

Aktivitas Enzimatik Dan Potensi Bakteri Asal Produk LifeGrow Endofit Terhadap Jamur *Fusarium* sp. Di PT Biotek Cipta Kreasi

Nisa'ul Chanifah*, Septianto Wikan Nurhidayat, Luthfi Galih Alifianto, Diva Pungky Wicaksono

¹²Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

³⁴PT Biotek Cipta Kreasi, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta

Email: nisaulchanifah1@gmail.com.

Abstrak

Penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh jamur *Fusarium* sp. merupakan ancaman serius bagi produksi cabai merah di Indonesia, menyebabkan kerugian hingga 50%. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi bakteri endofit dari produk LifeGrow Endofit sebagai agen biokontrol terhadap *Fusarium* sp. Metode yang digunakan meliputi isolasi bakteri, karakterisasi morfologi, uji enzimatik (amilolitik, selulolitik, proteolitik, pelarut fosfat, kitinolitik, pelarut kalium, dan lipolitik), uji kompatibilitas antar isolat, serta uji antagonis terhadap *Fusarium* sp. Hasil isolasi menghasilkan empat isolat bakteri endofit dengan karakteristik morfologi berbeda. Uji enzimatik menunjukkan variasi aktivitas pada masing-masing isolat. Pada uji amilolitik, selulolitik, proteolitik dan uji P menunjukkan hasil positif sedangkan pada uji K, uji lipolitik dan uji kitinolitik menunjukkan hasil yang negatif. Uji kompatibilitas menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri endofit kompatibel satu sama lain. Dalam uji antagonis, isolat bakteri tidak menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium* sp. Penelitian ini memberikan wawasan tentang potensi bakteri endofit sebagai agen biokontrol dan promotor pertumbuhan tanaman, khususnya dalam pengendalian penyakit layu fusarium pada tanaman cabai.

Kata Kunci: antagonisme; bakteri endofit; *Fusarium* sp.; kompatibilitas; uji enzimatik

Enzymatic Activity And Bacterial Potential Of Endofit LifeGrow Products Against Fusarium sp. At PT Biotek Cipta Kreasi

Abstract

Fusarium wilt disease caused by the fungus Fusarium sp. is a serious threat to red pepper production in Indonesia, causing losses of up to 50%. This study aims to evaluate the potential of endophytic bacteria from LifeGrow Endophit products as biocontrol agents against Fusarium sp. The methods used include bacterial isolation, morphological characterization, enzymatic tests (amylolytic, cellulolytic, proteolytic, phosphate solubilizing, chitinolytic, potassium solubilizing, and lipolytic), compatibility tests between isolates, and antagonistic tests against Fusarium sp. Isolation results produced four endophytic bacterial isolates with different morphological characteristics. Enzymatic tests showed variations in activity in each isolate. In the amylolytic test, cellulolytic, proteolytic and P test showed positive results while in the K test, lipolytic test and chitinolytic test showed negative results. Compatibility test showed that all endophytic bacterial isolates were compatible with each other. In the antagonist test, the bacterial isolates did not show the ability to inhibit the growth of the fungus Fusarium sp. This study provides insight into the potential of endophytic bacteria as biocontrol agents and plant growth promoters, especially in controlling Fusarium wilt disease in chili plants.

Keywords: antagonism; endophytic bacteria; *Fusarium* sp.; compatibility; enzymatic assay

1. Pendahuluan

Komoditas tanaman hortikultura merupakan komoditas unggulan yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan mempunyai potensi untuk terus dikembangkan. Salah satu jenis tanaman yang banyak dikonsumsi dan dibudidayakan oleh masyarakat adalah cabai (Fidalia, 2018). Tanaman cabai merah (*Capsicum annuum*) adalah komoditas hortikultura penting di Indonesia. Pada tahun 2024, konsumsi cabai di Indonesia diperkirakan mencapai 1,17 juta ton per tahun, sedangkan produksi cabai diperkirakan mencapai 3 juta ton per tahun, menunjukkan surplus. Menurut Badan Pusat Statistik (BPS), pada tahun 2020, produksi cabai di Indonesia mencapai 15.084.042 ton. Namun, pada tahun

2021, angka tersebut mengalami penurunan menjadi 13.864.469 ton. Sebaliknya, pada tahun 2022, produksi kembali meningkat menjadi 15.444.409 ton dan terus tumbuh pada tahun 2023 dengan total produksi mencapai 15.067.621 ton.

Produksi cabai merah di Indonesia menunjukkan fluktuasi dalam beberapa tahun terakhir. Penurunan produksi cabai di Indonesia ini salah satunya disebabkan oleh layu fusarium yang disebabkan jamur *Fusarium*. *Fusarium* sp. adalah jamur patogen yang menyerang berbagai tanaman hortikultura, termasuk cabai merah, dari tahap pembibitan hingga produksi yang dapat menyebabkan kematian tanaman dan gagal panen hingga mencapai 50% (Putra *et al.*, 2019). Jamur ini menginfeksi akar dan berkembang di urat kayu, dengan gejala awal berupa daun bagian bawah yang menguning, diikuti daun atas yang pucat dan kerapuhan tangkai.

Gejala serangan meliputi kelayuan daun-daun bagian bawah yang menjalar ke ranting-ranting muda, berakhir dengan kematian daun dan ranting yang ditandai dengan warna cokelat. Infeksi dimulai pada leher batang bagian bawah yang bersinggungan dengan tanah, menyebabkan pembusukan dan perubahan warna menjadi cokelat, kemudian menjalar ke akar sehingga mengalami busuk basah. Penularan penyakit ini cepat, terutama di lahan miring, melalui air (Heriyanto, 2019). Pembusukan batang terlihat dari cincin coklat pada ikatan pembuluh, yang menghambat pengangkutan air dan nutrisi. Kehadiran cendawan *Fusarium* sp. menyebabkan kerugian yang signifikan pada hasil panen karena cendawan ini dapat menyebabkan tanaman layu. Oleh karena itu, strategi pengelolaan yang efektif diperlukan untuk memastikan pasokan cabai yang stabil dan berkualitas tinggi bagi masyarakat (Sastrahidayat, 2017).

Pengendalian penyakit layu fusarium yang sering dilakukan, seperti memusnahkan dan membuang tanaman yang terserang, ternyata kurang efektif. Sebagai alternatif yang lebih ramah lingkungan, pemanfaatan bakteri endofit sebagai agens hayati menawarkan solusi yang menjanjikan. Bakteri endofit, yang hidup di dalam jaringan tanaman, memiliki kemampuan untuk menekan pertumbuhan *Fusarium* (Monggoot *et al.*, 2017). Bakteri endofit dapat mengendalikan berbagai patogen tanaman dengan cara bersaing dan menghasilkan metabolit sekunder, termasuk antibiotik, siderofor, bakteriosin, dan enzim ekstraseluler.

Selain itu, bakteri ini juga dapat menginduksi senyawa ketahanan pada tanaman dan berfungsi sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Penggunaan bakteri endofit dalam pengendalian hayati menawarkan solusi efektif untuk mengurangi ketergantungan pada pestisida kimia (Zalila *et al.*, 2016). Bakteri endofit dapat hidup dan tumbuh dengan baik pada suhu berkisar 25°-35°C dan pada kisaran pH 7,3-10,5 selain itu bakteri endofit juga dapat bertahan hidup pada suhu maksimum antara 40°-45° C (Handayani *et al.*, 2023). Berdasarkan potensi mekanisme yang dimiliki bakteri endofit diharapkan bakteri antagonis tersebut mampu menekan pertumbuhan dan perkembangan jamur *Fusarium* sp. yang pada akhirnya dapat menurunkan tingkat serangannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan untuk mengendalikan *Fusarium* sp.

2. Metode Penelitian

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu *Laminar Air Flow* (LAF), *hotplate*, *vortex*, *petridish*, *autoklaf*, *erlenmeyer*, *shaker*, tabung reaksi, bunsen, pipet, penggaris, *drigalski*, mikroskop, jarum ose, dan alat tulis serta alat lain yang mendukung penelitian ini.

Bahan yang digunakan adalah produk LifeGrow Endofit, media *Nutrient Broth* (NB), media *Nutrient Agar* (NA), air *Reverse Osmosis* (RO) steril, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), isolat jamur *Fusarium* sp., isolat bakteri endofit dan bahan untuk uji enzimatis.

2.2. Isolasi Bakteri

Sampel produk LifeGrow Endofit dari PT Biotek Cipta Kreasi di isolasi dengan melakukan pengenceran hingga 10^{-5} . Pengenceran dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi yang di isi RO 9 ml dan 1ml produk LifeGrow Endofit. Pengenceran dilakukan hingga 10^{-5} . Kemudian pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} diambil 50 μ L dan di masukkan ke media NA. Inkubasi selama 48 jam pada suhu 30-37°C. Kemudian dilakukan pemurnian hingga menjadi koloni murni (Jufri, 2020).

2.3. Pembuatan Media

2.3.1. Media NA

Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) dilakukan dengan menimbang bahan 20 gr untuk 1 liter. Kemudian ditambah RO dan di panaskan hingga mendidih. Tuang media agar pada cawan yang telah di siapkan. Lakukan semua pekerjaan di LAF.

2.3.2. Media NB

Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB) dilakukan dengan menimbang bahan 8 gr untuk 1 liter. Kemudian ditambah RO dan di panaskan hingga mendidih. Tuang media agar pada cawan yang telah di siapkan. Lakukan semua pekerjaan di LAF.

2.3.3. Media PDA

Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dilakukan dengan menimbang bahan 39 gr untuk 1 liter. Kemudian ditambah RO dan di panaskan hingga mendidih. Tuang media agar pada cawan yang telah di siapkan. Lakukan semua pekerjaan di LAF.

2.3.4. Media Uji Enzimatis

Uji enzimatis merupakan salah satu metode penting dalam biokimia yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas enzim dalam berbagai sampel. Pada penelitian ini masing-masing uji akan dihitung indeks pertumbuhannya pada media uji yang terdapat zona bening. Indeks pertumbuhan dapat dihitung dengan rumus (Idiawati *et al.*, 2015).

$$IP = \frac{(\text{Diameter Zona Bening} - \text{Diameter Zona Koloni})}{\text{Diameter Zona Koloni}} \times 100\%$$

Keterangan indeks:

< 1: rendah

1-2: sedang

>2: tinggi

Dalam penelitian ini, uji enzimatis di bagi menjadi 7 yaitu:

a. Uji Amilolitik

Pembuatan media amilolitik dimulai dengan menimbang bahan-bahan seperti amilum 10 gr, NaNO₃ 2 gr, K₂HPO₄ 1 gr, MgSO₄ 0,5gr KCl 0,5 gr, pepton 0,2 gr, dan agar 15 gr dalam 1 liter. Campuran ini kemudian ditambahkan air *Reverse Osmosis* (RO) steril dan dipanaskan di *hotplate* hingga mendidih sambil diaduk untuk melarutkan semua bahan. Media disterilkan pada tekanan 121 atm selama 15 menit. Setelah media hangat, tuangkan ke cawan petri steril dan lakukan inokulasi bakteri dengan 4 titik ulangan per cawan. Inkubasi dilakukan pada suhu 30-37°C selama 72 jam di dalam LAF. Setelah inkubasi, tambahkan 2-3 tetes cairan lugol dan amati zona bening yang terbentuk (Prihatiningsih & Djatmiko, 2016).

b. Uji Selulolitik

Pembuatan media selulolitik dilakukan dengan menimbang media CMC 2 gr, K₂HPO₄ 1 gr, NaNO₃ 1 gr, MgSO₄ 0,5 gr, KCl 0,5 gr, pepton 0,2 gr, dan agar 15 gr dalam 1 liter. Kemudian ditambahkan dengan *Reverse Osmosis* (RO) steril, letakkan larutan di atas *hotplate*. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna.

Sterilisasi media dilakukan pada tekanan 121 atm selama 15 menit. Lalu tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat lakukan inokulasi bakteri ke media dengan 4 titik ulangan setiap cawan. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 72 jam. Lakukan semua kegiatan di LAF. Setelah inkubasi selesai tetesi dengan cairan lugol sebanyak 2-3 tetes. Amati zona bening yang terbentuk (Dar *et al.*, 2015).

c. Uji Proteolitik

Pembuatan media dimulai dengan menimbang media skim dan agar sesuai kebutuhan. Larutan RO 100 ml steril dibagi menjadi dua erlenmeyer, satu berisi agar 2 gr dan satu lagi berisi RO steril, kemudian dipanaskan di atas *hotplate* hingga mendidih sambil diaduk agar semua bahan larut. Media disterilkan dengan tekanan 121 atm selama 15 menit.

Setelah itu, skim 1 gr dimasukkan ke dalam LAF dan dicampurkan dengan RO steril setelah suhunya turun ke 10-20°C. masukkan skim kedalam RO steril, lalu campurkan ke dalam media yang berisi agar. Tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat lakukan inokulasi bakteri ke media dengan 4 titik ulangan setiap cawan. Lakukan semua kegiatan di LAF. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 24 jam. Amati zona bening yang terbentuk (Jhon, 2020).

d. Uji P

Pembuatan media dilakukan dengan menimbang media instan pelarut P sesuai dengan kebutuhan. Kemudian ditambahkan dengan RO steril, letakkan larutan di atas *hotplate*. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna. Sterilisasi media dilakukan pada tekanan 121 atm selama 15 menit. Lalu tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat lakukan inokulasi bakteri ke media dengan 3 titik ulangan setiap cawan. Lakukan semua kegiatan di LAF. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 7 hari. Amati zona bening yang terbentuk (Ginting *et al.*, 2016).

e. Uji Kitinolitik

Pembuatan media kitinolitik dilakukan dengan menimbang media koloidal kitin 0,4 gr, K₂HPO₄ 0,7 gr, KH₂PO₄ 0,03 gr, MgSO₄ 0,05 gr, traselemend 100 µL dan agar 1,5 gr dalam 100ml. Kemudian ditambahkan dengan *Reverse Osmosis* steril, letakkan larutan di atas *hotplate*. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna. Sterilisasi media dilakukan pada tekanan 121 atm selama 15 menit. Lalu tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat lakukan inokulasi bakteri ke media dengan 3 titik ulangan setiap cawan. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 7 hari. Lakukan semua kegiatan di LAF. Amati zona bening yang terbentuk (Pamungkas *et al.*, 2023).

f. Uji K

Pembuatan media pelarut K dilakukan dengan menimbang media CaCO₃ 0,01 gr, Felspar 0,2 gr, FeCl 0,0005 gr, MgSO₄ 0,05 gr, Ca₃PO₄ 0,2 gr, glukosa 1,5 gr, dan agar 1,5 gr dalam 100 ml. Kemudian ditambahkan dengan RO steril, letakkan larutan di atas *hotplate*. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna. Sterilisasi media dilakukan pada tekanan 121 atm selama 15 menit. Lalu tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat lakukan inokulasi bakteri ke media dengan 3 titik ulangan setiap cawan. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 7 hari. Lakukan semua kegiatan di LAF. Amati zona bening yang terbentuk (Tanjung & Febriani, 2023).

g. Uji Lipolitik

Pembuatan media lipolitik dilakukan dengan menimbang media *Tween* 10 ml, CaCl₂ 1 gr, K₂HPO₄ 1 gr, NaNO₃ 1 gr, MgSO₄ 0,5 gr, KCl 0,5, pepton 0,2 gr, dan agar 15 gr dalam 1 liter. Kemudian ditambahkan dengan RO steril, letakkan larutan di atas *hotplate*. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna.

Sterilisasi media dilakukan dengan tekanan 121 atm selama 15 menit. Lalu tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat lakukan inokulasi bakteri ke media dengan 3 titik ulangan setiap cawan. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 5 hari. Lakukan semua kegiatan di LAF. Amati zona bening yang terbentuk (Astuti, 2017).

2.4. Uji Morfologi

2.4.1. Makroskopis

Pengamatan morfologi koloni bakteri yang telah murni dilakukan dengan melihat bentuk koloni, bentuk tepian koloni, dan warna koloni (Nasution *et al.*, 2020).

2.4.2. Mikroskopis

Pengujian gram bakteri dilakukan dengan menyediakan olesan bakteri yang telah difiksasi, kemudian genangi olesan bakteri dengan pewarnaan primer yaitu *kristal violet* selama 1 menit, kemudian kaca objek dimiringkan lalu bilas dengan *aquades*. Setelah itu olesan bakteri digenangi dengan larutan lugol atau iodine selama 2 menit.

Setelah 2 menit olesan bakteri dicuci dengan *alkohol* 95%, sampai warna *kristal violet* tidak terlihat mengalir di kaca objek, kemudian dicuci dengan RO lalu ditiriskan. Olesan bakteri digenangi pewarna safranin selama 30 detik, lalu kaca objek dimiringkan untuk membuang kelebihan safranin, lalu dibilas dengan RO. Kaca objek ditiriskan dan kelebihan air pada objek diserap dengan menggunakan kertas serap. Kemudian diamati dibawah mikroskop (Safriana *et al.*, 2021).

2.5. Uji Kompatibilitas

Uji kompatibilitas isolat bakteri dilakukan dengan metode *paper disk*. Bakteri BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 diinokulasi ke dalam 10 ml media *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30-37°C dengan pengocokan menggunakan *shaker* untuk

memastikan aerasi yang optimal. Ambil isolat bakteri *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 sebanyak 1ml untuk merendam 2 lembar kertas cakram steril pada masing-masing isolatnya, kertas cakram tersebut direndam selama 30 menit didalam LAF.

Uji kompatibilitas dilakukan dengan kombinasi: BEBCK1 (BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4), BEBCK2 (BEBCK3, BEBCK1, dan BEBCK4), BEBCK3 (BEBCK1, BEBCK2, dan BEBCK4), serta BEBCK4 (BEBCK1, BEBCK2, dan BEBCK3). Sebanyak 50 µL dari masing-masing isolat ditambahkan ke cawan petri berisi media NA dan diratakan. Kertas cakram yang telah direndam kemudian ditempelkan ke cawan tersebut dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu ruang. Tidak adanya zona hambatan menandakan isolat kompatibel, sedangkan adanya zona hambatan menunjukkan isolat tidak kompatibel (Indrawati *et al.*, 2023).

2.6. Uji Antagonis

Jamur patogen ditumbuhkan dalam cawan petri selama 5-7 hari, diinokulasikan ditengah cawan media PDA. Isolat bakteri antagonis ditambahkan dengan cara ditorehkan pada jarak 3 cm dari jamur patogen. Setelah inkubasi selama 5-7 hari, efek antagonis bakteri terhadap pertumbuhan miselia jamur patogen diukur dengan membandingkan diameter pertumbuhan jamur pada perlakuan dengan kontrol yang hanya berisi jamur patogen. Hasil uji antagonis akan menunjukkan zona hambat yang dapat diukur dengan rumus (Gusti *et al.*, 2019).

$$P = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan:

P : presentasi penghambat

R1 : rata-rata diameter koloni jamur patogen pada kontrol

R2 : rata-rata diameter koloni jamur patogen pada perlakuan bakteri

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Isolasi Bakteri Dari Produk LifeGrow Endofit

Isolasi mikroorganisme adalah proses pengambilan mikroorganisme dari lingkungan untuk ditumbuhkan dalam medium tertentu, dengan tujuan memisahkan satu jenis mikroba dari yang lain dalam campuran yang beragam. Prinsip isolasi ini melibatkan beberapa faktor penting, termasuk sifat mikroba yang akan diisolasi, asal mikroba, media pertumbuhan yang sesuai, metode inokulasi, serta cara untuk memastikan bahwa mikroba yang terisolasi telah menjadi kultur murni (Jufri, 2020).

Isolasi produk dilakukan dengan metode *spread plate* yang merupakan teknik isolasi mikroba dengan cara menginokulasi kultur mikroba secara pulasan/sebaran di permukaan media agar yang telah memadat. Metode *spread plate* memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah cara inokulasi cukup mudah, dapat diperoleh koloni yang terpisah, dan koloni bakterinya mudah untuk diamati. Sedangkan kekurangan metode ini adalah mudah terjadi kontaminasi bila dalam pengerjaannya kurang aseptis. Setelah itu dilakukan pemurnian dengan metode *streak plate*. Isolasi dengan metode *streak plate* memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lainnya yaitu koloni bakteri yang dihasilkan merupakan koloni tunggal, bakteri yang kontaminasi mudah dibedakan, dan dapat membuat goresan dengan pola tertentu. Pada isolasi bakteri dari produk LifeGrow Endofit dihasilkan 4 isolat murni bakteri jenis *Bacillus* sp. yaitu isolat *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 (Pulungan & Tumangger, 2018).

3.2. Uji Morfologi

3.2.1. Uji Makroskopis

Uji makroskopik merupakan bagian karakterisasi bakteri, pengujian makroskopik bertujuan untuk mencari kekhususan bentuk morfologi dan warna bakteri (Safriana *et al.*, 2021). Uji makroskopik dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar atau tanpa alat. Cara ini dilakukan untuk mengamati warna, bentuk, tepi, elevansi dan tekstur (Handayani *et al.*, 2019). Berikut tabel 1. hasil morfologi bakteri endofit.

Table 1. Morfologi dari bakteri endofit

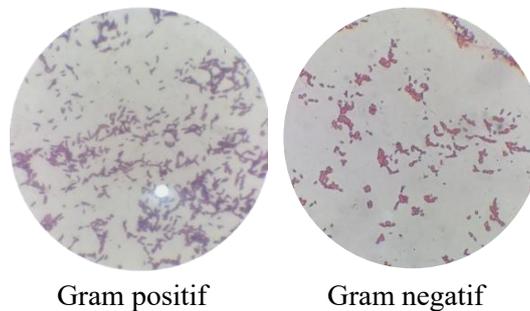
Nama Bakteri	Morfologi
--------------	-----------

	Bentuk	Permukaan	Tepi	Warna
BEBCK1	Bulat kecil	Datar	Bergerigi	Putih susu
BEBCK2	Bulat besar	Datar	Utuh	Putih susu
BEBCK3	Bulat besar	Datar	Bergerigi	Putih susu
BEBCK4	Bulat besar	Datar	Bergerigi	Putih susu

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri endofit yang diperoleh berdasar tabel 1. menunjukkan seluruh isolat bakteri memiliki bentuk bulat berwarna putih susu dengan tepi koloni berbentuk utuh dan bergerigi/berombak serta memiliki permukaan yang datar. Menurut penelitian Puspita *et al.* (2017) menunjukkan karakteristik morfologi koloni yaitu berbentuk bulat, berwarna putih kekuningan, tepian rata, bertekstur kasar dan halus serta elevasi datar atau cembung. Perbedaan bentuk, warna, tepian, dan permukaan pada hasil morfologi disebabkan oleh kombinasi faktor genetik, lingkungan, dan interaksi seluler. Secara genetik, setiap spesies dan strain bakteri memiliki informasi unik yang mengatur morfologi koloninya, dan mutasi genetik dapat mengubah karakteristik tersebut. Kondisi pertumbuhan seperti media, suhu, dan ketersediaan oksigen sangat mempengaruhi pertumbuhan dan bentuk koloni. Selain itu, usia koloni dan interaksi antar bakteri dalam koloni juga berperan dalam menentukan morfologi. Morfologi koloni hanyalah salah satu ciri bakteri, dan identifikasi spesies yang akurat memerlukan metode lain seperti analisis genetik dan biokimia.

3.2.2. Uji Mikroskopis

Hasil morfologi koloni dilanjutkan dengan pengamatan morfologi sel bakteri di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali setelah pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah metode penting untuk identifikasi bakteri (Harahap, 2021).



Gambar 1. Perbedaan warna jenis gram

Table 2. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit

Nama Bakteri	Bentuk Sel	Jenis Gram
BEBCK1	Basil	Positif
BEBCK2	Basil	Negatif
BEBCK3	Basil	Negatif
BEBCK4	Basil	Positif

Berdasarkan tabel 2. dapat diketahui hasil dari uji gram isolat bakteri *Bacillus* sp. BEBCK2 dan BEBCK3 menunjukkan hasil gram negatif dengan ditandai warna merah atau pink. Sedangkan pada isolat *Bacillus* sp. BEBCK1 dan BEBCK4 menunjukkan gram positif ditandai dengan warna ungu atau biru.

Berdasarkan (Gambar 1) bakteri gram positif akan berwarna ungu setelah diwarnai karena menyerap zat warna *kristal violet* yang tetap bertahan meskipun dibilas alkohol. Hal ini karena struktur dinding sel bakteri gram positif yang terdiri dari peptidoglikan yang lebih tebal, sehingga ketika diberi larutan *kristal violet*, zat ini tetap terikat pada dinding sel, dan dinding sel tidak lagi menyerap safranin. Sedangkan pada gram negatif mempunyai kandungan peptidoglikan yang tipis dan kandungan lipid yang tinggi pada bagian membrannya sehingga lipid akan mudah larut saat diberi larutan *alkohol*, sehingga pori-pori dinding sel membesar dan meningkatkan daya larut kompleks *kristal violet* dan menyerap pewarna safranin yang menyebabkan bakteri berwarna merah (Zuraida, 2022).

Bakteri endofit memiliki warna ungu pada gram positif dan warna merah pada gram negatif. Selain itu bakteri endofit dicirikan dengan bentuk sel individu yang berbentuk batang, serta bentuk koloni yang bulat, oval atau tidak beraturan. Bakteri endofit tergolong bakteri gram negatif atau positif (Pulungan & Tumangger, 2018).

3.3. Uji Enzimatis

3.3.1. Uji Amilolitik

Enzim amilase adalah enzim yang dapat diperoleh dari tanaman, hewan, maupun mikroba, dan berperan dalam metabolisme karbohidrat. Dalam pengendalian penyakit tanaman, enzim amilase berfungsi sebagai inhibitor yang banyak ditemukan pada sayuran, umbi, dan sereal, serta secara efektif meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen seperti jamur (Prihatiningsih & Djatmiko, 2016).

Kurniawan (2017) menjelaskan bahwa bakteri yang membentuk zona bening diukur diameternya menggunakan nilai indeks untuk mengidentifikasi isolat dengan rasio tertinggi, yang menunjukkan potensi untuk dioptimasi lebih lanjut. Reaksi enzim ekstraseluler dikategorikan berdasarkan rasio: reaksi kuat jika rasio ≥ 2 , reaksi sedang jika rasio antara 1 dan 2, dan reaksi lemah jika rasio ≤ 1 .



Gambar 2. Contoh hasil positif uji amilolitik

Table 3. Hasil indeks uji amilolitik

Nama Bakteri	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Koloni (cm)	Indeks
BEBCK1	1,15	0,475	1,42
BEBCK2	0,375	1,275	2,4
BEBCK3	0,3	0,9	2
BEBCK4	0,325	0,85	1,62

Hasil perhitungan pada tabel 3. menunjukkan bahwa aktivitas enzim amilase pada bakteri endofit positif, ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah di inkubasi selama 24 jam. Isolat bakteri *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 menunjukkan hasil positif, dengan variasi kemampuan masing-masing isolat yang terlihat dari perbedaan nilai indeks rasio aktivitas enzim. Variasi ini terjadi karena perbedaan genetik antar isolat yang dapat memengaruhi jenis, jumlah, dan efisiensi enzim yang dihasilkan. Kondisi pertumbuhan seperti media, suhu, ketersediaan oksigen, dan waktu inkubasi juga berperan penting dalam produksi dan aktivitas enzim. Selain itu, jenis enzim yang berbeda memiliki tingkat aktivitas yang berbeda pula. Metode pengujian yang digunakan dan interaksi antar isolat juga dapat menyebabkan variasi hasil. Indeks rasio dihitung dengan membagi diameter zona bening dengan diameter kertas atau isolat, bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan enzim. Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa keempat bakteri memiliki indeks tinggi dan sedang (Gambar 2).

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Susilowati *et al* (2015) terbentuknya zona bening mengindikasikan bahwa pati di dalam media telah mengalami degradasi atau diserap oleh koloni bakteri, sehingga menghilangkan kekeruhan yang sebelumnya disebabkan oleh pati. Iodin dalam pengujian ini hanya berperan sebagai indikator untuk memverifikasi keberadaan pati dalam media awal.

3.3.2. Uji Selulolitik

Bakteri selulolitik adalah salah satu mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim selulase. Fungsi bakteri selulolitik yakni untuk hidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih

sederhana yaitu glukosa. Bahan organik yang mengandung selulosa merupakan substrat bagi pertumbuhan bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik secara alami terdapat pada lahan pertanian, hutan, kompos, tanaman yang telah melapuk, atau pada serasah daun (Nurrochman, 2015).

Enzim selulase adalah enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh sel dan dikeluarkan ke media tumbuh, yang berfungsi untuk menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada selulosa.. Bakteri selulolitik mampu menghidrolisis selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa, yang digunakan sebagai sumber nutrisi dan karbon untuk pertumbuhannya. Mikroba menghasilkan enzim selulase saat tumbuh pada media selulosa, seperti *Carboxymethyl Cellulose* (CMC).

CMC merupakan substrat ideal karena dapat menginduksi bakteri untuk memproduksi enzim selulase (Idiawati *et al.*, 2015). Isolat yang menghasilkan zona bening di sekitar koloni dianggap sebagai produsen enzim yang potensial. Oleh karena itu, adanya aktivitas selulolitik dapat dideteksi dengan adanya zona bening di sekitar koloni yang tumbuh pada media CMC. Penambahan cairan Lugol bertujuan untuk memperjelas zona bening yang terbentuk (Idiawati *et al.*, 2015). Berikut ini tabel data hasil indeks bakteri dalam uji selulolitik.

Table 4. Hasil indeks bakteri endofit uji selulolitik

Nama Bakteri	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Zona Koloni (cm)	Indeks
BEBCK1	1,925	0,275	6
BEBCK2	1,7	0,5	2,4
BEBCK3	1,625	0,375	3,3
BEBCK4	1,45	0,375	4,27

Berdasarkan tabel 4. dapat diketahui bahwa isolat *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 menunjukkan hasil positif setelah di inkubasi 48 jam. Hasil uji yang positif ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk. Zona bening ini terjadi karena degradasi selulosa oleh enzim selulase. Besarnya zona bening yang dihasilkan menunjukkan kemampuan bakteri menghasilkan enzim selulase. Berdasarkan indeks dapat diketahui isolat BEBCK1 memiliki indeks 6, isolat BEBCK2 2,4 , isolat BEBCK3 3,3 dan isolat BEBCK4 memiliki indeks 4,27. Dapat disimpulkan keempat bakteri termasuk ke dalam indeks tinggi untuk aktivitas enzimatisnya.



Gambar 3. Contoh hasil positif uji selulolitik

Zona bening (Gambar 3) yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik adalah indikator penting dalam menilai kemampuan degradasi selulosa. Menurut Dar *et al.* (2015), diameter zona bening dapat digunakan sebagai parameter untuk mengevaluasi efektivitas bakteri dalam mendegradasi selulosa. Setiap bakteri selulolitik memiliki kemampuan yang bervariasi dalam memproduksi enzim selulase, yang tergantung pada genetik dan sumber karbon yang mereka gunakan. Perbedaan dalam indeks selulolitik, yang diukur dari zona bening, dapat disebabkan oleh variasi genetik antar isolat, akses terhadap sumber karbon, serta faktor lingkungan seperti pH dan suhu. Kondisi optimal dapat meningkatkan efisiensi proses hidrolisis.

3.3.3. Uji Proteolitik

Protease adalah enzim yang menghidrolisis ikatan peptida dalam protein menjadi oligopeptida dan asam amino. Bakteri proteolitik mampu menghasilkan enzim protease yang berfungsi untuk mengubah protein menjadi asam amino yang lebih sederhana (Zainuddin *et al.*, 2017). Uji proteolitik biasanya dilakukan menggunakan media yang mengandung kasein, seperti *Skim Milk Agar* (SMA), di

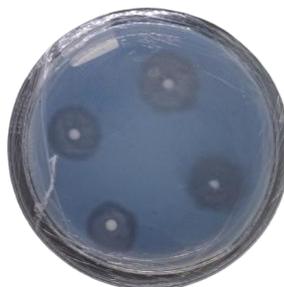
mana aktivitas bakteri dapat diamati melalui pembentukan zona bening di sekitar koloni akibat aktivitas enzim protease. Media ini mengandung laktosa sebagai sumber karbon dan kasein sebagai sumber nitrogen. Kasein sebagai protein utama dalam susu, membentuk struktur misel yang memberi warna putih pada media *Skim Milk Agar* (SMA) (Bath *et al.*, 2016).

Hidrolisis kasein digunakan untuk menunjukkan aktivitas enzim protease yang memutuskan ikatan peptida CO-NH, ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri. Uji kualitatif terhadap bakteri endofit penghasil enzim protease dilakukan dengan mengamati pembentukan zona bening, dan indeks proteolitik dihitung dengan membandingkan diameter zona bening dan diameter koloni bakteri. Ukuran diameter zona bening mencerminkan tingkat aktivitas enzim yang dihasilkan (Efendi *et al.*, 2017).

Table 5. Hasil indeks uji proteolitik

Nama Bakteri	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Zona Koloni (cm)	Indeks
BEBCK1	1,575	0,325	3,84
BEBCK2	1,45	0,2	6,25
BEBCK3	1,75	0,25	6
BEBCK4	1,7	0,325	4,2

Menurut tabel 5. indeks zona bening tertinggi ditunjukkan oleh isolat bakteri BEBCK2 setelah inkubasi selama 24 jam, mencapai 6,25 dan indeks terendah pada BEBCK1 mencapai 3,85. Hasil uji kualitatif pada menunjukkan bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 adalah bakteri proteolitik, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah di inkubasi selama 24 jam. Zona bening ini membuktikan bahwa memiliki enzim protease yang dapat mendegradasi peptida menjadi oligosakarida dan asam amino. Dari tabel diketahui keempat bakteri memiliki indeks tinggi untuk aktivitas enzimnya (Gambar 4).



Gambar 4. Contoh hasil positif uji proteolitik

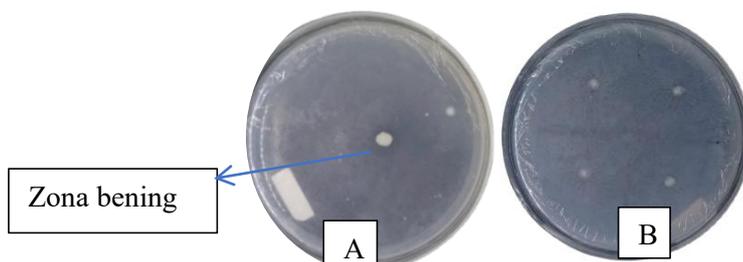
Penelitian oleh Utama *et al.* (2018) menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 memiliki kemampuan untuk mendegradasi protein ekstraseluler seperti kasein dan gelatin melalui sekresi enzim proteolitik. Selama inkubasi, aktivitas enzim proteolitik menyebabkan degradasi protein di sekitar koloni bakteri, yang terlihat dari terbentuknya zona bening atau transparan pada media agar. Zona bening ini muncul akibat hilangnya protein yang sebelumnya membuat media tampak keruh, sehingga berfungsi sebagai indikator visual dari aktivitas enzim proteolitik dan kemampuan dalam mendegradasi protein. Bakteri proteolitik menghasilkan enzim protease ekstraseluler yang dihasilkan di dalam sel dan dilepaskan ke luar. Kasein dalam susu skim berfungsi sebagai substrat bagi enzim tersebut. Hidrolisis kasein digunakan untuk menunjukkan aktivitas hidrolitik enzim protease (Jhon, 2020).

3.3.4. Uji P

Bakteri pelarut fosfat adalah mikroorganisme yang berfungsi menyediakan fosfat bagi tanaman dengan melarutkan fosfat yang sulit larut menjadi bentuk yang mudah diserap. Bakteri pelarut fosfat menghasilkan asam organik yang melarutkan mineral fosfat, dan memproduksi enzim asam fosfatase yang berperan dalam mineralisasi fosfat organik. Proses pelarutan mineral fosfat ini melibatkan produksi asam organik dan enzim asam fosfatase yang meningkatkan ketersediaan fosfat di tanah (Saida *et al.*, 2024).

Keberadaan fosfor sangat penting bagi pertumbuhan tanaman, namun fosfor tidak tersedia dalam bentuk yang dapat digunakan oleh tanaman untuk kebutuhan metabolisme. Oleh karena itu,

mikroorganisme yang dapat melarutkan fosfat diperlukan untuk meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman. Zona bening yang terbentuk pada media pikovskaya menunjukkan kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat. Waktu pembentukan zona bening bervariasi antara isolat, yang diduga disebabkan oleh perbedaan kuantitas dan kualitas asam organik yang dihasilkan oleh masing-masing spesies bakteri. Setiap spesies memiliki kemampuan genetik yang berbeda dalam memproduksi asam organik, yang berpengaruh pada efektivitas pelarutan fosfat (Ginting *et al.*, 2016). Berikut ini merupakan data hasil indeks uji pelarut P.



Gambar 5. Contoh hasil a) positif; b) negatif pada uji P

Table 6. Hasil indeks uji P

Nama Bakteri	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Zona Koloni (cm)	Indeks
BEBCK1	0,5	0,3	0,6
BEBCK2	-	-	-
BEBCK3	-	-	-
BEBCK4	0,3	0,2	0,5

Pengujian kemampuan bakteri endofit dalam melarutkan fosfat dilakukan secara kualitatif dengan menotolkan isolat bakteri langsung ke media pikovskaya. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah diinkubasi selama 5 hari (Gambar 5), yang kemudian digunakan untuk menghitung indeks pelarutan fosfat (IP). Dari 4 isolat endofit yang diuji pada tabel 6., 2 di antaranya menunjukkan kemampuan dalam melarutkan fosfat berdasarkan zona bening yang terbentuk. Dari keempat bakteri dapat diketahui bahwa isolat BEBCK1 memiliki indeks 0,6 dan isolat BEBCK4 memiliki indeks 0,5, sehingga dapat dikatakan isolat tersebut memiliki aktivitas enzim yang rendah.

Terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu menghasilkan asam organik ekstraseluler yang berikatan dengan ion Ca^{2+} dalam bentuk $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ pada media, melepaskan ion H^+ dari H_2PO_4 dan menciptakan area yang lebih jernih dibandingkan area dengan fosfat terikat. Pengukuran Indeks Pelarutan Fosfat (IP) dari dua isolat menunjukkan hasil yang bervariasi, disebabkan oleh perbedaan kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan asam organik, enzim fosfatase, dan fitase.

Berdasarkan gambar dapat diketahui bahwa Isolat *Bacillus* sp. BEBCK1 dan BEBCK4 memiliki zona bening. Sedangkan isolat BEBCK2 dan BEBCK3 tidak terdapat zona bening. Hal ini dapat disebabkan karena isolat BEBCK2 dan BEBCK3 tidak dapat mendegradasi fosfat. Bakteri endofit seharusnya memproduksi enzim fosfatase untuk menghidrolisis senyawa fosfat. Namun, jika tidak terbentuk zona bening, kemungkinan penyebabnya adalah jenis asam organik yang dihasilkan oleh isolat tidak cukup efektif untuk memecah ikatan fosfat-kalsium dalam media pikovskaya, sehingga tidak ada ion fosfat yang terlarut dan zona bening tidak terbentuk.

Selain itu pH media atau suhu inkubasi yang tidak sesuai, menyebabkan aktivitas enzim fosfatase dapat terhambat. Isolat yang tidak membentuk zona bening kemungkinan memiliki kemampuan pelarut fosfat yang rendah. Hal ini, disebabkan oleh variasi dalam karakteristik genetik dan fisiologis antar isolat. Meskipun dikenal sebagai bakteri pelarut fosfat, namun tidak semua isolat memiliki kemampuan yang sama dalam melarutkan fosfat di media pertumbuhan tertentu (Hadi *et al.*, 2022).

3.3.5. Uji Kitinase

Kitinase adalah enzim yang menghidrolisis kitin menjadi kitin oligosakarida atau monomer *N-asetilglukosamin*, dan dapat dihasilkan oleh tanaman, bakteri, dan hewan. Uji kitinolitik bertujuan

untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam mendegradasi kitin, yang menunjukkan sifat kitinolitik. Aktivitas enzim kitinase diuji dengan mengamati zona bening di sekitar koloni bakteri yang diinokulasikan pada media kitin dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 7 hari. Zona lisis yang terbentuk di sekitar koloni menandakan aktivitas enzim; semakin besar zona tersebut, semakin tinggi aktivitas kitinase bakteri yang diuji, sesuai penelitian Suprpto (2016).

Enzim kitinase mampu mendegradasi kitin yang merupakan komponen penyusun dinding sel pada cendawan patogen. Adanya senyawa antibiosis berupa kitin pada media menyebabkan produksi kitinase isolat tersebut terpacu untuk mendegradasi dinding sel jamur. Saat kitin yang ada di media sudah terurai, bakteri kitinolitik mengkolonisasi hifa jamur untuk menguraikan kitin yang ada pada dinding sel jamur. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni disebabkan karena isolat bakteri tersebut menghasilkan enzim kitinase (Butarbutar *et al.*, 2018).

Potensi bakteri endofit dalam memproduksi kitinase ditentukan berdasarkan nisbah antara diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri. Zona bening terbentuk akibat kitinase yang dibebaskan ke luar sel bakteri untuk memecah makromolekul kitin menjadi molekul kitin yang lebih kecil. Berikut tabel data uji kitinolitik.

Table 7. Hasil indeks uji kitinolitik

Nama Bakteri	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Zona Koloni (cm)	Indeks
BEBCK1	0,5	0,3	0,6
BEBCK2	-	-	-
BEBCK3	-	-	-
BEBCK4	0,3	0,2	0,5

Berdasarkan tabel 7. dapat dilihat hasil dari uji kitinolitik. Berdasarkan hasil diatas terlihat bahwa bakteri endofit memiliki hasil negatif setelah diinkubasi selama 7 hari. Kurangnya enzim kitinase spesifik pada untuk memecah kitin diasumsikan sebagai penyebab utama rendahnya aktivitas kitinolitik. Struktur dinding sel yang tebal dan kompleks, serta sistem degradasi peptidoglikan yang berbeda dari kitin, juga berkontribusi terhadap hal ini.

Isolasi bakteri *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 yang ditumbuhkan pada media kitin selama tujuh hari tidak menunjukkan deteksi enzim kitinase. Penelitian sebelumnya oleh Setia (2015) menyatakan bahwa produksi kitinase oleh bakteri kitinolitik dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti sumber nutrisi, suhu, dan pH. Ketidakefektifan dalam hidrolisis kitin dapat disebabkan oleh pH koloid kitin yang tidak sesuai dan adanya kandungan garam dari pencucian yang tidak optimal.

Ketidaktepatan pengukuran pH setelah pencucian dengan aquades diduga menjadi penyebab utama, di mana kandungan garam juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Nafiah *et al.* (2017) menambahkan bahwa konsentrasi garam yang tinggi serta pH yang ekstrem dapat menyebabkan denaturasi protein, sehingga menghilangkan aktivitas enzim. Aktivitas enzim yang optimal dicapai ketika proses produksi dilakukan pada suhu dan pH yang sesuai (Nafiah *et al.*, 2017).

3.3.6. Uji K

Bakteri pelarut kalium adalah mikroorganisme yang dapat memecah ikatan kalium pada mineral tertentu. Uji pelarut kalium dilakukan dengan media alexandrov untuk mengukur kemampuan isolat bakteri dalam melarutkan kalium, dengan parameter yang diukur mencakup pertumbuhan koloni dan indeks penghambat selama inkubasi 7 hari (Tanjung & Febriani, 2023). Di Indonesia, mineral kalium seperti mika dan K-feldspar sulit larut dalam air dan memerlukan proses pelapukan yang lama untuk melepaskan unsur kalium agar dapat diserap tanaman. Oleh karena itu, pemanfaatan K-feldspar sebagai pupuk kalium memerlukan metode yang dapat mempercepat pelepasan kalium, salah satunya dengan memanfaatkan bakteri pelarut kalium untuk meningkatkan ketersediaan unsur hara di dalam tanah. (Sattar *et al.*, 2019).

Mikroba yang terdapat di rizosfer berperan penting dalam siklus kalium (K) dan proses pelarutannya. Inokulasi mikroba pelarut K dapat meningkatkan kelarutan kalium yang sulit larut dan hasil panen tanaman (Meena *et al.*, 2015). Selain kemampuan melarutkan kalium, mikroba ini juga dapat menghasilkan hormon pertumbuhan dan siderofor. Proses pelarutan feldspar oleh mikroba

terjadi melalui produksi asam organik seperti asam oksalat, asam sitrat, asam malat, asam asetat, dan asam laktat.

Penelitian oleh Setiawati & Mutmainnah (2016) menunjukkan bahwa isolat yang digunakan menghasilkan asam sitrat dan asam malat. Asam organik ini merupakan mekanisme utama yang meningkatkan ketersediaan kalium, baik melalui mekanisme proton atau ligan-mediator, maupun melalui pembentukan kompleks dalam larutan. Berikut merupakan tabel hasil indeks pertumbuhan bakteri endofit pada uji K.

Table 8. Hasil indeks uji K

Nama Bakteri	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Zona Koloni (cm)	Indeks
BEBCK1	-	-	-
BEBCK2	-	-	-
BEBCK3	-	-	-
BEBCK4	-	-	-

Berdasarkan tabel 8. dapat diketahui bahwa bakteri *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 tidak terdapat zona bening. Tidak adanya zona bening pada uji pelarutan kalium pada isolat *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 setelah diinkubasi 7 hari dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Hal ini mungkin menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak memproduksi enzim yang diperlukan untuk melarutkan kalium. Kondisi lingkungan yang tidak mendukung, seperti pH media yang tidak tepat atau kekurangan nutrisi, juga dapat memengaruhi aktivitas bakteri. Selain itu, beberapa isolat mungkin memiliki potensi enzimatis yang rendah atau tidak memiliki gen yang diperlukan untuk menghasilkan enzim pelarut kalium. Tidak semua isolat memiliki kemampuan yang sama dalam melarutkan kalium, misalnya jika bakteri tidak berada dalam fase logaritmik pertumbuhan yang optimal, maka produksi enzim dapat terhambat.

3.3.7. Uji Lipolitik

Bakteri lipolitik adalah mikroorganisme yang memerlukan konsentrasi lemak minimal untuk pertumbuhannya dan memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim lipase. Enzim ini berfungsi untuk mengkatalisis hidrolisis lemak menjadi asam lemak dan gliserol, yang merupakan sumber energi dan karbon penting bagi bakteri tersebut (Chairunnisa *et al.*, 2019).

Dalam penelitian, *Tween-80* sering digunakan sebagai komponen utama dalam media lipolitik selektif. *Tween-80* tidak hanya berfungsi untuk menguji kemampuan bakteri dalam mendegradasi lipid, tetapi juga sebagai sumber nutrisi bagi bakteri lipolitik. Jika bakteri dapat menghidrolisis *Tween-80*, menunjukkan kemampuan mereka untuk menguraikan minyak (Mazhar *et al.*, 2018).

Menurut Khurniyati *et al.* (2022), pengukuran diameter zona bening dilakukan dengan membandingkan diameter terendah dan tertinggi untuk menilai efektivitas bakteri dalam menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan mikroorganisme lain. Rosdi *et al.* (2022) menjelaskan bahwa indeks aktivitas lipolitik dihitung dengan membagi diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri, memberikan gambaran tentang kemampuan degradasi lipid dari berbagai isolat bakteri lipolitik. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri menunjukkan aktivitas enzim lipase yang memecah lemak menjadi asam lemak dan gliserol, menciptakan zona transparan. Berikut data hasil indeks pada uji lipolitik

Table 9. Hasil indeks uji lipolitik

Nama Bakteri	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Zona Koloni (cm)	Indeks
BEBCK1	-	-	-
BEBCK2	-	-	-
BEBCK3	-	-	-
BEBCK4	-	-	-

Berdasarkan tabel 9. menunjukkan hasil bahwa uji lipolitik pada isolat *Bacillus* sp. BEBCK1, BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 yang telah di inkubasi selama 5 hari tidak terdapat zona bening atau kuning. Ketidakhadiran zona bening pada pengujian lipolitik untuk isolat *Bacillus* sp. BEBCK1,

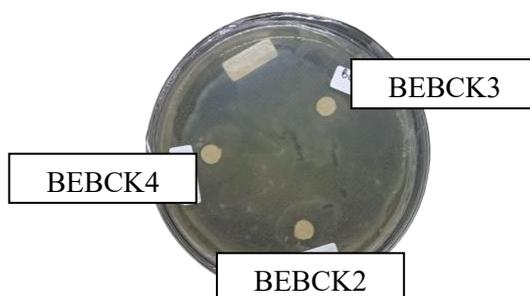
BEBCK2, BEBCK3, dan BEBCK4 menunjukkan bahwa bakteri tersebut mungkin tidak memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim lipase atau mengalami hambatan dalam proses produksinya.

Tidak adanya zona bening pada uji lipolitik menunjukkan bahwa bakteri tersebut mungkin tidak memproduksi enzim lipase atau produksinya terhambat. Menurut Astuti (2017), beberapa faktor dapat menyebabkan hal ini, yaitu kondisi pertumbuhan yang tidak optimal, pemilihan media yang kurang tepat, atau karakteristik spesifik dari strain bakteri yang tidak menunjukkan kemampuan lipolitik yang signifikan. Waktu inkubasi yang tidak tepat dapat mempengaruhi hasil pengujian lipolitik. Jika waktu inkubasi terlalu singkat, enzim tidak memiliki cukup waktu untuk bekerja, sehingga zona bening yang diharapkan tidak terbentuk.

Dalam fase pertumbuhan, waktu inkubasi yang tidak memadai dapat mengakibatkan jumlah bakteri yang rendah dan produksi enzim yang tidak mencukupi untuk mempengaruhi lingkungan sekitarnya. Sebaliknya, waktu inkubasi yang terlalu lama dapat menurunkan aktivitas enzim. Kontaminasi juga dapat menghambat pertumbuhan dan memengaruhi kemampuan enzim lipase dalam menghidrolisis lemak. Kehadiran bakteri lain di media yang sama dapat menyebabkan persaingan untuk sumber daya, mengurangi peluang untuk berkembang dan menghasilkan enzim yang diperlukan. Selain itu, bakteri kontaminan mungkin memiliki enzim lipolitik tetapi tidak menghasilkan zona bening yang jelas, menyulitkan interpretasi hasil pengujian.

3.4. Uji Kompatibilitas

Kompatibilitas bakteri adalah asosiasi antara dua genus atau spesies bakteri tertentu yang tidak saling mengganggu satu sama lainnya, akan tetapi kegiatan masing-masing genus atau spesies justru saling menguntungkan, serta berbagi sumber nutrisi yang sama dalam media hidup yang sama (Asri & Zulaika, 2016). Interaksi bakteri yang berasal dari endofit tanaman, memiliki sifat netralisme, simbiosis, dan komensalisme. Konsorsium bakteri akan kompatibel jika tidak ada zona penghambatan antar isolat bakteri (Sarkar & Chourasia, 2017). Penelitian ini diharapkan dapat menjadi parameter untuk mendapatkan isolat bakteri termofilik yang kompatibel untuk dijadikan konsorsium dalam menghasilkan enzim xilanase. Berikut ini tabel hasil uji kompatibilitas isolat bakteri



Gambar 6. Contoh uji kompatibilitas
Table 10. Hasil uji kompatibilitas

Nama Bakteri	BEBCK1	BEBCK2	BEBCK3	BEBCK4
BEBCK1		+	+	+
BEBCK2	+		+	-
BEBCK3	-	+		-
BEBCK4	+	+	+	

Berdasarkan tabel 10. dapat disimpulkan bahwa keempat isolat bakteri saling kompatibel sehingga dapat digabungkan menjadi 1 konsorsium. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rifai *et al.* (2020), yang menyatakan bahwa kombinasi bakteri endofit dianggap kompatibel jika satu bakteri dapat tumbuh bersama dengan bakteri lainnya tanpa mengganggu aktivitas satu sama lain. Konsorsium bakteri endofit yang saling kooperatif dan bersinergi akan menentukan kualitas produk yang dihasilkan. Bakteri yang tergabung dalam suatu komunitas harus memiliki hubungan kooperatif, kemensalisme, dan mutualisme. Campuran bakteri ini memiliki keuntungan karena fungsi metabolisme masing-masing saling melengkapi dalam komunitas tersebut (Gambar 6).

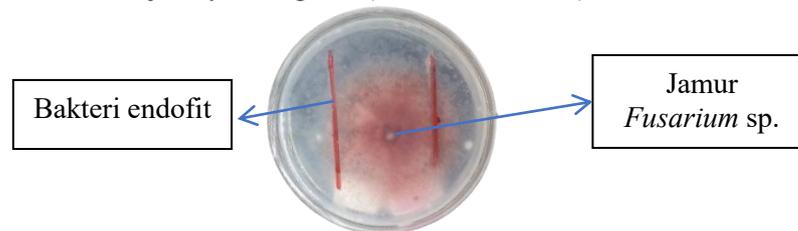
3.5. Uji Antagonis

Uji antagonisme dilakukan dengan mengkulturkan koloni dari biakan murni bakteri endofit dengan jamur *Fusarium* sp. pada suatu cawan petri yang berisi media PDA. Kedua koloni tersebut diletak secara berhadapan. Kemudian diamati zona hambat dari bakteri endofit dan jamur tersebut. Berikut data hasil uji antagonis dengan jamur *Fusarium* sp.

Table 11. Hasil uji antagonis bakteri endofit dengan *Fusarium* sp.

Nama Bakteri	R1	R2	Presentasi Penghambat(%)
BEBCK1	-	-	-
BEBCK2	-	-	-
BEBCK3	-	-	-
BEBCK4	-	-	-

Berdasarkan tabel 11. dapat diketahui bahwa uji antagonis tidak memiliki zona bening. Uji antagonis dari isolat dengan *Fusarium* sp. tidak terjadi antagonis (Gambar 7). Hal ini diasumsikan bahwa bakteri yang ada di dalam produk merupakan hasil isolasi dari tanaman cabai yang tidak terkena penyakit *Fusarium* sp. akan tetapi disebabkan oleh jamur *Phytophthora* dan *Colletotrichum*. Hal tersebut menyebabkan tidak terjadinya antagonis (Gusti *et al.*, 2019).



Gambar 7. Contoh uji antagonis bakteri endofit dengan jamur *Fusarium* sp.

Hasil negatif dapat disebabkan oleh bakteri yang tidak mampu mengeluarkan enzim yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium* sp. Berdasarkan uji enzimatis tidak dapat memproduksi kitinase yang berperan penting dalam mendegradasi kitin, komponen utama dinding sel jamur, yang memungkinkan bakteri untuk mengganggu integritas struktural jamur tersebut. Tanpa produksi kitinase yang memadai, tidak dapat menguraikan dinding sel *Fusarium* sp., sehingga pertumbuhan jamur tetap tidak terhambat. Selain itu, pelarut P dan pelarut K juga berkontribusi dengan memfasilitasi interaksi antara bakteri dan jamur, serta meningkatkan bioavailabilitas nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri (Hastuti, 2017).

Lipase berfungsi dalam memecah lipid yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri dan menciptakan lingkungan yang kurang mendukung bagi jamur. Oleh karena itu, ketidakmampuan dalam memproduksi enzim-enzim ini secara signifikan mengurangi efektivitasnya sebagai agen pengendali hayati terhadap *Fusarium* sp., sehingga penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi kondisi optimal yang dapat meningkatkan produksi enzim tersebut (Chairunnisa *et al.*, 2019).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari penelitian tersebut diperoleh bahwa bakteri produk LifeGrow Endofit tidak menunjukkan antagonisme dengan jamur *Fusarium* sp. Sedangkan pada uji kompatibilitas ke empat isolat bakteri tersebut saling kompatibel dan bersinergi.

5. Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT Biotek Cipta Kreasi yang telah menyediakan fasilitas dan bimbingan selama pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada dosen Prodi Bioteknologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta yang telah membimbing dan memberi masukan serta arahan. Tidak lupa kami sampaikan terima kasih kepada semua pihak yang berkontribusi baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Asri, A. C., & Zulaika, E. (2016). Sinergisme antar isolat *Azotobacter* yang dikonsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 5(2), 2357-3520.
- Astuti, D. (2017). Pengaruh Media dan Kondisi Pertumbuhan Terhadap Aktivitas Lipolitik Bakteri. *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 6(2), 123-130.
- Bath, A., Pratama, R., & Sari, D. (2016). Karakteristik Kasein dan Perannya dalam Nutrisi Susu. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 9(2), 123-130. DOI: 10.24042/jitp.v9i2.7890.
- Butarbutar, R., Marwan, H., & Mulyati, S. (2018). Eksplorasi *Bacillus* spp. dari rizosfer tanaman karet (*Hevea brasiliensis*) dan potensinya sebagai agens hayati jamur akar putih (*Rigidoporus* sp.). *Jurnal Agroecotania*, 1(2), 31-41.
- Chairunnisa, A., Fardiaz, D., & Widiastuti, T. (2019). Karakterisasi Bakteri Lipolitik dan Aktivitas Lipase dari Isolat Bakteri yang Ditemukan di Limbah Cair. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains*, 11(2), 45-52. DOI: 10.24042/jbb.v11i2.1234.
- Dar, A. M., Pawar, K. D., Jadhav, J. P., & Pandit, R. S. (2015). *Isolation of cellulolytic bacteria from the gastrointestinal tract of Achatina fulica (Gastropoda: Pulmonata) and their evaluation for cellulose biodegradation. International Biodeterioration and Biodegradation*, 98, 73–80.
- Desiana, S. R., Noor, A., & Mariana. (2023). Uji ANTAGONIS *Bacillus* spp. DAN *Pseudomonas* KELOMPOK FLUORESCENS DALAM MENGHAMBAT PERKEMBANGAN CENDAWAN *Sclerotium rolfsii* PENYEBAB BUSUK BATANG PADA TANAMAN KACANG TANAH. *Seminar Nasional Pertanian Pesisir*, 2(1):460-474.
- Efendi, M., Sari, D., & Rahman, A. (2017). Indeks Aktivitas Proteolitik pada Isolat Bakteri Proteolitik. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 9(2), 67-75. DOI: 10.24042/jip.v9i2.5678.
- Fidalia, L. (2018). Efektivitas kelompok tani dalam meningkatkan pendapatan usaha tani cabai merah (*Capsicum annuum L*) dan jagung (*Zea mays*) di Desa Margototo Kecamatan Metro Kibang Kabupaten Lampung Timur. (*Skripsi Sarjana, Universitas Lampung*, 2018). Diakses dari http://digilib.unila.ac.id/view/creators/Lindi_fidalia=3A1014023072=3A=3A.html.
- Ginting, S., Rukmi, M. G. I., & Kusdiyantini, E. (2016). Kemampuan bakteri pelarut fosfat dalam meningkatkan ketersediaan fosfor untuk tanaman. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 11(1), 1-9.
- Gusti, N. P., Gusti, N. A., Trisna, A. P., Made, I. W. (2019). Isolasi dan seleksi Bakteri Antagonis Sebagai Alternatif Penyakit Layu Stroberi. *Jurnal Agroekoteknologi*, 8(2):256-264.
- Hadi, W. R., Stella, R. S., & Sipriyadi. (2022). Kemampuan Bakteri Endofit Pelarut Fosfat Dari Tumbuhan Akar Kuning. *Kaunyah: Jurnal Biologi*, 12(2), 123-130. doi:10.15408/kaunyah.v12i2.17632.
- Handayani, F., Apriliana, A., & Natalia, H. (2019). Karakterisasi dan skrining fitokimia simplisia daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macracarpa Jack*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(1), 49-58.
- Harahap, D. G. S., Ariyani, N., Rudy, H., Nur, A. Y., & Endik, D., N. (2021). Dasar-dasar Mikrobiologi dan Penerapannya. Bandung: *Widina Bhakti Persada Bandung*
- Hastuti, U. S. (2017). Antagonisme antara Kapang Antagonis dan Kapang Pratogen. *UMMPress*.
- Heriyanto, H. (2019). KAJIAN PENGENDALIAN PENYAKIT LAYU *Fusarium oxysporum* DENGAN *Trichoderma* sp. PADA TANAMAN CABAI. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 26(2), 26–35.
- Idiawati, N., Harfinda, E. M., & Arianie, L. (2015). Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* pada Ampas Tahu. *Jurnal Natur Indonesia*, 16(1), 1-9.
- Irdawati, Matondang, I., Advinda, L., & Anhar, A. (2023). *Compatibility Test Consortium of Thermophilic Bacteria Producing Xylanase Enzym from The Hot Water of Mudiak Sapan (MS18, MSS15, MSS11, MS16). Jurnal Biologi Tropis*, 23(2), 198 – 202.
- Jhon, C. K. S., & Sukmawati. (2018). *Identification and characterization of PrTK-2 bacterial isolat producing extracellular protease enzyme from rubber seeds tempeh. Bioscience*, 2(1), 79-88. <https://doi.org/10.24036/0202041108255-0-00>
- Jufri, R. F. (2020). *Microbial isolation. Journal La Lifesci*, 1(1), 18-23
- Khurniyati, N., Rahmawati, A., & Iskandar, A. (2022). Analisis Kemampuan Isolat Bakteri Lipolitik dalam Mendegradasi Minyak. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 13(1), 14-22. DOI: 10.24042/jial.v13i1.20452.

- Kurniawan, R. (2017). Sensitivitas daun *Rhizophora* sp. terhadap bakteri *Edwardsiella tarda*[Skripsi]. *Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru*, 59 .
- Mazhar, S., Rahman, A., & Sari, D. (2018). Peran *Tween-80* dalam Aktivitas Lipolitik Bakteri. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains*, 10(2), 123-130. DOI: 10.24042/jbb.v10i2.5678.
- Meena, V. S., Meena, H. N., & Meena, R. K. (2015). *Potassium-solubilizing microorganisms: Diversity, distribution, and role in agriculture. Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15(2), 261-275.
- Monggoot, S., Pichaitam, T., Tanapichatsakul, C., dan Pripdeevech, P. (2018). *Antibacterial Potential of Secondary Metabolites Produced by Aspergillus sp., an Endophyte of Mitrephora wangii. Archives of Microbiology*.
- Nafiah, Pujiyanto, & Raharjo. (2017). Isolasi Dan Uji Aktivitas Kitinase Isolat Bakteri Dari Kawasan Geotermal Dieng. *Bioma*, 19(1), 22-29.
- Nasution, Y., Shafwan, A., Chairani, F., & Wulandari. (2020). Isolasi Dan Identifikasi Biokimia Bakteri Asal Sungai Batang Gadis Sumatera Utara. *Jurnal Biosains*, 6(3), 109-114.
- Pamungkas, S. A., Puspita, I. D., & Ustadi, U. (2023). Pengaruh pH, suhu dan jenis substrat terhadap aktivitas kitinase RNT9. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 19(1), 29-39.
- Prihatiningsih, N., & Djatmiko, H. A. (2016). Enzim amilase sebagai komponen antagonis *Bacillus subtilis* B315 terhadap *Ralstonia solanacearum* kentang. *Jurnal HPT Tropika*, 16(1), 10-16. <https://jhpttropika.fp.unila.ac.id/index.php/jhpttropika/article/view/38>
- Pulungan, A. S. S., & Tumangger, D. E. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil enzim katalase dari daun buasbuas (*Premna pubescens* Blume). *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 5(1), 71-80.
- Puspita, F., Ali, M., & Pratama, R. (2017). Isolasi dan karakterisasi morfologi dan fisiologi bakteri endofitik dari tanaman kelapa. *AL-KAUNIYAH: Jurnal Biologi*, 15(1), 155-161.
- Putra, I. M. T. M., Phabiola, T. A., & Suniti, N. W. (2019). Pengendalian Penyakit Layu *Fusarium oxysporum* f.sp. capsici pada Tanaman Cabai Rawit *Capsicum frutescens* di Rumah Kaca dengan *Trichoderma* sp yang Ditambahkan pada Kompos. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 8(1), 103–117.
- Rifai, M.R., Widowati, H., dan Sutanto, A. (2020). Sinergisme dan antagonisme beberapa jenis isolat bakteri yang dikonsorsiumkan. *Biolova*, 1(1): 21-26.
- Rosdi, A., Fitria, N., & Sari, D. (2022). Pengukuran Indeks Aktivitas Lipolitik pada Isolat Bakteri Lipolitik. *Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*, 6(1), 1-13. DOI: 10.24042/jpbs.v6i1.20452.
- Safriana, Andilala, Fatimah, C., & Samran. (2021). Profil Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Kedondong Pagar (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) sebagai Tanaman Obat. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 19(2), 226–230.
- Saida, N., Samsul, dan Edy. (2024). Isoasi dan uji aktivitas pelarut fosfat dari Rhizosfer tanaman padi (*oryza sativa*) pada fase vegetatif dan generatif. *Jurnal Agrotek*, 8(2):147-155.
- Sarkar, P., & Chourasia, R. (2017). *Bioconversion of organic solid wastes into biofortified compost using a microbial consortium. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 6(4), 321–334. <https://doi.org/10.1007/s40093-017-0180-8>
- Sastrahidayat, I. R. (2017). Penyakit Tumbuhan yang Disebabkan oleh Jamur. Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Sattar, A., Naveed, M., Ali, M., Zahir, Z. A., Nadeem, S. M., Yaseen, M., Meena, V. S., Farooq, M., Singh, R., Rahman, M., & Meena, H. N. (2019). *Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: A review. Applied Soil Ecology*, 133, 46–59.
- Setia, & Suharjo. (2015). Chitinolytic assay and identification of bacteria isolatd from shrimp waste based on 16S rDNA Sequences. *Advances in Microbiology*, 5(1), 541-548.
- Setiawati, W., & Mutmainnah, L. (2016). Produksi asam sitrat oleh isolat mikroorganisme. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 11(2), 123-135.
- Suprpto, Sudarno, & Istikhara. (2016). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Kitinolitik Yang Terdapat Pada Cangkang Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 8(1), 16-25.

- Susilowati , Mardhiah, & Riyani. (2015). Analisis Aktivitas Enzim Amilase Yang Berasal Dari Bakteri Tanah Di Kawasan Universitas Jambi. *Prosiding Semirata bidang MIPA BKS-PTN Barat*, 5(8), 359 - 367.
- Tanjung, A., & Febriani, R. (2023). Uji Kemampuan Bakteri Pelarut Kalium Menggunakan Media Alexandrov Agar. *Jurnal Agroteknologi*, 15(1), 45-52. DOI: 10.24036/jagrotek.v15i1.123
- Utama, R., Sari, D., & Rahman, A. (2018). Kemampuan Degradasi Protein Ekstraseluler oleh Isolat *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 10(2), 55-62. DOI: 10.24042/jpb.v10i2.1234.
- Zainuddin, A., Rahmawati, D., & Sari, D. (2017). Karakterisasi Bakteri Proteolitik dari Limbah Pertanian. *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 9(2), 45-53. DOI: 10.24042/jpb.v9i2.1234.
- Zalila, K., I., Afif, B., Hacina, A. Sameh, S. Zina, N. dan Slim, T. (2016). *Antagonistic Activity of Bacillus spp. against Plant Pathogens and Their Potential Use in Biological Control. Journal of Biological Control*, 10(3), 1-10.
- Zuraida Hanum, Y. (2022). Mikrobiologi Pangan Hasil Peternakan. *Syiah Kuala University*