

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT PADA AKAR KOPI  
ARABIKA (*Coffea arabica* L.) DI COLOL KABUPATEN MANGGARAI TIMUR**  
*Isolation And Characterization Of Endophyte Bacteria On Arabica Coffee Roots  
(Coffea Arabica L.) In Colol East Manggarai District*

Mauboy, R.S.<sup>1)</sup>, M.A.S. Sudin<sup>1)</sup>, Refli<sup>1)</sup>, A.T. Karyawati<sup>1)</sup>, M.T. Danong<sup>1)</sup>, M.L. Gaol<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknik Universitas Nusa Cendana

Jl. Adi Sucipto Penfui Kupang

<sup>1)</sup>e-mail: [ronymauboy@staf.undana.ac.id](mailto:ronymauboy@staf.undana.ac.id)

**ABSTRAK**

Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang seluruh atau sebagian hidupnya berada dalam jaringan tumbuhan (akar, batang, daun, dan bunga), contohnya pada akar tanaman kopi arabika (*Coffea arabica* L.). Salah satu daerah penghasil kopi arabika di NTT adalah di Colol, Kabupaten Manggarai Timur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi bakteri endofit pada akar kopi arabika secara makroskopis dan mikroskopis. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif yang dilakukan dengan tiga tahapan yaitu preparasi sampel dan media, isolasi dan karakterisasi. Hasil penelitian ditemukan 2 (dua) isolat bakteri endofit yang diberi kode DN01 dan 1 (satu) isolat bakteri endofit yang diberi kode TM01. Pewarnaan gram menunjukkan isolat bakteri endofit berbentuk bulat atau kokus dan merupakan gram positif yang berwarna ungu untuk sampel DN01 dan bakteri endofit berbentuk rantai atau batang dan merupakan gram positif dan berwarna ungu. Dari hasil penelitian ini menunjukkan karakteristik morfologi isolat bakteri endofit diduga merupakan genus *Staphylococcus* untuk sampel DN01 dan *Bacillus* sp untuk sampel TM02.

**Kata Kunci:** isolasi, karakterisasi, bakteri endofit, akar kopi arabika, Colol.

**ABSTRACT**

*Endophytic bacteria are microorganisms that reside entirely or partially within plant tissues (roots, stems, leaves, and flowers), for example, in the roots of Arabica coffee plants (Coffea arabica L.). One of the regions known for producing Arabica coffee in East Nusa Tenggara is Colol, East Manggarai Regency. This study aims to characterize endophytic bacteria in Arabica coffee roots through macroscopic and microscopic analyses. The methodology applied in this research is descriptive, carried out in three stages: sample preparation and media, isolation, and characterization. The results revealed two (2) isolates of endophytic bacteria coded as DN01 and one (1) isolate coded as TM01. Gram staining indicated that the endophytic bacteria isolate DN01 was spherical or cocci-shaped and gram-positive, appearing purple, while the endophytic bacteria isolate TM01 was chain-like or rod-shaped and also gram-positive, appearing purple. The results of this study indicate that the morphological characteristics of the endophytic bacterial isolates are suspected to belong to the genus Staphylococcus for sample DN01 and Bacillus sp for sample TM02.*

**Keywords:** isolation, characterization, endophytic bacteria, arabica coffee roots, Colol.

**PENDAHULUAN**

Indonesia dikenal sebagai negara agraris dengan sektor pertanian sebagai tulang punggung ekonomi. Sektor ini terbagi menjadi beberapa subsektor seperti tanaman pangan, perkebunan, peternakan, kehutanan, dan perikanan. Menurut BPS, subsektor perkebunan

memberikan kontribusi tertinggi terhadap PDB Indonesia yaitu sebesar 3,76 % pada tahun 2022, nilai ini tertinggi dibandingkan subsektor lainnya. Indonesia merupakan salah satu negara yang cocok untuk subsektor perkebunan, salah satunya perkebunan kopi. Menurut Rahmanulloh (2020), Indonesia adalah produsen kopi terbesar keempat dunia, dengan produksi Robusta 83% dan Arabika 17%. Nusa Tenggara Timur (NTT) sebagai salah satu provinsi penghasil kopi Robusta dan Arabika dengan kualitas baik dari beberapa Kabupaten yaitu Manggarai Timur, Ende, dan Manggarai (Ndiwa dkk., 2023). Kabupaten Manggarai Timur, khususnya Desa Colol, merupakan salah satu sentra kopi Arabika di NTT, sektor ini menyumbang 19,76% PDRB daerah.

Produksi kopi di Desa Colol tidak terlepas dari berbagai kendala, salah satunya adalah serangan penyakit tanaman yang dapat mengancam hasil panen. Penyakit ini dapat disebabkan oleh beberapa organisme seperti hama, jamur, bakteri, dan nematoda. Perkembangan organisme tersebut dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti suhu, curah hujan, kelembaban udara, dan sinar matahari. Bagian tanaman kopi yang sering terserang penyakit adalah bagian akar, batang, daun, dan buah.

Diperlukan pengendalian alternatif yang dapat digunakan untuk mencegah kerusakan pada tanaman kopi, yaitu dengan bakteri endofit. Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup mengkolonisasi jaringan tanaman tanpa menyebabkan gangguan pada tanaman tersebut. Bakteri endofit bersifat menguntungkan karena berfungsi sebagai agen pengendali hayati yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan upaya untuk mengisolasi dan karakterisasi bakteri endofit yang memiliki potensial untuk mengendalikan penyakit pada akar kopi Arabika. Oleh karena itu, telah dilakukan penelitian dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit pada Akar Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) di Colol Kabupaten Manggarai Timur”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi bakteri endofit pada akar kopi arabika secara makroskopis dan mikroskopis.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan yaitu erlemeyer, tabung reaksi, cawan petri, gelas beaker, gelas ukur, timbangan analitik, *hot plate*, *laminar air flow*, autoklaf, inkubator, *colony counter*, vortex, mikro pipet, blue tip, mikrotube, bunsen, batang pengaduk, jarum ose, *spreader*, pipet ukur, kaca objek, spatula, mikroskop, mortar, alu, *cool box*, pinset, kamera, kaca pembesar, kapas, kasa, tissue, kertas label, plastik wrap, plastik anti panas, plastik

steril, aluminium foil. Bahan-bahan yang digunakan antara lain kopi arabika (*Coffea arabica* L.), alkohol 70%, aquades, spiritus, minyak imersi, medium nutrisi agar, bahan pewarnaan gram (safranin, iodine, alkohol 95 % dan kristal violet).

### **Prosedur Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif. Sampel kopi arabika dipilih yang tumbuh di bawah naungan pohon cengkeh (DN01) dan yang terpapar cahaya matahari (TM01). Tanaman kopi yang dipilih sebagai sampel adalah akar kopi lateral. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf. Untuk media Nutrient Agar (NA) pada temperatur 121°C dengan tekanan uap 15 lb/in selama 15 menit, sedangkan alat selama 30 menit.

Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan cara sebagai berikut (Aqlinia dkk, 2020; Ramadhanty dkk., 2021; Hamtini dkk., 2023): sampel akar kopi arabika DN01 dan TM01 dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan di tisu steril, dan ditimbang sebanyak 25 g. Sampel disterilisasi dengan direndam alkohol 70% (2 menit), dibilas aquades steril 3× (1 menit), dikeringkan di tisu steril, lalu dihaluskan aseptis. Halusan dimasukkan ke 225 ml NaCl fisiologis (pengenceran  $10^{-1}$ ) dan divorteks hingga homogen. Disiapkan tabung 9 ml NaCl fisiologis berlabel  $10^{-2}$  hingga  $10^{-6}$ , lalu dilakukan pengenceran bertingkat dari  $10^{-1}$  secara aseptis. Setiap pengenceran divorteks, diambil 0,1 ml, diinokulasikan ke cawan petri berisi NA, disebar dengan spreader, dan diinkubasi 37°C selama 24 jam.

Untuk pemurnian dimulai dari pengamatan awal koloni dengan morfologi berbeda (warna, bentuk, ukuran) dan dipilih koloni yang tampak berbeda. Lalu untuk streaking/goresan dengan cara disiapkan media padat steril (NA, TSA), diambil sedikit koloni dengan jarum ose steril, digoreskan ke permukaan media (gunakan metode gores empat arah atau T-streak). Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 28–37°C selama 24–48 jam. Diamati pertumbuhan koloni dimana koloni tunggal akan tumbuh menyebar dari goresan awal.

Setelah itu, dipilih satu koloni tunggal yang seragam dan sehat (tidak bersentuhan dengan koloni lain), dilakukan streaking ulang pada media baru, diulangi 2–3 kali hingga yakin koloni tersebut murni, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mendapatkan koloni tunggal. Peremajaan isolat bakteri endofit dilakukan dengan cara disiapkan isolat bakteri endofit murni dan medium padat NA miring. Kemudian, diambil isolat bakteri endofit menggunakan kawat ose lalu digoreskan secara zig-zag pada medium NA miring, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Karakterisasi isolat bakteri endofit dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Analisis data pada penelitian ini

dilakukan secara deskriptif untuk menjelaskan hasil isolasi dan karakterisasi bakteri endofit yang diperoleh dari akar tanaman kopi arabika.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui keberadaan dan karakteristik bakteri endofit yang terdapat pada akar tanaman kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) yang dibudidayakan di wilayah Colol, Kabupaten Manggarai Timur. Keberadaan mikroorganisme, khususnya bakteri endofit, di dalam jaringan akar tanaman memiliki peran dalam mendukung kesehatan dan produktivitas tanaman melalui mekanisme biologis seperti fiksasi nitrogen, produksi hormon pertumbuhan, dan pengendalian hayati terhadap patogen.

Sampel yang digunakan yaitu akar lateral dari tanaman kopi Arabika yang diambil dari dua lokasi berbeda berdasarkan kondisi pencahayaan di lingkungannya, yaitu akar kopi yang tumbuh di bawah naungan pohon cengkeh (DN01) dan akar kopi yang tumbuh di area terbuka yang terpapar langsung sinar matahari (TM01). Pemilihan lokasi didasarkan pada perbedaan lingkungan seperti intensitas cahaya, kelembaban, dan suhu tanah dapat mempengaruhi keberagaman dan jumlah populasi bakteri endofit yang berasosiasi dengan akar tanaman. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dasar bagi pengembangan lebih lanjut mengenai pemanfaatan bakteri endofit sebagai agen hayati untuk meningkatkan produktivitas kopi dan ketahanan terhadap penyakit tanaman.

### Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi dilakukan pada dua sampel akar kopi, DN01 dan TM01 dengan pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-6}$  secara duplo. Hasil pengamatan jumlah koloni dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Koloni yang Tumbuh

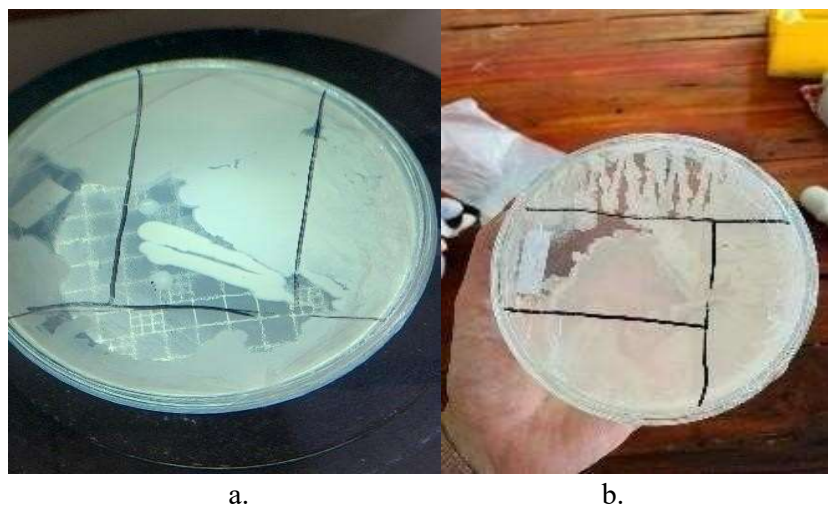
Pengenceran DN01	Jumlah koloni yang tumbuh	Pengenceran TM01	Jumlah koloni yang tumbuh
$10^{-1}$	35	$10^{-1}$	52
$10^{-2}$	33	$10^{-2}$	27
$10^{-3}$	23	$10^{-3}$	18
$10^{-4}$	19	$10^{-4}$	9
$10^{-5}$	4	$10^{-5}$	8
$10^{-6}$	2	$10^{-6}$	6

Berdasarkan tabel 1, diketahui bahwa jumlah koloni tertinggi terdapat pada

pengenceran  $10^{-1}$ , yaitu sebanyak 35 koloni untuk DN01 dan 52 koloni untuk TM01. Jumlah koloni kemudian menurun secara bertahap seiring dengan meningkatnya tingkat pengenceran, hingga tersisa hanya 2 koloni (DN01) dan 6 koloni (TM01) pada pengenceran  $10^{-6}$ . Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah bakteri endofit yang terisolasi dari sampel TM lebih tinggi dibandingkan sampel DN. Perbedaan ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti kondisi mikro lingkungan akar, ketersediaan nutrisi, serta keberadaan senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam mendukung atau menghambat pertumbuhan mikroba.

### **Pemurnian Isolat**

Pemurnian isolat dilakukan untuk mendapatkan koloni murni atau koloni tunggal. Pemurnian ini dilakukan dengan 3 kali pemurnian dan pada pemurnian ketiga akan diambil isolat tunggal yang tumbuh untuk proses peremajaan

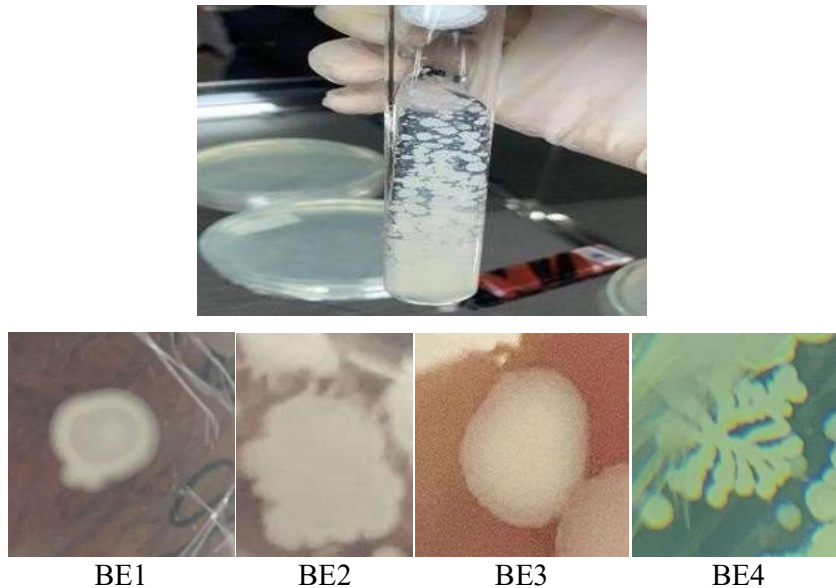


Gambar 1. Hasil Pemurnian Isolat Replikasi Ke-3 (a. DN01; b. TM01)

Berdasarkan hasil pemurnian ketiga, diperoleh hasil Sampel DN01 menunjukkan pertumbuhan dua koloni tunggal yang terpisah secara jelas dan stabil pada kuadran IV, sehingga dianggap berhasil dimurnikan. Sedangkan sampel TM01 belum berhasil dimurnikan, karena hasil pada kuadran III masih menunjukkan pertumbuhan yang tidak merata, cenderung menyebar dan tidak menunjukkan koloni yang benar-benar tunggal. Hasil ini menunjukkan bahwa hanya isolat DN01 yang berhasil dimurnikan secara optimal. Sementara isolat TM01 belum dapat dikategorikan sebagai koloni murni. Ketidakberhasilan pemurnian pada TM01 kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor, seperti tingkat kejenuhan koloni pada saat isolasi awal, teknik goresan yang kurang tepat, atau karakteristik bakteri yang tidak mampu tumbuh stabil dalam kondisi pemurnian.

## Peremajaan

Tujuan peremajaan isolat bakteri yang telah dimurnikan adalah untuk menjaga kestabilan viabilitas isolat dan karakteristik fungsional bakteri tersebut. Dalam penelitian ini, hanya isolat DN01 yang berhasil dimurnikan dan kemudian dilanjutkan ke tahap peremajaan.

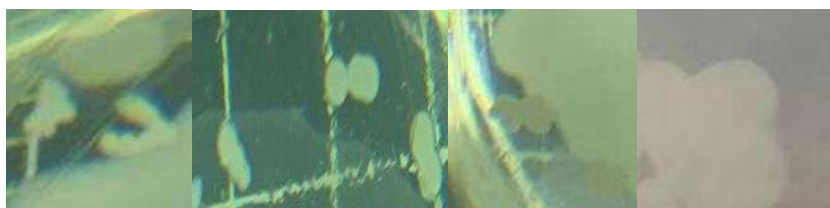


Gambar 2. Hasil Peremajaan Isolat DN01

Isolat DN01 ditanam secara zig-zag pada media NA miring, kemudian diinkubasi selama 24–48 jam pada suhu 37°C. Hasil peremajaan menunjukkan pertumbuhan koloni yang stabil, berwarna putih, berbentuk bulat, dan menunjukkan ciri khas yang konsisten dengan hasil pemurnian sebelumnya. Sementara itu, isolat TM01 tidak dapat diremajakan karena belum berhasil dimurnikan pada tahap sebelumnya. Hal ini menegaskan bahwa hanya isolat DN01 yang layak untuk dilanjutkan ke proses karakterisasi makroskopis dan mikroskopis.

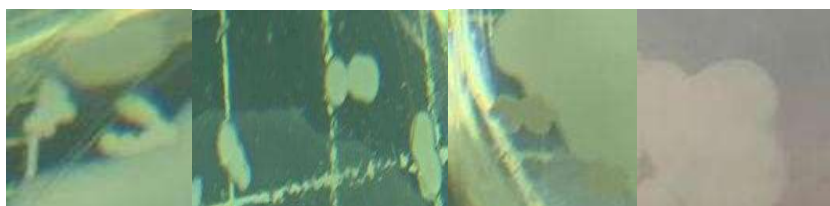
### Karakteristik Secara Makroskopik

Pengamatan makroskopik dilakukan untuk mengidentifikasi ciri-ciri koloni bakteri yang tumbuh pada media padat berdasarkan bentuk, tepi, permukaan, warna, dan ukuran. Karakteristik ini penting untuk mendukung proses identifikasi awal isolat bakteri.



BE01 BE02 BE03 BE04

Gambar 3. Bentuk Sampel Pada Sampel DN01



BE01 BE02 BE03 BE04

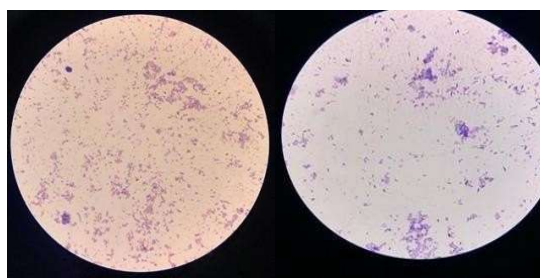
Gambar 4. Bentuk Sampel Pada Sampel TM01

Tabel 2. Karakterisasi Secara Makroskopik

Kode Isolat	Kondisi Akar	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Elevasi	Warna
DN01	Dibawah Naungan	Bulat	Bulat dengan tonjolan tak beraturan	Cembung	Putih Kekuningan
TM01	Terpapar Matahari	Ireguler	Bergerigi	Cembung	Putih

#### Karakterisasi Secara Mikroskopik

Karakterisasi mikroskopis dilakukan untuk mengetahui bentuk morfologi sel bakteri dan sifat dinding selnya melalui metode pewarnaan Gram. Pewarnaan ini membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif berdasarkan ketebalan lapisan peptidoglikan pada dinding sel, yang mempengaruhi kemampuan sel menyerap dan mempertahankan warna kristal violet. Jika hasil pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan jika diperoleh bakteri warna ungu maka bakteri tersebut adalah gram positif.



a.

b.

Gambar 5. Hasil Pengamatan Secara Mikroskopik DN 01

Dalam penelitian ini, karakterisasi mikroskopis hanya dilakukan pada isolat DN01, karena hanya isolat ini yang berhasil dimurnikan pada tahap sebelumnya. Preparat dibuat dengan cara fiksasi sel bakteri pada kaca objek, kemudian dilakukan pewarnaan berurutan menggunakan kristal violet, iodine, alkohol 95%, dan safranin. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat DN01 memiliki bentuk sel kokus (bulat) dan berwarna ungu setelah proses pewarnaan. Hal ini menandakan bahwa bakteri tersebut termasuk dalam kelompok Gram positif, yang umumnya memiliki dinding sel yang tebal dan mampu mempertahankan warna kristal violet. Bentuk kokus dan hasil Gram positif ini mengarah pada dugaan bahwa isolat DN01 berasal dari genus *Staphylococcus*. Genus ini dikenal sebagai bakteri Gram positif berbentuk bulat yang umumnya tersusun tidak beraturan (seperti anggur) (OpenStax. 2016), dan sering ditemukan sebagai endofit pada jaringan tanaman. Bakteri dari genus ini juga diketahui memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba dan hormon pertumbuhan yang menguntungkan bagi tanaman.

## KESIMPULAN

1. Proses pemurnian hanya berhasil pada isolat DN01, dengan diperolehnya dua koloni tunggal yang tumbuh stabil hingga kuadran IV. Sementara isolat TM01 tidak berhasil dimurnikan, karena koloni tumbuh menyebar dan tidak menunjukkan bentuk koloni tunggal.
2. Karakterisasi makroskopis isolat DN01 menunjukkan ciri koloni berwarna putih susu, berbentuk bulat, tepi rata, permukaan halus dan licin, serta memiliki elevasi cembung.
3. Karakterisasi mikroskopis terhadap isolat DN01 menunjukkan bentuk sel kokus (bulat) dan hasil pewarnaan Gram positif (berwarna ungu), sehingga diduga termasuk dalam



genus *Staphylococcus*, yang dikenal sebagai salah satu genus bakteri endofit yang umum ditemukan pada jaringan tanaman.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aqlinia, M., S. Pujiyanto, & Wijanarka. 2020. Isolasi Bakteri Endofit Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Uji Antibakteri Supernatan *Crude* Metabolit Sekunder Isolat Potensial terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Akademika Biologi*. 9 (1): 23-31.
- Hamtni, N. Rachmawati, S. Anliza, & Shufiyani. 2023. Uji Antibakteri Fungi Endofit dari Daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lambung Farmasi, Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 4 (1): 135-140.
- Ndiwa, F.C.Y. E.S. Samur, F. Morse & E.K. Andur. 2023. Faktor-faktor yang memengaruhi usahatani kopi robusta di Kecamatan Cibal Barat. *Jurnal Pertanian*.1(2): 1–14.
- OpenStax. 2016. *Microbiology*. OpenStax. 26 09 2016. <<http://cnx.org/content/col12063/latest/>>.
- Rahmanulloh, A. 2020. *Coffee Annual*. USDA. Jakarta.
- Ramadhanty, M.A., A.T. Lunggani, & 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