

Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Daging Buah Salak Pondih (*Salacca edulis*) Dan Salak Padang Sidempuan (*Salacca sumatrana*)

Fatimah Azzahra¹, Kartika Manalu², Rizki Amelia Nasution³

Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara.

fatimahazzahra.9983@gmail.com (1), kartikamanalu@uinsu.ac.id (2), rizkiamelianst@uinsu.ac.id (3)

ABSTRAK

Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa mengganggu pertumbuhan tanaman. Bakteri endofit yang berasal dari tanaman buah, seperti buah salak (*Salacca zalacca*), memiliki kemampuan menghasilkan senyawa kimia yang meningkatkan kesehatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi dan mendeskripsikan bakteri endofit yang terdapat pada daging buah salak pondoh dan buah sidempuan padang. Untuk mengidentifikasi bakteri tersebut, penelitian ini menggunakan teknik deskriptif serta karakterisasi morfologi, pewarnaan gram, dan uji biokimia. Pendekatan pengenceran 10⁻⁴ digunakan untuk mengisolasi bakteri endofit dari kedua jenis buah salak. Hasil analisis disajikan secara deskriptif dan kualitatif untuk setiap strain bakteri endofit yang ditemukan. Didapatkan enam isolat buah salak pondoh dan empat isolat buah salak Padangsidempuan, sehingga total bakteri endofit sebanyak 10 isolat. Studi biokimia mengungkapkan bahwa isolat bakteri endofit berasal dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*.

Kata Kunci : Salak, Bakteri Endofit, dan Karakteristik Buah.

ABSTRACT

Endophytic bacteria are bacteria that live in plant tissues and develop colonies without interfering with the host's growth. Endophytic bacteria, particularly those isolated from fruit plants, can create chemical substances that promote health. Salak fruit (*Salacca zalacca*) is one of the plants with health advantages. The goal of this research was to discover and describe the endophytic bacteria identified in the flesh of the Pondoh Salak and Padangsidempuan fruits. This study employed descriptive methods and bacterium identification using morphological characterization, gram staining, and biochemical assays. The 10⁻⁴ dilution method was used to isolate bacteria from both salak fruits. The findings were described descriptively and qualitatively for each endophytic bacteria discovered. Six samples of salak pondoh and four isolates of salak Padangsidempuan were recovered, for a total of 10 isolates of endophytic bacteria. Based on biochemical analyses of endophytic bacterial isolates isolated from the pulp of the Pondoh and Padangsidempuan salak fruits, they were identified as *Bacillus* and *Pseudomonas*.

Keywords : Salak, Endophytic Bacteria, and Fruit Characteristics

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Salak pondoh dan salak Padangsidempuan memiliki rasa buah yang manis dan asam karena pati diubah menjadi gula selama proses pematangan, dan jumlah asam, seperti asam sitrat, meningkat, memberikan rasa manis dan asam pada buah salak (Irfandi, 2005). Mikroba, terutama bakteri endofit yang hidup di jaringan tanaman, mempengaruhi perubahan rasa buah. Bakteri endofit dapat menyebabkan kerusakan tanaman dengan cara memasuki jaringan tanaman melalui pori-pori alami (Hidayah, 2008). Endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman seperti akar, batang, daun, biji, dan buah tetapi tidak menimbulkan gejala penyakit tanaman (Radji, 2005). Mikroba endofit telah ditemukan pada berbagai tanaman, antara lain padi, kentang, anggrek, dan kina (Tian et al, 2015). Buah-buahan sering mengandung mikroorganisme endofit. Bakteri endofit dari genus *Pseudomonas* dan *Bacillus* banyak terdapat pada tanaman tomat dan dapat menghasilkan hormon pertumbuhan yang berpengaruh baik terhadap pertumbuhan tanaman (Hartini, 2004). Menurut Husain (2022), Hallman dan Berg (2006) mengklaim bahwa keberadaan bakteri endofit meningkatkan tanaman dengan meningkatkan pertumbuhan tanaman dan konsumsi nutrisi.. Penggunaan mikroorganisme endofit, khususnya bakteri, telah menarik banyak perhatian karena telah berkembang menjadi pilihan non-kimia selama beberapa tahun terakhir (Melliawati et al., 2006). Menghasilkan zat bioaktif yang mirip dengan tanaman inang merupakan komponen interaksi simbiosis antara bakteri dan tanaman. Tanaman tidak diperlukan jika bakteri dapat membuat metabolit sekunder yang mirip dengan tanaman inangnya. Sebaliknya, menurut Priharta (2008), tanaman ini terkait dengan mikroba endogen.

2. Perumusan Masalah

Ada beberapa kesimpulan yang ditarik dari konteks penelitian ini, yaitu:

- 1) Apakah daging buah salak pondoh dan buah salak Padangsidempuan termasuk bakteri endofit?
- 2) Bagaimana bakteri endofit yang terdapat pada daging buah salak pondoh dan buah salak Padangsidempuan dapat diidentifikasi?

3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan bagaimana tantangan yang telah disajikan telah dirumuskan, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Merujuk pada bakteri endofit yang dapat dideteksi pada daging buah salak Padangsidempuan dan Pondoh.
- 2) Identifikasi dan karakterisasi isolat bakteri endofit dari daging buah salak pondoh dan salak padangsidempuan.

4. Manfaat Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memberitahukan kepada khalayak umum tentang keberadaan bakteri endofit pada daging salak Padang Sidempuan dan Pondoh. Selain itu diharapkan penelitian ini dapat mengkarakterisasi berbagai jenis bakteri endofit yang dapat dideteksi pada daging salak pondoh dan salak padang sidempuan.

II. METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini direncanakan untuk dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Sumatera Utara, Medan, dimulai pada bulan November 2021 hingga Desember 2021.

Rancangan Penelitian atau Model

Bakteri endofit yang teridentifikasi pada buah Salak Pondoh dan Salak Padang, serta dengan isolasi dan pendampingan, diteliti dalam penelitian ini menggunakan metodologi deskriptif.

Bahan dan Peralatan

1. Alat Penelitian

Oven, autoclave, kertas saring, aluminium foil, cling film, pipet, gelas ukur, spatula, hotplate, cawan petri, Erlenmeyer, rak tabung reaksi, jarum, benda kaca, penutup kaca, tabung reaksi, lampu Bunsen, penjepit kayu, vortex, dan mikroskop adalah beberapa alat yang digunakan dalam penelitian ini..

2. Bahan Penelitian

Daging buah salak pondoh dan salak Padangsidempuan, akuades, etanol konsentrasi 70%, natrium hipoklorit konsentrasi 3%, media Nutrient Agar (NA), NaCl, dan larutan kristal digunakan dalam penelitian ini. Violet, larutan yodium, larutan spiritus, alkohol aseton, larutan safranin, hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%, media Strach Amylum, media agar, media gelatin, media Simmon's Citrate Agar (SCA), media uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA), dan media Sulfie Indole Motility (SIM) adalah beberapa bahan lain yang digunakan dalam percobaan.

Tahapan Penelitian

1. Persiapan alat dan bahan

Setiap peralatan yang digunakan dalam penyelidikan ini dibersihkan dengan cermat dan dikeringkan dalam oven. Alat dan bahan kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi

2. Sampel

Daging buah Salak Padangsidempuan dan Salak Pondoh disajikan sebagai sampel tanaman penelitian. Pedagang buah di Medan dihubungi untuk membeli sampel Salak Pondoh dan Padang Sidempuan. Dari kebun salak milik warga di Desa Simatorkis, Tapanuli Selatan, Sumatera Utara, dikumpulkan buah salak. Sterilitas dipertahankan selama seluruh proses pengambilan sampel, dan setelah itu, sampel tersebut akan menjalani pengujian laboratorium. Proses pengambilan sampel dilakukan dengan menjaga sterilitas, kemudian sampel tersebut akan diuji di laboratorium.

3. Preparasi Sampel

Bahan hancur seberat satu gram ditempatkan dalam botol uji bersih. Selanjutnya, rasio pengenceran larutan berair pepton mulai dari 10⁻⁴ hingga 10⁻⁶ digunakan untuk mengencerkan bahan. Dengan mengisolasi asam laktat, bakteri juga menjalani pengujian tambahan (Waluyo, 2008)

4. Pengembangan Sampel

Sampel salak pondoh dan salak padang disterilkan dengan merendamnya selama 3 menit dalam etanol 70% dan 5 menit dalam natrium hipoklorit 3%. Sampel kemudian dibersihkan dengan etanol 70% selama 30 detik dan dicuci selama dua menit dengan air suling steril. Menggunakan air suling steril, cuci tiga kali. Setelah itu, keringkan sampel dengan kertas saring. Buah salak dibagi menjadi beberapa bagian setelah disterilkan. Sampel diencerkan hingga faktor 10⁻⁴ pada langkah berikutnya. Isolasi bakteri endofit diperbolehkan untuk pengujian tambahan (Desriani et al., 2013).

5. Isolasi Bakteri

Pemanfaatan buah salak pondoh dan padangsidempuan untuk mengisolasi bakteri dengan metode pour plate. Sampel sebanyak 1 ml diambil dengan pengenceran 10⁻⁴, dan kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril yang disiapkan secara aseptik.

6. Pengamatan Morfologi

Setelah inkubasi, diamati morfologi koloni bakteri yang berkembang pada media Nutrient Agar (NA). Bentuk, kenampakan, dan warna koloni yang terbentuk pada media Nutrient Agar merupakan faktor yang perlu diperhatikan. Ciri-ciri bakteri juga dapat diamati melalui pewarnaan gram (Varghese and Joy, 2014).

7. **Pewarnaan Gram**

Prosedur pewarnaan Gram dilakukan sebagai berikut: Pertama, gunakan alkohol 70% untuk membersihkan kaca objek. Potongan kaca kemudian diratakan dan direndam dalam suspensi bakteri. Apusan bakteri kemudian diberi 2-3 tetes larutan kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit.

8. **Uji Biokimia**

1. Hidrolisis Pati
2. Uji Citrat
3. Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA)
4. Uji Motilitas
5. Uji Katalase

HASIL PENELITIAN

1. Isolasi Bakteri Endofit dari Daging Buah Salak Pondoh dan Salak Padangsidempuan

Teknik pemisahan satu jenis bakteri dari bakteri lain dalam campuran mikroba disebut isolasi bakteri. Bakteri tersebut diekstrak dari daging buah salak pondoh dan salak padangsidempuan untuk mengidentifikasi bakteri endofit dari kedua jenis buah salak tersebut. Pedagang buah di Medan, Sumatera Utara, menyediakan isolat bakteri endofit. 10 gram daging buah pondoh dan buah sidempuan padang digabung dengan air mengalir. Setelah direndam dalam larutan etanol 70% selama 30 detik, natrium hipoklorit selama 5 menit, dan etanol 70% selama 3 menit, permukaan tanaman disterilkan. Mereka kemudian dicuci tiga kali dengan air suling.

2. Pengamatan Karakteristik Makroskopis Koloni Bakteri

Temuan pengamatan penelitian ini mengungkapkan kesamaan yang cukup besar dalam hal evaluasi makroskopik antara daging salak pondoh dan buah salak Padangsidempuan yang diisolasi sebagai bakteri endofit. Terlepas dari kenyataan bahwa isolat tertentu mirip satu sama lain, tidak mungkin untuk mengetahui apakah mereka benar-benar identik. Roka dan Buddi (2017) mengutip Janda et al. (2007) mengatakan bahwa urutan nukleotida dan sifat biokimia dapat digunakan untuk membedakan antar spesies.

Tabel 4.1 Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Endofit

No	Kode Isolat	Koloni			
		Bentuk	Tepi	Warna	Elevasi

Azzahra F, Manalu K, Amelia Nasution R : Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Daging Buah Salak Pondih (*Salacca edulis*) Dan Salak Padang Sidempuan (*Salacca sumatrana*)

1.	SP1	Irregular	Irregular	Putih susu	Datar
2.	SP2	Irregular	Irregular	Putih susu	Datar
3.	SP3	Irregular	Irregular	Putih susu	Datar
4.	SP4	Irregular	Irregular	Putih susu	Convex
5.	SP5	Irregular	Irregular	Putih susu	Datar
6.	SP6	Irregular	Irregular	Putih susu	Datar
7.	SS01	Irregular	Bergelombang	Putih susu	Convex
8.	SS02	Irregular	Lobat	Putih susu	Convex
9.	SS03	Irregular	Lobat	Putih susu	Convex
10.	SS04	Irregular	Lobat	Putih susu	Convex

Keterangan:

SP : Bakteri endofit yang diisolasi dari daging buah salak Pondoh

SS : Bakteri endofit yang diisolasi dari daging buah salak Padangsidempuan.

3. Pengamatan Karakteristik Mikroskopis Sel Bakteri

1) Hasil Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram digunakan untuk memeriksa struktur mikroskopis sel bakteri, dan uji biokimia digunakan untuk menentukan genus bakteri. Berdasarkan struktur sel bakteri, pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi adalah kokus dan basil. Berdasarkan Tabel 4.3 terdapat dua isolat bakteri Gram positif dan delapan isolat bakteri Gram negatif diantara bakteri endofit. Menurut Pelczar (1989), variasi ini dihasilkan dari variasi bagaimana bakteri Gram-positif dan Gram-negatif mendapatkan nutrisi dari produk sisa metabolisme, serta variasi seberapa efisien bakteri Gram-negatif mampu mempertahankan diri terhadap pertahanan inang dan fisik. gangguan. Bakteri gram positif kurang kompleks daripada bakteri gram negatif dalam hal struktur dan susunan dinding sel bakteri. Sementara bakteri Gram negatif memiliki tiga lapisan (luar, tengah dan dalam), bakteri Gram positif hanya memiliki satu lapisan (mono).

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Bakteri Berdasarkan Pewarnaan Gram

No.	Kode Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk
1.	SP1	Positif	Basil
2.	SP2	Negatif	Basil
3.	SP3	Negatif	Basil
4.	SP4	Negatif	Basil
5.	SP5	Negatif	Basil
6.	SP6	Negatif	Basil
7.	SS01	Negatif	Basil
8.	SS02	Positif	Basil
9.	SS03	Negatif	Basil
10.	SS04	Negatif	Basil

Keterangan:

SP : Salak Pondoh

SS : Salak Padangsidempuan

Dua isolat bakteri teridentifikasi sebagai Gram positif berdasarkan hasil uji pewarnaan Gram. yang ditunjukkan dengan mikroba bewarna ungu, dan delapan isolat bakteri adalah Gram negatif yang ditunjukkan oleh bewarna merah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sel bakteri adalah basil.

2) Hasil Uji Biokimia

Temuan penelitian meliputi data uji biokimia aktivitas sel bakteri yang akan digunakan sebagai acuan dalam mengidentifikasi bakteri, seperti uji hidrolisis pati, hidrolisis gelatin, sitrat, TSIA, motilitas, dan katalase. Hasil uji biokimia ditunjukkan pada grafik, sedangkan data uji fitomik ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data Hasil Uji Biokimia

Kode isolat	P	G	C	TSIA				M	K
				Slunt	Butt	Keretakan	Endapan		
SP1	+	-	-	A	A	-	+	-	-
SP2	-	+	-	K	A	-	-	-	-
SP3	+	+	-	A	K	-	-	-	-
SP4	+	+	-	K	K	-	+	-	-
SP5	+	-	-	A	K	-	-	-	-
SP6	-	-	-	K	K	-	-	+	-
SS01	-	+	-	K	K	-	-	+	-
SS02	-	+	-	A	K	-	-	-	-
SS03	-	-	-	A	K	-	-	+	-
SS04	-	-	-	A	K	-	-	-	-

Keterangan:

- Hidrolisis pati (+) terdapat zona bening tusukan
- Hidrolisis gelatin (+) media tetap cair gelembung gas
- Citrat (-) tidak terjadi perubahan warna
- TSIA :
A : Asam (media menjadi warna kuning)
B : Basa (media berwarna merah)
(-) : Tidak terdapat keretakan media
(+) : Terdapat endapan hitam
- Motilitas (+) pertumbuhan di area
- Katalase (-) tidak terdapat

III. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

- Pada penelitian ini daging buah salak pondoh dan salak padang sidempuan dimasukkan 10 isolat bakteri endofit. Enam isolat berasal dari daging buah salak pondoh dan empat isolat berasal dari daging buah salak Padangsidempuan. Genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* diduga merupakan bakteri yang hidup bersimbiosis dengan daging buah salak pondoh dan buah salak Padangsidempuan.
- Sebagian besar bakteri endofit merupakan bakteri gram negatif berupa basil, koloni berwarna putih susu, dan tidak memiliki motil.

DAFTAR PUSTAKA

Afriani, Imas., Fifi Puspita dan Muhammad Ali. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri Endofit dari Tanaman Buah Naga Merah (*Hylocereus polyhizrus*). *Jurnal UR*. VOL.5, No.1.

Azzahra F, Manalu K, Amelia Nasution R : Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Daging Buah Salak Pondih (*Salacca edulis*) Dan Salak Padang Sidempuan (*Salacca sumatrana*)

- Aji, Oktira Roka dan Iva Dita Lestari. 2020. Bakteri Endofit Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Penghasil Asam Indol Asetat (AIA). *Jurnal Biologi*. Vol. 13, No.2.
- Al-Mubarak, S. 2006. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir Jilid I*. Bogor: Pustaka Ibnu Katsir. Penerjemah Abu Ihsan Al-Atsari..
- Anarsis, Widji. 1996. *Agribisnis Komoditas Salak*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Anonim. 1989. *Salak Pondoh Ada Lima Macam*. Jakarta: Trubus.
- Bergey, D.H. dan Boone, D.R. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: The Firmicutes*. Springer: United States of America.
- Cappucino, J.G., dan N. Sherman. 2013. *Microbiology a Laboratory Manual*. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- Departemen Agama RI. 2009. *Al-Qur'an dan Tafsirnya*. Jakarta: Departemen Agama RI.
- Desriani. *et al.* 2013. Potential Endophytic Bacteria For Increasing Paddy Var Rojolele Productivity. *Int. J. On Adv. Sci., Eng and Information Tech.* Vol.3, No.1.
- Dwijoseputro. 1989. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Surabaya: Djembatan.
- Fatichah, N. F. Y. 2011. Potensi Bakteri Endofit Sebagai Penghasil Enzim Kitinase, Protease dan Selulose Secara In Vitro. *Skripsi*. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Firdausi, Nailul., Wirdhatul Muslihatin, dan Tutik Nurhidayati. 2016. Pengaruh Kombinasi Media Pembawa Pupuk Hayati Bakteri Pelarut Fosfat Terhadap pH dan Unsur Hara Fosfor dalam Tanah. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. Vol.5, No.2.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
12 Juli 2023	05 Agustus 2023	02 Oktober 2023	Ya