

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1. Sterilisasi Permukaan Akar

Sterilisasi yang dilakukan pada permukaan akar tanaman cabai untuk untuk menghilangkan mikroorganisme epifit tanpa merusak jaringan akar dan mikroorganisme endofit. Hasil uji keefektifan sterilisasi permukaan akar cabai disajikan pada Gambar 4.1 berikut.



Gambar 4.1. Sterilisasi permukaan akar tanaman cabai memperlihatkan tidak adanya mikroorganisme yang tumbuh setelah diinkubasi selama 24 jam

Berdasarkan Gambar 4.1 diatas menunjukkan air bilasan terakhir dari proses sterilisasi permukaan akar cabai yang ditumbuhkan pada media NA tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroorganisme. Hal ini menunjukkan bahwa proses sterilisasi permukaan efektif menghilangkan mikroorganisme epifit.

4.1.2. Isolasi Bakteri Kitinolitik Endofit Akar Cabai (*Capsicum annuum* L.)

Hasil isolasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai didapatkan 15 isolat. Terdapat 3 isolat dari pengenceran 10^{-5} (1), 3 isolat dari pengenceran 10^{-5} (2), 3 isolat dari pengenceran 10^{-6} (1), 2 isolat dari pengenceran 10^{-6} (2), 2 isolat dari pengenceran 10^{-7} (1), 2 isolat dari pengenceran 10^{-7} (2). Selanjutnya 15 isolat tersebut akan dikarakterisasi secara fenetik berdasarkan karakter makroskopik dan mikroskopik.

4.1.3. Karakteristik Makroskopik dan Mikroskopik Bakteri Endofit

Pengamatan makroskopik dan mikroskopik yang dilakukan terhadap 15 isolat bakteri, adapun hasil meliputi perbedaan bentuk, elevasi, tepi, pigmentasi, optik, dan permukaan, bentuk sel, warna, dan Gram. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1. Karakteristik makroskopik dan makroskopik bakteri endofit akar cabai

Kode isolat	Morfologi koloni								
	Bentuk	Elevasi	Tepi	Pigmentasi	Optik	Permukaan	Bentuk	Warna	Gram
CAL1	Tidak beraturan	Cembung	Berombak	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Basil	Ungu	+
CAL2	Bulat	Cembung	Rata	Putih/Krem	Tembus cahaya	Halus	Kokkus	Ungu	+
CAL3	Bulat	Cembung	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokkus	Ungu	+
CAL4	Bulat	Cembung	Rata	Krem/Kuning	Tidak tembus cahaya	Halus	Basil	Ungu	+
CAL5	Tidak beraturan	Cembung	Berombak	Krem/Kuning	Tidak tembus cahaya	Kasar	Basil	Ungu	+
CAL6	Bulat	Cembung	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokkus	Ungu	+
CAL7	Tidak beraturan	Cembung	Berfilamen	Krem/Kuning	Tembus cahaya	Halus	Kokkus	Ungu	+
CAL8	Tidak beraturan	Cembung	Berombak	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokkus	Merah	-
CAL9	Bulat	Datar	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokkus	Merah	-
CAL10	Tidak beraturan	Cembung	Berombak	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokkus	Ungu	+
CAL11	Bulat	Datar	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokkus	Ungu	+
CAL12	Bulat	Cembung	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokkus	Merah	-

Kode isolat	Morfologi koloni								
	Bentuk	Elevasi	Tepi	Pigmentasi	Optik	Permukaan	Bentuk	Warna	Garis
CAL3	Bulat	Cembung	Rata	Krem/ Kuning	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokus	Ungu	+
CAL4	Bulat	Cembung	Rata	Putih	Tidak tembus cahaya	Halus	Kokus	Merah	-
CAL5	Tidak beraturan	Datar	Berombak	Putih	Tidak tembus	Halus	Kokus	Ungu	+

Keterangan: (Gr): Gram; (+): positif; (-): negatif

Berdasarkan Tabel 4.1 ditemukan morfologi makroskopik dari 15 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari akar tanaman cabai berdasarkan bentuk, elevasi, tepi, pigmentasi, optik, dan permukaan. Berdasarkan bentuk koloni terdapat 9 isolat memiliki bentuk bulat yaitu CAL2, CAL3, CAL4, CAL6, CAL9, CAL11, CAL12, CAL13, dan CAL14, kemudian sebanyak 6 isolat memiliki bentuk tidak beraturan yaitu CAL1, CAL5, CAL7, CAL8, CAL10, dan CAL15. Jika dilihat dari elevasi koloni sebanyak 12 isolat memiliki elevasi cembung yaitu CAL1, CAL2, CAL3, CAL4, CAL5, CAL6, CAL7, CAL8, CAL10, CAL12, CAL13, dan CAL14, serta 3 isolat dengan elevasi datar yaitu CAL9, CAL11, dan CAL15. Berdasarkan tepi koloni terdapat 9 isolat dengan tepi rata yaitu CAL2, CAL3, CAL4, CAL6, CAL9, CAL11, CAL12, CAL13, dan CAL14, dan 2 isolat dengan tepi bergelombang yaitu CAL1 dan CAL5, 3 isolat dengan tepi berombak yaitu CAL8, CAL10, CAL15, serta 1 isolat dengan tepi berfilamen yaitu CAL7. Dari segi pigmentasi, sebanyak 9 isolat dengan warna putih yaitu CAL3, CAL6, CAL8, CAL9, CAL10, CAL11, CAL12, CAL14, dan CAL15, 2 isolat dengan warna putih krem yaitu CAL1 dan CAL2, serta sebanyak 4 isolat dengan warna krem atau kekuningan yaitu CAL4, CAL5, CAL7, dan CAL13. Dilihat dari kejernihan koloni, sebanyak 13 isolat dengan tampilan tidak tembus cahaya yaitu CAL1, CAL3, CAL4, CAL5, CAL6, CAL8, CAL9, CAL10, CAL11, CAL12, CAL13, CAL14, dan CAL15, dan sebanyak 2 isolat dengan tampilan tembus cahaya yaitu CAL2 dan CAL7. Berdasarkan permukaan koloni, sebanyak 14 isolat memiliki permukaan halus yaitu CAL1, CAL2, CAL3, CAL4, CAL6, CAL7, CAL8, CAL9, CAL10, CAL11, CAL12, CAL13, CAL14, dan CAL15, serta 1 isolat yaitu CAL5 memiliki permukaan kasar. Hasil pengamatan mikroskopik terhadap 15 isolat dengan karakter pewarnaan Gram, bentuk sel, dan

warna hasil pewarnaan. Sebanyak 11 isolat menunjukkan warna ungu yang mengindikasikan sifat Gram positif yaitu isolat CAL1, CAL2, CAL3, CAL4, CAL5, CAL6, CAL7, CAL10, CAL11, CAL13, dan CAL15. Sementara itu, terdapat 4 isolat yaitu isolat CAL8, CAL9, CAL12, dan CAL14 yang menunjukkan warna merah dan merupakan ciri dari bakteri Gram negatif.

Dilihat dari bentuk selnya terdapat sebanyak 12 isolat memiliki bentuk kokkus yaitu isolat CAL2, CAL3, CAL6, CAL7, CAL8, CAL9, CAL10, CAL11, CAL12, CAL13, CAL14, dan CAL15. Kemudian, sebanyak 3 isolat yang memiliki bentuk basil yaitu isolat CAL1, CAL4, dan CAL5. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa sebagian besar isolat merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokkus dengan warna ungu sebagai hasil pewarnaan utama, sementara sisanya terdiri dari Gram negatif berbentuk basil dengan warna merah, serta beberapa isolat Gram positif berbentuk basil.

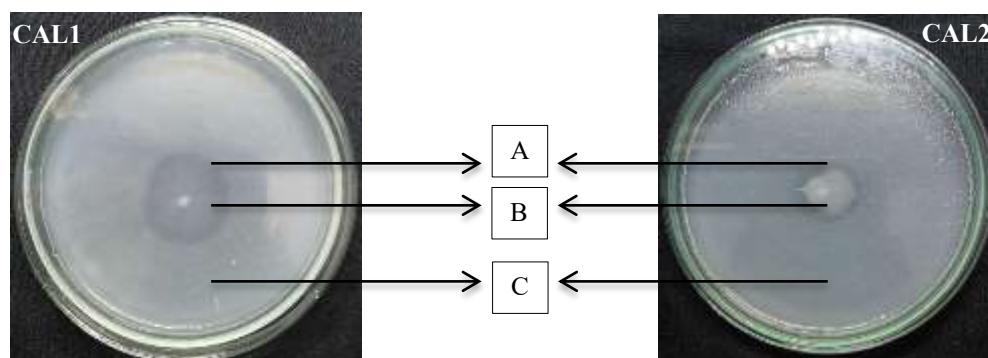
4.1.4. Aktivitas Kitinolitik Bakteri Endofit

Pengamatan dilakukan dengan menumbuhkan 15 isolat bakteri pada media koloidal kitin lalu diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Adapun kemampuan isolat kitinolitik dapat dilihat berdasarkan terbentuknya zona bening pada media tersebut. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4.2 berikut.

Tabel 4.2. Aktivitas kitinolitik bakteri endofit akar cabai

Kode isolat	Diameter total (cm)	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	-	-	-	-	-
CAL4	-	-	-	-	-
CAL5	-	-	-	-	-
CAL6	-	-	-	-	-
CAL7	-	-	-	-	-
CAL8	-	-	-	-	-
CAL9	-	-	-	-	-
CAL10	-	-	-	-	-
CAL11	-	-	-	-	-
CAL12	-	-	-	-	-
CAL13	-	-	-	-	-
CAL14	-	-	-	-	-
CAL15	-	-	-	-	-

Pengujian indeks kitinolitik pada isolat CAL1 dan CAL2 disajikan pada Gambar 4.2 berikut.



Gambar 4.2. Aktivitas kitinolitik bakteri endofit akar cabai; (a) zona bening; (b) koloni bakteri; (c) media koloidal kitin

Berdasarkan (Tabel 4.2 dan Gambar 4.2) Pengukuran zona bening dan diameter koloni bakteri dilakukan menggunakan jangka sorong digital dan terdapat 2 isolat dari jumlah total 15 isolat yang menghasilkan zona bening pada media koloidal kitin. Adapun 2 isolat tersebut yaitu CAL1 dan CAL2. Diameter total CAL1 yaitu berjumlah berjumlah 2,609cm, diameter koloni sebesar 2,1 cm, zona bening berjumlah 0,509 cm, serta didapatkan indeks kitinolitik isolat sebesar 0,24. Sedangkan pada isolat CAL2 menunjukkan nilai lebih tinggi dibandingkan CAL1 yaitu meliputi diameter total yang berjumlah 2,093 cm, diameter koloni sebesar 1,7 cm, zona bening berjumlah 0,349 cm, sehingga didapatkan indeks kitinolitik isolat sebesar 0,20. Kedua isolat tersebut memiliki indeks kitinolitik rendah sesuai dengan standar nilai indeks kitinolitik yaitu di bawah 2 dikategorikan rendah, sedangkan nilai indeks kitinolitik di atas 2 menunjukkan aktivitas kitinolitik yang tinggi.

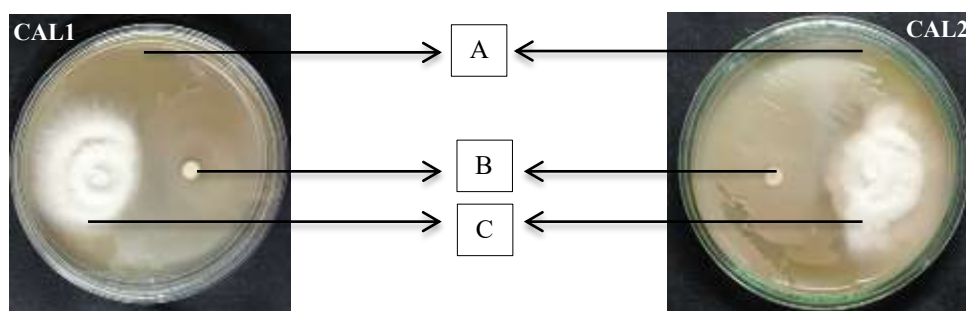
4.1.5. Uji Antagonis

Pengujian antagonis dilakukan pada bakteri CAL1 dan CAL2 terhadap jamur *F.oxysporum*. Adapun hasil dari uji antagonis yaitu dapat dilihat pada Tabel 4.3 berikut.

Tabel 4.3. Hasil uji antagonis bakteri kitinolitik endofit terhadap *F. oxysporum*

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

Pengujian antagonis oleh isolat CAL1 dan CAL2 terhadap jamur *F. oxysporum* disajikan pada Gambar 4.3 berikut.



Gambar 4.3. Hasil uji antagonis; (a) media PDA; (b) kertas cakram berisi suspensi bakteri kitinolitik endofit; (c) jamur patogen *F. oxysporum*

Berdasarkan (Tabel 4.3 dan Gambar 4.3), jari-jari *F.oxysporum* ke arah isolat CAL1 sebesar 1,535 cm dan jari-jari *F.oxysporum* arah tepi cawan sebesar 2,355 cm. Sedangkan, jari-jari *F.oxysporum* ke arah isolat CAL2 sebesar 1,525 cm, sedangkan jari-jari *F.oxysporum* arah tepi cawan sebesar 1,836 cm. Sehingga diperoleh persentase daya hambat oleh isolat CAL1 sebesar 34,8 % (skala 2). Sedangkan, persentase daya hambat oleh isolat CAL2 sebesar 16,9 % (skala 1). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa isolat CAL1 menghasilkan daya hambat tertinggi dibandingkan isolat CAL2.

4.1.6. Uji Biokimia terhadap Bakteri Kitinolitik Endofit yang Potensial sebagai Antijamur *F.oxysporum*

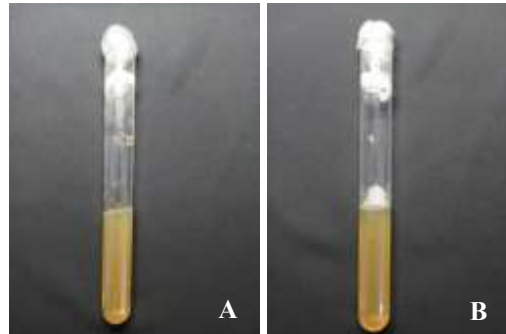
4.1.6.1.SIM

Hasil uji SIM terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Tabel 4.4 berikut.

Tabel 4.4. Hasil uji SIM terhadap isolat CAL1

Isolat bakteri	Perubahan warna permukaan media		Keterangan
	Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi	
CAL1	Kuning	Kekeruhan menyebar dari tusukan	+ (Positif)

Hasil uji SIM terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Gambar 4.4 di bawah ini.



Gambar 4.4. Hasil uji SIM terhadap isolat CAL1; (a) kontrol media SIM; (b) CAL1 pada media uji SIM

Berdasarkan (Tabel 4.4 dan Gambar 4.4) hasil uji motilitas pada isolat CAL 1 menunjukkan hasil positif yaitu ditandai dengan kekeruhan yang menjalar dari area tusukan bakteri.

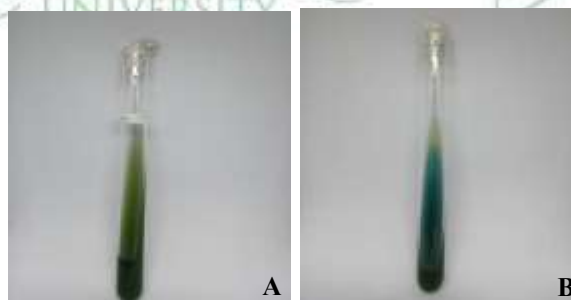
4.1.6.2. Simon Citrate Agar

Hasil uji SCA terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Tabel 4.5 di bawah ini.

Tabel 4.5. Hasil SCA terhadap isolat CAL1

Isolat bakteri	Perubahan warna permukaan media		Keterangan
	Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi	
CAL1	Hijau	Biru	+ (Positif)

Dokumentasi hasil uji SCA terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Gambar 4.5 berikut.



Gambar 4.5. Hasil uji SCA terhadap isolat CAL1; (a) kontrol media SCA; (b) CAL1 pada media uji SCA

Berdasarkan (Tabel 4.5 dan Gambar 4.5) pada pengujian SCA menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna media yang semula berwarna hijau menjadi warna biru setelah diinkubasi selama 24 jam.

4.1.6.3. Katalase

Hasil uji katalase terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Tabel 4.6 berikut ini.

Tabel 4.6. Hasil uji katalase terhadap isolat CAL1

Isolat bakteri	Perubahan yang terjadi	Keterangan
CAL1	Terdapat gelembung	+ (Positif)

Dokumentasi hasil uji katalase terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Gambar 4.6 berikut.



Gambar 4.6. Hasil uji katalase terhadap isolat CAL1

Berdasarkan (Tabel 4.6 dan Gambar 4.6) pada pengujian katalase terhadap sampel CAL1 menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan munculnya gelembung setelah ditambahkan larutan H₂O₂ 3% pada kaca objek.

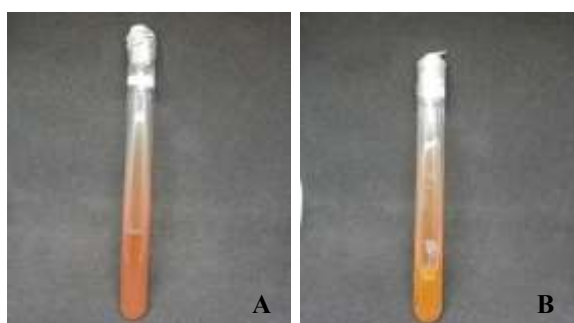
4.1.6.4. TSIA

Hasil uji TSIA terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Tabel 4.7 di bawah ini.

Tabel 4.7. Hasil uji TSIA terhadap isolat CAL1

Isolat bakteri	H ₂ S	Slant (permukaan miring)	Butt (dasar)
CAL1	-	Merah	kuning

Dokumentasi hasil uji TSIA terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Gambar 4.7 berikut.



Gambar 4.7. Hasil uji TSIA terhadap isolat CAL1; (a) kontrol media TSIA; (b) CAL1 pada media TSIA

Berdasarkan (Tabel 4.7 dan Gambar 4.7) hasil uji menunjukkan bahwa sampel CAL1 yang sudah diinokulasikan bakteri dan melalui masa inkubasi selama 24 jam terjadi perubahan warna pada dasar tabung (*butt*) yang semula berwarna merah menjadi kuning atau memiliki kemampuan fermentasi glukosa, pada permukaan media miring (*slant*) tetap berwarna merah yaitu menandakan tidak memfermentasi laktosa/sukrosa. Hasil berikut menandakan bahwa sampel CAL1 memiliki kode K/A. Kemudian, hasil lainnya yang diperoleh pada uji ini yaitu H₂S negatif yang ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna menjadi hitam media pada bagian dasar, serta sampel tidak menghasilkan gas yang ditandai dengan tidak adanya gelembung atau retakan pada media uji.

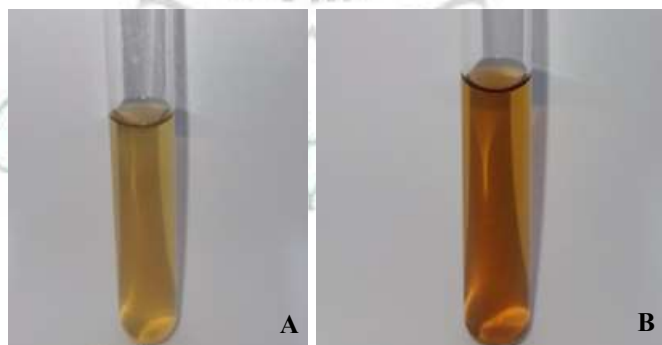
4.1.6.5. MR-VP

Hasil uji MR terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Tabel 4.8 di bawah ini.

Tabel 4.8. Hasil uji MR terhadap isolat CAL1

Isolat bakteri	Perubahan warna permukaan media		Keterangan
	Sebelum ditetesi reagen	Sesudah ditetesi reagen	
CAL1	Kuning	Kuning	- (Negatif)

Dokumentasi hasil uji MR terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Gambar 4.8 berikut.



Gambar 4.8. Hasil uji MR terhadap isolat CAL1; (a) kontrol media MR; (b) CAL1 pada media MR

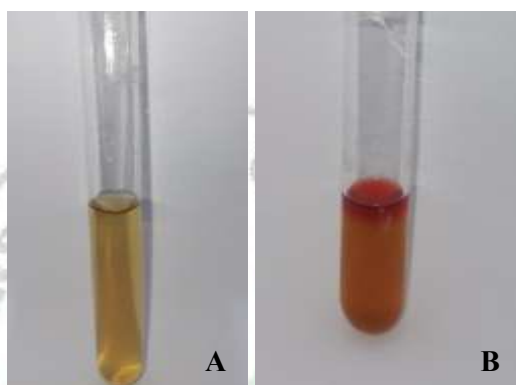
Berdasarkan (Tabel 4.8 dan Gambar 4.8) uji MR yang telah dilakukan pada sampel CAL1 didapatkan hasil pengujian yaitu negatif yang dapat dilihat dari warna media yang tidak mengalami perubahan warna sesudah ditetesi reagen.

Hasil uji VP terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Tabel 4.9 di bawah ini.

Tabel 4.9. Hasil uji VP terhadap isolat CAL1

Isolat bakteri	Perubahan warna permukaan media		Keterangan
	Sebelum ditetesi reagen	Sesudah ditetesi reagen	
CAL1	Kuning	Merah/cincin merah	+ (Positif)

Dokumentasi hasil uji VP terhadap isolat CAL1 dapat dilihat pada Gambar 4.9 berikut.



Gambar 4.9. Hasil uji VP terhadap isolat CAL1; (a) kontrol media VP; (b) CAL1 pada media VP

Berdasarkan (Tabel 4.9 dan Gambar 4.9) uji VP yang telah dilakukan pada sampel CAL1 didapatkan hasil pengujian yaitu hasil positif yang dapat dilihat dari perubahan warna media yang semula berwarna kuning menjadi warna merah atau terdapat cincin merah pada permukaan tabung setelah ditetesi reagen Barrit A dan Barrit B.

Berdasarkan semua uji biokimia yang telah dilakukan, maka semua hasil tersebut dapat dirangkum pada Tabel 4.10 di bawah ini.

Tabel 4.10. Rangkuman hasil uji biokimia isolat CAL1

Isolat bakteri	Uji biokimia							
	SIM		Sitrat	Katalase	TSIA	MR	VP	Famili
H ₂ S	Motil							
CAL1	-	+	+	+	K/A	-	+	<i>Bacillus</i>

Keterangan:

SIM: : *Sulfide Indole Motility*

TSIA : *Triple Sugar Iron Agar*

MR-VP : *Methyl Red Voges Proskauer*

K : Alkalis/ basa (warna merah)

A : Asam (warna kuning)

+

: Positif (terjadi perubahan)

-

: Negatif (tidak terjadi perubahan)

Berdasarkan Tabel 4.10 uji IMVIC yang didapatkan dan dilakukan penyesuaian dengan literatur untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan karakteristik yang dimiliki. Sehingga hasil yang didapatkan dari bakteri endofit sampel CAL1 termasuk dalam kelompok famili dari *Bacillus*.

4.1.7. Karakterisasi Genotipik Bakteri Kitinolitik Endofit yang Potensial sebagai Antijamur *F.oxysporum*

4.1.7.1. Hasil Amplifikasi DNA Isolat Bakteri Endofit yang Potensial sebagai Antifungi terhadap *Fusarium oxysporum* dengan metode PCR

Amplifikasi DNA sampel CAL1 dapat dilihat pada Gambar 4.10 di bawah ini.



Gambar 4.10. Hasil elektroforesis

Berdasarkan Gambar 4.10 di atas menunjukkan tebal produk PCR yang berupa pita tunggal yaitu mendekati 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 dengan 1500 pb marker yang kemudian akan disekuensing.

4.1.7.2. Sekuensing Gen 16S rRNA dan Analisis BLAST Isolat Bakteri Endofit yang Potensial sebagai Antifungi terhadap *Fusarium oxysporum*

DNA yang telah berhasil diekstraksi serta telah divisualisasi menggunakan elektroforesis dan dilanjutkan dengan proses sekuensing. Adapun hasil sekuensing dari sampel CAL1 yaitu disajikan pada Gambar 4.11 sebagai berikut.

```

1 catgcaagtc gagcgaatgg attaagagct tgctcttatg aagttagcgg cggacgggtg
61 agtaacacgt gggtaacctg cccataagac tgggataact ccgggaaacc ggggctaata
121 ccggataaca ttttgaaccg catggttcga aattgaaagg cggcttcggc tgtcacttat
181 ggatggaccc gcgtcgcatt agctagttgg tgaggtaacg gtcaccaag gcaacgatgc
241 gtagccgacc tgagagggtg atcggccaca ctgggactga gacacggccc agactcctac
301 gggaggcagc agtagggaat cttccgcaat ggacgaaagt ctgacggagc aacgcccgct
361 gagtgatgaa ggctttcggg tcgtaaaact ctggtttag ggaagaacaa gtgctagtgtg
421 aataagctgg caccttgacg gtacctaacc agaaagccac ggctaactac gtgccagcag
481 ccgcgtaat acgtaggtgg caagcgttat ccggaattat tgggcgtaaa gcgcgcgag
541 gtggtttctt aagtctgatg tgaaagcca cggctcaacc gtggagggtc attggaaact
601 gggagacttg agtgcagaag aggaaagtgg aattccatgt gtagcgggtg aatgcgtaga
661 gatatggagg aacaccagtg gcgaaggcga ctttctggtc tgtaactgac actgaggcgc
721 gaaagcgtgg ggagcaacaa ggattagata ccctgtagt ccacccgta aacgatgagt
781 gctaagtgtt agagggtttc cgcccttag tgctgaagtt aacgcattaa gactccgcc
841 tggggagtac ggccgcaagg ctgaaactca aaggaattga cgggggccc cacaagcggg
901 ggagcatgtg gtttaattg aagcaacgcg aagaacctta ccaggtcttg acatcctctg
961 acaaccctag agatagggtc tctcctcgg gagcagagtg acaggtggtg catggttgc
1021 gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgaac gagcgaacc cttgatttta
1081 gttgcatca ttaagttgg ccctcaagg tgactgccgg tgacaaaccg gaggaagggtg
1141 gggatgacgt caaatcatca tgccccttat gacctgggct acacacgtgc tacaatggac
1201 ggtacaaaga gctgcaagac cgcgagggtg agctaactc ataaaaccgt tctcagttcg
1261 gattgtaggc tgcaactcgc ctacatgaag ctggaatcgc tagtaatcgc ggatcagcat
1321 gccgcggtga atacgttccc gggccttgta caccgccccc gtcaccccc gagagtttgt
1381 aacccccgaa gtcggtgggg taacctttg gagccag

```

Gambar 4.11. Hasil sekuensing gen 16S rRNA sampel CAL1 dari endofit akar cabai

Berdasarkan Gambar 4.11 yang menunjukkan hasil sekuensing gen 16S rRNA sampel CAL1 di PT. Saraswati Indo Genetech didapatkan hasil yaitu sebesar 1417 bp (pasang basa). Jumlah nukleotida tersebut dilanjutkan dengan analisis homology untuk menentukan spesies dari sampel bakteri tersebut. Selanjutnya sekuensing DNA tersebut dilakukan menggunakan BLAST.

Data sekuens yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan metode BLAST pada database NCBI untuk membandingkan urutan nukleotida sampel dengan urutan-urutan yang telah terdokumentasi di basis data. Hasil dari pencocokan BLAST memberikan beberapa kandidat spesies bakteri dengan tingkat kemiripan (*identity*) yang tinggi. Dalam BLAST, beberapa parameter penting yang digunakan untuk menentukan identitas mikroorganisme antara lain *Max Score*, *Percent Identity (% Identity)*, dan *Query Coverage*. Meskipun beberapa spesies mungkin memiliki nilai persentase identitas yang sama, perbedaan dalam *Max Score* atau *Query Coverage* sering kali menjadi penentu utama dalam menyimpulkan identitas paling sesuai dari isolat yang diuji. Berikut merupakan hasil analisis BLAST berdasarkan data dari NCBI yang dapat dilihat pada Tabel 4.11 di bawah ini.

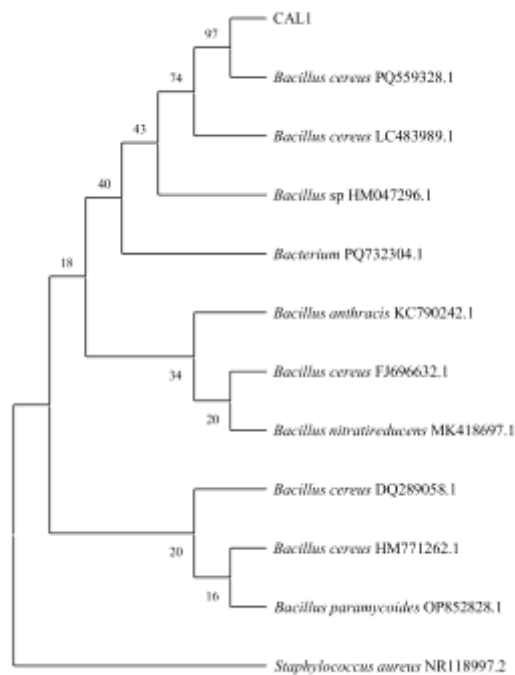
Tabel 4.11. Hasil analisis BLAST berdasarkan data dari NCBI

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

Berdasarkan Tabel 4.11 di atas didapatkan bahwa sampel CAL1 memiliki *max score* tertinggi sebesar 2582 dan homologi tertinggi yaitu 99.65% terhadap bakteri *Bacillus cereus*. 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.

4.1.7.3. Analisis filogenetik Isolat Bakteri Endofit Akar Cabai

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. Adapun hasil penyusunan pohon filogenetik sampel CAL1 yaitu dapat dilihat pada Gambar 4.12 berikut.



Gambar 4.12. Pohon filogenetik

Berdasarkan pohon filogenetik pada Gambar 4.12 di atas dapat dilihat isolat CAL1 memiliki kekerabatan paling dekat dengan *B.cereus* PQ559328.1 yang didukung oleh nilai *bootstrap* sebesar 97 menandakan tingkat kepercayaan yang sangat tinggi terhadap hubungan kekerabatan tersebut. Klaster ini selanjutnya berasosiasi dengan *B.cereus* LC483989.1 dengan nilai *bootstrap* 74 yaitu menunjukkan hubungan evolusioner yang kuat antarspesies dalam satu kelompok. Pengelompokan berikutnya mencakup *Bacillus* sp. HM047296.1 dan *Bacterium* PQ732304.1 dengan nilai *bootstrap* masing-masing 43 dan 40 yang mengindikasikan tingkat kedekatan filogenetik sedang. Sementara itu, *Bacillus anthracis* KC790242.1 berkelompok dengan *B.cereus* FJ696632.1 pada nilai *bootstrap* 34, dan bergabung dengan *Bacillus nitratireducens* MK418697.1 dengan nilai *bootstrap* 20 yaitu menunjukkan hubungan yang lebih jauh antarspesies. Di bagian bawah pohon terdapat *B.cereus* DQ289058.1, *B.cereus* HM771262.1 dan *Bacillus paramycooides* OP852828.1 membentuk kelompok dengan nilai *bootstrap* relatif rendah (16–20) namun masih berada dalam satu klaster besar genus *Bacillus*.

Adapun penggunaan *Staphylococcus aureus* NR118997.2 sebagai *outgroup* menunjukkan jarak evolusioner yang jelas dan mempertegas bahwa seluruh isolat uji termasuk dalam genus *Bacillus*. Sehingga dapat berdasarkan pohon filogenetik

tersebut dapat disimpulkan bahwa bakteri endofit dari CAL1 memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan genus *Bacillus* serta paling dekat dengan spesies *Bacillus cereus* strain XM6 yang ditandai dengan keberadaan di posisi cabang yang sama serta nilai tertinggi. Hal ini sejalan dengan hasil analisis BLAST yaitu sampel CAL1 memiliki nilai homologi tertinggi yaitu 99.65% dengan spesies *B.cereus* dengan *bootstrap* 97.



4.2. Pembahasan

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang berkoloni di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala kerusakan eksternal maupun efek merugikan bagi tanaman inangnya. Bakteri endofit dapat diperoleh dengan cara diisolasi dari tanaman yang permukaannya telah disterilkan ataupun dapat diekstrak untuk memperoleh bakteri yang terdapat pada jaringan tanaman (Ryan *et al.*, 2008).

Hasil 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 (Santoyo *et al.*, 2016). Selain itu, bakteri endofit dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman melalui produksi siderofor yang membantu penyerapan zat besi, fiksasi nitrogen, pelarutan fosfat (Ryan *et al.*, 2008). 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 (Hardoim *et al.*, 2015). Adapun genus bakteri yang dilaporkan dapat hidup secara endofit pada perakaran dengan berbagai sifat menguntungkan secara umum diidentifikasi berasal dari kelompok *Streptomyces*, *Bacillus*, dan *Enterobacter* (Matthews *et al.*, 2024).

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.*, 2016). 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. Oleh karena itu diperlukan karakterisasi terhadap masing-masing isolat yang ditemukan untuk mengidentifikasi karakteristik berbagai isolat tersebut.

Hasil karakterisasi makroskopik bakteri endofit menunjukkan adanya berbagai perbedaan. Berdasarkan bentuk koloni merupakan ciri fenotipik penting yang menggambarkan arah dan pola pertumbuhan mikroorganisme di atas medium padat. Berdasarkan Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa 9 isolat (CAL2, CAL3, CAL4, CAL6, CAL9, CAL11, CAL12, CAL13, dan CAL14) menunjukkan bentuk koloni bulat, sedangkan enam isolat lainnya (CAL1, CAL5, CAL7, CAL8, CAL10, dan CAL15) memiliki bentuk koloni tidak beraturan. Bentuk bulat mengindikasikan pertumbuhan yang relatif seragam dan merata ke segala arah dari titik inokulasi awal. Ini merupakan ciri umum dari mikroorganisme dengan morfologi kokkus atau batang pendek, seperti yang ditemukan pada *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, dan *Bacillus subtilis*. Sebaliknya, bentuk tidak beraturan menunjukkan adanya pertumbuhan yang tidak merata, yang bisa disebabkan oleh variasi lokal dalam ketersediaan nutrisi, motilitas mikroorganisme, atau sifat mikroskopis yang lebih kompleks seperti struktur hifa pada aktinomiset atau fungi (Di *et al.*, 2002).

Berdasarkan elevasi ditemukan elevasi cembung yang menunjukkan bahwa mikroba tersebut aktif tumbuh dan menghasilkan biomassa yang cukup besar sehingga koloni tampak menonjol dari permukaan media. Sebanyak 3 isolat (CAL9, CAL11, dan CAL15) menunjukkan elevasi rata yang bisa mengindikasikan koloni sudah memasuki fase stasioner, pertumbuhan yang terbatas atau karena karakter fisiologis mikroba itu sendiri. Menurut Frobisher *et al.* (1988), koloni dengan elevasi rata biasanya ditemukan pada mikroorganisme dengan metabolisme lambat atau yang tidak menghasilkan banyak eksopolisakarida. Sebaliknya, koloni cembung umum terjadi pada bakteri

penghasil kapsul atau lendir seperti *Klebsiella pneumoniae* dan beberapa spesies *Bacillus*.

Tepi koloni memberikan informasi tentang pola ekspansi koloni ke media di sekitarnya. Tepi koloni (rata/halus) ditemukan pada mayoritas isolat 9 dari 15 isolat Tabel 4.1 yang menandakan pertumbuhan yang stabil dan merata. Karakter ini umum pada mikroorganisme yang tidak bersifat motil atau memiliki kemampuan invasi yang rendah terhadap media. Sementara itu, tepi koloni bergelombang, berombak, dan berfilamen yang ditemukan pada isolat CAL1, CAL5, CAL7, CAL8, CAL10, dan CAL15 mengindikasikan adanya penyebaran koloni yang tidak merata. Tepi koloni berfilamen misalnya pada CAL7 menjadi karakteristik koloni dari *Streptomyces* atau bakteri aktinomiset lain yang tumbuh menyerupai miselium (Bennett *et al.*, 2018).

Pigmentasi koloni merupakan salah satu parameter visual yang paling mudah diamati dan sering dikaitkan dengan identitas spesifik mikroorganisme. Dalam penelitian ini, koloni memiliki variasi warna dari putih, putih krem, hingga krem kekuningan. Pigmentasi putih dan putih krem umum ditemukan pada banyak bakteri non-pigmentatif seperti *Bacillus subtilis* dan *Lactobacillus* sp. (Bennett *et al.*, 2018). Warna krem hingga kekuningan seperti yang diamati pada CAL4, CAL5, CAL7, dan CAL13, bisa menunjukkan adanya produksi pigmen karotenoid atau flavin. Menurut Martini *et al.*, (2023), pigmen ini sering kali memiliki fungsi protektif terhadap cahaya UV dan stres oksidatif. Selain itu, spesies *Staphylococcus aureus* juga dikenal menghasilkan pigmen karotenoid (staphyloxanthin) yang memberi warna kuning keemasan pada koloni.

Sebagian besar koloni yang diamati memiliki sifat tidak tembus cahaya yang menunjukkan struktur koloni yang padat dan banyak mengandung biomassa. Namun, terdapat 2 isolat yaitu CAL2 dan CAL7, yang memiliki sifat tembus cahaya sebagian. Koloni tembus cahaya biasanya lebih tipis atau memiliki komposisi internal seperti kapsul atau eksopolisakarida yang memungkinkan cahaya sebagian menembus. Kessler *et al.*, (2021) menjelaskan bahwa koloni tembus cahaya sering dikaitkan dengan bakteri penghasil kapsul atau bakteri asam laktat yang mengeluarkan lapisan lendir di sekitar sel. Sifat optik koloni juga dapat dipengaruhi oleh kadar air, ketebalan, dan kepadatan sel.

Permukaan koloni yang halus ditemukan pada hampir pada semua isolat, yang menandakan pertumbuhan yang seragam dan tidak menghasilkan struktur

mikroskopis menonjol seperti spora atau miselium. Sebaliknya, isolat CAL5 memiliki permukaan kasar yang dapat menandakan adanya sporulasi atau pertumbuhan filamentosa. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis ini maka perlu dilanjutkan dengan analisis mikroskopis untuk mengamati bentuk sel, pewarnaan, serta penentuan Gram yang mendukung penentuan genus dan spesies bakteri secara lebih akurat.

Adapun hasil identifikasi secara mikroskopis dilakukan melalui pewarnaan Gram dan pengamatan morfologi sel bakteri. Menurut Putri *et al.* (2018), prosedur pewarnaan Gram bertujuan untuk membedakan jenis bakteri berdasarkan kemampuan dinding selnya dalam mempertahankan zat warna ungu kristal (kristal violet) setelah proses dekolorisasi menggunakan alkohol atau aseton. Bakteri yang memberi warna ungu dinamakan bakteri Gram positif. Sebaliknya, bakteri yang tidak dapat menahan zat warna setelah dekolorisasi dengan alkohol dengan ciri berwarna merah dan dinamakan bakteri Gram negatif.

Berdasarkan Tabel 4.1 Sebanyak 11 isolat menunjukkan warna ungu yang mengindikasikan sifat Gram positif yaitu isolat CAL1, CAL2, CAL3, CAL4, CAL5, CAL6, CAL7, CAL10, CAL11, CAL13, dan CAL15. Sementara itu, terdapat 4 isolat yaitu isolat CAL8, CAL9, CAL12, dan CAL14 yang menunjukkan warna merah dan merupakan ciri dari bakteri Gram negatif. Perbedaan hasil pewarnaan gram yang diamati pada isolat CAL1 hingga CAL15 erat kaitannya dengan keberadaan dan ketebalan lapisan peptidoglikan dalam dinding sel bakteri.

Peptidoglikan merupakan komponen struktural utama dari dinding sel bakteri yang terdiri atas rantai polisakarida yakni N-asetilglukosamin (NAG) dan N-asetilmuramat (NAM) yang dihubungkan oleh jembatan peptida pendek. Struktur ini membentuk jaringan tiga dimensi yang kokoh dan berfungsi dalam mempertahankan bentuk sel serta melindungi dari tekanan osmotik lingkungan. Pada bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan sangat tebal hingga mencapai 20–80 nanometer sehingga mampu mempertahankan warna kristal violet yang tetap melekat setelah proses dekolorisasi menggunakan alkohol akan membuat sel tampak berwarna ungu saat diamati di bawah mikroskop (Dwidjoseputro, 2018).

Pada isolat yang teridentifikasi sebagai Gram negatif seperti CAL8, CAL9, CAL12, dan CAL14, lapisan peptidoglikan jauh lebih tipis (sekitar 2–7

nanometer) dan dilapisi oleh membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS). Ketika larutan dekolorisasi diaplikasikan, kristal violet dengan mudah terlepas dari lapisan tipis ini dan kemudian sel menyerap pewarna kontras (safranin) sehingga terlihat berwarna merah (Kurniawati *et al.*, 2023). Inilah yang menjadi dasar diferensiasi pewarnaan Gram pada kelompok isolat tersebut. Berdasarkan hasil ini keberadaan peptidoglikan bukan hanya berperan dalam struktur dan kelangsungan hidup bakteri tetapi juga menjadi indikator utama dalam klasifikasi awal secara mikroskopik.

Struktur peptidoglikan juga mempengaruhi kerentanan bakteri terhadap antibiotik terutama golongan β -laktam seperti penisilin yang menghambat pembentukan jembatan peptida antar rantai NAG dan NAM. Oleh karena itu, keberadaan dan ketebalan peptidoglikan tidak hanya penting dalam proses identifikasi tetapi juga sangat relevan dalam penentuan strategi pengendalian mikroba di berbagai bidang termasuk pangan, kesehatan, dan lingkungan (Rizqi, 2021). Berdasarkan analisis ini, dapat disimpulkan bahwa variasi hasil pewarnaan Gram yang diperoleh dari isolat CAL1–CAL15 mencerminkan keberagaman struktur dinding sel khususnya peptidoglikan yang sekaligus menjadi dasar awal dalam penentuan karakter fisiologis dan taksonomi mikroorganisme yang diamati.

Morfologi bakteri sangat beragam dan bentuk spesifiknya merupakan hasil dari tekanan adaptif yang mengoptimalkan kelangsungan hidup bakteri. Bentuk bakteri seperti kokkus memiliki keunggulan dalam efisiensi pertumbuhan dan perlindungan diri karena luas permukaan terhadap volume yang lebih kecil sehingga lebih tahan terhadap tekanan lingkungan tertentu (Van *et al.*, 2017). Berdasarkan bentuk sel bakteri yang diamati terdiri atas dua morfologi utama yaitu kokkus (bulat) dan basil (batang). Sebanyak 12 dari 15 isolat (CAL2, CAL3, CAL6, CAL7, CAL8, CAL9, CAL10, CAL11, CAL12, CAL13, CAL14, dan CAL15) menunjukkan bentuk kokkus. Sementara 3 isolat lainnya (CAL1, CAL4, dan CAL5) memperlihatkan bentuk basil. Bentuk morfologis ini merupakan salah satu karakter fenotipik penting dalam identifikasi awal bakteri karena berkaitan erat dengan struktur dinding sel dan pola pembelahan sel yang khas. Bakteri kokkus umumnya membelah secara melintang pada satu atau lebih bidang menghasilkan berbagai susunan sel seperti *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*. *Diplococcus*, *Streptococcus* tergantung pada spesiesnya (Dwidjoseputro, 2018). Sebaliknya, bentuk basil yang berbentuk batang

memanjang memungkinkan pertumbuhan memanjang dan kapasitas penyerapannya terhadap nutrisi lebih besar serta sering kali diasosiasikan dengan bakteri yang bersifat motil (bergerak aktif) melalui flagela (Van *et al.*, 2017). Bentuk basil umumnya ditemukan pada genus seperti *Bacillus*, *Lactobacillus*, dan *Pseudomonas*.

Hasil pengamatan ini menunjukkan keberadaan bentuk kokkus yang dominan mengindikasikan bahwa sebagian besar isolat yang diperoleh kemungkinan berasal dari genus bakteri non-motil atau yang tumbuh berkoloni padat seperti halnya *Staphylococcus* atau *Lactococcus*. Hal ini juga didukung oleh hasil pewarnaan Gram yang menunjukkan bahwa sebagian besar isolat tersebut adalah Gram positif dengan warna ungu konsisten dengan karakteristik morfologi genus-genus tersebut (Rizqi, 2021). Sementara itu, isolat basil yang semuanya Gram positif (CAL1, CAL4, CAL5) memperkuat dugaan bahwa ketiganya kemungkinan berasal dari genus *Bacillus* atau kerabat dekatnya yang dikenal memiliki bentuk batang dan mampu membentuk endospora. Setelah didapatkan karakteristik mikroskopik bakteri endofit tersebut maka dilanjutkan dengan pengujian aktivitas kitinolitik yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan 15 isolat tersebut dalam mendegradasi kitin sebagai indikator potensi enzim kitinase yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 4.2 hanya terdapat 2 isolat bakteri endofit yaitu CAL1 dan CAL2 yang menunjukkan aktivitas kitinolitik, ditandai dengan dihasilkan zona bening di sekitar bakteri pada media koloidal kitin setelah diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Adapun indeks kitinolitik CAL1 yaitu sebesar 0,24 sedangkan pada isolat CAL2 sebesar 0,20 yang menandakan bahwa kedua isolat tersebut memiliki aktivitas lemah. Sejalan dengan temuan Prasetya *et al.* (2018) yang menyebutkan bahwa nilai Indeks Kitinolitik (IK) di bawah 2 dikategorikan rendah dengan aktivitas lemah, sedangkan nilai di atas 2 dikategorikan tinggi dengan aktivitas yang kuat. Pengukuran aktivitas kitinolitik tersebut dilakukan pada media koloidal kitin terhadap zona bening.

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 kitin atau memiliki aktivitas kitinolitik (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 bahwa isolat bakteri endofit asal tanaman cabai yang memiliki aktivitas kitinolitik terbukti mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* yang merupakan salah satu patogen tular tanah penyebab 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 serta menggantikan penggunaan pestisida kimia yang berdampak negatif terhadap ekosistem tanah.

Sebanyak 13 isolat lainnya (CAL3–CAL15) tidak menunjukkan zona bening di sekitar koloni yang berarti tidak adanya aktivitas kitinolitik pada kondisi uji saat itu. Zona bening terbentuk akibat enzim kitinolitik yang dibebaskan ke luar sel bakteri untuk memecah makromolekul kitin menjadi molekul kitin yang lebih kecil, sehingga bakteri dapat mengambil nutrisi dalam bentuk molekul-molekul kecil (Suprpto *et al.*, 2016). Dengan demikian, hanya isolat CAL1 dan CAL2 memiliki prospek awal yang baik sebagai sumber agen biokontrol berbasis enzimatik khususnya dalam pengembangan pupuk hayati atau biofungisida. Oleh karena itu, dilanjutkan dengan pengujian antagonis antara isolat CAL1 dan CAL2 terhadap jamur patogen *F. oxysporum* untuk mengetahui persentase daya hambat masing-masing tersebut.

Pengujian antagonis dilakukan pada media PDA untuk mengetahui persentase daya hambat bakteri kitinolitik terhadap *F. oxysporum*. Adapun hasil uji antagonis disajikan pada Tabel 4.3 yaitu diperoleh bahwa CAL1 memiliki persentase daya hambat sebesar 35% (skala 2) dan persentase daya hambat CAL2

yaitu sebesar 17% (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 antagonis yang mampu menekan atau mengganggu pertumbuhan jamur patogen.

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. Dalam kondisi tersebut, bakteri memanfaatkan kitin dari hifa jamur sebagai sumber karbon yang menyebabkan terjadinya lisis pada hifa serta kerusakan struktur dinding sel jamur. 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).

Berdasarkan penelitian Prasetya *et al.* (2018) mengungkapkan bahwa mekanisme kitinolitik bakteri dalam menghambat pertumbuhan jamur terdapat dua tahap. Tahap pertama bakteri akan menghasilkan enzim kitinase dan merusak komponen struktural jamur yaitu dinding selnya. Kerusakan dinding sel tersebut dapat mengubah permeabilitas membran sel, sehingga mengganggu sistem transpor zat di dalam jaringan 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 (Suryanto *et al.*, 2011). 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 (Suzuki *et al.*, 2002). Sehingga berdasarkan hal ini maka CAL1 yang memiliki persentase daya hambat tertinggi memiliki jenis enzim ChiA dikarenakan menunjukkan kinerja terbaik dalam menghidrolisis kitin koloidal. Dengan demikian, isolat CAL1 dilanjutkan dengan identifikasi secara fenotipik dan genotipik untuk mengetahui jenis bakteri ini hingga pada tahap spesies.

Identifikasi spesies isolat CAL 1 bakteri kitinolitik endofit hasil isolasi dari akar cabai dilakukan tidak hanya berdasarkan pengamatan terhadap sifat-sifat morfologi sel dan koloni bakteri saja. Akan tetapi dilanjutkan pengamatan berdasarkan sifat biokimia bakter tersebut. Adapun uji biokimia yang dilakukan yaitu meliputi uji SIM, SCA, katalase, TSIA, dan MR-VP untuk mendapatkan hasil pengamatan yang lebih akurat.

Pengujian SIM dilakukan dengan tujuan untuk melihat kemampuan bakteri untuk bergerak aktif (motil) melalui medium semi-padat. Motilitas bakteri adalah gerakan aktif atau pasif bakteri pada media yang ditusuk. Hasil pengujian ini pada sampel CAL1 (Tabel 4.4 dan Gambar 4.4) menunjukkan hasil positif ditunjukkan oleh adanya kekeruhan yang menyebar di sekitar area tusukan bakteri. Temuan ini sejalan dengan penelitian Kosasi *et al.* (2014), yang menyatakan bahwa hasil positif menunjukkan pertumbuhan bakteri yang meluas dari daerah tusukan hingga ke permukaan media. Sebaliknya, hasil negatif ditandai dengan pertumbuhan yang terbatas hanya pada garis tusukan tanpa penyebaran. Motilitas bakteri berkaitan dengan keberadaan struktur flagel yang

berfungsi sebagai alat gerak utama. Flagel dapat terletak di permukaan sel maupun tersembunyi di dalamnya. Selain berperan dalam pergerakan, motilitas juga berhubungan dengan tingkat virulensi pada bakteri patogen serta dapat berkontribusi dalam interaksi mutualistik (Abubakar *et al.*, 2020).

Pengujian SIM juga dilakukan 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 (Mela *et al.*, 2014). Oleh karena itu, dalam hal ini sampel CAL1 tidak memiliki kemampuan untuk menghasilkan H_2S .

Pengujian dilanjutkan dengan uji SCA yang bertujuan untuk mengamati kemampuan suatu mikroorganisme dalam memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Berdasarkan (Tabel 4.5 dan Gambar 4.5) hasil pengujian pada sampel CAL1 didapatkan hasil positif yaitu ditandai dengan adanya perubahan warna pada media menjadi warna biru. Hal ini sesuai menurut Rahayu & Gumilar (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 dilanjutkan uji katalase dengan tujuan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase yang berfungsi menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Berdasarkan (Tabel 4.6 dan Gambar 4.6) hasil pengujian pada sampel CAL1 didapatkan hasil positif yaitu ditandai dengan munculnya gelembung pada kaca objek yang telah ditetaskan H_2O_2 dan digoreskan isolat dengan ose steril. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya gelembung menunjukkan sedangkan ketiadaan gelembung menandakan hasil negatif (Bahariyanto *et al.*, 2025).

Pengujian dilanjutkan dengan uji TSIA yang bertujuan untuk membedakan bakteri enterik khususnya anggota famili *Enterobacteriaceae* berdasarkan kemampuan dalam memfermentasi tiga jenis gula diantaranya glukosa, laktosa, dan sukrosa, menghasilkan gas, serta membentuk hidrogen sulfida (H_2S). Berdasarkan (Tabel 4.7 dan Gambar 4.7) hasil pengujian pada sampel CAL1

didapatkan hasil positif pengujian kemampuan bakteri memfermentasi glukosa yang dapat dilihat pada bagian *butt* media terjadi perubahan warna menjadi kuning dan hasil negatif pada pengujian kemampuan bakteri memfermentasi sukrosa dan laktosa yang dapat dilihat pada *slant* tidak terjadi perubahan warna pada media yang tetap menunjukkan warna merah muda. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning akibat pembentukan senyawa asam, sedangkan hasil negatif ditunjukkan oleh media yang tetap berwarna merah. Perubahan warna ini berkaitan dengan aktivitas metabolik bakteri yang memengaruhi kondisi asam-basa media (Shofia *et al.*, 2023). Selain itu, uji TSIA dapat mengamati pembentukan gas pada sampel CAL1 yaitu mendapat hasil negatif yang ditandai dengan ketiadaan retakan atau terangkatnya media uji. Hal ini sesuai dengan pernyataan Maliza & Moriza, (2023) yang menyatakan terjadinya retakan serta terangkatnya permukaan medium agar menunjukkan adanya aktivitas fermentatif yang menghasilkan gas sehingga hasil tersebut dikategorikan sebagai positif yang merupakan hasil dari fermentasi H₂S dan CO₂. Begitu pula hasil pengujian H₂S menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak adanya endapan hitam pada media uji seperti yang disampaikan oleh yaitu pembentukan H₂S positif ditandai dengan adanya endapan berwarna hitam. Produksi H₂S berasal dari reduksi *sodium thiosulfate* oleh bakteri yaitu H₂S yang terbentuk bereaksi dengan *ferric ammonium citrate* menjadi *ferrous sulfide* yang berwarna hitam (Warsiki & Iskandar, 2018).

Pengujian karakteristik fenotipik dilakukan juga dengan uji MR-VP. Pengujian MR bertujuan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam melakukan fermentasi campuran yang menghasilkan asam kuat, sehingga menyebabkan penurunan pH pada media. Berdasarkan hasil yang tercantum pada (Tabel 4.8 dan Gambar 4.8), pengujian MR terhadap sampel CAL1 menunjukkan hasil negatif, ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media. Hasil positif pada uji MR ditunjukkan dengan perubahan warna media menjadi merah, sedangkan hasil negatif ditandai dengan warna tetap kuning atau tidak mengalami perubahan. Sementara itu, uji VP dilakukan untuk mendeteksi pembentukan senyawa aseton sebagai hasil akhir dari fermentasi butilen glikol oleh bakteri. Berdasarkan (Tabel 4.9 dan Gambar 4.9), sampel CAL1 menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan munculnya cincin berwarna merah pada permukaan media. Indikator positif pada uji ini ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah

di permukaan medium. Sedangkan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media (Bahariyanto *et al.*, 2025).

Berdasarkan hasil uji biokimia terhadap isolat bakteri CAL1 diperoleh hasil H₂S negatif, motil positif, sitrat positif, katalase positif, reaksi TSIA K/A, uji MR menunjukkan hasil negatif, serta uji VP positif. Kombinasi hasil tersebut sesuai dengan karakteristik genus *Bacillus* menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* sehingga isolat CAL1 dapat diduga termasuk ke dalam genus tersebut. Hal ini sejalan dengan *Bergey's Manual* Vos *et al.* (2009), yang menyatakan bahwa anggota genus *Bacillus* merupakan bakteri berbentuk batang, Gram positif, pembentuk endospora, bersifat aerob atau fakultatif anaerob. Sebagian besar spesies bersifat katalase positif dan hasil uji oksidase bervariasi. Umumnya tidak menghasilkan hidrogen sulfida (H₂S) maupun indol. Pertumbuhan dapat terjadi pada media sederhana dan banyak spesies mampu memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Produksi asam dari karbohidrat bervariasi tetapi umumnya terbatas uji MR biasanya negatif dan VP positif pada banyak spesies. Sebagian besar bersifat motil karena memiliki flagela peritrik.

Setelah mendapatkan karakteristik fenotipik isolat CAL1 hingga pada tahap genus maka dilanjutkan dengan identifikasi karakteristik genotipik secara molekuler dengan melakukan pengiriman sampel CAL1 ke PT. SIG yang bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri tersebut hingga tahap spesies. Proses identifikasi genotipik dimulai dengan amplifikasi DNA menggunakan PCR yang disajikan pada (Gambar 4.12) yaitu menghasilkan pita tunggal berukuran 1417 bp (*GenBank Accession Number* PQ559328.1) dengan 1500 bp *marker* yang divisualisasi dengan elektroforesis. Keberhasilan munculnya pita tunggal menunjukkan bahwa *primer* yang digunakan bersifat spesifik terhadap gen target, sehingga hanya satu fragmen DNA yang berhasil diamplifikasi. Amplifikasi gen 16S rRNA dengan menggunakan primer universal 27F dan 1492R pada penelitian ini berhasil menghasilkan pita tunggal menunjukkan bahwa *primer* yang digunakan memiliki kesesuaian tinggi dengan daerah konservatif gen 16S rRNA, sehingga hanya satu fragmen DNA yang teramplifikasi tanpa produk nonspesifik. *Primer* 27F dan 1492R dimanfaatkan dalam proses sekuensing nukleotida untuk memperoleh urutan basa secara lengkap dikarenakan keduanya mampu menempel pada daerah konservatif gen 16S (Hanifah, 2019).

Hasil visualisasi dengan elektroforesis pada Gambar 4.10 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 adanya 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 analisis molekuler lanjutan seperti sekuensing gen 16S rRNA.

Sekuensing DNA merupakan pengurutan semua nukleotida DNA atau gen yang termasuk asam amino yang dikodekan dengan cepat. Pada dasarnya, sekuensing DNA terdiri dari reaksi *annealing*, sekuensing, dan terminasi DNA. Data hasil sekuensing sampel CAL1 dapat dilihat pada Gambar 4.11 sebesar 1417 bp (*GenBank Accession Number* PQ559328.1). Data hasil sekuensing tersebut kemudian diekstraksi untuk divisualisasikan dan diikuti dengan pemilihan segmen DNA yang memiliki kualitas pembacaan paling baik. Selanjutnya, urutan nukleotida dari segmen terpilih (*sequence query*) 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 Tabel 4.11 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 Fatwa *et al.* (2021) yaitu 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 hasil ini maka dapat dilanjutkan dengan menentukan hubungan kekerabatan dengan menggunakan aplikasi MEGA 11 untuk menghasilkan pohon filogenetik.

Pohon filogenetik merupakan diagram yang menunjukkan struktur pengetahuan tentang keanekaragaman spesies dan merepresentasikan hubungan evolusi antar taksa. Metode yang digunakan untuk menyimpulkan sejarah evolusi taksa adalah metode *Neighbor Joining*. Metode nj adalah algoritma untuk menyusun pohon filogenetik yang terutama digunakan dalam studi evolusi molekuler. Metode ini dirancang untuk memperkirakan pohon filogenetik dengan cepat dan efisien, terutama ketika jumlah taksa yang dianalisis besar. Pohon filogenetik optimal ditampilkan dengan persentase pada pohon replikasi menunjukkan tingkat kepercayaan pengelompokan taksa yang berkerabat berdasarkan uji *bootstrap* dengan 10.000 pengulangan yang ditampilkan di sisi setiap cabang. Pohon filogenetik digambarkan berdasarkan skala di mana panjang cabang merepresentasikan jarak evolusi yang dihitung dengan satuan yang sama

seperti pada analisis. Perhitungan evolusi dilakukan menggunakan metode *Maximum Composite Likelihood* dengan hasil dinyatakan dalam jumlah substitusi basa per situs. Analisis evolusi ini dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA11 (Andini & Achyar, 2025).

Berdasarkan Gambar 4.12 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 4.11 yaitu dapat dilihat bahwa sampel CAL1 memiliki nilai homologi tertinggi yaitu 99.65% dengan spesies *B. cereus* dengan nilai *bootstrap* sebesar 97.

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* strain XM6 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* sama seperti *B. cereus*.

Dalam pohon filogenetik diperlukan penggunaan *outgroup* dikarenakan merupakan suatu komponen penting. 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). Pada Gambar 4.11 *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*. *S. aureus* digunakan sebagai *outgroup* pada analisis filogenetik genus *Bacillus* karena termasuk dalam filum *Firmicutes* namun berada pada famili yang berbeda (*Staphylococcaceae*), sehingga memiliki kekerabatan yang cukup jauh untuk berfungsi sebagai titik acuan evolusioner. Pemilihan *S. aureus* sebagai *outgroup* juga sesuai dengan penelitian Dalevi *et al.* (2001) yang menyatakan taksonomi bakteri yang menggunakan gen 16S rRNA di mana spesies dari famili berbeda dalam filum yang sama dipilih untuk memberikan *rooting* yang stabil dan menghindari pengelompokan yang tidak tepat antarspesies dalam genus *Bacillus*.

Genus *Bacillus* merupakan kelompok bakteri Gram positif berbentuk batang dengan beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif atau aerob obligat, serta mampu membentuk endospora sebagai mekanisme pertahanan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. *Bacillus* tergolong dalam kelas bakteri heterotrofit yaitu mikroorganisme uniseluler yang berperan sebagai pengurai bahan organik. Umumnya, bakteri ini banyak ditemukan di tanah dan perairan. Beberapa spesies *Bacillus* mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang berfungsi menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks memiliki flagel peritrikus untuk pergerakan serta bersifat katalase positif (Hatmanti, 2000).

Bacillus mempunyai sifat yang lebih menguntungkan daripada mikroorganisme lain karena dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhannya. *Bacillus* telah banyak diaplikasikan pada benih untuk mencegah patogen tular tanah seperti *F. oxysporum*. Selain itu juga mempunyai kemampuan enzimatik yang berbeda-beda dalam menghasilkan enzim, diantaranya dalam menghasilkan enzim amilase, protease, kitinase dan lipase, seperti *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. cereus* (Ariyanti *et al.*, 2021).

Bakteri *B. cereus* merupakan salah satu bakteri endofit yang memiliki potensi besar sebagai agen pengendali hayati. Bakteri ini memiliki spesifisitas terhadap inangnya dan tidak menimbulkan efek negatif bagi musuh alami hama maupun organisme non-target lainnya serta tingkat patogenisitasnya dapat ditingkatkan melalui teknik rekayasa genetika (Ariyanti *et al.*, 2021). Didukung oleh penelitian Manikome (2022) yang mengatakan *B. cereus* merupakan bakteri endofit yang memiliki kemampuan penting dalam mendukung pertumbuhan tanaman sekaligus berperan sebagai agen pengendali hayati. Sebagai bakteri

endofit, *B. cereus* mampu berkolonisasi di jaringan inang tanpa menimbulkan efek patogenik, serta berkontribusi dalam peningkatan ketahanan tanaman terhadap stres biotik dan abiotik melalui produksi senyawa bioaktif dan enzim hidrolitik.

B. cereus juga termasuk ke dalam kelompok bakteri kitinolitik yang mampu menghasilkan enzim kitinase yang berperan dalam degradasi kitin. Produksi enzim kitinase ini mencerminkan karakter fisiologis yang berpotensi dimanfaatkan dalam pengendalian hayati (Prasetya *et al.*, 2018). Aktivitas enzim kitinase ini menjadikan *B. cereus* efektif dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan berbagai patogen tanaman seperti *F.oxysporum* dan *Rhizoctonia solani*. Keunggulan lain dari *B. cereus* sebagai agen biokontrol adalah sifatnya yang memiliki inang spesifik, tidak berbahaya bagi organisme non-target maupun musuh alami, mudah terurai secara alami di lingkungan, serta potensi peningkatan efektivitasnya melalui pendekatan rekayasa genetika. Dengan kombinasi sifat endofitik dan kemampuan kitinolitiknya, *B. cereus* berpotensi besar dikembangkan sebagai agen pengendali hayati ramah lingkungan untuk mendukung sistem pertanian berkelanjutan (Manikome, 2022).

B. cereus berpotensi tinggi sebagai agen biokontrol terhadap berbagai patogen tanaman. Spesies dari genus *Bacillus* banyak dimanfaatkan untuk pengendalian penyakit tanaman karena kemampuannya menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa *B. cereus* mampu menghambat pertumbuhan berbagai patogen penting, seperti *Colletotrichum scovillei* dan *R. solani*. Selain itu, bakteri *B. cereus* memiliki aktivitas biokontrol terhadap jamur patogen seperti *F. oxysporum* dan *R. solani* (Fallo *et al.*, 2025). Pada penelitian Aprilia & Aini (2022) juga menemukan bahwa aplikasi *B. cereus* mampu menekan perkembangan penyakit layu fusarium pada tanaman bawang merah dengan tingkat efikasi lebih dari 50%. Berdasarkan berbagai hasil tersebut, *B. cereus* dapat dikategorikan sebagai bakteri endofit yang berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai agen pengendali hayati dalam sistem pertanian berkelanjutan.