

KOMUNITAS RHI ZOBACTERIA TANAMAN TEH DENGAN APLIKASI FORMULA BIOIMUNIZER (*Chryseobacterium* Sp DAN *Bacillus* Sp) BERDASARKAN GEN 16S rRNA

Agnistisya Widaranti¹, Siti Nur Jannah¹, Hermin Pancasakti K¹,
Dwi Ningsih Susilowati²

¹Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

²Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

Email: agnis.tisya@gmail.com

Abstract

Commodity of tea (*Camellia sinensis*) has an important role in the national economy, especially in the field of agro-industries. Based on data obtained from the Directorate General of Plantation, the tea plant productivity declined over the last few years. This is due to the pest attack which result in decreasing the productivity of the tea plant. Increased crop productivity of tea have been done, such as the use of herbicides and insecticides, but until now there is very little effort to increase the production of tea plants by the use of biological agents. *Chryseobacterium* sp and *Bacillus* sp are rhizobacteria in tea rhizosphere that could potentially be used as a biocontrol agent (bioimmunizer). The purpose of this study is to determine the community rhizobacteria in tea soil with the addition of bioimmunizer based on 16S rRNA gene using T-RFLP technique. The method used in this research is T-RFLP technique (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) using enzymes *Msp* I and *Rsa* I. The calculated value are relative abundance, Shannon diversity index (H'), evenness index (E), and dominance index. The results of this study indicate that soil samples with the addition of bioimmunizer consisting of *Arthrobacter* sp, *Bacillus* sp, *Actinobacteria*, and *Chryseobacterium* sp.

Keyword: T-RFLP, *Chryseobacterium* sp, *Bacillus* sp

Abstrak

Komoditas teh (*Camellia sinensis*) memiliki peranan penting dalam perekonomian nasional, terutama dalam bidang agroindustri. Berdasarkan data yang diperoleh dari Direktorat Jenderal Perkebunan, produktifitas tanaman teh menurun selama beberapa tahun terakhir. Hal ini disebabkan karena adanya serangan hama penyakit yang berdampak kepada penurunan produktifitas tanaman teh. Upaya peningkatan produktifitas tanaman teh telah banyak dilakukan, seperti penggunaan herbisida maupun insektisida, namun sampai saat ini masih sangat sedikit upaya peningkatan produksi tanaman teh yang menggunakan agen hayati. *Chryseobacterium* sp dan *Bacillus* sp merupakan rhizobakteria pada daerah rhizosfer tanaman teh yang berpotensi digunakan sebagai agen hayati (*bioimmunizer*). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui komunitas rhizobakteria tanaman teh dengan adanya penambahan bioimmunizer berdasarkan gen 16S rRNA dengan menggunakan teknik T-RFLP. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu T-RFLP (*Terminal*

Restriction Fragment Length Polymorphism) dengan menggunakan enzim *Msp* I dan *Rsa* I. Nilai yang dihitung yaitu kelimpahan relatif, indeks keragaman Shannon (H'), indeks pemerataan (E), dan indeks dominansi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa komunitas rhizobakteria pada tanah dengan penambahan *bioimunizer*, yakni sampel perlakuan tanah terdiri dari *Arthrobacter* sp, *Bacillus* sp, *Actinobacteria*, dan *Chryseobacterium* sp.

Kata kunci : T-RFLP, *Chryseobacterium* sp, *Bacillus* sp

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teh sebagai komoditas penting memiliki peluang yang besar untuk dikembangkan di Indonesia. Komoditas teh (*Camellia sinensis*) memiliki peranan penting dalam perekonomian nasional yaitu sebagai sumber pendapatan petani, penyerapan tenaga kerja, sumber devisa negara, mendorong agroindustri, pelestarian lingkungan (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2013). Produksi teh di Indonesia semakin menurun, dan diikuti dengan penurunan ekspor teh. Menurut Tindaon (2009), berdasarkan *Annual Report* PTPN IV tahun 2007, produksi teh menurun rata-rata 6,56% selama rentang waktu 5 tahun, dan hal tersebut disebabkan karena serangan hama penyakit yang berdampak kepada penurunan produktifitas tanaman teh.

Upaya peningkatan produktifitas tanaman teh telah banyak dilakukan, terutama dalam hal penanggulangan hama dan penyakit yang menyerang tanaman teh. Upaya yang dilakukan yaitu penggunaan herbisida maupun insektisida, namun sampai saat ini masih sangat sedikit upaya peningkatan produksi tanaman teh yang menggunakan agen hayati. Astari *dkk.* (2014) menyatakan bahwa agen hayati dapat dikembangkan dari

mikroba alami yang terdapat pada lahan tanaman, maupun mikroba rhizofe tanaman. Penelitian yang dilakukan oleh Dutta *et al.* (2015) mengenai rhizobakteria pada tanaman teh menyebutkan bahwa ada beberapa genus rhizobakteria yang banyak ditemukan atau dominan terdapat di rhizosfer tanaman teh, diantaranya *Bacillus* sp, *Chryseobacterium* sp, serta *Pseudomonas* sp. Kendala yang sering dihadapi dalam pengembangan agen hayati adalah ketidakkonsistenan hasil selama aplikasi. Hal ini dapat disebabkan oleh berkurangnya tingkat efektifitas agen hayati sehingga tidak mampu berkompetisi dengan mikroba *indigenous* dan ketidaksesuaian terhadap kondisi lingkungan. Oleh sebab itu, strategi pengembangan agen hayati perlu mempertimbangkan komunitas rhizobakteria tanaman (Subowo, 2014).

Penelitian mengenai komunitas rhizobakteria dapat dilakukan secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA, yaitu dengan menggunakan teknik *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP). Analisis TRFLP adalah teknik yang digunakan untuk mempelajari komunitas mikroba. kompleks berdasarkan variasi dalam gen 16S rRNA (Osborn *et al.*, 2000). Oleh karena itu, akan dilakukan penelitian mengenai

komunitas rhizobakteria tanaman teh dengan aplikasi formula bioimunizer (*Chryseobacterium* sp dan *Bacillus* sp) berdasarkan gen 16S rRNA. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui komunitas rhizobakteria tanaman teh dengan adanya penambahan *bioimunizer* berdasarkan gen 16S rRNA dengan menggunakan teknik T-RFLP. Variabel yang digunakan untuk mengetahui komunitas rhizobakteria dalam penelitian ini adalah kelimpahan relatif, nilai indeks keragaman, nilai indeks kemerataan, dan nilai indeks dominansi. Hasil penelitian ini selanjutnya dapat dikembangkan untuk penelitian lanjutan dalam pengembangan potensi mikroba rhizosfer tanaman teh, terutama sebagai agen hayati untuk tanaman teh.

1.2 Permasalahan

Komunitas rhizobakteria pada tanaman teh sangat beragam. Permasalahannya, konsistensi hasil aplikasi formula *bioimunizer* (*Chryseobacterium* sp dan *Bacillus* sp) pada rhizosfer tanaman teh belum teruji, sehingga diperlukan penelitian untuk mengetahui hasil aplikasi dari formula *bioimunizer* tersebut dengan mempertimbangkan komunitas rhizobakteria tanaman teh.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komunitas rhizobakteria tanaman teh dengan adanya penambahan *bioimunizer* berdasarkan gen 16S rRNA dengan menggunakan teknik T-RFLP.

II. Metode Penelitian

2.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang perlu disterilisasi diantaranya tip, *microtube*, dan akuades. Tip dan *microtube* dimasukkan ke dalam botol selai ukuran besar secara terpisah, kemudian bagian atas botol ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan diikat dengan karet. Akuades diambil sebanyak 1000 ml dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Bagian atas tabung erlenmeyer (mulut tabung) tersebut ditutup dengan kapas, dan ditutup kembali dengan aluminium foil. Semua botol dan tabung erlenmeyer yang berisi alat dan bahan yang akan disterilisasi tersebut dimasukkan ke dalam autoklaf. Sterilisasi dilakukan dengan suhu 121⁰C selama 15 menit.

2.2 Pembuatan Media Soil Extract Agar (SEA)

Media SEA dibuat dengan melarutkan 34.35 gram SEA ke dalam tabung erlenmeyer yang berisi 1000 ml akuades steril. Larutan tersebut selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Larutan media yang telah disterilisasi kemudian dituang ke dalam cawan petri.

2.3 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan yaitu sampel rhizosfer tanaman teh tanpa pemberian *bioimunizer* dan rhizosfer tanaman teh setelah pemberian *bioimunizer*, serta sampel isolat kultur *Chryseobacterium* sp dan *Bacillus* sp. Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 6 sampel yaitu 4 sampel yang berasal dari rhizosfer tanaman teh (kontrol tanah, kontrol kultur, perlakuan tanah, dan perlakuan kultur), serta 2 sampel yang terdiri dari

isolat *Chryseobacterium* sp dan *Bacillus* sp. Sampel yang dipreparasi hanya sampel yang diambil dari tanah rhizosfer tanaman teh (sampel kontrol tanah, kontrol kultur, perlakuan tanah, dan perlakuan kultur). Sampel kontrol tanah dan perlakuan tanah dipreparasi dengan pendekatan metagenom, sedangkan sampel kontrol kultur dan perlakuan kultur dipreparasi dengan pendekatan pengkulturan.

2.3.1 Pendekatan Metagenom

Preparasi sampel dari rhizosfer tanaman teh dengan pendekatan metagenom dilakukan melalui beberapa tahap. Akar beserta tanah di bagian rhizosfer dari tanaman teh pada setiap sampel diambil sebanyak 10 gram dan dimasukkan kedalam botol selai. Akuades steril sebanyak 90 ml dimasukkan ke dalam setiap botol tersebut, lalu dicampur dengan menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 200 rpm selama 15 menit. Suspensi tanah tersebut diambil sebanyak 1 ml untuk digunakan pada preparasi sampel dengan pendekatan pengkulturan, dan sisanya dimasukkan ke dalam tabung falcon yang terpisah, lalu setiap tabung falcon tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang berupa akuades dibuang, sehingga hanya didapat pelet tanah saja.

2.3.2 Pendekatan Pengkulturan

Suspensi tanah pada setiap sampel sebanyak 1 ml yang telah diambil dari pendekatan metagenom dimasukkan ke dalam botol kaca vial yang telah berisi 9 ml akuades steril sebagai pengenceran kedua. Suspensi tanah dari pengenceran kedua diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke

dalam botol kaca vial yang telah berisi 9 ml akuades steril. Hal yang sama juga dilakukan untuk pengenceran keempat dan kelima. Suspensi tanah dari pengenceran ketiga, keempat, dan kelima diambil sebanyak 100 μ l, lalu dituangkan ke dalam media SEA pada cawan petri, dan diratakan dengan menggunakan *spreader*. Media yang telah diinokulasikan bakteri tersebut selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang (22°C). Koloni bakteri dari hasil kultur diambil dengan cara menuangkan 100 μ l akuades steril ke atas media SEA tersebut untuk melarutkan koloni bakteri sehingga memudahkan pengambilan semua koloni bakteri, kemudian diambil dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam *microtube* steril. Suspensi bakteri yang terdapat dalam *microtube* tersebut dimasukkan kedalam oven dengan suhu 50°C selama 3 jam untuk mengurangi kadar airnya.

2.4 Isolasi DNA

Isolasi DNA dari semua sampel dilakukan dengan kit ekstraksi DNA *Power Soil* dari Mo Bio. Hasil isolasi DNA selanjutnya dicek dengan elektroforesis menggunakan Marker 1kb (*promega*).

2.5 Amplifikasi dan Purifikasi Gen 16S rRNA

DNA genom hasil ekstraksi selanjutnya diamplifikasi dengan menggunakan *Esco's Swift MaxPro thermal cyclor*. Gen 16S rRNA diamplifikasi menggunakan *primer* 27F berlabel 6-FAM *carboxyfluorescein* (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') dan 1492R tidak berlabel (5'-

TACGGTTACCTTGTTACGACT-
'3). Total volume PCR dibuat sebanyak 50 μ l yang terdiri atas *GoTaq(R) Green* (Promega) sebanyak 25 μ l, masing-masing *primer* sebanyak 1 μ l, 5 μ l DNA *template*, dan 18 μ l *nuclease free water* (NFW) sebagai pelarut. PCR dijalankan pada kondisi 1 siklus denaturasi awal pada 98⁰C selama 3 menit, 30 siklus yang terdiri dari denaturasi pada 98⁰C selama 45 detik, *annealing* pada 55⁰C selama 45 detik, dan pemanjangan pada 72⁰C selama 45 detik, serta 1 siklus pemanjangan akhir pada 72⁰C selama 7 menit.

Hasil amplifikasi selanjutnya dicek dengan elektroforesis menggunakan marker 1 kb (*promega*). Produk PCR selanjutnya dimurnikan menggunakan kit purifikasi DNA *QIAquick*. Hasil purifikasi ini selanjutnya dicek dengan menggunakan *nanodrop* untuk mengetahui konsentrasi dan kemurniannya.

2.6 Pemotongan Sekuens Gen 16S rRNA dengan Enzim Restriksi

Sekuens gen 16S rRNA dari produk PCR murni selanjutnya dipotong menggunakan enzim restriksi. Enzim restriksi yang digunakan yaitu *Rsa I* (*Thermo scientific*) dan *Msp I* (*Thermo scientific*). Produk PCR murni dibagi ke dalam 2 *microtube* berbeda untuk didigesti dengan 2 enzim restriksi tersebut. Total volume dibuat sebanyak 32 μ l yang terdiri dari 10 μ l produk PCR murni, 2 μ l enzim restriksi, 2 μ l *10x buffer tango*, dan *nuclease free water* sebanyak 18 μ l. Semua sampel selanjutnya diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37⁰C. Produk

hasil restriksi selanjutnya diinaktivasi pada suhu 80⁰C selama 20 menit untuk menghentikan proses digesti oleh enzim restriksi. Sampel yang telah diinaktivasi segera didinginkan dalam *ice bath*.

Hasil digesti kemudian dicek dengan elektroforesis menggunakan marker 50 bp (*Jena Bioscience*). Sampel hasil digesti selanjutnya dimasukkan ke dalam *microtube* yang dibungkus aluminium foil dan disimpan pada suhu -20⁰C, dan segera dikirim ke 1st Base Malaysia untuk analisis T-RFLP.

2.7 Analisis T-RFLP Komunitas Bakteri dan Analisis Profil T-RF

Produk hasil restriksi dikirim ke perusahaan jasa 1st Base Malaysia untuk analisis T-RFLP. Hasil analisis T-RF dilihat dengan menggunakan *software peak scanner v1.0*. Profil T-RF pada setiap sampel dianalisis dengan langkah sebagai berikut:

- T-RF yang mempunyai selisih ukuran basa kurang dari 2 bp pada sampel yang sama yang dipotong dengan enzim yang sama dikelompokkan sebagai T-RF yang sama (Dunbar *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 2005).
- T-RF yang mempunyai luas area kurang dari 1% dari total area semua T-RF pada sampel yang sama dianggap sebagai pengotor sehingga tidak digunakan dalam analisis (Zhang *et al.*, 2008).
- Prediksi afiliasi filogenetik ukuran T-RF yang muncul dalam komunitas dilakukan dengan cara mencari padanannya dengan

ukuran T-RF bakteri yang ada dalam basis data pada program *Microbial Community Analysis III (MICA3) Virtual Digest (ISPaR)*. Ukuran T-RF yang sama dengan ukuran T-RF pada basis data diprediksi mempunyai hubungan filogenetik yang sama (Dunbar *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 2005).

2.8 Analisis Kelimpahan Relatif, Keragaman, Dominansi dan Kemerataan Komunitas Bakteri

Kelimpahan relatif (%) ukuran T-RF tertentu merupakan banyaknya proporsi T-RF tersebut dalam komunitasnya (Dunbar *et al.*, 2001). Kelimpahan relatif dihitung berdasarkan luas wilayah puncak (*peak area*) dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{Luas } peak \text{ area T-RF ukuran tertentu}}{\text{Total luas } peak \text{ area seluruh ukuran T-RF}} \times 100\%$$

Keanekaragaman komunitas ditentukan berdasarkan keanekaragaman jenis T-RF yang muncul. Keanekaragaman komunitas dihitung menggunakan indeks Shannon (H') sebagai berikut:
 $H' = -\sum (P_i \times \log P_i)$

$P_i = n_i N^{-1}$, dimana n_i adalah luasan area dan N adalah jumlah total luasan area.

Kemerataan komunitas ditentukan berdasarkan tingkat sebaran T-RF dalam komunitasnya. Kemerataan komunitas dihitung menggunakan indeks Pielous sebagai berikut:

$$E = H'/\ln(S)$$

S adalah jumlah total T-RF

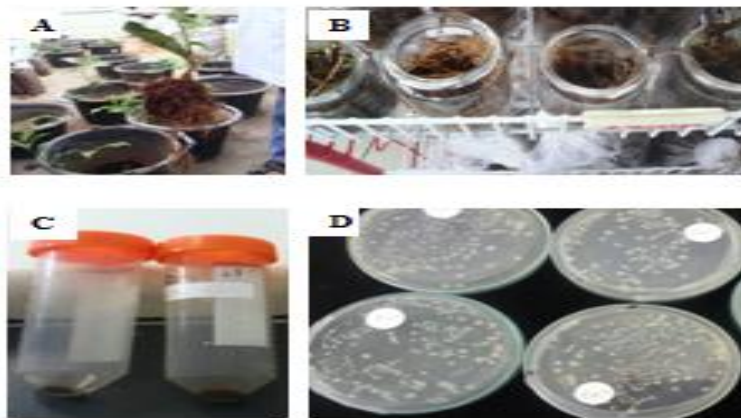
Dominansi ditentukan berdasarkan ada tidaknya puncak T-RF yang lebih mendominasi T-RF yang lainnya. Dominansi dihitung menggunakan indeks dominansi simpson (D) sebagai berikut:

$$D = \sum (n_i N^{-1})^2$$

III. Hasil dan Pembahasan

3.1 Preparasi Sampel

Sampel yang dipreparasi hanya sampel yang diambil dari daerah rhizosfer tanaman teh, diantaranya sampel kontrol tanah, kontrol kultur, perlakuan tanah, dan perlakuan kultur. Hasil preparasi sampel yang digunakan untuk pendekatan metagenom (sampel kontrol tanah, dan perlakuan tanah) berupa pelet tanah. Hasil preparasi sampel yang digunakan untuk pendekatan pengkulturan (sampel kontrol kultur, dan perlakuan kultur) berupa koloni bakteri yang terdapat pada media *Soil Extract Agar (SEA)*. Hasil preparasi sampel disajikan pada gambar berikut:



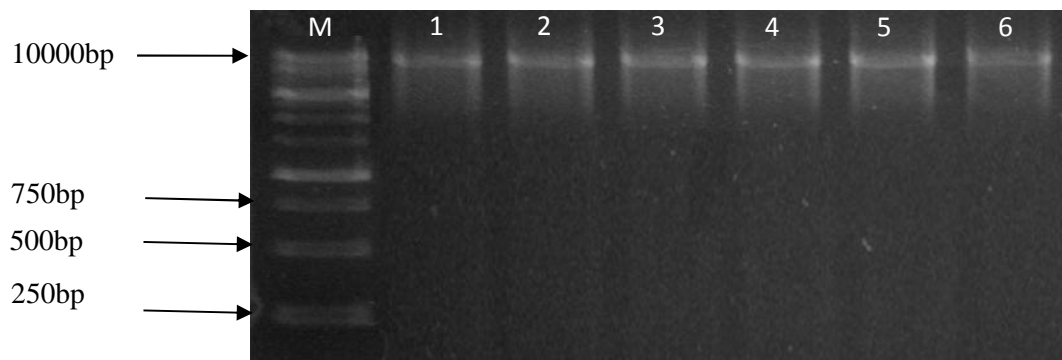
Gambar 3.1 Preparasi sampel dari rhizosfer tanaman teh.

Keterangan: A=pengambilan rhizosfer tanaman teh; B=preparasi sampel; C=pelet tanah dari hasil preparasi untuk pendekatan metagenom; D=koloni bakteri dari hasil preparasi untuk pendekatan pengkulturan.

3.2 Isolasi DNA

Sampel yang digunakan untuk tahap isolasi DNA yaitu sampel yang diperoleh dari hasil preparasi rhizosfer tanaman teh (sampel kontrol tanah, kontrol kultur, perlakuan tanah, perlakuan kultur), serta isolat kultur *Bacillus* sp dan *Chryseobacterium* sp. DNA dari sampel dengan pendekatan metagenom (sampel kontrol tanah dan perlakuan tanah) diisolasi langsung

dari hasil preparasi yang berupa pelet tanah. DNA dari sampel dengan pendekatan pengkulturan (sampel kontrol kultur dan perlakuan kultur) diisolasi dari hasil pengkulturan dalam media *Soil Extract Agar* (SEA). Hasil yang diperoleh dari isolasi DNA ini berupa adanya band DNA berukuran 10000 bp saat divisualisasi dengan *gel doc*, seperti pada gambar berikut:

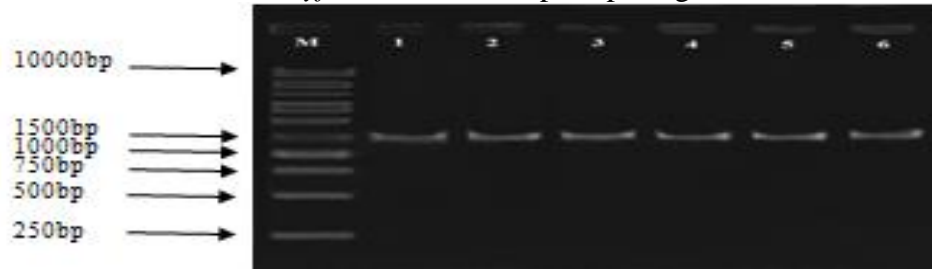


Gambar 3.2 Visualisasi Hasil Isolasi DNA. Keterangan: M=marker 1kb; 1=kontrol kultur; 2=perlakuan kultur; 3=kontrol tanah; 4=perlakuan tanah; 5=*Chryseobacterium* sp; 6=*Bacillus* sp

3.3 Amplifikasi Gen 16S rRNA

Amplifikasi Gen 16S rRNA dilakukan dengan menggunakan primer 27F berlabel 6-FAM *carboxyfluorescein*

dan 1492R non-label. Hasil yang diperoleh dari proses amplifikasi berupa adanya band yang berukuran 1500 bp, seperti pada gambar berikut:

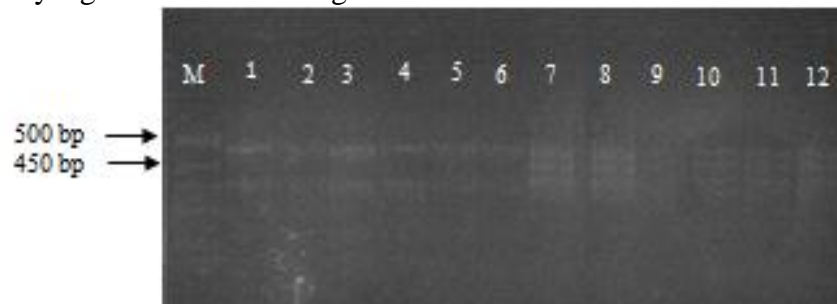


Gambar 3.3 Visualisasi Hasil Amplifikasi gen 16S rRNA. Keterangan: M=marker 1kb; 1=kontrol kultur; 2=perlakuan kultur; 3=kontrol tanah; 4=perlakuan tanah; 5=*Chryseobacterium* sp; 6=*Bacillus* sp

3.4 Pematangan Sekuens Gen 16S rRNA dengan Enzim Restriksi, dan Analisa T-RFLP Komunitas Rhizobakteria

Sekuens gen 16S rRNA yang telah dimurnikan selanjutnya didigesti dengan enzim restriksi *Rsa* I (*thermo scientific*) dan *Msp* I (*thermo scientific*) yang dilakukan dengan

waktu inkubasi selama 4 jam. Sampel yang telah didigesti dengan enzim restriksi selanjutnya dicek dengan elektroforesis. Hasil dari proses digesti dengan enzim restriksi berupa adanya band berukuran 50-500 bp saat divisualisasi dengan *gel doc*, seperti pada gambar berikut:



Gambar 3.4 Visualisasi Hasil Digesti dengan Enzim Restriksi. Keterangan: no.1 sampai dengan no.6 merupakan hasil digesti dengan *Rsa* I; no.7 sampai dengan no.12 merupakan hasil digesti dengan *Msp* I; M=marker 50 bp; 1=Kontrol tanah; 2=Perlakuan tanah; 3=Kontrol kultur; 4=Perlakuan kultur; 5=*Bacillus* sp; 6=*Chryseobacterium* sp; 7=Kontrol tanah; 8=Perlakuan tanah; 9=Kontrol kultur; 10=perlakuan kultur; 11=*Bacillus* sp; 12=*Chryseobacterium* sp.

Hasil digesti kemudian dikirim ke 1st base Malaysia untuk analisa T-RFLP. Hasil analisa T-RFLP ditunjukkan dalam bentuk peak T-RF

yang menggambarkan bakteri yang terdapat pada masing-masing sampel. Berikut merupakan profil T-RFLP setiap sampel:



(Gambar 3.5 Profil T-RFLP gen 16S rRNA dari daerah rhizosfer tanaman teh yang didigesti dengan enzim restriksi *Msp* I dan *Rsa* I)

Berdasarkan hasil dari perbandingan ukuran T-RF pada masing-masing sampel dengan *database MICA III*, komunitas pada sampel kontrol kultur, perlakuan kultur, dan kontrol tanah terdiri dari *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, dan *Bacillus* sp. Komunitas pada sampel perlakuan tanah terdiri dari *Actinobacteria*, *Arthrobacter* sp, *Bacillus* sp, dan *Chryseobacterium* sp. Bakteri *Bacillus* sp, *Arthrobacter* sp, *Chryseobacterium* sp, *Acidobacteria*, dan *Actinobacteria* diketahui merupakan rhizobakteria yang dapat ditemukan di daerah rhizosfer tanaman teh (Pandey *et al.*, 2013; Chau *et al.*, 2014; Hidayati, 2015).

Sampel kontrol kultur, kontrol tanah, dan perlakuan kultur memiliki hasil yang sama yaitu terdapatnya bakteri *Bacillus* sp, *Acidobacteria*, dan *Actinobacteria*. Hasil pada ketiga sampel tersebut berbeda dengan sampel perlakuan tanah yang menunjukkan adanya rhizobakteria *Chryseobacterium* sp, *Arthrobacter* sp, serta tidak terdapatnya *Acidobacteria* pada sampel perlakuan tanah tersebut. Persamaan dan perbedaan kelompok bakteri yang muncul dari pendekatan metagenom dan pengkulturasi menggunakan teknik T-RFLP tidak terlepas dari pengaruh kekurangan dan kelebihan teknik tersebut. Menurut Orcutt *et al.* (2009), salah satu kekurangan pada teknik T-RFLP ini yaitu tidak dapat mendeteksi taksa dengan kelimpahan yang rendah, sehingga mikroba yang kemelimpahannya rendah tidak menghasilkan amplikon *fluorescen* yang cukup sehingga tidak terdeteksi.

Tidak adanya *Acidobacteria* pada sampel perlakuan tanah dapat

disebabkan oleh konsentrasi DNA yang rendah, sehingga peak tidak akan terdeteksi (Dunbar *et al.*, 2001). *Chryseobacterium* sp dan *Arthrobacter* sp tidak terdapat dalam sampel perlakuan kultur dikarenakan ketidakcocokan media yang digunakan untuk pertumbuhan *Chryseobacterium* sp dan *Arthrobacter* sp.

IV. Simpulan

Komunitas rhizobakteria pada sampel kontrol kultur, kontrol tanah, dan perlakuan tanah terdiri dari *Bacillus* sp, *Acidobacteria*, dan *Actinobacteria*. Komunitas rhizobakteria pada sampel perlakuan tanah terdiri dari *Arthrobacter* sp, *Bacillus* sp, *Actinobacteria*, dan *Chryseobacterium* sp.

Daftar Pustaka

- Astari, W., Purwani, K.I., dan Anugerahani, W. 2014. Pengaruh Aplikasi Pupuk Hayati Terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum* L.) Var. *tombatu* di PT Petrokimia Gresik. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* (2): 2337-3520.
- Chau, N.T.T., Le Van T., and Shinjiro K. 2014. Identification and Characterization of Acidity-Tolerant and Aluminium-Resistant Bacterium Isolated From Tea Soil. *African Journal of Biotechnology* 13(27): 2715-2726.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2013. *Pedoman Teknis Pengembangan Tanaman Teh tahun 2014*. Kementerian Pertanian Press, Jakarta.
- Dunbar, J., Ticknor L.O., and Kuske A.R. 2001. Phylogenetic Specificity And Reproducibility And New Method For Analysis Of Terminal Restriction Fragment Profiles of 16S

- rRNA Genes From Bacterial Communities. *Appl Environ Microbiol* (67): 190-197.
- Dutta, J., Handique, P.J., and Thakur, D. 2015. Assessment of Culturable Tea Rhizobacteria Isolated From Tea Estates of Assam, India For Growth Promotion in Commercial Tea Cultivars. *Journal Frontiers in Microbiology* (6): 1252.
- Hidayati, E. 2015. Penapisan Komunitas Bakteri Rizosfer Secara In Planta Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Jagung Di Lahan Kering. *Disertasi*. IPB press, Bogor.
- Orcutt, B., Balley, B., Staudigel, H., Tebo, B.M., and Edwards, K.J. 2009. An Interlaboratory Comparison of 16S rRNA Gene-Based Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism And Sequencing Methods For Assesing Microbial Diversity of Seafloor Basalts. *Environ Microbiol* 11(7): 1728-2735.
- Osborn, A. M., Moore, R.B., and Timmis, K.N. 2000. An Evaluation of Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) Analysis For The Study of Microbial Community Structure and Dynamics. *Environmental Microbiology* (2): 39-50.
- Pandey, A., Shipra, S., and Lok, M.S.P.. 2013. Microbial Inoculants To Support Tea Industry In India. *Indian Journal of Biotechnology* (12): 13-19.
- Smith C.J., Danilowicz B.S., Clear A.K., Costello F.J., Wilson B., and Meijer W.G. 2005. T-Align, A Web-Based Tool For Comparison Of Multiple Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Profiles. *FEMS Microbiol Ecol* (54): 375-380.
- Subowo. 2014. *Pemberdayaan Organisme Tanah untuk Pertanian Ramah Lingkungan*. IAARD Press, Jakarta.
- Tindaon, R.F. 2009. Identifikasi Sistem Produksi Teh di PT. Perkebunan Nusantara IV Kebun Bah Butong. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Zhang, R., Thiyagarajan V., and Qian P. 2008. Evaluation Of Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis In Contrasting Marine Environments. *FEMS Microbiol Ecol* (65): 1-10.