

Original Research Paper

Antagonistic Test of Endophytic Bacteria of Chili Pepper Roots Producing Siderophores and Hydrolase Enzymes against Plant Pathogenic Bacteria *Ralstonia solanacearum*

Siti Nur Isnaini Hidayati¹, Lalu Zulkifli^{1,2*}, Prapti Sedijani^{1,2}, Dewa Ayu Citra Rasmi¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

²Program Studi Magister Pendidikan IPA, Pascasarjana, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : October 10th, 2024

Revised : October 30th, 2024

Accepted : November 05th, 2024

*Corresponding Author:

Lalu Zulkifli,

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;
Email:

lalu_zulkifli@unram.ac.id

Abstract: This study aims to test the ability of endophytic bacterial isolates of cayenne pepper roots (*Capsicum frutescens*) to produce siderophore compounds and protease enzyme and to test the antagonistic activity of endophytic bacterial isolates in controlling the growth of plant pathogenic bacteria (*Ralstonia solanacearum*). The stages in this study are isolation of endophytic bacteria from cayenne pepper roots, siderophore production test, protease enzyme activity test, and biochemical and physiological characterization of potential endophytic bacteria, antagonistic test of endophytic bacteria against the growth of *Ralstonia solanacearum* bacteria. Endophytic bacteria were isolated from cayenne pepper plants taken from Selong, East Lombok. Characterization of siderophore-producing isolates using King's B media and the Arnow test method. The activity of bacterial protease enzymes was tested qualitatively on Skim Milk Agar solid media. The characterization of endophytic bacteria was conducted through the examination of colony morphology, Gram staining, and biochemical tests. The antagonistic activity test of endophytic bacteria against pathogenic bacteria was carried out using the Kirby-Bauer diffusion method. There were 4 isolates that were able to produce siderophores with codes EC5, EC11, EC12, and EC15. Six isolates showed protease enzyme activity with codes EC3, EC4, EC5, EC7, EC11, and EC15, with the highest Proteolytic Index (2,02) shown by isolate EC4. There were 3 isolates capable of inhibiting the growth of *Ralstonia solanacearum* (EC4, EC5, and EC15), with the highest inhibitory power shown by isolate EC15 (9,67). The results of the study showed that endophytic bacteria from the roots of cayenne pepper plants showed potential as biopesticides in the future.

Keywords: cayenne pepper; endophyte; siderophore; protease enzym; *Ralstonia solanacearum*

Pendahuluan

Bakteri endofit adalah mikroorganisme menguntungkan yang berinteraksi dengan tanaman inangnya tanpa menimbulkan gangguan atau kerusakan pada tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat masuk ke dalam jaringan tanaman melalui akar, bunga, batang, daun, dan kotiledon. Beberapa studi menunjukkan bahwa bakteri endofit memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri (Purwanto *et al.*, 2014), antifungi (Hanif & Susanti, 2017), dan dapat memacu pertumbuhan tanaman serta mampu

meningkatkan produktivitas tanaman (Zuhra *et al.*, 2017). Selain itu, salah satu senyawa yang dihasilkan oleh bakteri endofit yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen adalah siderofor. Siderofor yang dihasilkan oleh *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) merupakan senyawa organik selain antibiotik yang mampu digunakan dalam mengendalikan penyakit pada tanaman (Farida, 2012; Glick *et al.*, 2010).

Salah satu tanaman hortikultura yang bernilai ekonomis adalah tanaman cabai, yang secara ilmiah dikenal sebagai *Capsicum*

frutescens. Hal ini dikarenakan hampir semua masakan Indonesia menggunakan cabai sebagai pembuat cita rasa pedas (Saraswati *et al.*, 2012). Selain itu, cabai rawit juga dijadikan bumbu tambahan dalam industri pangan lainnya, seperti mi instan dan makanan ringan (Rostini, 2011). Pada tahun 2020, rata-rata produktivitas cabai nasional sebesar 8,33 ton per hektar (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2021). Menurut Syukur *et al.*, (2010), tanaman cabai memiliki kapasitas produksi hingga 20 ton per hektar, sehingga diketahui bahwa angka rata-rata produktivitasnya lebih rendah dari kapasitas produksi yang dimiliki. Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) menjadi salah satu faktor penyebab turunnya produksi cabai di seluruh Indonesia (Utami, 2018).

Bakteri *Ralstonia solanacearum* merupakan penyebab penyakit layu yang dapat menyerang tanaman cabai. Gejala yang timbul akibat penyakit layu bakteri adalah seluruh tanaman layu, daun menguning sampai coklat kehitaman, dan akhirnya tanaman mati. Kerusakan tanaman cabai rawit karena serangan penyakit layu bakteri dapat mencapai lebih dari 8% (Semangun, 2001). Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh bakteri patogen tanaman *Ralstonia solanacearum* adalah dengan pengembangan agen hayati yang bersifat antagonis terhadap patogen. Pengendalian hayati (*Biological Control*) adalah pengendalian OPT dengan memanfaatkan musuh alami atau agens hayati berupa bakteri, cendawan, virus, serta organisme lainnya (Sopialena, 2018).

Mekanisme penghambatan bakteri patogen yang dilakukan oleh bakteri endofit diantaranya, a) persaingan atau eksploitasi sumber daya contohnya bakteri penghasil siderofor, b) aktivitas enzim litik, seperti enzim kitinase, c) aktivitas antibiotik, seperti fenazin yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* sp., d) sistem resistensi pada tanaman (Sturz, 2006). Siderofor didefinisikan sebagai agens spesifik pengelarion besi (Fe) dengan berat molekul relatif rendah yang dihasilkan oleh bakteri dan jamur yang tumbuh di bawah tekanan lingkungan dengan keadaan besi rendah. Siderofor memiliki afinitas tinggi terhadap Fe³⁺ dan dapat memfasilitasi transport besi seluler (Farida, 2012; Yasmin *et al.*, 2009). Keberadaan Fe memiliki peranan dalam pembentukan klorofil, metabolisme dan

pertumbuhan, transpor elektron, serta efisiensi penyerapan nutrisi bagi tanaman. Kelompok utama dari siderofor adalah hidroksamat, katekolat, karboksilat, dan etilendiamina. Siderofor tipe hidroksamat umumnya merupakan ciri khas untuk cendawan, tipe katekolat untuk bakteri, dan karboksilat untuk tumbuhan (Glick *et al.*, 2010).

Protease merupakan salah satu keluarga enzim terbesar dalam metabolisme. Protease dapat diisolasi dari organisme dengan persentase paling tinggi ditemukan pada bakteri 44,78%, yang diikuti pada tanaman sebesar 43,85%, dan pada hewan sebesar 11,15% (Pamaya *et al.*, 2018). Enzim protease menghambat bakteri patogen dengan cara menghambat sintesis komponen dinding selnya, yaitu peptidoglikan (Oktafiyanto *et al.*, 2018). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri endofit yang terdapat pada tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens*) dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada tahun 2023 – 2024 di Laboratorium Biologi dan Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, FKIP Universitas Mataram.

Alat dan Bahan

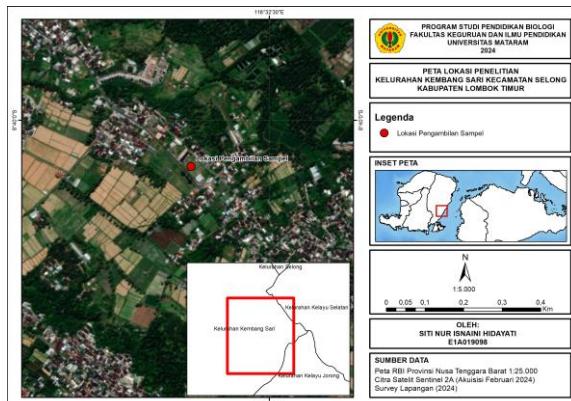
Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, alat seksio, alat tulis, aluminium foil, autoclave, blue tip, bunsen, cawan petri, gelas beker, gelas ukur, inkubator, jarum ose, jarum inokulum, kaca objek, kaca penutup, kamera, kompor, korek api, labu erlenmeyer, laminar air flow, lampu UV, mikropipet, mikroskop, mixer vortex, neraca analitik, pengaduk kaca, pinset, plastik wrap, rak tabung reaksi, centrifuge, shaker, tabung reaksi, tabung centrifuge dan yellow tip. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, akar tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens*), alkohol 70%, alkohol 96%, aquades, bakteri uji *Ralstonia solanacearum*, bubuk agar, gliserol, glukosa, HCl, K2HPO4, kapas, kertas saring, label, laktosa, larutan H2O2 3%, larutan kristal violet, larutan lugol, larutan Mc Farland 0,5, larutan NaCl fisiologis 0,9%, larutan Natrium Hipoklorit

(NaClO) 5,2%, larutan safranin, maltosa, media Mueller Hinton Agar (MHA), media Nutrient Agar (NA), media Nutrient Broth (NB), media Simon Sitrat, media Sulfit Indol Motility (SIM), media Triple Sugar Iron Agar (TSIA), MgSO₄.7H₂O, minyak imersi, NaOH, Nitrit molybdat, *paper disk* 6mm, *phenol red*, plastik, protease pepton, reagen *Kovach*, spiritus, susu skim dan tissue.

Metode Penelitian

Isolasi Bakteri Endofit

Eksplan akar tanaman cabai rawit yang diperoleh dari persawahan di daerah Selong, Lombok Timur (Gambar 1) dicuci dengan air mengalir. Eksplan akar kemudian dipotong dengan ukuran panjang ± 5 cm. Sterilisasi eksplan dilakukan dengan perendaman selama 1 menit ke dalam larutan alkohol 70%, kemudian selama 2 menit dalam larutan NaClO, dan terakhir pembilasan aquades steril sampai aroma dari NaClO menghilang. Setelah itu, eksplan dikeringkan dengan kertas saring steril. Eksplan yang telah steril kemudian ditanam pada media NA dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 32°C. Sterilisasi permukaan sampel akar dapat dikatakan berhasil apabila tidak tumbuh mikroba pada media NA.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel akar tanaman cabai rawit

Langkah selanjutnya yaitu pengirisan eksplan secara aseptik lalu dikultur pada cawan petri berisi media Nutrient Agar padat. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 32°C. Setelah memperoleh bakteri endofit, maka langkah selanjutnya adalah pemurnian bakteri endofit. Pemurnian isolat dilakukan dengan metode tuang (*pour plate*) dan metode gores

(*streak plate*) lalu diinkubasi selama 24-48 jam sehingga diperoleh isolat murni. Kemudian isolat murni tersebut diinokulasikan ke dalam media NA slant sebagai stok kultur (Aisyah *et al.*, 2023).

Uji Kemampuan Penghasil Siderofor Bakteri Endofit

Uji kemampuan bakteri endofit dalam memproduksi siderofor dilakukan dengan penginokulasi pada media King's B dan metode Arnow assay. Isolat murni bakteri endofit diinokulasikan pada media King's B dengan menggunakan metode gores T dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah itu dipilih yang mampu berpendar di bawah lampu UV dengan warna pendarhan kuning kehijauan atau hijau terang.

Seluruh isolat bakteri endofit kemudian diuji kembali dengan metode Arnow's assay untuk menentukan siderofor tipe katekolat. Isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil menggunakan jarum ose lalu diinokulasi pada media cair Nutrient Broth (NB) steril. Selanjutnya diinkubasi dengan menggunakan shaker incubator pada suhu ruang dengan kecepatan 300 rpm selama 48 jam. Setelah 48 jam, dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan sel bakteri dengan supernatan pada kecepatan 5000 rpm selama 25 menit. Pengujian Arnow dilakukan dengan menggabungkan 0,5 ml supernatan bakteri endofit, 0,5 ml HCl, 0,5 ml reagen Nitrit-molybdate, dan 0,5 ml NaOH secara berurutan. Selanjutnya didiamkan selama ±30 menit untuk diamati adanya perubahan warna larutan. Bakteri endofit yang mampu menghasilkan siderofor tipe katekolat ditandai dengan perubahan warna larutan dari warna kuning menjadi warna merah muda.

Uji Aktivitas Enzim Protease Isolat Bakteri

Isolat bakteri diinokulasikan pada media Skim Milk Agar (SMA) padat dengan menggunakan metode spot sebanyak 3 kali pengulangan dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 32°C. Aktivitas enzim protease ditandai dengan adanya zona bening (holozone). Selanjutnya dihitung perbandingan diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri dengan rumus menurut Durham *et al.*, (1987) dalam Hengkengbala *et al.*, (2021) :

$$IP = \frac{DZB - DK}{DK} \quad (1)$$

Keterangan:

IP = Indeks Proteolitik
DZB = Diameter Zona Bening
DK = Diameter Koloni

Karakterisasi Isolat Bakteri Endofit

Morfologi koloni, sifat fisiologis, serta uji biokimia, digunakan untuk karakterisasi isolat bakteri endofit potensial. Morfologi koloni ditentukan dengan mengamati permukaan, warna, bentuk, elevasi, dan tepinya. Sifat fisiologis isolat bakteri diuji dengan melaksanakan pewarnaan Gram. Bakteri endofit potensial dikarakterisasi menggunakan uji biokimia seperti TSIA, Simon's citrate, fermentasi karbohidrat, motilitas & indol, dan uji katalase (Alfiyansyah *et al.*, 2023).

Uji Aktivitas Antagonis Isolat Bakteri

Uji aktivitas antagonis bakteri dilakukan dengan metode difusi Kirby Bauer. Suspensi bakteri uji *Ralstonia solanacearum* dengan kekeruhan setara dengan Mc Farland 0,5 diambil menggunakan kapas swab dan ditebar pada media MHA padat. Selanjutnya isolat bakteri endofit yang telah diinkubasi selama 24 jam pada media MHA dibuat suspensi dengan kekeruhan setara Mc Farland 1. *Paper disk* steril berdiameter 6 mm dimasukkan ke dalam suspensi bakteri endofit selama 2 menit dan ditiriskan selama ±30 menit. Kemudian kertas saring yang mengandung bakteri endofit diinokulasikan ke dalam media MHA dan diinkubasi selama 24 sampai 72 jam pada suhu 32°C.

Aktivitas antagonis ditandai dengan terhambatnya pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening disekitar *paper disk*. Pengukuran diameter total zona penghambatan bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit terhadap bakteri patogen *Ralstonia solanacearum* dilakukan dengan menghitung diameter zona terhambatnya pertumbuhan bakteri patogen yang menyertakan diameter *paper disk* dalam pengukurannya. Kriteria zona hambat yang digunakan berdasarkan pada klasifikasi respon penghambatan pertumbuhan bakteri menurut Bauer *et al.*, (1959).

Tabel 1. Kategori diameter zona hambat bakteri

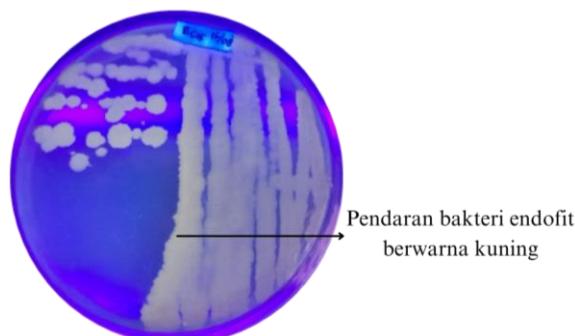
Diameter hambat (mm)	zona	Kekuatan hambat	daya hambat
≤ 6			Tidak ada aktivitas
6 < ø < 10			Lemah
10 ≤ ø < 15			Sedang
15 ≤ ø < 20			Kuat
ø ≥ 20			Sangat Kuat

Sumber : Bauer *et al.*, (1959)

Hasil dan Pembahasan

Hasil Uji Kemampuan isolat bakteri memproduksi siderofor

Hasil isolasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit mendapatkan 10 isolat bakteri murni. Seluruh isolat bakteri endofit tersebut kemudian diuji evaluasi kemampuan memproduksi siderofor dengan diinokulasikan pada media King's B dan metode Arnow assay. Hasil evaluasi kemampuan isolat bakteri endofit dalam memproduksi siderofor pada media King's B menunjukkan bahwa 2 isolat mampu berpendar di bawah lampu UV, yaitu isolat EC11 dan EC15 (Gambar 2). Hasil penelitian ini memiliki hasil serupa dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Permata *et al.*, (2024), dimana isolat bakteri berpotensi memproduksi siderofor mampu berpendar dengan warna pendaran berwarna kuning kehijauan. Pendaran yang dihasilkan oleh bakteri pada media King's B dikarenakan bakteri tersebut kekurangan zat besi. Media King's B mengandung ion Fe sehingga bakteri akan membentuk siderofor yang fungsinya mengikat ion Fe. Siderofor memiliki peranan penting dalam mengikat dan meningkatkan ketersedian zat besi, yang merupakan nutrien esensial bagi tanaman. Keberadaan siderofor pada tanaman dapat memudahkan tanaman dalam menyerap zat besi yang mendukung proses fotosintesis, respirasi, dan sintesis klorofil (Partiwi *et al.*, 2023).

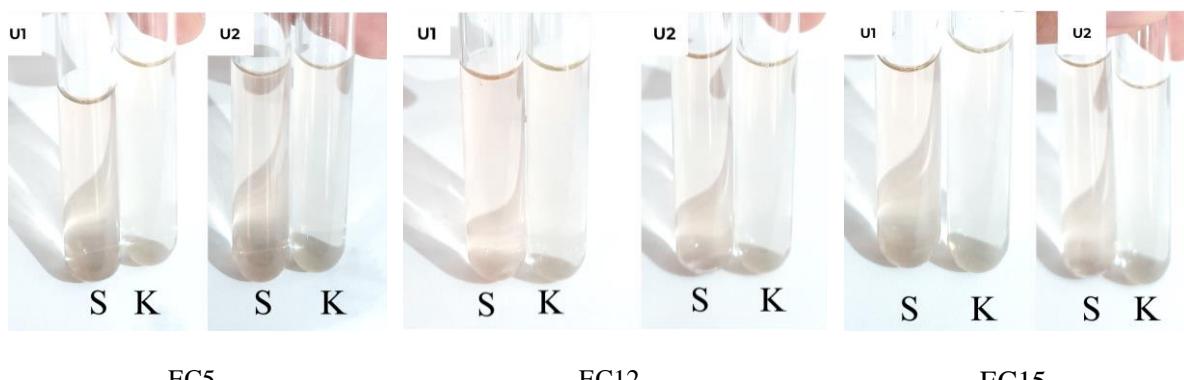


Gambar 2. Hasil evaluasi kemampuan produksi siderofor bakteri endofit pada media King's B yang mampu berpendar di bawah lampu UV

Penentuan tipe siderofor dengan menggunakan metode Arnow memperoleh 3 isolat yang memberikan respon positif untuk siderofor tipe katekolat, yaitu isolat EC5, EC12, dan EC15 (Gambar 3). Glick *et al.*, (2010), menyatakan bahwa kelompok utama dari siderofor terdiri dari hidroksamat, katekolat, karboksilat, dan etilendiamina. Siderofor tipe hidroksamat umumnya merupakan ciri khas untuk cendawan, tipe katekolat untuk bakteri, dan karboksilat untuk tumbuhan. Penelitian sebelumnya oleh (Nurikhsanti *et al.*, 2024), telah melakukan uji antagonis isolat bakteri penghasil

siderofor tipe katekolat terhadap patogen jamur *Colletotrichum gloeosporioides* memperoleh persentase hambatan 63,7% dengan diameter zona penghambatan sebesar 40,2 mm. Menurut Neelands & Leong (1986), siderofor dari kelompok katekolat memiliki afinitas yang lebih kuat terhadap unsur besi daripada siderofor golongan hidroksamat.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Calvente *et al.*, (2001), peningkatan produksi siderofor dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu, keberadaan urea, peningkatan pH, dan konsentrasi nitrogen yang tinggi. Siderofor yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme dapat mengikat besi dengan spesifitas dan afinitas tinggi, sehingga besi tidak tersedia untuk mikroorganisme lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhannya. Bakteri endofit yang berpotensi memproduksi siderofor dapat berperan sebagai biopestisida alami karena bersifat antagonis terhadap patogen pada tanaman (Zulkifli *et al.*, 2020). Persaingan untuk mendapatkan zat besi melalui produksi siderofor telah lama diketahui sebagai sifat antagonis penting yang ditemukan pada banyak agen biokontrol bakteri terhadap patogen tanaman (Yu *et al.*, 2011).

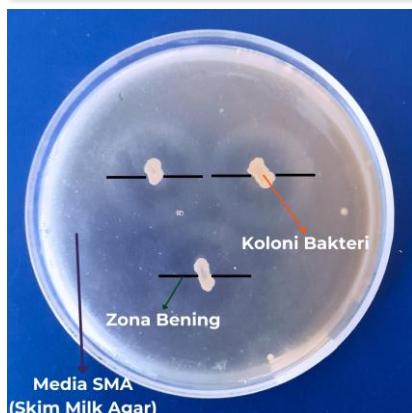


Gambar 3. Hasil uji produksi siderofor tipe katekolat yang menunjukkan perubahan warna sampel menjadi warna merah muda. Keterangan: U (Ulangan), S (Sampel), K (Kontrol), EC (Endofit Cabai)

Hasil uji aktivitas enzim protease bakteri endofit

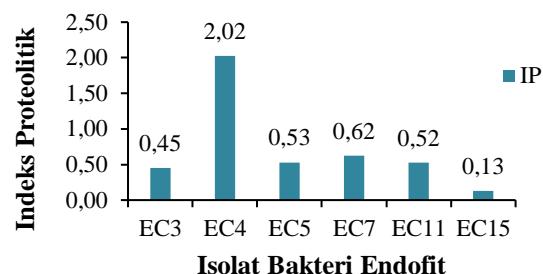
Uji aktivitas enzim protease isolat bakteri endofit secara kualitatif dilakukan dengan cara mengukur kemampuan isolat bakteri endofit dalam mendegradasi protein pada media Skim

Milk Agar (SMA) padat. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diketahui 6 dari 10 isolat bakteri endofit hasil isolasi menunjukkan kemampuan aktivitas proteolitik (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil uji aktivitas enzim protease bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman cabai rawit pada media Skim Milk Agar

Berdasarkan perhitungan indeks proteolitik, isolat dengan kode EC4 memiliki indeks proteolitik paling tinggi dengan nilai indeks 2,02, sementara isolat dengan kode EC15 memiliki indeks proteolitik paling rendah dengan nilai indeks 0,13 (Gambar 5). Said & Likadja, (2012), menyatakan bahwa semakin tinggi nilai indeks proteolitik menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki potensi sebagai sumber enzim protease, serta mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman, memperbaiki pertumbuhan, dan meningkatkan hasil panen. Pada penelitian sebelumnya Prihatiningsih *et al.*, (2021) telah melakukan uji aktivitas antagonis terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* yang memiliki aktivitas enzim protease dengan hasil bakteri *Bacillus subtilis* mampu menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* sebesar 60,89% pada tanaman cabai. Kemampuan isolat bakteri yang memiliki aktivitas enzim protease dalam menghambat bakteri patogen dilakukan dengan pendekrasian biofilm yang dimiliki oleh bakteri patogen. Biofilm pada bakteri patogen berfungsi sebagai pembentukan koloni bakteri, pengendalian virulensi, motilitas, serta penghindaran kolonisasi oleh mikroba kompetitor.



Gambar 5. Indeks proteolitik isolat bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit. Nilai indeks paling tinggi ditunjukkan oleh isolat EC4 dan indeks paling rendah ditunjukkan oleh isolat EC15

Hasil isolasi dan karakterisasi isolat bakteri

Hasil isolasi bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit mendapatkan 10 isolat bakteri murni. Terdapat 1 isolat yang hanya mampu memproduksi siderofor (EC12), 3 isolat yang hanya memiliki aktivitas enzim protease (EC3, EC4, dan EC7), dan 3 isolat yang mampu memproduksi siderofor serta memiliki aktivitas enzim protease (EC5, EC11, dan EC15). Bentuk sel bakteri ketujuh isolat potensial diketahui seluruhnya adalah Basil dan lima diantaranya tergolong Gram negatif. Karakteristik morfologi koloni bakteri potensial memiliki bentuk beragam yang didominasi oleh bentuk circular. Tepian koloni didominasi oleh serrate dengan elevasi flat menjadi yang terbanyak. Warna koloni keseluruhan isolat potensial berwarna putih. Data karakteristik morfologi bakteri secara rinci dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil uji biokimia menunjukkan hasil yang beragam. Hasil uji TSI (Triple Sugar Iron) menunjukkan seluruh isolat potensial bereaksi positif. Hasil uji simmon citrate, uji indol, dan uji fermentasi gula dengan glukosa, maltosa, dan lactosa menunjukkan hasil yang sama yaitu seluruh isolat potensial bereaksi negatif. Hasil uji motilitas menunjukkan hampir semua isolat bereaksi positif kecuali isolat EC11 bereaksi negatif. Hasil uji katalase menunjukkan 4 isolat bereaksi positif dan 3 isolat bereaksi negatif yakni EC3, EC4, dan EC5. Secara rinci dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Karakteristik morfologi koloni dan sel bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit

Nama Isolat	Morfologi Koloni				Pewarnaan Gram		Produksi Siderofor	Enzim Protease
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Bentuk Sel	Gram		
EC1	Circular	Entire	Raised	Putih	Coccus	-	-	-
EC3	Circular	Serrate	Flat	Putih	Basil	-	-	+
EC4	Rhizoid	Lobate	Flat	Putih	Basil	-	-	+
EC5	Circular	Serrate	Umbonate	Putih	Basil	+	+	+
EC6	Circular	Undulate	Flat	Putih	Basil	+	-	-
EC7	Circular	Serrate	Umbonate	Putih	Basil	-	-	+
EC9	Rhizoid	Filamentous	Raised	Putih	Coccus	-	-	-
EC11	Irregular	Lobate	Flat	Putih	Basil	-	+	+
EC12	Irregular	Undulate	Umbonate	Putih	Basil	-	+	-
EC15	Circular	Entire	Flat	Putih	Basil	+	+	+

Keterangan: EC (Endofit Cabai), negatif (-), positif (+)

Tabel 3. Hasil uji biokimia isolat bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit

Nama Isolat	Uji Biokimia									Produksi Siderofor	Enzim Protease
	TSI	SC	Glukosa	Lactosa	Maltosa	Indol	Motilitas	Katalase			
EC1	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
EC3	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
EC4	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
EC5	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
EC6	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
EC7	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
EC9	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
EC11	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
EC12	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
EC15	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

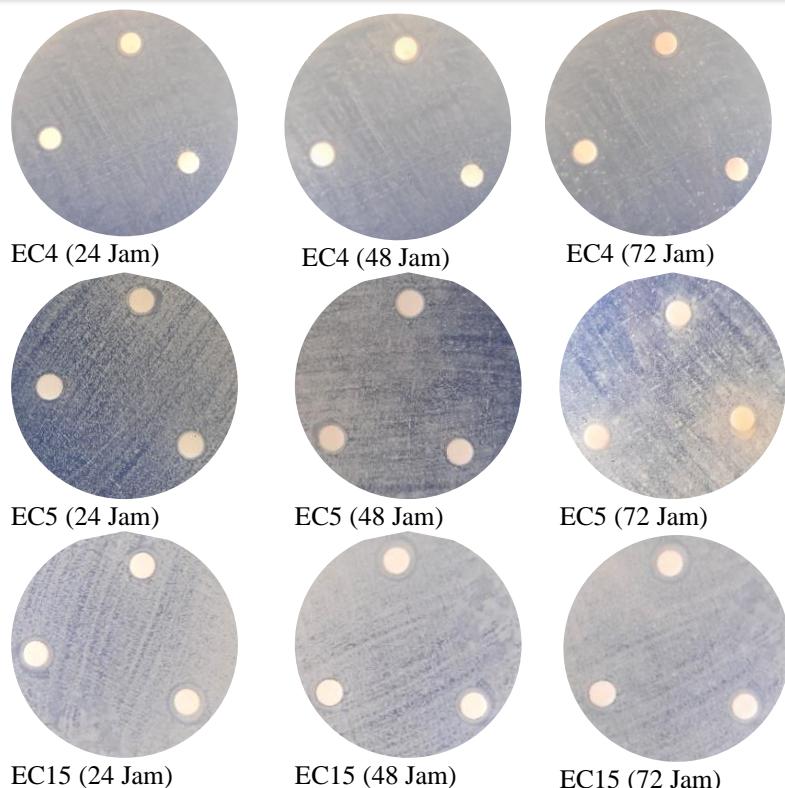
Keterangan: EC (Endofit Cabai), TSI (Triple Sugar Iron), SC (Simmon citrate), negatif (-), positif (+)

Hasil uji aktivitas antagonis bakteri endofit terhadap *Ralstonia solanacearum*

Metode difusi cakram atau metode difusi Kirby Bauer digunakan untuk menguji aktivitas antagonis bakteri endofit. Isolat bakteri endofit dengan aktivitas enzim protease dan kemampuan memproduksi siderofor dipilih untuk pengujian bakteri patogen. Hasil seleksi memperoleh 3 isolat bakteri endofit berpotensi menghambat *Ralstonia solanacearum*, yaitu isolat EC4, EC5, dan EC15. Aktivitas penghambatan bakteri patogen *Ralstonia solanacearum* oleh bakteri endofit dapat diketahui dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram atau kertas saring berisi bakteri endofit yang telah diinokulasikan pada MHA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penghambatan semua isolat bakteri endofit terhadap *Ralstonia solanacearum* tergolong dalam kategori lemah. Isolat bakteri endofit

dengan kode isolat EC15 memiliki aktivitas antagonis dengan rata-rata diameter zona hambatnya sebesar 9,33 mm pada masa inkubasi 24 jam dan 9,67 mm pada masa inkubasi 48 dan 72 jam. Isolat bakteri endofit dengan kode EC4 memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 8,33 mm pada masa inkubasi 24 jam dan 8,83 mm pada masa inkubasi 48 dan 72 jam. Isolat bakteri endofit dengan kode isolat EC5 memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 8,33 mm pada masa inkubasi 24 jam dan 8,5 mm pada masa inkubasi 48 dan 72 jam. Selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 6 dan Tabel 4. Hasil penelitian ini berbanding terbalik dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sofiana, (2019) yang menunjukkan bahwa isolat bakteri dari akar tanaman cabai rawit hasil eksplorasi memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* dengan kategori penghambatan tergolong kuat.

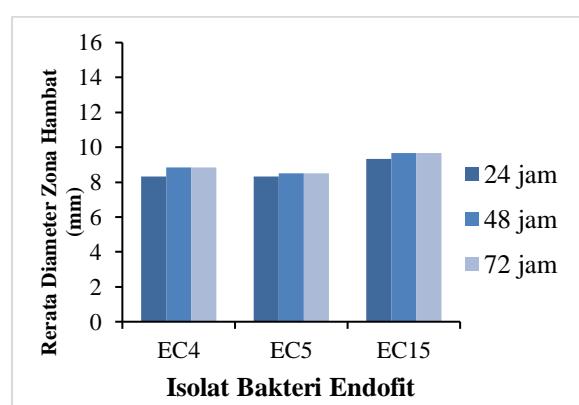


Gambar 6. Hasil uji aktivitas antagonis bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* pada media MHA

Tabel 4. Rerata zona hambat bakteri endofit terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum*

Kode Isolat	Rerata diameter zona hambat (mm)		
	24 JSI	48 JSI	72 JSI
EC ₄	8,33 (L)	8,83 (L)	8,83 (L)
EC ₅	8,33 (L)	8,5 (L)	8,5 (L)
EC ₁₅	9,33 (L)	9,67 (L)	9,67 (L)
Kontrol	6 (TA)	6 (TA)	6 (TA)

Keterangan : JSI (Jam setelah inokulasi), L (aktivitas penghambatan lemah), TA (aktivitas penghambatan tidak ada aktivitas), EC (Endofit Cabai)



Gambar 7. Rerata zona hambat isolat bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum*

Aktivitas penghambatan bakteri endofit terhadap *Ralstonia solanacearum* yang tergolong ke dalam kategori lemah ini kemungkinan disebabkan oleh kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa antibakteri (Rizqoh *et al.*, 2022). Penelitian sebelumnya oleh Oktavia & Sri Pujiyanto, (2018) mengemukakan bahwa berbagai faktor, termasuk jenis media yang digunakan, suhu, waktu inkubasi, konsentrasi bakteri patogen dan endofit, dan variabel lainnya, dapat memengaruhi zona penghambatan yang terbentuk dalam uji antagonis bakteri. Selain itu, karakteristik morfologi dari isolat bakteri endofit juga berperan dalam efektivitasnya dalam menghambat bakteri patogen. Tiga isolat bakteri endofit potensial dari akar tanaman cabai rawit diketahui tidak efektif dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen tanaman *R. solanacearum*. Meskipun demikian, isolat bakteri endofit dengan potensi memproduksi siderofor dan memiliki aktivitas enzim protease dapat dimanfaatkan sebagai biopestisida yang dapat meningkatkan kesehatan dan pertumbuhan tanaman dengan cara mengoptimalkan proses metabolisme tanaman dan menyediakan nutrisi

yang dibutuhkan dalam pertumbuhan tanaman.

Kesimpulan

Hasil penelitian memperoleh 10 isolat murni bakteri endofit dari akar tanaman cabai rawit. Terdapat 4 isolat yang mampu memproduksi siderofor (EC5, EC11, EC12, dan EC15) dan 6 isolat yang memiliki kemampuan aktivitas proteolitik (EC3, EC4, EC5, EC7, EC11, dan EC15). Berdasarkan kemampuan aktivitas antagonisnya terdapat 3 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan patogen *Ralstonia solanacearum* (EC4, EC5, dan EC15) dengan kategori hambatan tergolong lemah.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh dana hibah penelitian DIPA BLU-PNBP Universitas Mataram tahun anggaran 2024 kepada LZ dengan no kontrak: 2034/UN18.L1/PP/2024. Penulis menyampaikan terima kasih atas kerjasama dan dukungan teknis kepada ketua dan asisten lab di Laboratorium Biologi dan Mikrobiologi FKIP Universitas Mataram.

Referensi

- Aisyah, N., Zulkifli, L., & Rasmi, D. A. C. (2023). Isolation of Endophytic Bacteria and Fungi From Soursop (*Annona muricata* L.) and Bioactivity Test As Antimicrobial Against *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Candida albicans*. *Pijar MIPA*, 18(2), 254–259. <https://doi.org/10.29303/jpm.v18i2.3834>
- Alfiansyah, M. F., Zulkifli, L., & Rasmi, D. A. C. (2023). The Effect of Phosphate-Solubilizing Bacteria and IAA Producers from Cactus Rhizosphere on the Germination of Vigna sinensis L. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(3), 607–618. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i3.5089>
- Bauer, A. W., Perry, D. M., & Kirby, W. M. M. (1959). Single-Disk Antibiotic-Sensitivity Testing of Staphylococci. A.M. A. Archives of Internal Medicine, 104, 46–54. <http://archinte.jamanetwork.com/>
- Calvente, V., De Orellano, M. E., Sansone, G., Benuzzi, D., & Sanz De Tosetti, M. I. (2001). Effect of Nitrogen Source and pH on Siderophore Production by *Rhodotorula* strains and Their Application to Biocontrol of Phytopathogenic Moulds. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 26(4), 226–229. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000117>
- Direktorat Jenderal Hortikultura. (2021). *Angka Tetap Hortikul Tahun 2020*. Direktorat Jenderal Hortikulura Kementerian Pertanian. <https://satadata.pertanian.go.id/details/publikasi/274>
- Farida, I. (2012). *Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Siderofor sebagai Agens Antagonis Ralstonia solanacearum pada Tomat*. Institut Pertanian Bogor. <http://repository.ipb.ac.id:8080/handle/123456789/54126>
- Glick, B. R., Pasternak, J. J., & Patten, C. L. (2010). *Molecular Biotechnology; Principles and Applications of Recombinant DNA* (4th ed., Issue 1). ASM Press. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog?cmd=PureSearch&term=101509400%5Bnlmid%5D>
- Hanif, A., & Susanti, R. (2017). Analisis Senyawa Antifungal Bakteri Endofit Asal Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). *AGRINTECH*, 1(1), 23–29. <https://jurnal.umsu.ac.id/index.php/agrin/article/view/1666>
- Hengkengbala, S. I., Lintang, R. A. J., Sumilat, D. A., Mangindaan, R. E. P., Ginting, E. L., & Tumembouw, S. (2021). Karakteristik Morfologi Dan Aktivitas Enzim Protease Bakteri Simbion Nudibranch. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 9(3), 83–94. <https://doi.org/10.35800/jplt.9.3.2021.36672> <https://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj/article/view/17890/pdf>
- Neilands, J. B., & Leong, S. A. (1986). Siderophores in Relation to Plant Growth and Disease. In Ann. Rev. Plant Physiol (Vol. 37, pp. 187–208). <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.pp.37.060186.001155>
- Nurikhsanti, M., Zulkifli, L., Rasmi, D. A. C., & Sedijani, P. (2024). Antagonistic Test of Bacteria Producing Siderophore and

- Protease Enzymes from The Rhizosfer of Peanut Plants on The Growth of Pathogenic Fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(1), 100–108. <https://doi.org/10.29303/jbt.v24i1.6459>
- Oktafiyanto, M. F., Munif, A., & Mutaqin, K. H. (2018). Aktivitas Antagonis Bakteri Endofit Asal Mangrove terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Meloidogyne* spp. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 14(1), 23–29. <https://doi.org/10.14692/jfi.14.1.23>
- Oktavia, N., & Sri Pujiyanto, dan. (2018). Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapak Dara (*Catharanthus Roseus*, L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Biotechnologi*, 1(1), 6–12. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/bb/article/view/2209>
- Pamaya, D., Muchlissin, S. I., Maharani, E. T. wahyuni, Darmawati, S., & Ethica, N. S. (2018). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus Amyloliquefaciens* Irod2 Pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 48 Jam. *Seminar Nasional Edusaintek*, 40–46. https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/psn1_2012010/article/view/4236
- Partiwi, S., al Idrus, A., Zulkifli, L., Mahrus, & Sedijani, P. (2023). Isolation and Molecular Characterization of Brotowali (*Tinospora crispa*) Rhizosphere Bacteria Producing Siderophore from Dry Lands of Lombok Island. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(2), 275–284. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i2.6138>
- Permata, A. H. D., Purnawati, A., & Suharto. (2024). Eksplorasi Isolasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis dari Lapisan Rizosfer Tanaman Bambu (*Bambusoideae* sp.). *Seminar Nasional Kedaulatan Pertanian 2024 “Transformasi Sistem Pangan Menuju Kedaulatan Pertanian,”* 469–481. <https://prosiding.umy.ac.id/semnas-datan/index.php/dt/article/download/44/4/103>
- Prihatiningsih, N., Asnani, A., & Djatmiko, H. A. (2021). Extracellular protease from *bacillus subtilis* b315 with antagonistic activity against bacterial wilt pathogen (*Ralstonia solanacearum*) of chili. *Biodiversitas*, 22(3), 1291–1295. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220327>
- Purwanto, U. M. S., Pasaribu, F. H., & Bintang, M. (2014). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry*, 1(1), 51–57.
- Rizqoh, D., Dwika Sahfitri, F., Ayu Aguspa Dita, D., & Hartati Suryani, U. (2022). Ekstraksi dan Uji Penghambatan Minimum Bakteri Endofit Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) terhadap Jamur *Candida albicans*. *Perlindungan Tanaman*, 1, 90–97. <https://semnas.bpfp-unib.com/index.php/perlintan/article/view/30>
- Rostini, N. (2011). *6 Jurus Bertanam Cabai Bebas Hama daan Penyakit* (1st ed.). AgroMedia Pustaka.
- Said, M. I., & Likadja, J. C. (2012). Isolation and Identification of Bacteria that Has Potential as Producer of Protease Enzyme in the Tannery Industry, PT. Adi Satria Abadi (ASA), Yogyakarta. *JITP*, 2(2), 121–128. <https://www.neliti.com/id/publications/98527/isolation-and-identification-of-bacteria-that-has-potential-as-producer-of-prote>
- Saraswati, I. G. A. E., Pharmawati, M., & Junitha, I. K. (2012). Karakter Morfologi Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang Dipengaruhi Sodium Azida pada Fase Generatif Generasi M1. *Biologi*, 16(1), 23–26. <https://savana-cendana.id/index.php/SC/article/download/588/265>
- Semangun, H. (2001). *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan* (2nd ed.). Gadjah Mada University Press.
- Sofiana, A. (2019). *Eksplorasi Bakteri Endofit Dari Akar Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Organik dan Potensinya Sebagai Agens Antagonis *Ralstonia solanacearum* Secara In Vitro*. Universitas Brawijaya. <http://repository.ub.ac.id/173612/>
- Sopialena. (2018). *Pengendalian Hayati dengan Memberdayakan Potensi Mikroba* (1st ed.). Mulawarman University Press.

- https://faperta.unmul.ac.id/web/wp-content/uploads/2019/01/PENGENDALI_AN-HAYATI-dengan-Memberdayakan-Potensi-Mikroba.pdf
- Sturz, A. V. (2006). Bacterial Root Zone Communities, Beneficial Allelopathies and Plant Disease Control. In *Allelochemicals: Biological Control of Plant Pathogens and Diseases* (pp. 123–142). Springer. https://doi.org/10.1007/1-4020-4447-X_6
- Syukur, M., Sujiprihati, S., Yunianti, R., & Kusumah, D. A. (2010). Evaluasi Daya Hasil Cabai Hibrida dan Daya Adaptasinya di Empat Lokasi dalam Dua Tahun. *Jurnal Agron Indonesia*, 38(1), 43–51.
<https://doi.org/https://doi.org/10.24831/jai.v38i1.1679>
- Utami, A. W. A. (2018). *Isolasi dan Identifikasi Cendawan Penyebab Penyakit Layu Pada Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*) di Bogor*. <https://repository.unpak.ac.id/tukangna/repo/file/files-20180405075931.pdf>
- Yasmin, F., Othman, R., Sijam, K., & Saad, M. S. (2009). Characterization of Beneficial Properties of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Isolated From Sweet Potato Rhizosphere. *African Journal of Microbiology Research*, 3(11), 815–821. <https://worldveg.tind.io/record/39119>
- Yu, X., Ai, C., Xin, L., & Zhou, G. (2011). The Siderophore-Producing Bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, Has a Biocontrol Effect on Fusarium Wilt and Promotes The Growth of Pepper. *European Journal of Soil Biology*, 47(2), 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.01>
- Zuhra, R., Hasanuddin, & Lisnawati. (2017). Efektivitas Bakteri Endofit sebagai Pupuk Hayati Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Cabai (*Capsicum annuum*, L). *Pertanian Tropik*, 4(1), 65–74. <https://www.neliti.com/id/publications/158309/efektivitas-bakteri-endofit-sebagai-pupuk-hayati-terhadap-pertumbuhan-dan-produk>
- Zulkifli, L., Sedijani, P., Citra Rasmi, D. A., & Amrullah, L. W. Z. (2020). Screening and Molecular Identification of Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria from Mangrove Ecosystem of the Lombok Island. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(3), 475–484.
<https://doi.org/10.29303/jbt.v20i3.1730>