

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ejournal3.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Kitinolitik dari Akar Cabai (*Capsicum annuum* L.) dan Aktivitas Antagonistiknya terhadap *Fusarium oxysporum*

Isolation and Identification of Chitinolytic Endophytic Bacteria from Chili Pepper Roots (*Capsicum annuum* L.) and Their Antagonistic Activity against *Fusarium oxysporum*

Ade Yuni Kartika Gultom¹, Idramsa Idramsa², Wahdini Pane³, Joice Pangaribuan⁴, Annisa Sepriani Nasution⁵, Josiva Risromanna Panjaitan⁶, Santi Grace Panjaitan⁷

^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Jalan Willem Iskandar/Pasar V, Medan Estate, Kecamatan Percut Sei Tuan, Deli Serdang, Sumatera Utara 20221.

*Email: adeyunigultom@gmail.com

INTISARI

Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) merupakan tanaman hortikultura yang termasuk dalam famili *Solanaceae* dan banyak dimanfaatkan sehingga bernilai jual tinggi. Namun produksi masih rendah salah satunya disebabkan keberadaan jamur patogen *Fusarium oxysporum*. Teknik untuk mengatasi permasalahan ini yaitu dengan penggunaan aktivitas enzim kitinase bakteri kitinolitik endofit. Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu mengisolasi dan karakterisasi bakteri kitinolitik endofit dari akar cabai yang berpotensi sebagai agen pengendali hayati. Desain penelitian merupakan deskriptif kualitatif dengan melakukan isolasi bakteri dan karakterisasi secara makroskopik, dan secara fenotipik dengan pengujian biokimia serta genotipik dengan metode utama yaitu amplifikasi DNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR), sekuensing gen 16s rRNA, analisis BLAST berdasarkan NCBI, serta analisis filogenetik menggunakan MEGA XI. Selain itu, melakukan perhitungan indeks kitinolitik bakteri di media koloidal kitin serta persentase zona hambat yang terbentuk pada uji antagonis secara dualculture. Hasil penelitian ini menunjukkan isolat CAL1 yang memiliki nilai indeks kitinolitik tertinggi yaitu 0,24 diikuti dengan isolat CAL2 yang memiliki nilai indeks kitinolitik yaitu 0,20, dan CAL1 memiliki persentase daya hambat tertinggi terhadap jamur yaitu sebesar 35% (skala 2) serta diikuti oleh isolat CAL2 memiliki persentase daya hambat terhadap jamur yaitu sebesar 17% (skala 1). Isolat CAL1 dilanjutkan dengan karakterisasi hingga tahap spesies dan merupakan bakteri *Bacillus cereus* dengan kemiripan 99.65% dengan *bootstrap* sebesar 97%..

Kata kunci : Jamur patogen, Enzim kitinase, *Bacillus cereus*, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), *Gen 16s rRNA*.

ABSTRACT

The red chili pepper (*Capsicum annuum* L.) is a horticultural plant belonging to the family *Solanaceae* and is widely utilized, giving it high economic value. However, its production remains low partly due to infection by the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. One technique to address this issue is through the use of chitinase enzyme activity from endophytic chitinolytic bacteria. The research design is descriptive qualitative, isolate and characterize endophytic chitinolytic bacteria from chili roots with potential as biological control agents. The research design included procedures for bacterial isolation and characterization, both macroscopically and phenotypically through biochemical tests,

well as genotypically using DNA amplification via Polymerase Chain Reaction (PCR), 16S rRNA gene sequencing, BLAST analysis based on NCBI data, and phylogenetic analysis using MEGA XI software. In addition, the chitinolytic index of the bacterial isolates was calculated using colloidal chitin media, and the inhibition percentage was determined through dual-culture antagonistic assays. The results showed that isolate CAL1 exhibited the highest chitinolytic index value of 0.24, followed by isolate CAL2 with an index value of 0.20. Isolate CAL1 also demonstrated the highest antifungal inhibition percentage of 35% (scale 2), followed by isolate CAL2 with 17% (scale 1). Further characterization of isolate CAL1 revealed that it belongs to *Bacillus cereus*, showing 99.65% similarity with a bootstrap value of 97%.

Keyword: Pathogenic fungi, Chitinase enzyme, *Bacillus cereus*, Polymerase Chain Reaction (PCR), Gen 16s rRNA.

PENDAHULUAN

Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang tergolong dalam famili *Solanaceae* dan banyak dimanfaatkan serta dikonsumsi sehingga bernilai jual tinggi (Khoerunisa *et al.*, 2024). Cabai merah dibutuhkan oleh berbagai kalangan sebagai bahan pelengkap makanan, bumbu masak, bahan dan sebagainya. Berdasarkan kebutuhan tersebut maka permintaan pasokan cabai terus mengalami peningkatan (Polii *et al.*, 2019). Namun produksi cabai merah masih belum mencukupi permintaan pasar di Indonesia sehingga masih dilakukan kegiatan impor dari luar negeri (Wisnujati & Siswati, 2021). Berdasarkan tingginya permintaan tanaman cabai oleh masyarakat tersebut menjadi faktor yang menyebabkan petani terus membudidayakan cabai tanpa memperhatikan internal maupun eksternal seperti faktor lingkungan yang menyebabkan berkurangnya produksi cabai di Indonesia. Faktor-faktor yang menyebabkan menurunnya produksi cabai antara lain rendahnya kesuburan tanah, tingginya penguapan air akibat suhu tinggi, dan kerusakan akibat organisme pengganggu tanaman (OPT) (Polii *et al.*, 2019). Organisme pengganggu tanaman yang menjadi penyebab munculnya penyakit pada tanaman cabai meliputi cendawan, virus, dan bakteri.

Salah satu contoh organisme yang menyebabkan daya hasil cabai rendah yaitu keberadaan jamur *F. oxysporum*. Jamur patogen ini sangat berbahaya karena dapat menginfeksi tanaman cabai sejak fase perkecambahan hingga tahap pertumbuhan dewasa bahkan menyebabkan kematian pada tanaman cabai (Ihkwanisa *et al.*, 2023). Jamur *F. oxysporum* adalah jamur yang berkembang di tanah dan dapat menyebar dari satu tanaman sakit ke tanaman lainnya. Infeksi jamur ini dikenal sebagai patogen yang ditularkan melalui tanah, namun tidak hanya menimbulkan gejala pada akar tanaman cabai, tetapi juga menyerang organ lain seperti batang, daun, bunga, dan buah (Prasetya *et al.*, 2018). Petani melakukan upaya dalam menangani penyebaran jamur penyebab penyakit yaitu dengan penggunaan fungisida kimia, namun kegiatan tersebut dapat merusak lingkungan sekitar (Sihotang *et al.*, 2023). Selain itu, memungkinkan terjadinya resistensi terhadap organisme pengganggu tanaman dan menyebabkan tertinggalnya residu kimia juga menjadi salah satu kelemahan penggunaan fungisida kimia tersebut (Jauhari & Majid, 2019). Oleh karena itu, agen pengendali hayati merupakan pilihan yang tepat untuk mengatasi permasalahan ini.

Bakteri kitinolitik endofit dilaporkan menjadi Bakteri endofit penghasil enzim kitinase dilaporkan berpotensi digunakan sebagai agen pengendali hayati karena mampu memberikan perlindungan terhadap infeksi patogen pada tanaman (Sihombing *et al.*, 2019). Kelompok bakteri ini menghasilkan enzim kitinase yang berfungsi menguraikan kitin yaitu biopolimer utama penyusun dinding sel jamur sehingga aktivitasnya dapat menghambat pertumbuhan patogen jamur tersebut. Selain itu, bakteri kitinolitik diketahui dapat hidup secara endofitik di jaringan akar berbagai jenis tanaman seperti semangka, kentang, dan cabai merah (Prasetya *et al.*, 2018).

Eksplorasi bakteri endofit yang berasal dari akar cabai merah (*C. annuum* L.) penting dilakukan karena mikroorganisme endofit umumnya memiliki spesifisitas terhadap tanaman inangnya baik dalam

hal kemampuan kolonisasi maupun pengaruh fisiologis yang diberikan. Sari *et al.* (2018) melaporkan bahwa isolat bakteri endofit dari akar cabai menunjukkan efektivitas yang berbeda dibandingkan isolat yang berasal dari tanaman jagung. Temuan ini mengindikasikan bahwa asal inang isolat berperan dalam menentukan kemampuan adaptasi dan interaksi bakteri dengan jaringan tanaman. Selanjutnya, penelitian oleh Manik *et al.* (2021) menunjukkan bahwa isolat endofit dari akar cabai merah memiliki kapasitas tinggi dalam menghasilkan hormon auksin sehingga lebih sesuai untuk mendukung pertumbuhan tanaman cabai sebagai inang alaminya. Hasil tersebut sejalan dengan laporan Sembiring *et al.* (2019) yang menemukan bahwa *Bacillus subtilis* endofit mampu meningkatkan pertumbuhan serta hasil panen cabai merah, menandakan adanya adaptasi fisiologis spesifik endofit terhadap sistem perakaran cabai. Dengan demikian, eksplorasi bakteri endofit dari akar cabai merah memiliki nilai strategis karena mikroorganisme yang berasal dari inang sejenis cenderung menunjukkan kompatibilitas fisiologis dan aktivitas antagonistik yang lebih efektif terhadap patogen spesifik cabai dibandingkan dengan isolat dari tanaman lain.

Penelitian yang dilakukan oleh Prasetya *et al.* (2018) menunjukkan bahwa pertumbuhan *F. oxysporum* dapat ditekan melalui aktivitas bakteri endofit kitinolitik yang hidup pada sistem perakaran tanaman bawang merah. Selanjutnya, Novitasari *et al.* (2020) melaporkan bahwa beberapa isolat bakteri endofit menunjukkan potensi dalam menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* secara *in vitro* yang mengindikasikan adanya aktivitas antagonistik potensial untuk pengendalian penyakit vaskular pada tanaman bawang merah. Hasil sejalan juga diperoleh oleh Sihombing *et al.* (2022), yang meneliti isolat endofit dari akar cabai dan menemukan kemampuan penghambatan terhadap *F. oxysporum* pada uji *in vitro*. Selain itu, Wahyuni dan Fitriani (2024) mengemukakan bahwa formulasi bakteri endofit asal akar cabai merah mampu menekan perkembangan *F. oxysporum*. Keseluruhan temuan tersebut mendukung hipotesis bahwa aktivitas antagonistik bakteri endofit berkorelasi dengan produksi enzim hidrolitik yang berperan dalam degradasi dinding sel jamur serta kompetisi mikroba di rhizosfer, sehingga bakteri tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen pengendali hayati yang ramah lingkungan terhadap *F. oxysporum*.

Penggunaan bakteri kitinolitik mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen tersebut sehingga produksi cabai tidak mengalami gangguan. Adapun tujuan penelitian ini yaitu untuk mengisolasi bakteri kitinolitik endofit dari akar cabai dan melihat kemampuan bakteri tersebut dalam menghambat pertumbuhan jamur *F. oxysporum* berdasarkan aktivitas kitinolitik yang dimilikinya. Selain itu, dilakukan karakterisasi terhadap bakteri kitinolitik endofit yang berhasil diisolasi dengan pengamatan secara makroskopik, mikroskopik, uji biokimia serta secara molekuler dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan gen 16s rRNA. Meskipun beberapa penelitian telah melaporkan potensi bakteri endofit dari berbagai tanaman dalam menghambat *F. oxysporum*, informasi mengenai bakteri endofit kitinolitik yang diisolasi langsung dari akar cabai (*C. annuum* L.) serta karakterisasi molekulernya masih terbatas, khususnya dari agroekosistem Sumatera Utara.

BAHAN DAN METODE

Penelitian merupakan deskriptif kualitatif dengan melakukan isolasi bakteri dan karakterisasi secara makroskopik, dan secara fenotipik dengan pengujian biokimia serta genotipik dengan metode utama yaitu amplifikasi DNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR), sekuensing gen 16s rRNA, analisis BLAST berdasarkan *database* NCBI, serta analisis filogenetik menggunakan MEGA XI. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Maret hingga September 2025. Penelitian ini dilakukan pada 3 tempat berbeda yaitu tahap pengambilan sampel akar tanaman cabai organik dilakukan di Desa Parmaksian, Kabupaten Toba Samosir, lalu untuk tahap isolasi, pengujian antagonis, serta pengujian fenotipik akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan. Selanjutnya, pengujian genotipik akan dilakukan di PT Saraswanti Indo Genetech (SIG), Kota Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

Sampel pada penelitian ini yaitu berupa akar tanaman cabai merah (*C. annuum* L.) yang diperoleh dari Desa Pangombusan, Kec. Parmaksian, Toba, Sumatera Utara. Jamur patogen *F. oxysporum* diperoleh dari Green Laboratory March Gallery. Bakteri endofit diisolasi dari akar cabai dan dilakukan pengukuran indeks kitinolitik untuk memastikan bahwa bakteri yang diisolasi merupakan bakteri kitinolitik. Adapun kriteria yang dipilih yaitu akar utama dan lateral yang memiliki perakaran sehat, panjang dan lebat, daun berwarna hijau dengan permukaan yang halus dan lebar, tidak menunjukkan adanya penyakit seperti layu atau bercak-bercak. Kedua bagian ini merupakan tempat yang ideal untuk kolonisasi oleh mikroorganisme endofit, termasuk bakteri kitinolitik, karena mereka memiliki akses langsung ke lingkungan tanah yang kaya akan bahan organik seperti kitin yang dapat diurai oleh bakteri kitinolitik.

Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit kitinolitik diawali dengan sterilisasi permukaan akar cabai. Prosedur sterilisasi digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan memodifikasi metode menurut Pakaya *et al.* (2022), yaitu akar direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit sambil digoyangkan secara perlahan, kemudian dicelupkan ke dalam larutan hipoklorit 1% selama 5 menit, dan selanjutnya direndam kembali dalam alkohol 70% selama 30 detik. Setelah itu, akar dibilas menggunakan akuades steril selama ± 1 menit dengan pengulangan sebanyak lima kali. Sampel akar yang telah disterilisasi kemudian dikeringkan dan dilakukan pengenceran. Ujung akar sepanjang 1 cm dipotong dan dihancurkan menggunakan alu steril, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL akuades steril dan dihomogenkan dengan vortex. Suspensi yang terbentuk dibiarkan beberapa saat hingga partikel jaringan akar mengendap, selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga mencapai 10^{-7} . Suspensi hasil pengenceran 10^{-5} hingga 10^{-7} masing-masing sebanyak 1 mL dituang ke dalam cawan petri steril dan dicampurkan dengan media Nutrient Agar (NA) yang telah disiapkan. Media kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Isolat bakteri endofit yang tumbuh selanjutnya dipisahkan dan dimurnikan untuk memperoleh kultur murni (Anggara, 2014).

Pengamatan morfologi bakteri kitinolitik endofit

Karakterisasi bakteri kitinolitik endofit dilakukan dengan pengamatan makroskopis terhadap morfologi dan pertumbuhan koloni serta terhadap bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni, dan pewarnaan gram koloni (Kurnia *et al.*, 2023).

Pengamatan Aktivitas Kitinolitik

dapat diuji dengan menggunakan koloidal kitin. Koloidal kitin dibuat dengan melarutkan 10 gram kitin yang diperoleh dari cangkang udang yang telah dikeringkan ke dalam 200 ml HCl pekat dan ditutup serta didiamkan pada suhu 4°C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan penyaringan dengan kertas saring steril hingga meninggalkan fitrat yang kembali dilarutkan dengan 100 ml akuades dingin dan ditambahkan NaOH 12 N hingga PH 7. Kemudian, dilakukan pemisahan filtrat dengan sentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 8000 rpm dengan pengulangan sebanyak dua kali. Setelah didapatkan koloidal kitin maka dilanjutkan dengan pembuatan media agar koloidal kitin menurut Sudin *et al.* (2020) dengan modifikasi yaitu dengan melarutkan 4 gram koloidal kitin ke dalam 5 ml akuades lalu ditambahkan dengan 0,5 gr $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 gr KH_2PO_4 , 7,5 gr agar dan 495 ml akuades. Setelah media telah disterilkan maka dilanjutkan dengan mengambil satu ose isolat bakteri dan menotol pada media tersebut lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C . Setelah itu, diamati zona bening yang terbentuk sebagai parameter aktivitas kitinolitik yang dimilikinya. Uji ini juga dilakukan untuk menentukan indeks kitinolitik masing-masing koloni, yang dihitung dengan membagi diameter zona bening dengan diameter koloni. Indeks Kitinolitik (IK) kurang dari 2 bernilai rendah, sementara Indeks Kitinolitik (IK) lebih besar dari 2 bernilai tinggi (Prasetya *et al.*, 2018).

Uji Antagonis Bakteri Kitinolitik Endofit dengan *F. oxysporum*

Uji antagonisme dilakukan dengan isolat *F. oxysporum* dipindahkan ke media dengan diameter 0,5 cm dan diletakkan pada jarak 3 cm dari tepi cawan. Kemudian, cakram berukuran 0,5 cm direndam selama 1 menit dalam isolat bakteri kitinolitik cair yang telah dibandingkan dengan larutan Mc Farland 0,5 (setara kekeruhan bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) lalu ditempatkan 3 cm dari tepi cawan, di sisi yang berlawanan dengan *F. oxysporum*. Selanjutnya, cawan petri tersebut diinkubasi selama satu minggu dan diamati (Prasetya *et al.*, 2018).

Persentase daya hambat dihitung menggunakan rumus yaitu:

Persentase Daya Hambat= $\frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$

Keterangan:

R1 : Jari-jari pertumbuhan *F. oxysporum* ke arah tepi cawan petri.

R2 : Jari-jari pertumbuhan *F. oxysporum* ke arah bakteri.

Pengamatan Karakteristik Biokimia Bakteri Kitinolitik Endofit

Pengamatan karakteristik fenotipik dilakukan pada isolat bakteri yang paling potensial pada uji antagonis. Pengamatan dengan uji biokimia meliputi uji SIM (*Sulfite Indol Motility*) Merck, uji katalase, uji SCA (*Simon Citrate Agari*) Merck, uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) Oxoid, uji MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*) Merck, serta uji fermentasi gula-gula (Candrawati *et al.*, 2025).

Pengamatan Karakteristik Genotipik Bakteri Kitinolitik Endofit dengan Gen 16s rRNA

dilakukan pada satu isolat bakteri yang paling potensial yaitu dengan isolasi DNA. Sampel dikirimkan ke PT Saraswanti Indo Genetech (SIG), Kota Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Prosedur isolasi DNA dilakukan mengikuti protokol yang sudah diberikan PT SIG. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan metode CTAB yang dimodifikasi. Konsentrasi dan kemurnian DNA dianalisis menggunakan spektrofotometer *NanoDrop* dan elektroforesis gel. Amplifikasi PCR dilakukan dengan primer universal bakteri 27F dan 1492R. Urutan DNA *forward* dan *reverse* diperiksa kualitasnya, kemudian dirakit menjadi kontig, serta dianalisis menggunakan perangkat lunak MEGA 11. Pencarian kesamaan urutan dilakukan dengan BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) terhadap basis data nr menggunakan algoritme megablast. Pohon filogenetik dibangun dengan metode *Neighbor-Joining* (NJ) menggunakan model substitusi *Maximum Composite Likelihood Method* serta *bootstrap resampling* untuk inferensi filogenetik.

HASIL

Karakteristik Makroskopik dan Mikroskopik Bakteri Endofit

Hasil isolasi bakteri endofit pada akar tanaman cabai merah (*C. annuum*) diperoleh sebanyak 15 isolat bakteri. Seluruh isolat bakteri yang berhasil diisolasi kemudian dikarakterisasi menurut Prasetya *et al.* 2018 berdasarkan morfologi koloninya dan dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Pengamatan makroskopik bakteri kitinolitik endofit

Kode isolat	Morfologi koloni					
	Bentuk	Elevasi	Tepi	Pigmentasi	Optik	permukaan
CAL1	Tidak beraturan	Cembung	Bergelombang	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL2	Bulat	Cembung	Rata	Putih/ Krem	Tembus	Halus

Kode isolat	Morfologi koloni					
	Bentuk	Elevasi	Tepi	Pigmentasi	Optik	permukaan
CAL3	Bulat	Cembung	Rata	Putih	cahaya Tidak tembus cahaya	Halus
CAL4	Bulat	Cembung	Rata	Krem/ Kuning	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL5	Tidak beraturan	Cembung	Bergelombang	Krem/ Kuning	Tidak tembus cahaya	Kasar
CAL6	Bulat	Cembung	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL7	Tidak beraturan	Cembung	Berfilamen	Krem/ Kuning	Tembus cahaya	Halus
CAL8	Tidak beraturan	Cembung	Berombak	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL9	Bulat	Datar	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL10	Tidak beraturan	Cembung	Berombak	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL11	Bulat	Datar	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL12	Bulat	Cembung	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL13	Bulat	Cembung	Rata	Krem/ Kuning	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL14	Bulat	Cembung	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus
CAL15	Tidak beraturan	Datar	Berombak	Putih	Tidak tembus	Halus

Pengujian dilanjutkan dengan pengamatan mikroskopik yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bentuk sel, warna sel, dan pewarnaan gram. Adapun hasil pengamatan mikroskopik bakteri endofit disajikan pada Tabel 2 berikut.

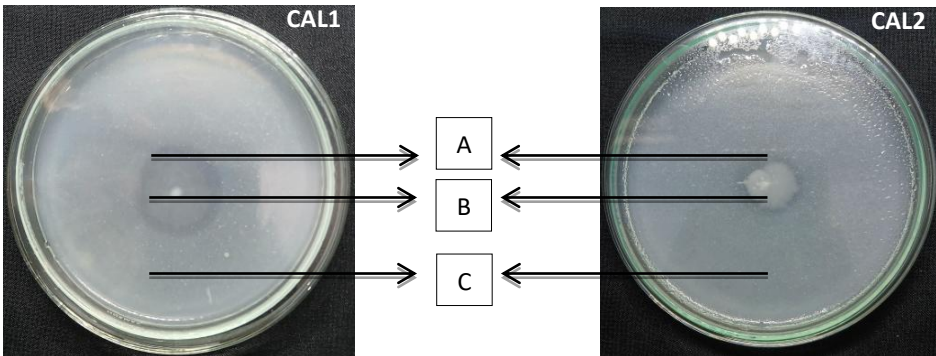
Tabel 2. Hasil pengamatan mikroskopik bakteri endofit

Kode isolat	Pengamatan mikroskopik		
	Gram	Bentuk	Warna
CAL1	+	Basil	Ungu
CAL2	+	Kokkus	Ungu
CAL3	+	Kokkus	Ungu
CAL4	+	Basil	Ungu
CAL5	+	Basil	Ungu
CAL6	+	Kokkus	Ungu
CAL7	+	Kokkus	Ungu
CAL8	-	Kokkus	Merah
CAL9	-	Kokkus	Merah
CAL10	+	Kokkus	Ungu
CAL11	+	Kokkus	Ungu
CAL12	-	Kokkus	Merah
CAL13	+	Kokkus	Ungu
CAL14	-	Kokkus	Merah
CAL15	+	Kokkus	Ungu

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram pada Tabel 2, terdapat sebanyak 11 isolat termasuk Gram positif ditandai dengan warna ungu, sedangkan 4 isolat termasuk Gram negatif yang ditandai dengan warna merah.

Aktivitas Kitinolitik Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit yang telah diamati secara mikroskopik kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas kitinolitik dengan menumbuhkan bakteri pada media koloidal kitin sehingga indeks kitinolitik endofit dapat dihitung. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan hanya terdapat dua isolat yaitu meliputi CAL1 dan CAL2 yang dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Aktivitas kitinolitik bakteri endofit akar cabai; (a) zona bening; (b) koloni bakteri; (c) media koloidal kitin uji daya hambat.

Adapun perhitungan indeks kitinolitik dari hasil pengamatan aktivitas kitinolitik pada 15 isolat bakteri yaitu terdapat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil aktivitas kitinolitik bakteri endofit

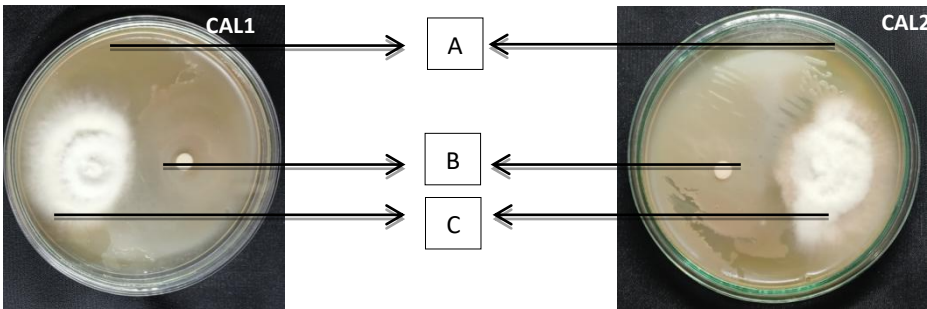
Kode Isolat	Diameter Total	Diameter Koloni (cm)	Zona Bening (cm)	Indeks kitinolitik	Keterangan
CAL1	2,609	2,1	0,509	0,24	Rendah
CAL2	2,093	1,744	0,349	0,20	Rendah
CAL3	-	-	-	-	-

Kode Isolat	Diameter Total	Diameter Koloni (cm)	Zona Bening (cm)	Indeks kitinolitik	Keterangan
CAL4	-	-	-	-	-
CAL5	-	-	-	-	-
CAL6	-	-	-	-	-
CAL7	-	-	-	-	-
CAL8	-	-	-	-	-
CAL9	-	-	-	-	-
CAL10	-	-	-	-	-
CAL11	-	-	-	-	-
CAL12	-	-	-	-	-
CAL13	-	-	-	-	-
CAL14	-	-	-	-	-
CAL15	-	-	-	-	-

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 3 didapatkan hanya 2 isolat bakteri endofit yaitu CAL1 dan CAL2 yang menunjukkan aktivitas kitinolitik, ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri pada media koloidal kitin. Pengukuran zona bening dan diameter koloni bakteri dilakukan menggunakan jangka sorong digital. Adapun indeks kitinolitik CAL1 yaitu sebesar 0,24 dan CAL2 sebesar 0,20.

Uji Antagonis

Terhadap 2 isolat yang memiliki aktvitas kitinolitik dilanjutkan dengan pengujian antagonis terhadap jamur *F.oxysporum* untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen tersebut. Adapun hasil pengujian antagonis disajikan pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Hasil uji antagonis antara bakteri endofit kitinolitik dengan *F. oxysporum* ; (a) media PDA; (b) kertas cakram berisi suspensi bakteri kitinolitik endofit; (c) jamur patogen *F. oxysporum*

Adapun perhitungan persentase daya hambat terhadap 2 isolat potensial tersebut disajikan pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Hasil uji antagonis antara bakteri endofit kitinolitik dengan <i>F. oxysporum</i>				
Kode Isolat	Jari-jari <i>F.oxysporum</i> ke arah tepi cawan	Jari-jari <i>F.oxysporum</i> ke arah bakteri	Persentase Daya Hambat (%)	Skala
CAL1	2,355	1,535	34,8	2
CAL2	1,836	1,525	16,9	1

Berdasarkan hasil uji antagonis yang disajikan pada Tabel 4, diperoleh dua isolat, yakni CAL1 dan CAL2, yang menunjukkan kemampuan dalam menekan pertumbuhan *F.oxysporum*. Berdasarkan

perhitungan di atas didapatkan persentase daya hambat CAL1 sebesar 34,8% (skala 2) dan CAL2 yaitu sebesar 16,9% (skala 1).

Karakteristik Biokimia Bakteri Kitinolitik Endofit

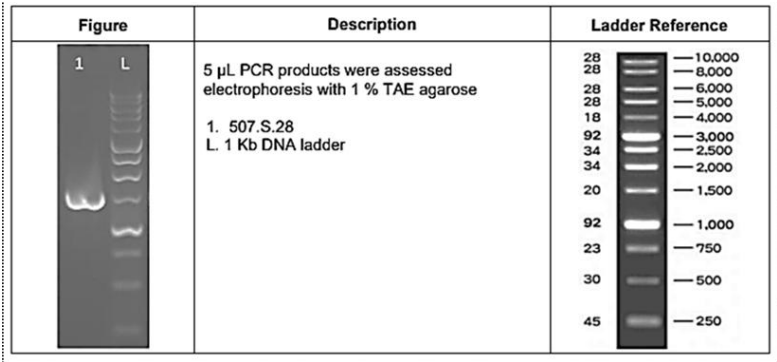
Terhadap 2 isolat yang telah melalui pengujian antagonis terhadap jamur *F.oxysporum* dilanjutkan dengan karakterisasi fenotipik berdasarkan uji biokimia. Adapun hasil pengujian biokimia disajikan pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Hasil uji biokimia							
Kode isolat	Uji biokimia						
	SIM		Sitrat	Katalase	TSIA	MR	VP
	H ₂ S	Motil					
CAL1	-	+	+	+	K/A	-	+
CAL2	-	-	-	+	K/K	-	-

Keterangan:
SIM= Sulfide Indole Motility
TSIA= Triple Sugar Iron Agar
MR= Methyl Red Voges Proskauer
K= Alkalis/ basa (warna merah)
A= Asam (warna kuning)
+= Positif (terjadi perubahan)
- = Negatif (tidak terjadi perubahan)

Karakteristik Genotipik Bakteri Kitinolitik Endofit dengan Gen 16s rRNA

Berdasarkan hasil uji antagonis sebelumnya, isolat CAL1 memiliki persentase daya hambat tertinggi. Oleh karena itu, pengujian genotipik dengan metode PCR menggunakan Gen 16s rRNA. Adapun hasil karakteristik genotipik dimulai dengan amplifikasi DNA yang disajikan pada Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Hasil elektroforesis isolat CAL1

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan tebal produk PCR yang berupa pita tunggal yaitu mendakati 1500 bp (*base pair*) yang telah disesuaikan dan dibandingkan dengan marker DNA. Besar ukuran yang dihasilkan ini sesuai dengan target amplifikasi gen 16s rRNA bakteri yaitu berkisar antara 1500-1600 bp. Adapun hasil visualisasi elektroforesis di atas menunjukkan pita yang berbentuk garis tebal sebagai tanda bahwa proses ekstraksi DNA memiliki konsentrasi yang tinggi. Adapun ukuran panjang pita yang dihasilkan dari sampel CAL1 yaitu 1417 bp (*GenBank Accession Number* PQ559328.1) dengan 1500 pb marker yang kemudian akan disekuensing.

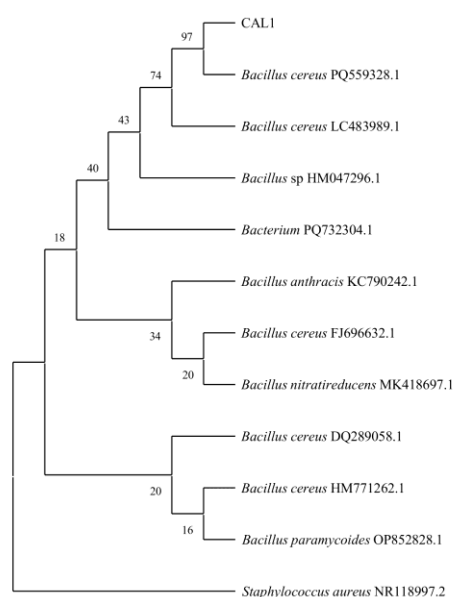
DNA yang telah berhasil diekstraksi serta telah divisualisasi menggunakan elektroforesis dan dilanjutkan dengan proses sekuensing. Data sekuens yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode BLAST pada *database* NCBI. Adapun hasil analisis BLAST berdasarkan data dari NCBI sampel CAL1 yaitu disajikan pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Hasil analisis BLAST dari NCBI

Description	Scientific name	Max score	Query cover	Persentase identity	Accession
<i>Bacillus cereus</i> strain XM6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus cereus</i>	2582	100%	99.65	PQ559328.1
<i>Bacillus cereus</i> MSA 1 gene for 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus cereus</i>	2582	100%	99.58	LC483989.1
<i>Bacillus cereus</i> isolate HKS 2-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus cereus</i>	2577	100%	99.58	DQ289058.1
<i>Bacillus cereus</i> BPH33 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus cereus</i>	2577	100%	99.58	HM771262.1
<i>Bacterium</i> strain SR-9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacterium</i>	2577	100%	99.58	PQ732304.1
<i>Bacillus anthracis</i> strain LN12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus anthracis</i>	2577	100%	99.58	KC790242.1
<i>Bacillus cereus</i> strain BA6-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus cereus</i>	2577	100%	99.58	FJ696632.1
<i>Bacillus</i> sp. 3-CPA-15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus</i> sp. 3-CPA-15	2577	100%	99.58	HM047296.1
<i>Bacillus nitratireducens</i> strain DSS7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus nitratireducens</i>	2577	100%	99.58	MK418697.1
<i>Bacillus paramycooides</i> strain B1-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus paramycooides</i>	2577	100%	99.65	OP852828.1

Data hasil analisis BLAST dari NCBI pada sampel CAL1 dapat dilihat pada Tabel 6 yaitu memiliki *max score* tertinggi sebesar 2582 dan homologi tertinggi yaitu 99.65% terhadap bakteri *Bacillus cereus* strain XM6. Kemudian, nilai homologi tersebut sama dengan spesies *Bacillus paramycooides* strain B1-5 namun memiliki *max score* lebih rendah yaitu sebesar 2577. Sedangkan, pada 8 spesies bakteri lainnya memiliki nilai homologi lebih rendah yaitu 99.85% dan *max score* 2577.

Setelah dilakukan analisis kesesuaian sekuens DNA hasil PCR dengan *database* menggunakan BLAST maka dilanjutkan dengan menyusun pohon filogenetik untuk mengetahui hubungan kekerabatan antara isolat bakteri yang diuji dengan spesies lain yang telah teridentifikasi. Berdasarkan hasil ini maka dapat dilanjutkan dengan menentukan hubungan kekerabatan dengan menggunakan aplikasi MEGA XI. Adapun hasil penyusunan pohon filogenetik dapat dilihat pada Gambar 4 berikut.



Gambar 4. Pohon filogenetik hasil BLAST dari NCBI

Berdasarkan analisis filogenetik gen 16S rRNA sepanjang 1417 bp, isolat bakteri endofit CAL1 menunjukkan kedekatan kekerabatan dengan genus *Bacillus* serta paling dekat dengan spesies *B. cereus* strain XM6 yang ditandai dengan keberadaan di posisi cabang yang sama serta nilai tertinggi. Hal ini sejalan dengan hasil analisis BLAST pada tabel yaitu dapat dilihat bahwa sampel CAL1 memiliki nilai homologi tertinggi yaitu 99.65% dengan spesies *B.cereus*.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit yang ditemukan di bagian akar tanaman cabai berhasil ditemukan 15 isolat. Hal ini sejalan dengan menurut Prasetya *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa sebagian besar bakteri endofit diketahui berasal dari wilayah rizosfer karena bakteri tersebut tertarik mendekati permukaan akar akibat adanya eksudat yang dikeluarkan oleh akar tanaman. Eksudat akar berperan sebagai sinyal kimia yang memicu respons kemotaksis sehingga bakteri bergerak menuju sumber eksudat yaitu sistem perakaran tanaman. Selain itu, bakteri endofit dapat tumbuh dengan baik pada medium NA karena medium ini bersifat kaya nutrisi, mengandung *yeast extract*, pepton, NaCl, dan agar. Kemampuan bakteri endofit untuk tumbuh pada medium NA berkaitan dengan sifat kompleks dari komposisi media yang menyerupai kondisi lingkungan internal tanaman (Hala & Arifin, 2021).

Interaksi antara bakteri endofit dengan tanaman cabai merupakan hubungan mutualistik yang penting untuk meningkatkan performa tanaman. Bakteri endofit memiliki kemampuan untuk mensintesis senyawa pengatur tumbuh tanaman salah satunya yaitu indole-3-asetat (IAA), yang merangsang pembelahan dan pemanjangan sel sehingga mempercepat pertumbuhan akar dan tunas (Noviyanti *et al.*, 2023). Selain itu, bakteri endofit dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman melalui produksi siderofor yang membantu penyerapan zat besi, fiksasi nitrogen, pelarutan fosfat (Sihotang *et al.*, 2025). Bakteri ini juga berperan dalam peningkatan toleransi tanaman terhadap berbagai stres lingkungan, kekeringan, salinitas tidak sesuai, dan serangan patogen dengan memproduksi senyawa antibakteri, antijamur, dan enzim yang menghambat pertumbuhan patogen (Saragih *et al.*, 2023).

Selain manfaat langsung terhadap pertumbuhan, keberadaan bakteri endofit juga memicu respons sistem pertahanan tanaman dengan cara menginduksi resistensi sistemik yang meningkatkan kemampuan tanaman untuk melawan penyakit (Santoyo *et al.*, 2023). Dengan demikian, isolasi bakteri

endofit dari akar cabai tidak hanya membuka peluang untuk eksplorasi keanekaragaman mikroba, tetapi juga potensi aplikasinya dalam pertanian berkelanjutan yang ramah lingkungan.

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram terdapat bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu dan bakteri Gram negatif yang ditandai dengan warna merah. Perbedaan ini berkaitan dengan ketebalan lapisan peptidoglikan pada dinding sel, di mana bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan tebal (20–80 nm) sehingga mampu mempertahankan kristal violet (Dwidjoseputro, 2018), sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis (2–7 nm) yang dilapisi membran luar mengandung LPS, sehingga hanya menyerap safranin dan tampak merah (Kurniawati *et al.*, 2023). Hal ini menunjukkan bahwa peptidoglikan berperan penting tidak hanya dalam struktur dan kelangsungan hidup sel, tetapi juga dalam klasifikasi awal bakteri serta menentukan kerentanannya terhadap antibiotik, terutama golongan β -laktam (Rizqi, 2021). Selain itu, Perbedaan peptidoglikan tersebut menjadi faktor bahwa bakteri Gram positif banyak ditemukan sebagai endofit akar karena memiliki dinding sel yang tersusun hingga $\pm 90\%$ peptidoglikan serta mengandung asam teikoat dan lipoteikoat. Struktur dinding sel yang lebih tebal dan kuat ini membuat bakteri Gram positif lebih tahan terhadap tekanan osmotik, enzim pertahanan tanaman, serta perubahan kondisi di jaringan akar. Keunggulan inilah yang menyebabkan kelompok Gram positif lebih dominan dan lebih mudah berkolonisasi sebagai bakteri endofit dibandingkan bakteri Gram negatif (Yanti *et al.*, 2021).

Selain pewarnaan Gram, hasil pengamatan morfologi menunjukkan dua bentuk sel bakteri, yaitu kokkus (bulat) dan basil (batang). Sebanyak 12 isolat memiliki bentuk kokkus, sedangkan 3 isolat lainnya berbentuk basil. Morfologi sel ini menjadi salah satu karakter fenotipik penting dalam identifikasi bakteri karena berkaitan dengan struktur dinding sel dan pola pembelahan, di mana bakteri kokkus dapat membentuk susunan khas seperti *diplococcus*, *streptococcus*, atau *staphylococcus* tergantung spesiesnya (Dwidjoseputro, 2018).

Isolat bakteri endofit yang telah diamati secara mikroskopik kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas kitinolitik dengan menumbuhkan bakteri pada media koloidal kitin sehingga indeks kitinolitik endofit dapat dihitung. Kedua isolat (CAL1 dan CAL2) yang ditemukan memiliki aktivitas lemah sejalan dengan temuan Prasetya *et al.* (2018) yang menyebutkan bahwa nilai Indeks Kitinolitik (IK) di bawah 2 dikategorikan rendah, sedangkan nilai di atas 2 menunjukkan aktivitas yang tinggi. Indeks kitinolitik yang rendah dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri yang terbatas dalam memproduksi enzim kitinase, jenis kitinase yang dimiliki bakteri, serta tidak adanya kemampuan memproduksi *chitin-binding protein* (CBP) yaitu protein yang berfungsi meningkatkan afinitas enzim terhadap substrat kitin. Rendahnya produksi CBP menyebabkan interaksi enzim-substrat kurang efektif sehingga zona bening yang terbentuk menjadi kecil dan menghasilkan indeks kitinolitik yang rendah (Yamanaka *et al.*, 2022).

Zona bening yang terbentuk pada medium merupakan indikator terjadinya proses degradasi kitin oleh enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri. Enzim kitinase sendiri merupakan enzim ekstraseluler yang berfungsi menghidrolisis kitin yaitu polisakarida utama penyusun dinding sel jamur serta eksoskeleton serangga. Pembentukan zona bening tersebut mengonfirmasi bahwa isolat bakteri memiliki kemampuan menghasilkan enzim yang secara efektif mendegradasi (Agatha *et al.*, 2024).

Aktivitas kitinolitik yang dimiliki oleh bakteri endofit memiliki potensi besar untuk diterapkan dalam bidang pertanian dan bioteknologi terutama sebagai agen biokontrol terhadap patogen tanaman dari kelompok jamur. Enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut berperan penting dalam proses hidrolisis dinding sel jamur patogen yang mengakibatkan terganggunya integritas sel dan terhambatnya pertumbuhan hifa. Mekanisme ini memberikan dasar biologis bagi pemanfaatan bakteri penghasil kitinase sebagai alternatif pengendalian penyakit tanaman yang berkelanjutan. Penelitian yang dilakukan oleh Alifianto *et al.* (2025) mendukung hal tersebut, di mana isolat bakteri endofit asal tanaman cabai yang memiliki aktivitas kitinolitik terbukti mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*, salah satu patogen tular tanah yang menyebabkan kerusakan signifikan pada berbagai tanaman budidaya. Temuan ini menegaskan bahwa kemampuan menghasilkan enzim kitinase

merupakan karakteristik fungsional penting yang memperkuat peran bakteri endofit sebagai agen hayati potensial dalam sistem pertanian ramah lingkungan, menggantikan penggunaan pestisida kimia yang berdampak negatif terhadap ekosistem tanah.

Tidak ditemukannya zona bening di sekitar koloni menunjukkan bahwa pada kondisi pengujian tersebut tidak terdeteksi adanya aktivitas kitinolitik. Zona bening umumnya terbentuk sebagai hasil sekresi enzim kitinolitik oleh sel bakteri ke lingkungan sekitarnya yang berfungsi menguraikan polimer kitin menjadi senyawa dengan ukuran molekul lebih sederhana. Proses degradasi ini memungkinkan bakteri memanfaatkan hasil pemecahan kitin sebagai sumber nutrisi (Sembiring *et al.*, 2021). Dengan demikian, isolat CAL1 dan CAL2 memiliki prospek awal yang baik sebagai sumber agen biokontrol berbasis enzimatik, khususnya dalam pengembangan pupuk hayati atau biofungisida. Aktivitas ini juga menunjukkan bahwa keanekaragaman fungsional bakteri endofit dalam jaringan tanaman tidak hanya mencakup peran pertumbuhan tanaman tetapi juga perlindungan terhadap patogen melalui mekanisme enzimatik.

Adanya aktivitas kitinolitik oleh bakteri endofit menghasilkan persentase daya hambat pada uji antagonis yaitu pada CAL1 sebesar 34,8% (skala 2) dan CAL2 yaitu sebesar 16,9% (skala 1). Skala penghambatan ditetapkan dalam empat kategori, yaitu skala 1 menunjukkan tingkat penghambatan terendah yaitu sebesar 1–25%, skala 2 sebesar 26–50%, skala 3 sebesar 51–75%, dan skala 4 mencerminkan tingkat penghambatan tertinggi yaitu 76–80%. Hasil uji antagonis dengan kategori skala 2 hingga 4 dianggap memiliki potensi yang baik dalam mengendalikan cendawan patogen pada tanaman (Rahma *et al.*, 2021). Selain itu, zona hambat ini merupakan indikasi terdapat senyawa atau enzim yang mampu menekan atau mengganggu pertumbuhan jamur patogen. Aktivitas ini sangat penting, karena *F. oxysporum* dikenal sebagai salah satu patogen tanah yang menyebabkan penyakit layu pada berbagai tanaman hortikultura dan tanaman pangan (Muliani *et al.*, 2023).

Produksi enzim kitinase oleh bakteri kitinolitik merupakan salah satu karakter fisiologis penting yang berpotensi dalam pengendalian hayati terhadap patogen jamur. Prasetya *et al.* (2018) menjelaskan bahwa enzim kitinase berperan dalam menghidrolisis kitin yang terdapat pada dinding sel jamur menjadi senyawa turunan berupa kitin oligosakarida atau N-asetilglukosamin. Selain itu, menurut Nasiroh *et al.* (2015), interaksi antara koloni jamur dan bakteri dapat memicu induksi produksi enzim kitinase pada bakteri. Pada kondisi tersebut, bakteri memanfaatkan kitin yang terdapat pada hifa jamur sebagai sumber karbon sehingga mengakibatkan terjadinya lisis hifa serta kerusakan pada struktur dinding sel jamur. Menurut Prasetya *et al.* (2018), mekanisme penghambatan jamur oleh bakteri kitinolitik berlangsung melalui dua tahapan. Pada tahap awal, bakteri mensintesis enzim kitinase yang berperan dalam merusak komponen struktural utama jamur, yaitu dinding sel. Kerusakan pada dinding sel ini menyebabkan perubahan permeabilitas membran, yang selanjutnya mengganggu sistem transportasi di dalam sel jamur. Gangguan tersebut menyebabkan proses metabolisme tidak berjalan optimal dan akhirnya menekan pertumbuhan hifa jamur secara keseluruhan.

Variasi persentase daya hambat isolat bakteri kitinolitik terhadap *F. oxysporum* berkaitan dengan perbedaan kemampuan masing-masing isolat dalam menghasilkan enzim kitinase (Setiawati *et al.*, 2022). Perbedaan nilai indeks kitinolitik pada setiap isolat menunjukkan adanya variasi tingkat aktivitas enzimatik. Efektivitas penghambatan pertumbuhan jamur juga dipengaruhi oleh jumlah serta jenis enzim kitinase yang disintesis, termasuk kemampuan bakteri dalam menghasilkan protein pengikat kitin (*chitin-binding protein*) yang berperan selama proses degradasi kitin.

Berbagai jenis enzim kitinase menunjukkan perbedaan kemampuan dalam menghidrolisis kitin pada isolat bakteri. Enzim ChiA diketahui memiliki aktivitas hidrolisis paling cepat dibandingkan dengan ChiB dan ChiC, di mana ChiB masih lebih efektif dibandingkan ChiC. Aktivitas ketiga enzim tersebut juga dipengaruhi oleh variasi substrat kitin yang digunakan. ChiA menunjukkan kinerja terbaik dalam menghidrolisis kitin koloidal, sementara ChiC memiliki aktivitas terendah pada substrat ini. Pada kitin padat atau serbuk serta kitosan, ChiA tetap menjadi enzim dengan aktivitas tertinggi, sedangkan ChiB menunjukkan aktivitas paling rendah. Sebaliknya, ChiC memperlihatkan kemampuan lebih baik

dalam menghidrolisis kitin yang larut dalam air maupun glycol chitin, dengan ChiA sebagai enzim yang paling lemah pada jenis substrat tersebut (Sulistiyantini *et al.*, 2023).

Uji biokimia terhadap isolat CAL1 dan CAL2 menunjukkan beragam karakter fisiologis dan biokimia. Hasil uji SIM dinyatakan positif apabila bakteri menunjukkan pertumbuhan yang menyebar dari area tusukan hingga ke permukaan medium, sedangkan hasil negatif ditunjukkan oleh pertumbuhan yang terbatas dan hanya mengikuti jalur tusukan. Motilitas pada bakteri berhubungan erat dengan keberadaan struktur flagel yang berfungsi sebagai organ gerak utama. Flagel dapat terletak di permukaan sel maupun tersembunyi di dalam struktur seluler. Sifat motil ini sering kali menjadi faktor penting dalam menentukan tingkat virulensi bakteri patogen serta berperan dalam hubungan simbiotik mutualisme dengan inang (Abubakar *et al.*, 2020). Selain untuk mengamati motilitas, uji SIM juga digunakan untuk menilai kemampuan bakteri dalam memproduksi gas hidrogen sulfida (H_2S) dari senyawa yang mengandung sulfur seperti tiosulfat atau sistein (Loe *et al.*, 2025). Reaksi positif terhadap produksi H_2S ditandai dengan terbentuknya endapan hitam pada bagian dasar (*butt*) medium sebagai hasil interaksi antara ion sulfida dan ion besi yang terdapat dalam media (Hamida *et al.*, 2024).

Pengujian SCA bertujuan untuk mengamati kemampuan suatu mikroorganisme dalam memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Menurut Shofia *et al.* (2017), bakteri yang mampu menggunakan sitrat akan menyebabkan peningkatan pH pada medium sehingga terjadi perubahan warna dari hijau menjadi biru. Sebaliknya, apabila bakteri tidak dapat memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon, maka pH medium tetap stabil dan warna medium tidak mengalami perubahan yaitu tetap berwarna hijau.

Pengujian katalase dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase yang berfungsi menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya gelembung menunjukkan sedangkan ketiadaan gelembung menandakan hasil negatif (Bahariyanto *et al.*, 2025).

Pengujian menggunakan media TSIA dilakukan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa yang ditandai dengan perubahan warna pada medium. Reaksi positif ditunjukkan oleh perubahan warna medium dari merah menjadi kuning, sedangkan hasil negatif ditandai dengan medium yang tetap berwarna merah. Perubahan ini disebabkan oleh perbedaan sifat asam-basa hasil fermentasi oleh bakteri (Shofia *et al.*, 2023).

Uji MR-VP memiliki dua tujuan utama, yaitu mendeteksi kemampuan bakteri dalam melakukan fermentasi campuran yang menghasilkan asam kuat (uji MR) dan mendeteksi pembentukan asetoin sebagai hasil akhir fermentasi butilen glikol (uji VP). Reaksi positif pada uji MR-VP ditandai dengan terbentuknya cincin atau lapisan berwarna merah pada permukaan medium, sedangkan hasil negatif tidak menunjukkan adanya perubahan warna (Bahariyanto *et al.*, 2025).

Prosedur identifikasi dilanjutkan menggunakan metode PCR dengan gen 16S rRNA yang menghasilkan visualisasi dengan elektroforesis pada isolat CAL1 menunjukkan pita yang tegas dan jelas. Hal ini juga menandakan bahwa kualitas DNA *template* yang diperoleh baik. Semakin tinggi tingkat ketebalan, kejelasan, dan keutuhan DNA yang diperoleh maka kualitas serta kuantitas DNA yang dihasilkan akan semakin baik. Sedangkan sampel dengan kontaminasi atau degradasi menghasilkan pita yang samar atau ganda (Sari *et al.*, 2021). Konsentrasi *template* yang tepat pada penelitian ini memungkinkan enzim DNA polimerase bekerja secara efisien sehingga diperoleh produk amplifikasi yang spesifik dan berlimpah (Suprayogi *et al.*, 2021).

Elektroforesis gel agarosa merupakan metode paling efektif untuk memisahkan fragmen DNA dengan berbagai ukuran, serta gel agarosa merevolusi teknik pemisahan DNA (Lee, 2012). Pada pengujian ini penggunaan gel agarosa 1% TAE juga mendukung pemisahan fragmen DNA dengan ukuran 0,5–5 kb, sehingga fragmen berukuran 1417 bp dapat divisualisasikan dengan jelas. Dengan demikian, keberhasilan amplifikasi ini membuktikan bahwa metode PCR yang digunakan efektif dalam memperbanyak gen target, dan produk PCR yang dihasilkan pun dapat dimanfaatkan untuk sekuensing gen 16S rRNA dan identifikasi filogenetik.

Data hasil sekuensing kemudian diekstraksi untuk divisualisasikan dan diikuti dengan pemilihan segmen DNA yang memiliki kualitas pembacaan paling baik. Selanjutnya, urutan nukleotida dari segmen terpilih Urutan nukleotida dari segmen terpilih (*sequence query*) selanjutnya disalin dan dianalisis menggunakan program BLAST yang tersedia secara daring melalui situs NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Analisis BLAST digunakan untuk membandingkan sekuens hasil penelitian dengan sekuens yang telah tersimpan dalam GenBank sehingga memungkinkan identifikasi spesies bakteri dengan tingkat kesamaan tertinggi terhadap isolat yang dianalisis. Melalui perbandingan ini, dapat diketahui spesies bakteri isolat serta persentase kemiripan urutan DNA dengan spesies pembanding yang terdapat di *database* GenBank.

Dalam hasil analisis sekuensing, *max score* menunjukkan nilai tertinggi yang diperoleh dari proses pensejajaran antara sekuens masukan (*input/query sequence*) dengan sekuens yang terdapat di database berdasarkan perhitungan pada matriks substitusi (*substitution matrix*). *Total score* merupakan akumulasi nilai dari seluruh proses pensejajaran yang terjadi antara sekuens *query* dan sekuens *database* dan dapat berbeda dari *max score* apabila terdapat lebih dari satu hasil sejajar. *Query coverage* menggambarkan persentase panjang sekuens masukan yang sejajar dengan sekuens target pada *database* apabila keseluruhan sekuens masukan sesuai dengan sekuens target maka nilai *coverage* mencapai 100%. Sementara itu, *percentage identity* menunjukkan persentase kesamaan urutan nukleotida antara sekuens *query* dan target yang menjadi indikator tingkat kedekatan genetik antarspesies (Restuati *et al.*, 2021).

Data hasil analisis program BLAST yang diperoleh dari sampel CAL1 dengan *query cover* 100% memiliki *max score* 2582 dan *Percentage identity* 99.65% dengan bakteri *B. cereus* strain XM6. Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa spesies yang sama dengan bakteri *B. cereus*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Restuati *et al.* (2021), jika kemiripan $\geq 93\%$ maka dianggap satu spesies yang sama serta menurut Schloss dan Handelsman (2004), apabila kemiripan maksimum $\geq 97\%$ maka dianggap satu spesies yang sama.

Berdasarkan analisis filogenetik gen 16S rRNA sepanjang 1417 bp, isolat bakteri endofit CAL1 menunjukkan kedekatan kekerabatan dengan genus *Bacillus* serta paling dekat dengan spesies *B. cereus* strain XM6 yang ditandai dengan keberadaan di posisi cabang yang sama serta nilai tertinggi. Hal ini sejalan dengan hasil analisis BLAST pada tabel yaitu dapat dilihat bahwa sampel CAL1 memiliki nilai homologi tertinggi yaitu 99.65% dengan spesies *B. cereus*.

Nilai *bootstrap* berfungsi sebagai indikator tingkat keandalan atau kepercayaan terhadap data yang digunakan dalam konstruksi pohon filogenetik. Semakin rendah nilai *bootstrap*, semakin rendah pula tingkat keyakinan terhadap hasil penyusunan pohon tersebut, sehingga interpretasi hubungan kekerabatan antar sekuen menjadi kurang valid. Pohon filogenetik yang dianggap baik dan memiliki tingkat kepercayaan tinggi umumnya ditunjukkan oleh nilai *bootstrap* yang melebihi 70%, karena mencerminkan kestabilan percabangan dalam analisis filogenetik (Subari *et al.*, 2021). Sehingga dalam hal ini hubungan kekerabatan antara isolat CAL1 dan *B. cereus* dapat dianggap valid secara filogenetik dengan nilai *bootstrap* sebesar 97%. Posisi isolat CAL1 dalam satu klad dengan *B. cereus* menandakan bahwa keduanya memiliki kesamaan sekuens nukleotida dan nenek moyang evolusioner yang sama (*common ancestor*). Hal ini mengindikasikan bahwa isolat CAL1 termasuk ke dalam kelompok *Firmicutes* serta subfilum *Bacillaceae*.

Penggunaan *outgroup* merupakan komponen penting dalam penyusunan pohon filogenetik. Keberadaan *outgroup* berfungsi untuk membedakan antara karakter yang bersifat primitif (plesiomorf) dan karakter yang telah mengalami perubahan evolusioner atau derivat (apomorf) pada kelompok *ingroup*. Selain itu, *outgroup* juga berperan dalam menentukan akar atau titik awal pembentukan pohon filogenetik, sehingga arah evolusi dan hubungan kekerabatan antarspesies dapat diinterpretasikan dengan lebih akurat (Subari *et al.*, 2021). *Staphylococcus aureus* yang digunakan sebagai *outgroup* terpisah jauh dari klad *Bacillus*, menunjukkan jarak genetik yang besar dan menegaskan pemisahan evolusioner antara genus *Bacillus* dan *Staphylococcus*. Pola percabangan ini sesuai dengan laporan

sebelumnya yang menandakan yaitu genus *Bacillus* memiliki hubungan evolusioner yang berbeda dan lebih dekat dengan spesies dalam kelompok *Bacillales* dibandingkan dengan genus lain di kelas yang sama.

KESIMPULAN

1. Sebanyak 15 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari akar tanaman cabai (*C. annuum* L.).
2. Indeks kitinolitik tertinggi terdapat pada isolat CAL1 yaitu 0,24 dengan aktivitas kitinolitik termasuk kategori lemah.
3. Bakteri kitinolitik endofit paling potensial dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *F. oxysporum* adalah *B. cereus* strain XM6.

SARAN

1. Berdasarkan hasil dari penelitian yang sudah dilakukan, penulis merekomendasikan untuk melakukan penelitian lanjutan yaitu pengaplikasian secara *in planta* penggunaan bakteri *B. cereus* strain XM6 untuk menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* dan menjadi agen pengendali hayati serta melakukan uji aktivitas enzimatis kuantitatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, Y., Widayat, H. P., Muzaifa, M., & Mega, F. A. (2020). Isolasi dan identifikasi bakteri asam asetat dari fermentasi kakao Aceh. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*, 24(1), 23-28. <https://doi.org/10.25077/jtpa.24.1.23-28.2020>
- Agatha, C. T., Rasyidah, R., & Mayasari, U. (2024). Penapisan bakteri kitinolitik dari limbah udang sebagai daya hambat terhadap jamur patogen *Fusarium oxysporum*. *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, 7(1), 148-154.
- Alifianto, L. G., Nugraheni, I. A., & Rohmawati, R. (2025). Aktivitas antagonis isolat bakteri endofit cabai dan ciplukan terhadap patogen *Fusarium* sp. dan *Colletotrichum* sp. *AGRIUM: Jurnal Ilmu Pertanian*, 28(1), 1-10. <https://doi.org/10.30596/agrium.v28i1.21342>
- Anggara, B. S. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Hormon Indole Acetic Acid dari Akar Tanaman Ubi Jalar. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 3(3), 161-167.
- Bahariyanto, D. R., Amalo, P., & Pratiwi, R. (2025). Uji makroskopik dan biokimia terhadap *Aeromonas hydrophila* sebagai upaya diagnostik infeksi bakteri pada ikan nila *Oreochromis niloticus*. *JURNAL MEGAPTERA*, 4(1), 21-32. <https://doi.org/10.15578/jmtr.v4i1.15576>
- Candrawati, T. H., Hasbi, N., & Rosyunita, R. (2025). Profile of *Staphylococcus aureus* Originating from Nasal Cavity Swabs of Food Handlers at the University of Mataram Canteen. *Jurnal Biologi Tropis*, 25(2), 1611-1622.
- Dwidjoseputro, D. (2018). *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Hala, Y., & Arifin, A. N. (2021). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari batang dan akar tanaman mimba. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 7(2), 67-76. <https://doi.org/10.26858/ijfs.v7i2.26152>
- Hamida, F., Ambarsari, R., Djuhariah, Y. S., Fahrudin, F., & Sholikha, M. (2024). Kepekaan Enterobacteriaceae Asal Cobek Batu Gado-Gado Terhadap Amoxicillin, Chloramphenicol, dan Tetracycline. *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 17(2), 55-64.
- Jauhari, C., & Majid, A. (2019). Kajian jenis fungisida dan interval aplikasi terhadap perkembangan penyakit antraknosa pada kedelai. *Jurnal Bioindustri (Journal Of Bioindustry)*, 2(1), 307-318. <https://doi.org/10.31326/jbio.v2i1.477>
- Khoerunisa, R., Khamilah, R. J. N. S., Ayuanindya, D. G., Surtikanti, H. K., & Priyandoko, D. (2024). Kandungan senyawa capsaicin dalam cabai (*Capsicum Annuum* L) sebagai anti hama pada sayuran: kajian pustaka. *Holistic: Journal of Tropical Agriculture Sciences*, 1(2). <https://doi.org/10.61511/hjtas.v1i2.2024.354>

- Kurnia, T. I. D., Nurmasari, F., As'ari, H., Ardiyansyah, F., & Arini, V. S. (2023). Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri Endofit Akar Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*). *Jurnal Biosense*, 6(2), 123–130. <https://doi.org/10.36526/biosense.v6i02.3045>
- Kurniawati, A., Hariyanto, T., & Hupitoyo, H. (2023). Potensi bunga telang (*Clitorea ternatea* L.) sebagai pewarna bakteri sederhana berbasis bahan alam ramah lingkungan. *Indonesian Journal of Laboratory*, (3), 153-160. <https://doi.org/10.22146/ijl.v0i3.82305>
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (62), 3923. <https://doi.org/10.3791/3923>
- Loe, F. R., Nugroho, M. P. P., Tangkonda, E., Gelolodo, M. A., & Sanam, M. U. E. (2025). Isolasi dan identifikasi bakteri *Salmonella* sp. pada ayam broiler. *Jurnal Veteriner dan Biomedis*, 3(1), 9-15. <https://doi.org/10.29244/jvetbiomed.3.1.9-15>
- Mela, M., Rahmawati, R., & Mukarlina, M. (2025). Isolation and characterization of bacteria from siam citrus leaves with scab symptoms. *Jurnal Biologi Tropis*, 25(3), 2566-2570.
- Muliani, Y., Asean, H. P., & Amiro, D. F. S. (2023). Aplikasi *Gliocladium virens* miller untuk menekan intensitas *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* schlechtendahl pada tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.) kultivar tanjung-2. *JAGROS: Jurnal Agroteknologi dan Sains (Journal of Agrotechnology Science)*, 8(1), 19-28. <https://doi.org/10.52434/jagros.v8i1.3408>
- Nasiroh, U., Isnawati, & Trimulyono, G. (2015). Aktivitas antifungi *Serratia marcescens* terhadap *Alternaria porri* penyebab penyakit bercak ungu secara in vitro. *LenteraBio*, 4(1), 13–18.
- Nofiyanti, S. S., & Rahayu, Y. S. (2023). Isolasi Bakteri Endofit Akar Tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* L.) sebagai Penghasil Hormon Indole-3-Acetic Acid (IAA). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 12(2), 162-171.
- Nusyirwan, N., Syahada, A. R. (2020). Pengaruh bakteri endofit *Bacillus subtilis* dalam upaya meningkatkan pertumbuhan dan produksi pada tanaman cabai merah (*Capsicum annuum* L.). *JBIO: jurnal biosains*, 6, 2. <https://doi.org/10.24114/jbio.v6i2.15219>
- Pakaya, M. S., Akuba, J., Papeo, D. R. P., Makkulawu, A., & Puspitadewi, A. A. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Akar Pare (*Momordica charantia* L.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1), 301-309. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i1.15536>
- Polii, M. G., Sondakh, T. D., Raintung, J. S., Doodoh, B., & Titah, T. (2019). Kajian teknik budidaya tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.) Kabupaten Minahasa tenggara. *Eugenia*, 25(3), <https://doi.org/10.35791/eug.25.3.2019.31402>
- Prasetya, I. A. W., Rayahu, Y. S., & Trimulyono, G. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri kitinolitik endofit bawang merah (*Allium ascalonicum*) serta potensinya dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *Jurnal LenteraBio*, 7(1), 1.
- Rahma, S. A., Mubarik, N. R., & Manaf, L. A. (2021). Efektivitas penghambatan bakteri kitinolitik terhadap *Fusarium proliferatum*. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi, Teknologi dan Kependidikan* (Vol. 9, No. 2, pp. 260-269).
- Restuati, M., Nasution, M., Pulungan, A. S. S., Pratiwi, N., & Ampera, D. (2021). Molecular characterization of endophyte mushrooms as anti-microbial from blume leaves (*Premna Pubescens*). *Turkish Journal of Physiotherapy and Rehabilitation*, 32(3), 19019-19029.
- Rizqi, P. A. (2021). *Panduan praktikum mikrobiologi dasar*. Surabaya: CV Putri Alffiyah Rizqi.
- Saragih, G., Hidayani, T. R., Mirnandaulia, M., Ginting, C. N., & Fachrial, E. (2023). *Mikroba Endofit dalam Dunia Kesehatan: Manfaat dan Aplikasi*. Publis Penerbit Unpri Press, 1(1), 1-83.
- Sari, D. A., Rasyid, R., & Mayasari, U. (2017). Efektivitas bakteri endofit sebagai pupuk hayati terhadap pertumbuhan dan produksi cabai (*Capsicum annuum* L.). *Jurnal Pertanian Tropik*, 4(1). <https://doi.org/10.32734/jpt.v4i1.3071>

- Sari, F., Widyorini, N., & Sabdaningsih, A. (2021). Isolasi dan identifikasi dengan gen 16S rRNA dari bakteri asosiasi spons kelas *Demospongiae* di perairan Tulamben Bali. *Jurnal Pasir Laut*, 5(2), 110-118. <https://doi.org/10.14710/jpl.2021.49558>
- Sembiring, S. C., Warouw, V., Wullur, S., Bara, R. A., Salaki, M. S., & Ginting, E. L. (2021). Isolation and Screening the Symbiont Bacteria of the Sponge *Drasmodon* sp from Manado Bay, North Sulawesi that Producing Chitinase and Protease. *Jurnal Ilmiah Platax*, 9(1), 123-131.
- Setiawati, U. N. M., AR, M. M., Lestari, M. D., Nukmal, N., Setyaningrum, E., Aeny, T. N., & Arifiyanto, A. (2022). Penapisan Enzim Hidrolase pada Bakteri *Streptomyces* sp. strain I18. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 7(3), 207-214. <https://doi.org/10.24002/biota.v7i3.5179>
- Shofia, Y. R., Agustin, A. L. D., Supriadi, S., & Ningtyas, N. S. I. I. (2023). Deteksi bakteri *Salmonella* sp pada daging ayam broiler yang dijual di Pasar Rakyat Kota Mataram. *Mandalika Veterinary Journal*, 3(1), 35-46. <https://doi.org/10.33394/mvj.v3i1.7726>
- Sihombing, H. I., Pinem, I. M., Safni, I. (2019). Pengujian bakteri endofit asal cabai dalam menekan pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. capsici penyebab penyakit layu *Fusarium* pada cabai. *Jurnal Agroekoteknologi*, 7 (2). <https://doi.org/10.32734/jaet.v7i2,April.21839>
- Sihotang, S., Manurung, M., Halawa, E., Alfazri, I., Tarigan, N., Purba, F., Siregar, Y., & Aldy, M. (2023). Isolasi bakteri endofit pada daun terong ungu (*Solanum melongena* L.). *Agrotekma: Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian*, 7(2), 66-71. <https://doi.org/10.31289/agr.v7i2.10005>
- Sihotang, S., Panggabean, E. L., Alifyah, N., Saragih, N. B., Nasution, L., Halawa, E., & Saragih, R. (2025). Potensi Aplikasi Endofit dalam Agroekosistem Berkelanjutan: Biofertilizer dan Biokontrol Hayati. *Agrotekma: Jurnal Agroteknologi dan Ilmu Pertanian*, 9(2), 80-84. <https://doi.org/10.31289/agr.v9i2.7859>
- Subari, A., Razak, A., Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic analysis of *Rasbora* spp. based on the mitochondrial DNA COI gene in Harapan forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21 (1), 89-94. <http://dx.doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>
- Sudin, S., Sulistijowati, R., & Hermain, R. M. (2020). Penapisan dan pola pertumbuhan bakteri kitinolitik dari cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*). *Jambura Fish Processing Journal*, 2(1), 36-45.
- Sulistiyantini, C., Mustafa, I., & Jatmiko, Y. D. (2023). Isolation of Chitinolytic Bacteria as Biocontrol Agent for Pathogenic Fungi on Cocoa Fruit in Sumbermanjing District, Malang. *The Journal of Experimental Life Science*, 13(1), 29-34. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2023.013.01.05>
- Suprayogi, S., Farid, N., Dewi, P. S., Nugroho, S., & Biotech, M. (2021). *Teknik-Teknik Dasar Bioteknologi*. Universitas Jendral Sudirman.
- Wahyuni, D., & Fitriani, L. (2024). Formulasi dan uji antagonisme bakteri endofit asal akar cabai merah terhadap *Fusarium oxysporum* secara in vitro dan in planta. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi dan Pertanian*, 4(1), 87–95.
- Wisnujati, N. S., & Siswati, E. (2021). Analisis produksi dan produktivitas cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) di Indonesia. *Jurnal Ilmiah Sosio Agribis*, 21(1). <https://doi.org/10.30742/jisa21120211345>
- Yamanaka, D., Suzuki, K., Kimura, M., Oyama, F., & Adachi, Y. (2022). Functionally modified chitotriosidase catalytic domain for chitin detection based on split-luciferase complementation. *Carbohydrate Polymers*, 282, 119125. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119125>
- Yanti, D., Rahmawati, R., & Kurniatuhadi, R. (2021). Karakteristik Morfologis dan Fisiologis Bakteri Endofit dari Akar Napas Tumbuhan *Avicennia marina* (fork) vierh di Mempawah Mangrove Park. *Biologica Samudra*, 3(2), 166-183. <https://doi.org/10.33059/jbs.v2i1.4220>