

Artikel penelitian

## Karakterisasi Biokimia Kandidat Bakteri Endofit Dari Alga Hijau (*Ulva lactuca*) Sebagai Bioprospeksi Agen Pengendalian Hayati

Wulan Wila Kantari<sup>1</sup>, Dwi Ariyanti <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Konservasi Sumber Daya Alam, Fakultas Ilmu dan Teknologi Hayati, Universitas Teknologi Sumbawa, Kabupaten Sumbawa, NTB

\* Corresponding author (✉ dwi.ariyanti@uts.ac.id)

### Riwayat artikel

Diterima : 26 Jul 2024  
Disetujui : 28 Agu 2024  
Diterbitkan : 29 Agu 2024

### Diedit Oleh

Adi Suriyadin

### ABSTRACT

*Ulva lactuca* of sea lettuce is a green seaweed that is formed like a thin and smooth leaf sheet, has benefits in various fields, one of which is the potential presence of endophytic bacteria that live in the tissue and symbiotically produce various specific compounds. Endophytic bacteria that grow in tissue, participate in metabolic pathways to obtain genetic information, which allows them to produce specific bioactive compounds identical to their host plants, for various utilization purposes including for bioprospection of biological control agents. The purpose of this study was the biochemical characterization of endophytic bacterial candidates from green algae (*Ulva lactuca*) for bioprospection of biological control agents. Biochemical tests performed include citrate test, indole test, catalase test, and urease test. Based on this study, varied results were obtained including positive citrate (UL 01), positive indole (UL 01 and UL 02), positive urease for all isolates, positive catalase for all isolates. Therefore, according to our finding in this experiment, it can be concluded that the two isolates UL 01 and UL 02 have the most potential to be further developed as biological control agents.

**Keywords:** Biochemical Characterization, Biological Control Agent, Endophytic Bacteria, Green Algae (*Ulva lactuca*)

### ABSTRAK

*Ulva lactuca* atau selada laut merupakan rumput laut berwarna hijau yang terbentuk seperti lembaran daun yang tipis dan halus mempunyai manfaat sangat yang besar dalam berbagai bidang salah satunya adalah potensi keberadaan bakteri endofit yang hidup di dalam jaringan dan bersimbiosis menghasilkan berbagai senyawa spesifik. Bakteri endofit yang tumbuh di dalam jaringan dan berpartisipasi dalam jalur metabolisme untuk mendapatkan informasi genetik, yang memungkinkan untuk memproduksi senyawa bioaktif senyawa bioaktif spesifik yang identik dengan tanaman inangnya, untuk berbagai tujuan pemanfaatan termasuk sebagai bioprospeksi agen pengendalian hayati. Tujuan penelitian ini adalah karakterisasi biokimia kandidat bakteri endofit dari alga hijau (*Ulva lactuca*) untuk bioprospeksi agen pengendalian hayati. Uji biokimia yang dilakukan meliputi uji sitrat, uji indol, uji katalase, dan uji urease. Berdasarkan penelitian ini diperoleh hasil yang bervariasi meliputi positif sitrat (UL 01), positif indol (UL 01 dan UL 02), positif urease semua isolat, sedangkan positif katalase juga semua isolat. Sehingga dapat disimpulkan dua isolat UL 01 dan UL 02 paling berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen pengendalian hayati.

**Kata kunci:** Alga Hijau (*Ulva lactuca*), Agen Pengendali Hayati, Bakteri Endofit, Karakterisasi Biokimia

---

### Sitasi :

Kantari, W. W., Ariyanti, D. (2024). Karakterisasi Biokimia Kandidat Bakteri Endofit Dari Alga Hijau (*Ulva lactuca*) Sebagai Bioprospeksi Agen Pengendalian Hayati. *Journal of Life Science and Technology*. 2(2). 63-73

## PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara kepulauan terluas di dunia dengan luas wilayah laut mencapai 3.257.357 Km<sup>2</sup>. Menurut data Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) 2021, Indonesia adalah penghasil rumput laut yang terbanyak di dunia dengan jumlah produksinya mencapai 9,12 juta ton per tahun. Menurut Kementerian Kelautan dan Perikanan, Provinsi Nusa Tenggara Barat adalah Provinsi sentra rumput laut terbesar ketiga di Indonesia, dengan produksi mencapai 702.844,30 ton di tahun 2021, termasuk di dalamnya di Sumbawa. Kawasan pengembangan sentra produsen rumput laut di Pulau Sumbawa tersebar di beberapa Kabupaten yaitu Kabupaten Sumbawa Barat, meliputi Kertasari, Poto Tano, dan Giantar. Sedangkan di Kabupaten Sumbawa tersebar di Teluk Saleh meliputi Tanjung Bele, Moyo Hilir. Kabupaten Dompu terpusat di sejumlah wilayah Teluk Saleh, seperti Manggelewa, Nanga Tumpu, dan Kempo (Haryandi, 2021). Berbagai jenis rumput laut hijau seperti *Sargassum polycistum* banyak ditemukan di daerah Labuan Ijuk, Moyo Hilir Sumbawa, sedangkan jenis *Ulva lactuca* ditemukan di kawasan perairan Sumbawa bagian Luk.

Rumput laut jenis alga hijau (*Ulva lactuca*) yang dikenal juga sebagai selada laut merupakan rumput laut yang tersebar luas diperairan laut dangkal dan mempunyai potensi yang besar dalam berbagai manfaat (Maceiras et al., 2016). Alga hijau (*Ulva lactuca*) memiliki manfaat sebagai sumber pangan dan bahan baku industri. *Ulva lactuca* sangat menarik untuk diteliti karena mempunyai kemampuan bertahan dalam lingkungan yang ekstrem dan tahan terhadap lingkungan berbagai pathogen (Mahmoud et al., 2021). Alga hijau (*Ulva lactuca*) merupakan organisme laut yang dikenal mempunyai potensi besar sebagai mikroorganisme endofit, termasuk bakteri. Bakteri endofit dari *Ulva lactuca* dapat memiliki beragam aktivitas biokimia yang berpotensi sebagai agen pengendalian hayati terhadap pathogen tanaman. Studi karakterisasi biokimia dari bakteri endofit ini menjadi sangat penting untuk memahami mekanisme interaksi mereka dengan inangnya serta potensi aplikasi dalam pengendalian hayati. Selain itu pemahaman yang lebih baik mengenai interaksi antara bakteri endofit ini dengan tanaman inangnya juga akan membuka potensi baru dalam pengembangan produk-produk bioteknologi yang inovatif.

Keberagaman bakteri endofit bisa diteliti melalui berbagai metode diantaranya adalah karakterisasi morfologi, fisiologi, biokimia dan identifikasi secara molekuler (Setiawan, 2018). Uji biokimia adalah suatu pengujian yang dilakukan untuk melihat karakter suatu bakteri dengan pendekatan biokimia (Rahmah et al., 2023). Bakteri endofit diketahui menghasilkan senyawa biokimia yang juga bertanggung jawab atas hubungannya dengan tanaman inangnya. Sehingga jenis senyawa biokimia yang dihasilkan juga memiliki dengan tanaman inangnya.

Pengendalian hayati (*biological control*) adalah metode pengendalian hama, penyakit tanaman, atau gulma dengan menggunakan agen pengendalian hayati, yaitu organisme hidup atau senyawa yang berasal dari organisme hidup. Tujuan utama dari pengendalian hayati adalah untuk mengurangi populasi organisme pengganggu yang merugikan tanaman dengan cara yang alami dan berkelanjutan, tanpa mengandalkan pestisida kimia sintesis yang berpotensi merusak lingkungan dan kesehatan manusia. Penggunaan agen pengendalian hayati berbasis mikroorganisme menjadi salah satu cara yang menjanjikan untuk mengurai ketergantungan pada penggunaan bahan pestisida dalam pengendalian penyakit yang mengganggu tanaman.

Dengan demikian, hal ini membuka peluang potensi bakteri endofit dari berbagai sumber untuk dikembangkan sebagai penghasil senyawa bioaktif dengan berbagai fungsi termasuk proteksi patogenisitas atau pengendalian hayati. Di Indonesia kajian bioprospeksi bakteri endofit dari rumput laut untuk pengendalian hayati bakteri pathogen saat ini masih belum banyak dikembangkan. Di sisi lain, selain potensi eksplorasi dan biodiversitas yang melimpah, kebutuhan inovasi pengendali hayati yang ramah lingkungan menunjukkan tren peningkatan. Kemampuan bakteri endofit sebagai agen pengendalian hayati dengan eksplorasi senyawa bioaktif yang fokus pada peningkatan pertumbuhan tanaman dan induksi ketahanan tanaman terhadap berbagai pathogen tanaman menjadi hal yang menarik dilakukan. Sehingga melalui penelitian ini langkah awal bioprospeksi bakteri endofit dari isolat alga hijau *Ulva lactuca* untuk pengembangan kandidat agen pengendali hayati dilakukan dengan fokus pada tahapan karakterisasi dan pengujian biokimia yang meliputi uji sitrat, uji indol, uji katalase, dan uji urease

## **METODE**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan dari bulan Mei sampai Juli 2024 di Laboratorium Laboratorium Sumbawa Techno park (STP), Universitas Teknologi Sumbawa.

### **Alat Dan Bahan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik, inkubator, *laminar air flow*, cawan petri, tip, *seal*, gunting, mikro-pipet, autoklaf, jarum ose, bunsen, pinset, pipet tetes, tusuk gigi, *erlenmeyer*, gelas ukur, kaca preparat, mikroskop, kaca penutup, *aluminium foil*, spidol, tisu, *microwave*, dan *beaker glass*.

Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri endofit alga hijau (*Ulva lactuca*) sejumlah 3 isolat dengan kode isolat (UL 01, UL 02, dan UL 06) yang diperoleh dari koleksi penelitian sebelumnya (Ariyanti & Arsita 2023), media *Nutrient Agar* (NA), akuades, *Hidrogen Peroksida* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), alkohol 95%, safranin, iodin, Kristal violet, media *Sulfie Motility* (SIM), media *Christensen Urea Agar*, reagen *kovacs*, *malavhite green*.

### **Prosedur Kerja**

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu peremajaan isolat, karakterisasi morfologi makroskopis dan mikroskopis, pewarnaan gram, pewarnaan endospora, dan uji motilitas. Pengujian secara biokimia meliputi uji sitrat, uji indol, uji katalase dan uji urease.

#### **Peremajaan Kandidat Bakteri Endofit**

Peremajaan isolat kandidat bakteri endofit dilakukan menurut (Hamtni *et al.* 2021), dengan mengambil satu biakan murni dari kultur koleksi menggunakan jarum ose, kemudian digoreskan dalam biakan media NA. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30° C selama 24 jam untuk mendapatkan koloni tunggal.

#### **Karakterisasi Bakteri endofit**

##### **Karakterisasi Morfologi**

Isolat dalam bentuk koloni tunggal yang diperoleh dari tahap peremajaan kemudian dilakukan pengamatan morfologi untuk mengkonfirmasi kesesuaian dengan hasil karakterisasi sebelumnya. Karakterisasi morfologi meliputi warna koloni, bentuk koloni dilihat dari bagian atas, dan tepi koloni, dilakukan dengan mengacu pada metode (Afriani *et al.* 2018).

##### **Karakterisasi Pewarnaan Gram**

Selanjutnya dilakukan karakterisasi dengan pewarnaan gram untuk melihat sifat gram pada bakteri endofit tersebut. Sejumlah satu koloni tunggal dari isolat hasil peremajaan diambil dengan menggunakan jarum ose steril, digoreskan diatas kaca preparat, selanjutnya ditetesi dengan larutan kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades, dan dikeringkan selama beberapa menit. Selanjutnya kaca preparat ditetesi larutan iodin dan biarkan selama 1 menit kemudian dibilas dengan akuades. Tahapan selanjutnya kaca preparat ditetesi larutan alkohol 96% selama 1 menit kemudian dicuci dengan akuades dan tahap terakhir dilanjutkan dengan pemberian larutan safranin selama 1 menit lalu dibilas dengan akuades dan dikeringkan selama beberapa menit. Selanjutnya kaca preparat diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x memakai minyak emersi. Hasil pengamatan kemudian dibandingkan dengan acuan referensi pewarnaan gram pada bakteri menurut metode (Hayati, 2019).

##### **Pewarnaan Endospora**

Pewarnaan endospora dilakukan menurut Farikhah (2021) dengan cara meneteskan larutan *malachite green* pada koloni bakteri yang digoreskan pada kaca preparat dengan pengulangan sebanyak 2 kali, kemudian ditunggu beberapa menit sampai kering. Selanjutnya dipanaskan di atas bunsen selama beberapa detik, kemudian diberi tetesan safranin dan diamkan selama 1 menit, dan dicuci dengan akuades. Setelah 30 detik atau mengering selanjutnya diamati menggunakan mikroskop.

##### **Uji Motilitas**

Uji motilitas dilakukan menurut Sijabat (2018) dengan menyiapkan media *Sulfie Motility* (SIM) di dalam tabung reaksi, selanjutnya isolat bakteri endofit diinokulasikan dengan cara menusuk-nusuk ke tengah media secara lurus menggunakan jarum ose. Isolat kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Pengamatan dilakukan dengan mengobservasi tipe pergerakan bakteri di sekitar garis tusukan.

## Uji Biokimia

### Uji Sitrat

Uji sitrat dilakukan dengan menggores isolat bakteri endofit pada media *Simmons Citrate Agar* menggunakan jarum ose, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna pada media. Jika terjadi perubahan warna hijau menjadi biru dikatakan uji sitratnya positif (Sijabat, 2018).

### Uji Katalase

Uji katalase dilakukan menurut Ayunindya *et al.* (2018), dengan menggunakan larutan *Hidrogen Peroksida* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Pertama kaca preparat disiapkan, kemudian ditetesi 1-2 tetes *Hidrogen Peroksida* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Selanjutnya isolat bakteri diambil menggunakan tusuk gigi steril dan diletakkan di atas kaca preparat yang sudah ditetesi dengan larutan (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sebelumnya. Hasil uji katalase menunjukkan positif apabila terbentuk gelembung gas.

### Uji Indol

Uji Indol dilakukan menurut (Kursia *et al.* (2020) isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media *Sulfie Motility* (SIM). Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Pengamatan dilakukan dengan menambahkan 10 tetes reagen Kovacs. Hasil uji indol positif jika terbentuk lapisan berwarna merah di bagian atas biakan.

### Uji Urease

Uji Urease dilakukan menurut (Abdullah *et al.* 2020). Isolat bakteri endofit diambil menggunakan jarum ose kemudian digoreskan pada media *Christensen Urea Agar*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasilnya positif uji urease ditandai dengan adanya perubahan warna merah jambu pada media.

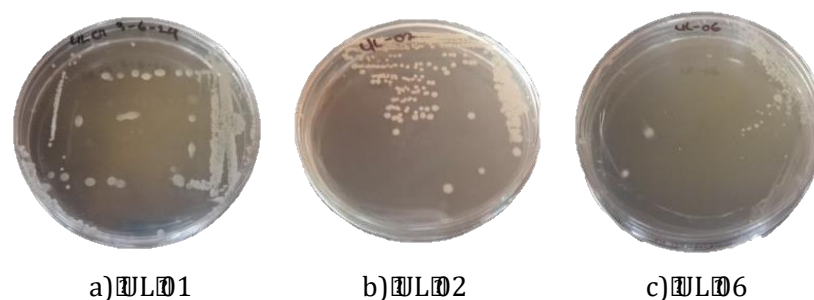
## Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan menyajikan data berupa bentuk tabel dan gambar. Data didapatkan dengan melakukan pengamatan dari hasil peremajaan bakteri, karakterisasi morfologi, pewarnaan gram, pewarnaan endospora, uji motilitas, dan serangkaian uji biokimia.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Peremajaan Kandidat Bakteri Endofit

Peremajaan terhadap 3 kandidat isolat bakteri endofit alga hijau (*Ulva lactuca*) dilakukan pada media NA dengan menggunakan metode streak plate. Hasil peremajaan diperoleh seluruh isolat (UL 01, UL 02, dan UL 06) mampu memanfaatkan medium NA dan tumbuh dengan karakter koloni yang beragam. Peremajaan bakteri bertujuan untuk membuat isolat tetap hidup atau tumbuh, dengan cara bakteri dipindahkan ke media lain atau media baru (Murtiyaningsih, 2017). Selain itu tujuan peremajaan bakteri adalah untuk memindahkan atau memperbaiki sel bakteri, menjaga ketersediaan nutrisi dan mencegah perubahan karakteristik kultur murni yang ditanam atau untuk mengaktifkan isolat bakteri untuk memaksimalkan pertumbuhan bakteri..



Gambar 1. Hasil peremajaan kandidat bakteri endofit dari alga hijau *Ulva lactuca* pada medium *Nutrient Agar* (NA). a) Isolat UL 01, b) Isolat UL 02, dan c) Isolat UL 06.

## Karakteristik Bakteri Endofit

### Karakterisasi Morfologi

Isolat hasil peremajaan pada tahap sebelumnya, selanjutnya dilakukan pengamatan berdasarkan karakteristik morfologi. Pada penelitian ini diperoleh hasil karakter makroskopis yang bervariasi antar 3 isolat). Isolat bakteri endofit UL 01, UL 01, dan UL 06 secara berurutan memiliki bentuk yang *spindel*, *circular*, dan *punctiform*, memiliki tepian yang *undulate* dan *Entire*, memiliki elevasi *umbonate*, *pulvinate*, *plat* dan *convex*, memiliki warna putih, dan putih kekuningan. Hasil ini menunjukkan bervariasinya karakter isolat dan jenis kandidat bakteri endofit yang hidup di jaringan sel alga hijau *Ulva lactuca*.

Menurut Radityo, (2019) jaringan tanaman dan kondisi lingkungan dapat memengaruhi keragaman morfologi bakteri endofit. Selain itu, keanekaragaman morfologi bakteri endofit dalam suatu tanaman dapat dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah (Ginting et al., 2020). Berbagai karakter termasuk bentuk permukaan, halus/ kasar permukaan koloni bakteri yang tumbuh di permukaan media, warna, dan elevasi dapat digunakan sebagai acuan karakterisasi secara morfologi (Lestari dan Hartati, 2017).

Tabel 1 Hasil karakterisasi morfologi kandidat bakteri endofit dari alga hijau *Ulva lactuca*.

Karakterisasi secara makroskopis			
Kode dan hasil peremajaan isolat			
	UL 01	UL 02	UL 06
Bentuk	<i>Spindel</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>
Warna	<i>Putih</i>	<i>Putih Kekuningan</i>	<i>Putih</i>
Tepian	<i>Undulate</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>
Elevasi	<i>Umbonate</i>	<i>Pulvinate</i>	<i>Convex</i>

### Karakterisasi dengan Pewarnaan Gram

Setelah pengamatan morfologi, selanjutnya dilakukan pengamatan dengan pewarnaan gram, untuk mengidentifikasi jenis gram dari masing-masing isolat (bakteri gram positif atau bakteri gram negatif). Adapun hasil pewarnaan gram dari 3 kandidat isolat bakteri endofit alga hijau (*Ulva lactuca*) UL 01, UL 02, dan UL 06 menunjukkan gram negatif. Isolat bakteri gram negatif berwarna merah karena dinding selnya yang mampu menyerap safranin selama pewarnaan, sedangkan bakteri gram positif berwarna ungu karena dinding selnya mampu menyerap kristal violet selama pewarnaan (Pratita 2012). Dinding sel bakteri gram positif mempunyai struktur dinding sel peptidoglikan yang tebal yang dapat mempertahankan zat warna ungu (Jannah et al., 2017). Isolat bakteri endofit yang diwarnai dengan pewarnaan gram dapat dibagi menjadi kelompok bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Sya'baniar et al., 2017).

Tabel 2. Hasil karakterisasi kandidat bakteri endofit dari alga hijau *Ulva lactuca* dengan pewarnaan gram.

Kode Isolat	Hasil
UL 01	Negatif
UL 02	Negatif
UL 06	Negatif

Teknik pewarnaan gram melibatkan serangkaian langkah yang cukup sensitif terhadap waktu dan prosedur. Perbedaan dalam waktu pewarnaan, konsentrasi larutan, atau metode pengeringan

dapat mempengaruhi hasil akhir. Kesalahan dalam teknik ini dapat menghasilkan interpretasi yang berbeda terhadap status gram suatu bakteri. Beberapa jenis bakteri memiliki sifat biokimia yang dapat mempengaruhi pewarnaan gram. Misalnya, bakteri dengan dinding sel yang tipis atau komposisi kimia yang berbeda dapat menghasilkan hasil yang ambigu dalam pewarnaan gram. Variabilitas ini dapat mempengaruhi klasifikasi gram positif atau gram negatif dari bakteri tersebut.

### Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan untuk mengetahui karakterisasi dan mengidentifikasi keberadaan dan lokasi endospora di dalam bakteri endofit (Sijabat 2018). Pada penelitian ini, berdasarkan hasil pewarnaan endospora didapatkan spora pada isolat bakteri endofit UL 01, UL 02, dan UL 06. Menurut Saputri *et al.*, (2020) hasil uji pewarnaan endospora menunjukkan bahwa setiap isolat bakteri yang berbentuk batang akan terlihat memiliki spora (endospora). Hasil ini sesuai dengan Wulandari (2019) yang mendapatkan hasil pewarnaan endospora dari tujuh isolat bakteri, dengan hasil sejumlah 6 isolat positif memiliki endospora.

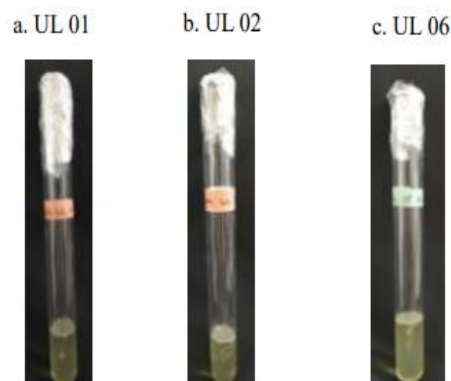
Tabel 3. Hasil karakterisasi kandidat bakteri endofit dari alga hijau *Ulva lactuca* dengan pewarnaan endospora.

Kode Isolat	Hasil
UL 01	Positif
UL 02	Positif
UL 06	Positif

Endospora yang diwarnai akan mengikat warna dengan kuat sehingga ketika endospora ditutup kembali dengan warna lain seperti safranin, endospora akan mempertahankan warna awalnya. Perubahan warna hijau pada bagian tengah sel bakteri menunjukkan adanya endospore. Endospora bakteri biasanya ditemukan pada bakteri seperti *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Sporosarcina*. Endospora bakteri hanya dimiliki oleh beberapa jenis bakteri tertentu saja, dan dindingnya sangat refraktif, tebal, dan resisten. Menurut Sepriana *et al.*, (2020) bakteri endofit termasuk dalam yang ditandai dengan bentuk sel basil dan dapat membentuk endospore. Hal ini didukung oleh penelitian Amaliah (2018) bahwa uji endospora bakteri endofit yang mampu menyerap zat warna sehingga terjadi perubahan warna hijau dikatakan sebagai bakteri pembentuk endospora. Sedangkan bakteri nonspora, sel vegetatifnya akan kelihatan berwarna merah. Penggunaan *Malachite green* dan safranin sebagai pewarnaan khusus untuk pewarnaan endospora, yang dapat diserap oleh bakteri endospora yang tidak mudah menyerap warna. Hal ini digunakan sebagai pembandingan dengan bakteri yang tidak memiliki endospora. Bakteri yang memiliki endospora akan mengalami perubahan warna menjadi hijau karena bisa mempertahankan pewarna *malachite green*, sedangkan bakteri yang tidak memiliki endospora akan berubah warna menjadi merah (Pratita 2012).

### Uji Motilitas

Motilitas bakteri merupakan suatu gerakan dari bakteri yang terjadi karena adanya gerakan aktif atau pasif dari suatu bakteri. Uji motilitas bakteri bertujuan untuk mengetahui bagaimana bakteri yang diuji bergerak pada media yang ditusuk di dalam tabung reaksi. Pada penelitian ini, seluruh isolat bakteri endofit dari alga hijau (*Ulva lactuca*), (UL 01, UL 02, dan UL 06) isolat menunjukkan hasil yang negatif uji motilitas. Berdasar pengamatan hasil sebaran koloni pertumbuhan isolat, semua isolat menunjukkan pertumbuhan di sepanjang garis tusukan pada medium *Sulfie Motility* (SIM).



Gambar 2. Hasil Uji Motilitas Kandidat Bakteri Endofit A) Isolat UL 01, B) Isolat UL 02, C) Isolat UL 06.

Motilitas bakteri merupakan karakteristik yang sangat luas dapat memberikan keuntungan bagi sel, dan memungkinkan proses bergerak menuju kondisi yang lebih menguntungkan, sehingga dapat diketahui ada atau tidaknya pergerakan sel (Panjaitan et al., 2020). Motilitas bakteri merupakan suatu gerakan dari bakteri yang terjadi karena adanya gerakan aktif atau pasif, bertujuan untuk mengetahui bagaimana bakteri yang diuji bergerak pada media yang ditusuk di dalam tabung reaksi. Pada penelitian ini 3 isolat kandidat bakteri endofit dari alga hijau (*Ulva lactuca*), menunjukkan hasil yang negatif (tidak ada pertumbuhan bakteri teridentifikasi menyebar). Meskipun demikian, keseluruhan 3 isolat pada penelitian ini menunjukkan pertumbuhan disepanjang area/ garis tusukan yang mengindikasikan potensi sebagai kandidat bakteri endofit dengan tipe motilitas pasif (motilitas terpusat pada area tertentu).

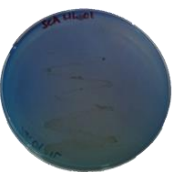


Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sarah et al., (2014) hasilnya negatif yaitu ketika pertumbuhan bakteri tidak menyebar dan hanya tumbuh atau berkembang secara lurus di daerah tusukan. Sebaliknya hasil yang positif menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri menyebar hingga permukaan media disekitar tusukan. Pentingnya untuk mengetahui uji motilitas dalam suatu bakteri, terutama pada bakteri endofit. Kemampuan motilitas dapat menjadi faktor penting dalam kemampuan bakteri endofit untuk berkolonisasi tanaman inang.

**Uji Biokimia**

**Uji Sitrat**

Hasil uji pada 3 kandidat bakteri endofit menunjukkan hasil yang positif pada isolat bakteri endofit UL 01 (ditandai dengan adanya perubahan warna medium dari hijau menjadi biru), dan hasil negatif pada isolat UL 02 dan UL 06, (tidak terjadi perubahan warna medium). Menurut Husna *et al.*, (2018) isolat yang memiliki kemampuan untuk menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energy, sehingga lebih menguntungkan. Uji sitrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energy (Lisa, 2019). Dalam siklus krebs, sitrat dihasilkan dari reaksi antara asetil koenzim A (CoA) dengan asam oksaloasetat (4C). Enzim sitrat menghasilkan sitrat, yang kemudian diubah oleh enzim lain menjadi asam piruvat dan kemudian menjadi karbon dioksida. Selama terjadi reaksi tersebut didalam media terjadi perubahan sifat alkali (basa) karena karbondioksida saling berikatan dengan sodium (Na) dan air (H<sub>2</sub>O) dapat membentuk sodium carbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Adanya sodium karbonat ini yang akan mengubah terjadinya perubahan warna bromthymol blue pada media, terjadi perubahan warna media berubah warna dari warna hijau menjadi warna biru tua (Cappuccino & Sherman, 2005). Hasil negatif uji sitrat, tidak menguntungkan karena isolat bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Isnayanti, 2020). Akibatnya tidak ada enzim permiase sitrat yang dapat memasukkan sitrat ke dalam sel, serta tidak ada nya kemampuan bakteri dalam mengakses atau menggunakan sitrat didalam tanaman inang, yang dapat mendukung peran mereka dalam meningkatkan kesehatan tanaman atau mengurangi pathogen. Seperti contoh pada table dibawah;

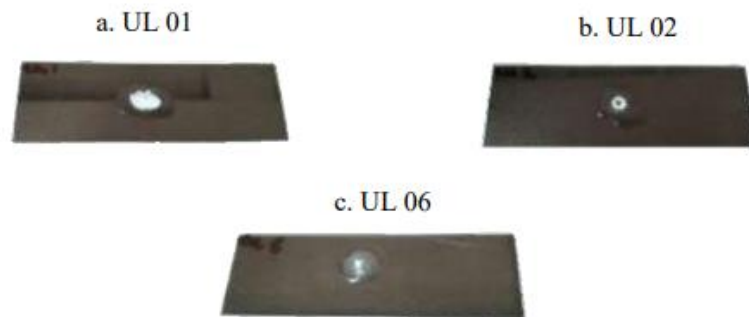
**Tabel 4.** Hasil Uji Sitrat

	<b>Hasil Uji Sitrat</b>		
<b>Kode Isolat dan Gambar</b>			
	<b>UL 01</b>	<b>UL 02</b>	<b>UL 06</b>
<b>Hasil</b>	Positif	Negatif	Negatif

Ketiga isolat menunjukkan hasil uji sitrat dengan media *Simmons Citrate Agar* yang merupakan salah satu media yang umum digunakan untuk menguji kemampuan bakteri untuk menggunakan sitrat sebagai satu-satunya karbon yang digunakan. Menurut Sudarsono, (2008) perubahan warna pada media dari warna hijau berubah menjadi warna biru menunjukkan hasil tersebut positif. Perubahan warna yang terjadi pada uji sitrat biasanya terjadi karena adanya perubahan PH larutan. Peningkatan PH yang disebabkan oleh produksi amino dari sitrat menyebabkan perubahan warna dari hijau menjadi biru.

### Uji Katalase

Pada penelitian ini dilakukan uji katalase untuk mengidentifikasi atau menentukan keberadaan ada atau tidaknya enzim katalase pada bakteri yang diuji (Nurhakiki dan Pratiwi, 2018).



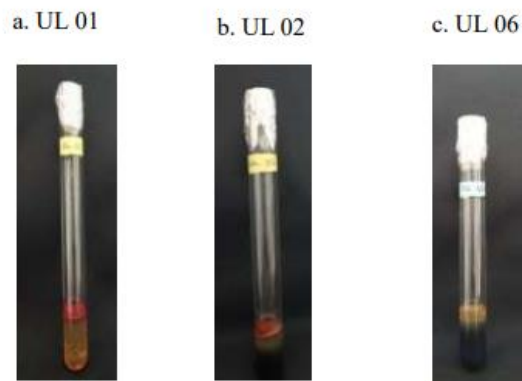
Gambar 3. Hasil Uji Katalase Kandidat Bakteri Endofit A) Isolat UL 01, B) Isolat UL 02, C) Isolat UL 06. Gelembung putih yang Nampak pada kaca preparat menunjukkan produksi gas dari reaksi katalase.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri endofit dari alga hijau (*Ulva lactuca*) menunjukkan reaksi katalase positif. Dengan menambahkan substrat  $H_2O_2$  pada koloni bakteri diatas kaca preparat, uji katalase dapat dibuktikan dengan timbulnya gelembung gas dari oksigen bebas. Berdasarkan aktivitas katalase yang dimilikinya, bakteri endofit menunjukkan bahwa mereka termasuk dalam kelompok bakteri aerob. Terutama ini sejalan dengan penelitian Dewi (2014), yang menyatakan bahwa hydrogen peroksida dihasilkan selama proses metabolisme aerob. Dalam keadaan tertentu, bakteri dapat menghasilkan hydrogen peroksida, yang merupakan zat beracun yang dapat mengganggu sistem metabolisme mereka sendiri. Untuk menghindari kematian, bakteri perlu mampu mengubah hydrogen peroksida menjadi senyawa lain yang tidak berbahaya. Proses ini terjadi melalui tindakan enzim katalase. Isolat bakteri yang tidak mengasilkan gelembung dapat dinyatakan sebagai katalase negatif  $H_2O_2$  yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri endofit tersebut sehingga tidak menghasilkan oksigen. Bakteri katalase negatif tidak memiliki enzim katalase yang menguraikan  $H_2O_2$ .

### Uji Indol

Hasil uji pada ketiga isolat bakteri endofit alga hijau (*Ulva lactuca*) menunjukkan hasil positif pada isolat bakteri endofit UL 01 dan UL 02 dan hasil negatif pada isolat bakteri endofit UL 06, yang artinya isolat yang diperoleh tidak memiliki kemampuan menghidrolisis triptopan. Uji biokimia indol dilakukan untuk mengetahui kemampuan adanya enzim triptopan, yang memungkinkan bakteri untuk mengoksidasi asam amino triptopan (Sari *et al.*, 2018). Adanya enzim triptopan pada bakteri yang dapat menghidrolisis asam amino triptopan menjadi indol dan asam piruvat ditunjukkan dengan uji indol. Asam amino triptopan adalah asam amino yang sering terdapat pada protein, sehingga mikroorganisme dengan mudah dapat menggunakan asam amino ini sebagai sumber energy. Sehingga bakteri endofit mampu menghasilkan indol dapat memiliki peran dalam meningkatkan kesehatan tanaman inang. Indol sebagai senyawa kimia, dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman, termasuk mempromosikan pembentukan akar dan mengatur respons tanaman terhadap stress lingkungan. Purwaningsih (2021) menyatakan bahwa uji indol menunjukkan hasil negatif atau tidak terbentuk cincin merah di atas media tersebut. Ini disebabkan oleh fakta bahwa bakteri tidak dapat menghasilkan karbon dari indol dan triptopan. Menurut Fallo dan Sine (2016), hasil negatif menunjukkan bahwa bakteri tidak memiliki kemampuan untuk menghidrolisis triptopan.





Gambar 4. Hasil Uji Indol Kandidat Bakteri Endofit A) Isolat UL 01, B) Isolat UL 02, C) Isolat UL 06

Terbentuknya cincin merah pada permukaan media menunjukkan reaksi positif, dan cincin kuning menunjukkan reaksi negatif. Jika reagen Kovac-s diteteskan pada media, lapisan atau cincin berwarna merah akan terbentuk di atas media. Hal ini terjadi karena indol dalam media diekstrak dari lapisan reagen oleh asam butanol dan membentuk kompleks dengan *p*-dimethylaminobenzaldehyde (Cappuccino & Sherman, 2005). Perubahan warna saat uji indol dengan menambahkan *reagen kovac-s* terjadi karena reaksi antara indol (yang dihasilkan dari metabolisme tritopan oleh bakteri) dengan dimetilaminobenzalhidra yang terdapat dalam *reagen kovac-s*. Indol dihasilkan kemudian direaksikan dengan *reagen kovac-s* yang mengandung dimetilaminobenzalhidra dalam kondisi asam untuk membentuk perubahan warna pada uji indol. Media tempat bakteri endofit didalam tabung reaksi ketika tumbuh itu terjadi karena keadaan basa/asam jadi bakteri hanya melakukan fermentasi dekstrosa. Apabila bakteri endofit tumbuh pada medium yang asam maka dasar media akan menguning ini menunjukkan bahwa bakteri endofit ini melakukan fermentasi dekstrosa, laktosa, dan sukrosa (Mamarasulov *et al.*, 2022).

#### Uji Urease

Hasil uji urease dari 3 kandidat isolat bakteri endofit alga hijau (*Ulva lactuca*) didapatkan hasil yang positif dari semua isolat UL 01, UL 02, dan UL 06 yang ditandai dengan perubahan warna media menjadi merah muda (sangat merah muda)

Uji urease dapat membantu dalam seleksi bakteri endofit yang dapat meningkatkan ketersediaan nitrogen bagi tanaman inang. Ini penting dalam pengembangan pupuk mikroba atau formulasi lainnya yang bertujuan untuk meningkatkan produktivitas tanaman secara berkelanjutan. Tujuan dilakukannya uji urease untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengubah urea menjadi amoniak (Prihanto *et al.*, 2018). Hasil uji biokimia pada uji urease menunjukkan bahwa keempat isolat menunjukkan hasil yang positif, karena setelah diinkubasi selama 24 jam, warna merah muda muncul pada ketiga media. Ini adalah hasil pemutusan ikatan karbon dan nitrogen oleh enzim urease untuk membentuk amoniak.

Adanya amoniak dapat menyebabkan kondisi media menjadi alkali atau basa, sehingga indikator phenol merah dapat mengubah warna media menjadi merah muda. Ini menunjukkan reaksi positif atau hasil urease (Cappuccino & Sherman, 2005). Kemampuan bakteri endofit untuk menghasilkan urease dapat menjadi indikator adaptasi terhadap lingkungan internal tanaman. Ammonia yang dihasilkan dari hidrolisis urea dapat digunakan oleh bakteri atau tanaman inang sebagai sumber nitrogen, yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Isnayanti (2020) menyatakan bahwa bakteri dapat menguraikan urea ((NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO) menjadi ammonia (NH<sub>3</sub>) dan karbonat.



Gambar 5. Hasil uji biokimia urease kandidat bakteri endofit a) isolat UL 01, b) isolat UL 02, c) isolat UL 06

Hasil uji urease dapat memberikan wawasan tentang bagaimana bakteri endofit berinteraksi dengan tanaman inang. Produksi ammonia oleh bakteri endofit dapat mempengaruhi ketersediaan nitrogen di dalam tanaman, yang dapat memperbaiki nutrisi dan kesehatan tanaman. Dengan demikian, enzim urease akan membantu mikroorganisme menggunakan urea sebagai sumber nitrogen dan energi

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kandidat bakteri endofit alga hijau (*Ulva lactuca*) didapatkan hasil morfologi yang berbeda-beda diantara ketiga UL 01, UL 01, dan UL 06, hasil karakterisasi pewarnaan gram negative untuk semua hasilnya, pewarnaan endospora positif memiliki spora, dan uji motilitas mendapatkan negatif.

Hasil uji biokimia didapatkan hasil uji sitrat isolat UL 01 positif sedangkan UL 02 dan UL 06 negatif. Berdasarkan uji katalase semua kandidat isolat menunjukkan hasil positif katalase. Uji indol hasil UL 01 dan UL 02 positif dan untuk UL 06 negatif, serta hasil uji urease semua kandidat bakteri endofit hasilnya positif. Sehingga dari keseluruhan pengujian karakter biokimia isolat kandidat bakteri endofit UL 01 dan UL 02 memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen pengendali hayati.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapakan terimakasih kepada pembimbing saya ibu Dwi Ariyanti, Ph.D yang telah banyak membantu atau berperan dalam menyusun jurnal ini. Dan terimakasih juga kepada semua pihak-pihak terkait yang telah membantu dan memfasilitasi penerbitan jurnal maupun berjalannya penelitian ini.

### REFERENSI

- Cappuccino JC., & Sherman. (2005). *Microbiology-A laboratory Manual*. 6thEd., Pearson Education (Singapore), Indian branch, Dehli, India, pp: 280-28.
- Ginting, L., Wijanarka, dan Kusdiyantini, E. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Uji Aktivitas Enzim Amilase. *Berkala Bioteknologi*. 3(2).
- Husna, A., Yuliani dan Lisdiana, L. (2018). Identifikasi Bakteri Endofit Isolat B2 dan B3 dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) Var. Papua Patippi Berdasarkan Karakter Fenotipik. *LenteraBio*.7 (1).
- Hasiolan, Y. E., Naharia, O., Lawalata, H. J., Mamangkey, J. J., & Djarang, R. (2022). Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit pada Tanaman Bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.). *Nukleus Biosains*, 3(1), 1-11.
- Isnayanti, I. (2020). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Daun dan Kulit Batang Tanaman Lelak (Uvaria rufa blume) Sebagai Zat Antibakteri*. Skripsi.
- Kurniasih. N. (2021). *Keanekaragaman Koloni Bakteri Endofit pada Daun dan Batang Tanaman Nampu (Homalomena javanica V.A.V.R.)*. Skripsi. Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sumatera Utara Medan ISSN: 2087-2038.
- KKP, (Kementerian Kelautan dan Perikanan). (2021). "Konservasi Perairan sebagai Upaya Menjaga Potensi Kelautan dan Perikanan Indonesia", diakses dari <https://kkp.go.id/djprl/bpsplmakassar/artikel/19908>.

- Mamarasulov, B., Davranov, K., Jahan, M.S., Jabborova, D., Nasif, O., Ansari, M.J., Danish, S., & Datta, R. (2022). Characterization, enzymatic and biochemical properties of endophytic bacterial strains of the medicinal plant *Ajuga turkestanica* (Rgl.) Brig (Lamiaceae). *Journal of King Saud University-Science* 34.
- Prihanto, A. A., Timur, L. D. H., Jaziri, A. A., Nurdiani, R dan Pradarameswari, A. K. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Sonneratia Alba* Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesia Journal of Halal*. 1(1).
- Pratita, Maria dan Putra, Surya Rosa. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas Songgoriti setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. Vol.1.No.1. Hal. 4.
- Radityo, B. (2019). Eksplorasi Bakteri Endofit Isolat Daun Tanaman Karet (*Hevea brassiliensis* muell. Arg) serta Potensi Antagonismenya Terhadap Penyakit Gugur Daun (*Pestalotiopsis* Sp.) Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Medan
- Sari, E., Flatian, N. A., Sari, I. Z. dan Sulaeman, E. (2018). Isolasi dan Karakterisasi *Rhizobium* dari *Glycine Max* L. dan *Mimosa pudica* Linn. *Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. 3(2). ISSN. 2443-2393.
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. (2019). Identifikasi Dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik Pada Umbi *Colocasia esculenta* L. Secara Morfologi, Biokimia, Dan Molekuler. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 6(2).