

## **ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT DARI AKAR *Avicennia marina* DI KAWASAN MANGROVE PANTAI TIRANG, SEMARANG**

### ***Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria from Avicennia marina Roots in The Mangrove Area, Tirang Beach, Semarang***

**Nur Handayani<sup>1</sup>, Aninditia Sabdaningsih<sup>1\*</sup>, Oktavianto Eko Jati<sup>1</sup>, Diah Ayuningrumi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Sumber Daya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof Soedarto SH, Tembalang, Semarang, Indonesia 50275; Telephone/Fax: 024-76480685

Email: [nurhandayani1122@gmail.com](mailto:nurhandayani1122@gmail.com), [oktavianto.ekojati@live.undip.ac.id](mailto:oktavianto.ekojati@live.undip.ac.id),  
[diahayuningrum21@lecturer.undip.ac.id](mailto:diahayuningrum21@lecturer.undip.ac.id)

*Diserahkan tanggal: 3 Agustus 2023, Revisi diterima tanggal: 13 September 2023*

#### **ABSTRAK**

*Avicennia marina* merupakan salah satu spesies mangrove yang cukup penting bagi lingkungan. Struktur mangrove *A. marina* yang tinggi dan kokoh menjadikan tumbuhan ini sebagai bagian penting dalam rantai makanan dan bagi kehidupan biota asosiasi mangrove, baik makro maupun mikroorganisme. Mikroorganisme yang berasosiasi dengan mangrove salah satunya ialah bakteri endofit. *A. marina* termasuk salah satu tumbuhan yang merupakan sumber bakteri endofit. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui kelimpahan jenis bakteri endofit yang hidup pada jaringan akar *A. marina*. Penelitian ini dilakukan pada Desember 2022 - Februari 2023 menggunakan metode deskriptif eksploratif. Tahapan penelitian terdiri dari sterilisasi permukaan sampel, isolasi bakteri pada media *Peptone Yeast Agar* (PYA), perhitungan *Total Plate Count* (TPC) serta karakterisasi morfologi bakteri. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini menunjukkan bahwa sampel akar yang berasal dari Stasiun II (dekat tambak) memiliki kelimpahan terbanyak dengan nilai TPC sebesar  $2,51 \times 10^4$  CFU/mL dan koloni bakteri pada sampel akar *A. marina* memiliki karakter morfologi berbentuk bulat, elevasi cembung, tepi rata atau bergelombang dan berwarna putih susu.

**Kata Kunci:** *Avicennia marina*, Endofit, Kelimpahan, Morfologi

#### **ABSTRACT**

*Avicennia marina* is one of the most environmentally essential mangrove species. The tall and sturdy structure of *A. marina* makes this plant a necessary part of the food chain and for the life of mangrove-associated biota, both macro and microorganisms. One of the microorganisms associated with mangroves is endophytic bacteria. *A. marina* is one of the plants that is a source of endophytic bacteria. This study aims to isolate and determine the abundance of endophytic bacteria that live in the root tissue of *A. marina*. This research was conducted in December 2022 - February 2023 using an exploratory descriptive method. The research stages consisted of surface sterilization of samples, isolation of bacteria on *Peptone Yeast Agar* (PYA) media, calculation of *Total Plate Count* (TPC), and morphological characterization of bacteria. The results obtained from this study showed that root samples from Station II (near the pond) had the highest abundance with a TPC value of  $2.51 \times 10^4$  CFU/mL, and bacterial colonies on *A. marina* root samples had morphological characteristics of round shape, convex elevation, flat or wavy edges, and milky white colour.

**Keywords:** *Avicennia marina*, Endophytes, Abundance, Morphology

## PENDAHULUAN

Mangrove dari genus *Avicennia* merupakan kelompok yang tergolong dalam mangrove sejati dan paling banyak ditemukan di pesisir Indonesia. Kelompok mangrove ini memiliki ciri khas yaitu akar *pneumatophore* atau akar napas (Noor *et al.* 2012). Salah satu spesies dari kelompok *Avicennia* yaitu *Avicennia marina*. *A. marina* merupakan jenis mangrove yang memiliki potensi besar baik dari segi ekonomis maupun ekologis. Secara ekonomis, sejak dahulu masyarakat pesisir di Indonesia sudah memanfaatkan *A. marina* sebagai kebutuhan pangan, obat-obatan, kayu bakar, hingga konstruksi bangunan rumah (Halidah, 2014). Selain itu, *A. marina* dapat dimanfaatkan pada bidang farmakologi dikarenakan mengandung senyawa metabolit sekunder didalam jaringan tumbuhan yang berperan penting dalam menunjang kehidupan (Renaldi *et al.* 2018). Sedangkan secara ekologis berdasarkan penelitian Martuti (2013), umumnya mangrove adalah komponen penting dalam rantai makanan yang berperan sebagai produsen dan sebagai tempat hidup biota asosiasi mangrove baik makro maupun mikroorganisme (Dharmawan *et al.*, 2015). Mikroorganisme yang hidup berasosiasi dengan mangrove yaitu seperti mikroba simbiosis endofit, mikroba tanah, makrozoobentos dan biota penempel.

Mikroba simbiosis endofit terdiri dari bakteri dan jamur, keduanya hidup pada jaringan tumbuhan dengan membentuk koloni tanpa memberikan dampak negatif pada tumbuhan inangnya. Menurut Savitri *et al.* (2016), *A. marina* termasuk salah satu tumbuhan yang menjadi sumber dari bakteri endofit. Bakteri endofit hidup dalam jaringan tumbuhan melalui akar dan menyebar ke berbagai organ lain seperti buah, daun, batang, dan bunga (Purwanto *et al.* 2014). Menurut Yanti *et al.* (2021), bakteri endofit yang hidup pada suatu tumbuhan umumnya terdiri atas beragam genus dan spesies, keragaman bakteri endofit dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti, faktor salinitas, suhu, pH, nutrisi dan juga pertumbuhan tanaman. Dalam beberapa kasus, spesies mangrove yang sama tidak selalu terdapat bakteri endofit yang sama (Suryani dan A'yun, 2022).

Bakteri endofit hidup secara simbiosis mutualisme dengan inangnya dan berperan dalam melindungi tumbuhan dari patogen (Rori *et al.* 2020). Kemampuan tumbuhan dalam bertahan hidup di lingkungan dengan kondisi ekstrem seperti kadar garam (salinitas) yang tinggi selingkali melibatkan hubungan simbiosis dengan mikroorganisme tertentu, termasuk bakteri endofit yang dapat membantu tumbuhan dengan menghasilkan senyawa yang mengurangi dampak buruk salinitas (Yanti *et al.* 2021). Berdasarkan penelitian Prabhu and Guruvanyoorappan (2012), melaporkan bahwa bakteri endofit memiliki potensi dalam mensintesis senyawa metabolit

sekunder pada jaringan tumbuhan seperti saponin, tannin, flavonoid, diterpenoid, yang dapat aktif sebagai bahan antimikroba.

Eksplorasi mengenai keberadaan bakteri endofit pada bagian akar *A. marina* masih belum banyak dilakukan terutama pada Kawasan mangrove Pantai Tirang, sehingga perlu dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui keanekaragaman bakteri endofit yang memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui kelimpahan jenis bakteri endofit pada akar *A. marina*. Analisa sampel dilaksanakan di Laboratorium *Tropical Marine Biotechnology* (TMB), Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. Semarang.

## METODE PENELITIAN

### Lokasi penelitian

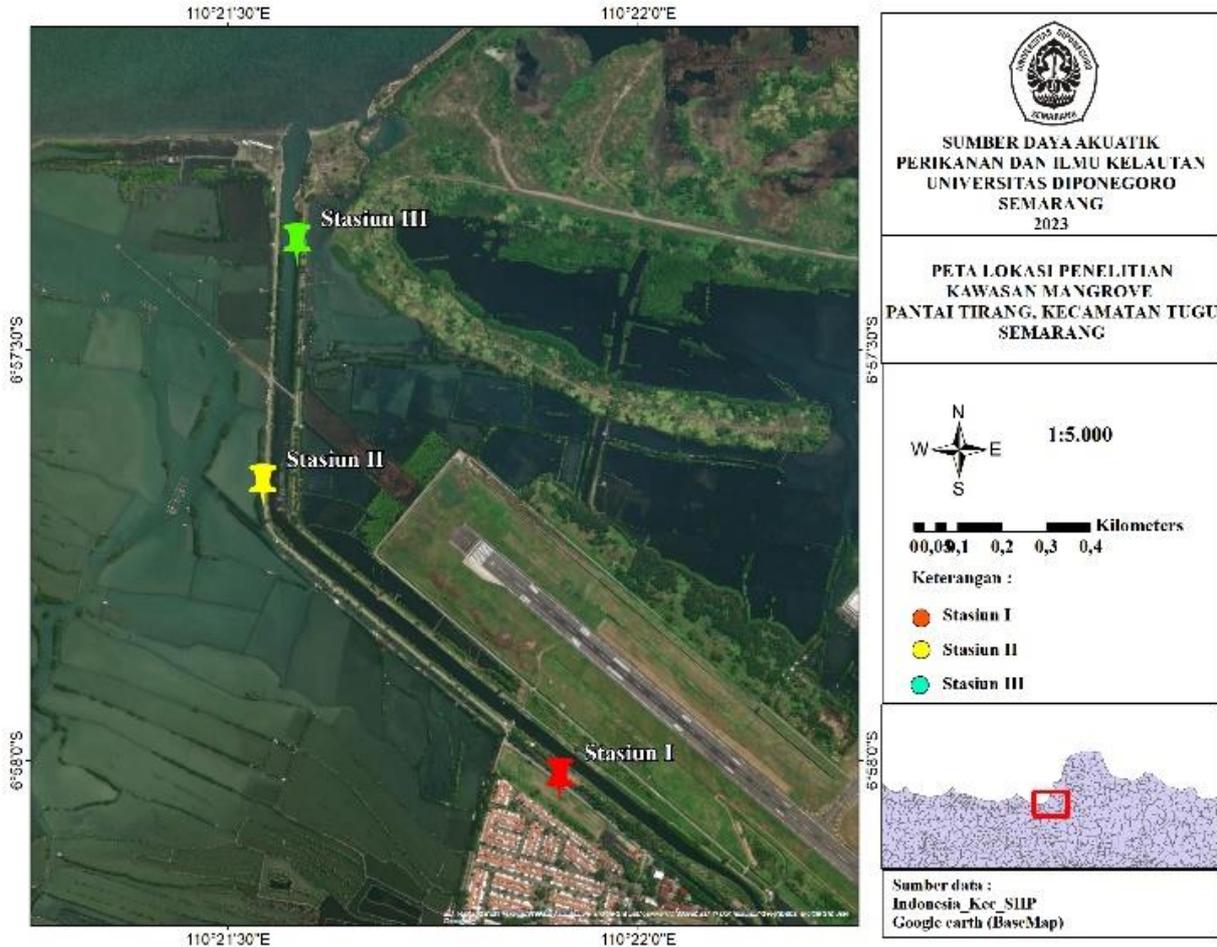
Penelitian ini dilakukan pada Desember 2022 – Februari 2023 di kawasan mangrove Pantai Tirang (Gambar 1). Penelitian ini termasuk ke dalam penelitian deksriptif eksploratif dengan metode pengambilan sampel *purposive sampling*. Sampel akar diambil pada Kawasan mangrove Pantai Tirang, Semarang di 3 stasiun yang berbeda yaitu pada Stasiun I (dekat perumahan), Stasiun II (dekat tambak) dan Stasiun III (dekat muara) dengan setiap stasiun diambil 3 titik sampel.

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel penelitian ialah termometer, refraktometer, pH soil, GPS, plastik zipper, coolbox, dan alat tulis. Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam analisis sampel yaitu cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, jarum ose, gelas ukur, bunsen, plastik wrap, alumunium foil, mikrotip, mikropipet, tusuk gigi, *cutter*, timbangan analitik, cawan porselen, autoklaf, *hot plate magnetic stirrer*, *laminar air flow* (LAF), vortex. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel akar *A. marina*, air laut steril, alkohol 70%, media *Peptone Yeast Agar* (PYA), agar bakteriologikal, dan nistatin.

### Prosedur penelitian

Setiap stasiun sampel akar diambil masing-masing sebanyak  $\pm 50$  gr, bagian akar yang diambil adalah akar nafas (*pneumatophore*) yang terendam oleh air dan sedimen. Sampel yang sudah diambil masing-masing dimasukkan ke dalam plastik zipper yang sudah diberi label (stasiun, waktu dan tanggal). Sampel kemudian disimpan pada *cool box*. Pengukuran parameter lingkungan dilakukan secara insitu yaitu pH air, pH tanah, suhu, dan salinitas.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel akar *Avicennia marina*

**Sterilisasi alat dan bahan**

Sterilisasi merupakan tahap penting dalam laboratorium yang bertujuan untuk memastikan bahwa alat, bahan, dan media yang digunakan bebas dari kontaminan yang dapat mempengaruhi hasil penelitian (Misra dan Misra, 2012). Sterilisasi alat dan bahan menggunakan metode sterilisasi basah dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit, metode ini digunakan untuk sterilisasi media, cairan, dan peralatan laboratorium yang terbuat dari plastik atau kaca (Wulandari *et al.* 2021). Alat-alat yang terbuat dari bahan logam seperti jarum ose dan pinset, disterilisasi menggunakan api Bunsen. Sebelum itu, alat tersebut dicelupkan terlebih dahulu kedalam alkohol 70% untuk memaksimalkan proses sterilisasi (Wulandari *et al.* 2021).

**Sterilisasi permukaan sampel**

Sampel akar *A. marina* yang telah diambil dilakukan sterilisasi permukaan yang bertujuan agar tidak ada bakteri kontaminan yang tumbuh saat tahap isolasi (Rizqoh *et al.* 2021). Langkah awal sterilisasi permukaan yaitu sampel akar dibersihkan dengan air laut steril, salinitas air laut disesuaikan dengan salinitas lingkungan sesuai stasiun. Selanjutnya, sampel direndam pada alkohol 70% selama 1 menit

dan dibilas kembali menggunakan air laut steril, setelah itu dikeringkan (Ramadhanty *et al.* 2021). Sampel akar *A. marina* yang telah kering dipotong-potong menggunakan *cutter* steril kemudian dihaluskan menggunakan cawan porselen dan ditimbang sebanyak 1 gr untuk dilakukan pengenceran bertingkat.

**Pembuatan media kultur**

Media yang digunakan untuk kultur bakteri endofit adalah media *Peptone Yeast Agar* (PYA) dengan komposisi: Peptone (2,5gr), Yeast (0,5gr), Agar (15gr) dalam 1000 mL air laut (Ayuningrum *et al.* 2020). Pelarut yang digunakan adalah air laut yang salinitasnya telah disesuaikan berdasarkan nilai salinitas lingkungan setiap stasiun. Media PYA tersebut disterilisasi pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15-20 menit.

Salah satu yang perlu diperhatikan dalam proses sterilisasi media yaitu tidak disarankan meninggalkan media didalam autoklaf terlalu lama dikarenakan dapat mengakibatkan perubahan kimia pada media yang akan mempengaruhi hasil isolasi (Ikenganyia *et al.* 2017). Media yang telah disterilisasi ditambahkan nistatin sebanyak 0,1% (Triza *et al.* 2021).

Penambahan nistatin bertujuan untuk mengoptimalkan hasil isolasi dan sebagai antifungi, nistatin ditambahkan saat suhu pada media tidak terlalu panas (Wulansari *et al.* 2019).

### **Pengenceran bertingkat**

Pengenceran bertingkat bertujuan untuk mengurangi kepadatan kandungan bakteri dalam sampel, sehingga memudahkan pengamatan dan penghitungan jumlah bakteri yang diamati (Garre *et al.* 2019). Seri pengenceran bertingkat yang dilakukan yaitu  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , hingga  $10^{-3}$ . Langkah awal dalam tahap ini yaitu menambahkan 9 mL air laut steril dan 1 gr sampel ke dalam tabung reaksi pertama, setelah itu dihomogenkan menggunakan *vortex* dan diperoleh seri pengenceran  $10^{-1}$ . Hasil dari pengenceran  $10^{-1}$  diambil sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua berisi 9 mL air laut steril dan di *vortex* kembali sehingga diperoleh seri pengenceran  $10^{-2}$ . Demikian selanjutnya hingga diperoleh seri pengenceran  $10^{-3}$  (Safriana *et al.* 2019). Pengenceran dilakukan pada tiap sampel akar sehingga diperoleh sembilan sampel yang akan diisolasi. Hasil pengenceran tersebut kemudian diinkubasi selama 3-5 hari.

### **Isolasi bakteri**

Isolasi bakteri endofit sampel akar *A. marina* menggunakan metode isolasi *pour plate* pada media *Peptone Yeast Agar* (PYA) (Ayuningrum *et al.* 2020). Metode *pour plate* dilakukan dengan cara seri pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$  sampel akar masing-masing diambil sebanyak 1 mL dan diinokulasikan pada cawan petri, kemudian media PYA dituangkan kedalam petri dan dihomogenkan dengan cara menggerakkan petri membentuk angka delapan. Setiap cawan petri diberi label, dan diinkubasi pada suhu ruang selama 3 x 24 jam untuk mendapatkan bakteri simbiosis endofit.

### **Perhitungan Total Plate Count (TPC)**

Koloni bakteri endofit yang tumbuh kemudian dihitung kelimpahannya untuk dilakukan perhitungan *Total Plate Count* (TPC). Perhitungan TPC merujuk pada *Standar Plate Count* (SPC) bahwa koloni bakteri dapat dihitung apabila dalam kisaran 30-300 koloni per cawan. Rumus perhitungan TPC yang digunakan mengacu pada Garre *et al.* (2019) yaitu sebagai berikut:

$$N \text{ (CFU/mL)} = \text{Jumlah koloni yang dihitung} \times \frac{1}{(V_{\text{plate}})}$$

Keterangan:

$N \text{ (CFU/mL)}$  = Kepadatan koloni per sampel dalam satuan *Colony Forming Unit* (CFU)/mL  
 $V_{\text{plate}}$  = faktor pengenceran x vol inokulasi (mL)

### **Pemurnian bakteri**

Koloni bakteri hasil isolasi dilakukan pemurnian bakteri atau purifikasi. Pemurnian bakteri dilakukan untuk memisahkan dan mendapatkan koloni terpisah yang merupakan isolat bakteri murni. Koloni yang diambil merupakan koloni yang dominan (Huda *et al.* 2012). Pemurnian bakteri dilakukan dengan metode *streak plate*, koloni hasil kultur diambil sebanyak 1 ose kemudian diinokulasikan pada media PYA baru (Ramadhanty *et al.* 2021). Isolat murni yang sudah tumbuh kemudian dipindahkan sebanyak satu ose ke dalam media *Peptone Yeast Agar* miring sebagai stok kultur bakteri.

### **Karakterisasi morfologi bakteri**

Hasil pemurnian bakteri kemudian dilakukan pengamatan karakterisasi morfologi pada masing-masing isolat. Karakterisasi morfologi yang dilakukan termasuk dalam pengamatan karakteristik makroskopis bakteri. Pengamatan karakteristik morfologi meliputi warna, bentuk, tepi, dan elevasi bakteri yang tumbuh. Pengamatan makroskopis atau morfologi bakteri perlu dilakukan untuk memudahkan identifikasi bakteri karena karakteristik isolat bakteri dapat menduga jenis suatu bakteri (Fani *et al.* 2022).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Kondisi lingkungan mangrove**

Hasil pengukuran parameter lingkungan dilokasi sampling disajikan dalam Tabel 1. Pengukuran parameter dilakukan pada ketiga stasiun yaitu Stasiun I (dekat pemukiman), Stasiun II (dekat tambak), dan Stasiun III (dekat muara). Nilai pH air dan tanah pada ketiga stasiun memiliki rentang nilai 6,63-6,88 yang tergolong masam. Nilai suhu tertinggi berada pada Stasiun I dan Stasiun II dengan nilai 32,33°C dan terendah pada Stasiun III dengan nilai 28,67°C Sedangkan nilai salinitas tertinggi berada pada Stasiun III dengan nilai 22,33‰ dan terendah berada pada Stasiun I dengan nilai 7‰.

**Tabel 1.** Pengukuran parameter lingkungan

Stasiun	pH air	pH tanah	Suhu (°C)	Salinitas (‰)
1	6,88	6,67	32,33	7
2	6,87	6,72	32,33	24
3	6,63	6,77	28,67	22,3

Berdasarkan hasil pengukuran parameter dapat diketahui bahwa nilai suhu dan salinitas masih sesuai kisaran standar baku mutu dan toleran terhadap pertumbuhan mangrove sesuai pada Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021. Sedangkan nilai pH yang diperoleh berada di bawah nilai baku mutu Peraturan Pemerintah RI Nomor 22 Tahun 2021 bahwa nilai pH yang baik di lingkungan mangrove adalah 7-8,5. Nilai pH tanah dan air yang diperoleh pada 3 stasiun menunjukkan bahwa daerah tersebut bersifat masam. Nilai pH yang rendah secara umum dapat mempengaruhi pertumbuhan mangrove,

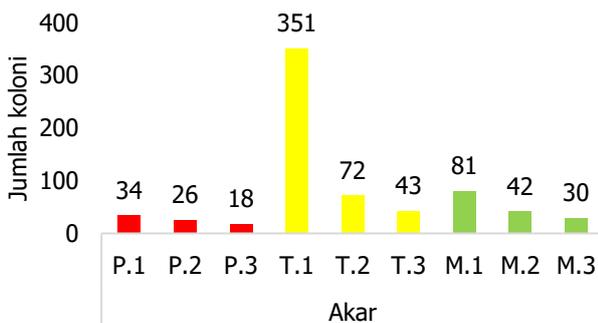
seperti berkurangnya jumlah unsur hara yang tersedia bagi mangrove, namun *A. marina* dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan asam karena mempunyai akar pernafasan (*pneumatophores*) yang dapat membantu menyerap oksigen dari udara (Firdaus *et al.* 2013).

Nilai suhu pada ketiga stasiun tidak memiliki perbedaan yang cukup signifikan. Perbedaan nilai suhu tersebut disebabkan karena waktu pengukuran, kondisi vegetasi mangrove maupun intensitas cahaya yang masuk dalam air (Jupriyati *et al.* 2013). Stasiun III (dekat muara) memiliki nilai yang lebih rendah dibanding stasiun lainnya disebabkan karena waktu pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari dan kondisi vegetasi mangrove yang cukup lebat sehingga mempengaruhi intensitas cahaya yang masuk.

Nilai salinitas berdasarkan tabel terdapat perbedaan antar stasiun, nilai salinitas terendah terdapat pada Stasiun I (dekat pemukiman), hal tersebut dikarenakan lokasi titik sampling pada Stasiun I memiliki jarak yang cukup jauh dengan daerah pantai dan dapat diduga mendapatkan masukan air yang berasal dari limbah perumahan. Namun nilai salinitas tersebut masih dalam batas tolerir untuk pertumbuhan mangrove terutama *A. marina*. Menurut Rahmadhani *et al.* (2021), *A. marina* merupakan jenis mangrove yang dapat hidup pada salinitas rendah hingga tinggi.

**Isolasi dan kelimpahan bakteri**

Hasil isolasi bakteri pada media PYA kemudian dihitung kelimpahannya untuk menentukan nilai *Total Plate Count* (TPC) yang dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan grafik Gambar 2 menunjukkan bahwa sampel akar *A. marina* dari Stasiun I (kode P.1, P.2, P.3) didapatkan total kelimpahan bakteri sebanyak 78 koloni. Sampel akar dari Stasiun II (kode T.1, T.2, T.3) didapatkan total kelimpahan sebanyak 466 koloni. Sampel akar dari Stasiun III (kode M.1, M.2, M.3) didapatkan total kelimpahan sebanyak 153 koloni. Dapat diketahui bahwa nilai kelimpahan tertinggi dari sampel akar terdapat pada sampel yang berasal dari Stasiun II (dekat tambak).



**Gambar 2.** Hasil kelimpahan koloni bakteri dari sampel akar *A. marina*  
 Keterangan: Huruf P, T, M (Stasiun); Angka 1,2,3 (Tingkat pengenceran)

Berdasarkan nilai kelimpahan koloni pada sampel akar *A. marina* dapat diketahui hasil perhitungan *total plate count* (TPC) pada akar yang selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2. Beberapa sampel dinyatakan tidak memenuhi syarat (-) untuk dihitung TPC dikarenakan jumlah koloni <30 dan satu sampel memiliki jumlah koloni > 300 sehingga dikategorikan terlalu banyak untuk dihitung (TBUD).

**Tabel 2.** Hasil perhitungan TPC sampel akar *A. marina*

Stasiun	Kode sampel	V plate	Jumlah Koloni	TPC (CFU/mL)
I	A.Am.P.1	1 mL x 10 <sup>-1</sup>	34	340
	A.Am.P.2	1 mL x 10 <sup>-2</sup>	26	-
	A.Am.P.3	1 mL x 10 <sup>-3</sup>	18	-
<b>Rata-rata (CFU/mL)</b>				3,4 x 10 <sup>2</sup>
II	A.Am.T.1	1 mL x 10 <sup>-1</sup>	351	TBUD
	A.Am.T.2	1 mL x 10 <sup>-2</sup>	72	7200
	A.Am.T.3	1 mL x 10 <sup>-3</sup>	43	43000
<b>Rata-rata (CFU/mL)</b>				2,51 x 10 <sup>4</sup>
III	A.Am.M.1	1 mL x 10 <sup>-1</sup>	81	810
	A.Am.M.2	1 mL x 10 <sup>-2</sup>	42	4200
	A.Am.M.3	1 mL x 10 <sup>-3</sup>	30	30000
<b>Rata-rata(CFU/mL)</b>				1,17 x 10 <sup>4</sup>

Keterangan:

- Kode A = Akar
- Kode Am = *Avicennia marina*
- Huruf P, T, M = Stasiun  
 P (Pemukiman), T (Tambak), M (Muara)
- Angka (1,2,3) = Tingkat pengenceran  
 1: (10<sup>-1</sup>), 2: (10<sup>-2</sup>), 3: (10<sup>-3</sup>)

Sembilan sampel hasil pengenceran dilakukan isolasi pada media PYA. Media PYA merupakan media non selektif yang kaya akan nutrisi. Menurut Sarjono *et al.* (2022), pepton berfungsi sebagai sumber asam amino, ekstrak yeast berfungsi sebagai sumber vitamin dan asam amino, sehingga media ini dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Hasil isolasi menunjukkan bahwa kelimpahan bakteri yang tumbuh memiliki nilai yang berbeda berdasarkan sumber stasiunnya. Menurut Yulma *et al.* (2017), kelimpahan bakteri endofit yang berbeda tiap stasiun dapat disebabkan karena nilai suhu, salinitas maupun pH yang berbeda pula pada tiap stasiun. Nilai pH yang rendah dapat menyebabkan aktivitas bakteri menurut sehingga mempengaruhi kelimpahan bakteri yang hidup pada jaringan tumbuhan mangrove (Sinatryani *et al.* 2014). Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa isolat bakteri dari sampel akar *A. marina* termasuk dalam bakteri neutrofilik. Menurut penelitian Yanti *et al.* (2021), strain bakteri endofit yang diisolasi dari akar nafas *A. marina* tergolong neutrofik karena

mempunyai kemampuan tumbuh pada kisaran pH 5-8. Kondisi lingkungan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kelangsungan hidup bakteri. Setiap jenis bakteri memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghadapi kondisi lingkungannya, hal tersebut karena bakteri memiliki karakter yang berbeda antara satu dengan yang lain.

Berdasarkan nilai kelimpahan bakteri hasil perhitungan *Total Plate Count* (TPC) pada Tabel 2, sampel akar memiliki nilai tertinggi pada Stasiun II (dekat tambak) yaitu sebesar  $2,51 \times 10^4$  CFU/mL. Nilai kelimpahan dan TPC koloni yang tinggi pada Stasiun II dapat diduga bahwa bahan organik di Stasiun II lebih besar dibanding stasiun lainnya. Menurut Mahrus *et al.* (2019), bahwa kandungan bahan organik yang tinggi dapat mempengaruhi kelimpahan mikroorganisme, dimana terdapat mikroorganisme tertentu yang tahan terhadap tingginya kandungan bahan organik tersebut, sehingga dominansi oleh spesies tertentu dapat terjadi.

### Purifikasi dan Karakterisasi morfologi bakteri

Hasil purifikasi atau pemurnian bakteri didapatkan 8 isolat bakteri murni. Delapan isolat tersebut merupakan 3 isolat murni dari Stasiun I, 2 isolat murni dari Stasiun II, dan 3 isolat murni dari Stasiun III. Kemudian, hasil purifikasi dilakukan pengamatan morfologi bakteri. Hasil pengamatan karakteristik morfologi koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil pengamatan karakteristik morfologi bakteri

Kode Isolat	Karakteristik morfologi			
	Bentuk	Elevasi	Margin	Warna
A.Am.P.1a	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	<i>Lobate</i>	Putih susu
A.Am.P.2a	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	<i>Lobate</i>	Putih susu
A.Am.P.3a	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	<i>Lobate</i>	Putih krem
A.Am.T.2a	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	<i>Entire</i>	Putih susu
A.Am.T.3a	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	Putih susu
A.Am.M.1a	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	<i>Entire</i>	Putih susu
A.Am.M.2a	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	<i>Entire</i>	Putih susu
A.Am.M.2b	<i>Circular</i>	<i>Convex</i>	<i>Entire</i>	Putih susu

Keterangan: A: Akar, Am: *A. marina*, P: Pemukiman, T: Tambak, M: Muara, (1,2,3): pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , huruf a,b,c = isolat bakteri murni

Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa isolate bakteri memiliki karakteristik morfologi yang berbeda, 8 isolat murni hasil purifikasi didapatkan morfologi bakteri dengan bentuk bulat, beragam elevasi seperti *raised* (timbul), dan *convex* (cembung), sebagian besar memiliki margin atau tepi *entire* (rata) namun ada pula yang *lobate* (bergelombang), serta memiliki warna dominan yaitu putih susu namun ada pula yang berwarna putih krem. Menurut penelitian

Pranoto *et al.* (2014), melaporkan bahwa morfologi koloni bakteri endofit cenderung memiliki bentuk yang tidak beraturan atau bulat, tepi yang rata atau kasar, berfilamen, dan memiliki elevasi atau ketinggian datar hingga cembung, berwarna putih, putih susu hingga putih kekuningan. Beragamnya karakteristik morfologi pada bakteri disebabkan karena penyesuaian diri terhadap media kultur, suhu, masa inkubasi hingga usia kultur (Rizqoh *et al.* 2021). Setiap bakteri memiliki kemampuan yang berbeda dalam menyesuaikan diri untuk bertahan hidup di lingkungannya, adanya perubahan pada lingkungan dapat mempengaruhi sifat morfologi dan fisiologis suatu bakteri (Zuraidah *et al.* 2020). Bakteri endofit yang hidup pada tumbuhan mangrove dari spesies yang sama namun tumbuh pada kondisi lingkungan yang berbeda, maka tidak selalu memiliki bakteri yang sama pula (Suryani dan A'yun, 2022).

Pengamatan makroskopis (morfologi) sebenarnya masih belum akurat untuk menduga tingkat genus atau spesies suatu bakteri. Setidaknya perlu dilakukan uji pewarnaan Gram, uji biokimia ataupun uji molekuler untuk mengidentifikasi suatu isolat bakteri dengan lebih akurat (Effendi, 2022). Menurut Linelejan *et al.* (2018), sebagian besar dari bakteri endofit umumnya merupakan anggota taksa Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria.

Berdasarkan penelitian Yanti *et al.* (2021), hasil isolasi bakteri endofit dapat diketahui bahwa bakteri dari genera *Staphylococcus* paling banyak ditemukan. Hal tersebut dikarenakan genus *Staphylococcus* termasuk bakteri Gram positif dan bakteri halotolerant yang mampu beradaptasi pada habitat yang spesifik. Berdasarkan penelitian Ramadhanty *et al.* (2021), beberapa bakteri yang ditemukan pada jaringan tumbuhan mangrove *A. marina* termasuk dalam genus *Pseudomonas* dan *Enterobacter* yang termasuk dalam kelas Gammaproteobacteria, kedua bakteri tersebut dapat ditemukan di mangrove dikarenakan termasuk bakteri yang bersifat halofil (Gibtan *et al.* 2017)

### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil isolasi dan purifikasi bakteri endofit dari sampel akar *A. marina* diketahui bahwa nilai TPC tertinggi terdapat di stasiun II yaitu sebesar  $2,51 \times 10^4$  CFU/mL, sedangkan nilai TPC terendah terdapat di Stasiun I yaitu sebesar  $3,4 \times 10^2$  CFU/mL. Sebanyak 8 isolat murni hasil purifikasi yang merupakan 3 isolat murni dari Stasiun I, 2 isolat murni dari Stasiun II, dan 3 isolat murni dari Stasiun III memiliki karakteristik makroskopis (morfologi) bentuk bulat, beragam elevasi seperti *raised* (timbul), dan *convex* (cembung), sebagian besar memiliki margin atau tepi *entire* (rata) namun ada pula yang *lobate* (bergelombang), serta memiliki warna seperti putih susu dan putih krem.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas dana hibah Riset Publikasi Internasional (RPI) Universitas Diponegoro dengan Nomor SK: 185-71/UN7.6.1/PP/2022 yang telah mendanai penelitian ini serta kepada tim penelitian yang telah membantu selama keberjalanan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ayuningrum, D., Kristiana, R dan Asagabaldan, M. A. 2020. Potensi Bakteri Asosiasi Tunikata Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Guna Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Multidrug Resistant*. *Jurnal Pasir Laut*, 4(2): 102-107.
- Dharmawan, I. W. E., Zamani, N. P dan Madduppa, H. H. 2016. Laju Dekomposisi Serasah Daun di Ekosistem Bakau Pulau Kelong, Kabupaten Bintan. *Oceanologi dan Limnologi di Indonesia*, 1(1): 1-10.
- Effendi, I. I. 2022. Identifikasi Bakteri: Metode Identifikasi dan Klasifikasi Bakteri (Vol. 1). Oceanum Press. Riau.
- Fani, E. F., Rahmawati, R dan Kurniatuhadi, R. 2022. Identifikasi dan Deteksi Aktivitas Proteolitik Bakteri Endofit yang Diisolasi dari Daun *Avicennia marina* di Mempawah Mangrove Center. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2): 293-299.
- Firdaus, M., Prihanto, A. A dan Nurdiani, R. 2013. Tanaman Bakau: Biologi dan Bioaktivitas. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Garre, A., Egea, J. A., Esnoz, A., Palop, A and Fernandez, P. S. 2019. Tail Or Artefact? Illustration Of The Impact That Uncertainty Of The Serial Dilution And Cell Enumeration Methods Has On Microbial Inactivation. *Food Research International*, 119, 76-83.
- Gibtan, A., Kyounghee, P., Mingyeong, W., Jungkue, S., Dongwoo, L., Jaehak, S., Minjung, S., Seongwoon, R., Sangjae, L and Hanseung, L. 2017. Diversity of Extremely Halophilic Archaeal and Bacterial Communities from Commercial Salts. *Frontiers in Microbiology*, 8:799.
- Halidah. 2014. *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh Jenis Mangrove Yang Kaya Manfaat. *Buletin Eboni*, 11(1): 37-44.
- Huda, C., Salni dan Melki. 2012. Penapisan Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Karang Lunak *Sarcophyton* sp. *Maspari Journal: Marine Science Research*, 4(1): 69-76.
- Ikenganyia, E.E., Anikwe, M.A.N., Omeje, T. E and Adinde, J. O. 2017. Plant tissue culture regeneration and aseptic techniques. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology*, 1(3): 1-6.
- Jupriyati, R., Soenardjo, N dan Suryono, C. A. 2014. Akumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dan Pengaruhnya Terhadap Histologi Akar Mangrove *Avicennia marina* (Forssk). Vierh. di Perairan Mangunharjo Semarang. *Journal Of Marine Research*, 3(1): 61-68.
- Linelejan, Y. T., Umboh, S. D dan Tallei, T. E. 2018. Identifikasi Bakteri Endofit Daun *Ficus Minahassae* (Teijsm. & De Vriese) Miq. Berdasarkan Gen 16s rRNA. *Jurnal MIPA*, 7(2): 16-19.
- Mahrus, I. H., Widyorini, N dan Taufani, W. T. 2020. Analisis Kelimpahan Bakteri di Perairan Bermangrove dan Tidak Bermangrove di Perairan Pantai Ujung Piring, Jepara. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 8(4): 265-274
- Martuti, N. K. T. 2013. Keanekaragaman Mangrove Di Wilayah Tapak, Tugurejo, Semarang. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 36(2): 123-130.
- Misra, A.N and Misra, M. 2012. Sterilization Techniques in Plant Tissue Culture. Fakir Mohan University, Balasore.
- Noor, Y.R., Khazali, M dan Suryadiputra, I.N.N. 2012. Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia edisi 3. Ditjen PKA, Bogor.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 Tentang Penyelenggaraan Perlindungan Dan Pengelolaan Lingkungan Hidup. Baku Mutu Air Laut. Lampiran VIII.
- Purwanto, U. M., Pasaribu, F. H dan Bintang, M. 2014. Isolasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current biochemistry*, 1(1), 51-57.
- Prabhu, V. V and Guruvanyoorappan, C. 2012. Phytochemical Screening of Methanolic Extract of Mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *Pelagia Research Library*, 3: 64-70.
- Pranoto, E., Fauzi, G dan Hingdri. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Pada Tanaman Teh (*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze) Produktif dan Belum Menghasilkan klon GMB 7 Dataran Tinggi. *Biospecies*, 7(1), 1-7.
- Rahmadhani, T., Rahmawati, Y. F., Qalbi, R., HP, N. F dan Husna, S. N. 2021. Zonasi dan formasi Vegetasi Hutan Mangrove: Studi Kasus Di Pantai Baros, Yogyakarta. *Jurnal Sains Dasar*, 10(2): 69-73.
- Ramadhanty, M. A., A. T. Luggage dan Nurhayati. 2021. Isolasi Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina* Dan Kemampuannya Sebagai Antimikroba Patogen *Staphylococcus aureus* Dan *Salmonella typhi* Secara In vitro. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 4(1): 16-22.

- Rizqoh, D., Kumala, W. O., Sipriyadi., Sinuhaji, B dan Oktoviani. 2021. Potensi Bakteri Endofit Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.) Menghambat Bakteri Penyebab Infeksi pada Manusia. *Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan*, 6(3): 194-204.
- Rori, C. A., Kandou, F. E. F dan Tangapo, A. M. 2020. Isolasi dan Uji Antibakteri Dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Koli*, 1(1): 1-7.
- Safriana, N., Lambui, O dan Ramadanil. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Biocelebes*, 13(1): 65-75.
- Sarjono, P. R., Ismiyanto., Ngadiwiyanana dan Prasetya, N. B. A. 2022. Bakteri Endofit F4 dari Daun Pepaya (*Carica papaya* L): Potensinya sebagai Penghasil Enzim Ekstraseluler. *Greensphere: Journal of Environmental Chemistry*, 2(1): 1-7
- Savitri, W.N., Maria, V.W and Popy, H.H. 2016. Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria From The Leaf Explants of *Avicennia marina* (Forsk.). *Proceeding Seminar Nasional Biodiversitas VI*. pp. 702-714.
- Sinatryani, D., Alamsjah, M. A., Sudarno dan Pursetyo, K. T. 2014. Kelimpahan Bakteri Selulolitik Di Muara Sungai Gunung Anyar Surabaya dan Bancaran Bangkalan. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 6(2): 143 – 148.
- Suryani, S dan A'yun, Q. 2022. Isolasi Bakteri Endofit Dari Mangrove *Sonneratia Alba* Asal Pondok 2 Pantai Harapan Jaya Muara Gembong, Bekasi. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 1(2):12-18.
- Triza, D., Wahyu, P., Jati, O. E., dan Ayuningrum, D. 2021. Skrining Bakteri Penghasil Enzim Amilase dari Sedimen Tambak Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *JFMR: Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(2): 297-303.
- Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S dan Sayekti, R. S. 2021. Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2): 16-19.
- Wulansari, A., Aqlinia, M., Wijanarka, W dan Raharja, B. 2019. Isolasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Uji Aktivitas Antibakterinya terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Kulit *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Berkala Bioteknologi*, 2(2): 25-36.
- Yanti, D., Rahmawati dan Kurniatuhadi, R. 2021. Karakteristik Morfologis dan Fisiologis Bakteri Endofit dari Akar Napas Tumbuhan *Avicennia marina* (fork) vierh di Mempawah Mangrove Park. *Biologica Samudra*, 3(2): 166-183.
- Yulma., Ihsan, B., Sunarti, S., Malasari, E., Wahyuni, N dan Mursyban, M. 2017. Identifikasi bakteri pada serasah daun Mangrove yang terdekomposisi di kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan (KKMB) Kota Tarakan. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2(1): 28-33.
- Zuraidah, Z., Wahyuni, D dan Astuty, E. 2020. Karakteristik Morfologi Dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik Dari Kawasan Wisata *Ie Seuum* (air panas). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 11(2): 40-47.