growth</i> )	Fakultatif anaerob
3.	C	Pertumbuhan yang menyebar ( <i>Flouculent growth</i> )	Fakultatif anaerob

Berdasarkan tabel 4.3 dapat dilihat bahwa pertumbuhan bakteri pada media luria bertani dua isolat berwarna keruh menunjukkan pertumbuhan yang menyebar

(*Flouculent growth*), dan satu berwarna transparan menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri menyebar tetapi tidak banyak bakteri yang tumbuh pada media tersebut (*Uniform turbidity*). Berdasarkan kebutuhan  $O_2$ , secara keseluruhan sampel menunjukkan keadaan yang fakultatif anaerob. Golongan fakultatif anaerob merupakan organisme yang tidak dapat menggunakan oksigen sebagai akseptor electron secara langsung, sebagai pengganti oksigen dapat diambil dari garam-garam seperti  $NaNO_3$ ,  $Na_2SO_4$  atau karbonat. Hal ini ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar, tidak mengendap. Bagian paling banyak adalah bagian atas.

#### 4.2 Profil DNA Bakteri Endofit Berdasarkan Primer Penanda RAPD

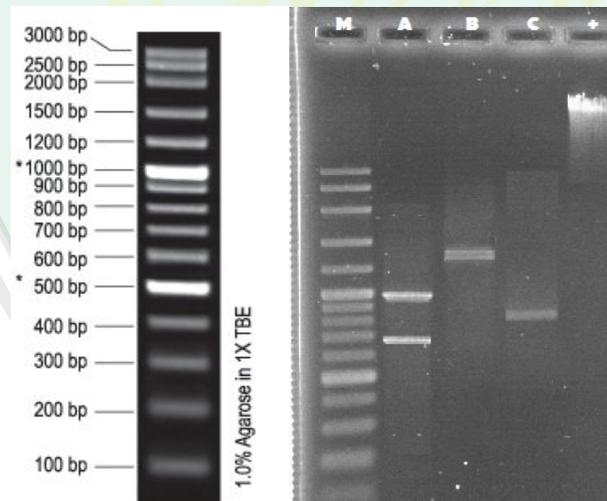
Profil DNA bakteri endofit berdasarkan Primer 27F dan 1492R yang di elektroforesis pada agarose 1% dengan aliran listrik 70 Volt ditampilkan pada gambar 4.6



**Gambar 4.6 :** Hasil PCR menunjukkan sidik jari (pita) DNA bakteri endofit dengan menggunakan Primer 27F dan 1492R yang di elektroforesis pada agarose 1% dengan aliran listrik 70 Volt: Penanda 100 bp ladder (kolom M), bakteri endofit A (kolom A), bakteri endofit B (kolom B), bakteri endofit C (kolom C), dan kontrol positif *E. coli* (kolom +).

Profil DNA pada gambar 4.6 menunjukkan bahwa Primer 27F dan 1492R ini telah diperoleh 2 pita DNA pada bakteri endofit A, 2 pita pada bakteri endofit B, dan 3 pita pada bakteri endofit C. Ukuran pita-pita DNA yang dihasilkan bervariasi, antara 800 bp sampai dengan ukuran 1.500 bp. Ukuran pita DNA pada bakteri endofit A jika diurutkan dari yang terendah menunjukkan 950 bp dan 1.000 bp. Ukuran pita DNA jika diurutkan dari yang terendah pada bakteri B menunjukkan 1.400 bp dan 1.500 bp. Ukuran pita DNA jika diurutkan dari yang terendah pada bakteri C menunjukkan 800 bp, 900 bp, dan 1.500 bp.

Profil DNA bakteri endofit berdasarkan Primer 16S rDNA *Forward* dan 16S rDNA *Reverse* yang di elektroforesis pada agarose 1% dengan aliran listrik 70 Volt ditampilkan pada gambar 4.7



**Gambar 4.7** : Hasil PCR menunjukkan sidik jari (pita) DNA bakteri endofit dengan menggunakan Primer umum gen 16S rDNA reverse dan 16S rDNA forward yang di elektroforesis pada agarose 1% dengan aliran listrik 70 Volt: Penanda 100 bp *ladder* (kolom M), bakteri endofit A (Kolom A), bakteri endofit B (Kolom B), bakteri endofit C (Kolom C), dan Kontrol positif *E. coli* (Kolom +).

Profil DNA pada gambar 4.7 menunjukkan bahwa dari Primer umum gen 16S rDNA yang digunakan dalam penelitian ini telah diperoleh 2 pita DNA pada bakteri endofit A, 1 pita pada bakteri endofit B, dan 1 pita pada bakteri endofit C. Ukuran pita-pita DNA yang dihasilkan bervariasi, antara 680 bp sampai dengan ukuran 1400 bp. Ukuran pita DNA pada bakteri endofit A jika diurutkan dari yang terendah menunjukkan 680 bp dan 900 bp. Ukuran pita DNA pada bakteri B menunjukkan 1400 bp. Ukuran pita DNA jika diurutkan dari yang terendah pada bakteri C menunjukkan 800 bp.

Penggunaan teknik RAPD baik pada primer 27F/1492R maupun 16S rDNA reverse/forward sebagai penanda molekuler pada penelitian ini, memperlihatkan tingkat polimorfis yang tinggi (>50% pita polimorfik). Dari kedua jenis primer tidak ada pita yang monomorfik, artinya kedua primer bisa menunjukkan bahwa ketiga isolat bakteri secara molekuler berbeda. Tingginya polimorfis pita pada penelitian ini juga menunjukkan tingginya keragaman genetik pada bakteri endofit yang diamati. Polimorfis genetik didefinisikan sebagai adanya individu-individu dengan sifat genetik yang berlainan tetapi hidup secara bersamaan dalam populasi.

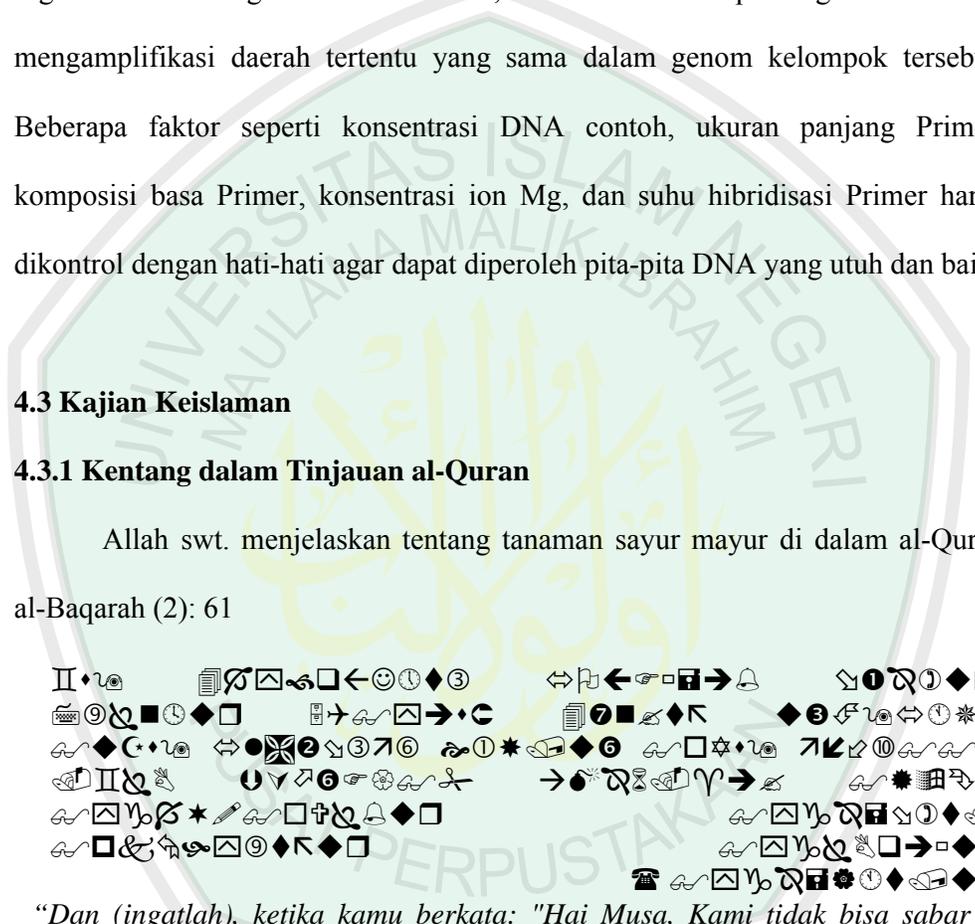
Menurut Soemantri et al (2002) dari tingkat polimorfisme juga dapat dilihat bahwa primer tersebut menunjukkan polimorfisme yang cukup tinggi. Pemilihan primer pada analisis RAPD berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri, akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda, baik dalam ukuran banyaknya pasang basa maupun jumlah pita DNA.

Menurut Suryanto (2003), amplifikasi RAPD membutuhkan Primer spesifik (sekuen oligonukelotida khusus) untuk daerah tersebut. Makin panjang Primer, makin harus spesifik daerah yang diamplifikasi. Jika suatu kelompok organisme memang berkerabat dekat, maka Primer dapat digunakan untuk mengamplifikasi daerah tertentu yang sama dalam genom kelompok tersebut. Beberapa faktor seperti konsentrasi DNA contoh, ukuran panjang Primer, komposisi basa Primer, konsentrasi ion Mg, dan suhu hibridisasi Primer harus dikontrol dengan hati-hati agar dapat diperoleh pita-pita DNA yang utuh dan baik.

### 4.3 Kajian Keislaman

#### 4.3.1 Kentang dalam Tinjauan al-Quran

Allah swt. menjelaskan tentang tanaman sayur mayur di dalam al-Quran al-Baqarah (2): 61



“Dan (ingatlah), ketika kamu berkata: "Hai Musa, Kami tidak bisa sabar (tahan) dengan satu macam makanan saja. sebab itu mohonkanlah untuk Kami kepada Tuhanmu, agar Dia mengeluarkan bagi Kami dari apa yang ditumbuhkan bumi, Yaitu sayur-mayurnya, ketimunnya, bawang putihnya, kacang adasnya, dan bawang merahnya", (Qs. al-Baqarah (2): 61).

Ayat di atas menjelaskan tentang keanekaragaman tumbuhan ciptaan Allah swt., berbagai macam tumbuhan yang disebutkan adalah *sayur-mayur*, *ketimun*, *bawang putih*, *kacang adas*, dan *bawang merah*. Salah satu jenis tanaman sayur-



Menurut ayat diatas “binatang melata” dapat dimaknai sebagai segenap makhluk hidup yang bernyawa. Salah satu jenis makhluk hidup yang telah diciptakan oleh Allah adalah bakteri endofit. Bakteri endofit awalnya berasal dari lingkungan eksternal dan masuk ke dalam tanaman melalui stomata, lentisel, luka (seperti adanya trichoma yang rusak), melalui akar lateral dan akar yang berkecambah (Kaga, 2009).

#### 4.3.3 Karakteristik DNA dalam Tinjauan al-Quran

Allah Swt. berfirman di dalam al-Quran surat al-Qamar/54 : 51-53, yaitu:



*“Dan sesungguhnya telah Kami binasakan orang yang serupa dengan kamu. Maka adakah orang yang mau mengambil pelajaran?. Dan segala sesuatu yang telah mereka perbuat tercatat dalam buku-buku catatan. Dan segala (urusan) yang kecil maupun yang besar adalah tertulis.”, (Qs. al-Qamar/54 : 51-53).*

Maksud dari surat al-Qamar ayat 51 adalah Allah swt. berfirman bahwa manusia sepatutnya bersyukur dan mengambil pelajaran secara sungguh-sungguh atas segala sesuatu ciptaan Allah swt. yang ada di bumi. Allah swt. telah menyampaikan secara terperinci sebagaimana proses kehidupan makhluk hidup mulai dari “sesuatu yang kecil” yang dapat diartikan sebagai suatu komponen kehidupan yang tidak tampak dengan alat indra secara langsung seperti DNA. Sedangkan “sesuatu yang besar” dapat diartikan sebagai suatu kehidupan yang

tampak dengan alat indra seperti makhluk hidup salah satunya tanaman kentang. DNA merupakan komponen dari suatu makhluk hidup yang membawa kode-kode genetik, dimana kode-kode genetik tersebut akan membentuk karakteristik tertentu dari suatu makhluk hidup. Suatu karakteristik dapat mencirikan perbedaan makhluk hidup yang satu dengan yang lain. Perbedaan karakteristik suatu makhluk hidup ini dapat dipelajari lebih mendalam melalui bidang molekuler.

Berdasarkan hadist shahih Muslim yang menjelaskan tentang kemiripan gen pada diri setiap makhluk hidup, yaitu sebagai berikut:

Diriwayatkan dari Aisyah, ia berkata: seorang wanita berkata kepada Rasulullah Saw., *“Apakah seorang wanita harus mandi apabila bermimpi dan melihat air mani?”* Beliau menjawab, *“Ya.”* Maka Aisyah berkata kepadanya, *“Serius kamu akan bertanya?”* aisyah berkata, *“Maka Rasulullah Saw. bersabda, “Biarkanlah dia (bertanya). Tidaklah kemiripan gen terjadi melainkan dari sisi tersebut. Apabila air mani wanita tersebut mengalahkan air mani suaminya maka anaknya mirip dengan garis keturunan ibunya. Dan apabila air mani suaminya mengalahkan air maninya maka anaknya mirip dengan garis keturunan bapaknya”, (HR. Muslim, 472).*

Hadits diatas menjelaskan bahwa makhluk hidup baru dapat memiliki kemiripan karakter dengan para pendahulunya dan juga ada perbedaan dalam beberapa segi karakter lainnya. Allah swt. menciptakan keanekaragaman karakter antara kedua induk dan anak yang semakin memperkaya khazanah hidup dan menjadikannya lebih hidup. Keragaman ini juga membuktikan absolutitas kekuasaan Allah swt. yang telah mendesain sedemikian rupa proses yang terjadi didalam zygote sehingga tercipta tumbuhan, hewan, manusia sebagai makhluk hidup baru yang mirip dengan pendahulunya (Azwar, 2011).

Genetika merupakan pewarisan dan keragaman ciri-ciri suatu organisme, baik organisme itu uniseluler maupun multiseluler. Keragaman ini berkaitan dengan dua sifat sel atau organisme, yaitu genotip dan fenotip. Genotip mengacu pada komposisi sel genetik sel. Fenotip mengacu pada ekspresi genotip dalam bentuk sifat-sifat yang dapat diamati dan khas bagi sel atau organisme yang bersangkutan. Genotip suatu biakan sel relatif konstan selama pertumbuhannya, tetapi dapat berubah melalui mutasi. Perubahan ini mengakibatkan sifat-sifat fenotip sel pun ikut berubah. Genotip suatu sel ditentukan oleh informasi genetik yang dikandung kromosomnya. Kromosom sel dibentuk dari DNA. Sandi genetik dibawa oleh DNA dan dihantarkan dari generasi ke generasi melalui replikasi DNA. DNA terdiri dari dua utas, saling membelit membentuk helik ganda. setiap utas heliks DNA terdiri dari nukleotida-nukleotida yang bergabung membentuk polinukleotida. setiap nukleotida terbentuk dari 3 bagian yaitu basa nitrogen berupa purin-pirimidin, gula deoksiribosa dan fosfat (Pelczar, 2008).