

ARTIKEL

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR BAKTERI ENDOFIT DARI BIJI DAN BUNGA TANAMAN KELOR (*Moringa oleifera*) SEBAGAI BIOKONTROL TERHADAP *Fusarium oxysporum* Isolat TLPI

[Isolation, Characterization, and Biocontrol Activity Test of Crude Extract of Endophytic Bacteria from *Moringa oleifera* Lam Seeds and Flowers as Against *Fusarium oxysporum* TLPI]

Gergonius Fallo*, Adelya I Manalu, Lukas Pardosi

Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Universitas Timor. Jalan Km. 09, Kelurahan Sasi, Kecamatan Kota Kefamenanu, Kabupaten Timor Tengah Utara, Provinsi Nusa Tenggara Timur

ABSTRAK

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam) merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai tanaman obat di Nusa Tenggara Timur (NTT). Semua bagian tanaman kelor mengandung senyawa metabolit sekunder. Tujuan penelitian ini ialah mengetahui kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak heksana bakteri endofit dari bunga dan biji kelor. Isolat bakteri endofit yang diperoleh dikarakterisasi morfologi koloni, mikroskopis, pengujian biokimia dan diidentifikasi molekuler. Kandungan kimia bakteri endofit dianalisis dengan metode standar untuk skrining senyawa kimia. Uji aktivitas biokontrol dilakukan terhadap penyebab penyakit layu *Fusarium* dengan difusi agar. Hasil isolasi menunjukkan adanya 8 isolat, dan 2 isolat yaitu BiK.1 dan BiK.3 menghasilkan senyawa bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *Fusarium* sp. Dua isolat BiK.1 dan BiK.3 memiliki golongan senyawa alkaloid, terpenoid dan saponin. Ekstrak kasar BiK.1 mempunyai zona hambat 3.1% terhadap *Fusarium oxysporum* TLPI, sedangkan isolat BiK.1 sebesar 1,2%. Identifikasi secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA diketahui bahwa isolat BiK.1 memiliki kemiripan genetik dengan *Bacillus* sp. dan BiK.3 dengan *Bacillus cereus* dengan nilai *query cover* mencapai 100%.

Kata Kunci: *Moringa oleifera*, senyawa bioaktif, bakteri endofit

ABSTRACT

Moringa (*Moringa oleifera* Lam) is one of the plants used as a medicinal plant in East Nusa Tenggara (NTT). All parts of the *Moringa* plant contain secondary metabolite compounds. The purpose of this study is to determine the content of bioactive compounds from hexane extracts of endophytic bacteria from moringa flowers and seeds. Endophytic bacterial isolates obtained were characterized by colony morphology, microscopy, biochemical testing and molecular identification. The chemical content of endophytic bacteria was analyzed by standard methods for screening chemical compounds. Biocontrol activity test was conducted against the cause of *Fusarium* wilt disease by agar diffusion. Isolation results showed the presence of 8 isolates, and 2 isolates namely BiK.1 and BiK.3 produced bioactive compounds that can inhibit the growth of pathogenic fungi *Fusarium* sp. Two isolates, BiK.1 and BiK.3 have alkaloid, terpenoid and saponin compound classes. The crude extract BiK.1 has an inhibition zone of 3.1% against *Fusarium oxysporum* TLPI, while isolate BiK.1 has 1.2%. Molecular identification based on 16S rRNA gene showed that isolate BiK.1 has genetic similarity with *Bacillus* sp. and BiK.3 with *Bacillus cereus* with *query cover* value reaching 100%.

Keywords: *Moringa oleifera*, bioactive compounds, endophytic bacteria

Diterima: 23 November 2024; **Diperbaiki:** 20 Februari 2025; **Disetujui:** 7 April 2025

*Penulis untuk Korespondensi: e-mail – gergofallo@yahoo.com

PENDAHULUAN

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) dikenal dengan nama marungga di Nusa Tenggara Timur (NTT). Ada 2 jenis kelor yaitu kelor merah dan kelor hijau. Kedua tanaman ini sudah didaftarkan oleh Pemerintah Daerah NTT sebagai varietas lokal NTT. Tanaman kelor atau marungga mudah ditemukan dan dibudidayakan disemua daerah NTT terutama di lahan kering. Menurut (Kotta & Sitorus, 2020), kelor atau marungga lokal dimanfaatkan masyarakat sebagai pangan fungsional di NTT dan memiliki senyawa bioaktif metabolit sekunder tinggi.

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang tidak digunakan dalam proses pertumbuhan, tetapi sebagai bentuk pertahanan diri dari lingkungannya. Hasil penelitian Rivai, (2020) dan Wahid dan Raudah, (2022) menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan triterpenoid. Penelitian Mindawarnis dan Indrawati, (2023) menunjukkan bahwa ekstrak bunga kelor mengandung senyawa flavonoid, sedangkan biji kelor mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin (Wigunarti *et al.*, 2019; Handayani *et al.*, 2020).

Senyawa metabolit sekunder dari tanaman, pada umumnya diisolasi dengan proses ekstraksi, tetapi membutuhkan banyak biomassa tanaman. Pada saat ini penggunaan bakteri endofit yang berasosiasi dengan tanaman diharapkan lebih efisien dalam produksi senyawa metabolit sekunder. Menurut Listya *et al.*, (2017), penggunaan bakteri endofit untuk produksi metabolit sekunder lebih menguntungkan karena siklus hidupnya lebih singkat, sehingga dapat menghemat waktu untuk produksi senyawa bioaktif. Menurut Jamilatun *et al.*, (2020), bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman obat dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang mirip seperti yang terkandung di tanaman inangnya.

Bakteri endofit memiliki hubungan simbiosis mutualisme dengan tanaman inangnya, yaitu sebuah bentuk hubungan yang saling menguntungkan. Bakteri endofit setelah masuk ke dalam tanaman baik melalui akar, daun, bunga, batang, dan kotiledon memperoleh nutrisi dari inang, sedangkan bakteri berkolonisasi di dalam sel atau ruang antar sel atau di sistem vascular dan memproduksi senyawa yang berfungsi sebagai pelindung tanaman dari serangan mikroba patogen. Penelitian Novitasari dan Munif, (2020) yang menggunakan beberapa isolat bakteri endofit dari tumbuhan paku (isolat APE22 dan AP35), mangrove (BAT2-2), dan tanaman lada (MER) menunjukkan bahwa bakteri endofit tersebut mampu berperan sebagai agen biokontrol terhadap *F. oxysporum* f.sp cepae secara in vitro. Penelitian Muhammad, *et al.*(2023) menunjukkan bahwa bakteri endofit dari tanaman cabai dan batang ketimun memiliki potensi sebagai agen biokontrol terhadap jamur *Fusarium* sp. Senyawa bioaktif bakteri endofit daun kelor telah dikaji oleh Sadikin *et al.*(2021), tetapi dari biji dan bunga belum dilakukan. Oleh karena itu, hasil penelitian ini sangat diperlukan untuk membuka peluang mendapatkan strain bakteri endofit sebagai biokontrol dibidang pertanian lahan kering di Provinsi NTT khususnya di Kabupaten TTU.

MATERIAL DAN METODE

Pengambilan Sampel

Bunga dan biji kelor dikoleksi di Kecamatan Kota Kefamenu Kabupaten Timor Tengah Utara (TTU).

Isolasi Bakteri yang berasosiasi dengan Biji dan Bunga Tanaman Kelor

Sampel dicuci dengan air mengalir kemudian secara bertahap dilakukan sterilisasi permukaan dengan 2% natrium hipoklorit, alkohol 70% dan dibilas menggunakan aquades steril ((Sadikin *et al.* 2021). Tahap selanjutnya sampel diiris menggunakan *scalpel steril*. Potongan sampel ditanam pada cawan petri berisi media NA yang telah ditambahkan nystatin (0.01% b/v). Sampel kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Pemurnian bakteri endofit dilakukan dengan metode *streak plate*.

Karakterisasi Isolat

Morfologi Isolat

Karakterisasi secara morfologi makroskopis dilakukan berdasarkan karakter koloni berupa bentuk, warna, elevasi, ukuran, dan tepi koloni.

Mikroskopis dan Biokimia Isolat

Karakterisasi mikroskopis meliputi analisis sifat Gram dan bentuk sel isolat bakteri dengan metode pewarnaan Gram. Sifat fisiologi isolat bakteri endofit dilakukan dengan uji Sitrat, TSIA, dan katalase menggunakan H₂O₂ 3%.

Uji Antagonis

Pengujian antagonis isolat bakteri terhadap *Fusarium* sp. pada media MHA menggunakan metode kultur ganda. Isolat bakteri diinokulasikan pada media Nutrient broth (NB) dan dishaker selama 24 jam. Selanjutnya kertas saring steril dengan diameter 0.5 cm direndam pada suspensi bakteri (10⁸ sel/ml) selama 15 menit dan diletakkan pada dua tempat ditepi cawan petri yang berisi media MHA. Selanjutnya *Fusarium* sp. yang telah diremajakan 2 x 24 jam diletakkan pada bagian tengah-tengah cawan petri berisi media, kemudian diinkubasi selama 7 hari dan dilakukan pengamatan. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar pertemuan isolat bakteri dengan *Fusarium* sp. (Saputri *et al.*, 2015). Zona hambat dihitung menggunakan rumus:

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

Penentuan kekuatan zona hambat berdasarkan Maarisit *et al.*, (2021) yaitu diameter zona hambat lemah ≤5 mm, zona hambat sedang 5-10 mm, zona hambat kuat 11-20 mm dan zona hambat sangat kuat ≥20 mm

Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Metabolit sekunder dari isolat bakteri diperoleh dengan mengkulturkan ke dalam 150 ml medium NB dan di *shaker* pada kecepatan 150 rpm selama 48 jam. Selanjutnya kultur ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:1 dan dimasukkan ke dalam corong pemisah. Selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 90 rpm. (Linda *et al.*, 2021). Ekstrak yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C untuk pemakaian selanjutnya.

Uji Kandungan Senyawa Kimia

Uji kandungan senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak kasar metabolit bakteri yang berasosiasi dengan biji dan bunga tanman kelor, terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid dan steroid. (Safari *et al.*, 2016).

Uji Aktivitas Ekstrak kasar Isolat Sebagai Biokontrol

Uji aktivitas biokontrol ekstrak kasar dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Ekstrak kasar dilarutkan dalam etil asetat dengan konsentrasi 2%. Sebanyak 20 µL ekstrak etil asetat ditetaskan pada kertas cakram 5 mm (Whatman). Setelah pelarut menguap, paper disk diletakkan secara aseptik diatas permukaan medium MHA yang telah diinokulasi 1% (v/v) isolat *Fusarium oxysporum*. Diameter zona penghambatan diukur setelah inkubasi 7 hari pada suhu 37°C, dan dihitung kemampuan penghambatannya. Kontrol negatif adalah kertas cakram yang direndam dengan pelarut n-heksan sedangkan kontrol positif adalah kertas cakram yang direndam dengan larutan ampisilin 25 µg/ml dan dibuat dengan cara yang sama.

Zona hambat dihitung menggunakan rumus:

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

Keterangan: P, persentase penghambatan oleh bakteri endofit (%); R1, jari-jari koloni cendawan yang tumbuh ke tepi cawan petri (cm); dan R2 jari-jari koloni isolat fungi yang tumbuh ke arah isolat bakteri (cm).

Identifikasi Isolat Terpilih Secara Molekuler Berdasarkan 16S rRNA

Isolat potensial selanjutnya diidentifikasi menggunakan analisis genom. Selanjutnya dilakukan amplifikasi menggunakan gen 16S rRNA dengan mesin PCR. Hasil PCR selanjutnya dilakukan elektroforesis menggunakan gel agarose dan visualisasi dibawah sinar UV sehingga diperoleh pita DNA, berikutnya dilakukan pemurnian. Pensejajaran dilakukan dengan urutan basa dalam database pensejajaran, selanjutnya hasil NCBI dimasukkan ke dalam NJPlot untuk dilakukan konstruksi pohon filogenetik (Sogandi *et al.*, 2022).

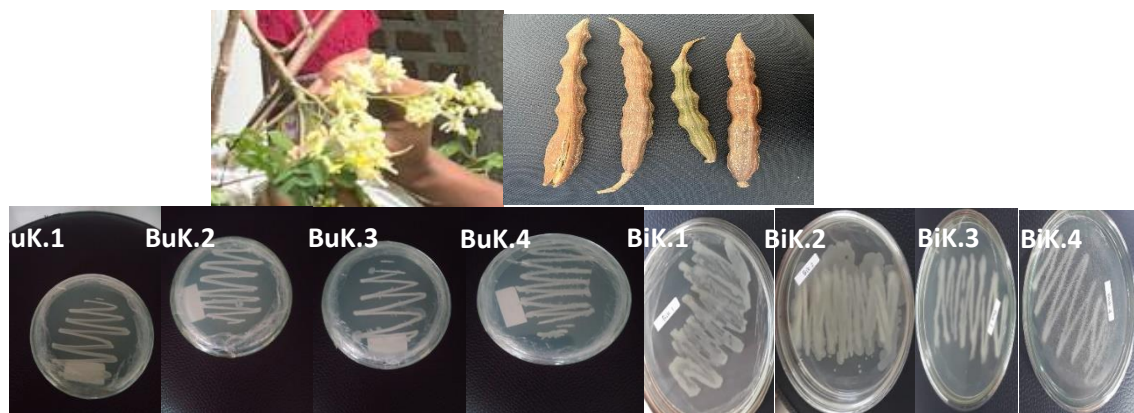
Analisis Data

Hasil pengamatan karakter isolat bakteri endofit, identifikasi dan pengujian dianalisis secara deskripsi dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL

Isolasi dan identifikasi Bakteri Endofit dari Bunga dan Biji Kelor (*M. oleifera*)

Hasil isolasi bakteri endofit dari sampel bunga dan biji kelor menggunakan media Nutrient Agar (NA) diperoleh 8 isolat. Empat isolat diperoleh dari bunga kelor dan 4 isolat dari biji kelor. Hasil Isolasi bakteri endofit dari bunga dan biji tanaman kelor setelah pemurnian isolat terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Isolat bakteri endofit dari bunga (BuK 1-4) dan biji tanaman kelor (*M. oleifera*) (BiK1-4) (*Endophytic bacterial isolates from flowers (BuK 1-4) and seeds of Kelor Plant (*M. oleifera* plant (BiK1-4))*).

Hasil pengamatan morfologi koloni dari 8 isolat menunjukkan bahwa sebagian besar isolat memiliki bentuk koloni bulat, dan hanya 2 isolat BuK.1 dan BuK.4 yang memiliki bentuk tidak beraturan. Warna isolat pada umumnya putih, serta elevasi umumnya cembung terkecuali isolat BuK.2 dengan elevasi rata. Hasil karakterisasi morfologi koloni ke 8 isolat bakteri endofit pada bunga tanaman kelor terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakter Morfologi Makroskopis Bakteri Endofit dari Biji dan Bunga Tanaman Kelor (*M. oleifera*) (*Macroscopic Morphological Character of Endophytic Bacteria from the Seeds and Flowers of Kelor Plant (M. oleifera)*)

No	Kode Isolat (Isolate Code)	Morfologi Makroskopis (Macroscopic Morphology)				
		Bentuk (Shape)	Elevasi (Elevation)	Warna (Color)	Ukuran (Size)	Tekstur (Texture)
1	BuK.1	Tidak teratur (Irregular)	Cembung (Convex)	Putih (White)	Sedang (Medium)	Halus (Smooth)
2	BuK.2	Bulat (Round)	Rata (Medium)	Putih	Sedang	Halus
3	BuK.3	Bulat	Cembung	Putih	Sedang	Halus
4	BuK.4	Tidak teratur	Cembung	Putih	Sedang	Halus
5	BiK.1	Bulat	Cembung	Bening (Clear)	Sangat kecil (Very Small)	Halus
6	BiK.2	Bulat	Cembung	Putih	Besar (Big)	Halus
7	BiK.3	Bulat	Cembung	Putih	Sedang	Halus
8	BiK.4	Bulat	Cembung	Putih	Kecil	Halus

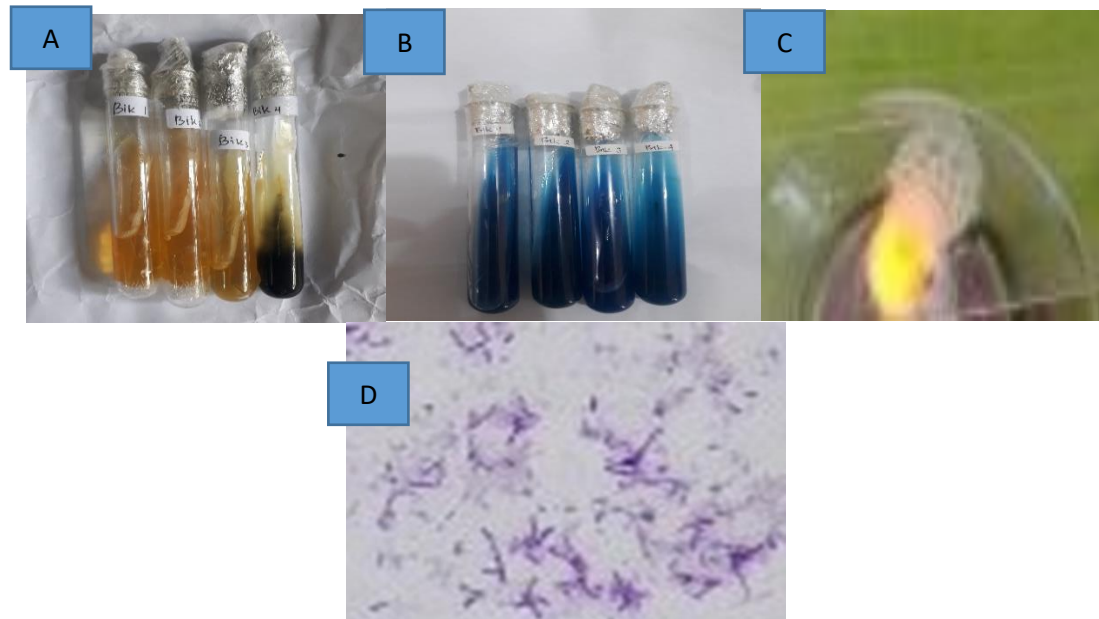
Karakter Biokimia dan Mikroskopis Isolat Bakteri Endofit dari Bunga dan Biji Kelor

Hasil uji biokimia (Tabel 2) berupa uji TSIA menunjukkan bahwa 8 isolat dapat mereduksi gula seperti sukrosa, laktosa, dan maltose. Hasil pengamatan menunjukkan adanya perubahan warna pada media dari merah menjadi kuning dan hitam (Gambar 1). Karakter biokimia lainnya yaitu hasil uji katalase dan uji sitrat menunjukkan bahwa 8 isolat bersifat positif katalase. Sedangkan uji sitrat menggunakan medium *simmons citrate agar* (SCA) menunjukkan 7 isolat positif menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan satu isolat negatif yaitu isolat bakteri BuK.2. Hasil pewarnaan Gram (Tabel 2) menunjukkan bahwa 8 isolat bakteri bersifat Gram positif (Gambar 2).

Tabel 2. Hasil uji biokimia dan pengamatan mikroskopis isolat bakteri endofit dari bunga dan biji tanaman kelor (*Results of biochemical tests and microscopic observations of endophytic bacterial isolates from moringa flowers and seeds*).

Kode isolate (Isolate Code)	Tes Biokimia (Biochemical Test)				Karakter Mikroskopis (Microscopic Characters)
	TSIA	Motilitas	Katalase	SCA	Gram
BuK. 1	+	+	+	+	+
BuK.2	+	+	+	-	+
BuK.3	+	+	+	+	+
BuK.4	+	+	+	+	+
BiK.1	+	+	+	+	+
BiK.2	+	+	+	+	+
BiK.3	+	+	+	+	+
BiK.4	+	+	+	+	+

Keterangan: - = (hasil uji negatif) dan + = (hasil uji positif) (*Description: - = (negative test result) and + = (positive test result)*).



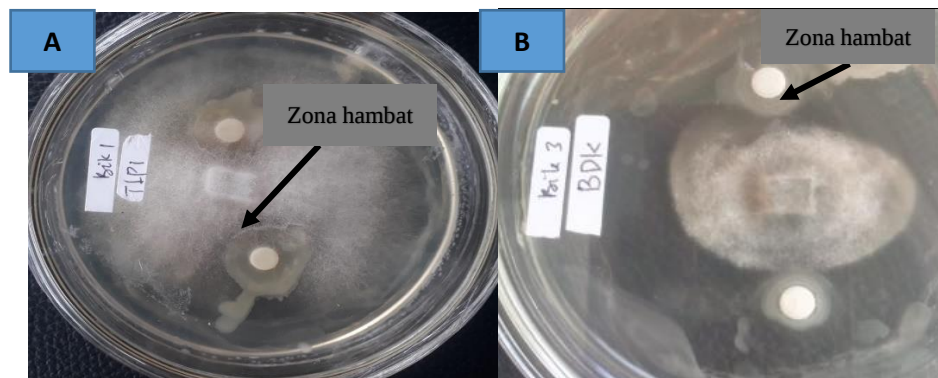
Gambar 2. Pengujian Biokimia TSIA (A), Sitrat (B), Katalase (C) dan Isolat Bakteri Gram positif (D) (Biochemical Testing of TSIA (A), Citrate (B), Catalase (C) and Gram-positive Bacterial Isolates (D)).

Uji Antagonis Isolat terhadap *Fusarium oxysporum* TLPI

Hasil pengujian antagonis bakteri endofit terhadap *F.oxysporum* menunjukkan adanya 3 isolat yang potensial menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* TLPI. Hasil pengamatan zona hambat menunjukkan bahwa isolat BiK.1, BiK.3, BiK.2 dan BuK.3 berpotensi menghambat *Fusarium oxysporum* TLPI. Hasil pengamatan zona hambat terdapat pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Hasil uji Antagonis Isolat bakteri endofit terhadap *Fusarium oxysporum* (Test results of Endophytic bacterial isolate antagonists against *Fusarium oxysporum*).

No	Kode Isolat (Isolate Code)	Zona Hambat (Inhibition Zone) (mm)	Kategori Penghambatan (Inhibition Category)
<i>Fusarium oxysporum</i>			Maarisit (et al., 2021)
1	BuK.1	1	Lemah (Weak)
2	BuK.2	2	Lemah
3	BuK.3	15	Kuat (Strong)
4	BuK.4	10	Sedang (Moderate)
5	BiK.1	41	Sangat Kuat (Very Strong)
6	BiK.2	13	Kuat
7	BiK.3	16	Kuat
8	BiK.4	4	Lemah



Gambar 3. Penghambatan pertumbuhan *Fusarium oxysporum* TLPI oleh isolat bakteri terpilih BiK.1 (A) dan BiK.3 (B) setelah 7 hari inkubasi (*Inhibition of growth of *Fusarium oxysporum* TLPI by selected bacterial isolates BiK.1 (A) and BiK.3 (B) after 7 days of incubation*).

Uji Kandungan Senyawa Kimia

Uji senyawa kimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder isolat bakteri BiK.1 dan BiK.3. Hasil identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder menunjukkan adanya kandungan alkaloid, terpenoid, dan saponin pada ekstrak kasar metabolit bakteri BiK.1 dan BiK.3 (Tabel 4).

Tabel 4. Kandungan senyawa kimia ekstrak kasar metabolit sekunder isolat bakteri BiK.1 dan BiK.3 (*Chemical compound content of crude extract of secondary metabolites of bacterial isolates BiK.1 and BiK.3*)

Golongan Senyawa (Compound Group)	Pereaksi (Reagent)	Isolat Bakteri (Bacterial Isolate)		Keterangan (Description)
		BiK.1	BiK.3	
Alkaloid	Dragendrof	+	+	Terbentuk endapan merah (Red deposits are formed)
Steroid	Liebermann-Burchard	-	-	Tidak terjadi perubahan warna (No discoloration occurs)
Terpenoid	Kloroform	+	+	Coklat kemerahan (Reddish brown)
Saponin	Aquadest	+	+	Terbentuk busa (Foam formed)
Tanin (Tannin)	FeCl ₃	-	-	Tidak terjadi perubahan warna

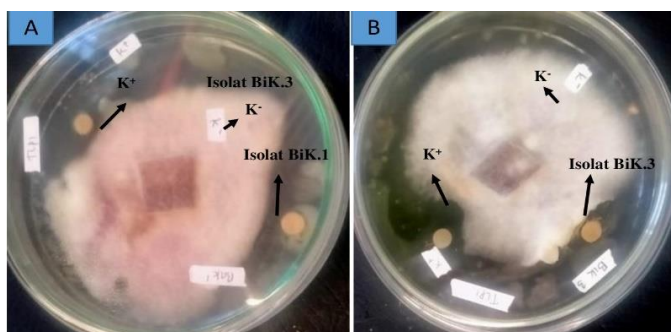
Keterangan: + = teridentifikasi, - = tidak teridentifikasi (Description: + = identified, - = not identified)

Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Metabolit Sekunder Isolat Bakteri BiK.1 dan BiK.3 Sebagai Biokontrol Terhadap *Fusarium oxysporum* Isolat TLPI

Hasil pengujian ekstrak kasar isolat BiK.1 dan BiK.3 menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* TLPI. Hasil perhitungan persentase hambatan setelah inkubasi 7 hari ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Persentase penghambatan metabolit sekunder isolat BiK.1 dan BiK.3 terhadap *F. oxysporum* TLPI (Percentage of inhibition of secondary metabolites of BiK.1 and BiK.3 isolates against *F. oxysporum* TLPI).

Sampel (Sample)	Persen Penghambatan (Percentage of inhibition) (%)
Isolat BiK.1	3,1
Isolat BiK.3	1,2
Kontrol Positif (Positive Control) (ampisilin)	3.1
Kontrol Negatif (Negative Control) (aquadest)	0



Gambar 3. Pertumbuhan *F. oxysporum* TLPI setelah 7 hari inkubasi dengan perlakuan ekstrak kasar isolat BiK.1 (A) dan isolat BiK.3 (B) (Growth of *F. oxysporum* TLPI after 7 days of incubation with coarse extract treatment of BiK.1 (A) isolate and BiK.3 (B) isolate)

Identifikasi Isolat BiK.1 dan BiK.3 Secara Molekuler Berdasarkan 16S rRNA

Berdasarkan hasil identifikasi secara molekuler yaitu membandingkan sekuens isolat BiK.1 dan BiK.3 dengan database *GenBank* menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool for Nucleotide* (BLASTn) menunjukkan bahwa isolat BiK.1 memiliki kemiripan genetik dengan *Bacillus* sp. dan BiK.3 dengan *Bacillus cereus* dengan nilai *query cover* mencapai 100% (Tabel 6). Kemiripan genetik isolat juga tergambarkan dari hasil analisis filogeni (Gambar 4)

Tabel 6. Homologi isolat BiK.1 dan BiK.3 dengan isolat *genbank* (Homology of BiK.1 and BiK.3 isolates with *genbank* isolates).

Kode Isolat (Isolate Code)	Spesies di <i>Genbank</i> (Species in <i>Genbank</i>)	No. akses (Accession No.)	Query Cover (%)	E-Value
BiK.1	<i>Bacillus</i> sp strain H124	KJ943922.1	100	0,0
BiK.3	<i>Bacillus cereus</i> strain HKS2-1	DQ289058.1	100	0,0



Gambar 5. Pohon filogenetik spesies bakteri endofit BiK 1 dan BiK 3 (*Phylogenetic tree of endophytic bacterial species BiK 1 and BiK 3*).

PEMBAHASAN

Penelitian ini mengisolasi bakteri endofit dari biji dan bunga tanaman kelor (*Moringa oleifera*). Hasil isolasi menggunakan media NA diperoleh 8 isolat bakteri. Empat isolat bakteri diisolasi dari bunga kelor dan 4 isolat bakteri dari biji kelor. Perolehan jumlah isolat ini berbeda dengan penelitian Sadikin *et al.*, (2021), yang berhasil mengisolasi 1 isolat bakteri endofit dari daun tanaman kelor. Ini menunjukkan bahwa keanekaragaman bakteri endofit pada setiap organ tanaman berbeda-beda. Menurut Dalimunthe *et al.*, (2023) kelimpahan bakteri endofit pada tiap bagian tanaman berbeda karena dipengaruhi oleh faktor biotik meliputi tanaman dan bakteri dan faktor abiotik meliputi faktor lingkungan seperti sifat tanah, tersedianya bahan organik dalam tanah dan pemupukan.

Delapan isolat dari bunga dan biji kelor menunjukkan karakter morfologi koloni yang berbeda, namun semua koloni berwarna putih. Menurut Aji dan Lestari, (2020), karakter morfologi isolat berbeda kemungkinan berbeda spesies, sehingga perlu dianalisis lebih lanjut. Pengujian motilitas dari ke-8 isolat hasilnya positif dimana pertumbuhan bakteri menyebar hingga permukaan media disekitar tusukan. Menurut Kantari dan Ariyanti (2024) uji motilitas pada bakteri endofit merupakan faktor penting untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit berkolonisasi dengan tanaman inang. Berdasarkan hasil uji biokimia diketahui ke-8 isolat positif uji TSIA dan katalase, sedangkan uji sitrat menunjukkan bahwa 7 isolat positif dan satu isolat negatif sitrat yaitu BuK.2. Menurut Kantari dan Ariyanti, (2024), karakterisasi biokimia isolat bakteri yang positif sitrat, katalase berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen biokontrol.

Hasil pengujian antagonis 8 isolat bakteri endofit diketahui 2 isolat yaitu BiK.1 dan BiK.3 mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* TLPI. Isolat BiK.1 mempunyai diameter zona hambat 41 mm dengan kriteria hambatan sangat kuat, dan isolat BiK.3 mempunyai diameter zona hambat 16 mm dengan kriteria penghambatan kuat. Menurut Kristianingrum *et al.*, (2024), zona hambat yang muncul merupakan aktivitas bakteri dalam memproduksi senyawa tertentu untuk menghambat koloni fungi patogen. Novitasari dan Munif (2020) menjelaskan mekanisme antagonis

terjadi karena adanya produksi senyawa antibiotik seperti enzim kitinase, protease, selulase maupun senyawa metabolit sekunder untuk menghambat pertumbuhan fungi patogen.

Ekstrak heksana bakteri BiK.1 dan BiK.3 mengandung golongan senyawa alkaloid, terpenoid dan saponin. Ekstrak kasar isolat bakteri BiK.1 mampu menghambat fungi patogen *Fusarium oxysporum* TLPI sebesar 3,1 %, sedangkan BiK.2 sebesar 2,1%. Kemampuan setiap ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan fungi uji berbeda-beda, hal ini terlihat dari perbedaan zona hambat yang terbentuk. Penelitian Candrawati *et al.*, (2018) mengekstrak bakteri endofit B11 menggunakan pelarut etil asetat memberikan daya hambat terhadap *F. oxysporum* f.sp. sebesar 43,85%. Selain itu penelitian Aji dan Rohmawati, (2020), menunjukkan bahwa persentase ekstrak isolat bakteri endofit dengan etanol 60% dapat menghambat pertumbuhan miselium *F. oxysporum*. Penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* TLPI oleh ekstrak heksana bakteri BiK.1 dan BiK.3 kemungkinan disebabkan adanya senyawa alkaloid, terpenoid dan saponin. Senyawa alkaloid dapat bersifat sebagai antifungi, karena dapat menghambat pertumbuhan fungi dengan cara menyisip diantara dinding sel dan DNA fungi sehingga pertumbuhannya akan terganggu (Maisarah *et al.* 2023). Sari *et al.*, (2022) menyatakan bahwa senyawa alkaloid dapat mengganggu dinding sel fungi sehingga menyebabkan kematian, senyawa terpenoid menghambat kerja enzim sehingga proses metabolisme fungi terganggu dan senyawa saponin mengakibatkan *Fusarium* sp. lisis dengan mengganggu stabilitas membran selnya. Aktivitas penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* terjadi melalui beberapa mekanisme. Mekanisme kerja senyawa antimikroba dapat melalui mekanisme dinding sel yang lisis, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga sel bocor, denaturasi protein sel, menghambat kerja enzim dalam sel, merusak molekul protein, merusak asam nukleat dan menghambat sintesis asam nukleat.

Hasil identifikasi molekuler berdasarkan 16S rRNA diketahui bahwa isolat BiK.1 adalah *Bacillus* sp. sedangkan BiK.3 merupakan *B.cereus*. Menurut Zhang *et al.*, (2023), spesies dari genus *Bacillus* telah banyak digunakan sebagai agen biokontrol penyakit tanaman. Flori dan Mukarlina, (2020) melaporkan bahwa *Bacillus* sp. BRF4 memiliki kemampuan menghambat *Fusarium* sp. dengan kategori penghambatan kuat. *Bacillus* spp. dan *B. cereus* juga menekan pertumbuhan koloni patogen *Colletotrichum scovillei* (Gargita dan Khalimi, 2023) dan menghambat pertumbuhan *Rhizoktonia solani* (Hidayah dan Yulianti, 2016). Kulkova *et al.*, (2023) melaporkan bahwa *B. cereus* mempunyai aktivitas sebagai biokontrol pada berbagai tanaman pertanian sebagai fitopatogen bakteri seperti *Pseudomonas syringae*, *Pectobacterium carotovorum*, *Ralstonia solanacearum* dan juga fitopatogen fungi seperti *F. oxysporum*, dan *Rhizoctinia solani*. Hasil penelitian Aprilia dan Aini, (2022), menunjukkan bahwa aplikasi konsorsium bakteri antagonis *P. aeruginosa* dan *B. cereus* berpengaruh nyata dalam menekan perkembangan dan terjadinya serangan *F. oxysporum* pada tanaman bawang merah dengan nilai efikasi lebih dari 50%. Melalui penelitian ini diperlukan penelitian lanjut untuk aplikasi *Bacillus* sp. isolat BiK.1 dan *B. cereus* isolat BiK.3 sebagai biokontrol sehingga bisa berkontribusi dalam meningkatkan produksi pertanian di Kabupaten Timor Tengah Utara (TTU).

KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri endofit dari biji dan bunga tanaman kelor (*Moringa oleifera*) di peroleh 8 isolat bakteri Gram positif. Enam memiliki koloni bulat, 2 isolat (BuK.1 dan BuK.4) mempunyai koloni yang memiliki bentuk tidak beraturan. Warna isolat pada umumnya putih, serta elevasi cembung kecuali isolat BuK.2 dengan elevasi rata. Hasil uji biokimia menunjukkan 8 isolat mampu reduksi gula, 7 isolat dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan satu isolat negatif yaitu isolat bakteri BuK.2. Hasil uji antagonis diperoleh 4 isolat yang potensial dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* TLPI yaitu bakteri BiK.1, BiK.3, BiK.2 dan BuK.3 dengan kategori hambat sangat kuat dan kuat. Ekstrak BiK.1 dan BiK.3 memiliki golongan senyawa alkaloid, terpenoid dan saponin. Penghambatan pertumbuhan ekstrak BiK.1 mampu menghambat fungi patogen tanaman *F. oxysporum* TLPI sebesar 3,1 %, sedangkan BiK.2 sebesar 1,2 %. Hasil identifikasi molekuler 16S rRNA diketahui isolat BiK.1 memiliki kemiripan genetik dengan *Bacillus* sp. dan BiK.3 dengan *B. cereus* dengan nilai *query cover* mencapai 100%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Universitas Timor melalui LPPM dan Pusat Studi Lahan Kering atas dukungan dana penelitian dari DIPA Universitas Timor Tahun Anggaran 2024.

KONTRIBUSI PENULIS

GF: membuat konsep penelitian, membuat draft artikel, dan merevisi naskah akhir; AIM: membuat konsep penelitian, mengumpulkan data penelitian; LP: membuat konsep penelitian, mengumpulkan data, dan merevisi naskah akhir.

REFERENSI

- Aji, O. R., Lestari, I.D. 2020. Bakteri Endofit Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Penghasil Asam Indol Asetat (AIA). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 13(2), pp.179–191.
- Aji, O.R., Rohmawati, Y. 2020. Antifungal activity of *Morinda citrifolia* leaf extracts against *Fusarium oxysporum*. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 4(1), pp.20–26.
- Aprilia, A.D., Aini, L.Q. 2022. Pengujian Konsorsium Bakteri Antagonis Untuk Mengendalikan Penyakit Layu *Fusarium* pada Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Di Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan*, 10(1), pp.29–38.
- Candrawati, E., Rupaedah, B., Sumpono., Sudaryono, A. 2018. Ability of Active Compound Extract of Endophytic Bacteria to Inhibit the Growth. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 5(2), pp.214–221.
- Dalimunthe, A.I.R., Susanna, Hakim, L. 2023. Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Asal Tanaman Padi Sawahdi Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(3), pp.550–564.
- Flori, F., Mukarlina, R. 2020. Potensi Antagonis Isolat Bakteri *Bacillus* spp. Asal Rizosfer Tanaman Lada (*Piper nigrum* L.) Sebagai Agen Pengendali Jamur *Fusarium* sp.JDF. *Jurnal Biologi Makassar* 5 (1), pp.111–120.
- Gargita, I.W.D., Khalimi, K. 2023. Uji Aktivitas Antijamur *Bacillus* spp. Terhadap *Colletotrichum scovilei* Penyebab Antraknosa Cabai Rawit. *Agrica*, 16(1), pp.65–75.
- Handayani, T.W., Yusuf, Y., Tandi, J. 2020. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), pp.230–238.
- Hidayah, N., Yulianti, T. 2016. Uji Antagonisme *Bacillus cereus* terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii*. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, 7(1), p.1.
- Jamilatun, M., Aminah, A., Shufiyani, S.2020. Uji Daya Hambat Antibakteri Kapang Endofit Dari Tanaman Alang-Alang (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 7(2), pp.335–346.
- Kantari, W.W., Ariyanti, D. 2024. Karaterisasi Biokimia Kandidat Bakteri Endofit Dari Alga Hijau (*Ulva lactuca*) Sebagai Bioprospeksi Agen Pengendalian Hayati. 2(2), pp.63–73.
- Kotta, N.R.E., Sitorus, A. 2020. Potensi Marungga atau Kelor (*Moringa oleifera* L.) Lokal Nusa Tenggara Timur Sebagai Komoditas Pangan Fungsional. *Seminar Nasional Lahan Suboptimal Ke-8: Komoditas Sumber Pangan Untuk Meningkatkan Kualitas Kesehatan Di Era Pandemi Covid-19*, pp.710–721.
- Kristianingrum, S.A., Setiawan, A.W., Meike, R., 2024. Potensi Bakteri Endofit Dari Tanaman Jahe Sebagai Agen Pengendali Hayati. *Jurnal Ilmiah Biologi*. 12(2), pp.1749–1760.
- Kulkova, I., Dobrzyński, J., Kowalczyk, P., Bełżecki, G., Kramkowski, K. 2023. Plant Growth Promotion Using *Bacillus cereus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), pp.1–18.
- Linda, T.M., Berlyansah, A., Fibriarti, B.L., Sofiyanti, N., Devi, S. 2021. Isolation and Analysis of Bioactive Compounds Endophytic Bacteria of Sea Fern (*Acrostichum aureum* L.) from Bengkalis Island, Riau. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(1), pp.46–54.

- Listya, M., Sagita, D., Antriana, N. 2017. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari daun cendana (*Santalum album* Linn.). *Riset Informasi Kesehatan*, 6 (1), pp.58–63.
- Maarisit, I., Angkouw, E.D., Mangindaan, R.E.P., Rumampuk, N. D. C., Manoppo, H., Ginting, E. L. 2021. Isolation and Antibacterial Activity Test of Seagrass Epiphytic Symbiont Bacteria *Thalassia hemprichii* from Bahowo Waters, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 9(1), p.115.
- Maisarah, M., Chatri, M., Advinda, L. 2023. Karakteristik dan Fungsi Senyawa Alkaloid sebagai Antifungi pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), pp.231–236.
- Mindawarnis, M., Indrawati, N. R. 2023. Isolasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Bunga Tumbuhan Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Dan Uji Aktivitasnya Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *JKPharm Jurnal Kesehatan Farmasi*, 2(1), pp.30–37.
- Muhammad, S. S., Avianto, Y., Anindita, N. S., Nugraheni, I. A. 2023. Potensi Bakteri Endofit dari Tanaman Cabai dan Batang Ketimun Sebagai Agen Biokontrol Terhadap Jamur *Fusarium* sp. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat LPPM Universitas' Aisyiyah Yogyakarta*, 1, pp.338–345.
- Novitasari, W. D., Munif, A. 2020. Potensi Beberapa Isolat Bakteri Endofit untuk Biokontrol *Fusarium oxysporum* f.sp cepae pada Tanaman Bawang Merah. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 16(5), pp.227–234.
- Rivai, A. T. O. 2020. Identifikasi senyawa yang terkandung pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(2), p.67.
- Sadikin, N. A.N., Bintari, S. H., Widiatningrum, T., Dewi, P. 2021. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Life Science*, 10(2), pp.109–119.
- Safari, W. F., Chasanah, E., Wahyudi, A. T. 2016. Antibacterial and anticancer activities of marine bacterial extracts and detection of genes for bioactive compounds synthesis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(2), pp.55–59.
- Saputri, D. D., Bintang, M., Pasaribu, F. H. 2015. Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria from Tembelekan (*Lantana camara* L.) as Antibacterial Compounds Producer. *Current Biochemistry*, 2(2), pp.86–98.
- Sari, K. P., Advinda, L., Anhar, A., Chatri, M. 2022. Potensi Ekstrak Daun Pucuk Merah (*Syzygium oleina*) sebagai Antifungi Terhadap Pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* secara In vitro. *Serambi Biologi*, 7(2), pp.163–168.
- Sogandi. 2022. Isolation and Molecular Identification of Endophytic Bacteria of Clove Leaf (*Syzygium aromaticum* L) and Mechanism of Action Antibacterial. *Jurnal Sains Natural*, 12, pp.27–35.
- Wahid, R., Raudah, S. 2022. Uji Senyawa Komponen Bioaktif dan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo*, 1(1), pp.1–7.
- Wigunarti, A. H., Pujiyanto, S., Supriyadi, A. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Escherichia coli*. *Berkala Bioteknologi*, 2(2), pp.5–12.
- Zhang, N., Wang, Z., Shao, J., Xu, Z., Liu, Y., Xun, W., Miao, Y., Shen, Q., Zhang, R. 2023. Biocontrol mechanisms of *Bacillus*: Improving the efficiency of green agriculture. *Microbial Biotechnology*, 16(12), pp.2250–2263.