

# **SKRIPSI**



**ISOLASI, KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
BAKTERI ENDOFIT BUNGA KESEMBURANG (*Etlingera elatior*  
(Jack) R. M. Sm.) TERHADAP *Bacillus cereus* GTK12**

**ANESTI MASAYU  
F1D021017**

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BENGKULU  
2025**

## **SKRIPSI**



### **ISOLASI, KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BAKTERI ENDOFIT BUNGA KESEMBURANG (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) TERHADAP *Bacillus cereus* GTK12**

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana  
Sains Program Studi S-1 Biologi**

**Oleh:**  
**ANESTI MASAYU**  
**F1D021017**

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BENGKULU  
2025**

# **ISOLASI, KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

**BAKTERI ENDOFIT BUNGA KECOMBRANG (*Etlingera elatior*)**

**(Jack) R. M. Sm.) TERHADAP *Bacillus cereus* GTK12**

**Oleh:**

**ANESTI MASAYU**

**F1D021017**

**Telah disetujui, diuji, dan disahkan untuk memenuhi salah satu syarat**

**memperoleh Gelar Sarjana Sains Program Studi S-1 Biologi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Universitas Bengkulu**

**Disetujui**



**Pembimbing Utama**

Dr. Sipriyadi, S.Si., M.Si  
**NIP.198409222008121004**

**Pembimbing Pendamping**

Drs. Welly Darwis, M.S  
**NIP.196007131987031002**

**Pengaji**

Dr. Risky Hadi Wibowo, M.Si.  
**NIP.198504242019031013**

Dra. Rochmah Supriati, M.Sc.  
**NIP.196107051986032001**

**Mengesahkan**

**Ketua Jurusan Biologi**

**Dekan EMIPA**

Prof. Dr. Sal Prima Yudha S, S.Si., M.Si  
**NIP.197406012000031001**

Dr. Sipriyadi, S.Si., M.Si  
**NIP.198409222008121004**

## **MOTTO DAN PERSEMBAHAN**

### **Motto:**

- “Sesungguhnya Allah tidak mengubah keadaan suatu kaum sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri” (Q.S. Al-Baqarah (2):153).
- "Perjalananku ini adalah bukti dari sebuah mimpi yang terus diperjuangkan".

### **Persembahan:**

Alhamdulillahirobbilalamin. Rasa syukur yang mendalam senantiasa penulis persembahkan kepada Allah SWT atas segala rahmat, berkah karunia-Nya sehingga penulis mampu menuntaskan skripsi berjudul “Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) Terhadap *Bacillus cereus* GTK12” dengan baik. Sholawat serta salam senantiasa penulis sampaikan atas junjungan Baginda Nabi Muhammad SAW, yang berkat rahmat perjuangan beliau, manusia dapat merasakan hidup dengan dipenuhi ilmu pengetahuan seperti yang kita nikmati saat ini. Dengan hati yang penuh rasa syukur dan atas ridho Allah SWT, penulis persembahkan skripsi ini kepada:

1. Teruntuk cinta dan kasih, seseorang yang kupanggil Ayah (Asril Antoni) yang telah menemani masa kecilku, membawaku ke dalam banyak ruang sampai menjadikanku wanita kuat saat ini. Seseorang yang kupanggil Ibu (Daryunah) yang menopangku selama lebih dari 9 bulan, menimang nimang dan menjagaku sampai seusia tujuh, memperjuangkan, mendidik dan senantiasa mendoakanku kemudian membawaku berlarian ke umur dua dua. Mereka lah yang memberikan segalanya dengan cinta tanpa syarat. Skripsi ini kupersembahkan sebagai wujud terima kasih dan bakti seorang anak.
2. Teruntuk keluargaku, yang selalu berupaya memberikan dukungan, semangat, dan doa terbaik sepanjang perkuliahanku. Skripsi ini kupersembahkan sebagai wujud terima kasih atas pengorbanan dan kasih sayang yang tak terhingga.
3. Teruntuk (Mas) Yusandi Asriando dan (Adik) Muhammad Furqon Al-Ghfari, Mereka lah pelindung sekaligus penyemangat hidupku. Skripsi ini kupersembahkan sebagai wujud terima kasih karena selalu menjagaku dengan penuh kasih sayang.

4. Bapak Dr. Sipriyadi, S.Si., M.Si dan Bapak Drs. Welly Darwis, M.S selaku Dosen Pembimbing Skripsi saya, dengan hati penuh syukur saya persembahkan skripsi ini sebagai wujud terima kasih yang mendalam atas segala dukungan, bimbingan, kepercayaan, peran yang telah diberikan dalam membimbing, serta dukungan pendanaan sehingga terwujudnya setiap proses pelaksanaan dan penulisan skripsi. Terima kasih atas inspirasi yang senantiasa mengalir dalam setiap diskusi selama penulisan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Risky Hadi Wibowo, S.Si., M.Si dan Ibu Dra. Rochmah Supriati, M.Sc selaku Dosen Penguji saya, skripsi ini saya persembahkan untuk Bapak dan Ibu yang dengan penuh dedikasi telah membimbing setiap langkah perjalanan ini dengan dukungan moral, arahan akademis yang bijaksana serta bantuan dalam memberikan saran, arahan, dan evaluasi yang membangun. Semoga skripsi ini dapat membanggakan dan bermanfaat di kemudian hari.
6. Kepada Dekan FMIPA, Dosen, Staf, PLP, dan Civitas Akademika Jurusan Biologi yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat, bantuan, dukungan, nasehat, dan motivasi selama proses perkuliahan.
7. Microbes 21, kalian yang telah menjadi keluarga kedua selama perkuliahan (Rangga, Rindiyani, Sheli, Novianty, Sisil, Ratu, Sartika, Anisa, Mitha, Luci, Dwika, Raul, Nadia, Syarah dan Bella). Terima kasih atas setiap bantuan, semangat, masukan, dan pikiran yang dibagi bersama.
8. Microbes S-2 Biologi (Mba Reza Wahyuni, Bang Thoriq, Mba Gustina, Kak Livia, Mba Nurul, Bang Agus, Mba Dita, Mba Lia, dan Mba Monika) yang banyak membantu, meluangkan waktu, memberi semangat, dan berbagi pengalaman sejak awal perkuliahan hingga menjadi bagian dari keluarga mikrobiologi.
9. Puluhan jiwa yang bertemu empat tahun lalu, teman-teman seperjuanganku Angkatan 2021, terima kasih telah mewarnai setiap hari dengan tawa, air mata, dan kenangan yang tak terlupakan.
10. Teruntuk Almamaterku, Universitas Bengkulu, Agamaku, Bangsaku dan Negaraku Indonesia tercinta.

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Hak cipta atas skripsi ini milik penulis. Dipublikasikan, terdaftar, dan dapat diakses di internet dan di Perpustakaan Universitas Bengkulu untuk umum. Referensi kerperpustakaan boleh dicatat, tetapi pengutipan atau ringkasan hanya boleh dilakukan sesuai dengan ketentuan dan kebiasaan ilmiah.

## **PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Anesti Masayu  
NPM : F1D021017  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Program Studi : S-1 Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains dan program studi S-1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu seluruhnya merupakan hasil karya saya sendiri.

Bagian tertentu dalam penulisan ini dikutip dari hasil karya orang lain yang telah dicantumkan sumbernya secara jelas sesuai norma, etika dan kaidah kepenulisan ilmiah.

Apabila dikemudian hari ditemukan seluruh atau sebagian skripsi ini bukan karya saya sendiri atau adanya plagiat pada bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Bengkulu, 31 Juli 2025



Anesti Masayu

NPM. F1D021017

## **PRAKATA**

Puji syukur senantiasa terucap atas kehadirat Allah SWT, atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan skripsi yang berjudul "Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) Terhadap *Bacillus cereus* GTK12" dengan baik. Skripsi ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada Strata-1 (S1) Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu saya menyampaikan ungkapan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Sipriyadi, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak mengarahkan, membimbing dan memotivasi dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Drs. Welly Darwis, M.S selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang banyak membantu mengarahkan, membimbing dan memotivasi dalam penulisan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Risky Hadi Wibowo, S.Si., M.Si selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan masukkan dan arahan yang membangun dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dra. Rochmah Supriati, M.Sc selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan masukkan, bimbingan dan arahan yang membangun dalam penyusunan skripsi ini.
5. Bapak Prof. Dr. Drs. Rizwar, M.S. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan motivasi selama perkuliahan.
6. Seluruh Dosen, Laboran, dan Staff Administrasi FMIPA Universitas Bengkulu yang telah memberikan banyak bantuan selama perkuliahan.
7. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah SWT senantiasa membala kebaikan kita semua di dunia maupun di akhirat nanti. Mohon maaf bila ada kesalahan dalam penulisan skripsi ini, semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi pembacanya.

Bengkulu, 31 Juli 2025



Anesti Masayu

F1D021017

## **ABSTRAK**

### **ISOLASI, KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BAKTERI ENDOFIT BUNGA KECOMBRANG (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) TERHADAP *Bacillus cereus* GTK12**

**Oleh:**  
**ANESTI MASAYU**  
**F1D021017**

Bakteri endofit umumnya hidup di dalam jaringan tanaman dan berpotensi menghasilkan senyawa bioaktif. Penelitian ini mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri endofit dari bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) serta menguji kemampuannya sebagai penghasil senyawa metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* GTK12. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat dan karakteristiknya melalui pengamatan morfologi (elevasi, tepi, penampakan dan warna) koloni, mikroskopis, dan metabolismenya serta mengetahui kemampuan bakteri endofit yang diisolasi dari bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* GTK12. Penelitian dilakukan selama tiga bulan (Maret–Mei 2025) dengan isolasi bakteri endofit menggunakan metode gerus, pengenceran bertingkat, dan purifikasi gores kuadran. Identifikasi dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni, pewarnaan Gram, dan uji biokimia. Hasil menunjukkan 35 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dengan distribusi genus *Micrococcus*, *Paracoccus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, dan *Microbacterium*. Genus *Micrococcus* dan *Enterococcus* ditemukan pada semua bagian bunga, *Staphylococcus* dan *Microbacterium* hanya pada bagian braktea, sedangkan *Paracoccus* pada bagian receptaculum. Uji antagonis menunjukkan 12 isolat mampu menghambat *Bacillus cereus* GTK12, dengan aktivitas terbesar pada isolat BBK<sub>2</sub> (30) dari braktea (zona hambat 4,70 mm menggunakan pelet) dan RBK<sub>1</sub> (5) dari receptaculum (zona hambat 4,25 mm menggunakan supernatan). Bakteri endofit dari bagian receptaculum dan braktea terbukti efektif menghambat *Bacillus cereus* GTK12, sementara bakteri endofit dari bagian tunas bunga memiliki aktivitas antibakteri yang lebih terbatas.

---

**Kata Kunci : Antimikrob, *Bacillus cereus* GTK12, Endofit, Kecombrang**

## **ABSTRACT**

### **ISOLATION, CHARACTERISATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ENDOPHYTIC BACTERIA FROM KECOMBRANG FLOWER (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) AGAINST *Bacillus cereus* GTK12**

**Oleh:**  
**ANESTI MASAYU**  
**F1D021017**

*Endophytic bacteria generally live within plant tissues and have the potential to produce bioactive compounds. This study focus on isolation and characterisation of endophytic bacteria from the receptacles, flower buds, and bracts of the kecombrang flower (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) and tested their ability to produce metabolites that inhibit the growth of *Bacillus cereus* GTK12. This study aims to obtain and characterise isolated endophytic bacteria through morphological observations (elevation, margin, appearance, and colour) of colonies, microscopic observations, and biochemical activity, as well as to determine the ability of endophytic bacteria isolated from the receptacles, flower buds, and bracts of *Etlingera elatior* to inhibit the growth of *Bacillus cereus* GTK12. The study was conducted over three months (March–May 2025) with the isolation of endophytic bacteria using the grinding method, serial dilution, and quadrant streak purification methods. Identification is done by observing colony morphology, Gram staining, and biochemical tests. The results of the study showed that 35 isolates of endophytic bacteria were successfully isolated, distributed among the genera *Micrococcus*, *Paracoccus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, and *Microbacterium*. The genera *Micrococcus* and *Enterococcus* are found in all parts of the flower, *Staphylococcus* and *Microbacterium* only in bracts, while *Paracoccus* was found in the receptacles. Antagonist tests showed that 12 isolates were able to inhibit *Bacillus cereus* GTK12, with the highest activity observed in BBK<sub>2</sub> (30) from the bracts (zone of inhibition 4.70 mm using pellets) and RBK<sub>1</sub> (5) from the receptacles (zone of inhibition 4.25 mm using supernatant). Endophytic bacteria from the receptacles and bracts areas were shown to be effective in inhibiting *Bacillus cereus* GTK12, while endophytic bacteria from the flower buds showed more limited antibacterial inhibitory activity.*

---

**Keywords : Antimicrobial, *Bacillus cereus* GTK12, Endophytes, Kecombrang**

---

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>MOTTO DAN PERSEMBERAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....</b>	<b>vi</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Bakteri Endofit.....	5
2.2 Bunga Kecombrang ( <i>Etlingera elatior</i> (Jack) R. M. Sm.).....	6
2.3 Senyawa Antibakteri .....	9
2.4 Kerusakan Makanan.....	9
2.5 <i>Bacillus cereus</i> .....	10
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>13</b>
3.1 Waktu dan Tempat.....	13
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.2.1 Alat.....	13
3.2.2 Bahan .....	13
3.3 Prosedur Penelitian .....	13
3.3.1 Isolasi Bakteri Endofit dari Bunga Kecombrang .....	13
3.3.1.1 Isolasi Bakteri Endofit Bagian Receptaculum.....	14
3.3.1.2 Isolasi Bakteri Endofit Bagian Tunas Bunga .....	14
3.3.1.3 Isolasi Bakteri Endofit Bagian Braktea .....	14
3.3.2 Pemurnian Bakteri Endofit Bunga Kecombrang .....	15
3.3.2.1 Pemurnian Bakteri Endofit Bagian Receptaculum.....	15
3.3.2.2 Pemurnian Bakteri Endofit Bagian Tunas Bunga .....	15
3.3.2.3 Pemurnian Bakteri Endofit Bagian Braktea .....	16
3.3.3 Pewarnaan Gram Bakteri Endofit dari Bunga Kecombrang.....	16
3.3.4 Pewarnaan Gram Bakteri Uji <i>Bacillus cereus</i> GTK12 .....	17
3.3.5 Pewarnaan Endospora Bakteri Uji <i>Bacillus cereus</i> GTK12 .....	17
3.3.6 Uji Biokimia Bakteri Endofit dari Bunga Kecombrang .....	17

3.3.7 Uji Antagonis Kultur Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap <i>Bacillus cereus</i> GTK12.....	18
3.3.8 Uji Antibakteri Menggunakan Pelet Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap <i>Bacillus cereus</i> GTK12 .....	19
3.3.9 Uji Antibakteri Menggunakan Supernatan Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap <i>Bacillus cereus</i> GTK12 .	20
3.4 Analisis Data .....	20
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>21</b>
4.1 Hasil Isolasi Bakteri Endofit Bunga Kecombrang .....	21
4.2 Hasil Pemurnian Bakteri Endofit Bunga Kecombrang .....	27
4.2.1 Pengamatan Koloni Bakteri Endofit Bagian Receptaculum.....	32
4.2.2 Pengamatan Koloni Bakteri Endofit Bagian Tunas Bunga .....	33
4.2.3 Pengamatan Koloni Bagian Braktea .....	34
4.3 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bunga Kecombrang .....	34
4.3.1 Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bagian Receptaculum.....	37
4.3.2 Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bagian Tunas Bunga.....	38
4.3.3 Pewarnaan gram Bakteri Endofit Bagian Braktea .....	38
4.4 Hasil Pewarnaan Gram, Endospora dan Aktivitas Hemolis Bakteri Uji <i>Bacillus cereus</i> GTK12.....	39
4.5 Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit Bagian Receptaculum, Tunas Bunga dan Braktea Bunga Kecombrang.....	41
4.5.1 Uji Katalase.....	41
4.5.2 Uji Motilitas.....	43
4.5.3 Uji Fermentasi Sitrat.....	45
4.5.4 Uji Urea.....	46
4.5.5 Uji Fermentasi Gula-gula.....	48
4.6 Genus <i>Micrococcus</i> .....	52
4.7 Genus <i>Paracoccus</i> .....	53
4.8 Genus <i>Bacillus</i> .....	55
4.9 Genus <i>Enterococcus</i> .....	57
4.10 Genus <i>Staphylococcus</i> .....	58
4.11 Genus <i>Microbacterium</i> .....	60
4.12 Uji Antagonis Kultur Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri Uji <i>Bacillus cereus</i> GTK12.....	62
4.13 Uji Antibakteri Menggunakan Pelet Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap <i>Bacillus cereus</i> GTK12.....	65
4.14 Uji Antibakteri Menggunakan Supernatan Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap <i>Bacillus cereus</i> GTK12.....	67
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>69</b>
5.1 Simpulan .....	69
5.2 Saran .....	69
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>70</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>77</b>

## **DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Kategori aktivitas penghambatan antimikrob berdasarkan zona hambat.....	20
2. Perhitungan jumlah koloni bakteri endofit.....	25
3. Penapisan koloni bakteri endofit .....	26
4. Pengamatan morfologi dan uji biokimia isolat bakteri endofit.....	50
5. Perhitungan zona hambat isolat potensial bakteri endofit.....	63

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bunga kecombrang ( <i>Etlingera elatior</i> (Jack) R. M. Sm.).....	8
2. Mikroskopis bakteri <i>Bacillus cereus</i> .....	12
3. Bunga kecombrang ( <i>Etlingera elatior</i> (Jack) R. M. Sm).....	21
4. Bagian bunga kecombrang yang akan diisolasi .....	22
5. Isolasi bakteri endofit bunga kecombrang .....	23
6. Pemurnian bakteri endofit bunga kecombrang .....	27
7. Pewarnaan Gram bakteri endofit bunga kecombrang .....	35
8. Karakteristik bakteri <i>Bacillus cereus</i> GTK12.....	39
9. Uji katalase.....	41
10. Uji motilitas .....	43
11. Uji Fermentasi sitrat.....	45
12. Uji urea.....	46
13. Uji fermentasi gula-gula .....	48
14. Pewarnaan Gram genus <i>Micrococcus</i> .....	52
15. Pewarnaan Gram genus <i>Paracoccus</i> .....	54
16. Pewarnaan Gram genus <i>Bacillus</i> .....	56
17. Pewarnaan Gram genus <i>Enterococcus</i> .....	57
18. Pewarnaan Gram genus <i>Staphylococcus</i> .....	59
19. Pewarnaan Gram genus <i>Microbacterium</i> .....	60
20. Uji antagonis kultur isolat bakteri endofit bunga kecombrang terhadap <i>Bacillus cereus</i> GTK12 .....	62
21. Uji antibakteri menggunakan pelet bakteri endofit terhadap patogen <i>Bacillus cereus</i> GTK12 .....	65
22. Uji antibakteri menggunakan supernatan bakteri endofit terhadap patogen <i>Bacillus cereus</i> GTK12 .....	67

## **DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Komposisi media yang dipakai saat penelitian.....	78
2. Hasil isolasi bakteri endofit bunga kecombrang.....	79
3. Pemurnian bakteri endofit bunga kecombrang .....	81
4. Pewarnaan Gram bakteri endofit bunga kecombrang.....	83
5. Uji biokimia bakteri endofit bunga kecombrang .....	85
6. Aktivitas antibakteri bakteri endofit bunga kecombrang.....	92

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman, khususnya pada jaringan vaskular (xilem dan floem) tanpa menimbulkan gejala kerusakan pada tanaman tersebut. Keberadaan bakteri endofit pada jaringan xilem dan floem memungkinkan bakteri endofit mendapatkan nutrisi dan berperan dalam transportasi metabolit sekunder ke seluruh bagian tanaman. Bakteri endofit berpotensi menghasilkan sumber senyawa metabolit sekunder dengan spektrum aktivitas antibakteri yang luas yang dapat dimanfaatkan dalam beberapa bidang, termasuk pengendalian mikrob patogen (Soesanto dan Mugiaستuti, 2023). Salah satu bagian tanaman yang berpotensi untuk dieksplorasi bakteri endofitnya adalah bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.).

Bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) memiliki morfologi yang khas dengan bunga majemuk berbentuk seperti gada atau obor. Struktur bunga terdiri dari beberapa bagian utama, yaitu bagian steril dan fertil. Bagian steril bunga kecombrang yaitu receptaculum (dasar bunga), braktea (daun pelindung), sepal (kelopak bunga), dan mahkota bunga (petal). Sedangkan bagian fertil yaitu putik (pistilum) dan benang sari (stamen) (Ramdhini *et al.*, 2021). Pada bunga kecombrang yang belum mekar, terdapat struktur pelindung berupa braktea yang menyelubungi bunga. Kondisi bunga masih berupa tunas dengan sepal dan petal yang bersatu mengelilingi organ reproduksi (stamen dan pistilum) membentuk satu kesatuan tunas berbentuk tabung (Lock, 1985). Perbedaan struktur jaringan ini menciptakan perbedaan komunitas bakteri dan kemampuannya menghasilkan senyawa metabolit sekunder.

Bunga kecombrang diketahui mengandung beragam senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini dibuktikan melalui penelitian Nasution *et al.* (2022) menunjukkan bahwa hasil skrining fitokimia simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang mengandung senyawa alkaloid, senyawa flavonoid dan senyawa saponin yang dapat berperan sebagai antibakteri. Selain senyawa metabolit, potensi antibakteri juga dapat berasal dari bakteri endofit yang hidup pada jaringan bunga, seperti yang ditemukan pada penelitian Eid *et al.* (2021). Temuan ini

menunjukkan potensi dari bakteri endofit pada tanaman kecombrang sebagai sumber antibakteri.

Potensi antibakteri dari bakteri endofit yang diisolasi dari bunga kecombrang ini sangat penting diterapkan terutama sebagai pengawetan makanan secara alami terhadap makanan yang rentan terkontaminasi mikrob penyebab keracunan makanan. Salah satu contoh makanan yang rentan terkontaminasi mikrob adalah gulai. Gulai umumnya berbahan dasar daging, ikan, jeroan atau sayuran dengan tambahan santan. Santan memiliki karakteristik yang sesuai untuk pertumbuhan mikrob patogen. Santan memiliki sumber nutrisi dan kelembaban yang cukup baik untuk pertumbuhan mikrob patogen, sehingga diperlukan pengawetan alami. Menurut penelitian Nugroho *et al.* (2022) santan memiliki karakteristik kandungan lemak, protein, dan air yang cukup tinggi, sehingga menjadi media yang mendukung pertumbuhan mikrob pembusuk. Kondisi ini menyebabkan gulai mudah mengalami kerusakan yang ditandai dengan munculnya bau tengik dalam hitungan jam jika tidak disimpan dengan baik. Kontaminasi mikrob patogen seperti bakteri dan jamur memicu masalah kesehatan serius berupa keracunan makanan dan gejala diare.

Permasalahan kontaminasi mikrob pada gulai ini telah dibuktikan melalui beberapa penelitian yang mengidentifikasi jenis bakteri patogen yang berkembang dalam gulai santan yang terkontaminasi. Penelitian Masayu *et al.* (2024) menemukan adanya jenis bakteri *Bacillus cereus* dengan kode GTK12 yang diisolasi dari gulai santan terong dan kacang panjang yang disimpan selama 48 jam. Hasil uji hemolis agar darah menunjukkan adanya patogenitas bakteri yang ditunjukkan dengan zona hemolisis  $\beta$  yang dihasilkan isolat GTK12. Hasil BLASTn sekuen gen 16S rRNA menunjukkan bahwa GTK12 yang diisolasi dari gulai tersebut memiliki kemiripan sebesar 99,19% dengan *Bacillus cereus* yang diduga merupakan bakteri patogen potensial. Makanan yang terkontaminasi *Bacillus cereus* berpotensi menimbulkan masalah kesehatan serius terutama infeksi karena kemampuannya membentuk spora dan toksin.

Sebagai upaya menghadapi permasalahan tersebut, diperlukan inovasi dalam pengembangan zat aditif alami. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan perbedaan komunitas dan karakteristik isolat bakteri endofit yang hidup pada bagian jaringan receptaculum, tunas bunga dan braktea pada bunga kecombrang yang belum

mekar melalui pengamatan morfologi secara makroskopis, mikroskopis, dan pengujian aktivitas metabolisme. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan mendapatkan perbedaan kemampuan isolat bakteri endofit yang hidup pada bagian jaringan bunga kecombrang tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen potensial *Bacillus cereus* GTK12. Pemilihan bagian-bagian jaringan bunga kecombrang ini didasarkan pada perbedaan karakteristik jaringan yang dimiliki setiap bagian, sehingga berpotensi menghasilkan komunitas bakteri endofit dengan aktivitas antibakteri yang beragam. Dengan memanfaatkan bakteri endofit sebagai agen antimikrob alami, diharapkan dapat diperoleh solusi efektif dalam mencegah kerusakan pangan dan mengurangi kontaminasi bakteri patogen pada gulai dalam meningkatkan keamanan pangan bagi masyarakat.

## **1.2 Rumusan masalah**

Permasalahan dari dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. Apa saja jenis isolat bakteri endofit yang berasal dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) ?
2. Apakah isolat bakteri endofit yang berasal dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri potensial patogen *Bacillus cereus* GTK12 ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. Mendapatkan isolat dan karakteristik dari bakteri endofit yang berasal dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) melalui pengamatan morfologi secara makroskopis, mikroskopis, dan pengujian aktivitas metabolisme.
2. Memperoleh kemampuan isolat bakteri endofit yang berasal dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen potensial *Bacillus cereus* GTK12.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari dilakukannya penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi tentang identifikasi dan karakterisasi jenis isolat bakteri endofit yang diisolasi dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.).
2. Memberikan informasi tentang kemampuan penghambatan isolat bakteri endofit yang diisolasi dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) terhadap pertumbuhan bakteri patogen potensial *Bacillus cereus* GTK12.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Bakteri Endofit**

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup pada jaringan internal tanaman tanpa menimbulkan adanya gejala penyakit pada tanaman inangnya. Bakteri endofit dapat masuk ke dalam jaringan tumbuhan melalui beberapa jalur utama yaitu melalui jalur ruang antar sel (apoplas) dan jalur sitoplasma sel (simplas). Bakteri endofit umumnya ditemukan dalam jaringan vaskular (xilem dan floem) pada jaringan akar, batang, daun dan beberapa bakteri endofit dapat ditemukan pada organ reproduksi tanaman seperti buah, bunga, dan biji (Harmileni *et al.*, 2023). Bakteri endofit berinteraksi dengan inang secara simbiotik dengan memberikan manfaat bagi inangnya. Keberadaan bakteri endofit pada jaringan xilem dan floem memungkinkan bakteri endofit mendapatkan nutrisi dan berperan dalam transportasi metabolit sekunder ke seluruh bagian tanaman. Nutrisi yang diperoleh dari tanaman berupa sumber karbon seperti glukosa, sukrosa, dan asam organik serta sumber nitrogen dari asam amino dan amida yang dihasilkan tanaman inang melalui metabolisme. Nutrisi ini digunakan bakteri untuk metabolisme respirasi seluler dan produksi hormon tumbuhan serta produksi senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antimikrob. Bakteri endofit memproduksi senyawa yang dapat melindungi jaringan tanaman dari serangan mikrob yang bersifat patogen, sementara tanaman menyediakan nutrisi yang dibutuhkan bakteri endofit untuk bertahan hidup. Dalam aktivitas metabolismenya, bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit dengan aktivitas antimikrob seperti alkaloid, peptida, steroid, terpenoid, fenol, kuinon, dan flavonoid. Senyawa yang dihasilkan bakteri endofit hampir sama dengan senyawa bioaktif yang dihasilkan inangnya (Aqlinia *et al.*, 2020).

Menurut Pulungan dan Tumanger (2018), berdasarkan kemampuannya menghasilkan senyawa metabolit tersebut, bakteri endofit diketahui memiliki manfaat sebagai antimikrob yang berkontribusi pada kesehatan dan kelangsungan hidup tanaman. Peran bakteri endofit dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit terjadi melalui produksi senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan mikrob patogen. Salah satu tanaman yang diketahui memiliki kemampuan sebagai senyawa antibakteri adalah kecombrang.

## 2.2 Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.)

Bunga kecombrang merupakan salah satu bagian dari tanaman kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.), yang termasuk dalam famili Zingiberaceae. Bunga kecombrang telah banyak dimanfaatkan secara luas pada kalangan masyarakat sebagai bahan masakan (Lianah, 2020). Secara taksonomi, klasifikasi kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) menurut POWO (2024) sebagai berikut:

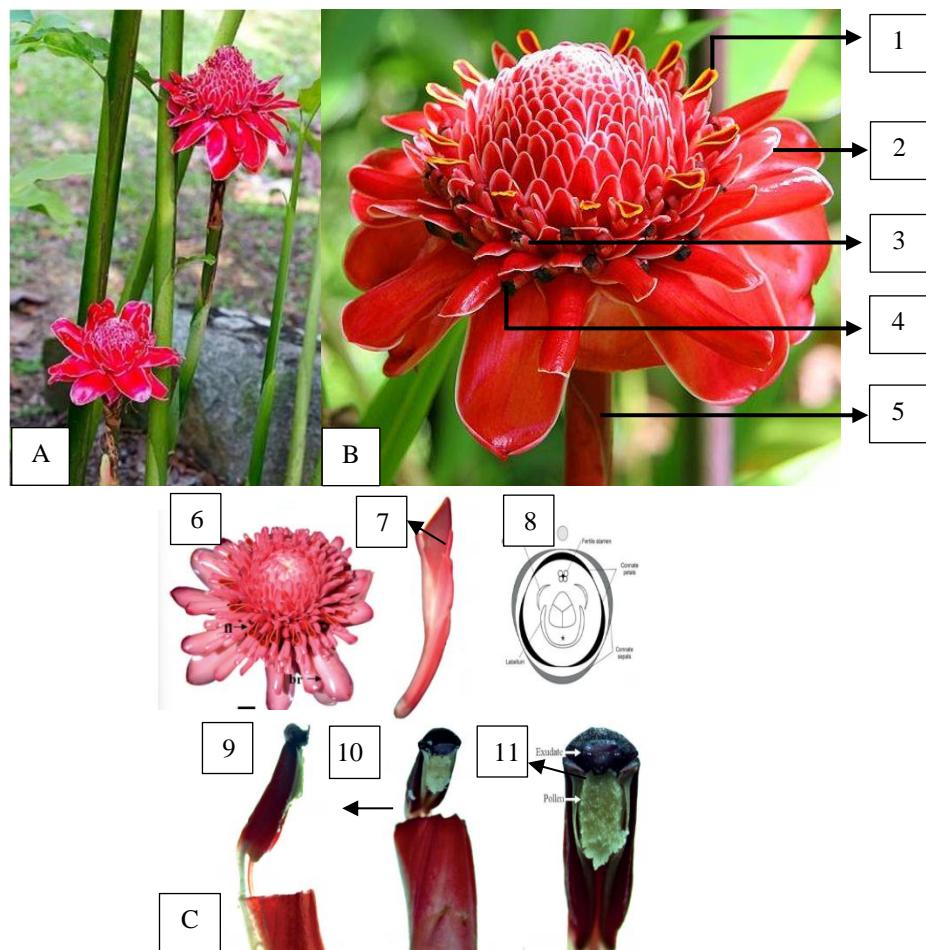
Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Liliopsida
Sub kelas	:	Zingiberidae
Ordo	:	Zingiberales
Famili	:	Zingiberaceae
Genus	:	<i>Etlingera</i>
Spesies	:	<i>Etlingera elatior</i> (Jack) R. M. Sm.

Bunga kecombrang merupakan bunga majemuk yang berbentuk seperti gada atau tandan. Bunga kecombrang memiliki struktur yang terdiri dari bagian steril yaitu bagian bunga yang berfungsi sebagai perhiasan dan kelengkapan bunga seperti receptaculum (dasar bunga), braktea (daun pelindung), sepal (kelopak bunga), dan mahkota bunga (petal). Sedangkan bagian fertil bunga yaitu bagian bunga yang secara langsung berpengaruh terhadap terjadinya proses penyerbukan dan pembuahan pada bunga seperti kepala putik (pistilum) dan benang sari (stamen) (Ramdhini *et al.*, 2021). Pada bunga kecombrang yang belum mekar, braktea (daun pelindung) membungkus menyelubungi bunga, sedangkan pada bunga kecombrang yang telah mekar, braktea tumbuh sepanjang celah bunga kecombrang. Sepal (kelopak bunga) dan petal (mahkota bunga) saat masih kuncup disebut perigonium. Hal ini dikarenakan struktur petal dan sepal tidak dapat secara langsung dibedakan. Saat bunga masih kuncup, bunga masih berupa tunas dengan sepal (kelopak bunga) dan petal (mahkota bunga) bersatu mengelilingi organ reproduksi (stamenodium (steril) dan stamen dan pistilum (fertil)) membentuk satu kesatuan tunas berbentuk tabung (Lock, 1985).

Receptaculum (dasar bunga) menjadi bagian penghubung bunga dengan batang. Bunga kecombrang tumbuh dari modifikasi batang berupa rimpang yang

berada di atas tanah. Receptaculum berfungsi sebagai tempat melekatnya mahkota bunga. Bagian ini tersusun atas jaringan xilem dan floem yang berfungsi mengangkut nutrisi dan air dari batang ke seluruh bagian bunga. Braktea (daun pelindung) berukuran besar dan berwarna mencolok ditunjukkan dengan warna merah muda. Struktur braktea seperti daun pelindung besar yang membungkus perbungaan yang berfungsi untuk menarik polinator dalam proses penyerbukan. Tunas bunga kecombrang terdiri dari sepal (kelopak bunga), petal (mahkota bunga), stamenodium (modifikasi stamen berupa stamen steril), stamen fertil dan putik. Sepal (kelopak bunga) dan petal (mahkota bunga) bunga kecombrang berbentuk lembaran tipis berwarna merah muda dengan struktur yang lembut dan tersusun menyatu melingkar membungkus bagian reproduktif. Sepal (kelopak bunga) adalah bagian bunga yang berupa kuncup saat bunga belum mekar. kelopak bunga berfungsi melindungi bunga dan saat bunga sudah mekar dengan sempurna, kelopak bunga akan membentuk seperti bagian dasar sebuah bunga. Bagian reproduktif bunga kecombrang terdiri dari stamen (benang sari) dan pistilum (putik).

Stamen pada bunga kecombrang terdiri dari dua jenis yaitu stamen fertil dan stamen steril (stamenodium). Stamenodium yaitu modifikasi stamen berbentuk lembaran yang menyelubungi stamen dan pistilum berfungsi hanya sebagai penarik polinator. Sedangkan bagian fertil stamen (benang sari) terdiri dari filamen (tangkai) panjang dan antera mengandung serbuk sari, terletak di bagian tengah bunga. Pistilum (putik) memiliki bagian stigma di ujungnya yang menerima serbuk sari, dilanjutkan dengan stylus (tangkai putik) dan ovarium di bagian bawah (Ramdhini *et al.*, 2021). Menurut Abreu *et al.* (2023) bagian berwarna kuning pada stamenodium disebut *dorsal labellum lobe*. *Dorsal labellum lobe* adalah bagian dari labellum (bibir bunga) yang merupakan struktur khusus pada bunga Zingiberaceae yang terbentuk dari penyatuan stamenodia untuk menarik penyerbuk. Struktur bunga kecombrang dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm), (A) penampakan batang, daun dan bunga kecombrang, (B) struktur bunga kecombrang, (C) struktur detail bunga kecombrang, (1) stamenodium, (2) braktea, (3) tunas bunga, (4) kepala putik, (5) receptaculum, (6) penampakan br (braktea) dan fl (bunga), (7) petal, (8) diagram bunga, (9) stamen, (10) putik, (11) kepala putik dan serbuk sari (USDA-NRCS, 2024; Arviani *et al.*, 2024; Abreu *et al.*, 2023).

Bunga kecombrang mengandung senyawa fitokimia metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Kandungan flavonoid pada bunga kecombrang dapat membunuh bakteri dengan merusak dinding sel dan DNA bakteri (Fahani *et al.*, 2019). Hal ini didukung oleh penelitian Priatni dan Mukhlis (2024), menemukan bahwa bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) mengandung senyawa flavonoid yang terkonfirmasi melalui uji kualitatif (perubahan warna coklat menjadi merah) dan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Analisis kuantitatif menunjukkan kadar flavonoid dalam ekstrak bunga kecombrang sebesar 0,47086%. Flavonoid merupakan senyawa yang berperan dalam aktivitas antibakteri.

### **2.3 Senyawa Antibakteri**

Senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikrob, khususnya bakteri yang bersifat patogenik dikenal sebagai senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri berperan penting dalam menghambat penyebaran penyakit dan infeksi, serta mencegah kerusakan bahan pangan yang disebabkan oleh mikrob. Senyawa antibakteri dapat dihasilkan secara alami. Tumbuhan merupakan salah satu sumber alami penghasil senyawa antibakteri yang potensial melalui kandungan metabolit sekundernya seperti saponin, alkaloid, tanin, dan flavonoid yang memiliki aktivitas antimikrob yang efektif (Septiani *et al.*, 2017). Salah satu contoh tumbuhan yang diketahui memiliki sifat antibakteri adalah bunga kecombrang, yang dalam beberapa penelitian telah dikonfirmasi mengandung beberapa senyawa metabolit yang berperan sebagai agen antibakteri. Penelitian Soemarie *et al.* (2019) menunjukkan bahwa zat antibakteri dari ekstrak bunga kecombrang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen potensial.

Untuk menguji efektivitas dari senyawa antibakteri seperti yang terkandung dalam ekstrak bunga kecombrang tersebut, terdapat beberapa metode yang dapat digunakan yaitu metode difusi dan dilusi. Metode *disc diffusion* merupakan salah satu metode difusi yang paling umum digunakan. Metode ini dilakukan dengan menggunakan prinsip difusi senyawa antibakteri ke dalam media padat yang telah diinokulasikan dengan mikob uji (Nurhayati *et al.*, 2020). Pengujian efektivitas senyawa antibakteri ini sangat penting, terutama dalam bidang industri pangan mengingat tingginya resiko kerusakan bahan makanan yang disebabkan oleh aktivitas mikrob. Aktivitas mikrob yang tidak terkendali dapat mempercepat proses pembusukan dan penurunan kualitas bahan pangan.

### **2.4 Kerusakan Makanan**

Kerusakan makanan adalah suatu kondisi perubahan makanan baik secara fisik, kimia, atau biologis yang menyebabkan penurunan nilai kualitas dan gizi makanan tersebut. Berbagai faktor dapat menyebabkan kerusakan pangan, termasuk pertumbuhan dan aktivitas mikrob. Kerusakan fisik terjadi akibat pembekuan, penghangusan, pengeringan, dan lain-lain. Kerusakan biologis disebabkan oleh mikrob perusak seperti kapang, dan bakteri penghasil toksin (Muchtadi, 2001).

Toksin yang dihasilkan oleh mikrob ini dapat menimbulkan masalah kesehatan serius, seperti keracunan makanan. Apabila mikrob atau toksin yang dihasilkan mencapai jumlah yang cukup dan dikonsumsi oleh manusia, maka terjadilah keracunan makanan. Gejala keracunan ini dapat ditandai dengan rasa pusing, mual, muntah, diare, dan kejang perut yang muncul akibat mengonsumsi makanan yang terkontaminasi mikrob patogen tersebut (Mustika, 2019). Salah satu makanan yang berisiko terkontaminasi bakteri patogen adalah gulai, terutama karena bahan dasarnya yang kaya nutrisi dan mendukung pertumbuhan mikrob.

Gulai merupakan olahan masakan tradisional berbahan dasar daging ataupun sayuran seperti terong, daun singkong ataupun kacang panjang dengan ciri khas berwarna kuning sari kunyit. Dalam pembuatannya, gulai dimasak menggunakan rempah-rempah seperti bawang merah, bawang putih, adas, lengkuas, jahe, ketumbar, cabai merah, kunyit, lada, serai, pala, jintan dan kayu manis yang dihaluskan dan dimasak dalam santan (Purwanto dan Pratama, 2017). Menurut Nugroho *et al.* (2022) santan sebagai bahan utama gulai memiliki kelemahan yaitu mudah mengalami kerusakan sehingga masa simpannya pendek yaitu sekitar 8 jam pada suhu ruang. Kerusakan santan disebabkan oleh kandungan air, lemak, dan protein santan yang cukup tinggi, yang menjadikannya sebagai media bagi pertumbuhan mikrob pembusuk. Akibatnya, gulai sangat rentan mengalami pembusukan akibat kontaminasi mikrob patogen seperti bakteri dan jamur yang dapat menghasilkan spora ataupun senyawa toksin. Senyawa tersebut berpotensi mengakibatkan keracunan makanan dan menyebabkan diare.

Keracunan makanan umumnya disebabkan oleh bakteri patogen, yaitu jenis bakteri yang menyebabkan penyakit, menginfeksi jaringan, menghasilkan racun, atau mengganggu fungsi normal sistem tubuh. Beberapa mikrob patogen yang mengkontaminasi gulai antara lain *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Salmonella* sp (Hayu, 2018). *Bacillus* adalah salah satu genus bakteri yang dapat menghasilkan toksin terutama *Bacillus cereus* menghasilkan toksin penyebab keracunan makanan, diare, dan meningitis (Natali *et al.*, 2021).

## 2.5 *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* termasuk ke dalam jenis bakteri Gram positif berbentuk batang (basil) yang dapat hidup dengan atau tanpa oksigen (anaerob fakultatif).

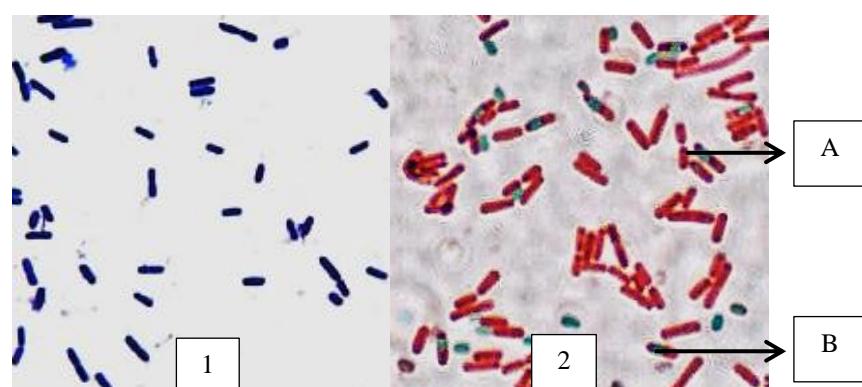
Bakteri ini dapat menyebabkan keracunan makanan dengan gejala mual, muntah dan diare setelah mengonsumsi makanan terkontaminasi. Menurut penelitian Nguyen dan Tallent (2019) keracunan terjadi akibat toksin yang dihasilkan oleh bakteri ini. *Bacillus cereus* mengakibatkan keracunan makanan melalui dua mekanisme berbeda yaitu sindrom emetik dan sindrom diare. Gejala keracunan makanan tersebut bergantung pada jenis toksin yang dihasilkan. Sindrom emetik terjadi karena toksin *cereulide* yang tahan panas dan terbentuk selama pertumbuhan bakteri, menyebabkan muntah dan potensial merusak hati serta otak pada dosis tinggi. Sindrom diare muncul ketika sel bakteri atau spora tertelan melewati lambung dan di usus memproduksi enterotoksin yang menimbulkan diare (Jovanovic *et al.*, 2021).

*Bacillus cereus* mampu menghasilkan endospora. Endospora bakteri ini umumnya terletak secara sentral atau subterminal dalam sel berbentuk basil (batang), dengan warna hijau terang yang kontras terhadap sel vegetatif yang berwarna merah ketika diamati melalui pewarnaan khusus. Penelitian Mahbubani dan Vani (2024) menemukan bahwa endospora *Bacillus cereus* dapat bertahan terhadap suhu tinggi karena adanya lapisan korteks peptidoglikan. Pada suhu ruangan, endospora ini akan berkecambah, menyebabkan proliferasi sel vegetatif yang kemudian menghasilkan toksin. Lapisan korteks peptidoglikan pada endospora memberikan perlindungan terhadap kondisi ekstrem, memungkinkan spora bertahan dan berkecambah kembali saat kondisi lingkungan mendukung. Kemampuan membentuk endospora penting dalam patogenisitas *Bacillus cereus*.

Endospora memungkinkan bakteri bertahan dalam proses pemasakan, sehingga identifikasi endospora melalui pewarnaan khusus tidak hanya untuk karakterisasi isolat, tetapi juga dalam memahami mekanisme bertahan *Bacillus cereus* yang berkontribusi pada keracunan makanan. Menurut Savini (2016), *Bacillus cereus* merupakan bakteri patogen pada makanan yang umumnya ditemukan pada produk makanan seperti susu, sayuran, nasi, kentang, biji-bijian, sereal dan rempah-rempah. *Bacillus cereus* tidak memerlukan nutrisi yang tinggi sehingga mudah tumbuh pada makanan bernutrisi rendah. Penyakit yang dibawa dari bakteri ini meliputi penyakit gastrointestinal bawaan makanan seperti keracunan makanan.

*Bacillus cereus* merupakan bakteri yang memiliki kemampuan hemolisir melalui produksi Hemolisir BL (HBL), suatu kompleks toksin yang tersusun atas

satu komponen pengikat dan dua komponen penghancur sel yang bekerja secara sinergis untuk melisiskan sel darah merah. Aktivitas hemolitik ini merupakan salah satu karakteristik penting dari *Bacillus cereus* yang berkaitan erat dengan patogenisitasnya. Bakteri ini juga menghasilkan enterotoksin NHE (*Nonhemolytic Enterotoxin*) yang berkontribusi terhadap manifestasi klinis berupa diare. Mekanisme patogenesis *B. cereus* melibatkan dua jalur utama yaitu endospora yang berhasil bertahan di saluran pencernaan akan berkembang menjadi bentuk vegetatif dan memproduksi toksin hemolitik serta enterotoksin yang merusak sel epitel usus sehingga menyebabkan diare dan toksin *cereulide* yang bersifat emetik telah terbentuk dalam makanan sebelum proses konsumsi dan langsung menyebabkan gejala muntah (Bottone, 2010).



**Gambar 2.** Mikroskopis Bakteri *Bacillus cereus*, (1) Pewarnaan Gram, (2) Pewarnaan Endospora, (A) Endospora, (B) Sel Vegetatif (Mahbubani dan Vani, 2024).

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan selama tiga bulan yaitu pada bulan Maret hingga bulan Mei 2025 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Gedung *Basic Science*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas ukur, Erlenmeyer, *spreader*, tabung reaksi, cawan Petri, oven (Memer Type U4D), rak tabung, jarum ose, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *laminar air flow* (Nuire), inkubator, *rotary shaker* (Orbital Shaker ES-20), sentrifugator (Eppendorf), timbangan analitik, *vortex*, *showcase*, OHP, *mikrotube*, masker, kamera, *autoclave*, kaca objek, kaca penutup, mikroskop, lampu spritus, mikropipet, mikrotip, jangka sorong digital, dan *microplate well 96*.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm), bakteri patogen uji *Bacillus cereus* GTK12 asal dari Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu, media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), media *Tryptic Soy Broth* (TSB), media *Tryptic Soy Agar* (TSA), akuades, alkohol 96%, alkohol 70%, kristal violet, safranin, lugol, minyak imersi, plastik, *silk*, kertas cakram, kertas label, *aluminium foil*, spiritus, plastik tahan panas, karet gelang, kapas, dan tisu.

#### **3.3 Prosedur Penelitian**

##### **3.3.1 Isolasi Bakteri Endofit Bunga Kecombrang**

Bunga kecombrang yang masih kuncup disterilisasi permukaannya dengan dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan mikrob yang dapat menyebabkan kontaminasi. Bunga kecombrang direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam ke dalam larutan Natrium Hipoklorit 5,25% selama 5

menit dan dibilas menggunakan akuades sebanyak 3 kali (Bacon dan Hinton, 2006) dimodifikasi.

### **3.3.1.1 Isolasi Bakteri Endofit Bagian Receptaculum**

Isolasi bakteri endofit dari receptaculum bunga kecombrang dilakukan dengan mengambil bagian jaringan dasar bunga sebanyak 5 gram dari sampel bunga kecombrang. Jaringan receptaculum tersebut digerus menggunakan alu dan mortar untuk melepaskan bakteri endofit dari dalam jaringan dasar bunga. Selanjutnya, sebanyak 1 gram sampel gerusan ditimbang dan dilakukan pengenceran bertingkat dari  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$ . Sampel diambil sebanyak 0,1 ml dan disebarluaskan menggunakan metode cawan sebar pada cawan Petri yang berisi media *Nutrient Agar* (NA). Media yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 30°C selama 24-48 jam. Bakteri endofit yang tumbuh dari receptaculum bunga kecombrang dihitung jumlah koloninya menggunakan perhitungan *Total Plate Count* (TPC) (Bacon dan Hinton, 2006, dimodifikasi).

### **3.3.1.2 Isolasi Bakteri Endofit Bagian Tunas Bunga**

Isolasi bakteri endofit dari tunas bunga pada bunga kecombrang dilakukan dengan diambil bagian jaringan tunas bunga sebanyak 5 gram dari sampel bunga kecombrang. Jaringan tunas bunga tersebut digerus menggunakan alu dan mortar untuk melepaskan bakteri endofit dari dalam jaringan sepal, petal dan reproduktif bunga. Selanjutnya, sebanyak 1 gram sampel gerusan ditimbang dan dilakukan pengenceran bertingkat dari  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$ . Sampel diambil sebanyak 0,1 ml dan disebarluaskan menggunakan metode cawan sebar pada cawan Petri yang berisi media *Nutrient Agar* (NA). Media yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24-48 jam untuk mendapatkan pertumbuhan bakteri endofit dari jaringan tunas bunga. Bakteri endofit yang tumbuh dari bagian tunas bunga bunga kecombrang dihitung jumlah koloninya menggunakan metode perhitungan *Total Plate Count* (TPC) (Bacon dan Hinton, 2006, dimodifikasi).

### **3.3.1.3 Isolasi Bakteri Endofit Bagian Braktea**

Isolasi bakteri endofit dari braktea bunga kecombrang dilakukan dengan mengambil bagian jaringan braktea yang membungkus bunga kecombrang sebanyak 5 gram dari sampel bunga kecombrang. Jaringan braktea tersebut digerus menggunakan alu dan mortar untuk melepaskan bakteri endofit dari dalam jaringan

braktea. Selanjutnya, sebanyak 1 gram sampel gerusan ditimbang dan dilakukan pengenceran bertingkat dari  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$ . Sampel diambil sebanyak 0,1 ml dan disebarluaskan menggunakan metode cawan sebar pada cawan Petri yang berisi media *Nutrient Agar* (NA). Media yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 30°C selama 24-48 jam. Bakteri endofit yang tumbuh dari braktea bunga kecombrang dihitung jumlah koloninya menggunakan perhitungan *Total Plate Count* (TPC) (Bacon dan Hinton, 2006, dimodifikasi).

### **3.3.2 Pemurnian Bakteri Endofit Bunga Kecombrang**

#### **3.3.2.1 Pemurnian Bakteri Endofit Bagian Receptaculum**

Pemurnian bakteri endofit dari receptaculum bunga kecombrang dilakukan menggunakan metode cawan gores (*Streak Plate Method*) pada media *Nutrient Agar* (NA) untuk mendapatkan isolat murni dengan morfologi yang sama. Pemurnian dilakukan menggunakan goresan kuadran karena dapat menghasilkan koloni bakteri dengan tingkat kemurnian isolat yang lebih tinggi dan memudahkan dalam pengambilan koloni bakteri pada tahap identifikasi. Cawan Petri dibagi menjadi 4 bagian menggunakan OHP *marker*. Selanjutnya, ose bulat difiksasi di atas api spritus dan isolat bakteri endofit bunga kecombrang diinokulasikan pada Petri, digoreskan secara zig-zag pada kuadran I. Selanjutnya, ose difiksasi dan digoreskan kembali pada kuadran II. Selanjutnya, dilakukan cara yang sama pada kuadran III hingga kuadran IV. Kemudian, diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30 °C. Koloni bakteri dikarakterisasi secara morfologi (penampakan, warna, tepi, dan elevasi) (Lay, 1994).

#### **3.3.2.2 Pemurnian Bakteri Endofit Bagian Tunas Bunga**

Pemurnian bakteri endofit dari tunas bunga bunga kecombrang dilakukan menggunakan metode cawan gores (*Streak Plate Method*) pada media *Nutrient Agar* (NA) untuk mendapatkan isolat murni dengan morfologi yang sama. Pemurnian dilakukan menggunakan goresan kuadran karena dapat menghasilkan koloni bakteri dengan tingkat kemurnian isolat yang lebih tinggi dan memudahkan dalam pengambilan koloni bakteri pada tahap identifikasi. Cawan Petri dibagi menjadi 4 bagian menggunakan OHP *marker*. Selanjutnya, ose bulat difiksasi di atas api spritus dan isolat bakteri endofit bunga kecombrang diinokulasikan pada Petri, digoreskan secara zig-zag pada kuadran I. Selanjutnya, ose difiksasi dan digoreskan kembali pada kuadran II. Selanjutnya, dilakukan cara yang sama pada kuadran III hingga

kuadran IV. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30 °C. Koloni bakteri dikarakterisasi secara morfologi (penampakan, warna, tepi, dan elevasi) (Lay, 1994).

### **3.3.2.3 Pemurnian Bakteri Endofit Bagian Braktea**

Pemurnian bakteri endofit dari braktea bunga kecombrang dilakukan menggunakan metode cawan gores (*Streak Plate Method*) pada media *Nutrient Agar* (NA) untuk mendapatkan isolat murni dengan morfologi yang sama. Pemurnian dilakukan menggunakan goresan kuadran karena dapat menghasilkan koloni bakteri dengan tingkat kemurnian isolat yang lebih tinggi dan memudahkan dalam pengambilan koloni bakteri pada tahap identifikasi. Cawan Petri dibagi menjadi 4 bagian menggunakan OHP *marker*. Selanjutnya, ose bulat difiksasi di atas api spritus dan isolat bakteri endofit bunga kecombrang diinokulasikan pada Petri, digoreskan secara zig-zag pada kuadran I. Selanjutnya, ose difiksasi dan digoreskan kembali pada kuadran II. Selanjutnya, dilakukan cara yang sama pada kuadran III hingga kuadran IV. Kemudian, diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30 °C. Koloni bakteri dikarakterisasi secara morfologi (penampakan, warna, tepi, dan elevasi) (Lay, 1994).

### **3.3.3 Pewarnaan Gram Bakteri Endofit dari Bunga Kecombrang**

Isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang yang telah murni dilanjutkan dilakukan karakterisasi secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Satu ose isolat bakteri yang telah murni diambil dan dicampurkan dengan akuades yang telah diletakkan pada kaca objek. Kaca objek kemudian difiksasi dengan dilewati diatas spritus. Selanjutnya, kaca objek yang sudah difiksasi ditetesi dengan larutan kristal violet selama 1 menit, lalu kaca objek dibilas dengan akuades selama 5 detik. Selanjutnya kaca objek ditetesi dengan larutan lugol atau Gram iodin pada permukaan kaca selama 2 menit dan dibilas kembali dengan akuades, lalu dealkoholisasi dengan ditetesi alkohol 96% selama 10 hingga 20 detik kemudian dibilas dengan akuades selama 2 detik. Kemudian ditetesi dengan larutan safranin selama 30 hingga 60 detik dan dibilas kembali dengan akuades selama 5 detik. Kemudian kaca objek ditutup dan ditetesi minyak imersi. Kaca objek diamati di bawah mikroskop cahaya perbesaran 10×100 (Benson, 2001). Hasil pengamatan mikroskopis, melihat bentuk dan penataan bakteri serta jenis bakteri Gram yang diamati.

### **3.3.4 Pewarnaan Gram Bakteri Patogen Uji *Bacillus cereus* GTK12**

Isolat bakteri patogen uji *Bacillus cereus* GTK12 yang telah murni dilakukan karakterisasi secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Satu ose isolat bakteri yang telah murni diambil dan dicampurkan dengan akuades yang telah diletakkan pada kaca objek. Kaca objek kemudian difiksasi dengan dilewati diatas spritus. Selanjutnya, kaca objek yang sudah difiksasi ditetesi dengan larutan kristal violet selama 1 menit, lalu kaca objek dibilas dengan akuades selama 5 detik. Selanjutnya kaca objek ditetesi dengan larutan lugol atau Gram iodin pada permukaan kaca selama 2 menit dan dibilas kembali dengan akuades, lalu dealkoholisasi dengan ditetesi alkohol 96% selama 10 hingga 20 detik kemudian dibilas dengan akuades selama 2 detik. Kemudian ditetesi dengan larutan safranin selama 30 hingga 60 detik dan dibilas kembali dengan akuades selama 5 detik. Kemudian kaca objek ditutup dan ditetesi minyak imersi. Kaca objek diamati di bawah mikroskop perbesaran 10×100 (Benson, 2001). Hasil pengamatan mikroskopis, melihat bentuk dan penataan bakteri serta jenis bakteri Gram.

### **3.3.5 Pewarnaan Endospora Bakteri Patogen Uji *Bacillus cereus* GTK12**

Isolat bakteri patogen uji *Bacillus cereus* GTK12 yang telah murni dilakukan karakterisasi secara mikroskopis dengan pewarnaan endospora. Satu ose isolat bakteri yang telah murni diambil dan dicampurkan dengan akuades yang telah diletakkan pada kaca objek. Kaca objek kemudian difiksasi dengan dilewati diatas spritus. Selanjutnya, kaca objek yang sudah difiksasi ditetesi dengan larutan malakit hijau dan ditempatkan di atas beker berisi air di atas *hotplate* selama 2–3 menit tanpa menyebabkan pewarna menguap. Selanjutnya, kaca objek didinginkan dan dibilas di bawah air mengalir. Kemudian, dilanjutkan dengan diberi pewarna tanding safranin selama 30 detik dan dibilas dengan air mengalir. Kemudian kaca objek ditutup dan ditetesi minyak imersi. Kaca objek diamati di bawah mikroskop perbesaran 10×100. Hasil pengamatan melihat sel vegetatif dan spora bakteri (Holt *et al.*, 1994).

### **3.3.6 Uji Biokimia Bakteri Endofit dari Bunga Kecombrang**

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan diambil satu ose isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang dan diguncangkan pada media glukosa, laktosa dan sukrosa di dalam tabung reaksi yang telah dimasukkan Durham. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24

jam. Hasil positif terjadi perubahan warna media menjadi kuning keruh dan terbentuk gelembung gas pada tabung Durham (Lay, 1994).

Uji katalase dilakukan dengan diambil satu ose isolat bakteri endofit dari dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang dan diletakkan di atas kaca benda yang telah dialkohol 96%. Selanjutnya, ditetesi Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) 3% di atas isolat bakteri. Hasil positif ditandai terbentuknya gelembung gas di sekitar isolat bakteri (Lay, 1994).

Uji motilitas untuk mengetahui jenis pergerakan bakteri yang diinokulasikan. Uji motilitas dilakukan dengan media semi solid (*Nutrient Agar*). Satu ose isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang ditusukkan secara tegak lurus ke media. Selanjutnya, media diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Uji positif ditandai pertumbuhan bakteri yang menyebar (motil) (Cappuccino dan Sherman, 2013).

Uji urea dilakukan menggunakan media *Urea Base Agar* yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibuat menjadi media miring. Selanjutnya, satu ose isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang diinokulasikan menggunakan goresan sinambung. Kemudian, media diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Hasil positif diperoleh dengan adanya perubahan warna media menjadi merah muda (Lay, 1994).

Uji fermentasi sitrat dilakukan menggunakan media *Simmon Citrate Agar* (SCA) di dalam tabung reaksi dan dibuat menjadi media miring. Satu ose isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang diinokulasikan menggunakan goresan sinambung pada media. Kemudian, media diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Hasil positif diperoleh adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru (Lay, 1994).

### **3.3.7 Uji Antagonis Kultur Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap *Bacillus cereus* GTK12**

Uji Antagonis aktivitas senyawa antibakteri dari bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang terhadap bakteri patogen uji *Bacillus cereus* GTK12. Satu ose bakteri patogen uji *Bacillus cereus* GTK12 dikulturkan ke dalam 50 ml media *Tryptic Soy Broth* (TSB) dan diinkubasi pada shaker selama 24 jam. Selanjutnya, sebanyak 1 ml kultur bakteri patogen *Bacillus*

*cereus* GTK12 ditambahkan ke dalam 100 ml media *Tryptic Soy Agar* (TSA) dengan suhu 40 °C kemudian dihomogenkan dan dituangkan ke dalam cawan Petri. Selanjutnya, isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang diinokulasikan ke dalam media TSA sebelumnya yang sudah mengandung bakteri patogen *Bacillus cereus* GTK12 dengan menggunakan ose melalui metode totol. Isolat kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri, yang mengindikasikan adanya aktivitas antimikrob. Isolat positif dilanjutkan pengujian supernatan dan pelet (Giambiagi-Marval *et al.*, 1990) dimodifikasi.

### **3.3.8 Uji Antibakteri Menggunakan Pelet Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap *Bacillus cereus* GTK12**

Uji aktivitas antimikrob menggunakan pelet dilakukan pada isolat potensial hasil skrining awal. Isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang yang berpotensi menghambat diinokulasikan sebanyak 1 ose untuk dikultur dalam 5 ml media *Nutrient Broth* (NB) pada tabung ulir, diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Kemudian, sebanyak 1,5 ml kultur isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit di dalam tabung Eppendorf. Pelet dipisahkan untuk digunakan dalam uji aktivitas antimikrob terhadap bakteri patogen *Bacillus cereus* GTK12. Pelet dilarutkan dalam ± 150 µl akuades, kemudian di *vortex*. Uji aktivitas antimikrob dilakukan pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA) yang telah berisi isolat patogen uji *Bacillus cereus* GTK12. Isolat kultur patogen uji *Bacillus cereus* GTK12 yang sudah dishaker selama 24 jam dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 100 ml media *Tryptic Soy Agar* (TSA) pada suhu ± 40 °C, dihomogenkan, dan dituangkan ke dalam cawan Petri. Kemudian kertas cakram steril berukuran 6 mm dengan daya serap 20 µL diletakkan di tengah media TSA. Pelet diteteskan sebanyak 20 µL di atas kertas cakram dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong untuk menghitung indeks zona hambat isolat bakteri (Schillinger dan Lucke, 1989) dimodifikasi.

### **3.3.9 Uji Antibakteri Menggunakan Supernatan Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap *Bacillus cereus* GTK12**

Supernatan hasil sentrifugasi yang telah dipisahkan dari pelet sebelumnya digunakan untuk pengujian aktivitas antimikrob menggunakan supernatan terhadap patogen uji *Bacillus cereus* GTK12. Uji aktivitas antimikrob dengan supernatan dilakukan menggunakan media *Tryptic Soy Agar* (TSA) yang telah berisi isolat patogen uji *Bacillus cereus* GTK12. Isolat kultur patogen uji *Bacillus cereus* GTK12 yang sudah dishaker selama 24 jam dimasukkan dalam Erlenmeyer berisi 100 ml media *Tryptic Soy Agar* (TSA) pada suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ , dihomogenkan, dan dituangkan ke dalam cawan Petri. Kertas cakram steril berukuran 6 mm dengan daya serap 20  $\mu\text{L}$  diletakkan di tengah media TSA. Supernatan diteteskan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  di atas kertas cakram dan diinkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan adanya zona bening di sekitar kertas cakram dan dihitung indeks zona hambat isolat bakteri endofit (Marchesi *et al.*, 1998) dimodifikasi.

### **3.4 Analisis Data**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium. Analisis data pada penelitian ini menggunakan analisis deskriptif kualitatif dan deskriptif kuantitatif. Analisis deskriptif kualitatif dilakukan dengan mengidentifikasi dan menganalisis karakteristik isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang yang ditemukan. Analisis deskriptif kuantitatif dari data hasil uji aktivitas antimikrob berupa diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong lalu dibandingkan nilai pengukuran dengan kategori aktivitas penghambatan antimikrob berdasarkan zona hambat menurut Davis dan Stout (1971) *in* Ouchari *et al.* (2019) untuk mengetahui efektivitas bakteri endofit receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* GTK12 sebagai bakteri patogen potensial terutama pada gulai.

**Tabel 1.** Kategori aktivitas penghambatan antimikrob berdasarkan zona hambat menurut (Davis dan Stout (1971), *in* Ouchari *et al.*, 2019).

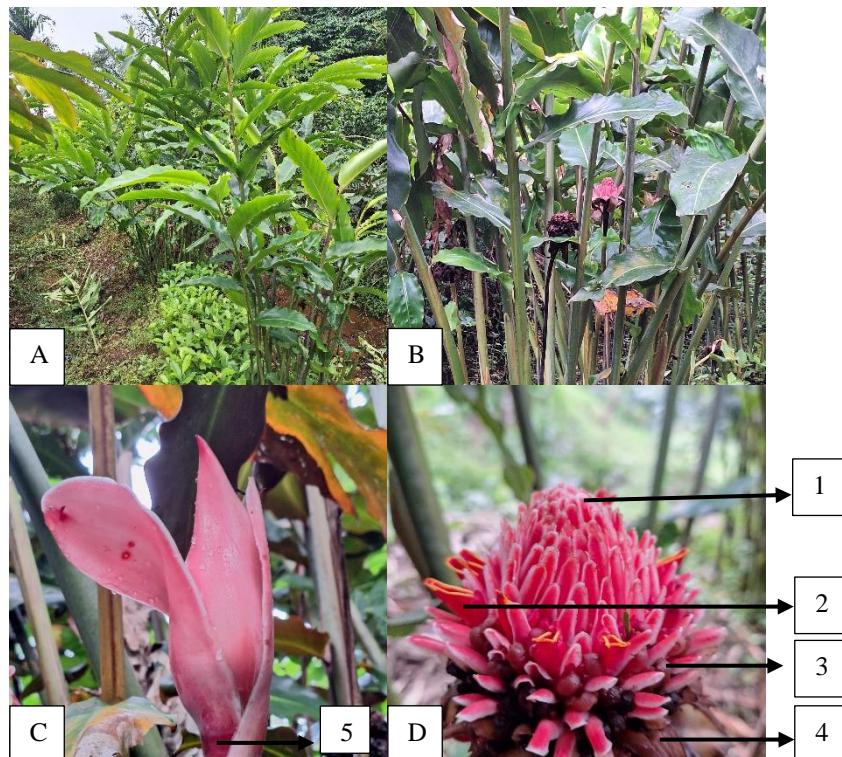
No.	Diameter (mm)	Aktivitas Zona Hambat
1.	>20	Sangat Kuat
2.	10–20	Kuat
3.	5–10	Sedang
4.	<5	Lemah

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

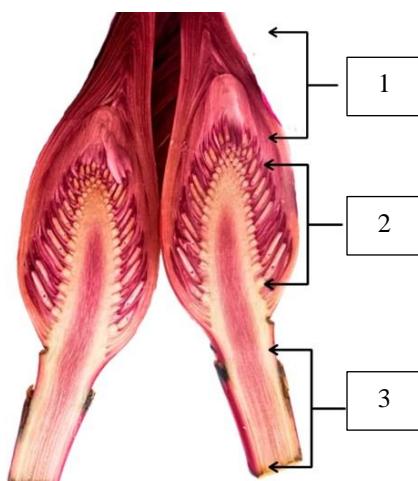
#### 4.1 Hasil Isolasi Bakteri Endofit Bagian Receptaculum, Tunas Bunga, dan Braktea Bunga Kecombrang

Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan mengoleksi bunga kecombrang yang berasal dari Desa Mojorejo, Kecamatan Sindang Kelingi, Kabupaten Rejang Lebong, Provinsi Bengkulu. Pemilihan lokasi ini didasarkan pada kondisi geografis wilayah ini sebagai wilayah budidaya sayuran, sehingga kualitas tanaman yang dihasilkan optimal dalam penelitian ini. Bunga yang diambil adalah bunga yang masih kuncup, diambil sebanyak 3 bunga dari satu tanaman kecombrang yang sama untuk menjaga konsistensi data penelitian. Bunga kecombrang diambil dalam keadaan segar dengan dimasukkan ke dalam plastik steril agar mencegah adanya kontaminasi. Bunga kecombrang yang berhasil dikoleksi dapat dilihat pada Gambar 3.



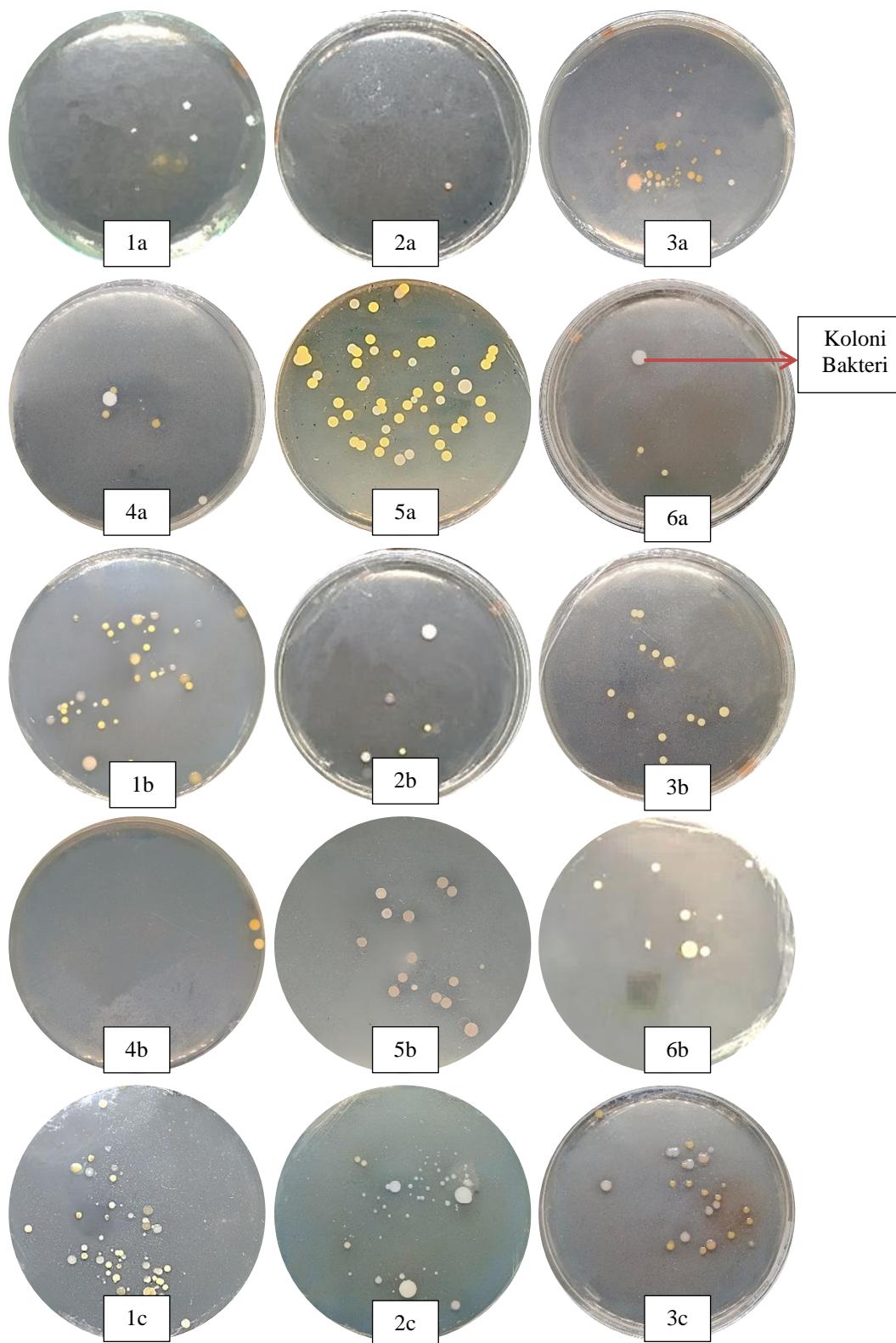
**Gambar 3.** Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm), (A) tanaman kecombrang, (B) bagian batang, daun dan bunga kecombrang, (C) bagian bunga kecombrang sebelum mekar, (D) morfologi bunga kecombrang, (1) braktea, (2) stamenodium, (3) tunas bunga, (4) braktea dalam kondisi layu, (5) receptaculum (Sumber: Masayu, 2025).

Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan bunga yang masih segar dan belum mengalami pembusukan seperti dilihat pada Gambar 3. Hal ini ditujukan agar kontaminasi dari lingkungan luar dapat diminimalkan. Bunga kecombrang dibelah untuk memisahkan bagian-bagian yang akan diisolasi yang terdiri dari 3 bagian yaitu 1= braktea (daun pelindung); 2= tunas bunga (terdiri dari sepal, petal, stamenodium, stamen dan pistilum) dan 3= receptaculum (dasar bunga) yang dapat dilihat pada Gambar 4.

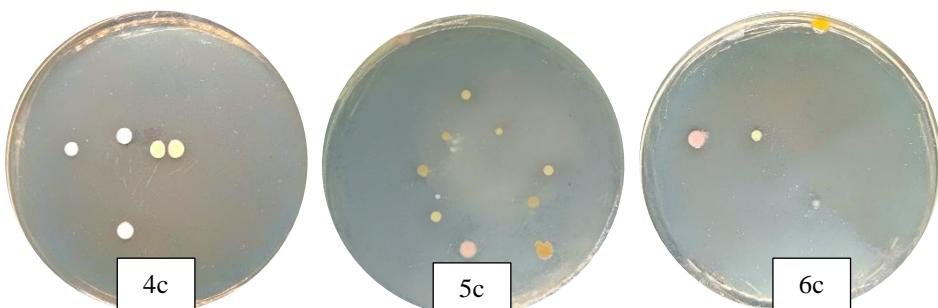


**Gambar 4.** Bagian bunga kecombrang yang akan diisolasi, (1) Braktea, (2) tunas bunga (sepal, petal, stamenodium, stamen dan pistilum), (3) Receptaculum (Sumber: Masayu, 2025).

Isolasi bakteri endofit dilakukan melalui proses sterilisasi permukaan untuk menghilangkan bakteri yang menempel pada bagian luar jaringan bunga kecombrang dan metode gerus untuk mengekstraksi bakteri yang berada di dalam jaringan receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang. Untuk mengoptimalkan pertumbuhan koloni bakteri, dilakukan pengenceran bertingkat agar mengurangi kepadatan koloni bakteri sebelum ditumbuhkan pada media *Nutrient agar* (NA) (Sahu *et al.*, 2022). Melalui proses isolasi tersebut, dapat dipastikan bahwa koloni bakteri yang berhasil diisolasi benar-benar merupakan bakteri endofit yang secara alami hidup di jaringan internal bunga kecombrang. Hal ini sesuai dengan Aqlinia *et al.* (2020) bahwa bakteri endofit merupakan bakteri menguntungkan yang hidup dalam jaringan tanaman seperti pada jaringan vaskular (xilem dan floem), khususnya pada jaringan biji, akar, batang, daun dan bunga. Koloni bakteri yang tumbuh setelah diinkubasi 48 jam pada suhu 30 °C dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Lanjutan 1.



**Gambar 5.** Koloni bakteri yang diperoleh dari bagian a). Receptaculum, b). Tunas bunga, c). Braktea, 1). Kecombrang<sub>1</sub> pengenceran  $10^{-3}$ , 2). Kecombrang<sub>1</sub> pengenceran  $10^{-5}$ , 3). Kecombrang<sub>2</sub> pengenceran  $10^{-3}$ , 4). Kecombrang<sub>2</sub> pengenceran  $10^{-5}$ , 5). Kecombrang<sub>3</sub> pengenceran  $10^{-3}$ , 6). Kecombrang<sub>3</sub> pengenceran  $10^{-5}$ , 1, 2, 3 (ulangan 1,2,3), setelah diinkubasi pada media *Nutrient Agar* (NA) selama 48 jam pada suhu 30 °C (Sumber: Masayu, 2025).

Koloni bakteri endofit dari bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA) karena media NA merupakan media kultur yang sangat mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri dengan spektrum yang luas. Media NA memiliki kandungan agar sebagai agen pematat yang menghasilkan tekstur padat sehingga memudahkan pengamatan morfologi koloni bakteri secara visual dan memungkinkan isolasi koloni tunggal dengan mudah. Komposisi media NA yang mengandung ekstrak daging menyediakan sumber protein kompleks, asam amino, dan peptida yang diperlukan untuk sintesis protein bakteri. Kandungan pepton sebagai hasil hidrolisis protein menyuplai nitrogen organik, asam amino bebas, vitamin B kompleks, dan mineral trace yang esensial untuk metabolisme bakteri. Selain itu, media NA juga mengandung karbohidrat sederhana dan senyawa organik lainnya yang berfungsi sebagai sumber energi dan karbon untuk pertumbuhan optimal berbagai genus bakteri endofit (Bastian *et al.*, 2023).

Koloni bakteri yang tumbuh pada media NA belum dapat diidentifikasi secara langsung dan masih diperlukan identifikasi yang lebih spesifik, seperti pengamatan morfologi koloni, pewarnaan Gram dan uji biokimia untuk menentukan jenis bakteri endofit yang ditemukan pada setiap jaringan receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang. Selanjutnya, bakteri yang tumbuh pada media NA (Gambar 5) dihitung jumlah koloninya menggunakan *colony counter*. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media NA dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Perhitungan jumlah koloni bakteri yang diisolasi dari bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang

Sumber Koloni Bakteri	Ulangan	$10^{-3}$	$10^{-5}$	Jumlah Koloni	% Jumlah Koloni
Receptaculum Bunga Kecombrang	1	7	2	9	3,14
	2	39	10	49	17,07
	3	42	3	5	1,74
<b>Jumlah Koloni Bakteri</b>				<b>63</b>	<b>21,95</b>
Tunas Bunga Bunga Kecombrang	1	34	6	40	13,94
	2	11	2	13	4,53
	3	16	10	26	9,06
<b>Jumlah Koloni Bakteri</b>				<b>79</b>	<b>27,53</b>
Braktea Bunga Kecombrang	1	53	48	101	35,19
	2	22	5	27	9,41
	3	12	4	17	5,92
<b>Jumlah Koloni Bakteri</b>				<b>145</b>	<b>50,52</b>
<b>Jumlah Keseluruhan Koloni Bakteri</b>				<b>287</b>	<b>100,00</b>

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada Tabel 2, konsentrasi dan tingkat pengenceran berpengaruh terhadap jumlah koloni bakteri. Koloni bakteri lebih banyak tumbuh pada pengenceran tertinggi dan semakin sedikit pertumbuhannya pada pengenceran yang lebih rendah. Hal ini sesuai menurut Azzahra *et al.* (2021) bahwa semakin rendah tingkat pengenceran maka akan semakin rendah jumlah bakteri yang tumbuh, yang menandakan bahwa pengenceran bertingkat mampu mengurangi jumlah kepadatan koloni bakteri pada suatu media.

Berdasarkan Tabel 2, total koloni bakteri setelah diisolasi tertinggi ditemukan pada braktea bunga kecombrang dengan persentase koloni bakteri 50,52 % diikuti dengan bagian tunas bunga dengan persentase koloni bakteri 27,53 %. Sedangkan pada bagian receptaculum menunjukkan hasil jumlah koloni yang terendah dengan persentase 21,95 %. Perbedaan setiap bagian yang diisolasi mempengaruhi jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media. Perbedaan morfologi struktur jaringan menyediakan komunitas bakteri endofit dan kemampuannya yang berbeda. Setelah dilakukan perhitungan jumlah total koloni bakteri yang tumbuh pada media NA (Tabel 2), kemudian dilakukan pengamatan dan penapisan jumlah koloni bakteri yang dikarakterisasi berdasarkan warna, tepi, elevasi, dan penampakan koloni (Lay, 1994). Hasil penapisan koloni bakteri yang diperoleh dari bagian bunga kecombrang dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Penapisan koloni bakteri yang diperoleh dari bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang

Sumber Koloni Bakteri	Ulangan	Jumlah Koloni	Koloni Terpilih	% Koloni Bakteri
Receptaculum Bunga Kecombrang	1	9	5	14,29
	2	49	5	14,29
	3	5	4	11,43
<b>Jumlah Koloni Bakteri Terpilih</b>			<b>14</b>	<b>40,01</b>
Tunas Bunga Bunga Kecombrang	1	40	3	8,57
	2	13	2	5,71
	3	26	3	8,57
<b>Jumlah Koloni Bakteri Terpilih</b>			<b>8</b>	<b>22,85</b>
Braktea Bunga Kecombrang	1	101	6	17,14
	2	27	3	8,57
	3	17	4	11,43
<b>Jumlah Koloni Bakteri Terpilih</b>			<b>13</b>	<b>37,14</b>
<b>Jumlah Keseluruhan Koloni Bakteri Terpilih</b>			<b>35</b>	<b>100,00</b>

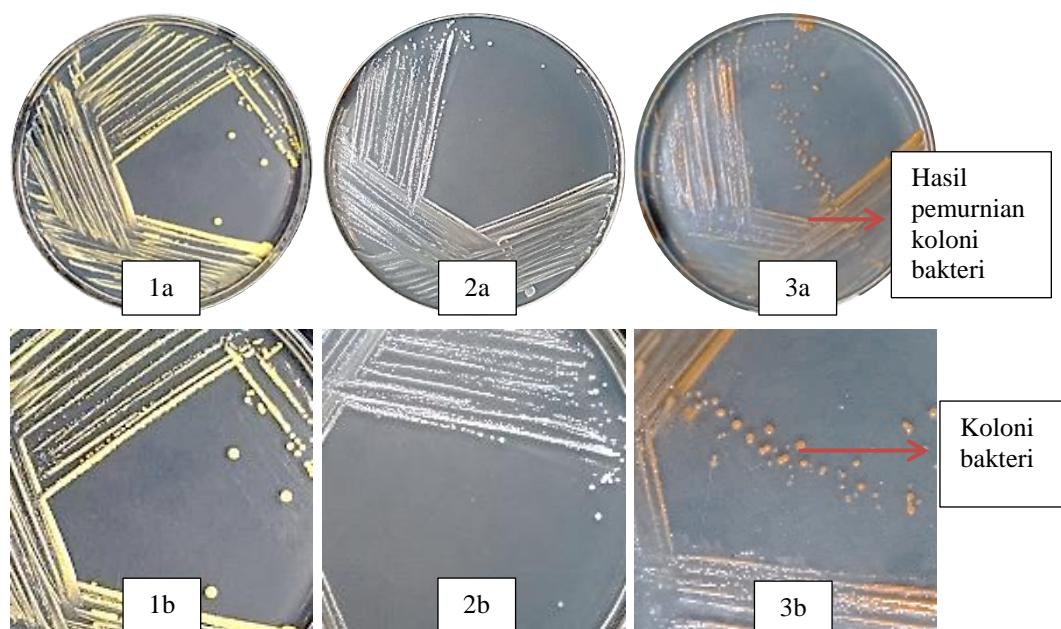
Berdasarkan hasil penapisan pada Tabel 3, didapatkan total koloni bakteri tertinggi pada receptaculum bunga kecombrang dengan persentase koloni bakteri 40,01 % (14,29 %; 14,29% dan 11,43 %), diikuti dengan braktea bunga kecombrang dengan persentase koloni bakteri 37,14 % (17,14 %; 8,57% dan 11,43 %). Sedangkan total koloni bakteri terendah ditemukan pada tunas bunga pada bunga kecombrang dengan persentase koloni bakteri 22,85 % (8,57 %; 5,71 % dan 8,57 %). Tingginya persentase koloni bakteri pada bagian receptaculum bunga kecombrang diduga karena receptaculum memiliki jaringan parenkim yang padat dan sistem vaskular (xilem dan floem) yang kompleks, menciptakan kondisi optimal untuk pertumbuhan bakteri. Bagian receptaculum juga terhubung langsung dengan batang melalui xilem dan floem yang berfungsi mengalirkan air dan nutrisi ke bunga dan menjadi lingkungan yang kaya akan zat organik dan anorganik yang dibutuhkan bakteri.

Selain itu, Aleklett *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa receptaculum memiliki sistem vaskular yang kompleks untuk menyalurkan air, mineral, dan hasil fotosintesis dari batang ke bunga. Konsentrasi nutrisi dan jaringan vaskular yang tinggi pada receptaculum menciptakan lingkungan ideal bagi pertumbuhan koloni bakteri. Sebaliknya, bagian tunas bunga memiliki struktur yang lebih padat dengan jaringan vaskular terbatas, dikarenakan terdiri dari bagian organ reproduktif bunga kecombrang, sehingga kurang mendukung pertumbuhan banyak jenis bakteri.

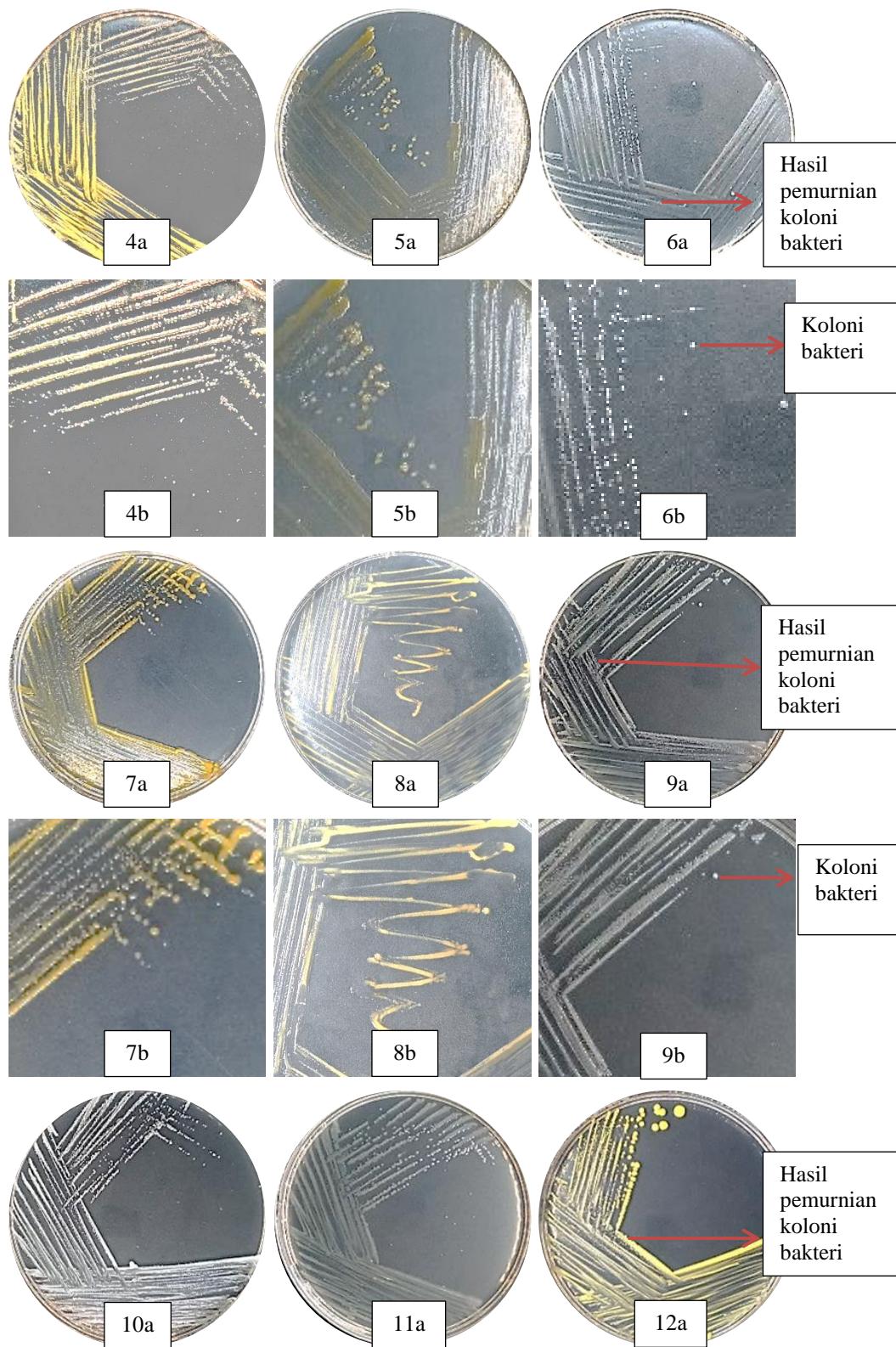
Penamaan kode bakteri didasarkan dari bagian bunga kecombrang yang diisolasi, yaitu RBK berarti (Receptaculum Bunga Kecombrang), TBBK berarti (Tunas Bunga Bunga Kecombrang), BBK berarti (Braktea Bunga Kecombrang) dan ulangan yang digunakan, yaitu 1,2,3 berarti (ulangan 1, ulangan 2, ulangan 3), serta diikuti dengan nomor isolat (1-35). Selanjutnya koloni bakteri dipurifikasi untuk mendapatkan koloni tunggal bakteri. Setelah dipurifikasi, dilakukan identifikasi lebih spesifik melalui pewarnaan Gram dan uji biokimia.

#### 4.2 Hasil Pemurnian Bakteri Endofit Bunga Kecombrang

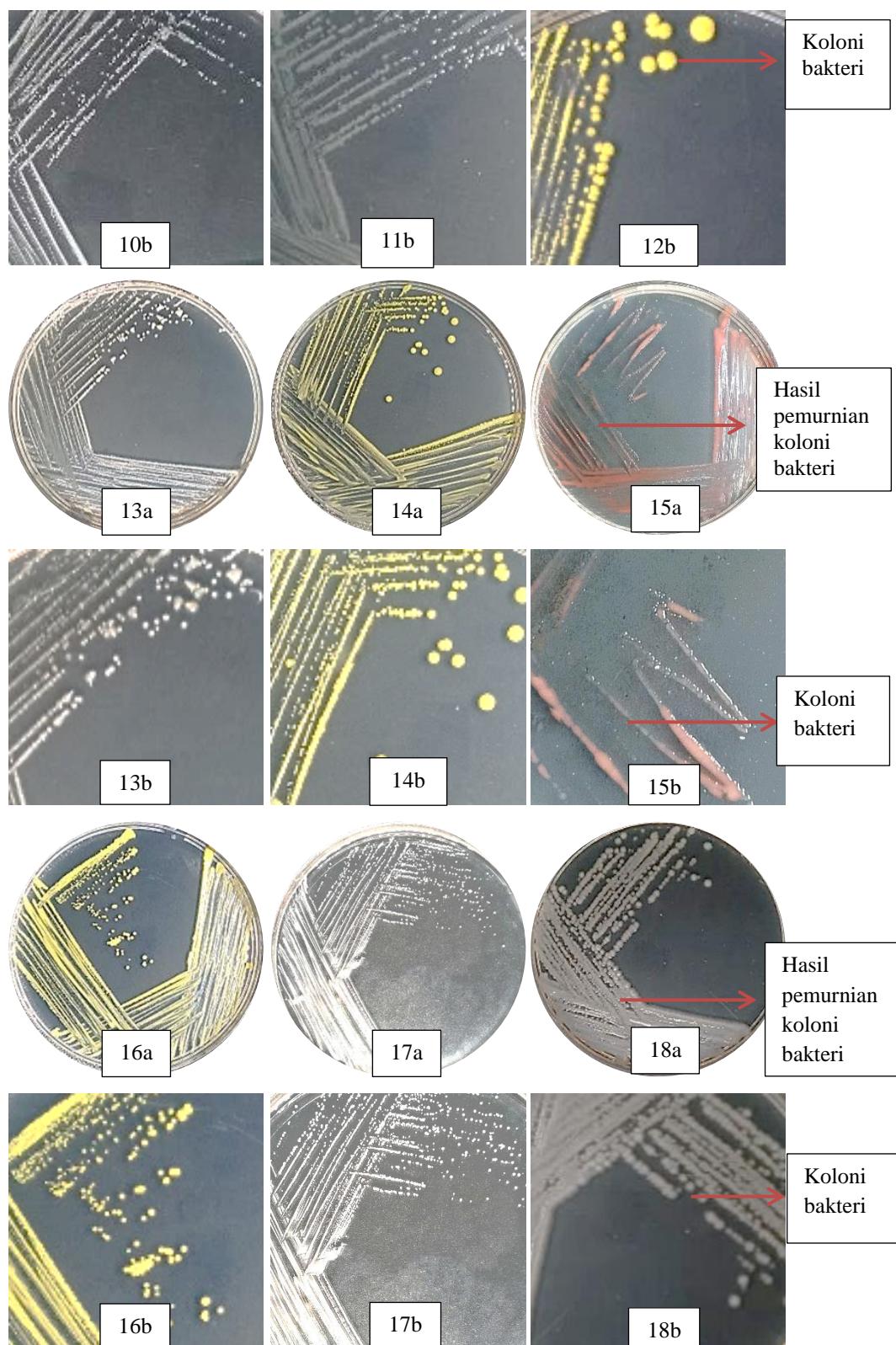
Tiga puluh lima koloni bakteri yang diperoleh dari hasil penapisan koloni bakteri dimurnikan menggunakan teknik cawan gores kuadran pada media *Nutrient Agar* (NA) untuk memperoleh isolat murni yang bebas dari kontaminasi bakteri lainnya. Teknik cawan gores kuadran merupakan metode pemurnian yang efektif untuk menghasilkan koloni tunggal bakteri dengan cara membagi permukaan media agar menjadi empat kuadran (Lay, 1994). Proses pemurnian ini sangat penting untuk memastikan bahwa setiap koloni bakteri yang diperoleh merupakan koloni murni dari satu spesies bakteri tanpa adanya kontaminasi dari bakteri lain. Hasil pemurnian setelah diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 30 °C dapat dilihat pada Gambar 6.



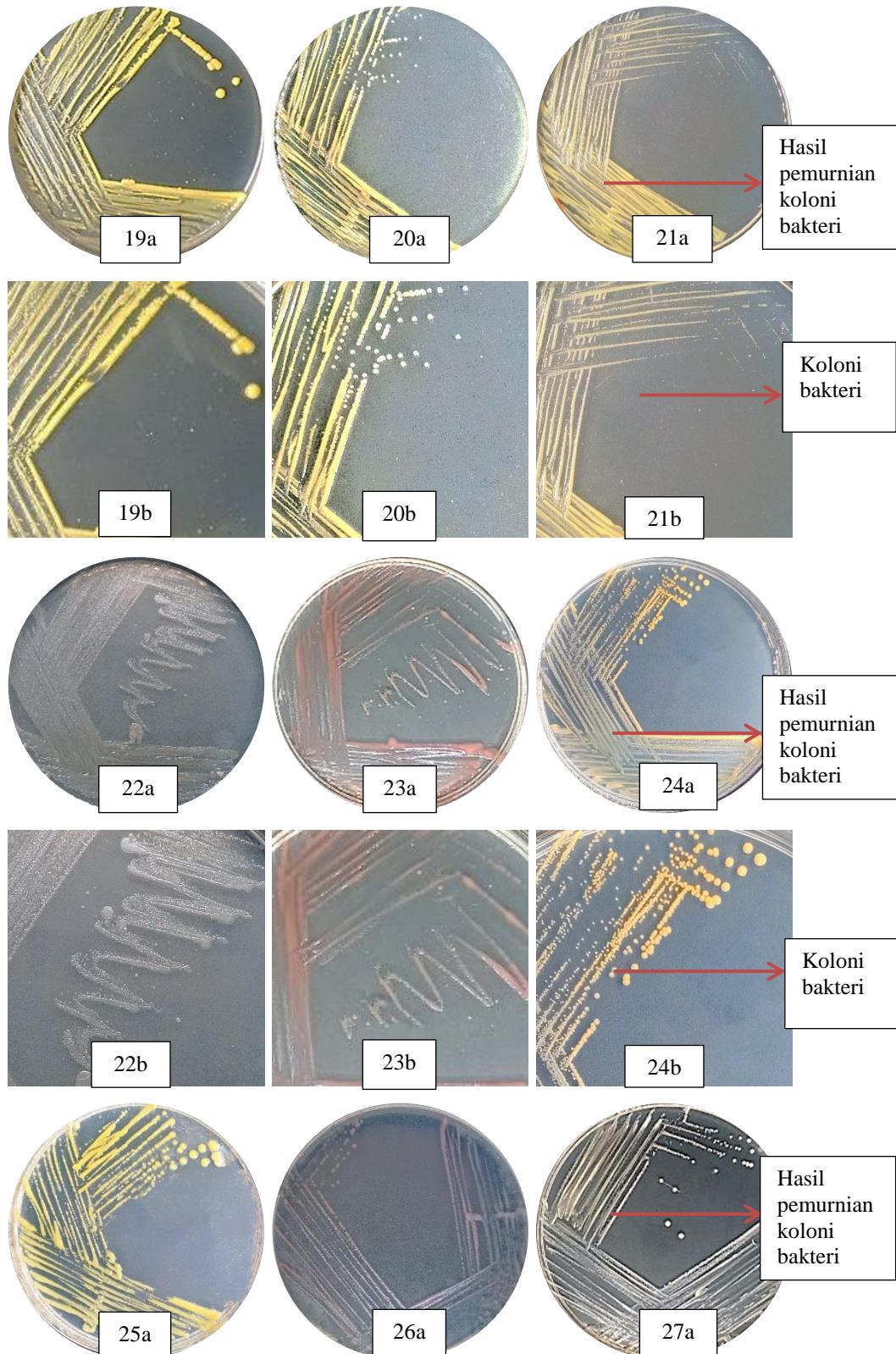
**Gambar 6.** Lanjutan 1.



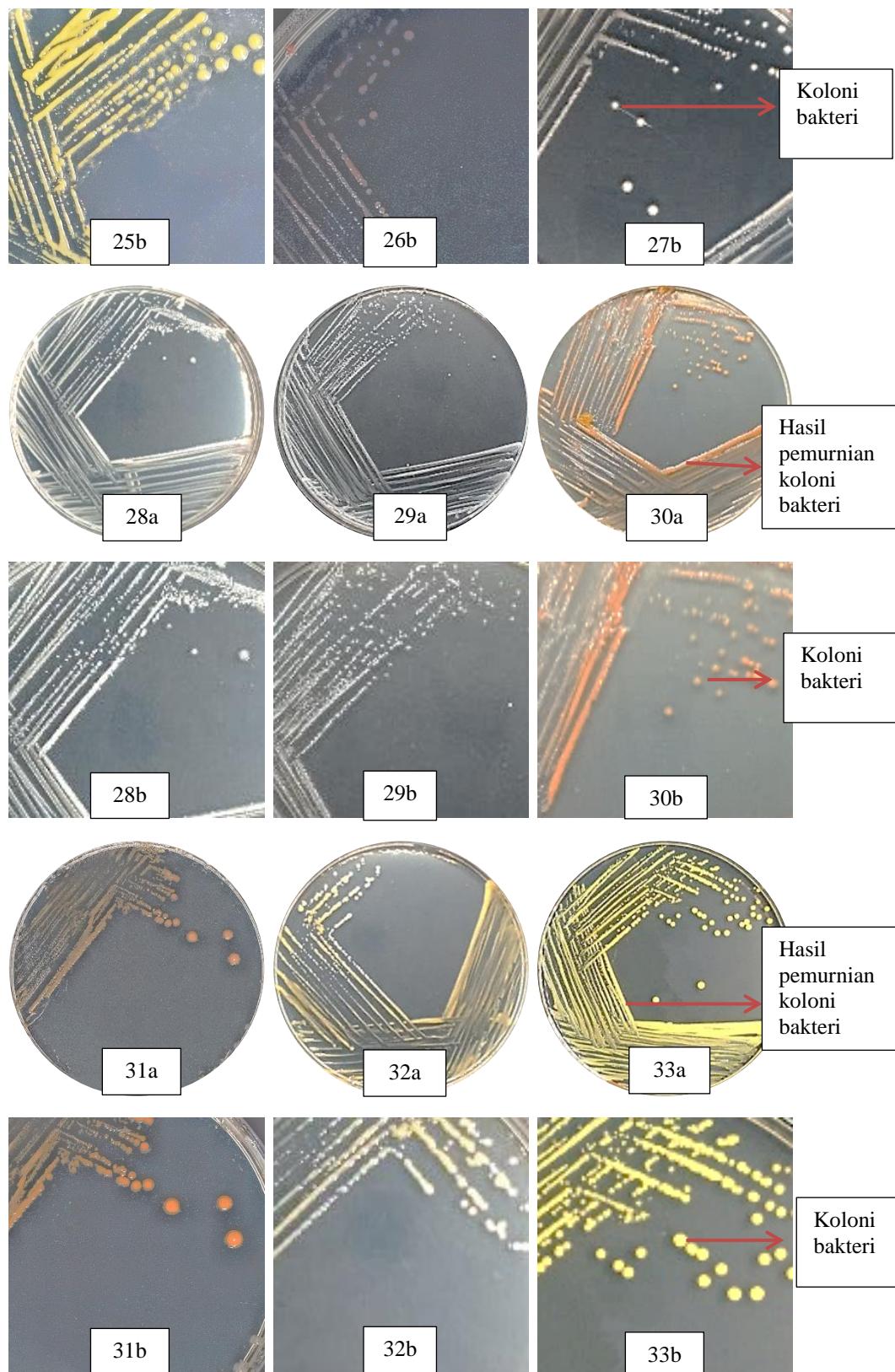
**Gambar 6.** Lanjutan 2.



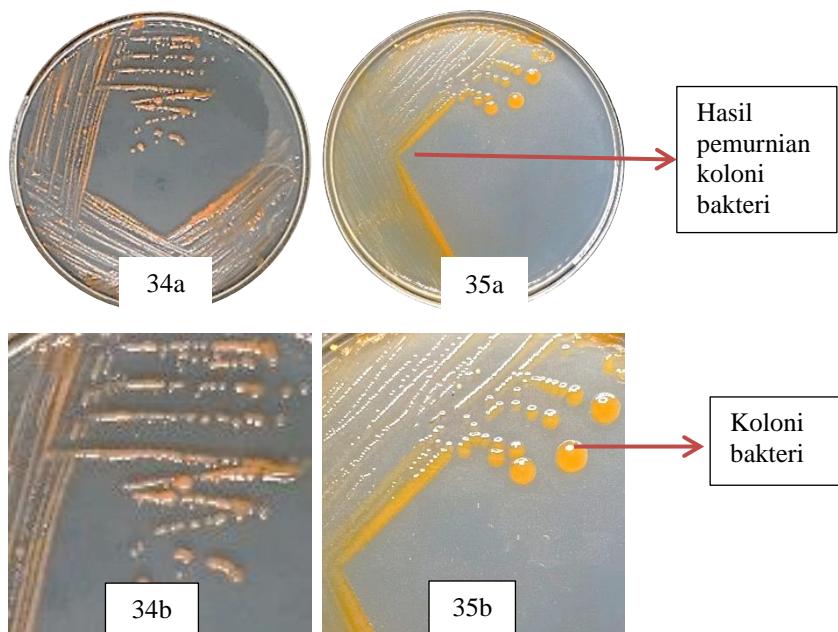
**Gambar 6.** Lanjutan 3.



**Gambar 6.** Lanjutan 4.



**Gambar 6.** Lanjutan 5.



**Gambar 6.** Hasil Pemurnian Bakteri a) Hasil pemurnian, b) Bentuk koloni, 1-5 (RBK<sub>1</sub>), 6-10 (RBK<sub>2</sub>), 11-14 (RBK<sub>3</sub>), 15-17 (TBBK<sub>1</sub>), 18-19 (TBBK<sub>2</sub>), 20-22 (TBBK<sub>3</sub>), 23-28 (BBK<sub>1</sub>), 29-31 (BBK<sub>2</sub>), 32-35 (BBK<sub>3</sub>), RBK= Receptaculum Bunga Kecombrang, TBBK= Tunas Bunga Bunga Kecombrang, BBK= Braktea Bunga Kecombrang, <sub>1,2,3</sub>= Ulangan, setelah diinkubasi pada media Nutrient Agar (NA) selama 48 jam dengan suhu 30 °C (Sumber: Masayu, 2025).

Berdasarkan hasil pemurnian dan karakterisasi morfologi koloni bakteri yang telah diperoleh, terdapat keragaman yang signifikan pada komunitas bakteri endofit yang mengindikasikan adanya variasi spesies bakteri pada bagian jaringan receptaculum, tunas bunga, dan braktea bunga kecombrang. Keragaman ini tercermin dari perbedaan karakteristik morfologi koloni seperti warna, elevasi, tepi koloni, dan penampakan koloni yang bervariasi antar koloni bakteri dari setiap bagian jaringan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa setiap bagian jaringan bunga kecombrang memiliki komunitas bakteri endofit yang spesifik, dimana jumlah koloni bakteri berbeda-beda sesuai dengan karakteristik masing-masing jaringan. Sesuai dengan Solanki *et al.* (2023) bahwa keberagaman jenis koloni bakteri dipengaruhi oleh faktor varietas tanaman, jenis tanah, lokasi tanaman dan jaringan tanaman.

#### 4.2.1 Pengamatan Koloni Bakteri Endofit Bagian Receptaculum

Berdasarkan identifikasi dari 14 koloni bakteri yang diperoleh dari bagian receptaculum bunga kecombrang, ditemukan keragaman warna koloni yang beragam, terdiri dari 4 berwarna kuning (RBK<sub>1</sub> 1; RBK<sub>2</sub> 8 dan RBK<sub>3</sub> 12,14), 2

berwarna orange (RBK<sub>1</sub> 5 dan RBK<sub>2</sub> 7), 2 berwarna putih (RBK<sub>1</sub> 2 dan RBK<sub>2</sub> 10), 4 berwarna krem (RBK<sub>1</sub> 4; RBK<sub>2</sub> 9 dan RBK<sub>3</sub> 11,13), 1 berwarna merah (RBK<sub>1</sub> 3) dan 1 tidak berwarna (RBK<sub>2</sub> 6). Penampakan koloni menunjukkan 10 koloni *circular* dan 4 koloni *pinpoint*. Seluruh koloni memiliki tepi *entire*, sedangkan elevasi terdiri dari 12 koloni cembung dan 2 koloni datar (Tabel 4).

Hasil identifikasi menunjukkan keragaman warna dan bentuk koloni bakteri pada receptaculum tertinggi dibandingkan bakteri bagian tunas bunga dan braktea. Receptaculum berperan sebagai penghubung jaringan vaskular yang menyalurkan nutrisi dari batang ke bunga. Keragaman warna koloni menunjukkan kemampuan metabolisme bakteri yang beragam dalam menghasilkan pigmentasi. Sedangkan bakteri non-pigmentasi menunjukkan fokus penggunaan nutrisi untuk pertumbuhan daripada produksi pigmen. Menurut Purwanto *et al.* (2014), bahwa keragaman morfologi koloni bakteri pada berbagai jaringan tanaman dipengaruhi oleh kondisi spesifik setiap organ tanaman. Perbedaan struktur anatomi dan fungsi fisiologis antar bagian tanaman menciptakan lingkungan mikro yang berbeda. Kondisi ini menghasilkan bakteri dengan karakteristik morfologi yang berbeda.

#### **4.2.2 Pengamatan Koloni Bakteri Endofit Bagian Tunas Bunga**

Berdasarkan identifikasi dari 8 koloni bakteri yang diperoleh dari bagian tunas bunga dari bunga kecombrang menunjukkan keberagaman warna yang relatif rendah, yang didominasi oleh 3 koloni berwarna kuning (TBBK<sub>1</sub> 16; TBBK<sub>2</sub> 19 dan TBBK<sub>3</sub> 21), 3 koloni putih (TBBK<sub>2</sub> 18; TBBK<sub>3</sub> 20 dan TBBK<sub>3</sub> 22), 1 koloni krem (TBBK<sub>1</sub> 17) dan 1 koloni merah muda (TBBK<sub>1</sub> 15). Penampakan koloni terdiri dari 7 koloni *circular* dan 1 koloni *pinpoint*. Karakteristik tepi menunjukkan 6 koloni *entire*, 1 koloni *serrated*, dan 1 koloni *undulate*. Elevasi koloni terdiri dari 5 koloni cembung dan 3 isolat datar (Tabel 4).

Hasil identifikasi menunjukkan keragaman pigmentasi bakteri yang relatif rendah pada tunas bunga dengan dominasi warna koloni yang cenderung netral (kuning, putih, krem). Hal ini diduga pada tunas bunga, terdapat organ reproduktif yang fokus hanya pada fungsi spesifik dalam produksi gamet dan fertilisasi, sehingga bakteri lebih fokus pada fungsi metabolismik daripada produksi pigmen. Namun, adanya koloni bakteri yang berwarna merah muda diduga disebabkan adanya jaringan petal dan sepal pada tunas bunga yang menghasilkan koloni bakteri dengan pigmen

serupa. Keberagaman bentuk tepi koloni (*entire*, *serrated*, dan *undulate*) menunjukkan keberagaman adaptasi bakteri dalam bertahan pada lingkungan jaringan yang memiliki suplai nutrisi terbatas. Sesuai dengan Aleklett *et al.* (2014), bahwa keragaman morfologi bakteri mencerminkan respons adaptif bakteri terhadap kondisi lingkungan, bakteri mengoptimalkan bentuk koloni untuk memaksimalkan pemenuhan nutrisi dalam jaringan inang.

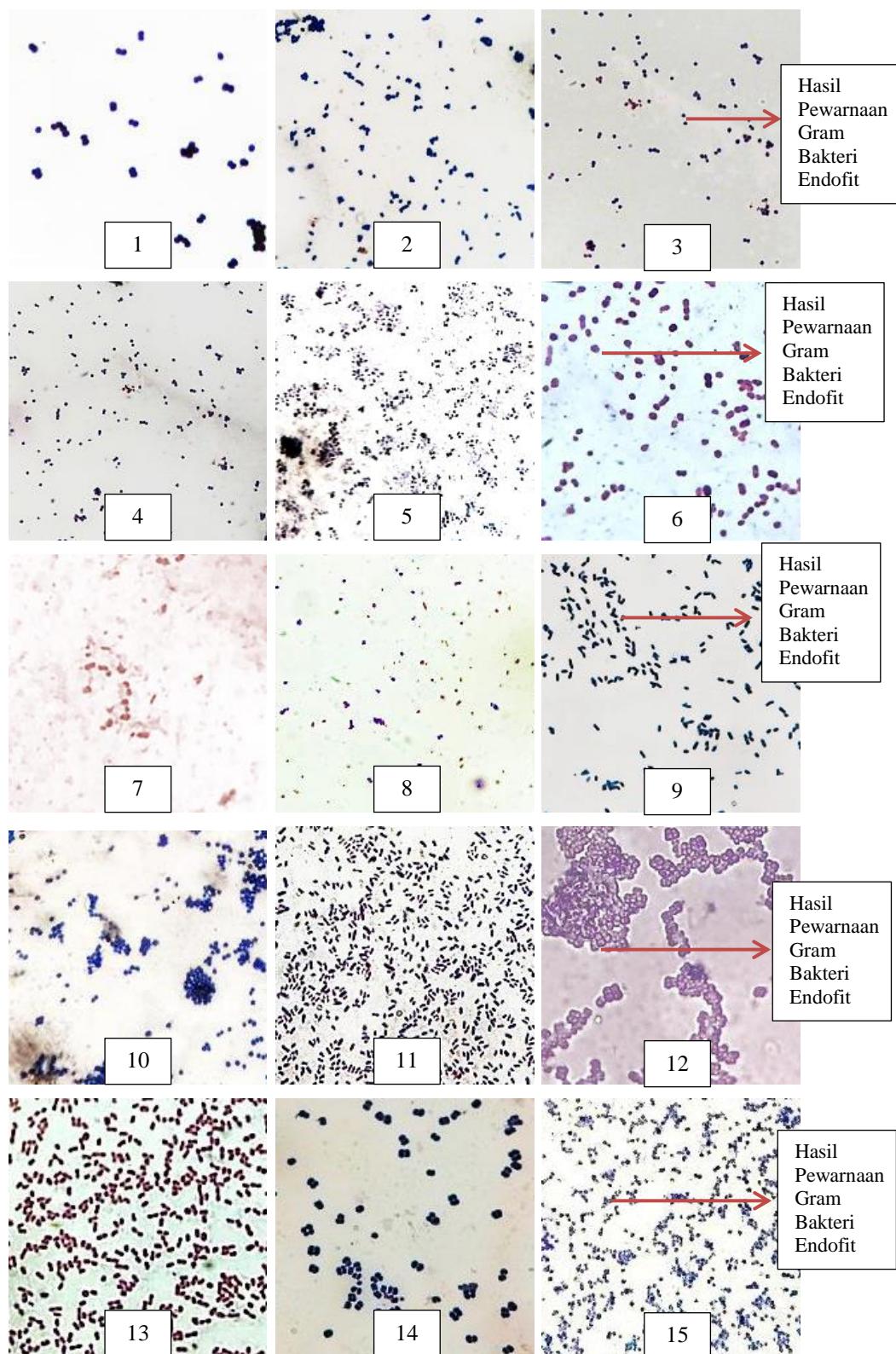
#### **4.2.3 Pengamatan Koloni Bakteri Endofit Bagian Braktea**

Koloni bakteri diidentifikasi berdasarkan pengamatan tepi, elevasi, penampakan dan warna koloni (Cappuccino dan Sherman, 2013). Dari 13 koloni bakteri yang diperoleh dari bagian braktea bunga kecombrang, ditemukan keberagaman warna yaitu 3 koloni berwarna merah (BBK<sub>1</sub> 23; BBK<sub>2</sub> 30 dan BBK<sub>3</sub> 34), 2 berwarna orange (BBK<sub>1</sub> 24 dan BBK<sub>3</sub> 35), 3 berwarna kuning (BBK<sub>1</sub> 25; BBK<sub>2</sub> 31 dan BBK<sub>3</sub> 33), 3 berwarna putih (BBK<sub>1</sub> 26; BBK<sub>1</sub> 28 dan BBK<sub>2</sub> 29), 1 krem (BBK<sub>1</sub> 27), dan 1 merah muda (BBK<sub>3</sub> 32). Penampakan koloni menunjukkan 10 koloni berbentuk *circular* dan 3 koloni *pinpoint*. Seluruh koloni memiliki tepi *entire*, elevasi terdiri dari 10 koloni cembung dan 3 koloni datar (Tabel 4).

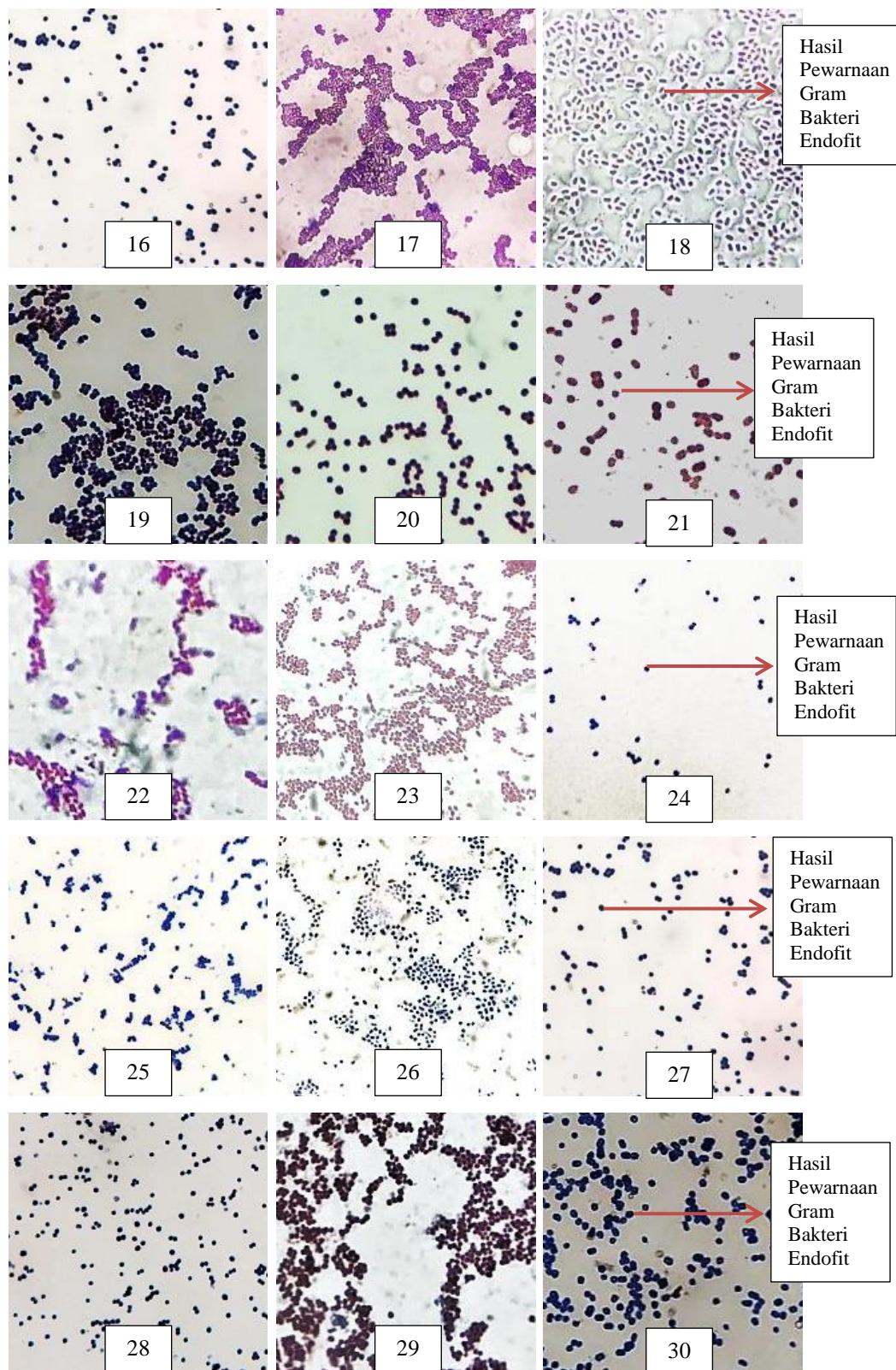
Hasil identifikasi menunjukkan keragaman warna koloni bakteri bagian braktea bunga kecombrang. Keragaman ini diduga berkaitan dengan pigmentasi yang dihasilkan bakteri secara alami pada braktea yang berwarna merah muda. Adanya adaptasi memungkinkan bakteri menghasilkan pigmen yang kompatibel dengan jaringan inangnya. Bakteri pada braktea juga memiliki bentuk tepi, elevasi, dan penampakan yang cukup beragam. Menurut Purwanto *et al.* (2014), menyatakan bahwa keragaman morfologi bakteri pada tanaman dipengaruhi oleh kondisi jaringan dan dapat juga dipengaruhi dari beberapa genus bakteri yang mendiami jaringan tersebut. Karakteristik dari jenis tanaman juga mempengaruhi karakteristik morfologi koloni bakterinya.

### **4.3 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bunga Kecombrang**

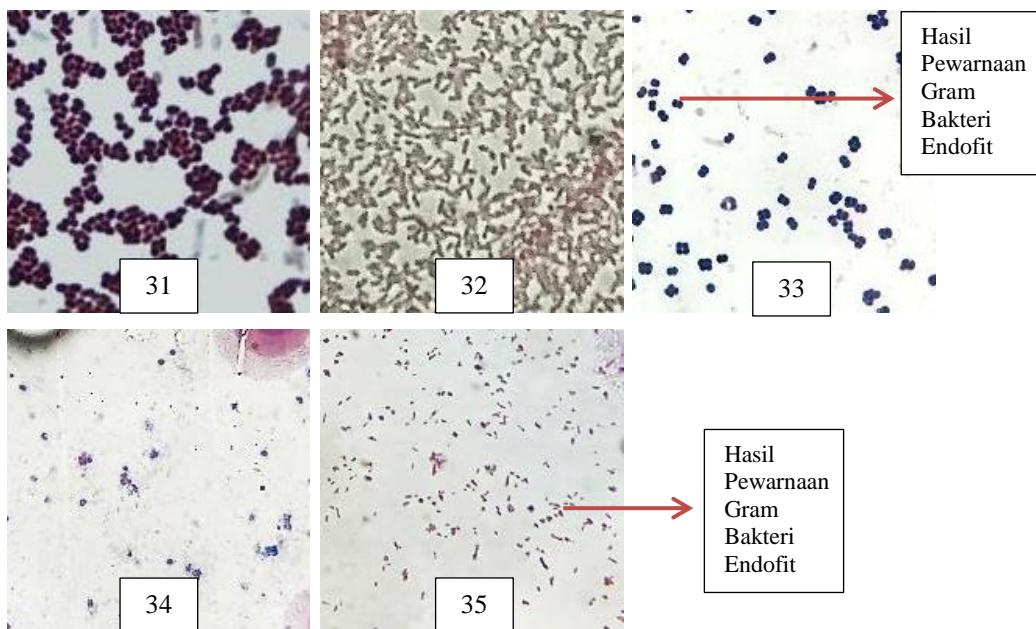
Pewarnaan Gram dilakukan untuk menggolongkan bakteri menjadi Gram positif dan Gram negatif. Dari tiga puluh lima koloni bakteri, tiga puluh empat koloni Gram positif (warna ungu) dan satu isolat Gram negatif (warna merah) seperti terlihat pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Lanjutan 1.



**Gambar 7.** Lanjutan 2.



**Gambar 7.** Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bunga Kecombrang, 1-5 (RBK<sub>1</sub>), 6-10 (RBK<sub>2</sub>), 11-14 (RBK<sub>3</sub>), 15-17 (TBBK<sub>1</sub>), 18-19 (TBBK<sub>2</sub>), 20-22 (TBBK<sub>3</sub>), 23-28 (BBK<sub>1</sub>), 29-31 (BBK<sub>2</sub>), 32-35 (BBK<sub>3</sub>), RBK= Receptaculum Bunga Kecombrang, TBBK= Tunas Bunga Bunga Kecombrang, BBK= Braktea Bunga Kecombrang, 1,2,3= Ulangan 1, 2, 3, diamati di bawah mikroskop Cahaya dengan perbesaran 1000× (Sumber: Masayu, 2025).

Dari hasil pewarnaan Gram terhadap tiga puluh lima koloni bakteri endofit yang diisolasi dari bunga kecombrang, diperoleh sebanyak 34 koloni yang menunjukkan reaksi Gram positif dengan karakteristik warna ungu yang mengindikasikan dominasi bakteri dengan dinding sel tebal, dan hanya 1 isolat yang menunjukkan reaksi Gram negatif dengan warna merah seperti pada Gambar 7. Hasil ini menunjukkan bahwa komunitas bakteri endofit pada bunga kecombrang didominasi oleh bakteri Gram positif, yang kemungkinan berkaitan dengan kondisi lingkungan mikro dalam jaringan tanaman yang mendukung pertumbuhan bakteri dengan struktur dinding sel yang lebih tebal dan stabil.

#### 4.3.1 Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bagian Receptaculum

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram pada Gambar 7, sebanyak 14 koloni bakteri yang diperoleh dari bagian receptaculum bunga kecombrang menunjukkan 12 koloni bakteri Gram positif (berwarna ungu) dan 1 koloni bakteri Gram negatif (berwarna merah). Bakteri Gram positif memiliki bentuk sel yang berbeda, diantaranya 11 koloni berbentuk *coccus* (RBK<sub>1</sub> 1-5; RBK<sub>2</sub> 6, 8, 10 dan RBK<sub>3</sub> 12-14) dengan penataan *mono-, diplo-, strepto-,* dan *tetra-*, sedangkan 2 koloni berbentuk

*bacil* (RBK<sub>2</sub> 9 dan RBK<sub>3</sub> 11) dengan penataan *mono-* dan *diplo-*. Gram negatif pada 1 koloni berbentuk *coccus* (RBK<sub>2</sub> 7) dengan penataan *mono-*. Perbedaan warna pada pewarnaan Gram disebabkan oleh perbedaan komposisi dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung 90% peptidoglikan yang tebal. Ketika diberi alkohol, peptidoglikan mengalami dehidrasi dan menurun daya serapnya. Akibatnya, kompleks kristal violet-lugol mempertahankan warna ungu. Sebaliknya, dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lipopolisakarida dan lipoprotein dengan kandungan lipid tinggi. Alkohol menyebabkan pori-pori sel mengembang, sehingga kompleks kristal violet-lugol dapat keluar dari sel. Sel yang kehilangan warna utama kemudian menyerap safranin dan tampak berwarna merah (Agustine *et al.*, 2018).

#### **4.3.2 Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bagian Tunas Bunga**

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram pada Gambar 8, teridentifikasi 8 koloni bakteri yang diperoleh dari bagian tunas bunga pada bunga kecombrang seluruhnya menunjukkan bakteri Gram positif berwarna ungu dengan bentuk sel yang berbeda, diantaranya 6 koloni berbentuk *coccus* (TBBK<sub>1</sub> 15-17; TBBK<sub>2</sub> 18-19 dan TBBK<sub>3</sub> 21) dengan penataan *mono-*, *diplo-*, *strepto-*, dan *tetra-*, sedangkan 2 koloni berbentuk *bacil* (TBBK<sub>3</sub> 20 dan 22) dengan penataan *mono-* dan *strepto-*. Hasil menunjukkan seluruh koloni berwarna ungu yang mengindikasikan bakteri Gram positif. Warna ungu ini disebabkan oleh komposisi dinding sel bakteri Gram positif yang mengandung 90% peptidoglikan. Ketika diberi alkohol sebagai larutan pemucat, peptidoglikan akan terdehidrasi sehingga menyebabkan pori sel mengkerut dan menurunkan daya serap. Kondisi ini menyebabkan kompleks pewarna utama kristal violet dan lugol tidak dapat keluar dari sel, akibatnya zat warna safranin tidak dapat diserap dan sel bakteri tetap mempertahankan warna ungu (Agustine *et al.*, 2018).

#### **4.3.3 Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bagian Braktea**

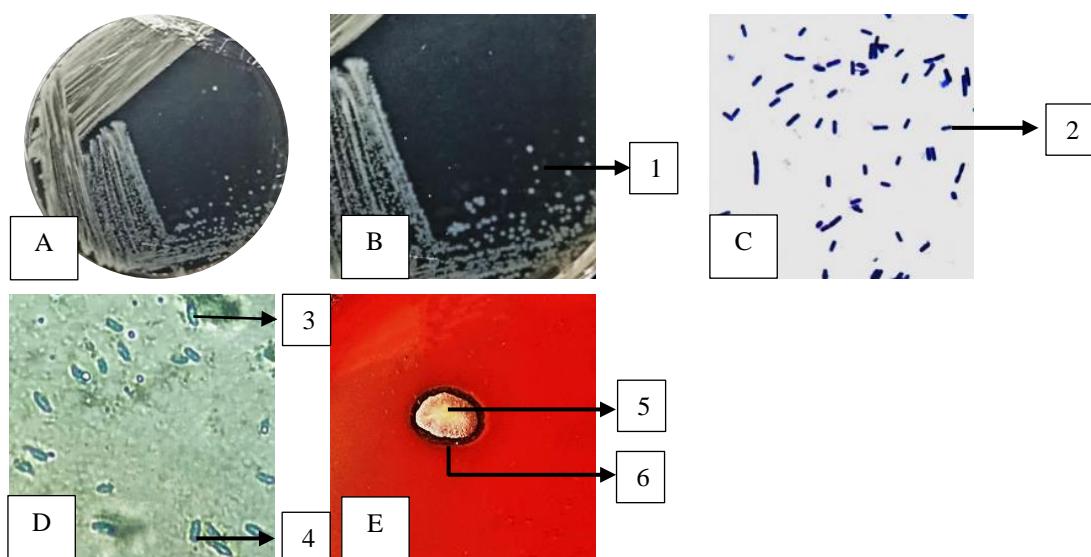
Berdasarkan hasil pewarnaan Gram pada Gambar 7, teridentifikasi sebanyak 13 koloni bakteri yang diperoleh dari bagian braktea bunga kecombrang menunjukkan bakteri Gram positif berwarna ungu dengan bentuk sel yang berbeda, diantaranya 12 koloni *coccus* (BBK<sub>1</sub> 23-28; BBK<sub>2</sub> 29-31 dan BBK<sub>3</sub> 32-34) dengan penataan *mono-*, *diplo-*, *strepto-*, dan *staphylo-*, sedangkan 1 koloni berbentuk *bacil* (BBK<sub>3</sub> 35) dengan penataan *mono-*. Hasil menunjukkan seluruh koloni berwarna ungu yang mengindikasikan bakteri Gram positif. Warna ungu ini disebabkan oleh

komposisi dinding sel bakteri Gram positif yang mengandung 90% peptidoglikan. Ketika diberi alkohol sebagai larutan pemucat, peptidoglikan akan terdehidrasi sehingga menyebabkan pori sel mengkerut dan menurunkan daya serap menyebabkan kompleks pewarna utama kristal violet dan lugol tidak dapat keluar dari sel, dan safranin tidak dapat diserap dan sel bakteri (Agustine *et al.*, 2018).

Selanjutnya diperlukan identifikasi biokimia yang dilakukan setelah pewarnaan Gram. Uji biokimia dilakukan untuk melihat aktivitas metabolisme bakteri karena adanya kerja enzim. Identifikasi spesies bakteri memerlukan beberapa aktivitas biokimia untuk mengetahui genus suatu bakteri (Lay, 1994).

#### **4.4 Hasil Pewarnaan Gram, Endospora dan Aktivitas Hemolisis Bakteri Uji *Bacillus cereus* GTK12**

Penelitian ini menggunakan bakteri *Bacillus cereus* GTK12 sebagai bakteri uji, yang diperoleh melalui proses isolasi dari sampel gulai santan yang mengalami kontaminasi. Sifat patogen dari bakteri ini telah terkonfirmasi sebelumnya melalui pengamatan zona hemolisis  $\beta$  yang terbentuk. Untuk memastikan kembali karakteristik bakteri uji, dilakukan pemurnian untuk mendapatkan koloni tunggal bakteri dan diidentifikasi dengan pengamatan mikroskopis melalui pewarnaan Gram serta pewarnaan endospora, sehingga dipastikan bahwa bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Bacillus cereus* GTK12 yang dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Karakteristik bakteri *Bacillus cereus* GTK12, A= Hasil pemurnian, B= Karakteristik morfologi koloni, C= Pewarnaan Gram, D= Pewarnaan endospora, yang diinkubasi pada media Nutrient Agar (NA) dengan suhu 30 °C selama 24 jam. E= Hasil hemolisis. 1= koloni bakteri, 2= bentuk dan penataan sel bakteri, 3= endospora, 4= sel vegetatif, 5= isolat bakteri, 6= zona bening (Sumber: Masayu, 2025).

Berdasarkan pewarnaan Gram pada Gambar 8(c), memperlihatkan bahwa bakteri uji merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang (basil). Hal ini sesuai dengan Bimantara *et al.* (2022) yang mengonfirmasi bahwa bakteri *B. cereus* termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif. Hal ini ditunjukkan dengan sel yang berwarna violet atau ungu, berbentuk batang (basil), dengan susunan sel tunggal pada pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Sementara pewarnaan endospora pada Gambar 8(d) memperlihatkan struktur endospora terletak di posisi sentral dalam sel vegetatif dengan warna hijau terang kontras dengan sitoplasma sel yang berwarna merah. Posisi endospora yang sentral ini sejalan dengan penelitian Mahbubani dan Vani (2024), bahwa endospora *Bacillus cereus* umumnya terletak secara sentral atau subterminal dalam sel berbentuk basil. Kemampuan isolat dalam membentuk endospora menjadi faktor dalam patogenisitasnya, karena struktur ini memungkinkan bakteri bertahan dalam kondisi lingkungan ekstrem termasuk proses pemasakan makanan konvensional.

Berdasarkan sifat patogenitasnya pada Gambar 8(e) memperlihatkan bahwa bakteri uji menghasilkan zona hemolisis  $\beta$ . Penelitian yang dilakukan Bimantara *et al.* (2022) juga menemukan bahwa bakteri *Bacillus cereus* mampu melisiskan sel darah merah tipe beta hemolisis ( $\beta$ ) yaitu tipe hemolisis yang dapat memecah sel darah merah secara sempurna. Kemampuan bakteri dalam menghemolisis sel darah merah, karena bakteri menghasilkan enzim hemolisin.

Temuan ini sesuai dengan Sanatang dan Lio (2021), bahwa kemampuan *Bacillus cereus* dalam melisiskan sel darah merah secara sempurna melalui aktivitas beta hemolisis ( $\beta$ ) mengindikasikan produksi enzim hemolisin yang berperan sebagai faktor virulensi utama dalam patogenesis keracunan makanan. Enzim hemolisin, khususnya hemolisin BL (HBL) dan non-hemolytic enterotoxin (NHE), tidak hanya merusak membran eritrosit tetapi juga target sel epitel usus, menyebabkan kerusakan intestinal dan berujung pada gejala gastroenteritis akut seperti diare, mual, dan kram perut. Aktivitas hemolitik yang positif berkorelasi langsung dengan kemampuan strain dalam memproduksi enterotoksin *diarrheagenic*, dimana mekanisme pembentukan pori pada membran sel yang sama juga terjadi pada sel enterosit, mengakibatkan gangguan homeostasis cairan dan elektrolit dalam saluran pencernaan. Hal ini menjelaskan mengapa isolat *B. cereus* dengan aktivitas beta

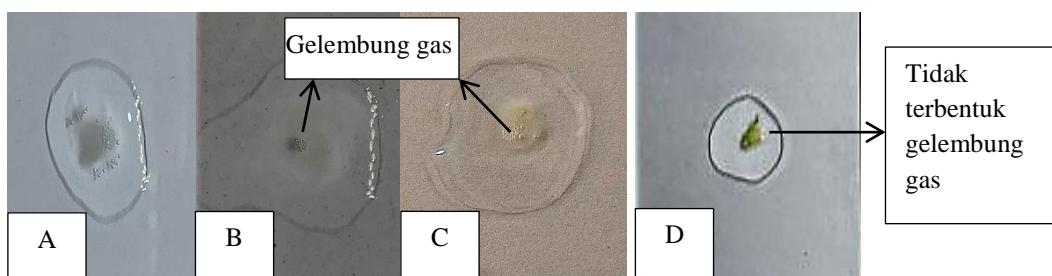
hemolisis yang kuat umumnya memiliki potensi patogenisitas tinggi dalam menyebabkan keracunan makanan terutama pada gulai santan yang terkontaminasi.

#### 4.5 Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit Bagian Receptaculum, Tunas Bunga dan Braktea Bunga Kecombrang

Identifikasi bakteri endofit pada bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang dilanjutkan dengan uji biokimia untuk mengamati sifat fisiologis bakteri, hasil dapat dilihat pada Tabel 4. Uji biokimia digunakan untuk pengkaraktersiasian bakteri berdasarkan reaksi biokimia dan daya kerja enzim. Menurut Lay (1994) bakteri memanfaatkan reaksi metabolisme yang dihasilkan oleh aktivitas enzim dan memanfaatkan perbedaan kebutuhan nutrisi serta produk akhir metabolisme, sehingga didapatkan perbedaan kemampuan bakteri yang satu dengan yang lain. Uji biokimia yang dilakukan meliputi uji katalase, uji motilitas, uji urea, uji fermentasi sitrat, dan uji fermentasi gula-gula.

##### 4.5.1 Uji Katalase

Uji katalase digunakan untuk mengetahui sifat bakteri berdasarkan pembentukan oksigen. Bakteri yang bersifat aerob mampu mendegradasi hidrogen peroksida yang bersifat toksik (Lay, 1994). Hasil positif uji ditandai dengan terbentuknya gelembung gas saat ditetesi  $H_2O_2$  3% yang menunjukkan bahwa bakteri dapat menghasilkan enzim katalase. Hasil uji katalase dapat dilihat pada Gambar 9 dan pada Lampiran 5a.



**Gambar 9.** Hasil Uji Katalase (a) positif uji katalase koloni bakteri RBK, (b) positif uji katalase koloni bakteri TBBK, (c) positif uji katalase koloni bakteri BBK, (d) negatif uji katalase (Sumber: Masayu, 2025).

Hasil uji katalase isolat bakteri endofit bagian braktea bunga kecombrang diperoleh sebanyak 9 isolat ( $BBK_1$  22, 25, 27;  $BBK_2$  30-31 dan  $BBK_3$  32-35) seperti pada Lampiran 5a menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya gelembung gas saat ditetesi  $H_2O_2$  3%, dan 4 isolat negatif tidak terbentuk gelembung gas. Terbentuknya gelembung gas disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam

menghasilkan enzim katalase yang mampu memecahkan  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (air dan oksigen). Jika bakteri memiliki enzim katalase, maka enzim tersebut akan memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang akan membentuk gelembung-gelembung kecil. Hidrogen peroksida bersifat toksik dan terbentuk saat metabolisme aerob, sehingga bakteri yang tumbuh pada lingkungan yang aerob harus menguraikan bahan toksik yang terkandung dalam hidrogen peroksida dengan bantuan enzim katalase (Dwidjoseputro, 1980). Menurut Jawetz *et al.* (2016), bakteri umumnya memproduksi enzim katalase untuk mengurai hidrogen peroksida hasil oksidasi. Aktivitas katalase ini memungkinkan bakteri untuk bertahan hidup dalam lingkungan khusus yang kaya metabolit sekunder.

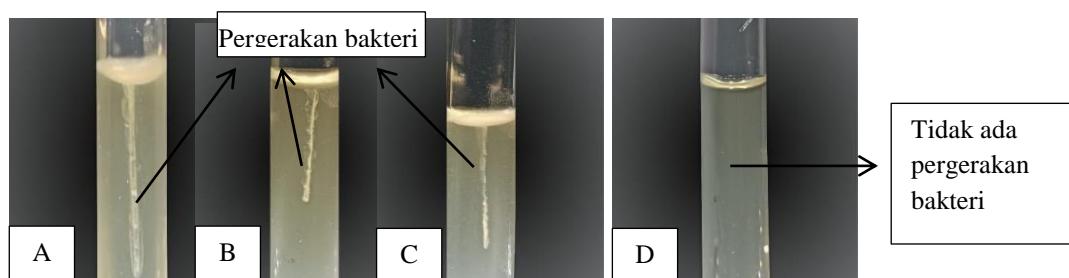
Hasil uji katalase isolat bakteri endofit bagian tunas bunga pada bunga kecombrang diperoleh 6 isolat ( $TBBK_1$  15-17;  $TBBK_2$  19 dan  $TBBK_3$  20,22) seperti pada Lampiran 5a menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya gelembung gas saat ditetesi  $H_2O_2$  3%, dan 2 isolat negatif tidak terbentuk gelembung gas. Terbentuknya gelembung gas disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase yang mampu memecahkan  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (air dan oksigen). Jika bakteri memiliki enzim katalase maka enzim tersebut akan memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang akan membentuk gelembung-gelembung kecil. Hidrogen peroksida bersifat toksik dan terbentuk saat metabolisme aerob, sehingga bakteri yang tumbuh pada lingkungan yang aerob harus menguraikan bahan toksik yang terkandung dalam hidrogen peroksida dengan bantuan enzim katalase (Dwidjoseputro, 1980). Menurut Jawetz *et al.* (2016), bakteri umumnya memproduksi enzim katalase untuk mengurai hidrogen peroksida hasil oksidasi. Aktivitas katalase ini memungkinkan bakteri untuk bertahan hidup dalam lingkungan khusus yang kaya metabolit sekunder.

Hasil uji katalase isolat bakteri endofit bagian receptaculum bunga kecombrang diperoleh 14 isolat ( $RBK_1$  1-5;  $RBK_2$  6-10 dan  $RBK_3$  11,13,14) seperti pada Lampiran 5a menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya gelembung gas saat ditetesi  $H_2O_2$  3%, dan 1 isolat negatif tidak terbentuk gelembung gas. Koloni bakteri pada receptaculum memproduksi enzim katalase memungkinkan bakteri bertahan hidup dalam lingkungan receptaculum yang kaya metabolit bioaktif dan senyawa fenolik, tanpa mengganggu fungsi struktural sebagai tempat perlekatan

organ-organ bunga dan proses perkembangan bunga. Terbentuknya gelembung gas disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase yang mampu memecahkan  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (air dan oksigen). Jika bakteri memiliki enzim katalase maka enzim tersebut akan memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang akan membentuk gelembung-gelembung kecil. Hidrogen peroksida bersifat toksik dan terbentuk saat metabolisme aerob, sehingga bakteri yang tumbuh pada lingkungan yang aerob harus menguraikan bahan toksik yang terkandung dalam hidrogen peroksida dengan bantuan enzim katalase. Sedangkan hasil negatif terjadi karena bakteri tidak menghasilkan enzim katalase atau menghasilkannya dalam jumlah minimal, sehingga tidak dapat menguraikan  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (Dwidjoseputro, 1980).

#### 4.5.2 Uji Motilitas

Uji motilitas untuk mengetahui jenis pergerakan bakteri pada media semi solid (*Nutrient Agar*) (Lay, 1994). Hasil positif uji ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar (motil). Hasil uji motilitas dapat dilihat pada Gambar 10 dan pada Lampiran 5b.



**Gambar 10.** Hasil Uji Motilitas (a) positif uji motilitas koloni bakteri RBK, (b) positif uji motilitas koloni bakteri TBBK, (c) positif uji motilitas koloni bakteri BBK, (d) negatif uji motilitas (Sumber: Masayu, 2025).

Hasil uji motilitas isolat bakteri endofit bagian braktea diperoleh 4 isolat ( $BBK_1$ , 26, 28 dan  $BBK_2$  29) seperti pada Lampiran 5b menunjukkan hasil positif atau bersifat motil yang ditandai dengan adanya jejak pergerakan bakteri menyebar. Sementara itu, 9 isolat lainnya menunjukkan hasil negatif atau bersifat non-motil tanpa adanya pergerakan bakteri. Ketersediaan nutrisi, pH, dan kelembaban pada braktea dapat mempengaruhi bakteri dalam pembentukan flagel. Kondisi stres tertentu dapat menyebabkan bakteri kehilangan kemampuan motilitasnya atau sebaliknya. Menurut Jawetz *et al.* (2016), mekanisme motilitas bakteri melibatkan penggunaan alat gerak sederhana berupa flagel atau silia yang digerakkan oleh energi

dari hidrolisis ATP oleh enzim ATP-ase menjadi fosfat anorganik. Bakteri motil bergerak aktif menggunakan flagel sehingga pertumbuhannya menyebar dari titik awal, sedangkan bakteri non-motil tidak memiliki kemampuan bergerak secara aktif sehingga pertumbuhannya hanya berbentuk garis lurus sesuai tempat inokulasi awal.

Hasil uji motilitas isolat bakteri endofit bagian tunas bunga diperoleh 4 isolat ( $TBBK_2$  18 dan  $TBBK_3$  20-22) seperti pada Lampiran 5b memberikan hasil positif atau bersifat motil yang ditandai dengan adanya jejak motilitas bakteri dengan pergerakan menyebar. Sementara itu, 4 isolat lainnya menunjukkan hasil negatif atau bersifat non-motil tanpa adanya pergerakan bakteri. Tunas bunga merupakan struktur kompleks yang terdiri dari sepal, petal, stamen, dan pistilum yang masing-masing memiliki karakteristik mikrolingkungan berbeda. Sepal berfungsi sebagai pelindung dengan kandungan selulosa dan lignin yang tinggi, petal mengandung pigmen dan senyawa aromatik untuk menarik polinator, stamen kaya akan polen bernutrisi tinggi (protein, lipid, karbohidrat), sedangkan pistilum mengandung nektar dan sekresi dengan komposisi gula dan asam amino yang berbeda (Ramdhini *et al.*, 2021).

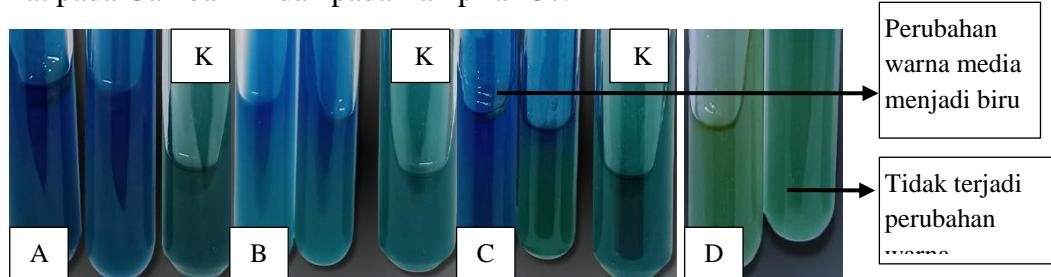
Perbedaan komposisi nutrisi dan kondisi mikrolingkungan pada masing-masing organ dalam tunas bunga ini mempengaruhi ekspresi gen yang mengatur pembentukan flagel bakteri. Ketersediaan nutrisi yang bervariasi, pH, kelembaban, dan senyawa bioaktif spesifik di setiap organ dapat menginduksi atau menekan sintesis protein flagel, sehingga menghasilkan variasi motilitas bakteri yang diisolasi dari tunas bunga tersebut. Menurut Jawetz *et al.* (2016), mekanisme motilitas bakteri melibatkan penggunaan alat gerak sederhana berupa flagel atau silia yang digerakkan oleh energi dari hidrolisis ATP oleh enzim ATP-ase menjadi fosfat anorganik. Bakteri motil mampu bergerak aktif menggunakan flagel sehingga pertumbuhan koloninya akan menyebar dari titik awal, sedangkan bakteri non-motil tidak memiliki kemampuan bergerak secara aktif sehingga pertumbuhannya hanya berbentuk garis lurus sesuai dengan tempat inokulasi awal.

Hasil uji motilitas isolat bakteri endofit bagian receptaculum diperoleh 13 isolat ( $RBK_1$  1-5,  $RBK_2$  6-10, dan  $RBK_3$  11,13,14) seperti pada Lampiran 5b hasil negatif atau bersifat non-motil tanpa adanya pergerakan bakteri. Sedangkan 1 isolat lainnya menunjukkan hasil positif bersifat motil yang ditandai dengan adanya jejak motilitas bakteri dengan pergerakan menyebar. Kondisi receptaculum yang stabil

memungkinkan bakteri untuk bertahan tanpa perlu bergerak mencari sumber nutrisi baru, sehingga sifat non-motil menjadi lebih menguntungkan. Menurut Jawetz *et al.* (2016), mekanisme motilitas bakteri melibatkan penggunaan alat gerak sederhana berupa flagel atau silia yang digerakkan oleh energi dari hidrolisis ATP oleh enzim ATP-ase menjadi fosfat anorganik. Bakteri motil bergerak aktif menggunakan flagel sehingga pertumbuhannya akan menyebar dari titik awal, sedangkan bakteri non-motil tidak memiliki kemampuan bergerak secara aktif sehingga pertumbuhannya hanya berbentuk garis lurus sesuai dengan tempat inokulasi awal.

#### 4.5.3 Uji Fermentasi Sitrat

Uji fermentasi fermentasi sitrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan fermentasi sitrat sebagai sumber karbon dan energi. Uji fermentasi sitrat menggunakan media *Simmons Citrate Agar* (SCA), hasil positifnya akan mengubah warna media dari hijau menjadi biru. Hasil uji fermentasi sitrat dapat dilihat pada Gambar 11 dan pada Lampiran 5c.



**Gambar 11.** Hasil Uji Fermentasi sitrat (a) positif uji fermentasi sitrat koloni bakteri RBK (b) positif uji fermentasi sitrat koloni bakteri TBBK (c) positif uji fermentasi sitrat koloni bakteri BBK (d) negatif uji fermentasi sitrat, (K) kontrol (Sumber: Masayu, 2025).

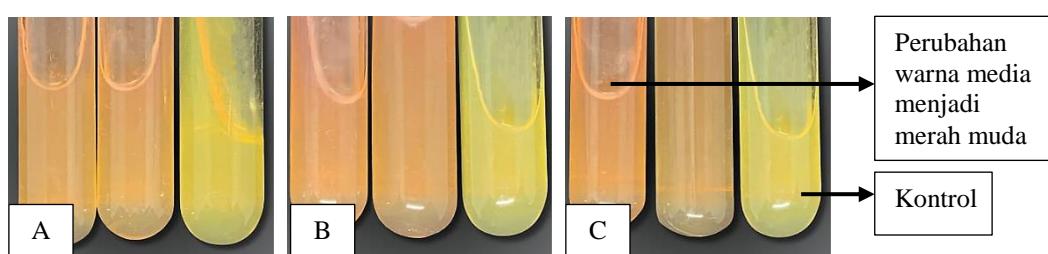
Hasil uji fermentasi sitrat isolat bakteri endofit bagian braktea diperoleh 5 isolat ( $BBK_1$  25, 26, 28;  $BBK_2$  29, dan  $BBK_3$  33) seperti pada Lampiran 5c menunjukkan hasil positif ditandai perubahan warna media dari hijau menjadi biru akibat peningkatan pH dari metabolisme sitrat menjadi natrium karbonat. Hasil negatif ditunjukkan pada 8 isolat lainnya. Penggunaan sitrat oleh bakteri melibatkan enzim permease yang membawa sitrat ke dalam sel. Sitrat akan dipecah menjadi asam oksaloasetat dan asetat. Perubahan warna media disebabkan pembentukan natrium karbonat melalui metabolisme 30 natrium sitrat yang meningkatkan pH media menjadi basa, sehingga *brom tymol blue* akan mengubah media menjadi biru (Anggraini dan Mellisa, 2016).

Hasil uji sitrat isolat bakteri endofit bagian tunas bunga diperoleh sebanyak 5 isolat ( $TBBK_1$  16-17,  $TBBK_2$  19, dan  $TBBK_3$  20,22) seperti pada Lampiran 5c menunjukkan hasil positif ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru akibat peningkatan pH dari metabolisme sitrat menjadi natrium karbonat dan hasil negatif ditunjukkan pada 3 isolat. Tunas bunga yang terdiri dari sepal, petal, stamen, dan pistilum memiliki variasi kandungan asam organik termasuk sitrat pada setiap organ. Bakteri mampu menggunakan sitrat ketika ketersediaan gula sederhana terbatas, sehingga hasil positif diduga berasal dari mikrohabitat dalam tunas bunga yang memiliki kandungan sitrat tinggi atau kondisi nutrisi yang menuntut kemampuan metabolisme alternatif. Menurut Anggraini dan Mellisa (2016), lingkungan yang kaya nutrisi mendorong bakteri mengembangkan enzim yang beragam, termasuk sitrat oksaloasetat dan asetat sebagai sumber karbon.

Hasil uji fermentasi sitrat isolat bakteri bagian receptaculum diperoleh 8 isolat ( $RBK_1$  1-2;  $RBK_2$  7-10, dan  $RBK_3$  11,14) pada Lampiran 5c menunjukkan hasil positif ditandai perubahan warna media dari hijau menjadi biru dan hasil negatif pada 6 isolat. Hal ini diduga bakteri memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon (Anggraini dan Mellisa, 2016). Menurut Cappuccino dan Welsh (2018), bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dikarenakan mempunyai enzim sitrat oksaloasetat dan asetat. Perubahan warna media disebabkan pembentukan natrium karbonat yang mengubah pH menjadi basa, sehingga indikator *brom tymol blue* mengubah media menjadi biru.

#### 4.5.4 Uji Urea

Uji urea dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim urease, menghidrolisis urea menjadi ammonia dan karbon dioksida. Hasil positifnya mengubah warna media dari orange menjadi merah muda. Hasil uji urea dapat dilihat pada Gambar 12 dan Lampiran 5d.



**Gambar 12.** Hasil Uji Urea (a) positif uji urea koloni bakteri RBK (b) positif uji urea koloni bakteri TBBK (c) positif uji urea koloni bakteri BBK (Sumber: Masayu, 2025).

Hasil uji urea isolat bakteri bagian braktea diperoleh bahwa semua isolat menunjukkan hasil positif seperti pada Lampiran 5d yang ditandai media menjadi berwarna merah muda, mengindikasikan kemampuan bakteri dalam menguraikan urea menjadi ammonium dan CO<sub>2</sub> melalui enzim urease (Hadioetomo, 1990). Menurut Lay (1994), enzim urease menghidrolisis urea menjadi amonia dan CO<sub>2</sub>, amonia yang terbentuk mengalami protonasi menjadi ion ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) dan ion hidroksida (OH<sup>-</sup>), menyebabkan peningkatan pH media yang ditandai dengan perubahan warna indikator fenol merah dari merah-jingga menjadi merah muda. Hal ini mengindikasikan adaptasi metabolismik spesifik terhadap kondisi lingkungan braktea yang kaya akan senyawa nitrogen organik. Keberadaan aktivitas urease menunjukkan kemampuan metabolisme nitrogen spesifik dalam jaringan braktea.

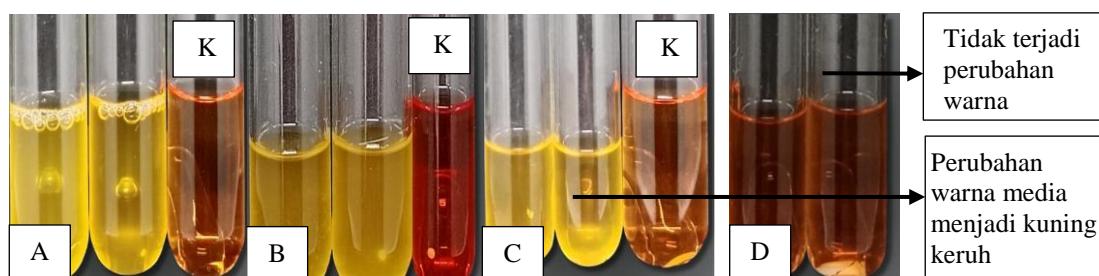
Hasil uji urea isolat bakteri bagian tunas bunga diperoleh bahwa semua isolat menunjukkan hasil positif seperti pada Lampiran 5d ditandai dengan perubahan warna media menjadi merah muda, mengindikasikan kemampuan menguraikan urea menjadi ammonium dan CO<sub>2</sub> melalui enzim urease (Hadioetomo, 1990). Menurut Lay (1994), enzim urease menghidrolisis urea menjadi amonia dan CO<sub>2</sub>, amonia yang terbentuk mengalami protonasi menjadi ion ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) dan ion hidroksida (OH<sup>-</sup>), menyebabkan peningkatan pH media yang ditandai dengan perubahan warna indikator fenol merah dari merah-jingga menjadi merah muda. Kemampuan semua isolat dalam menghasilkan enzim urease menunjukkan adaptasi bakteri endofit terhadap kondisi tunas bunga yang kaya akan senyawa nitrogen organik. Tunas bunga mengandung protein struktural dan enzim yang diperlukan untuk perkembangan organ reproduksi (sepal, petal, stamen, dan pistilum), sehingga ketersediaan substrat nitrogen dalam bentuk urea dan senyawa nitrogen lainnya cukup tinggi.

Hasil uji urea isolat bakteri bagian receptaculum diperoleh semua isolat menunjukkan hasil positif seperti pada Lampiran 5d ditandai perubahan warna media menjadi merah muda, mengindikasikan kemampuan menguraikan urea menjadi ammonium dan CO<sub>2</sub> melalui enzim urease (Hadioetomo, 1990). Menurut Lay (1994), enzim urease menghidrolisis urea menjadi amonia dan CO<sub>2</sub>, amonia yang terbentuk mengalami protonasi menjadi ion ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) dan ion hidroksida (OH<sup>-</sup>), menyebabkan peningkatan pH media yang ditandai dengan perubahan warna

indikator fenol merah dari merah-jingga menjadi merah muda. Hal ini mengindikasikan adaptasi metabolismik terhadap kondisi lingkungan receptaculum yang kaya akan senyawa nitrogen organik. Keberadaan aktivitas urease menunjukkan kemampuan metabolisme nitrogen spesifik dalam jaringan ini.

#### 4.5.5 Uji Fermentasi Gula-gula

Uji fermentasi gula-gula dilakukan dengan menggunakan tiga jenis gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Uji fermentasi gula-gula menunjukkan hasil positif apabila media berubah warna dari warna merah menjadi warna kuning keruh dan terdapat gelembung gas pada tabung durham. Hasil uji fermentasi gula-gula dapat dilihat pada Gambar 13 dan Lampiran 5e.



**Gambar 13.** Hasil Uji Fermentasi gula-gula (a) positif uji fermentasi gula-gula koloni bakteri RBK, (b) positif uji fermentasi gula-gula koloni bakteri TBBK, (c) positif uji fermentasi gula-gula koloni bakteri BBK, (d) negatif uji fermentasi gula-gula, (K) kontrol (Sumber: Masayu, 2025).

Hasil uji fermentasi gula-gula isolat bakteri bagian braktea seperti pada Lampiran 5e diperoleh 2 isolat yang mampu memfermentasikan semua jenis gula ( $BBK_1$  23 dan  $BBK_2$  31) dan hasil negatif diperoleh 3 isolat yang tidak mampu memfermentasikan gula ( $BBK_1$  25, dan  $BBK_3$  32-33). Sedangkan koloni yang memfermentasikan glukosa diperoleh 6 koloni, laktosa diperoleh 3 koloni dan sukrosa diperoleh 5 koloni ditandai dengan terjadinya perubahan warna media dari merah menjadi kuning karena indikator pH berupa *phenol red*. Keragaman kemampuan fermentasi menunjukkan braktea memiliki nutrisi yang kompleks dan kondisi lingkungan yang mendukung adaptasi metabolisme yang beragam.

Hasil uji fermentasi gula-gula isolat bakteri bagian tunas bunga seperti pada Lampiran 5e diperoleh 3 isolat yang tidak mampu memfermentasikan gula ( $TBBK_1$  16-17, dan  $TBBK_2$  19), 4 koloni yang memfermentasikan glukosa, 2 koloni laktosa dan 3 koloni sukrosa yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna media dari merah menjadi kuning karena indikator pH berupa *phenol red*. Variasi kemampuan

fermentasi gula mencerminkan adaptasi bakteri endofit terhadap ketersediaan karbohidrat berbeda di setiap organ tunas bunga. Sepal dan petal mengandung sukrosa sebagai cadangan energi, stamen kaya glukosa untuk pembentukan polen, sedangkan pistilum memiliki komposisi gula kompleks untuk perkembangan ovarium yang menciptakan metabolisme bakteri dengan kemampuan fermentasi yang lebih terbatas.

Hasil uji fermentasi gula-gula isolat bakteri bagian receptaculum seperti pada Lampiran 5e diperoleh hanya 1 isolat yang mampu untuk memfermentasikan ketiga jenis gula (RBK<sub>1</sub> 5), 6 isolat tidak mampu memfermentasikan gula (RBK<sub>1</sub> 1-2, RBK<sub>2</sub> 7,8,9, dan RBK<sub>3</sub> 14), 5 isolat memfermentasikan glukosa, 2 isolat laktosa dan 6 isolat sukrosa, hal ini ditandai terjadinya perubahan warna media dari merah menjadi kuning karena indikator pH berupa *phenol red*. Variasi kemampuan fermentasi gula pada bakteri receptaculum mencerminkan adaptasi terhadap karakteristik nutrisi spesifik organ ini. Receptaculum berfungsi sebagai dasar bunga yang menopang seluruh organ reproduksi dan memiliki kandungan karbohidrat kompleks untuk mendukung transportasi nutrisi ke berbagai bagian bunga.

Bakteri memfermentasi gula karena bakteri memiliki enzim untuk memecah gula menjadi energi dan produk samping. Produk fermentasi yang dihasilkan seperti asam laktat, asam asetat, etanol dan gas. Uji ini bertujuan melihat kemampuan bakteri dalam membentuk asam dan gas, bila asam terbentuk maka indikator pH (*phenol red*) akan mengubah warna media dari merah menjadi kuning. Hasil positif menunjukkan bakteri memiliki enzim fermentatif yang dapat memecah karbohidrat menjadi monosakarida, melalui glikolisis menjadi piruvat. Dalam kondisi anaerobik piruvat difерментasi menjadi asam laktat, asetat, dan format yang dapat menurunkan pH media (warna kuning). Sedangkan hasil negatif menunjukkan bahwa bakteri tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim fermentatif karbohidrat sehingga tidak dapat memecah substrat (media tetap merah) (Lay 1994).

**Tabel 4.** Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia isolat bakteri endofit dari receptaculum, tunas bunga serta braktea bunga kecombrang

No.	Kode Isolat	Asal Isolat	Genus	Pengamatan Morfologi				Pewarnaan Gram				Uji Biokimia				
				Elevasi	Penampakan	Tepi	Warna	Gr	Bentuk	Penataan		K	M	U	Si	Gula-gula
												G	L			S
1. RBK <sub>1</sub> 1	Receptaculum		<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	+	-	--
2. RBK <sub>1</sub> 2			<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	+	-	--
3. RBK <sub>1</sub> 3			<i>Micrococcus</i> sp 2	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Merah	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	-	+	--
4. RBK <sub>1</sub> 4			<i>Micrococcus</i> sp 3	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	-	-	+
5. RBK <sub>1</sub> 5			<i>Micrococcus</i> sp 4	Datar	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Orange	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	-	+	++
6. RBK <sub>2</sub> 6			<i>Micrococcus</i> sp 5	Cembung	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Tidak berwarna	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	-	+	--
7. RBK <sub>2</sub> 7			<i>Paracoccus</i> sp 1	Datar	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Orange	-	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	+	-	--
8. RBK <sub>2</sub> 8			<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	+	-	--
9. RBK <sub>2</sub> 9			<i>Bacillus</i> sp 1	Cembung	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Krem	+	Basil	<i>Diplobacil</i>	+	-	+	+	+	--
10. RBK <sub>2</sub> 10			<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	+	-	--
11. RBK <sub>3</sub> 11			<i>Bacillus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem	+	Basil	<i>Monobacil</i>	+	-	+	+	+	--
12. RBK <sub>3</sub> 12			<i>Enterococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Streptococcus</i>	-	+	+	-	+	-
13. RBK <sub>3</sub> 13			<i>Micrococcus</i> sp 3	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	-	-	+
14. RBK <sub>3</sub> 14			<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Tetracoccus</i>	+	-	+	+	-	--
15. TBBK <sub>1</sub> 15	Tunas Bunga		<i>Micrococcus</i> sp 6	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Merah muda	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	-	+	-
16. TBBK <sub>1</sub> 16			<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	+	-	--
17. TBBK <sub>1</sub> 17			<i>Micrococcus</i> sp 1	Datar	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem	+	Kokus	<i>Tetracoccus</i>	+	-	+	+	-	--
18. TBBK <sub>2</sub> 18			<i>Enterococcus</i> sp 2	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	-	+	+	-	-	+
19. TBBK <sub>2</sub> 19			<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Tetracoccus</i>	+	-	+	+	-	--
20. TBBK <sub>3</sub> 20			<i>Bacillus</i> sp 2	Datar	<i>Circular</i>	<i>Serrated</i>	Putih	+	Basil	<i>Monobacil</i>	+	+	+	+	-	+
21. TBBK <sub>3</sub> 21			<i>Enterococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Streptococcus</i>	-	+	+	-	+	-
22. TBBK <sub>3</sub> 22			<i>Bacillus</i> sp 2	Datar	<i>Pinpoint</i>	<i>Endulate</i>	Putih	+	Basil	<i>Streptobacil</i>	+	+	+	+	+	-
23. BBK <sub>1</sub> 23	Braktea		<i>Micrococcus</i> sp 2	Datar	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Merah	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	-	+	-
24. BBK <sub>1</sub> 24			<i>Micrococcus</i> sp 4	Cembung	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Orange	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	-	+	+	-	+	++
25. BBK <sub>1</sub> 25			<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	+	-	--
26. BBK <sub>1</sub> 26			<i>Enterococcus</i> sp 3	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih	+	Kokus	<i>Streptococcus</i>	-	+	+	+	+	-

**Tabel 4.** Lanjutan 1

27. BBK <sub>1</sub> 27	<i>Micrococcus</i> sp 4	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	-	-	-	+
28. BBK <sub>1</sub> 28	<i>Enterococcus</i> sp 3	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih	+	Kokus	<i>Streptococcus</i>	-	+	+	+	+	+	-
29. BBK <sub>2</sub> 29	<i>Enterococcus</i> sp 3	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih	+	Kokus	<i>Streptococcus</i>	-	+	+	+	+	+	-
30. BBK <sub>2</sub> 30	<i>Micrococcus</i> sp 3	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Merah	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	-	+	-	+
31. BBK <sub>2</sub> 31	<i>Staphylococcus</i> sp 2	Datar	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Staphylococcus</i>	+	-	+	-	+	+	+
32. BBK <sub>3</sub> 32	<i>Micrococcus</i> sp 7	Datar	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Merah muda	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	-	-	-	-
33. BBK <sub>3</sub> 33	<i>Micrococcus</i> sp 1	Cembung	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Kuning	+	Kokus	<i>Diplococcus</i>	+	-	+	+	-	-	-
34. BBK <sub>3</sub> 34	<i>Micrococcus</i> sp 3	Cembung	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Merah	+	Kokus	<i>Monococcus</i>	+	-	+	-	+	-	+
35. BBK <sub>3</sub> 35	<i>Microbacterium</i> sp 1	Cembung	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Orange	+	Basil	<i>Monobacil</i>	+	-	+	-	-	-	+

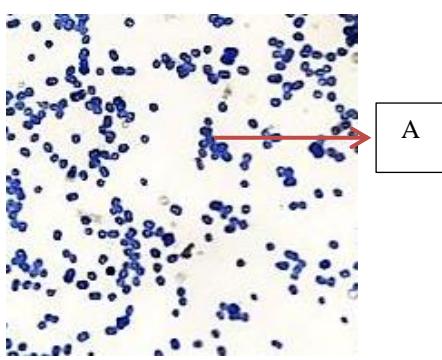
Keterangan: RBK= Receptaculum Bunga Kecombrang, TBBK= Tunas Bunga Bunga Kecombrang, BBK= Braktea Bunga Kecombrang, 1,2,3= Ulangan, 1-35= Nomor Isolat, K= Katalase, L= Laktosa, M= Motilitas, S= Sukrosa, U= Urea, Si= Sitrat, G= Glukosa, Gr= Gram, B=Bentuk, + = (Positif), - = (Negatif).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi, pewarnaan Gram, dan uji biokimia (Tabel 4), diidentifikasi genus bakteri menggunakan panduan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. Dari tiga puluh lima isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media NA, menunjukkan kedekatan dengan genus *Micrococcus*, *Paracoccus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, dan *Microbacterium*.

#### 4.6 Genus *Micrococcus*

Berdasarkan hasil pengamatan terdapat 22 isolat bakteri yang memiliki kedekatan terhadap genus *Micrococcus*, diantaranya pada 8 isolat bakteri yang diperoleh dari bagian braktea bunga kecombrang (BBK) yaitu BBK<sub>1</sub> (23-24), (25), (27); BBK<sub>2</sub> (30) dan BBK<sub>3</sub> (32-34). Pada 4 isolat bakteri yang diperoleh dari bagian tunas bunga bunga kecombrang (TBBK) yaitu TBBK<sub>1</sub> (15-17) dan TBBK<sub>2</sub> (19). Pada 10 isolat bakteri yang diperoleh dari bagian receptaculum bunga kecombrang (RBK) yaitu RBK<sub>1</sub> (1-5); RBK<sub>2</sub> (6), (8), (10) dan RBK<sub>3</sub> (13-14). Ke dua puluh dua isolat bakteri tersebut diduga memiliki kedekatan dengan genus *Micrococcus*. Ciri morfologi dengan elevasi cembung atau datar, penampakan *circular* atau *pinpoint* dan tepi *entire*. Pada uji biokimia juga menunjukkan hasil positif pada uji katalase yang merupakan ciri genus tersebut.

Menurut Holt *et al.* (1994) genus *Micrococcus* termasuk kelompok bakteri berbentuk *coccus* yang termasuk dalam kelompok Gram positif. Bersifat aerob, memiliki penataan seperti *staphylococcus*, *tetracoccus* dan *diplococcus*, katalase positif, dapat tumbuh pada suhu 25-37 °C. Biasanya hidup pada lingkungan tanah, udara, dan beberapa juga merupakan jenis bakteri endofit. Pengamatan bentuk dan penataan sel genus *Micrococcus* ditunjukkan pada Gambar 14.



Klasifikasi (Whitman *et al.*, 2009):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Actinobacteria
Kelas	: Actinobacter
Ordo	: Actinomycetales
Famili	: Micrococaceae
Genus	: <i>Micrococcus</i>

**Gambar 14.** Hasil pewarnaan Gram genus *Micrococcus* di bawah mikroskop cahaya perbesaran 1000×, A = Bentuk dan penataan sel bakteri (Sumber: Masayu, 2025).

Kehadiran bakteri endofit genus *Micrococcus* pada bunga kecombrang terjadi melalui mekanisme ekologis. Pada bagian receptaculum yang berfungsi sebagai tempat melekatnya organ bunga lainnya, bakteri endofit masuk melalui stomata pada permukaan jaringan dan memanfaatkan nutrisi yang tersedia di bagian ini (Kandel *et al.*, 2017). Struktur vaskular yang berkembang pada bagian receptaculum memungkinkan bakteri menyebar ke organ bunga lainnya. Keberadaan bakteri pada bagian tunas bunga diduga berkaitan dengan adanya organ reproduktif yang berperan dalam melindungi gamet dari patogen atau membantu dalam proses penyerbukan melalui interaksi dengan serangga penyerbuk. Sementara pada bagian braktea, bakteri endofit mungkin berperan dalam produksi senyawa untuk menarik polinator.

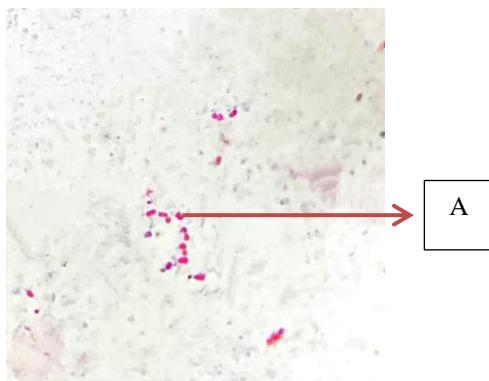
Menurut Santoyo *et al.* (2016) menyatakan bahwa genus *Micrococcus* merupakan genus bakteri yang umum ditemukan sebagai bakteri endofit. Selain itu, ada beberapa genus lainnya yang umumnya merupakan bakteri endofit pada tanaman yaitu *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Micrococcus*, *Pantoea* dan *Microbacterium*. Hal ini didukung oleh penelitian Andeas *et al.* (2023) yang menemukan genus *Micrococcus*, *Bacillus*, *Amphibacillus*, *Pseudomonas* dan *Azotobacter* dari hasil isolasi bakteri endofit tanaman lempuyang wangi (*Zingiber zerumbeth var. aromaticum* Val.) asal pulau Enggano, Provinsi Bengkulu. Hasil penelitian tersebut menemukan sebanyak 5 isolat mendekati genus *Micrococcus* yang berasal dari isolat bakteri dari bagian daun dan batang. Temuan ini menunjukkan bahwa terdapat kemiripan genus bakteri endofit yang hidup pada tanaman-tanaman dari famili Zingiberaceae. Hal tersebut diduga terjadi akibat adanya persamaan sifat-sifat fisiologis dan biokimia yang dimiliki oleh tanaman dari famili Zingiberaceae

#### 4.7 Genus *Paracoccus*

Berdasarkan hasil pengamatan terdapat 1 isolat bakteri yang memiliki kedekatan terhadap genus *Paracoccus*, diantaranya pada isolat bakteri yang diperoleh dari bagian receptaculum bunga kecombrang (RBK) yaitu RBK<sub>2</sub>(7), Isolat bakteri tersebut diduga memiliki kedekatan dengan genus *Paracoccus*. Ciri morfologi dengan elevasi datar, penampakan *pinpoint* dan tepi *entire*. Pada uji biokimia menunjukkan hasil sesuai dengan ciri genus tersebut.

Menurut Holt *et al.* (1994) genus *Paracoccus* merupakan kelompok bakteri berbentuk *coccus* yang bersifat Gram negatif dan aerobik, dengan karakteristik

penataan sel berupa *monococcus*, *tetracoccus*, dan *diplococcus*. Bakteri ini umumnya bersifat non-motil, katalase positif, tumbuh optimal pada suhu 25-30°C, dan secara alami menghuni lingkungan tanah serta perairan. Dalam penelitian ini, *Paracoccus* ditemukan relatif rendah dibandingkan genus lainnya. Pengamatan bentuk dan penataan sel genus *Paracoccus* ditunjukkan pada Gambar 15.



Klasifikasi (Parte *et al.*, 2020):

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Alphaproteobacteria

Ordo : Rhodobacterales

Famili : Paracoccaceae

Genus : *Paracoccus*

**Gambar 15.** Hasil pewarnaan Gram genus *Paracoccus* di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000×, A = Bentuk dan penataan sel bakteri (Sumber: Masayu, 2025).

Kehadiran genus *Paracoccus* pada bagian receptaculum menunjukkan keunikan mikrob endofit pada bagian bunga ini. Genus ini hanya ditemukan dalam jumlah tunggal. Keberadaan *Paracoccus* pada bagian receptaculum dapat dijelaskan melalui beberapa faktor ekologis dan fisiologis. Bagian receptaculum sebagai organ bunga memiliki sistem vaskular yang kompleks dan kandungan nutrisi yang melimpah, terutama senyawa organik sederhana seperti fermentasi sitrat yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri ini. Kemampuan *Paracoccus* dalam melakukan respirasi aerobik dan anaerobik fakultatif memungkinkannya untuk beradaptasi dengan kondisi oksigen yang bervariasi dalam jaringan receptaculum yang padat.

Pada bagian tunas bunga tidak ditemukan isolat yang teridentifikasi sebagai genus *Paracoccus*. Hal ini menunjukkan bahwa distribusi genus *Paracoccus* sebagai bakteri endofit pada bunga kecombrang bersifat spesifik lokasi dan hanya terbatas pada bagian receptaculum. Ketidakhadiran genus ini pada bagian tunas bunga mengindikasikan adanya preferensi habitat atau kondisi lingkungan mikro yang spesifik yang mendukung keberadaan *Paracoccus* hanya pada bagian receptaculum.

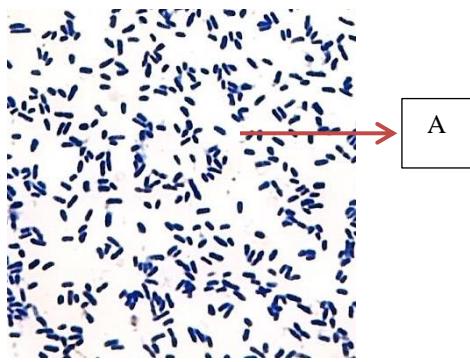
Pada bagian braktea juga tidak ditemukan isolat yang teridentifikasi sebagai genus *Paracoccus*. Distribusi yang terbatas ini memperkuat indikasi bahwa genus *Paracoccus* memiliki preferensi habitat yang sangat spesifik dalam ekosistem endofit

bunga kecombrang. Ketidakhadiran genus ini pada bagian braktea menunjukkan bahwa kondisi fisiokimia atau ketersediaan nutrisi pada bagian ini mungkin tidak sesuai dengan kebutuhan metabolisme *Paracoccus*, atau menunjukkan adanya kompetisi dengan mikroorganisme lain yang lebih dominan pada bagian braktea. Meskipun genus *Paracoccus* belum pernah dilaporkan pada tanaman famili Zingiberaceae, namun habitat alami genus ini yang mencakup lingkungan tanah serta perairan menunjukkan potensi keberadaannya sebagai endofit. Penelitian oleh Zhang *et al.* (2019) menemukan spesies *Paracoccus* yang diisolasi dari jaringan tanaman *Gastrodia elata* Blume menunjukkan bahwa genus *Paracoccus* memang dapat ditemukan sebagai bakteri endofit pada berbagai bagian tanaman, termasuk pada famili Zingiberaceae.

#### 4.8 Genus *Bacillus*

Berdasarkan hasil pengamatan terdapat 4 isolat bakteri yang memiliki kedekatan terhadap genus *Bacillus*, diantaranya pada 2 isolat bakteri yang diperoleh dari bagian tunas bunga bunga kecombrang (TBBK) yaitu TBBK<sub>3</sub> (20) dan (22), serta 2 isolat bakteri yang diperoleh dari bagian receptaculum bunga kecombrang (RBK) yaitu RBK<sub>2</sub> (9) dan RBK<sub>3</sub> (11). Keempat isolat bakteri tersebut diduga memiliki kedekatan dengan genus *Bacillus*. Ciri morfologi dengan elevasi cembung atau datar, penampakan *circular* atau *pinpoint* dan tepi *entire*, *serrated* atau *endulate*. Pada uji biokimia juga menunjukkan hasil positif pada uji katalase dan fermentatif pada jenis gula tertentu seperti glukosa atau sukrosa yang merupakan ciri genus tersebut.

Menurut Holt *et al.* (1994) genus *Bacillus* merupakan kelompok bakteri berbentuk batang (*bacil*) yang bersifat Gram positif dan memiliki kemampuan unik untuk menghasilkan endospora berbentuk oval atau silindris. Bakteri ini dapat hidup dalam kondisi aerobik maupun anaerobik fakultatif, bersifat kemoorganotrof, dan katalase positif. Keberadaan genus *Bacillus* sangat luas di alam, terutama di tanah dan air, yang memungkinkannya mudah masuk ke dalam jaringan tanaman melalui akar dan menyebar ke seluruh bagian tanaman. Pengamatan bentuk dan penataan sel genus *Bacillus* ditunjukkan pada Gambar 16.



Klasifikasi (Whitman *et al.*, 2009):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacilliales
Famili	: Bacilliaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>

**Gambar 16.** Hasil pewarnaan Gram genus *Bacillus* di bawah mikroskop cahaya perbesaran 1000×, A = Bentuk dan penataan sel bakteri (Sumber: Masayu, 2025).

Keberadaan bakteri *Bacillus* pada tunas bunga pada bunga kecombrang dapat dijelaskan melalui kemampuan adaptasi dari genus ini. Kemampuan membentuk endospora memungkinkan *Bacillus* untuk bertahan dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan dan dormansi dalam jaringan tanaman untuk waktu yang lama. Ketika kondisi menjadi sesuai, seperti saat bunga mulai berkembang dan membutuhkan nutrisi lebih banyak, endospora dapat berkecambah dan bakteri menjadi aktif kembali.

Pada bagian braktea tidak ditemukan isolat yang teridentifikasi sebagai genus *Bacillus*. Ketidakhadiran genus ini pada bagian braktea menunjukkan bahwa distribusi *Bacillus* sebagai bakteri endofit pada bunga kecombrang bersifat selektif terhadap bagian-bagian tertentu. Hal ini mengindikasikan bahwa kondisi fisiokimia atau ketersediaan substrat pada braktea mungkin tidak mendukung pertumbuhan dan kolonisasi genus *Bacillus*, atau adanya kompetisi dengan mikroorganisme lain yang lebih dominan pada bagian tersebut. Distribusi yang terbatas ini juga menunjukkan spesialisasi habitat genus *Bacillus* dalam ekosistem endofit bunga kecombrang.

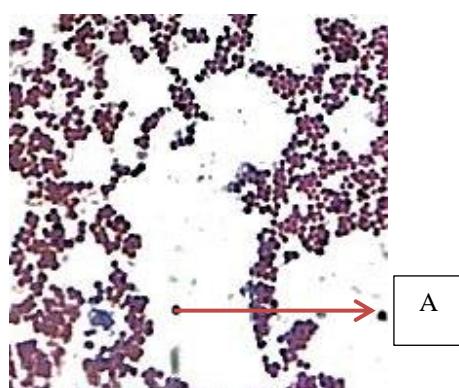
Menurut Chen *et al.* (2014) menyatakan bahwa ada beberapa genus bakteri endofit yang umumnya merupakan bakteri endofit pada tanaman yaitu *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Agrobacterium*. Hal ini didukung oleh penelitian Andreas *et al.* (2023) yang menemukan genus *Bacillus*, *Micrococcus*, *Amphibacillus*, *Pseudomonas* dan *Azotobacter* dari hasil isolasi bakteri endofit tanaman lempuyang wangi (*Zingiber zerumbet* var. *aromaticum* Val.) asal pulau Enggano, Provinsi Bengkulu. Hasil penelitian tersebut menemukan sebanyak 29 isolat yang mendekati genus *Bacillus*, 14 diantaranya merupakan isolat yang diisolasi dari rizom, 8 isolat diisolasi

dari daun dan 7 isolat diisolasi dari batang. Temuan ini menunjukkan bahwa terdapat kemiripan genus bakteri endofit yang hidup pada tanaman-tanaman dari famili Zingiberaceae. Hal tersebut diduga terjadi akibat adanya persamaan sifat-sifat fisiologis dan biokimia yang dimiliki oleh tanaman dari famili Zingiberaceae

#### 4.9 Genus *Enterococcus*

Berdasarkan hasil pengamatan terdapat 6 isolat bakteri yang memiliki kedekatan terhadap genus *Enterococcus*, diantaranya pada 3 isolat bakteri yang diperoleh dari bagian braktea bunga kecombrang (BBK) yaitu BBK<sub>1</sub> (26), (28) dan BBK<sub>2</sub> (29). Pada 2 isolat bakteri yang diperoleh dari bagian tunas bunga bunga kecombrang (TBBK) yaitu TBBK<sub>2</sub> (18) dan TBBK<sub>3</sub> (21). Pada 1 isolat bakteri yang diperoleh dari bagian receptaculum bunga kecombrang (RBK) yaitu RBK<sub>3</sub> (12). Keenam isolat bakteri tersebut diduga memiliki kedekatan dengan genus *Enterococcus*. Ciri morfologi dengan elevasi cembung, penampakan *circular* dan tepi *entire*. Pada uji biokimia juga menunjukkan hasil positif pada uji urea yang merupakan ciri genus tersebut.

Menurut Holt *et al.* (1994) genus bakteri *Enterococcus* memiliki karakteristik morfologi sel berbentuk bulat dengan penataan berpasangan atau rantai pendek pada pewarnaan Gram, berifat motil, dan tergolong anaerob fakultatif. Bakteri ini mampu menghasilkan enzim katalase, memiliki toleransi tinggi terhadap kadar garam hingga 6,5%, dan tersebar luas di berbagai lingkungan termasuk tanah. Kemampuan adaptasi yang tinggi memungkinkan *Enterococcus* berkoloniasi dalam berbagai kondisi lingkungan, termasuk sebagai bakteri endofit pada jaringan tanaman. Pengamatan bentuk dan penataan sel genus *Enterococcus* ditunjukkan pada Gambar 17.



Klasifikasi (Vos *et al.*, 2009):

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Enterococcaceae

Genus : *Enterococcus*

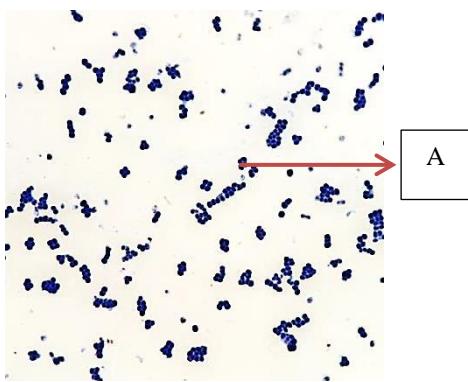
**Gambar 17.** Hasil pewarnaan Gram genus *Enterococcus* di bawah mikroskop cahaya perbesaran 1000x, A = Bentuk dan penataan sel bakteri (Sumber: Masayu, 2025).

Keberadaan bakteri *Enterococcus* pada bunga kecombrang diduga bakteri memiliki sifat toleransi tinggi terhadap garam dan kemampuan anaerob fakultatif yang memungkinkan *Enterococcus* untuk bertahan dalam kondisi osmotik yang bervariasi dalam jaringan bunga. Pada bagian receptaculum, keberadaan *Enterococcus* yang mampu memfermentasi berbagai gula mengindikasikan perannya dalam membantu metabolisme karbohidrat pada struktur yang kaya nutrisi ini. Sementara itu, distribusi pada bagian tunas bunga, dan braktea menunjukkan kemampuan bakteri ini untuk bermigrasi melalui sistem vaskular dan beradaptasi dengan kondisi mikrolingkungan yang berbeda pada setiap organ. Meskipun genus *Enterococcus* belum pernah dilaporkan pada tanaman famili Zingiberaceae, namun habitat alami genus ini yang mencakup tanaman, tanah, dan hewan menunjukkan potensi keberadaannya sebagai endofit. Temuan Ferreira *et al.* (2008) yang berhasil mengisolasi *Enterococcus* dari biji *Eucalyptus* dengan manfaat bagi tanaman inang mengindikasikan bahwa genus ini mampu berperan sebagai endofit menguntungkan.

#### 4.10 Genus *Staphylococcus*

Berdasarkan hasil pengamatan terdapat 1 isolat bakteri yang memiliki kedekatan terhadap genus *Staphylococcus*, diantaranya pada isolat bakteri yang diperoleh dari bagian braktea bunga kecombrang (BBK) yaitu BBK<sub>2</sub> (31). Isolat bakteri tersebut diduga memiliki kedekatan dengan genus *Staphylococcus*. Ciri morfologi dengan elevasi datar, penampakan *circular* dan tepi *entire*. Pada uji biokimia juga menunjukkan hasil positif pada uji katalase, urea dan fermentatif pada ketiga jenis gula yang merupakan ciri genus tersebut.

Menurut Holt *et al.* (1994) genus *Staphylococcus* memiliki karakteristik morfologi berbentuk bulat dengan penataan sel yang dapat berupa tunggal, berpasangan, atau berkelompok seperti buah anggur (*Staphylococcus*). Bakteri ini bersifat Gram positif, non-motil, tidak membentuk spora, dan merupakan anaerob fakultatif yang dapat hidup dengan atau tanpa oksigen. Koloni *Staphylococcus* umumnya berwarna putih atau krem, kadang-kadang kuning hingga jingga, dengan sifat katalase positif dan tumbuh optimal pada suhu 30-37°C. Beberapa spesies dapat ditemukan pada tanaman sebagai bagian mikroflora. Pengamatan bentuk dan penataan sel genus *Staphylococcus* ditunjukkan pada Gambar 18.



Klasifikasi (Whitman *et al.*, 2009):

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

**Gambar 18.** Hasil pewarnaan Gram genus *Staphylococcus* di bawah mikroskop cahaya perbesaran 1000 $\times$ , A = Bentuk dan penataan sel bakteri (Sumber: Masayu, 2025).

Ketidakhadiran genus ini pada receptaculum menunjukkan bahwa kondisi lingkungan mikro pada bagian basal bunga tidak sesuai dengan kebutuhan hidup *Staphylococcus*. Hal ini mungkin berkaitan dengan karakteristik fisikokimia receptaculum yang berbeda, seperti tingkat pH, ketersediaan nutrisi, atau kondisi oksigen yang tidak mendukung pertumbuhan genus *Staphylococcus*. Selain itu, dominasi genus lain seperti *Micrococcus*, *Paracoccus*, dan *Bacillus* pada receptaculum mengindikasikan adanya kompetisi ekologis yang membatasi koloniasi *Staphylococcus* pada bagian ini.

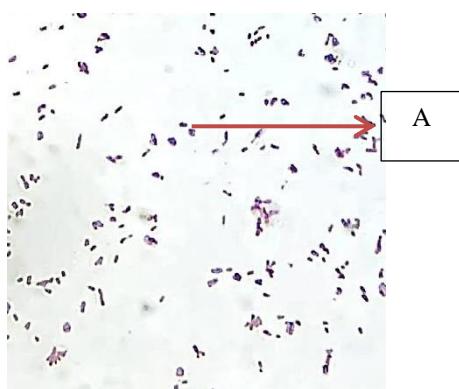
Pada bagian tunas bunga juga tidak ditemukan isolat yang teridentifikasi sebagai genus *Staphylococcus*. Ketidakhadiran genus ini pada tunas bunga menunjukkan bahwa lingkungan mikro petal, sepal, stamen dan pistil pada tunas bunga memiliki kondisi yang tidak optimal untuk pertumbuhan *Staphylococcus*. Kondisi ini mungkin terkait dengan adanya fungsi spesifik organ reproduktif yang memiliki komposisi metabolit sekunder dan lingkungan kimia yang berbeda. Keberadaan genus *Bacillus* dan *Enterococcus* yang dominan pada bagian ini menunjukkan bahwa kedua genus tersebut memiliki kemampuan adaptasi yang lebih baik terhadap kondisi lingkungan tunas bunga dibandingkan dengan *Staphylococcus*.

Keberadaan *Staphylococcus* yang hanya ditemukan pada bagian braktea dapat dijelaskan melalui kondisi lingkungan khusus yang dimiliki oleh organ ini. Braktea atau daun pelindung bunga merupakan bagian yang paling terekspos terhadap lingkungan luar dan berperan penting dalam menarik polinator melalui warna dan aroma. Kondisi ini menciptakan mikrolingkungan yang berbeda dari organ bunga lainnya, dengan paparan cahaya yang lebih tinggi, dan interaksi langsung dengan

udara luar. *Staphylococcus* yang memiliki toleransi terhadap variasi suhu (30-37 °C) dan kemampuan untuk hidup dalam kondisi aerobik maupun anaerobik sangat cocok dengan kondisi petalum yang mengalami perubahan kadar oksigen sepanjang hari akibat aktivitas fotosintesis dan respirasi. Meskipun belum ditemukan penelitian spesifik yang mengidentifikasi *Staphylococcus* sebagai bakteri endofit pada famili *Zingiberaceae*. Namun, penelitian Hardoim *et al.* (2015) menemukan genus *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Chryseobacterium*, *Staphylococcus*, dan *Curtobacterium*, yang diduga sebagai *plant growth-promoting bacteria*. Penelitian tersebut membuktikan bahwa *Staphylococcus* memiliki kemampuan untuk hidup pada tanaman dan berpotensi memberikan manfaat bagi pertumbuhan tanaman inangnya.

#### 4.11 Genus *Microbacterium*

Berdasarkan hasil pengamatan terdapat 1 isolat bakteri yang memiliki kedekatan terhadap genus *Microbacterium*, yaitu isolat bakteri bagian braktea bunga kecombrang BBK<sub>3</sub> (35). Isolat bakteri tersebut diduga memiliki kedekatan dengan genus *Microbacterium*. Ciri morfologi dengan elevasi cembung, penampakan *circular* dan tepi *entire*. Pada uji biokimia juga menunjukkan hasil positif pada uji katalase, urea yang merupakan ciri genus tersebut. Menurut Holt *et al.* (1994) genus *Microbacterium* berbentuk ramping dan tidak beraturan, tersusun tunggal atau berpasangan, Gram positif, tidak berspora, non-motil, aerobik, berpigmen kekuningan, fermentasi lemah, katalase positif, tumbuh pada suhu 30 °C. Ditemukan pada hewan dan beberapa pada tumbuhan. Pengamatan bentuk dan penataan sel genus *Microbacterium* ditunjukkan pada Gambar 19.



Klasifikasi (Whitman *et al.*, 2009):

Kingdom : Bacteria

Filum : Actinobacteria

Kelas : Actinobacteria

Ordo : Micrococcales

Famili : Microbacteriaceae

Genus : *Microbacterium*

**Gambar 19.** Hasil pewarnaan Gram genus *Microbacterium* di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000×, A = Bentuk dan penataan sel bakteri (Sumber: Masayu, 2025).

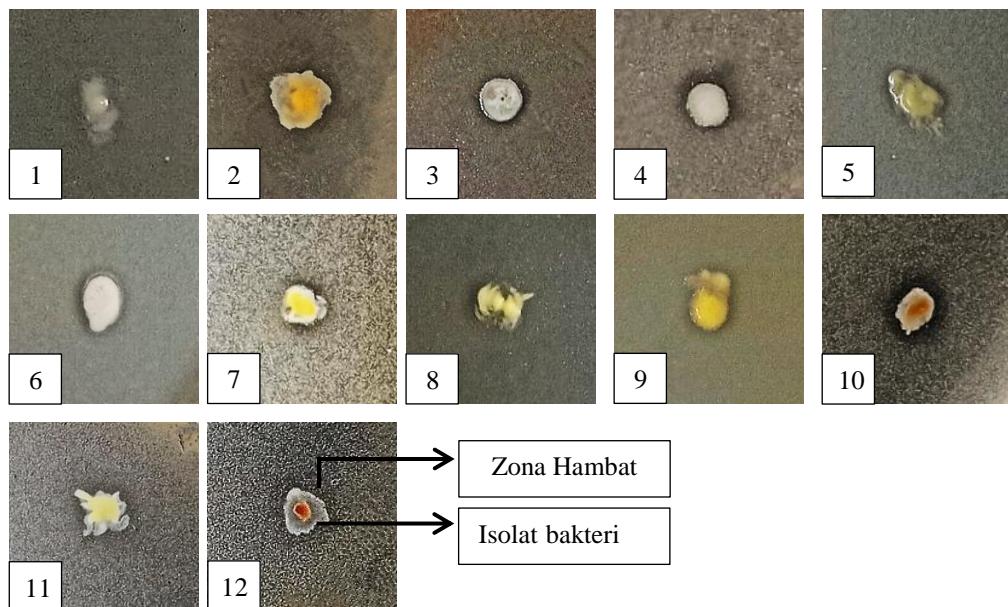
Ketidakhadiran genus ini pada receptaculum menunjukkan bahwa kondisi lingkungan mikro pada bagian basal bunga tidak mendukung kolonisasi dan pertumbuhan *Microbacterium*. Hal ini mungkin berkaitan dengan karakteristik fisikokimia bagian receptaculum yang tidak sesuai dengan kebutuhan metabolisme genus *Microbacterium*, seperti ketersediaan substrat sukrosa yang terbatas atau kondisi pH dan kelembaban yang tidak optimal. Dominasi genus lain seperti *Micrococcus*, *Paracoccus*, dan *Bacillus* pada receptaculum mengindikasikan bahwa genus-genus tersebut memiliki keunggulan kompetitif dalam memanfaatkan sumber daya yang ada pada bagian ini.

Pada bagian tunas bunga juga tidak ditemukan isolat yang teridentifikasi sebagai genus *Microbacterium*. Ketidakhadiran genus ini pada jaringan ini menunjukkan bahwa lingkungan mikro bagian sepal, petal, stamen dan pistilum memiliki kondisi yang tidak sesuai dengan kebutuhan hidup *Microbacterium*. Kondisi ini mungkin terkait dengan komposisi kimia spesifik dari adanya organ reproduktif yang berbeda, ketersediaan sukrosa yang rendah, atau adanya senyawa antimikrob yang menghambat pertumbuhan genus ini. Keberadaan genus *Bacillus* dan *Enterococcus* yang dominan pada tunas bunga menunjukkan bahwa kedua genus tersebut memiliki adaptasi yang lebih baik terhadap kondisi lingkungan organ reproduktif dibandingkan dengan *Microbacterium*.

Bakteri *Microbacterium* ditemukan pada braktea bunga kecombrang karena sifatnya sebagai bakteri endofit yang mampu beradaptasi di jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan yang memungkinkannya hidup di lingkungan kaya nutrisi seperti braktea yang mengandung gula dan senyawa organik. Braktea bunga kecombrang, sebagai bagian tanaman yang aktif secara metabolik, menyediakan lingkungan ideal bagi *Microbacterium* untuk berkembang, terutama karena kemampuannya menghasilkan enzim seperti katalase dan urease yang mendukung ketahanan terhadap stres lingkungan dan interaksi simbiosis dengan tanaman. Hal ini sesuai dengan Santoyo *et al.* (2016) bahwa ada beberapa genus bakteri yang umumnya merupakan bakteri endofit pada tanaman yaitu *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Micrococcus*, *Pantoea* dan *Microbacterium*.

#### **4.12 Uji Antagonis Kultur Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri Uji *Bacillus cereus* GTK12**

Uji antagonis menggunakan kultur bakteri endofit dilakukan dengan mengkultur tiga puluh lima isolat bakteri yang diperoleh dari bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang. Isolat bakteri endofit diujikan terhadap bakteri patogen *Bacillus cereus* GTK12. Hasil uji antagonis didapatkan 12 kultur isolat bakteri endofit potensial yang dapat dilihat pada Gambar 20.



**Gambar 20.** Uji antagonis kultur isolat bakteri endofit bunga kecombrang terhadap *Bacillus cereus* GTK12 yang diinkubasi pada media TSA selama 48 jam pada suhu 30°C; 1 (RBK<sub>1</sub> 2), 2 (RBK<sub>1</sub> 5), 3 (RBK<sub>2</sub> 9), 4 (RBK<sub>2</sub> 10), 5 (RBK<sub>3</sub> 11), 6 (RBK<sub>3</sub> 13), 7 (TBBK<sub>2</sub> 19), 8 (TBBK<sub>3</sub> 21), 9 (BBK<sub>1</sub> 23), 10 (BBK<sub>2</sub> 30), 11 (BBK<sub>3</sub> 33), 12 (BBK<sub>3</sub> 34) (Sumber: Masayu, 2025).

Dari hasil uji antagonis terhadap ke dua belas isolat potensial bakteri endofit yang diperoleh dari bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang kemudian dilanjutkan dengan dihitung nilai zona hambatnya untuk melihat nilai kemampuan penghambatan dari bakteri endofit pada setiap bagian terhadap bakteri uji *Bacillus cereus* GTK12. Hasil perhitungan zona hambat dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil perhitungan zona hambat dua belas kultur isolat potensial bakteri endofit bunga kecombrang terhadap *Bacillus cereus* GTK12 menggunakan kultur, pelet dan supernatan.

Kode Isolat	Hasil Uji Antagonis	Diameter aktivitas zona hambat (mm) ± SD		
		Kultur	Pelet	Supernatan
RBK <sub>1</sub> 1	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
RBK <sub>1</sub> 2	+	1,65 ± 0,15	3,00 ± 0,60	0,00 ± 0,00
RBK <sub>1</sub> 3	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
RBK <sub>1</sub> 4	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
RBK <sub>1</sub> 5	+	1,65 ± 0,15	2,60 ± 0,40	4,25 ± 0,25
RBK <sub>2</sub> 6	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
RBK <sub>2</sub> 7	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
RBK <sub>2</sub> 8	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
RBK <sub>2</sub> 9	+	3,60 ± 0,20	0,00 ± 0,00	1,70 ± 0,20
RBK <sub>2</sub> 10	+	2,80 ± 0,40	3,20 ± 0,10	1,50 ± 0,40
RBK <sub>3</sub> 11	+	2,05 ± 0,25	2,00 ± 0,40	0,00 ± 0,00
RBK <sub>3</sub> 12	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
RBK <sub>3</sub> 13	+	2,00 ± 0,20	3,20 ± 1,30	1,50 ± 0,05
RBK <sub>3</sub> 14	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
TBBK <sub>1</sub> 15	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
TBBK <sub>1</sub> 16	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
TBBK <sub>1</sub> 17	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
TBBK <sub>2</sub> 18	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
TBBK <sub>2</sub> 19	+	2,30 ± 0,05	2,75 ± 2,15	3,60 ± 0,10
TBBK <sub>3</sub> 20	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
TBBK <sub>3</sub> 21	+	2,10 ± 0,30	0,00 ± 0,00	2,25 ± 0,25
TBBK <sub>3</sub> 22	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>1</sub> 23	+	1,30 ± 0,05	3,45 ± 1,15	0,00 ± 0,00
BBK <sub>1</sub> 24	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>1</sub> 25	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>1</sub> 26	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>1</sub> 27	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>1</sub> 28	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>2</sub> 29	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>2</sub> 30	+	3,50 ± 0,20	4,70 ± 0,50	0,00 ± 0,00
BBK <sub>2</sub> 31	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>3</sub> 32	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
BBK <sub>3</sub> 33	+	1,95 ± 0,15	3,10 ± 1,50	0,00 ± 0,00
BBK <sub>3</sub> 34	+	1,35 ± 0,15	0,55 ± 0,05	2,95 ± 0,15
BBK <sub>3</sub> 35	–	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Keterangan: RBK (Receptaculum Bunga Kecombrang), TBBK (Tunas Bunga Bunga Kecombrang), BBK (Braktea Bunga Kecombrang), <sub>1,2,3</sub>= Ulangan 1, 2, 3, 1-35 (urutan isolat), (+)= Menghambat, (-)= Tidak Menghambat dan SD (Standar Deviasi).

Berdasarkan hasil pengujian antagonis bakteri endofit bunga kecombrang terhadap *Bacillus cereus* GTK12 pada Tabel 5, diperoleh kemampuan penghambatan terbaik

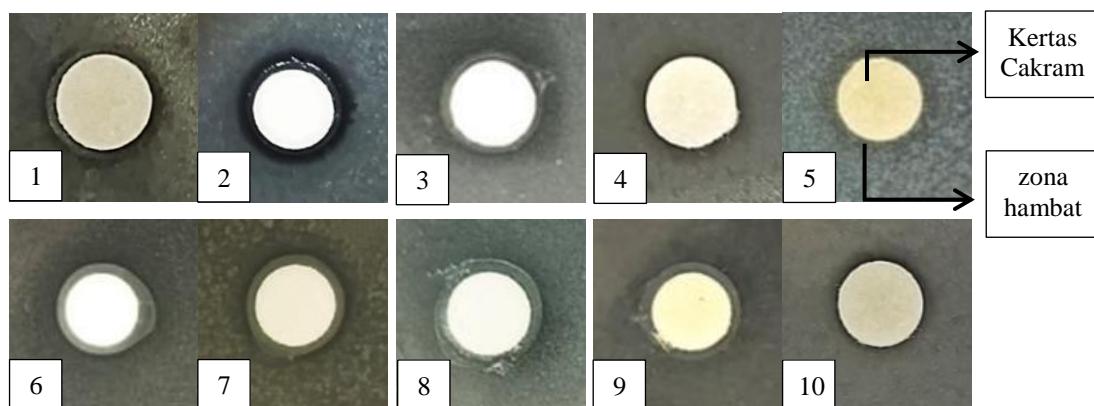
dihadirkan isolat bakteri endofit yang diperoleh dari receptaculum bunga kecombrang (RBK) yaitu RBK<sub>2</sub> (9) dengan nilai zona hambat sebesar 3,60 mm yang dikategorikan lemah namun masih menunjukkan aktivitas antibakteri. Sedangkan kemampuan aktivitas penghambatan yang terkecil dihasilkan isolat bakteri endofit yang diperoleh dari braktea bunga kecombrang (BBK) yaitu BBK<sub>1</sub> (23) dengan nilai zona hambat sebesar 1,30 mm, juga dikategorikan lemah namun masih menunjukkan aktivitas antibakteri.

Temuan ini didukung oleh penelitian Wibowo *et al.* (2024) yang mengeksplorasi potensi antimikroba bakteri endofit dari jahe wangi (Lempuyang Wangi) di Pulau Enggano. Studi tersebut berhasil mengidentifikasi lima spesies bakteri endofit jahe wangi dengan aktivitas antimikroba terbaik yang mampu menginhibisi empat jenis mikroba patogen melalui pengujian kultur, supernatan, dan pelet bakteri. Sejalan dengan hal tersebut, Fallo *et al.* (2019) dalam penelitiannya tentang eksplorasi bakteri endofit dari jahe (*Zingiber officinale* var) asal Pulau Timor berhasil mengisolasi 14 isolat yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri, dengan distribusi 6 isolat berasal dari daun dan 8 isolat dari rimpang jahe. Aktivitas antagonis menunjukkan bahwa 3 isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dengan kemampuan terbaik dari isolat JMKBD3 yang menghasilkan zona hambat berdiameter 2,66 mm. Perbandingan antara hasil penelitian ini dengan penelitian tersebut, mengonfirmasi bahwa aktivitas antimikroba bakteri endofit yang ditemukan pada bunga kecombrang sejalan dengan karakteristik umum potensi antimikroba yang secara konsisten dimiliki oleh anggota famili *Zingiberaceae*.

Isolat bakteri endofit bunga kecombrang yang menghambat, dilanjutkan dengan uji aktivitas antimikrob menggunakan pelet dan supernatan yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan produksi senyawa bioaktif yang dihasilkan dari setiap masing-masing isolat. Kemampuan isolat menghasilkan senyawa bioaktif ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram. Pelet dan supernatan diperoleh dari hasil sentrifugasi. Pelet adalah hasil sentrifugasi dengan bobot jenis lebih tinggi daripada supernatan yang posisinya terletak dibagian dasar dari tabung sentrifugasi. Sedangkan supernatan adalah hasil sentrifugasi dengan bobot jenis lebih rendah daripada pelet (Naufal *et al.*, 2017).

#### 4.13 Uji Antibakteri Menggunakan Pelet Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap *Bacillus cereus* GTK12

Berdasarkan hasil uji pelet isolat bakteri endofit bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang yang dikultur selama 1x24 jam, menghasilkan zona hambat dapat dilihat pada Gambar 21.



**Gambar 21.** Uji antibakteri menggunakan pelet bakteri endofit terhadap patogen *Bacillus cereus* GTK12 yang diinkubasi pada media TSA pada suhu 30 °C selama 48 jam; 1 (RBK<sub>1</sub> 2), 2 (RBK<sub>1</sub> 5), 3 (RBK<sub>2</sub> 10), 4 (RBK<sub>3</sub> 11), 5 (RBK<sub>3</sub> 13), 6 (TBBK<sub>2</sub> 19), 7 (BBK<sub>1</sub> 23), 8 (BBK<sub>2</sub> 30), 9 (BBK<sub>3</sub> 33), 10 (BBK<sub>3</sub> 34) (Sumber: Masayu, 2025).

Berdasarkan hasil uji pelet isolat bakteri endofit pada Tabel 5, isolat bakteri endofit yang diperoleh dari bagian receptaculum bunga kecombrang menunjukkan kemampuan terbaik dalam menghambat *Bacillus cereus* GTK12 dengan aktivitas antibakteri yang paling optimal. Hasil uji pelet bakteri endofit dari bagian receptaculum menunjukkan 5 isolat menghambat yaitu RBK<sub>1</sub> (2), (5); RBK<sub>2</sub> (10) dan RBK<sub>3</sub> (11) dan (13). Nilai penghambatan terbesar pada isolat RBK<sub>2</sub> (10) dan RBK<sub>3</sub> (13) dengan nilai zona hambat 3,20 mm. Sedangkan nilai penghambatan terkecil ditunjukkan pada isolat RBK<sub>3</sub> (11) dengan nilai zona hambat 2,00 mm. Tingginya aktivitas antibakteri pada bagian receptaculum diduga karena receptaculum merupakan bagian bunga yang berperan sebagai tempat melekatnya organ reproduksi dan memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih tinggi untuk melindungi struktur reproduktif dari patogen.

Bagian tunas bunga menunjukkan aktivitas antibakteri yang relatif rendah dibandingkan bagian lainnya. Hanya satu isolat TBBK<sub>2</sub> (19) yang mampu menghambat *Bacillus cereus* GTK12 dengan zona hambat 2,75 mm. Rendahnya aktivitas antibakteri pada bagian ini kemungkinan disebabkan karena karakteristik metabolit yang dihasilkan kurang efektif terhadap bakteri uji. Struktur tunas bunga

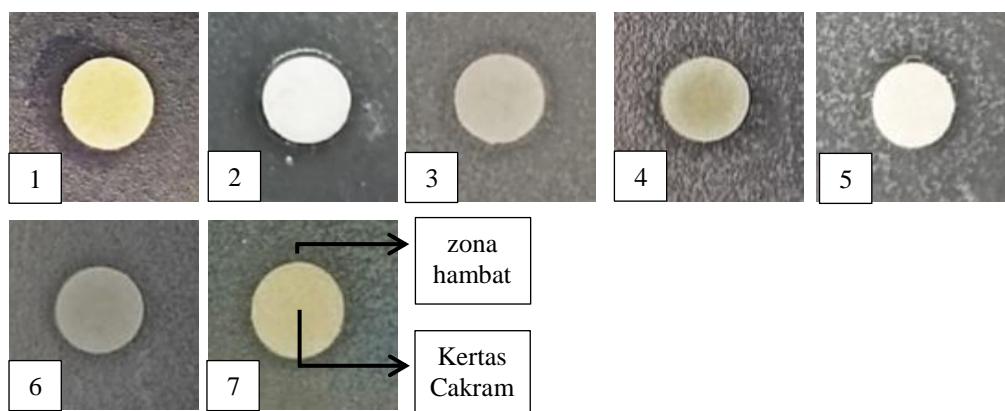
yang terdiri atas sepal, petal, stamen, dan pistilum mengindikasikan bahwa keberadaan organ reproduksi seperti stamen dan pistilum kemungkinan memiliki komunitas bakteri endofit yang lebih selektif dan terbatas secara kuantitas, yang berdampak pada rendahnya keragaman senyawa metabolit antibakteri yang diproduksi dibandingkan dengan organ vegetatif lainnya pada tanaman.

Sedangkan isolat bakteri endofit yang diperoleh dari bagian braktea bunga kecombrang menunjukkan kemampuan yang cukup signifikan dalam menghambat *Bacillus cereus* GTK12. Hasil uji pelet menunjukkan 4 isolat mampu menghambat bakteri uji yaitu BBK<sub>1</sub> (23); BBK<sub>2</sub> (30); BBK<sub>3</sub> (33) dan (34) dengan nilai zona hambat terbesar pada BBK<sub>2</sub> (30) yaitu 2,75 mm dan nilai zona hambat terkecil pada isolat BBK<sub>3</sub> (34) yaitu 0,55 mm. Braktea atau daun pelindung memiliki fungsi menarik polinator dan melindungi terhadap organ reproduksi yang terdapat dalam tunas bunga, sehingga diperkirakan mengandung berbagai senyawa bioaktif yang diversitasnya cukup tinggi. Kolonisasi bakteri endofit pada braktea diduga berkontribusi dalam proses biosintesis metabolit antimikroba yang berfungsi sebagai sistem pertahanan alami bunga terhadap serangan mikroorganisme patogen, walaupun efektivitasnya masih berada di bawah aktivitas yang ditunjukkan oleh receptaculum.

Ketidakmampuan isolat RBK<sub>2</sub> (9) dan TBBK<sub>2</sub> (19) dalam menghasilkan zona hambat dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti isolat tersebut mungkin tidak memproduksi senyawa antibakteri yang efektif terhadap *Bacillus cereus* GTK12, atau senyawa yang dihasilkan memiliki spektrum aktivitas yang terbatas dan tidak sesuai dengan bakteri target. Hal ini sesuai dengan Sinurat *et al.* (2019) bahwa terbentuknya zona hambat ditandai dengan zona bening di sekitar cakram yang disebabkan oleh adanya aktivitas antibakteri, sehingga ketidadaan zona hambat mengindikasikan tidak adanya aktivitas antibakteri yang signifikan dari isolat tersebut. Hal ini didukung Wigunarti *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa adanya aktivitas antibakteri terlihat dengan adanya zona bening yang terdapat di sekeliling kertas cakram pada media pertumbuhan, semakin besar zona bening yang terbentuk, semakin besar potensi dari isolat bakteri endofit sebagai antibakteri. Mekanisme penghambatan ini dapat berupa bakterisida yang menyebabkan kematian bakteri atau bakteriostatik yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri.

#### 4.14 Uji Antibakteri Menggunakan Supernatan Isolat Bakteri Endofit Bunga Kecombrang Terhadap *Bacillus cereus* GTK12

Berdasarkan hasil uji supernatan didapatkan 7 isolat menghambat *Bacillus cereus* GTK12. Hasil aktivitas antimikrob isolat bakteri endofit dari bagian receptaculum, tunas bunga dan braktea bunga kecombrang yang dikultur selama 1x24 jam, zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 22.



**Gambar 22.** Uji antibakteri menggunakan supernatan bakteri endofit terhadap patogen *Bacillus cereus* GTK12, yang diinkubasi pada media TSA pada suhu 30 °C selama 48 jam; 1 (RBK<sub>1</sub> 5), 2 (RBK<sub>2</sub> 9), 3 (RBK<sub>2</sub> 10), 4 (RBK<sub>3</sub> 13), 5 (TBBK<sub>2</sub> 19), 6 (TBBK<sub>3</sub> 30), 7 (BBK<sub>3</sub> 34) (Sumber: Masayu, 2025).

Berdasarkan hasil uji supernatan isolat bakteri endofit pada Tabel 5, isolat bakteri endofit yang diperoleh dari bagian receptaculum bunga kecombrang menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling optimal terhadap *Bacillus cereus* GTK12. Hasil uji supernatan bakteri endofit dari bagian receptaculum menunjukkan 4 isolat yang menghambat yaitu RBK<sub>1</sub> (2), (5); RBK<sub>2</sub> (9); dan RBK<sub>3</sub> (11) dan (13). Aktivitas penghambatan terbesar ditunjukkan isolat RBK<sub>1</sub> (5) dengan nilai zona hambat sebesar 4,25 mm dan nilai terkecil pada isolat RBK<sub>2</sub> (10) dan RBK<sub>3</sub> (13) dengan nilai zona hambat yaitu 1,50 mm. Tingginya aktivitas antibakteri pada supernatan mengindikasikan bahwa bakteri endofit menghasilkan senyawa metabolit seperti jaringan receptaculum.

Bagian tunas bunga menunjukkan peningkatan aktivitas antibakteri yang signifikan pada uji supernatan dibandingkan uji pelet. Hasil menunjukkan kedua isolat yang menghambat yaitu TBBK<sub>2</sub> (19); dan TBBK<sub>3</sub> (21). Aktivitas penghambatan terbesar pada isolat TBBK<sub>2</sub> (19) dengan nilai zona hambat sebesar 3,60 mm dan nilai terkecil pada isolat TBBK<sub>3</sub> (21) dengan nilai zona hambat 2,25

mm. Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri endofit menghasilkan senyawa antibakteri melalui produksi senyawa metabolit.

Isolat bakteri endofit dari bagian braktea menunjukkan aktivitas antibakteri yang terbatas pada uji supernatan, hanya satu isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri dalam uji supernatan, yaitu isolat BBK<sub>3</sub> (34) dengan nilai zona hambat 2,95 mm. Rendahnya jumlah isolat aktif pada braktea dibandingkan receptaculum menunjukkan bahwa bakteri endofit pada braktea memiliki kapasitas yang lebih terbatas dalam mensekresi metabolit antibakteri ekstraseluler.

Ketidakmampuan isolat RBK<sub>1</sub> (2); RBK<sub>3</sub> (11); BBK<sub>1</sub> (23); BBK<sub>2</sub> (30) dan BBK<sub>3</sub> (32) dalam menghasilkan zona hambat dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti isolat tersebut mungkin tidak memproduksi senyawa antibakteri yang efektif terhadap *Bacillus cereus* GTK12, atau senyawa yang dihasilkan memiliki spektrum aktivitas yang terbatas dan tidak sesuai dengan bakteri target. Hal ini sejalan dengan penjelasan Sinurat *et al.* (2019) bahwa terbentuknya zona hambat ditandai dengan zona bening di sekitar cakram yang disebabkan oleh adanya aktivitas antibakteri, sehingga ketiadaan zona hambat mengindikasikan tidak adanya aktivitas antibakteri yang signifikan dari isolat tersebut.

Hal ini sesuai dengan Wigunarti *et al.* (2019) yang menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri dapat diamati melalui pembentukan zona bening di sekitar kertas cakram pada media pertumbuhan bakteri. Diameter zona bening yang terbentuk berbanding lurus dengan potensi antibakteri dari isolat bakteri endofit yang diuji, artinya semakin luas zona bening yang dihasilkan, semakin kuat aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh isolat tersebut. Zona bening atau yang lebih dikenal dengan istilah zona hambat ini berfungsi sebagai indikator paling penting untuk menunjukkan sejauh mana kemampuan senyawa aktif dalam menghentikan atau memperlambat pertumbuhan bakteri berbahaya. Proses terbentuknya zona hambat ini dimulai ketika senyawa antibakteri yang diproduksi oleh bakteri endofit mulai menyebar atau berdifusi ke seluruh permukaan medium agar. Penyebaran ini menciptakan gradien konsentrasi senyawa antibakteri, dimana konsentrasi tertinggi berada di dekat sumber (kertas cakram) dan semakin menurun seiring dengan bertambahnya jarak.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) berhasil dilakukan dengan memperoleh 35 isolat yang terdistribusi pada receptaculum (14 isolat), tunas bunga (8 isolat), dan braktea (13 isolat). Karakterisasi menunjukkan dominasi bakteri Gram positif (34 isolat) dengan bentuk kokus (30 isolat) dan basil (5 isolat), teridentifikasi 6 genus yaitu *Micrococcus*, *Paracoccus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, dan *Microbacterium*
2. Bakteri endofit dari bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* GTK12, dengan 12 isolat menunjukkan aktivitas penghambatan uji kultur, 10 isolat pada pengujian pelet, dan 7 isolat pada supernatan. Aktivitas penghambatan terbaik ditunjukkan isolat bakteri yang berasal dari braktea yaitu BBK<sub>2</sub> (30) dengan zona hambat 4,70 mm (pelet) dan isolat dari receptaculum yaitu RBK<sub>1</sub> (5) dengan zona hambat 4,25 mm (supernatan). Meskipun dalam kategori lemah, aktivitas ini menunjukkan bahwa bakteri endofit bunga kecombrang memiliki kemampuan sebagai antimikrob alami terhadap *Bacillus cereus* GTK12.

#### **5.2 Saran**

Adapun saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah perlunya dilakukan identifikasi lanjutan menggunakan sekuensing gen 16S rRNA untuk mengkonfirmasi identitas bakteri endofit yang terdapat pada bunga kecombrang hingga tingkat spesies, mengingat identifikasi yang dilakukan hanya mencapai tingkat genus.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abreu, J. T. L., Cordeiro, M. H. M., Neves, L. S. D., Caetano, A. P. D. S., and Silva, C. A. (2023). Simultaneous movement of style and stamen set during anthesis in *Etlingera elatior* (Zingiberaceae). *Rodriguesia* Vol. 74. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202374031>
- Agustine, L., Yenni, O., dan Jumiyati. (2018). Identifikasi Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Yoghurt Dengan Variasi Sukrosa Dan Susu. *Jurnal Dunia Gizi* Vol. 1(2): 79-83.
- Aleklett, K., Rosa, D., Pickles, B. J., and Hart, M. M. (2021). Community Assembly and Stability in the Root Microbiota During Early Plant Development. *Frontiers in Microbiology* Vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.826521>.
- Andreas, A. F., Wibowo, R. H., Darwis, H., Sipriyadi., Supriati, R., Hidayah, T., and Supriyanto, A. P. (2021). Isolation and Identification of Endophytic Bacteria in Lempuyang Wangi (*Zingiber zerumbeth* var. *Aromaticum* Val.) From Enggano Island, Bengkulu Province. *IP Conf. Proc.* 4 January 2023; 2606 (1): 050007. <https://doi.org/10.1063/5.0118435>.
- Anggraini, R., dan Mellisa, S. (2016). Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Yang Dibudidayakan Di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Dan Perikanan Unsyiah* Vol. 1(2): 270–286.
- Aqlinia, M., Pujiyanto, S., dan Wijanarka. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Uji Antibakteri Supernatan Crude Metabolit Sekunder Isolat Potensial Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Akademika Biologi* Vol. 9(1): 23-31.
- Arviani., Daryanti, E. P., Krisnawati, M., Bialangi, N., Larasati, D., dan Najmah. (2024). *Famili Zingiberaceae Mengungkap Potensi Metabolit Sekunder dan Bioaktivitas dalam Rempah Indonesia*. Sumatera Barat. PT Mafy Media Literasi Indonesia.
- Azzahra, S. C., Effendy, Y., dan Slamet, S. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) Asal Tanah Desa Akar-Akar, Lombok Utara. *Jurnal AL-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi* Vol. 6(2) : 70-75.

- Bacon, C. W., and Hinton, D. M. (2006). *Bacterial Endophytes: The Endophytic Niche, its Occupants, and its Utility*. In *plant-associated Bacteria*. Netherlands. Springer.
- Bastian., Trianes, J., Ulva, M., Amelia., dan Prayoga, A. (2023). *Pengetahuan Media Pertumbuhan Bakteri Bagi Mahasiswa TLM*. Jakarta. PT Yapindo Jaya Abadi.
- Benson. (2001). *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology. Eight Edision*. New York. The McGraw-Hill.
- Bimantara, R., Purwaningsih, D., dan Indrayanti, A. (2022). Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Fibrinolitik Bakteri *Bacillus cereus* yang Diisolasi dari Air Hutan Mangrove Maroon Edupark Semarang secara In Vitro. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 19(1): 110-122.
- Bottone, E. J. (2010). *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* Vol. 23(2010): 382-398.
- Cappuccino, J. G., dan Sherman, N. (2013). *Manual Laboratorium Mikrobiologi Edisi 8*. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGCC.
- Cappuccino, J. G., and Welsh, C. (2018). *Microbiology: A Laboratory Manual .Eleventh Edition*. Malaysia. Pearson.
- Chen, T., Chen, Z., Ma, G. H., Du, B. H., Shen, B., Ding, Y. Q., and Xu, K. (2014). Diversity and Potential Application of Endophytic Bacteria in Ginger. *Genetics and Molecular Research* Vol. 13(3): 4918-4931.
- Davis, W. W., and Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiological*, 22(4) : 666-670 In 18 Ouchari, L., Amal, B., Brahim, B. dan Yedir, O. (2019). Antimicrobial Potential of Actinomycetes Isolated from The Unexplored Hot Merzouga Desert.
- Dwidjoseputro, D. (1980). *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta. Gramedia.
- Eid, A. M., Fouada, A., Rahman, M. A. A., Salem, S. S., Elsaied, A., Oelmuller, R., Hijri, M., Bhowmik, A., Elkelish, A., and Hassan, S. E. D. (2021). Harnessing Bacterial Endophytes for Promotion of Plant Growth and Biotechnological Applications: An Overview. *Journal of Plants* Vol. 10(5): 935.
- Fahani, A., Dwiyanti, R. D., dan Muhlisin, A. (2019). Contamination of *Bacillus cereus* in Elementary School Snack Food. *Journal of Tropical Health and Medical Research* Vol. 1(2): 56-61.

- Fallo, G., Sine, Y., dan Pardosi, L. (2019). Eksplorasi Bakteri Endofit dari Jahe Merah (*Zingiber officinale* var . Rubrum ) Asal Pulau Timor. *Jurnal Saintek Lahan Kering* Vol.2(2622): 36-38.
- Ferreira, A., Quecine, M. C., Lacava, P. T., Oda, S., Azevedo, J. L., dan Araujo, W. L. (2008). Keanekaragaman bakteri endofit dari benih spesies Eucalyptus dan kolonisasi bibit oleh *Pantoea agglomerans*. *Surat Mikrobiologi FEMS* Vol. 287(1): 8–14,
- Giambiagi-Marval, M., Mafra, M. A., Penido, E. G., and Bastos, M. C. (1990). Distinct Groups of Plasmids Correlated with Bacteriocin Production in *Staphylococcus aureus*. *Journal General Microbiology* Vol. 136(8): 1591-1599.
- Hadioetomo, R. S. (1990). *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur dasar Laboratorium*. Jakarta. PT. Gramedia.
- Hardoim, P. R., Overbeek, L. S. V., Berg, G., Pirttila, A. M., Compant, S., Campisano, A., Doring, M., and Sessitsche, A. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* Vol. 79(3): 293-320.
- Harmilene., Saragih, G., Hidayani, T. R., Mirnanandaulia, M., Gintingm C. N., dan Fachrial, E. (2023). *Mikroba Endofit Dalam Dunia Kesehatan : Manfaat Dan Aplikasi*. Medan. UNPRI Press.
- Hayu, R. E. (2018). Kontaminasi Bakteri *Staphylococcus* sp Pada Kejadian Luar Biasa Keracunan Makanan di Dusun Sawangan Kabupaten Magelang Jawa Tengah Indonesia. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat* Vol. 7(2): 22-32.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., and Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition*. USA. Lippincott Williams and Wilkins.
- Jawetz., Melnick., and Adelberg. (2016). *Mikrobiologi Medis, Edisi Kedua Puluh Tujuh* . New York. McGraw-Hill Education.
- Jovanovic, J., Ornelis, V. F. M., and Madder, A. (2021). *Bacillus cereus* Food Intoxication and Toxicoinfection. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. DOI: 10.1111/1541-4337.12785.

- Kandel, S. L., Joubert, P. M., and Doty, S. L. (2017). Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Microorganisms journal* Vol. 5(77): 1-26.
- Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikrob di Laboratorium*. Jakarta. PT. Raja Grafindo.
- Lianah. (2020). *Biodiversitas Zingiberaceae Mijen Kota Semarang*. Yogyakarta. Deepublish CV. Budi Utama.
- Lock, M. (1985). *Flora of Tropical East Africa: Zingiberaceae/ by J. M. Lock*. Netherlands. East African Governments by Balkema.
- Mahbubani, S., and Vani, G. S. (2024). Isolation and Identification of *Bacillus cereus* from Cooked Rice at Refrigerated and Unrefrigerated Conditions. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (JETIR)* Vol. 11(10): 752-762.
- Marchesi, J. R., Sato, T., Weightman, A. J., Martin, T. A., Fry, J. C., Hiom, S. J., and Wade, W. G. (1998). Design and Evaluation of Useful Bacterium-Specific PCR Primers That Amplify Genes Coding for Bacterial 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 64(2): 795-799.
- Masayu, A., Ardiansyah, R., Rahmadani, N. F., Anggraeni, R. F., dan Thalib, N. M. (2024). Efikasi Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) Terhadap Perubahan *Microbial Community* Dalam Pengembangan *Natural Addictive Substance* Pada Gulai. Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Muchtadi, T. R. (2001). *Teknologi Proses Pengolahan Pangan*. Bogor. Institut Pertanian Bogor Press.
- Mustika, S. (2019). *Keracunan Makanan: Cegah, Kenali, Atasi*. Malang. UB Press.
- Nasution, P., Marpaung, J. K., Suharyanisa., dan Sitanggang, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi*. *Jurnal Farmanesia* Vol. 9(1):54-60.
- Natali, O., Tarigan, A. I., Sarumpaet, E., Salim, S., Dewani, Y., Hanida, W., dan Yensuari. (2021). Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus*. *Prima Medika Sains* Vol. 3(1): 29-33.
- Naufal, A., Kusdiyantini, E., dan Raharjo, B. (2017). Identifikasi Jenis Pigmen Dan Uji Potensi Antioksidan Ekstrak Pigmen Bakteri *Serratia Marcescens* Hasil Isolasi Dari Sedimen Sumber Air Panas Gedong Songo. *Jurnal Bioma* Vol. 19(2): 1-9.

- Nguyen, A. T., and Tallent, S. M. (2019). Screening Food for *Bacillus cereus* Toxins Using Whole Genome Sequencing. *Journal Food Microbiology* Vol. 78(2019): 164-170.
- Nugroho, L. B. A., Pranata, S., dan Purwijantiningsih, L. M. E. (2022). Biopreservasi Santan Kelapa (*Cocos nucifera* L.) Dengan Serbuk Bakteriosin Dari *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* Vol. 7(2):160-171.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., dan Hidayatulloh, A. (2020). Comparison of the Antibacterial Activity of Yogurt Starter with Disk Diffusion Agar and Well Difussion Agar Methods. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan* Vol. 1(2): 41-46.
- POWO. (2024). "Plants of the World Online". Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. <https://powo.science.kew.org/>.
- Parte, A. C., Carbasse, J. S., Kolthoff, J. P. M., Reimer, L. C., and Goker, M. (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *Journal Of Systematic and Evolutionary Microbiology* Vol. 2020(70) :5607-5612.
- Priatni, H. L., dan Mukhlis, D. S. (2024). Uji Kualitatif dan Kuantitatif Kadar Flavonoid Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Herbaferma* Vol. 6(1): 49-56.
- Pulungan, A. S., dan Tumangger, D. E. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase Dari Daun Buasbuas (*Premna pubescens* Blume). *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan* Vol. 5(1): 72-80.
- Purwanto, R. E., dan Pratama, M. (2017). Peran Dakwah Habib Hasan Al Munawar pada Kuliner dan Adat Kebiasaan Kota Palembang Sumatera Selatan. *Jurnal Dakwah Tabligh* Vol. 18(2): 272-286.
- Purwanto, U. M. S., 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* Vol. 1(1): 51-57.
- Ramdhini, R. N., Manalu, A. I., Ruwaida, I. P., Isrianto, P. L., Panggabean, N. H., Wilujeng, S., Erdiandini, I., Purba, S. R. F., Sutrisno, E., Hulu, I. L., Purwanti, S., Utomo, B., dan Surjaningsih, D. R. (2021). Anatomi Tumbuhan. Medan. Yayasan Kita Menulis.

- Sahu, P. K., Tiglam, J., Mishra, S., Hamid, S., Gupta, A., Jayalakshmi, K., Verma, S. K., and Kharwar, R. N. (2022). Surface sterilization for isolation of endophytes: Ensuring what (not) to grow. *Basic Microbiology* Vol. 62(2): 646-668.
- Sanatang., dan Lio, T. M. P. (2021). Bacterial Screening On Banana Skin By Using Nutrient Agar And Blood Agar Media. *Bioma* Vol. 6(1): 31-37.
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M.C., and Glick, B.R. (2016). Plant Growth Promoting Bacterial Endophytes. *Microbiological Research*. Vol. 183: 92-99.
- Savini, V. (2016). *The Diverse Faces of Bacillus cereus*. Netherlands: Elsevier Science.
- Schillinger, U., and Lucke, F. K. (1989). Antibacterial Activity of *Lactobacillus sake* Isolated from Meat. *Applied and Environmental* Vol. 55(8): 1901-1906.
- Septiani., Dewi, E. N., dan Wijayanti, I. (2017). Antibacterial Activites of Seagrass Extracts (*Cymodocea rotundata*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Fisheries Science and Techology* Vol. 13(1): 1-6.
- Sinurat, A. A. P., Renta, P. P., Herliany, N. E., Negara, B. S. P., dan Purnama, D. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut *Gracilaria edulis* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Enggano* Vol. 4(1): 105-114.
- Soemarie, Y. B., Apriliana, A., Ansyori, A. K., dan Purnawati, P. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Al Urum Sains dan Teknologi* Vol. 5(1): 13-17.
- Soesanto, L., dan Mugiaستuti, E. (2023). *Mikroba Endofit: Eksplorasi, Potensi, dan Pemanfaatan Mikroba Endofit Bagi Kesehatan Tanaman dan Manusia serta Keuntungan Ekonomi*. Yogyakarta. CV Andi Offset.
- Solanki, M. K., Yadav, M. K., Singh, B. P., and Gupta, V. K. (2023). *Microbial Endophytes and Plant Growth Beneficial Interactions and Applications*. India. Academic Press.
- USDA-NRCS. (2014). “United States Department of Agriculture-Natural Resources Conservation Service”. US.

- Whitman, W. B., Kamper, P., Busse, H. J., Trujilo, M. E., Suzuki, K., Ludwig, W., and Goodfellow, M. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Vol.3rd. The Firmicutes*. New York. Springer.
- Wibowo, R. H., Sipriyadi., Darwis, W., Sukmawinata, E., Masrukhan., Mashudi., Asril, M., Hidayah, T., dan Trianda, A. (2024). Bioprospeksi Jahe Wangi (*Zingiber aromaticum*) Bakteri Endofit dari Pulau Enggano, Indonesia Sebagai Produsen Senyawa Antimikroba. *Jurnal Ilmu Pertanian Universitas Yuzuncu Yil* Vol. 34(2): 263-270.
- Wigunarti, A. H., Pujiyanto, S., dan Suprihadi, A. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Escherichia coli*. *Berkala Bioteknologi* Vol. 2(2): 6-12.
- Zhang, H., Li, Y., Xiao, M., Fang, B., Hussien, D. M., Alkhalifah., Hozzein, W. N., Rao, M. R. N., and Li, W. (2019). Description of *Paracoccus endophyticus* sp. nov., isolated from *Gastrodia elata* Blume. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* Vol. 2019(69): 261-265.

L  
A  
M  
P  
I  
R  
A  
N

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Komposisi media yang dipakai saat penelitian

**Komposisi media 100 ml Nutrient Agar (NA)** adalah 0,8 g *Nutrient Broth* (NB) dan 1,6 g *pure agar*.

**Komposisi media 100 ml Nutrient Broth (NB)** adalah 0,8 g *Nutrient Broth* (NB) dan 100 ml aquades.

**Komposisi 100 ml media gula-gula dan media tambahan** adalah **media induk** KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,0125 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,0561 g, Peptone 0,3 g, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25 g, NaCl 0,225 g, dan Phenol Red 1,2 g. **Media tambahan** yaitu Glukosa 10 g, Sukrosa 10 g, dan Laktosa 10 g.

**Komposisi 100 ml media urea** yaitu urea agar 2,1 g dan aquades 100 ml.

**Komposisi 100 ml media SCA (Simmons Citrate Agar)** yaitu 2,3 g SCA dan aquades 100 ml.

**Komposisi 100 ml media TSA (Tryptic Soy Agar)** adalah 3 g TSB dan 1,6 g pure agar.

**Komposisi 100 ml media TSB (Tryptic Soy Broth)** adalah 3 g TSB (*Tryptic Soy Broth*).

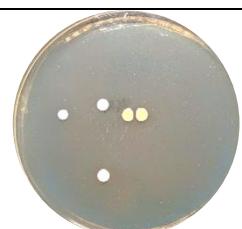
**Lampiran 2.** Koloni bakteri hasil isolasi pada Media NA

Asal Koloni Bakteri	Ulangan	Pengenceran	
		$10^{-3}$	$10^{-5}$
	1		
Receptaculum Bunga Kecombrang (RBK)	2		
	3		
	1		
Tunas Bunga Bunga Kecombrang (TBBK)	2		
	3		
Braktea Bunga Kecombrang (BBK)	1		

**Lampiran 2.** Lanjutan 1.

---

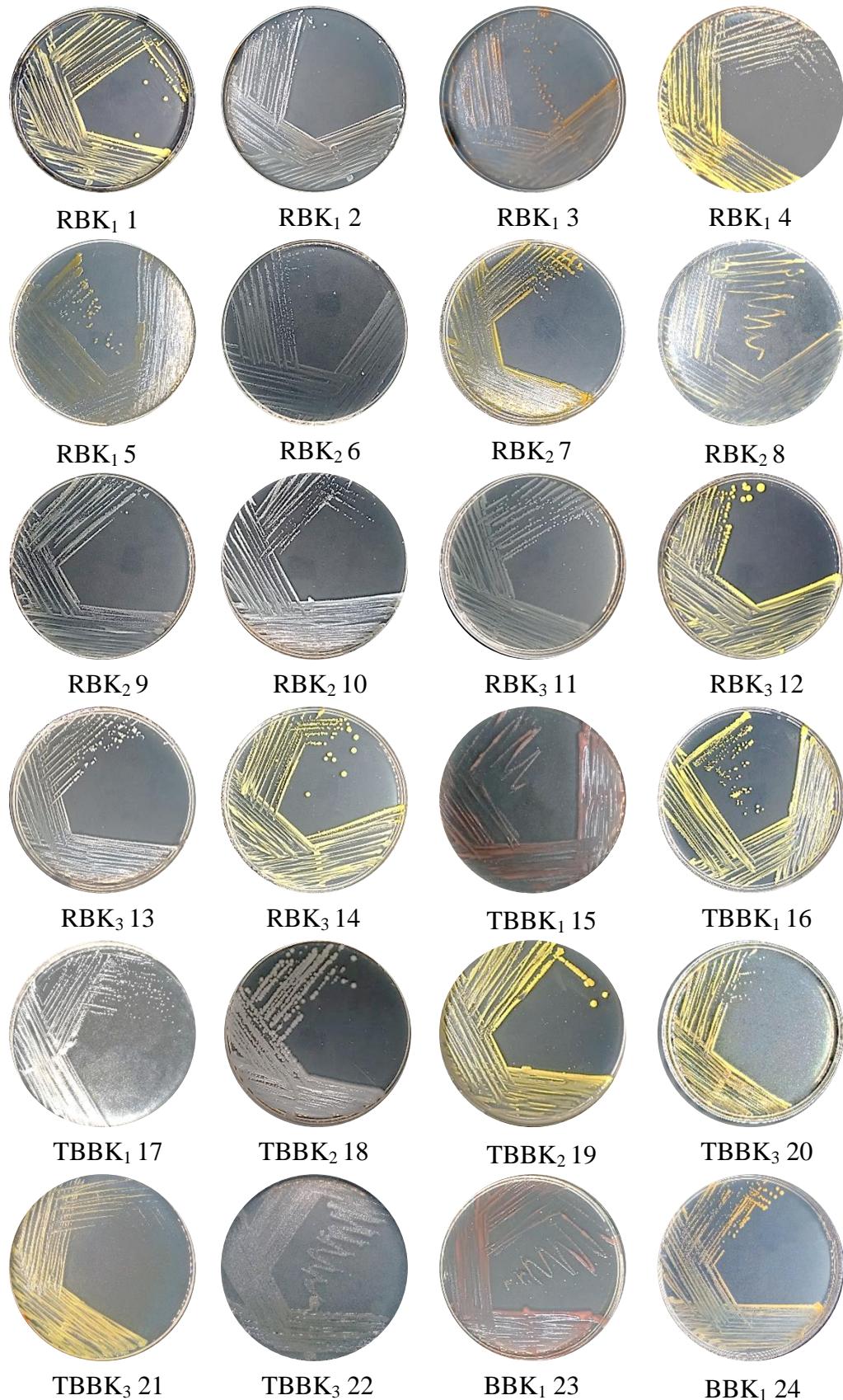
2



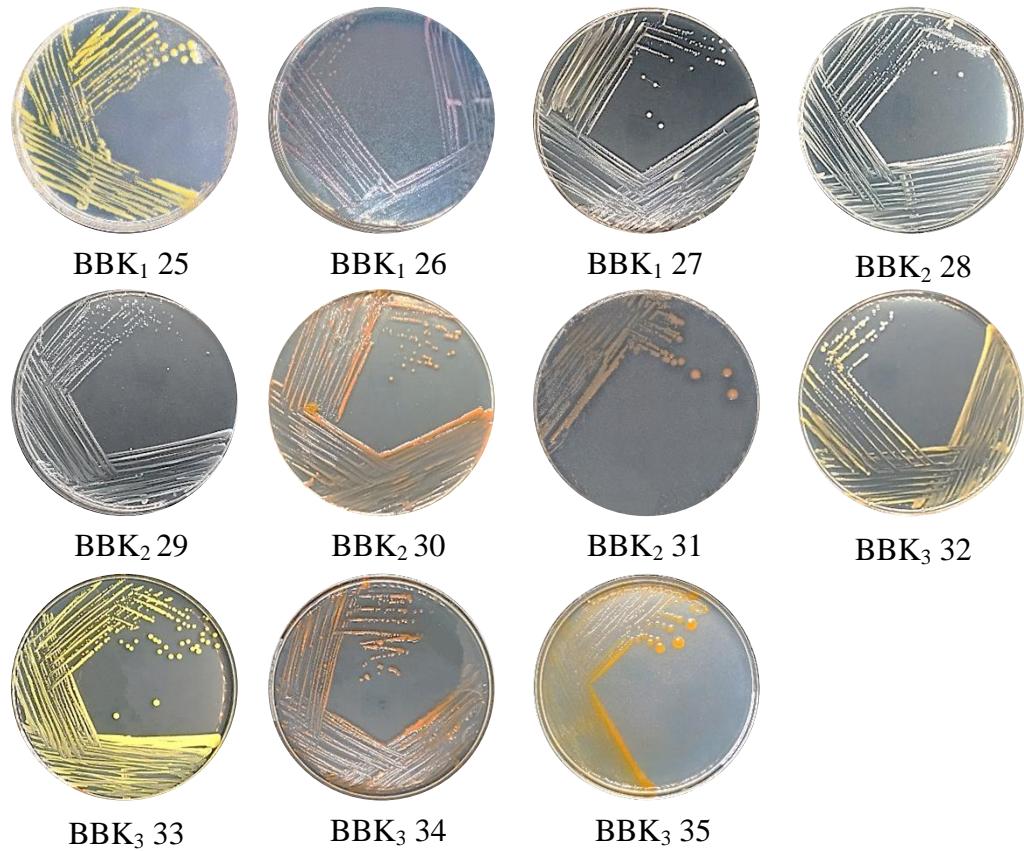
3



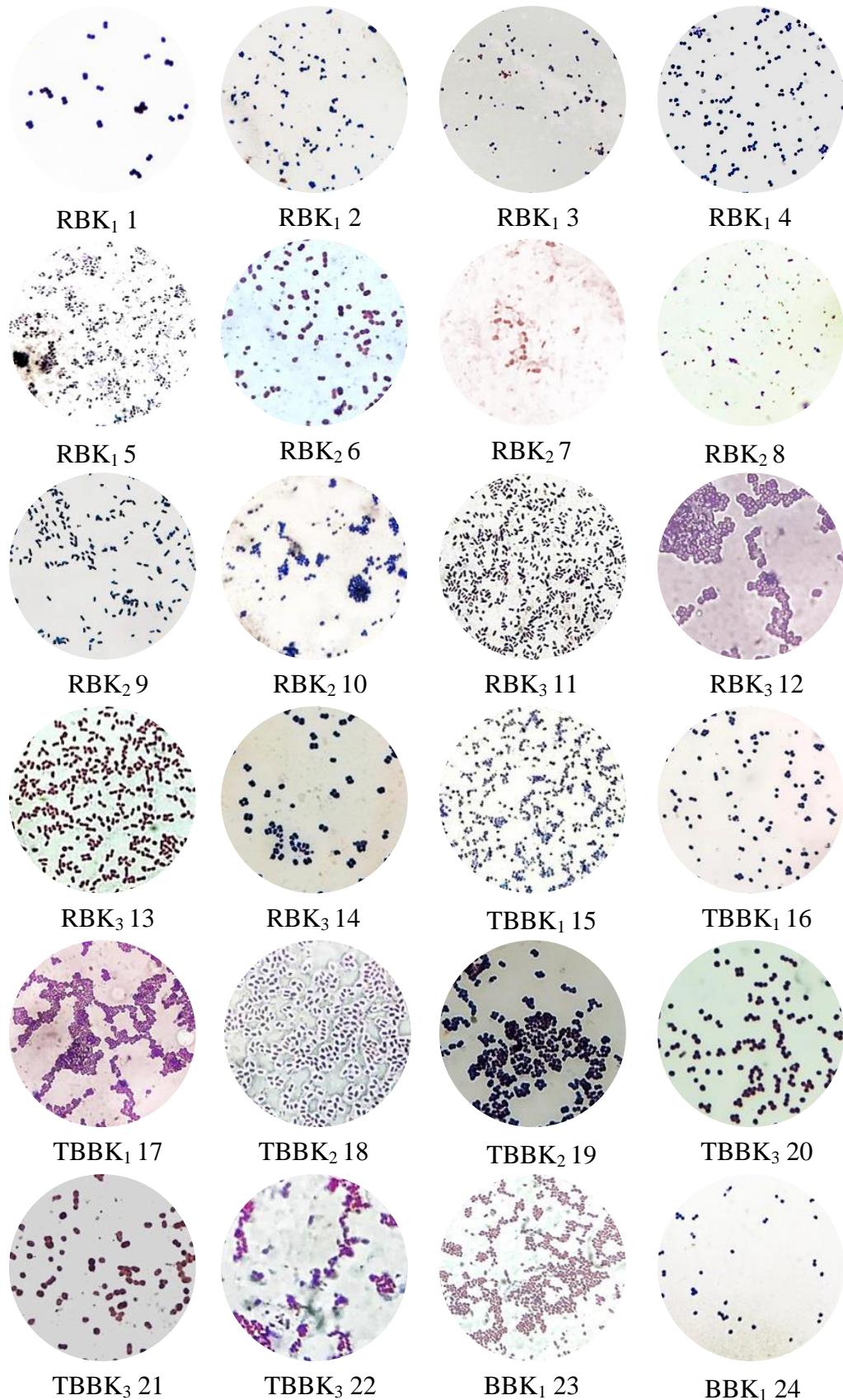
**Lampiran 3. Pemurnian Bakteri Endofit Bunga Kecombrang**



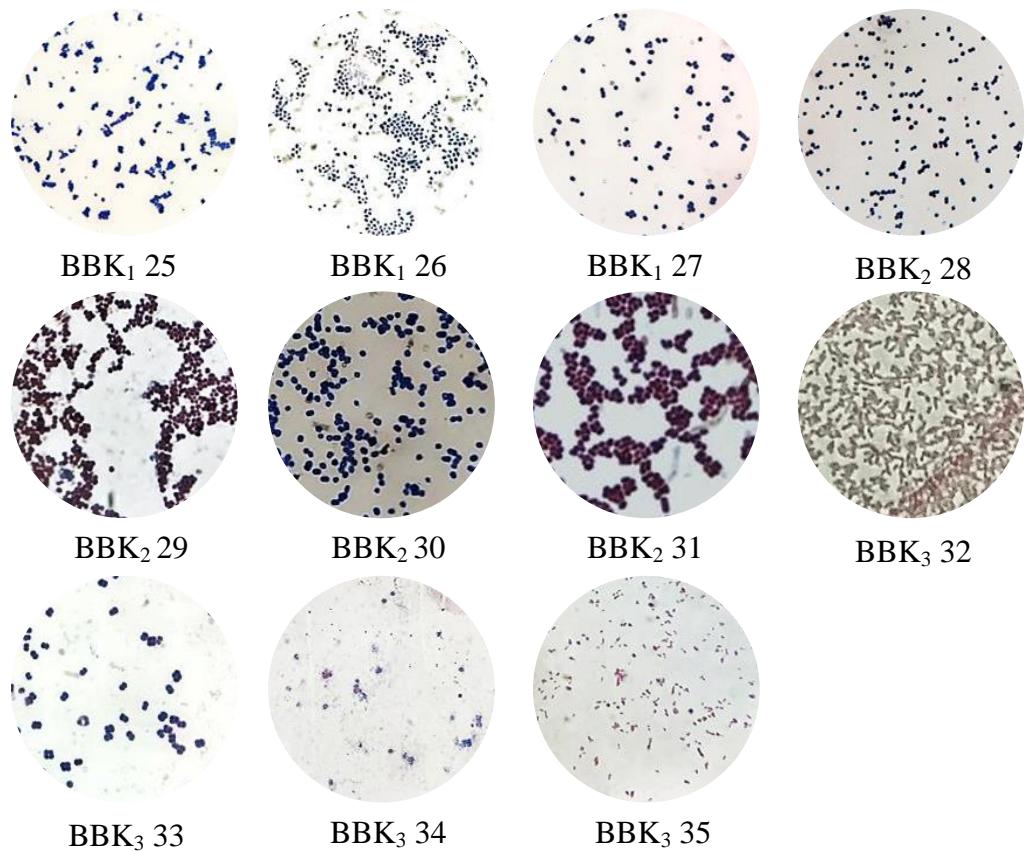
**Tabel 3.** Lanjutan 1.



**Lampiran 4. Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Bunga Kecombrang**

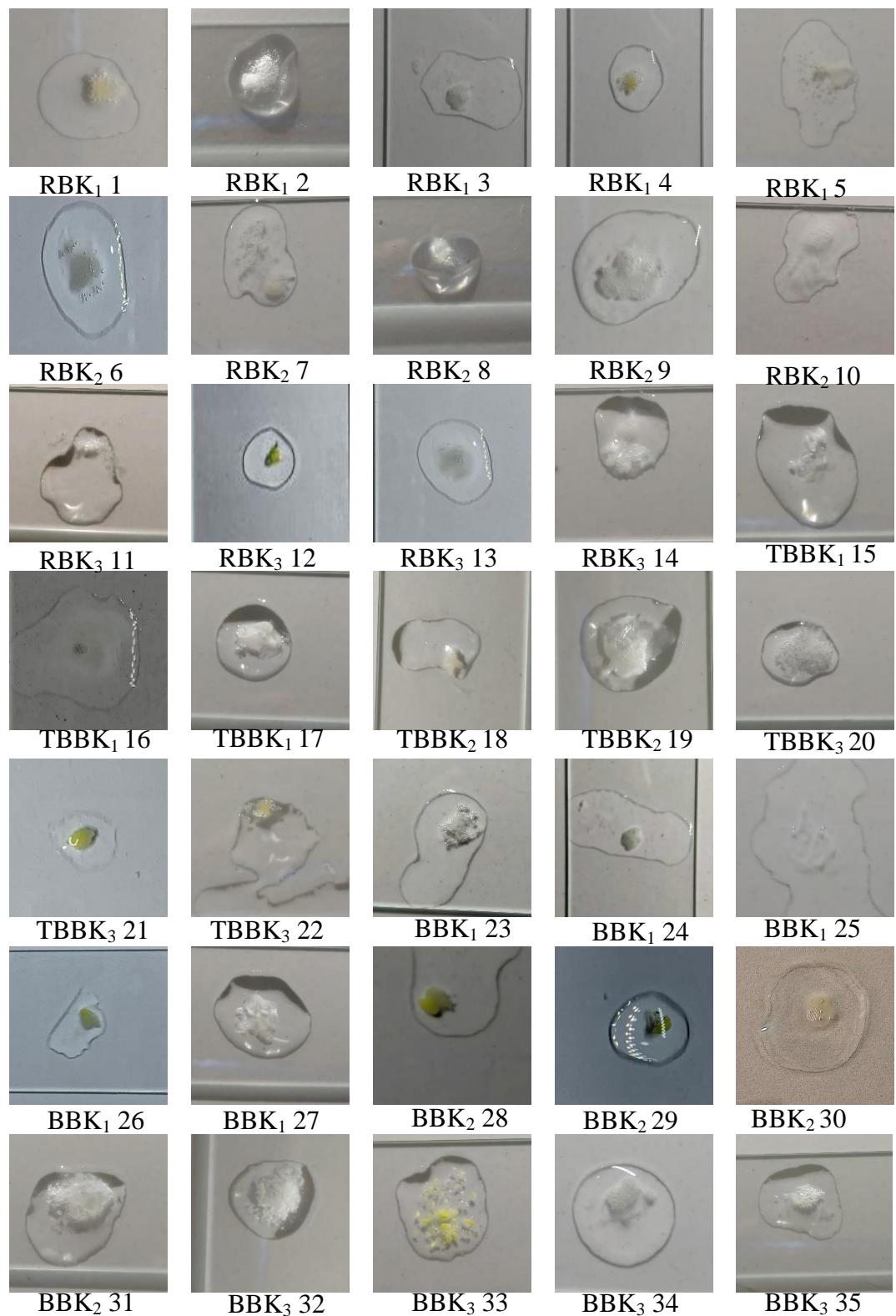


**Tabel 4.** Lanjutan 1.

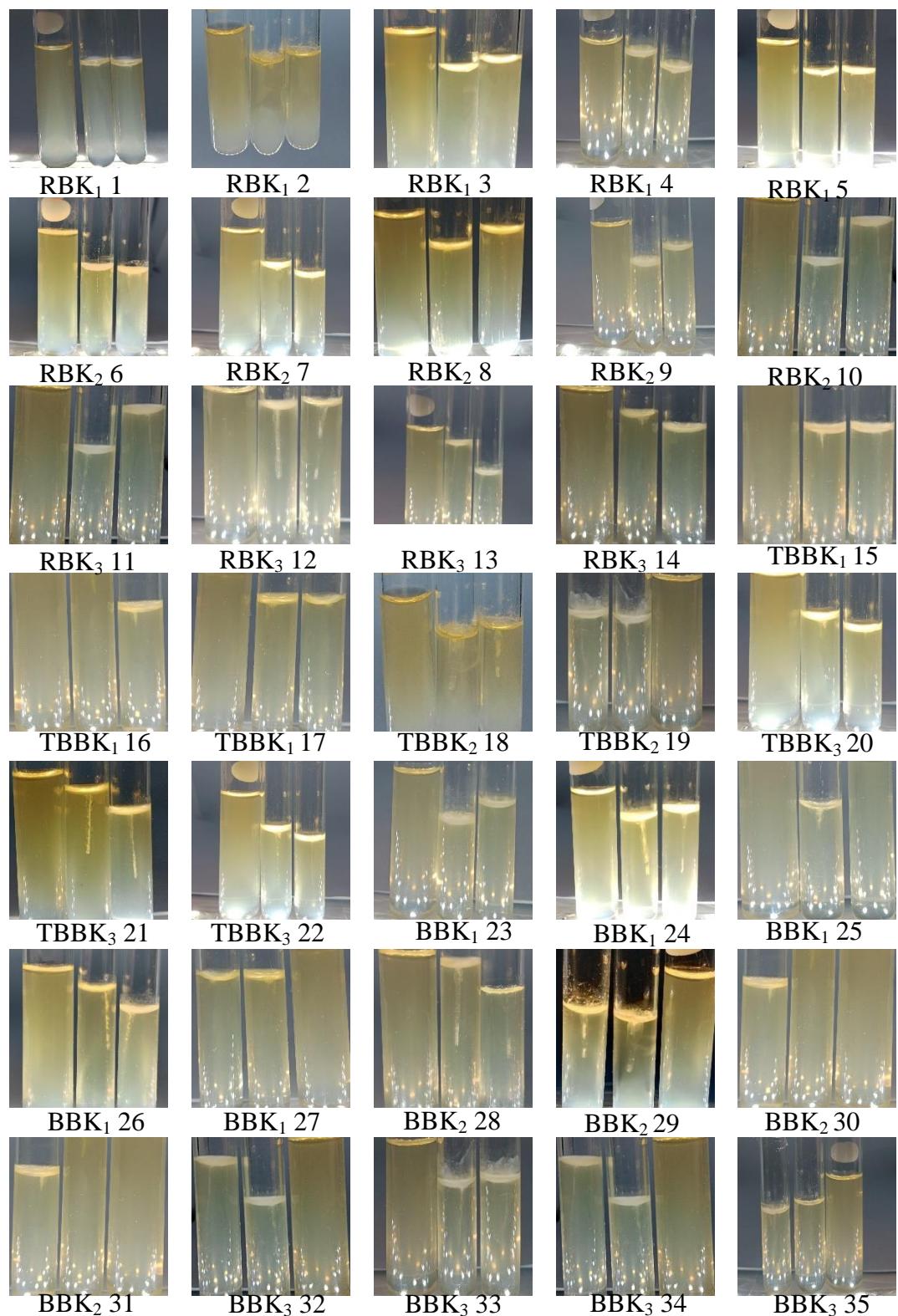


**Lampiran 5. Uji Biokimia**

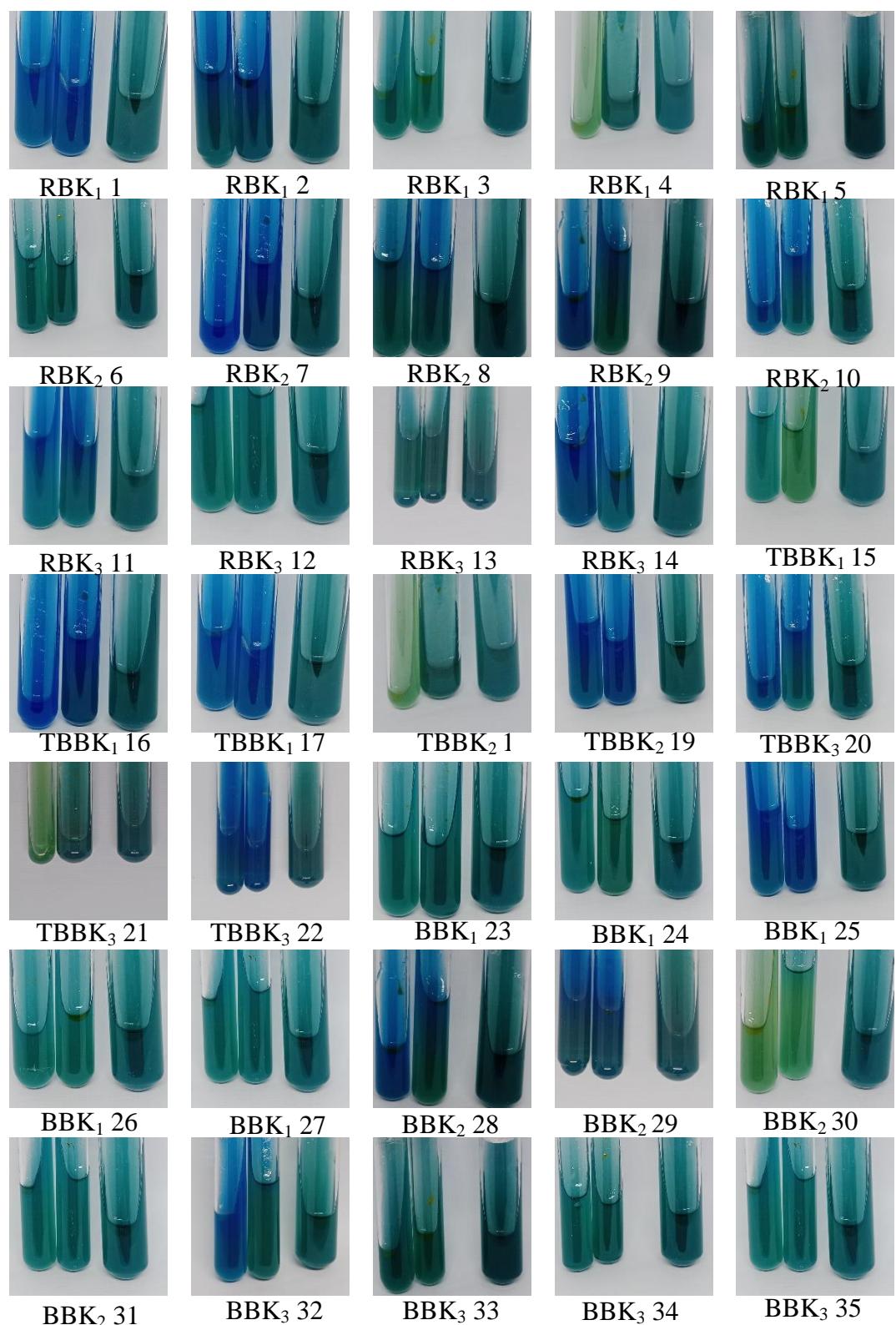
a. Uji Katalase



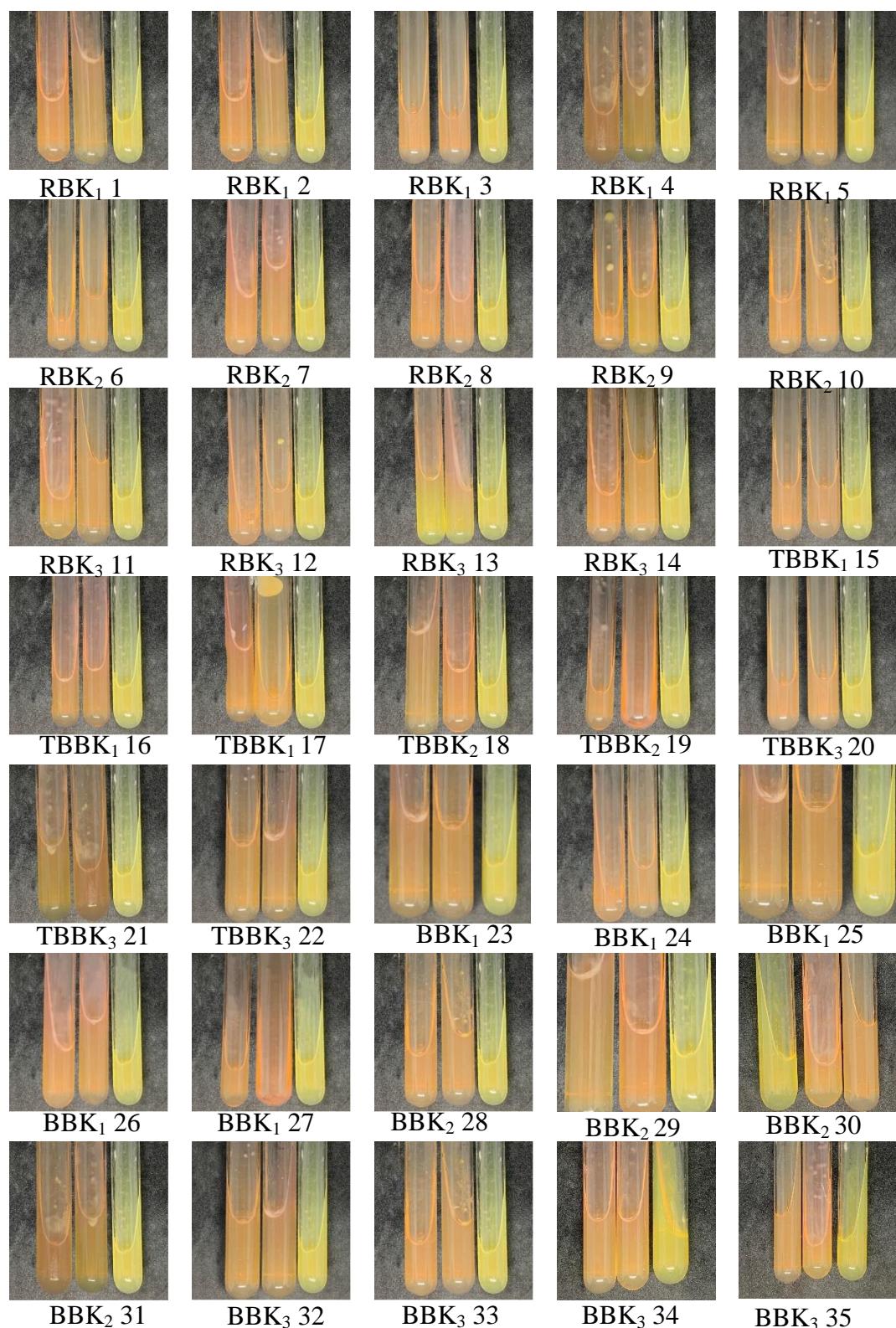
b. Uji Motilitas



c. uji fermentasi sitrat

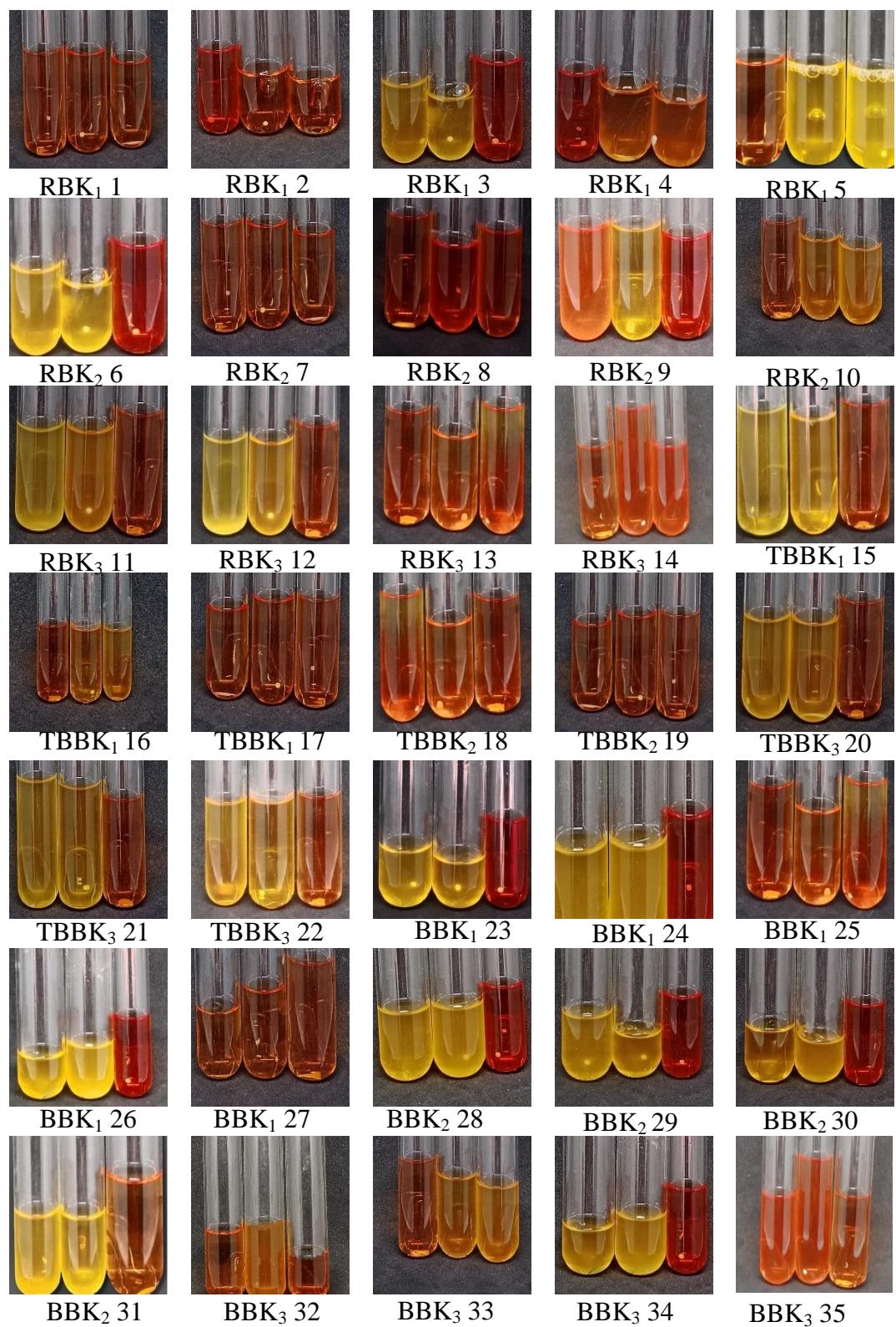


d. uji urea

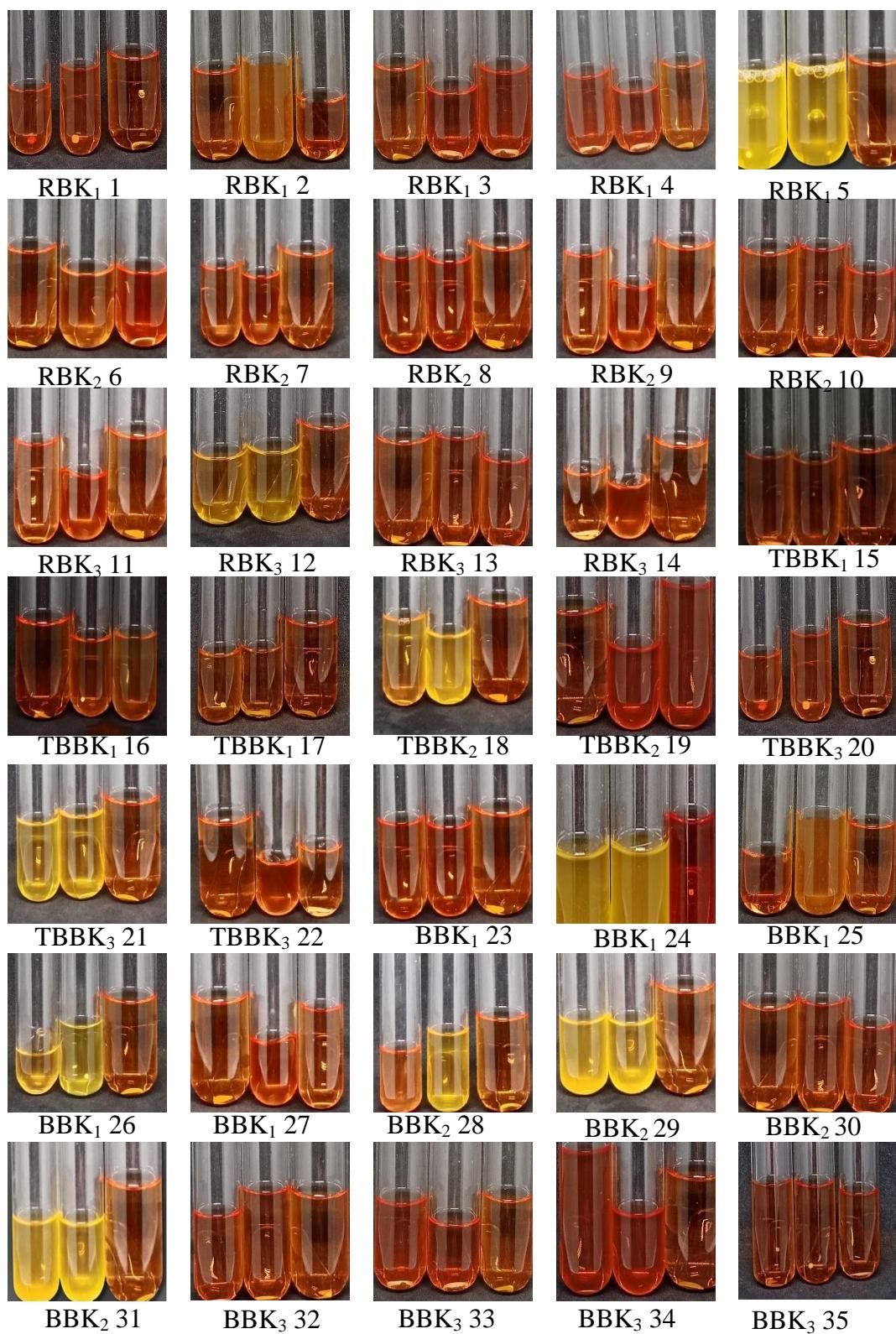


e. Uji fermentasi gula-gula

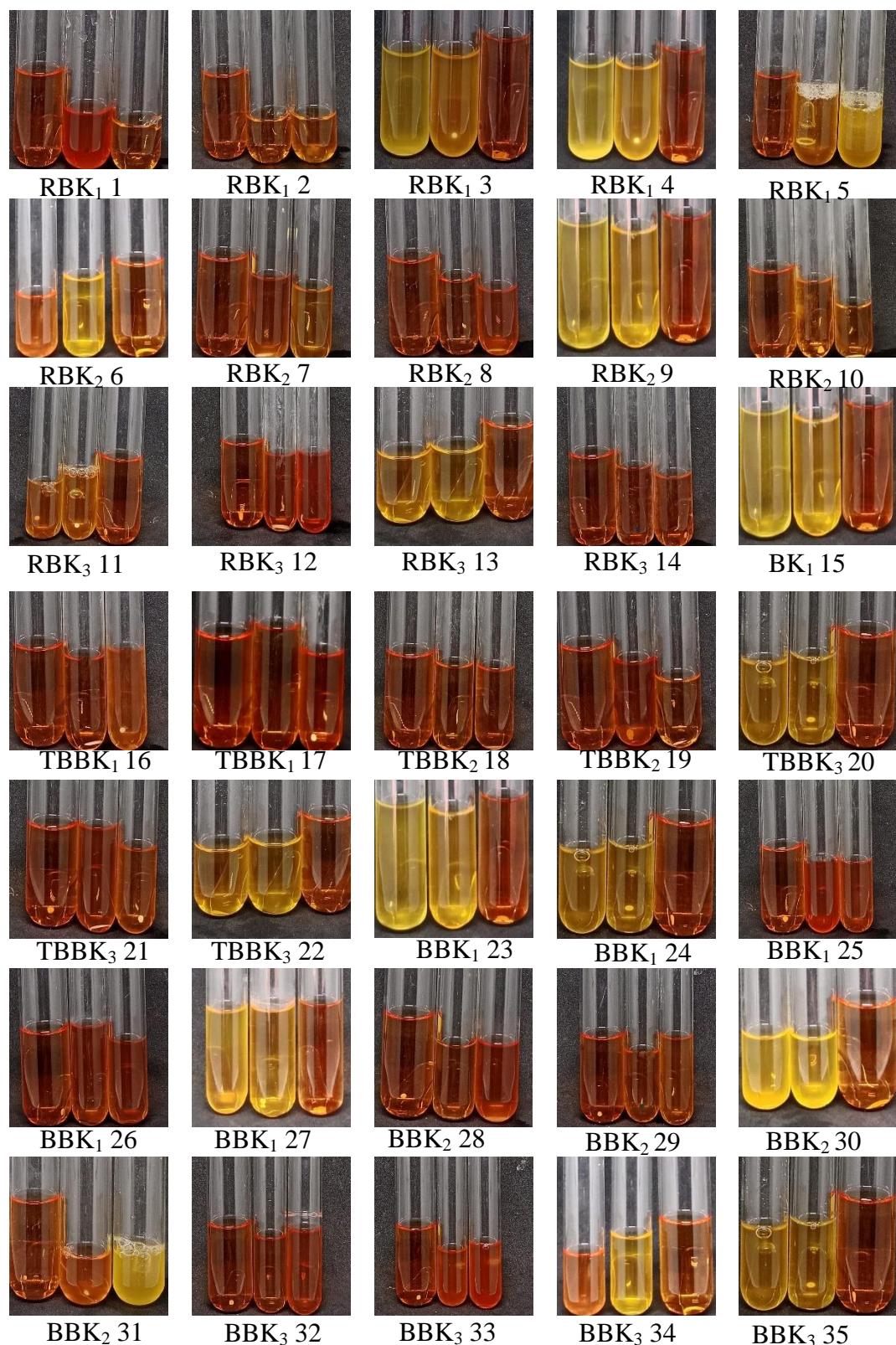
-Glukosa



-Laktosa



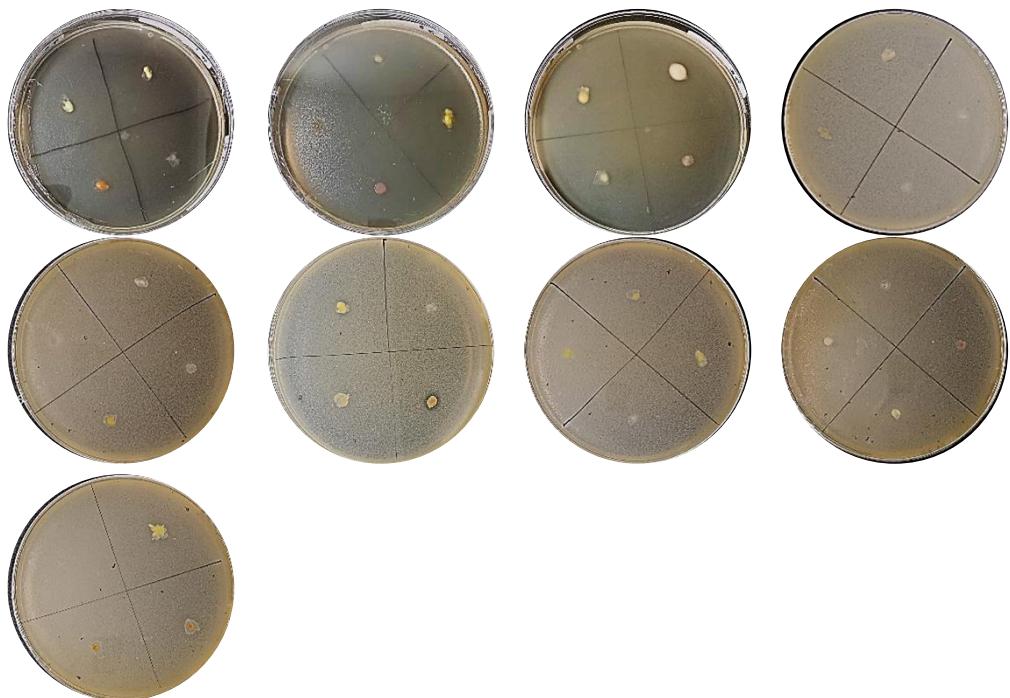
-Sukrosa



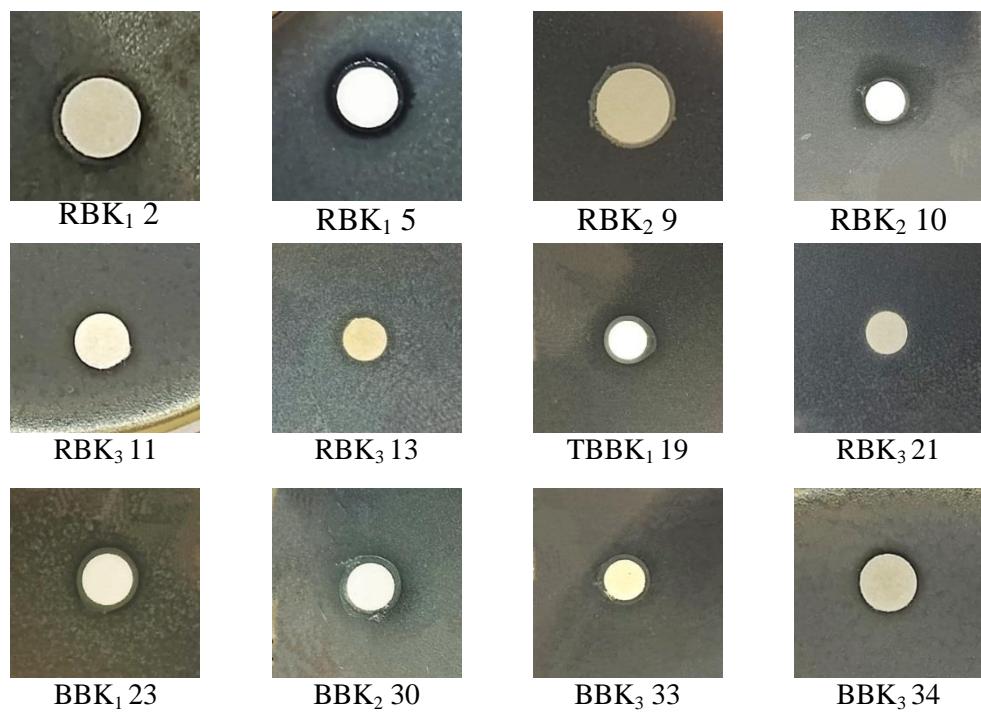
## Lampiran 6. Uji Antibakteri

Kode Isolat	Aktivitas Penghambatan Terhadap Mikrob Patogen <i>Bacillus cereus</i> GTK12	Keterangan
RBK <sub>1</sub> 1	-	Tidak Berpotensi
RBK <sub>1</sub> 2	+	Potensial
RBK <sub>1</sub> 3	-	Tidak Berpotensi
RBK <sub>1</sub> 4	-	Tidak Berpotensi
RBK <sub>1</sub> 5	+	Potensial
RBK <sub>2</sub> 6	-	Tidak Berpotensi
RBK <sub>2</sub> 7	-	Tidak Berpotensi
RBK <sub>2</sub> 8	-	Tidak Berpotensi
RBK <sub>2</sub> 9	+	Potensial
RBK <sub>2</sub> 10	+	Potensial
RBK <sub>3</sub> 11	+	Potensial
RBK <sub>3</sub> 12	-	Tidak Berpotensi
RBK <sub>3</sub> 13	+	Potensial
RBK <sub>3</sub> 14	-	Tidak Berpotensi
TBBK <sub>1</sub> 15	-	Tidak Berpotensi
TBBK <sub>1</sub> 16	-	Tidak Berpotensi
TBBK <sub>1</sub> 17	-	Tidak Berpotensi
TBBK <sub>2</sub> 18	-	Tidak Berpotensi
TBBK <sub>2</sub> 19	+	Potensial
TBBK <sub>3</sub> 20	-	Tidak Berpotensi
TBBK <sub>3</sub> 21	+	Potensial
TBBK <sub>3</sub> 22	-	Tidak Berpotensi
TBK <sub>1</sub> 23	+	Potensial
BBK <sub>1</sub> 24	-	Tidak Berpotensi
BBK <sub>1</sub> 25	-	Tidak Berpotensi
BBK <sub>1</sub> 26	-	Tidak Berpotensi
BBK <sub>1</sub> 27	-	Tidak Berpotensi
BBK <sub>1</sub> 28	-	Tidak Berpotensi
BBK <sub>2</sub> 29	-	Tidak Berpotensi
BBK <sub>2</sub> 30	+	Potensial
BBK <sub>2</sub> 31	-	Tidak Berpotensi
BBK <sub>3</sub> 32	-	Tidak Berpotensi
BBK <sub>3</sub> 33	+	Potensial
BBK <sub>3</sub> 34	+	Potensial
BBK <sub>3</sub> 35	-	Tidak Berpotensi

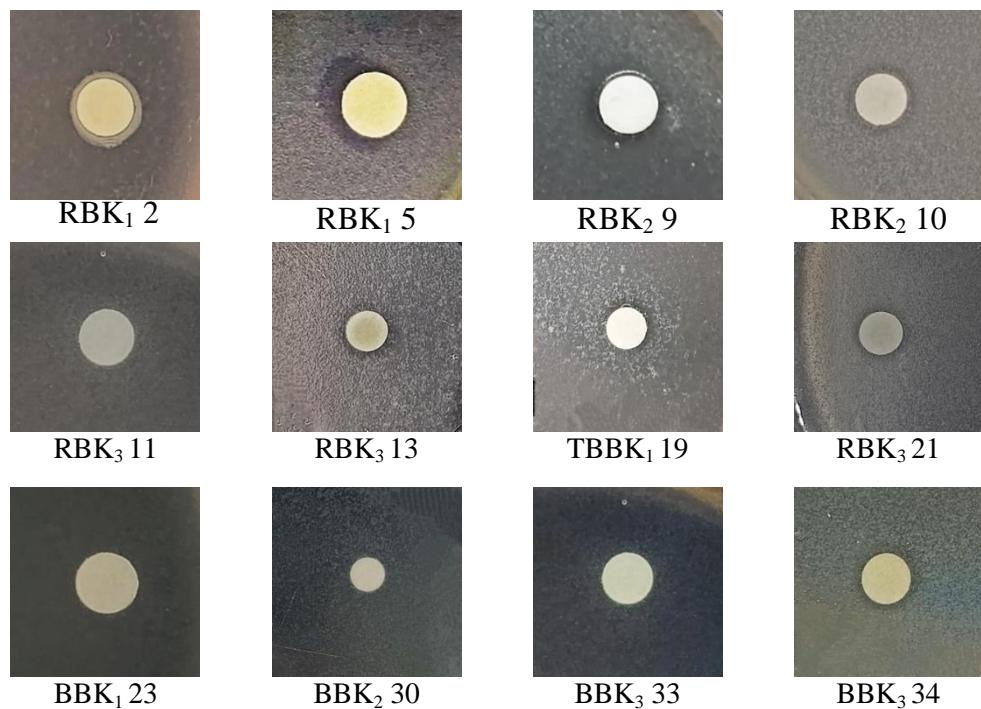
-Uji Antagonis



-Aktivitas Pelet



-Aktivitas Supernatan



## RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Anesti Masayu lahir di Curup, 12 Juni 2003, merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Asril Antoni dan Ibu Daryunah. Menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 09 Curup Timur pada tahun 2015. Menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 3 Rejang Lebong pada tahun 2018. Menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 2 Rejang Lebong pada tahun 2021. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan di Universitas Bengkulu, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam melalui jalur SNMPTN. Selama pendidikan, penulis mendapatkan beasiswa dari KIP Kuliah. Selama menjadi mahasiswa di Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, penulis aktif dalam mengikuti keorganisasian diantaranya tergabung menjadi sekretaris bidang sosial dan masyarakat HIMABIO ABAKA tahun 2022-2023, dan pada tahun 2023-2024 penulis tergabung menjadi anggota bidang dana dan usaha HIMABIO ABAKA. Penulis pernah menjadi ketua bidang sponsorship dalam kegiatan BIOEXPO tahun 2023. Penulis pernah tiga kali menjadi presidium dalam sidang musyawarah kerja HIMABIO ABAKA. Penulis telah mengikuti berbagai kegiatan selama menjadi mahasiswa diantaranya Kuliah Lapangan Bersama (KLB) sebagai anggota pada tahun 2022 dan 2024, Pelatihan Manajemen Organisasi (PMO) pada tahun 2021-2023. Penulis pernah menjadi asisten praktikum pada mata kuliah Mikrobiologi Dasar, Mikologi Dasar dan Fisiologi Mikrob. Pada tahun 2024 penulis pernah mengikuti dan menjadi ketua tim PKM Riset Eksakta yang berhasil didanai oleh KEMDIKBUD. Penulis pernah mengikuti kegiatan PIM yang dilaksanakan oleh UPT PKM UNIB dan berhasil mendapatkan juara tiga pada tahun 2025. Penulis juga pernah mengikuti PKM Artikel Ilmiah pada tahun 2025. Pada tahun 2025 penulis melakukan penelitian dengan judul “Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) Terhadap *Bacillus cereus* GTK12” untuk memenuhi syarat mendapatkan gelar sarjana strata 1 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.