

Identifikasi Molekuler dan Potensi Bakteri Endofit dari Tanaman Combretaceae

Molecular Identification and Potential of Endophytic Bacterial from Combretaceae Plant

Timothy Parapat & Eko Prasetya*

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Indonesia

Disubmit: 30 Januari 2025; Direview: 11 Februari 2025; Disetujui: 24 Maret 2025

*Corresponding Email: ekonprasetya.biologi@gmail.com

Abstrak

Tanaman dari famili Combretaceae dikenal sebagai tanaman obat, beberapa di antaranya adalah genus *Combretum* dan *Terminalia*. Ketapang (*Terminalia catappa*) merupakan salah satu tanaman dari genus Combretaceae yang dapat menghasilkan senyawa metabolit yang bermanfaat. Selain bermanfaat dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, bakteri endofit memiliki kemampuan memproduksi senyawa metabolit yang sama seperti tanaman inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies bakteri endofit yang terdapat pada tanaman famili Combretaceae dan mengkaji potensinya. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah identifikasi karakteristik sel bakteri endofit dengan menggunakan mikroskop cahaya, identifikasi secara molekuler melalui program BLAST, dan studi literatur. Hasil penelitian ini adalah 9 spesies bakteri endofit yang ditemukan dari tanaman famili Combretaceae, yaitu *Lysinibacillus fusiformis*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fulva*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus hominis*, *Paenibacillus motobuensis*, *Cronobacter sakazakii*, *Cytobacillus firmus*, dan *Methylobacterium radiotolerans*.

Kata Kunci: Bakteri Endofit; *Terminalia Catappa*; 16S Rrna

Abstract

Plants from the Combretaceae family are known as medicinal plants, some of which are the genera *Combretum* and *Terminalia*. Ketapang (*Terminalia catappa*) is one of the plants from the genus Combretaceae that can produce beneficial metabolite compounds. In addition to being useful in increasing plant growth, endophytic bacteria have the ability to produce the same metabolites as their host plants. This study aims to identify endophytic bacterial species found in plants of the Combretaceae family and to examine their potential. The methods used in this study are identification of the characteristics of endophytic bacterial cells using a light microscope, molecular identification through the BLAST program, and literature studies. The results of this study are 9 species of endophytic bacteria associated with plants from the Combretaceae family. They are *Lysinibacillus fusiformis*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fulva*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus hominis*, *Paenibacillus motobuensis*, *Cronobacter sakazakii*, *Cytobacillus firmus*, and *Methylobacterium radiotolerans*.

Keywords: Endophytic Bacteria; *Terminalia Catappa*; 16S Rrna

How to Cite: Parapat, T., & Prasetya, E. (2025). Identifikasi Molekuler dan Potensi Bakteri Endofit dari Tanaman Combretaceae. *Journal of Natural Sciences*. 6 (1): 9-21



PENDAHULUAN

Masyarakat di seluruh dunia sejak lama telah menggunakan tanaman tertentu sebagai obat dalam pengobatan tradisional. Masyarakat biasanya memanfaatkan suatu tanaman sebagai tanaman obat karena mampu menghasilkan senyawa metabolit tertentu yang bermanfaat. Tanaman dari famili Combretaceae menjadi salah satu kelompok tanaman yang sering dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional di Afrika Selatan dan Timur.

Terminalia menjadi salah satu genus terbesar dari famili Combretaceae yang terdiri dari 250 spesies (Zhang *et al.*, 2019). Ketapang (*Terminalia catappa*) merupakan salah satu tanaman dalam genus *Terminalia* yang diketahui memiliki beberapa manfaat. Daun ketapang telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengobati dermatitis, infeksi cacing, dan hepatitis di India dan Filipina (Olukotun *et al.*, 2018). Di Kamerun rebusan daun, kulit kayu, dan kayu dari tanaman ketapang digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit seperti gastroenteritis, disentri, hipertensi, diare, diabetes, sakit kepala, kolik, dan infeksi pada kulit (Majoumouo *et al.*, 2020). Menurut Tampemawa dkk., (2016) daun ketapang mengandung beberapa senyawa obat yang berasal dari golongan flavonoid dan tanin.

Bakteri endofit adalah bakteri yang dapat hidup dan membentuk koloni di dalam jaringan tanaman dan dapat bersimbiosis dengan tanaman tersebut (Hardoim *et al.*, 2015). Sangat jarang ditemukan tanaman yang tidak berasosiasi dengan endofit. Tanaman yang tidak memiliki endofit akan lebih rentan terhadap stres dan serangan patogen (Khan *et al.*, 2015; Leitão & Enguita, 2016; Suman *et al.*, 2016). Mikroorganisme endofit dapat mengkolonisasi batang, bunga, daun, akar, buah, dan biji. Bakteri endofit berperan krusial bagi tanaman dengan memberikan manfaat seperti meningkatkan pertumbuhan, meningkatkan daya tahan tanaman, dan membantu penyerapan unsur hara (Shahzad *et al.*, 2018).

Bakteri endofit juga dapat menjadi sumber senyawa metabolit yang potensial. Bakteri endofit dapat menghasilkan berbagai senyawa untuk membantu respon imun tanaman inang dan mencegah kolonisasi patogen (Webster *et al.*, 2020). Selain itu, bakteri endofit mampu memproduksi senyawa yang sama seperti tanaman inangnya melalui proses transfer genetik (*genetic recombination*), sehingga dapat diasumsikan bahwa bakteri endofit pada daun ketapang juga dapat menghasilkan senyawa yang sama dengan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan ketapang.



Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi keanekaragaman spesies bakteri endofit pada tanaman dari famili Combretaceae. Penelitian sebelumnya oleh Kalaria *et al.*, (2018) berhasil mengidentifikasi 3 spesies bakteri endofit dari daun *Terminalia chebula* dan buah *Terminalia catappa*, yaitu *Staphylococcus hominis*, *Paenibacillus motobuensis*, dan *Cronobacter sakazakii*. Namun, penelitian tersebut hanya terbatas pada identifikasi isolat bakteri endofit melalui metode identifikasi biokimia dan molekuler. Belum ada penelitian yang menyajikan informasi mengenai potensi dan manfaat dari spesies bakteri endofit yang ditemukan pada tumbuhan famili Combretaceae. Oleh karena itu, penelitian ini dilaksanakan untuk mengidentifikasi spesies bakteri endofit dari tanaman famili Combretaceae, serta memberikan rangkuman mengenai manfaat yang dimiliki dari masing-masing spesies yang ditemukan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Juni 2024 di laboratorium mikrobiologi dan laboratorium biologi molekuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan. Pengambilan sampel daun dilakukan di Jl. Rumah Sakit Haji, Kecamatan Percut Sei Tuan, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara. Sampel yang digunakan adalah satu lembar daun ketapang yang masih muda berdasarkan kriteria menurut Widyastuti *et al.*, (2021), yaitu diambil dari pucuk pada rentang nomor 1 sampai nomor 3 dengan warna hijau muda. Tangkai daun dipotong dengan menggunakan gunting, lalu dimasukkan ke dalam *cool box* dan dibawa ke laboratorium mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan.

Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Ketapang

Sampel terlebih dahulu disterilisasi permukaan dengan mencucinya pada air mengalir kemudian direndam dengan alkohol 70% selama 1 menit, dilanjutkan dengan merendam sampel pada larutan NaClO 2,5% selama 4 menit, etanol 95% selama 30 detik, kemudian dibilas sebanyak 3 kali dengan aquadest. Sampel daun kemudian digerus dengan aquadest menggunakan mortar dan alu. 1 mL sampel yang telah digerus diencerkan secara berseri hingga 10^{-5} , lalu 0.1 mL dari pengenceran 10^{-5} dituang ke dalam cawan petri berisi media TSA yang telah dicampur dengan antibiotik nystatin, lalu disebar dengan glass cell spreader. Cawan petri yang telah diinokulasikan sampel gerusan daun



ketapang kemudian diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Koloni yang tumbuh kemudian dimurnikan dengan metode agar miring TSA, sehingga diperoleh kultur murni.

Identifikasi Secara Mikroskopik

Identifikasi secara mikroskopik dilakukan melalui prosedur *gram staining* untuk melihat morfologi sel dari isolat bakteri endofit. Ketika diamati dengan mikroskop, bakteri gram positif akan memperlihatkan warna ungu karena dinding selnya mampu mempertahankan warna dari kristal violet dan bakteri gram negatif akan memperlihatkan warna merah karena dinding selnya mampu mempertahankan warna dari safranin. Sel bakteri memiliki beberapa bentuk, yaitu bulat, batang, dan bergelombang (Nurhidayati *et al.*, 2015).

Identifikasi Secara Molekuler

Isolat bakteri endofit diidentifikasi secara molekuler dengan marker 16S rRNA. Ekstraksi DNA dilakukan dengan Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit (Zymo Research®). Amplifikasi area gen 16S rRNA dari isolat bakteri endofit dilakukan dengan kit MyTaq HS Red Mix, 2X (Bioline, BIO-25048) (B/7.2.1/IKP/002), dengan 25 µL PCR Master Mix (9.5 µL ddH₂O, 12.5 µL MyTaq HS Red Mix, 2x, 1 µL primer 27F [5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3'], 1 µL primer 1492R [5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'], dan 1 µL *DNA Template*). Proses PCR berjalan dengan 35 siklus yang terdiri dari 3 menit tahap pre-denaturasi dengan temperatur 95°C, 15 detik tahap denaturasi dengan temperatur 95°C, 30 detik tahap *annealing* dengan temperatur 52°C, 45 detik tahap *extension* pada suhu 72°C, dan 3 menit tahap *final extension* dengan temperatur 72°C. Produk PCR selanjutnya dipurifikasi menggunakan Zymoclean[®] Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research). Amplikon selanjutnya disekuensing dengan metode Sanger menggunakan *Capillary Electrophoresis* (Retnowati *et al.*, 2024). Sekuens hasil sekuensing kemudian diedit dengan aplikasi BioEdit untuk membentuk sekuens konsensus, kemudian dilakukan analisis kemiripan data sekuens dengan bank data yang telah tersedia melalui program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Program BLAST dijalankan dengan pengaturan *standard databases*, kemudian hanya 5 hasil teratas yang mencantumkan nama spesies dan memuat keterangan 16S ribosomal RNA gene partial sequence dari BLAST yang akan dicantumkan pada hasil penelitian ini.



Studi Literatur

Studi literatur dilakukan untuk memperoleh informasi spesies bakteri endofit yang ditemukan pada tanaman lain dari famili Combretaceae, serta memberikan rangkuman mengenai manfaat yang dimiliki dari masing-masing spesies bakteri endofit yang ditemukan. Studi literatur dilakukan dengan mengumpulkan dan membandingkan informasi dari artikel yang melakukan identifikasi bakteri endofit pada tanaman dari famili Combretaceae. Semua artikel ilmiah yang dijadikan referensi bersumber dari database NCBI dan Google Scholar

HASIL DAN PEMBAHASAN

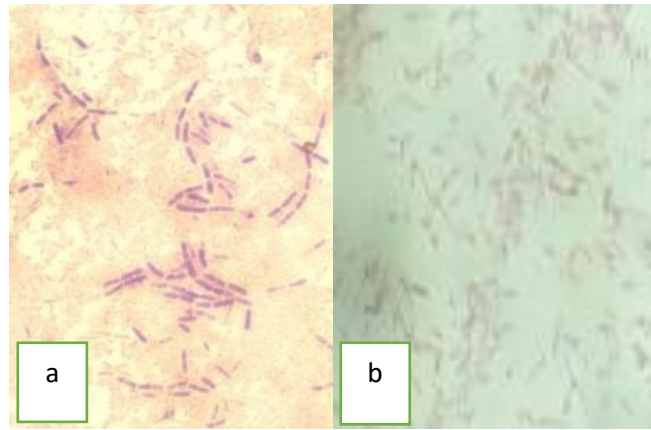
Identifikasi Secara Mikroskopik

Berdasarkan proses isolasi, diperoleh 2 isolat bakteri endofit dari daun ketapang. Jumlah isolat yang ditemukan pada penelitian ini berbeda dengan penelitian terdahulu. Kalaria *et al.*, (2018) memperoleh 3 isolat bakteri endofit dari buah Ketapang, sedangkan penelitian yang dilakukan Rahmi dkk., (2023) memperoleh 2 isolat bakteri endofit pada daun ketapang. Isolat bakteri endofit kemudian diidentifikasi secara mikroskopik untuk melihat morfologi selnya. Proses identifikasi mikroskopik diawali dengan prosedur *gram staining*, lalu pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran lensa obyektif 100x. Berdasarkan hasil pengamatan karakteristik mikroskopik, isolat IE1 memiliki sel berbentuk batang gram positif dan isolat IE2 memiliki sel berbentuk batang gram negatif. Hasil pengamatan mikroskopik kedua isolat bakteri endofit dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 1. Karakteristik mikroskopik isolat bakteri endofit

No	Isolat	Bentuk Sel	Gram
1	IE1	Batang	Positif (+)
2	IE2	Batang	Negatif (-)





Gambar 1. Hasil pengamatan mikroskopik isolat bakteri endofit dari daun ketapang: a. Bakteri berbentuk batang gram positif (IE1), b. Bakteri berbentuk batang gram negatif (IE2)

Identifikasi Secara Molekuler

Bakteri endofit diidentifikasi dengan amplifikasi dan sekuensing gen 16S rRNA karena bersifat universal dan memiliki tingkat akurasi yang tinggi (Kasi *et al.*, 2019; Azhar *et al.*, 2015). Hasil amplifikasi dengan PCR menunjukkan isolat IE1 dan IE2 memiliki panjang ampikon 1500 bp. Proses identifikasi dilakukan melalui program BLAST dengan menggunakan data hasil dari proses Sanger sekuensing, Hasil BLAST menunjukkan bahwa isolat IE1 memiliki kemiripan sekuen sebesar 97,32% dengan *Lysinibacillus fusiformis*, sedangkan isolat IE2 memiliki kemiripan sekuen sebesar 99,39% dengan *Citrobacter freundii* (Tabel 2 dan 3). Spesies bakteri endofit hasil identifikasi dari penelitian ini berbeda dengan spesies yang diidentifikasi pada penelitian Kalaria *et al.*, (2018). Kalaria *et al.*, (2018) menemukan 2 isolat dari buah *Terminalia catappa* yang masing-masing diidentifikasi sebagai *Paenibacillus motobuensis* dan *Cronobacter sakazakii*, serta 1 isolat dari daun *Terminalia chebula* yang diidentifikasi sebagai *Staphylococcus hominis*.

Tabel 2. Hasil analisis blast IE1

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	Percentage Identity
<i>Lysinibacillus fusiformis</i> (OQ911579.1)	1458	1458	99%	97.32%
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i> (CP045835.1)	1458	1458	99%	97.32%
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i> (PP980722.1)	1458	1458	99%	97.32%
<i>Lysinibacillus macroides</i> (KU867640.1)	1458	1458	99%	97.32%
<i>Lysinibacillus macroides</i> (KM497506.1)	1458	1458	99%	97.32%

Tabel 3. Hasil analisis blast IE2

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	Percentage Identity
<i>Citrobacter freundii</i> (CP038658.1)	597	597	100%	99.39%
<i>Citrobacter freundii</i> (OQ405461.1)	597	597	100%	99.39%
<i>Citrobacter freundii</i> (CP115614.1)	597	597	100%	99.39%
<i>Citrobacter freundii</i> (ON060618.1)	597	597	100%	99.39%
<i>Citrobacter murlinae</i> (JN092602.1)	597	597	100%	99.39%

Studi Literatur

Lysinibacillus fusiformis (IE1)

Lysinibacillus fusiformis adalah bakteri *basil* gram positif, bersifat aerob, motil, dan dapat membentuk endospora. Spesies ini awalnya diidentifikasi sebagai *Bacillus fusiformis*, tetapi kemudian dipisahkan dari genus *Bacillus* karena terdapat perbedaan pada komposisi peptidoglikannya, yaitu adanya kandungan lisin (*lysine*), asam aspartat, alanin, dan asam glutamat (Jamal & Ahmad, 2022).

Hasil penelitian (Passera *et al.*, 2021) menunjukkan *Lysinibacillus fusiformis* strain 54C11 (JACUVP000000000.1) mampu menghasilkan senyawa dimetil disulfida, dimetil trisulfida, metiol isovalerat dan metiol butirrat yang bersifat antijamur terhadap jamur patogen *Botrytis cinerea*. (Vitorino *et al.*, 2024) menemukan bahwa *Lysinibacillus fusiformis* strain X-9 (EU187493) bermanfaat dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman karena kemampuannya dalam melarutkan fosfat, produksi hormon IAA, dan produksi siderofor yang dapat menghambat pertumbuhan patogen tanaman. Pada penelitian yang dilakukan Prihanto *et al.*, (2020) dinyatakan bahwa *Lysinibacillus fusiformis* strain NBRC15717 mampu menghasilkan enzim L-asparaginase yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, terutama leukemia dengan mengurangi kadar L-ASN dalam plasma darah, sehingga sel kanker tidak dapat berkembang karena tidak memperoleh nutrisi dari L-ASN.

Citrobacter freundii (IE2)

Citrobacter freundii merupakan spesies bakteri yang termasuk ke dalam genus *Citrobacter* dengan karakteristik sel berbentuk batang, gram negatif, motil dengan flagel peritrik, serta bersifat anaerob fakultatif. Nama *Citrobacter* berasal dari kemampuannya menggunakan sitrat dari media sebagai sumber karbon (Jabeen *et al.*, 2023). Spesies dari



genus *Citrobacter* umumnya dapat ditemukan pada air, tanah, makanan, serta di saluran pencernaan hewan dan manusia (Liu *et al.*, 2018).

Citrobacter freundii diketahui dapat menyebabkan beberapa penyakit infeksi seperti neonatal meningitis, gastroenteritis, sindrom hemolitik uremik, dan infeksi saluran hepatobiliary pada orang dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah, (Kwaees *et al.*, 2016). Namun, beberapa penelitian mengungkapkan bahwa *Citrobacter freundii* juga memiliki beberapa manfaat. Maxton *et al.*, (2017) menyatakan bahwa *Citrobacter freundii* memiliki kemampuan sebagai biokontrol terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus* yang dibuktikan melalui hasil uji antagonis dengan metode *well agar* menunjukkan *Citrobacter freundii* mampu menciptakan zona hambat sebesar 27 mm pada *Escherichia coli* dan 13 mm pada *Staphylococcus aureus*.

Aloo *et al.*, (2020) menemukan bahwa *Citrobacter freundii* strain LMG 3246 (NR_117752.1) dapat membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan kemampuan melarutkan mikronutrien seperti fosfat (P), seng (Zn), kalium (K), menghasilkan siderofor yang membantu dalam penyerapan ion Fe, fiksasi nitrogen, memproduksi hormon pertumbuhan seperti auksin (IAA), dan hormon giberelin (G). Murtaza *et al.*, (2023) menemukan bahwa *Citrobacter freundii* memiliki kemampuan untuk mendegradasi lebih dari 90% Deoxynivalenol (DON) yang merupakan senyawa berbahaya hasil metabolit jamur dari genus *Fusarium* menjadi 3-keto-DON dan DOM-1.

Spesies Bakteri Endofit pada Combretaceae

Bakteri Endofit dari *Combretum molle*

Olga, (2015) berhasil mengisolasi 5 spesies bakteri endofit dari tanaman *Combretum molle*. Isolat dengan kode HSRN yang berasal dari batang keras teridentifikasi sebagai *Lysinibacillus fusiformis*, isolat dengan kode LCP yang berasal dari daun teridentifikasi sebagai *Staphylococcus epidermidis*, isolat dengan kode SSRP1 dan SSRN1 berasal dari batang lunak; isolat SSRP1 teridentifikasi sebagai *Enterobacter cloacae* dan isolat SSRN1 teridentifikasi sebagai *Pseudomonas fulva*, isolat LRP yang berasal dari daun teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis*.

Uji antibakteri yang dilakukan memperlihatkan bahwa 4 dari 5 isolat yang diperoleh mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen seperti *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pada pengujian tersebut, *Pseudomonas fulva* dan *Enterobacter cloacae* menjadi isolat dengan



kemampuan menghambat terkuat. Uji fitokimia yang dilakukan pada daun, batang, dan kulit kayu *Combretum molle* menunjukkan adanya kandungan tanin, flavonoid, dan steroid. Uji fitokimia pada kelima isolat menunjukkan adanya kandungan senyawa turunan tanin dan flavonoid. Senyawa luteolin ditemukan pada isolat *Lysinibacillus fusiformis*, luteolin merupakan senyawa turunan flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antikanker, antiinflamasi, dan antioksidan. Kumatakenin, methynolide, dan fortuneanoside ditemukan pada seluruh isolat. Kumatakenin diketahui memiliki kemampuan antikanker (Woo *et al.*, 2017). Methynolide merupakan aglikon dari antibiotik methymycin golongan makrolida yang pertama kali ditemukan pada *Streptomyces venezuelae* (Suzuki *et al.*, 2017). Iriflophenone-di-C-hexoside ditemukan pada isolat *Staphylococcus epidermidis* LCP dan *Bacillus subtilis* LRP. Iriflophenone-di-C-hexoside merupakan senyawa fenolik yang memiliki kemampuan antivirus. Senyawa terakhir yang ditemukan pada isolat bakteri endofit adalah asam quinic. Senyawa ini ditemukan pada isolat *Staphylococcus epidermidis* LCP, *Enterobacter cloacae* SSRP1, dan *Pseudomonas fulva* SSRN1. Senyawa ini diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan (Zanello *et al.*, 2015).

Bakteri Endofit dari *Terminalia chebula* dan *Terminalia catappa*

Kalaria *et al.*, (2018) menemukan tiga isolat bakteri endofit dari *Terminalia chebula* dan *Terminalia catappa*, yaitu isolat NAUGABI-1 yang diisolasi dari daun *Terminalia chebula*, serta NAUGABI-2 dan NAUGABI-3 yang diisolasi dari buah *Terminalia catappa*. Isolat NAUGABI-1 teridentifikasi sebagai *Staphylococcus hominis*, Isolat NAUGABI-2 teridentifikasi sebagai *Paenibacillus motobuensis*, dan Isolat NAUGABI-3 teridentifikasi sebagai *Cronobacter sakazakii*. Aftab Uddin *et al.*, (2021) menemukan bahwa *Staphylococcus hominis* dapat menghasilkan senyawa golongan lantibiotik bernama homicorcin yang memiliki aktivitas bakterisidal terhadap beragam bakteri gram positif seperti *Staphylococcus simulans*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Lactococcus lactis*, *Staphylococcus carnosus*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli* dengan merusak membran sitoplasma melalui pembentukan pori pori pada sitoplasma. Long *et al.*, (2023) melaporkan bahwa *Paenibacillus motobuensis* dapat menyintesis nanopartikel selenium (SeNPs). SeNPs hasil biosintesis bersifat sitotoksik dan anti-invasif terhadap sel hepatokarsinoma (HepG2), sehingga dapat berpotensi sebagai obat antikanker.



Bakteri Endofit dari *Terminalia arjuna*

Sudarsan *et al.*, (2021) menemukan satu isolat bakteri endofit dari kulit kayu *Terminalia arjuna* yang teridentifikasi sebagai *Cytobacillus firmus*. Dalam penelitiannya diungkapkan bahwa *Cytobacillus firmus* mampu menyintesis nanopartikel perak (AgNPs) melalui uji sintesis nanopartikel. Hasil uji aktivitas antimikroba terhadap *Magnaporthe grisea*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa AgNPs hasil biosintesis dengan konsentrasi rendah memiliki aktivitas antimikroba. Uji sitotoksitas menunjukkan AgNPs hasil biosintesis tidak menimbulkan toksisitas terhadap trombosit maupun eritrosit, sehingga dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri dan fungisida yang menjanjikan.

Bakteri Endofit dari *Combretum Erythrophyllum*

Photolo *et al.*, (2020) menemukan satu isolat bakteri endofit dari biji *Combretum erythrophyllum* yang teridentifikasi sebagai *Methylobacterium radiotolerants*. Uji kemampuan antimikroba ekstrak etil asetat dari *Methylobacterium radiotolerants* memperlihatkan aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap 8 mikroba patogen, yaitu *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Uji fitokimia terhadap *Methylobacterium radiotolerants* memperlihatkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, dan steroid. Hal ini membuktikan bahwa *Methylobacterium radiotolerants* dapat menghasilkan senyawa yang sama seperti tanaman inangnya, sebab spesies tanaman dari genus *Combretum* kaya akan senyawa polar intermediet seperti flavonoid, stilbenoid, dan triterpenoid. Pengujian dengan *Gas Chromatography High-Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry Analysis* menunjukkan adanya senyawa golongan asam lemak (9-oktadesen, 3-eikosana, 11-trikosena, heksadekana) dan beberapa senyawa fenolik yang berkaitan dengan kemampuan antimikroba dan antioksidan dari *Methylobacterium radiotolerants*. Selain itu, uji antioksidan dengan *DPPH free radical assay* memperlihatkan aktivitas antioksidan yang tinggi dari ekstrak *Methylobacterium radiotolerants*, sehingga pemanfaatannya menjadi sangat potensial di bidang farmasi maupun agrikultur.



SIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi, diperoleh dua isolat bakteri endofit dari daun *Terminalia catappa*, yaitu IE1 dan IE2. Hasil identifikasi dengan gen 16S rRNA menunjukkan isolat IE1 memiliki kemiripan dengan *Lysinibacillus fusiformis*, sedangkan isolat IE2 memiliki kemiripan dengan *Citrobacter freundii* dan *Enterobacter cloacae*.

Berdasarkan studi literatur yang dilakukan, ditemukan 9 spesies bakteri endofit yang berasosiasi dengan tanaman dari famili Combretaceae lainnya, yaitu *Lysinibacillus fusiformis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fulva*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus hominis*, *Paenibacillus motobuensis*, *Cronobacter sakazakii*, *Cytobacillus firmus*, dan *Methylobacterium radiotolerans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aftab Uddin, M., Akter, S., Ferdous, M., Haidar, B., Amin, A., Shofiul Islam Molla, A.H.M., Khan, H. & Islam, M.R. 2021. A Plant Endophyte *Staphylococcus hominis* Strain MBL_AB63 Produces a Novel Lantibiotic, Homicorcin and a Position One Variant. *Scientific Reports*, 11(1): 1–12.
- Aloo, B.N., Mbega, E.R., Makumba, B.A., Hertel, R. & Daniel, R. 2020. Molecular Identification and In Vitro Plant Growth-Promoting Activities of Culturable Potato (*Solanum tuberosum* L.) Rhizobacteria in Tanzania. *Potato Research*, 64: 67–95.
- Anand, A.V., Divya, N. & Kotti, P.P. 2015. An updated review of *Terminalia catappa*. *Pharmacognosy Reviews*, 9(18): 93–98.
- Azhar, M., Natalia, D., Syukur, S., Vovien & Jamsari 2015. Gene Fragments that encodes inulin hydrolysis enzyme from genomic *Bacillus licheniformis*: Isolation by PCR technique using new primers. *International Journal of Biological Chemistry*, 9(2): 59–69.
- Hardoim, P.R., van Overbeek, L.S., Berg, G., Pirttilä, A.M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M. & Sessitsch, A. 2015. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3): 293–320.
- Jabeen, I., Islam, S., Hassan, A.K.M.I., Tasnim, Z. & Shuvo, S.R. 2023. A Brief Insight into *Citrobacter* species - a Growing Threat to Public Health. *Frontiers in Antibiotics*, 2: 1–13.
- Jamal, Q.M.S. & Ahmad, V. 2022. *Lysinibacilli* : A Biological Factories Intended for Bio-Insecticidal, Bio-Control, and Bioremediation Activities. *Journal of Fungi*, 8(1288): 1–19.
- Kalaria, R., Leva, R. & Patel, R.M. 2018. Isolation and Identification of Endophytes from *Terminalia* Species Isolation and Identification of Endophytes from *Terminalia* Species. *Advances in Life Sciences*, 5(9): 3640–3648.
- Kasi, P.D., Ariandi & Tenriawaru, E.P. 2019. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Sagu dengan Gen 16S rRNA. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera*, 36(1): 35–40.
- Khan, A.L., Hussain, J., Al-harrasi, A., Al-rawahi, A. & Lee, I. 2015. Endophytic Fungi : Resource for Gibberellins and Crop Abiotic Stress Resistance. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(1): 1–13.
- Kwaees, T.A., Hakim, Z., Weerasinghe, C. & Dunkow, P. 2016. Musculoskeletal Infections Associated With *Citrobacter koseri*. *The Annals of The Royal College of Surgeons of England*, 98(7): 446–449.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis mikroba di laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Leitão, A.L. & Enguita, F.J. 2016. Gibberellins in *Penicillium* Strains : Challenges for Endophyte-Plant Host Interactions under Salinity Stress. *Microbiological Research*, 183: 8–18.
- Liu, L.H., Wang, N.Y., Wu, A.Y.J., Lin, C.C., Lee, C.M. & Liu, C.P. 2018. *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of Mortality and Prevalence of Resistance Genes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51(4): 565–572.
- Long, Q., Cui, L. kun, He, S. bin, Sun, J., Chen, Q. zhi, Bao, H. dong, Liang, T. yue, Liang, B. yue & Cui, L. yu 2023. Preparation, Characteristics and Cytotoxicity of Green Synthesized Selenium Nanoparticles Using *Paenibacillus motobuensis* LY5201 Isolated from the Local Specialty Food of Longevity Area. *Scientific Reports*, 13(1): 1–8.



- Majoumou, M.S., Tincho, M.B., Kouipou Toghueo, R.M., Morris, T., Hiss, D.C., Boyom, F.F. & Mandal, C. 2020. Cytotoxicity Potential of Endophytic Fungi Extracts from *Terminalia catappa* against Human Cervical Cancer Cells. *Journal of Toxicology*, 2020: 1–9.
- Maxton, A., Singh, P., Prasad, S.M., Andy, A. & Masih, S.A. 2017. In-vitro Screening of *B. cepacia*; *C. freundii* and *S. marcescens* for Antagonistic Efficacy. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(3): 1523–1534.
- Murtaza, B., Li, X., Dong, L., Saleemi, M.K., Iqbal, M., Majeed, S., Ali, A., Li, G., Jin, B., Wang, L. & Xu, Y. 2023. In-vitro Assessment of a Novel Plant Rhizobacterium, *Citrobacter freundii*, for Degrading and Biocontrol of Food Mycotoxin Deoxynivalenol. *Toxicon*, 227(2): 107095.
- Nurhidayati, S., Faturrahman & Ghazali, M. 2015. Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*, 1(2): 24–30.
- Olga, D.M. 2015. *Isolation and Identification of Bioactive Compounds from Bacterial Endophytes Associated with Combretum molle*. Faculty of Science, University of Johannesburg.
- Olukotun, A.B., Bello, I.A. & Oyewale, O.A. 2018. Phytochemical and Anthelmintic Activity of *Terminalia catappa* (Linn) Leaves. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 22(8): 1343–1347.
- Passera, A., Rossato, M., Oliver, J.S., Battelli, G., Shahzad, G.I.R., Cosentino, E., Sage, J.M., Toffolatti, S.L., Lopatriello, G., Davis, J.R., Kaiser, M.D., Delledonne, M. & Casati, P. 2021. Characterization of *Lysinibacillus fusiformis* Strain S4C11: In vitro, In planta, and In silico Analyses Reveal a Plant-Beneficial Microbe. *Microbiological Research*, 244: 1–17.
- Pero, R.W., Lund, H. & Leanderson, T. 2009. Antioxidant Metabolism Induced by Quinic Acid . Increased Urinary Excretion of Tryptophan and Nicotinamide. *Virology journal*, 23(3): 335–346.
- Photolo, M.M., Mavumengwana, V., Sitole, L. & Thlou, M.G. 2020. Antimicrobial and Antioxidant Properties of a Bacterial Endophyte, *Methylobacterium radiotolerans* MAMP 4754, Isolated from *Combretum erythrophyllum* Seeds. *International Journal of Microbiology*, 1–11.
- Prihanto, A.A., Yanti, I., Murtazam, M.A. & Jatmiko, Y.D. 2020. Optimization of Glutaminase-free L-asparaginase Production Using Mangrove Endophytic *Lysinibacillus fusiformis* B27. *F1000Research*, 8: 1–18.
- Rahmi, M., Sartika, D. & Putri, F.M. 2023. Isolasi Bakteri Endofit Batang dan Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) Serta Uji Aktivitas Antimikroba. *Jurnal Katalisator*, 8(2): 396–411.
- Retnowati, Y., Kandowanko, N.Y., Katili, A.S. & Pembengo, W. 2024. Diversity of Actinomycetes on Plant Rhizosphere of Karst Ecosystem of Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas*, 25(3): 907–915.
- Shahzad, R., Khan, A.L., Bilal, S., Asaf, S. & Lee, I. 2018. What Is There in Seeds? Vertically Transmitted Endophytic Resources for Sustainable Improvement in Plant Growth. *Frontiers in Plant Science*, 9(24): 1–10.
- Sudarsan, S., Shankar, M.K., Motatis, A.K.B., Shankar, S., Krishnappa, D., Mohan, C.D., Rangappa, K.S., Gupta, V.K. & Siddaiah, C.N. 2021. Green Synthesis of Silver Nanoparticles by *Cytobacillus firmus* Isolated from the Stem Bark of *Terminalia arjuna* and Their Antimicrobial Activity. *Biomolecules*, 11(2): 1–16.
- Suman, A., Yadav, A.N. & Verma, P. 2016. Endophytic Microbes in Crops : Diversity and Beneficial Impact. and R.P. D. P. Singh, H. B. Singh, ed., *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*. New Delhi: Springer, hal.117–143.
- Suzuki, T., Fujimura, M., Fujita, K. & Kobayashi, S. 2017. Total synthesis of (p) -Methynolide Using a Ti-mediated Aldol Reaction of a Lactyl-bearing Oxazolidin-2-one , and a Vinylogous Mukaiyama Aldol Reaction. *Tetrahedron*, 73(26): 3652–3659.
- Tampemawa, P. V., Pelealu, J.J. & Kandou, F.E.F. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Terhadap Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1): 308–320.
- Vitorino, L.C., da Silva, E.J., Oliveira, M.S., Silva, I. de O., Santos, L. da S., Mendonça, M.A.C., Oliveira, T.C.S. & Bessa, L.A. 2024. Effect of a *Bacillus velezensis* and *Lysinibacillus fusiformis*-Based Biofertilizer on Phosphorus Acquisition and Grain Yield of Soybean. *Frontiers in Plant Science*, 15: 1–18.
- Webster, G., Mullins, A.J., Cunningham-Oakes, E., Renganathan, A., Aswathanarayan, J.B., Mahenthiralingam, E. & Vittal, R.R. 2020. Culturable Diversity of Bacterial Endophytes Associated with Medicinal Plants of The Western Ghats, India. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(9): 1–17.
- Widyastuti, R., Tari, A.I.N. & Asmoro, N.W. 2021. Aktivitas Antioksidan Teh Daun Ketapang (*Terminalia catappa*). *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 4(2): 220–227.
- Woese, C.R., Stackebrandt, E., Macke, T.J. & Fox, G.E. 1985. A Phylogenetic Definition of the Major Eubacterial Taxa. *Systematic and Applied Microbiology*, 6(2): 143–151.



- Woo, J., Ahn, J., Jang, D.S., Lee, K. & Choi, J. 2017. Kumatakenin Isolated from Cloves Induces Cancer Cell Apoptosis and Inhibits the Alternative Activation of Tumour-associated Macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(36): 1-34.
- Zanello, P.R., Koishi, A.C., Junior, C. de O.R., Oliveira, L.A., Pereira, A.A., Almeida, M.V. De, Santos, C.N.D. dos & Bordignon, J. 2015. Quinic Acid Derivatives Inhibit Dengue Virus Replication In vitro. *Virology Journal*, 12(223): 1-13.
- Zhang, X.R., Kaunda, J.S., Zhu, H.T., Wang, D., Yang, C.R. & Zhang, Y.J. 2019. *The Genus Terminalia (Combretaceae): An Ethnopharmacological, Phytochemical and Pharmacological Review. Natural Products and Bioprospecting*, Springer Singapore.

