

MIKROBA ENDOFIT DALAM DUNIA KESEHATAN

MANFAAT DAN APLIKASI



- Stutzerimonas stutzeri strain SM12 16S ribos
- Stutzerimonas stutzeri strain OsEnb_ALM_B
- Stutzerimonas stutzeri strain OsEnb_ALM_A
- Stutzerimonas stutzeri strain OsEnb_ALM_A
- Stutzerimonas stutzeri strain Os_Ep_VSA_6
- Stutzerimonas stutzeri strain Os_Ep_VPA_4
- Pseudomonas sp. strain A122 16S ribosomal
- Stutzerimonas stutzeri strain USW-CAP-1 16
- Stutzerimonas stutzeri strain CM6C 16S ribo
- Stutzerimonas stutzeri strain SCSIO_43754
- IDS 18

Penulis

Harmileni

Gimelliya Saragih

Tengku Rachmi Hidayani

Meutia Mirnandaulia

Chrismis Novalinda Ginting

Edy Fachrial

**MIKROBA ENDOFIT DALAM DUNIA KESEHATAN :
MANFAAT DAN APLIKASI**

Penulis

Harmileni

Gimelliya Saragih

Tengku Rachmi Hidayani

Meutia Mirnandaulia

Chrismis Novalinda Ginting

Edy Fachrial

Editor

Finna Piska

Penerbit

UNPRI Press

ISBN

978-623-8299-09-6

Redaksi

Jl. Sampul, Medan

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam
bentuk dan dengan cara apapun tanpa ijin dari penerbit

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami ucapkan kepada Tuhan YME karena atas rahmat-NYA lah monograf kami yang berjudul MIKROBA ENDOFIT DALAM DUNIA KESEHATAN : MANFAAT DAN APLIKASI dapat diselesaikan. Buku ini merupakan salah satu bentuk tanggung jawab kami dalam memenuhi luaran hasil penelitian yang didanai oleh BPSDMI melalui skema SPIRIT 2023. Melalui kata pengantar ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Badan Pengembangan Sumber Daya Manusia Industri, Kementerian Perindustrian atas pendanaan penelitian SPIRIT 2023
2. Segenap pimpinan Politeknik Teknologi Kimia Industri, Medan yang telah memberikan dukungan sehingga luaran penelitian dapat tercapai dengan baik
3. Laboratorium Terpadu-Basic Sciences Universitas Prima Indonesia yang telah memfasilitasi sarana dan prasarana dalam proses penelitian
4. Segenap tim UNPRI Press yang telah memfasilitasi penerbitan buku ini

Buku ini terdiri dari 5 bab yang terdiri dari : Bab 1. Mikroba Endofit : pengenalan dan sifat-sifat dasar, membahas dasar-dasar mikroba endofit dan interaksi mereka dengan lingkungan sekitarnya. Bab 2. Keanekaragaman Mikroba Endofit, mengungkapkan kekayaan keanekaragaman mikroba endofit di alam, memperluas pemahaman tentang kompleksitas ekosistem mikroba. Bab 3. Potensi Mikroba Endofit untuk Kesehatan Manusia, mengungkap potensi mikroba endofit dalam mendukung kesehatan manusia, membahas perannya mengatasi tantangan kesehatan. Bab 4. Aplikasi Mikroba Endofit Dalam Terapi Medis, membahas aplikasi praktis dari penelitian mikroba endofit dalam dunia medis, termasuk

pengobatan penyakit infeksi dan kanker. Bab 5. Riset Terkini, membawa pembaca ke arah masa depan penelitian mikroba endofit terutama dalam pengembangan antibiotik.

Penulis menyadari bahwa buku ini mungkin masih jauh dari kata sempurna dan penulis terus akan memperbaiki kualitas buku yang akan kami tulis kedepannya. Semoga buku ini dapat menambah khazanah pengetahuan bagi pembaca sekalian.

Medan, 10 Oktober 2023

Tim Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
BAB 1	1
MIKROBA ENDOFIT : PENGENALAN DAN SIFAT-SIFAT DASAR.....	1
1.1 Pengertian Mikroba Endofit.....	1
1.2 Peran Mikroba Endofit dalam Tanaman	3
1.3 Interaksi dengan Inang.....	10
BAB 2.....	17
KEANEKARAGAMAN MIKROBA ENDOFIT	17
2.1 Jenis-Jenis Mikroba Endofit	17
2.2 Ekologi Endofit dan Keragaman.....	25
2.3 Metode Isolasi dan Identifikasi Mikroba Endofit	26
BAB 3.....	38
POTENSI MIKROBA ENDOFIT UNTUK KESEHATAN MANUSIA	38
3.1 Mikroba Endofit sebagai Sumber Antibiotik Alami.....	38
3.2 Peran Mikroba Endofit dalam Keseimbangan Mikrobiota Usus	45
3.3 Mikroba Endofit dalam Terapi Penyakit Tropis	47
BAB 4.....	52
POTENSI APLIKASI MIKROBA ENDOFIT DALAM TERAPI MEDIS.....	52
BAB 5	60
RISET TERKINI	60
5.1 Penelitian Terkini terkait Mikroba Endofit dalam dunia kesehatan	60
5.2 Inovasi Terkini terkait Mikroba Endofit dalam dunia pertanian.....	66
DAFTAR PUSTAKA.....	73
PROFIL PENULIS	82

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keuntungan yang dihasilkan dari interaksi mikroba endofit dengan tanaman.....	11
Tabel 2. Molekul yang diisolasi dari jamur endofit dengan aktivitas antimikroba	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur molekul Citrinin.....	50
Gambar 2. Preussomerin G.....	51

BAB 1

MIKROBA ENDOFIT : PENGENALAN DAN SIFAT-SIFAT DASAR

1.1 Pengertian Mikroba Endofit

Endofit adalah mikroorganisme yang menghabiskan setidaknya sebagian dari siklus hidupnya di dalam tanaman. Dalam beberapa tahun terakhir, definisi endofit telah berubah dan diperkirakan akan terus berkembang di masa depan. Awalnya, istilah "endofit" digunakan untuk mengacu pada jamur yang hidup di dalam tanaman, namun peneliti kemudian menyadari bahwa bakteri juga dapat menempati bagian dalam tanaman. Tumbuhan tidak beroperasi sebagai entitas tunggal, melainkan memiliki keterkaitan erat dengan mikroorganisme yang ada di sekitarnya, terutama mikroorganisme yang hidup di dalamnya. Perkembangan konsep "mikrobioma tanaman," yang merujuk pada genom kolektif mikroorganisme yang hidup bersama tanaman, telah membawa gagasan baru tentang evolusi tanaman. Dalam perspektif ini, kekuatan seleksi alam tidak hanya mempengaruhi genom tanaman itu sendiri, tetapi juga seluruh ekosistem tanaman, termasuk komunitas mikroba yang berkolaborasi dengannya. Konsep Lamarckian tentang warisan sifat-sifat yang dapat dijelaskan melalui gagasan hologenome, di mana transmisi vertikal sifat-sifat berharga terjadi melalui interaksi endofit dengan tanaman.

Endofit adalah mikroba yang tinggal di dalam tumbuhan tingkat tinggi. Mikroba endofit bisa menjadi sumber baru untuk metabolit yang memiliki potensi dalam bidang medis, pertanian, atau industri. Endofit saat ini dianggap sebagai sumber produk alami yang memiliki aktivitas biologis yang luar biasa. Mereka ada di berbagai lingkungan yang unik di mana tumbuhan tingkat tinggi tumbuh. Kehadiran endofit bisa menjadi faktor penting dalam pemilihan tanaman, karena mereka bisa mempengaruhi kualitas dan aktivitas produk yang

terkait dengan mikroba endofit. Penelitian mengenai endofit dimulai pada tahun 1904 di Darnel, Jerman, dan sejak itu, ada banyak definisi yang berbeda tergantung pada perspektif penelitian. Secara umum, endofit adalah mikroba yang tinggal di dalam tumbuhan tanpa menyebabkan kerusakan yang jelas. Meskipun sering dianggap sebagai mitra tanaman, endofit juga bisa menjadi saprofit yang aktif atau bahkan patogen. Jenis mikroba yang paling sering ditemukan sebagai endofit adalah jamur. Meskipun ada kemungkinan mikroba lain seperti mikoplasma dan archaeobacteria juga ada di dalam tanaman sebagai endofit, bukti konkret untuk hal ini belum ditemukan (Qin et al., 1996).

Definisi endofit yang umumnya diterima berasal dari deskripsi praktis yang diberikan pada tahun 1997 oleh Hallmann dan rekan-rekannya. Mereka mendefinisikan endofit sebagai "bakteri yang bisa diisolasi dari jaringan tanaman yang terinfeksi, baik di permukaan maupun dari dalam tanaman, tanpa menimbulkan kerusakan yang signifikan pada tanaman itu sendiri". Namun, definisi ini berlaku untuk spesies yang dapat dikembangkan di sebagian besar laboratorium di seluruh dunia selama dua dekade terakhir. Dalam konteks perkembangan teknik deteksi molekuler dalam penelitian endofit, terdapat kekhawatiran bahwa definisi ini mungkin tidak sesuai untuk spesies yang tidak dapat dikembangkan, karena kemungkinan adanya asam nukleat yang tersisa setelah desinfeksi permukaan tanaman (Hardoim et al., 2015). Dalam artikel lain disebutkan bahwa bakteri endofit dapat didefinisikan sebagai bakteri yang mengkolonisasi jaringan internal tanaman yang tidak menunjukkan tanda-tanda infeksi eksternal atau efek negatif pada inangnya, dan dari hampir 300.000 spesies tanaman yang ada di bumi, setiap tanaman merupakan inang bagi satu atau lebih endofit, dan hanya sedikit dari tanaman ini yang telah dipelajari secara lengkap terkait dengan biologi endofitnya. Akibatnya, peluang untuk menemukan mikroorganisme endofit baru dan bermanfaat di antara

keanekaragaman tanaman di ekosistem yang berbeda cukup besar. Bakteri endofit biasanya menempati lingkungan yang mirip dengan fitopatogen, sehingga mereka bisa menjadi agen biokontrol yang efektif. Banyak laporan menunjukkan bahwa mikroorganisme endofit dapat mengendalikan penyakit pada tanaman, serangga, dan nematoda. Terkadang, mereka juga bisa membantu tanaman tumbuh lebih baik, bahkan dalam kondisi yang tidak ideal. Bakteri endofit dapat mencegah penyakit dengan membuat senyawa baru dan metabolit anti-jamur. Penelitian keanekaragaman jenis endofit ini bisa membantu mengidentifikasi obat-obatan baru yang efektif untuk penyakit pada manusia, tanaman, dan hewan (Ryan et al., 2008).

1.2 Peran Mikroba Endofit dalam Tanaman

Endofit adalah mikroorganisme bakteri atau jamur yang mengkolonisasi jaringan tanaman sehat secara interseluler dan/atau intraseluler tanpa menimbulkan gejala penyakit. Mereka ada di mana-mana, berkoloni di semua tanaman, dan telah diisolasi dari hampir semua tanaman yang diperiksa hingga saat ini. Interaksinya dapat bersifat obligat atau fakultatif dan tidak membahayakan tanaman inang. Mikroba ini menunjukkan interaksi yang kompleks dengan inangnya yang melibatkan mutualisme dan antagonisme. Tumbuhan secara terbatas menghambat pertumbuhan endofit, dan endofit ini menggunakan banyak mekanisme untuk beradaptasi secara bertahap dengan lingkungan hidupnya. Untuk mempertahankan simbiosis yang stabil, endofit menghasilkan beberapa senyawa yang mendorong pertumbuhan tanaman dan membantunya beradaptasi lebih baik dengan lingkungan. Spesies endofit baru-baru ini menghasilkan zat bioaktif penting yang baru. Telah disarankan bahwa hubungan antara berbagai spesies endofitik dan tanaman inang mereka dalam produksi sejumlah besar dan keragaman molekul biologis yang aktif saling terkait, berbeda dengan epifit atau mikroorganisme yang berhubungan dengan tanah. Aplikasi bioteknologi baru untuk spesies

endofitik seperti bioremediasi dan fitoremediasi sedang mendapatkan dorongan besar. Endofit berperan penting dalam tanaman sehat melalui tiga mekanisme berbeda yang dikenal sebagai biofertilisasi, fitostimulasi, dan biokontrol (Ahmed Mohamed Eid et al., 2019). Peran mikroba endofit dalam tanaman adalah sebagai berikut (Nair & Padmavathy, 2014).

- Fitostimulasi

Tanaman membutuhkan 16 unsur esensial seperti C, H, N, O, dan P serta 11 unsur lainnya. Unsur-unsur esensial ini tersedia bagi tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangannya dalam bentuk kimiawi, yang diperoleh dari atmosfer, tanah, air, dan bahan organik. Endofit juga memainkan peran penting dalam penyerapan nutrisi ini. Endofit memiliki cara kerja yang berbeda dalam adaptasi tanaman *fescue* tinggi terhadap defisiensi P dan menginduksi peningkatan serapan N. Bakteri endofit menghasilkan berbagai macam fitohormon, seperti auksin, sitokinin, dan asam giberelat. *Burkholderia vietnamiensis*, bakteri endofit diazotrof yang diisolasi dari pohon kapas liar (*Populus trichocarpa*), menghasilkan asam asetat indol (IAA), yang mendorong pertumbuhan tanaman [43]. Hal ini dikonfirmasi dengan perbandingan antara kontrol yang tidak diinokulasi dan tanaman yang diinokulasi dengan *B. vietnamiensis* pada media bebas nitrogen, dimana tanaman yang diinokulasi memperoleh lebih banyak berat kering dan lebih banyak kandungan nitrogen. Strain baru jamur *Cladosporium sphaerospermum* yang diisolasi dari akar *Glycine max (L) Merr.* menunjukkan adanya jumlah yang lebih tinggi dari GA3, GA4, dan GA7 bioaktif, yang menginduksi pertumbuhan tanaman maksimum pada varietas padi dan kedelai.

- Produksi Pigmen

Pigmen oranye yang diidentifikasi sebagai glikosida kuersetin diisolasi dari jamur endofit milik *Penicillium* sp. Ini adalah laporan pertama tentang glikosida kuersetin yang diproduksi oleh jamur endofit. Strain jamur endofit bernama SX01, yang kemudian diidentifikasi sebagai *Penicillium purpurogenum*, dari ranting *Ginkgo biloba* L, mampu menghasilkan pigmen merah yang melimpah yang dapat digunakan sebagai pewarna makanan alami. Pigmen yang diisolasi dari jamur endofit *Monodictys castaneae* ditemukan dapat menghambat beberapa bakteri patogen manusia *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhi*, dan *Vibrio cholerae* dan terbukti lebih aktif daripada streptomisin.

- Produksi Enzim

Banyak enzim yang penting secara komersial diproduksi oleh beberapa mikroorganisme tanah. Pencarian sumber-sumber potensial lainnya telah menghasilkan penemuan beberapa enzim penting yang diproduksi oleh jamur endofit. Jamur endofit seperti *Acremonium terricola*, *Aspergillus japonicus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Fusarium lateritium*, *Monodictys castaneae*, *Nigrospora sphaerica*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium glandicola*, *Pestalotiopsis guepinii*, *Phoma tropica*, *Phomopsis archeri*, *Tetraploa aristata*, dan *Xylaria* sp. dan banyak spesies lain yang belum teridentifikasi di *Opuntia ficus indica* Mill. telah menunjukkan potensi yang menjanjikan untuk digunakan dalam proses bioteknologi yang melibatkan produksi pektinase, selulase, xilanase, dan protease. Salah satu endofit, *Acremonium zeae*, yang diisolasi dari jagung menghasilkan enzim hemiselulase secara ekstraseluler. Enzim hidrolitik dari *A. zeae*

ini mungkin cocok untuk aplikasi biokonversi biomassa lignoselulosa menjadi gula yang dapat difermentasi.

- **Aktivitas Antimikroba**

Sebagian besar endofit yang diisolasi dari tanaman dikenal memiliki aktivitas antimikroba. Mereka membantu dalam mengendalikan patogen mikroba pada tanaman dan / atau hewan. Endofit yang diisolasi dari tanaman obat menunjukkan bioaktivitas untuk spektrum luas mikroorganisme patogen. Sebanyak 37 endofit diisolasi secara bersamaan dari *Tectona grandis L.* dan *Samanea saman Merr.* dimana 18 di antaranya dapat menghasilkan zat penghambat yang efektif terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* dan 3 isolat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara in vitro.

- **Sumber Bioaktif dan Senyawa Baru.**

Endofit mampu mensintesis senyawa bioaktif yang digunakan oleh tanaman untuk pertahanan terhadap patogen dan beberapa senyawa ini telah terbukti berguna untuk penemuan obat baru. Penelitian terbaru telah melaporkan ratusan produk alami termasuk alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan steroid, dari endofit. Sebagian besar senyawa bioaktif yang diisolasi dari endofit diketahui memiliki fungsi sebagai antibiotik, immunosupresan, agen antikanker, agen pengendali hayati, dan lain sebagainya. Secara alami, berbagai musim, lokasi, kondisi lingkungan, tanah, usia, dan jaringan tanaman inang semuanya memengaruhi biologi endofit dan oleh karena itu menghasilkan variasi yang signifikan dalam sintesis metabolit bioaktif . Selain itu, kondisi budidaya dan metode pemisahan dapat memengaruhi jenis dan variasi metabolit. Dalam suatu laporan disebutkan bahwa bahwa pengambilan sampel, jenis,

dan ukuran jaringan tanaman yang digunakan untuk isolasi, komposisi, dan kondisi kultur media seperti pH, suhu inkubasi, periode inkubasi, agitasi, dan kultur, semuanya faktor-faktor ini mengendalikan produktivitas senyawa bioaktif di laboratorium (Ahmed Mohamed Eid et al., 2019).

- Agen Biokontrol.

Mikroorganisme endofit dianggap sebagai agen biokontrol yang efektif sebagai alternatif dari pengendalian kimiawi. Jamur endofit telah dideskripsikan memainkan peran penting dalam mengendalikan herbivora serangga tidak hanya pada rerumputan tetapi juga pada tumbuhan konifera. Jamur endofit *Beauveria bassiana* yang dikenal sebagai entomopatogen ditemukan dapat mengendalikan serangga penggerek pada bibit kopi dan sorgum. Patogen jamur *Botrytis cinerea* menyebabkan pembusukan parah pada buah tomat selama penyimpanan dan masa simpan. Bakteri endofit *Bacillus subtilis*, yang diisolasi dari *Speranskia tuberculata* (Bge.) Baill, ditemukan sangat antagonis terhadap patogen *B. cinerea* dalam penelitian in vitro. Tidak hanya endofit alami yang digunakan sebagai agen biokontrol, tetapi juga direkayasa secara genetik untuk mengekspresikan protein antihama seperti lektin. Upaya awal dilakukan untuk memasukkan gen heterolog ke dalam mikroorganisme endofit untuk pengendalian serangga. Dengan berjalannya waktu, banyak ilmuwan telah bekerja pada aspek ini, yang telah menjadi salah satu studi penting dalam endofit baru-baru ini. Endofit jamur *Chaetomium globosum* YY-11 dengan aktivitas anti jamur, yang diisolasi dari bibit karet, dan endofit bakteri *Enterobacter sp.* dan *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari bibit padi digunakan untuk mengekspresikan gen aglutinin *Pinellia ternate* (PtA). Endofit rekombinan yang mengekspresikan gen PtA ini terbukti efektif

mengendalikan populasi hama pengisap nira pada beberapa bibit tanaman. Demikian pula, dalam penelitian yang berbeda, bakteri endofit rekombinan *Enterobacter cloacae* yang mengekspresikan gen PtA terbukti dapat menjadi bioinsektisida terhadap wereng punggung putih, *Sogatella furcifera*. Penggunaan endofit rekombinan sebagai agen biokontrol yang mengekspresikan protein antipest yang berbeda menjadi teknik yang menjanjikan untuk mengendalikan hama tanaman karena endofit ini dapat dengan mudah berkoloni di dalam tanaman tanaman yang berbeda dengan baik.

- Siklus nutrisi

Siklus nutrisi merupakan proses krusial yang berlangsung terus-menerus dalam rangka menjaga keseimbangan nutrisi dan memastikan ketersediaannya bagi setiap bagian ekosistem. Salah satu tahap penting dalam siklus ini adalah biodegradasi biomassa yang telah mati, yang bertujuan mengembalikan nutrisi yang telah digunakan ke dalam ekosistem, sehingga bisa digunakan kembali oleh organisme lain. Proses ini membentuk suatu rangkaian siklus. Di dalamnya, banyak organisme saprofit yang memegang peran sentral. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa endofit memiliki peran signifikan dalam proses biodegradasi serasah tanaman inangnya. Ketika serasah mengalami biodegradasi, mikroba endofit awalnya mengkolonisasi tanaman dan memfasilitasi mikroba saprofit untuk bekerja dengan cara berinteraksi secara antagonis. Hal ini meningkatkan efisiensi penguraian serasah. Penelitian lain juga mengindikasikan bahwa semua endofit mampu menguraikan berbagai komponen organik, termasuk lignin, selulosa, dan hemiselulosa, meskipun berbagai kelompok endofit memiliki preferensi yang berbeda terhadap senyawa organik tersebut.

- Bioremediasi

Endofit memiliki kemampuan yang luar biasa dalam menguraikan senyawa yang kompleks. Bioremediasi adalah sebuah metode untuk menghilangkan polutan dan limbah dari lingkungan menggunakan mikroorganisme. Metode ini bergantung pada proses biologis yang dilakukan oleh mikroba untuk menguraikan limbah tersebut. Keberhasilan metode ini dimungkinkan karena adanya keragaman mikroba yang sangat besar. Sebuah tim peneliti melakukan penelitian tentang peran endofit dalam bioremediasi pada tanaman *Nicotiana tabaccum*. Ketika *Nicotiana tabaccum* diinokulasi dengan endofit, terjadi peningkatan produksi biomassa, terutama saat tanaman menghadapi kondisi stres akibat Cadmium (Cd). Selain itu, tanaman yang diinokulasi juga memiliki konsentrasi Cd yang lebih tinggi daripada tanaman yang tidak diinokulasi. Hasil ini menunjukkan bahwa inokulasi endofit pada benih memiliki efek yang menguntungkan terhadap toksisitas dan akumulasi logam. Untuk menggali lebih dalam keragaman endofit dalam proses penguraian plastik, beberapa puluh isolat jamur endofit diuji untuk melihat kemampuannya dalam mendegradasi polimer sintesis poliester poliuretan (PUR). Meskipun beberapa organisme menunjukkan kemampuan untuk mendegradasi PUR secara efisien baik dalam kondisi suspensi padat maupun cair, beberapa isolat dalam genus *Pestalotiopsis* menonjol dengan aktivitas yang sangat kuat. Dua isolat mikrospora *Pestalotiopsis* bahkan dapat tumbuh pada PUR sebagai satu-satunya sumber karbon, baik dalam kondisi aerobik maupun anaerobik. Melalui karakterisasi molekuler, dapat ditemukan bahwa enzim serin hidrolase bertanggung jawab atas degradasi PUR ini.

- Senyawa antikanker

Paclitaxel, obat antikanker pertama di dunia yang bernilai miliaran dolar, dihasilkan oleh jamur endofit yang ditemukan pada berbagai spesies yew (*Taxus*) di seluruh dunia. Salah satu spesies endofit yang paling umum dari yew adalah *Pestalotiopsis*, dengan *P. microspora* sebagai yang paling sering ditemukan. Menariknya, *P. microspora* yang berasal dari pohon cemara (*Taxodium distichum*) di Carolina Selatan juga mampu menghasilkan paclitaxel. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan jamur endofit untuk menghasilkan paclitaxel tidak terbatas pada pohon yew saja. Penjelasan tentang sebab-sebab distribusi yang luas dari jamur endofit yang menghasilkan paclitaxel mungkin terkait dengan fakta bahwa paclitaxel adalah jenis fungisida. Mikroorganisme yang rentan terhadap paclitaxel adalah patogen tanaman seperti *Pythium sp.* dan *Phytophthora sp.*, yang merupakan patogen tanaman yang sangat merusak di seluruh dunia. Yang menarik, sensitivitas mereka terhadap paclitaxel tampaknya disebabkan oleh interaksi dengan protein tubulin yang serupa dengan yang ditemukan dalam sel kanker manusia yang berkembang dengan cepat.

1.3 Interaksi dengan Inang

Interaksi antara endofit dan tanaman dicirikan sebagai hubungan simbiosis karena keduanya mendapatkan manfaat dalam asosiasi ini. Tanaman inang memberikan tempat perlindungan bagi mikroorganisme yang pada gilirannya menghasilkan metabolit yang meningkatkan penyerapan nutrisi, memengaruhi pertumbuhan tanaman, dan peningkatan biomassa. Senyawa metabolit ini memicu proses resistensi tanaman terhadap patogen, mengurangi risiko infeksi patogenik, dan berperan sebagai pengendali penyakit. Interaksi antara tanaman inang dan komunitas endofit melibatkan proses ko-evolusi yang diatur oleh

kolonisasi, yang dipengaruhi oleh genotipe, tahap pertumbuhan, status fisiologis, jenis jaringan tanaman, praktik pertanian, dan kondisi lingkungan seperti suhu, suplai air, dan nutrisi. Proses evolusi ini menghasilkan adanya hubungan yang erat antara endofit dan inangnya, dan interaksi ini disebabkan oleh perubahan pada tingkat seluler dan molekuler yang mempengaruhi perkembangan tanaman. Interaksi mutualistik/simbiotik yang ada antara tanaman dan mikroorganisme ini menghasilkan seleksi positif sebagai konsekuensi dari hubungan ini. Bakteri endofit bekerja secara langsung pada perkembangan dan pertumbuhan tanaman melalui fiksasi nitrogen biologis, percepatan pencernaan, pelarutan fosfor, dan produksi fitohormon, yang memberikan ketahanan terhadap faktor biotik. Dari stimulasi tidak langsung, endofit mendorong peningkatan ketersediaan dan penyerapan nutrisi, mineral, dan air; menginduksi toleransi inang terhadap stres yang disebabkan oleh faktor abiotik, termasuk stres osmotik, paparan logam berat, dan molekul xenobiotik; membantu dalam penekanan mikroorganisme berbahaya; dan berperan dalam pengendalian biologis patogen tanaman (dos Santos et al., 2018). Berikut adalah beberapa keuntungan yang dihasilkan dari asosiasi mikroba endofit dan tanaman.

Tabel 1. Keuntungan yang dihasilkan dari interaksi mikroba endofit dengan tanaman

Tanaman inang	Mikroba Endofit	Keuntungan
Padi	<i>Burkholderia sp.</i> , <i>Herbaspirillum seropedicae</i>	Peningkatan produksi biji-bijian; nitrogen fiksasi; sintesis asam indoleasetat (IAA)
Bit	<i>Bacillus pumilus</i> , <i>Chryseobacterium indologene</i> ,	Meningkatkan konsentrasi karbohidrat

	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	
Tebu	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> , <i>Azospirillum amazonense</i> , <i>Burkholderia tropica</i> , <i>Herbaspirillum seropedicae</i> , <i>H. rubrisubalbicans</i> , <i>G. diazotrophicus</i>	Percepatan pertunasan; peningkatan biomassa; fiksasi nitrogen biologis; menghasilkan siderofor; sintesis IAA dan pelarutan fosfat
Kubis	<i>Enterobacter</i> sp., <i>Herbaspirillum</i> sp	Percepatan pertumbuhan
Bunga matahari	<i>Burkholderia</i> sp	Pelarutan kalsium dan fosfat
Jagung	<i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. lentimorbus</i> , <i>Streptomyces</i> sp. <i>Azospirillum lipoferum</i>	Fiksasi nitrogen; sintesis IAA; promosi pertumbuhan; pengurangan toluena evapotranspirasi di udara; efek antagonis terhadap jamur patogen; peningkatan hasil biji-bijian
Kacang kedelai	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>B. japonicum</i> , <i>Azospirillum brasilense</i>	Produksi siderofor; Sintesis IAA; ACC-deaminase; aktivitas antijamur; fitase; fiksasi nitrogen
Gandum	<i>B. subtilis</i> , <i>Arthrobacter</i> sp., <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Azospirillum</i> sp	Sintesis IAA; pelarutan fosfat; peningkatan pertumbuhan; pengurangan evapotranspirasi toluena di udara; peningkatan hasil biji-bijian

Bakteri atau jamur endofit mengkolonisasi jaringan inang secara internal, terkadang dalam jumlah besar, tanpa merusak inang atau memunculkan gejala penyakit tanaman menurut definisi yang digunakan secara luas. Mikroba endofit tidak berada di dalam sel tanaman hidup atau dikelilingi oleh sistem patogen membran, dasar molekuler interaksi endofit tidak dipahami dengan baik. Bahkan, tidak jelas apakah interaksi ini memiliki dasar yang sama, meskipun ada banyak bukti bahwa banyak bakteri endofit memiliki efek menguntungkan pada tanaman. Pertumbuhan tanaman dapat dicapai dengan produksi bakteri pengatur tumbuh seperti auksin, sitokinin, dan giberelin; sintesis etilen tanaman yang berhubungan dengan stres dapat ditekan oleh aktivitas deaminase 1-aminosiklopropana-1-karboksilat (ACC); nitrogen atau nutrisi lain dapat disediakan oleh fiksasi nitrogen biologis atau dimobilisasi seperti halnya fosfor; Selain itu, endofit dapat memberikan perlindungan tanaman terhadap patogen melalui induksi mekanisme pertahanan tanaman, zat antagonis-patogen, atau melalui persaingan untuk lokasi kolonisasi dan nutrisi (Reinhold-Hurek & Hurek, 2011).

Interaksi tanaman-mikroba adalah mode komunikasi antara tanaman dan mikroba yang dimulai dengan sekresi molekul sinyal yang berbeda. Salah satu pertanyaan penting tentang jalur komunikasi adalah bagaimana tanaman membedakan mikroba mutualis dari patogen. Telah dilaporkan bahwa selama proses evolusi, tanaman telah mengembangkan mekanisme pertahanan yang unik dan canggih yang melibatkan sistem kekebalan bawaan yang terdiri dari dua kelas reseptor kekebalan yang mengenali keberadaan molekul asing baik di dalam maupun di luar sel inang. Paparan dengan molekul *nonself* membangkitkan respons imun yang kuat, yang pada gilirannya mencegah perkembangbiakan patogen mikroba. Selama beberapa dekade terakhir, telah diidentifikasi semakin banyak reseptor pengenal pola pada permukaan

sel tanaman. Karena kelas reseptor imun ini menunjukkan berbagai macam pola molekuler terkait mikroba (MAMP), menghubungkannya dengan kolonisasi bagian dalam akar oleh komunitas mikroba endofit yang berasal dari tanah menjadi sulit. Interaksi antara tanaman dan mikroba mengarah pada aktivasi pertahanan lokal dan sistemik di bawah kondisi yang terkendali oleh hormon pensinyalan tanaman seperti asam salisilat, asam jasmonat, dan etilen yang bergantung pada sifat mikroba (Kumar et al., 2017).

Endofit memasuki endosfer sebagian besar melalui tanah dan rizosfer, atau mungkin terdapat dalam inokulum. Urutan kejadian dalam kolonisasi tanaman oleh bakteri endofit mungkin serupa, terutama pada tahap awal, dengan yang diamati untuk bakteri rizosfer. Secara umum, kolonisasi akar oleh bakteri endofit dimulai dengan pengenalan senyawa spesifik yang dilepaskan dari jaringan akar. Sebagai contoh, senyawa organik tertentu termasuk asam amino yang disekresikan oleh akar tomat dilaporkan berfungsi sebagai kemoatraktan untuk *P. fluorescens* strain WCS365. Setelah dilepaskan, bakteri merasakan molekul-molekul ini dan merespons lingkungan sekitarnya melalui sistem sensor dua komponen. Dalam sistem dua komponen ini, komponen pertama biasanya terdiri dari protein tunggal dengan domain transmembran input dan output dan tidak memiliki domain penerima, sedangkan komponen kedua hanya memiliki fosfotransfer histidin kinase. Sistem dua komponen ini telah dilaporkan bertanggung jawab atas pengenalan senyawa yang dikeluarkan akar yang pada akhirnya mengarah pada kolonisasi akar yang aktif. Dalam jaringan tanaman, ada proses penting yang membedakan mikroflora di sekitar akar dengan tanah biasa, yaitu rhizodeposisi. Ini terjadi karena akar tanaman mengeluarkan berbagai senyawa seperti asam organik, fitosiderofor, gula, vitamin, dan lainnya melalui sel-sel di permukaan akar dan lendir polisakarida yang dihasilkan oleh tutup akar. Semua ini berperan dalam perkembangan

tanaman dan aktivitas akar. Rhizodeposisi juga melibatkan sel khusus yang disebut sel perbatasan tajuk akar di rizosfer. Sel-sel ini sangat berperan dalam menciptakan "efek rizosfer" karena mereka tetap hidup bahkan setelah keluar dari akar ke dalam tanah. Interaksi antara tanaman dan mikroba pada tingkat molekuler sebelumnya sulit dipahami, tetapi perkembangan baru dalam alat dan teknik molekuler telah membantu kita memahami lebih baik mekanisme dan hasil dari interaksi ini. Salah satu teknik yang digunakan adalah autofluorescent protein (AFP), yang sering digunakan untuk mempelajari hubungan tanaman-mikroba dan pembentukan biofilm. Teknik ini memungkinkan kita untuk mengidentifikasi dan menghitung mikroorganisme secara langsung pada permukaan dan dalam jaringan tanaman. Salah satu metode AFP ini menggunakan protein fluoresen hijau (GFP) sebagai penanda. Keunggulan GFP adalah tidak memerlukan bahan tambahan untuk menghasilkan cahaya. Selain itu, kita juga menggunakan sistem pelaporan β -Glucuronidase (GUS) untuk melihat bagaimana mikroba mengkolonisasi tanaman dari dalam (Kumar et al., 2017).

Terkait dengan interaksi molekuler antara bakteri dan tanaman, kita memiliki banyak informasi, tetapi tentang interaksi molekuler antara endofit dan tanaman, data yang tersedia terbatas. Respon tanaman terhadap endofit sepertinya lebih dipengaruhi oleh jenis tanaman itu sendiri. Beberapa jenis tanaman dan varietas tertentu tampaknya memberikan kondisi yang mendukung fiksasi nitrogen oleh endofit dan mendapatkan manfaat darinya. Contohnya dapat ditemukan pada padi, tebu, dan jagung.

Keberadaan bakteri dapat mempengaruhi gen dalam tanaman, dan gen yang aktif memberikan informasi tentang pengaruh endofit pada tanaman. Studi pada tebu, misalnya, sedang mengkaji gen yang berubah akibat kolonisasi oleh *Gluconacetobacter diazotrophicus* dan *Herbaspirillum rubrisubalbicans*. Analisis RNA yang dihasilkan ketika tebu diinokulasi

dengan kedua bakteri ini mengungkapkan bahwa gen yang terkait dengan penyerapan nitrogen, metabolisme karbon, pertumbuhan tanaman, dan pertahanan tanaman telah menjadi lebih aktif. Pendekatan serupa dapat digunakan untuk memahami efek endofit lainnya pada tanaman (Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006).

Sebagian besar jamur endofit pada rumput adalah mitra yang baik bagi tanaman inangnya. Mereka memberikan perlindungan dengan menghasilkan zat beracun yang menjauhkan hama dan juga dapat mendapatkan nutrisi dari tanaman serta melindungi tanaman dari kondisi lingkungan sulit seperti kekeringan. Namun, ada beberapa jamur endofit yang dapat menjadi penyakit tanaman, tergantung pada banyak faktor seperti kondisi lingkungan, tahap perkembangan tanaman dan jamur, serta respons pertahanan tanaman. Kadang-kadang, isolat bakteri endofit dari tanaman sehat bisa menghambat pertumbuhan bibit tomat, mungkin karena mereka menghasilkan senyawa tertentu. Beberapa endofit juga bisa menjadi penyakit yang tersembunyi dan tetap ada dalam kondisi tertentu, mungkin karena perubahan lingkungan seperti peningkatan CO₂ atau berkurangnya O₂, atau mungkin karena interaksi dengan mikroorganisme lain (Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006).

BAB 2

KEANEKARAGAMAN MIKROBA ENDOFIT

2.1 Jenis-Jenis Mikroba Endofit

Jamur memiliki peran penting dalam setiap ekosistem karena mereka terlibat dalam proses-proses vital seperti dekomposisi, daur ulang, dan transportasi nutrisi dalam berbagai lingkungan. Di seluruh dunia, diperkirakan ada lebih dari satu juta spesies jamur yang berbeda, tetapi hanya sekitar 5% yang telah diidentifikasi. Selain jamur, banyak bakteri juga hidup sebagai endofit dalam tanaman, dan seringkali mereka berbagi lingkungan dengan jamur endofit. Kehadiran endofit ini telah diketahui selama lebih dari seratus tahun. Mereka biasanya ada sebagai jenis jamur yang tidak sempurna dan sering dianggap sebagai parasit yang tidak berbahaya atau simbiot yang saling menguntungkan. Ada juga hipotesis bahwa endofit dapat memengaruhi distribusi, ekologi, fisiologi, dan biokimia tanaman inang. Para ahli botani telah melakukan banyak penelitian tentang hubungan antara endofit dan tanaman, terutama pada rerumputan seperti fescue tinggi. Dalam penelitian ini, terbukti bahwa endofit mampu menghasilkan racun yang bertindak sebagai pertahanan terhadap serangga dan hewan penggembalaan lainnya. Hanya dalam dekade terakhir, penelitian tentang endofit telah mengalami perkembangan signifikan untuk mengeksplorasi potensi mereka sebagai sumber obat-obatan baru yang efektif. Mikroorganisme, baik berupa jamur maupun bakteri, telah memberikan kontribusi penting dalam pengembangan perawatan medis modern dan obat-obatan berharga. Contohnya, penisilin yang berasal dari jamur *Penicillium notatum* dan bacitracin dari bakteri *Bacillus subtilis* telah membantu dalam pengobatan berbagai penyakit. Selain itu, agen kemoterapi yang sangat kuat, seperti taxol, diproduksi oleh endofit yang berasal dari pohon Pacific Yew. Endofit adalah contoh nyata dari keragaman adaptasi

mikroorganisme yang hidup di lingkungan yang unik dan terisolasi. Keberagaman dan adaptasi khusus mereka menjadikannya subjek penelitian yang menarik dalam pencarian obat-obatan baru atau molekul yang memiliki potensi sebagai obat-obatan inovatif (Padhi et al., 2013).

- **Jamur Endofit**

Darwin pertama kali mengemukakan gagasan bahwa keanekaragaman dapat memiliki efek yang kuat pada proses ekosistem. Banyak model teoritis dan uji eksperimental telah menunjukkan peran penting keanekaragaman dalam berbagai aspek, seperti peningkatan produktivitas primer, retensi hara, aliran hara, ketersediaan air, dan ketahanan terhadap invasi patogen. Keanekaragaman endofit tidak hanya tercermin dalam hubungannya dengan inang dan morfologi mereka, tetapi juga dalam berbagai manfaat yang mereka berikan kepada inang. Saat ini, endofit telah berhasil diisolasi dari berbagai jenis tanaman, termasuk pohon besar, palem, rumput laut, dan bahkan lumut. Jumlah jenis dan spesies endofit bervariasi tergantung seberapa banyak penelitian yang telah dilakukan. Beberapa ilmuwan telah menyimpulkan beberapa hal yang menarik:

- (i) Jumlah endofit, baik dalam bentuk strain maupun spesies, sangat tergantung pada seberapa teliti penelitian tersebut. Seorang peneliti yang sangat cermat dan rajin mungkin akan berhasil mengisolasi ribuan strain endofit, sementara peneliti yang kurang teliti bisa mendapatkan hasil sebaliknya.
- (ii) Tanaman yang tumbuh di iklim sedang cenderung memiliki komunitas endofit yang berbeda dengan tanaman yang tumbuh di lingkungan tropis.
- (iii) Jenis jaringan tanaman yang berbeda juga dapat menghasilkan komunitas endofit yang beragam

Para ilmuwan telah mencatat bahwa kita masih memiliki pengetahuan terbatas tentang peran sebenarnya dari endofit dalam ekosistem. Sebagian besar endofit yang telah diisolasi sejauh ini termasuk dalam kelompok ascomycetes dan anamorfnya. Namun, hasil penelitian menunjukkan bahwa ada kemungkinan beberapa endofit juga termasuk dalam kelompok basidiomycetes. Tingkat kolonisasi dan isolasi jamur endofit dari tanaman sangat beragam. Beberapa tanaman obat, misalnya, dapat mengandung lebih banyak jamur endofit dibandingkan dengan tanaman lainnya. Beberapa jenis endofit yang umum ditemukan tidak hanya ada di berbagai tanaman inang, tetapi juga memiliki frekuensi yang lebih tinggi di setiap tanaman inang yang berbeda. Di sisi lain, ada beberapa jamur endofit yang hanya terdeteksi pada satu jenis tanaman inang tertentu (Padhi et al., 2013).

Hubungan antara endofit dan tanaman inang berkembang seiring waktu dan melibatkan adaptasi khusus dari kedua belah pihak, yaitu tanaman dan jamur. Hubungan ini bersifat kompleks dan bervariasi tergantung pada jenis jamur, tanaman, atau bahkan keduanya. Asal usul endofit masih menjadi misteri, dan ada dua teori yang mencoba menjelaskannya, yaitu teori eksogen dan endogen. Menurut teori endogen, endofit seolah-olah berasal dari kloroplas dan mitokondria tanaman inangnya, sehingga memiliki sejarah genetik yang mirip dengan inang tersebut. Di sisi lain, hipotesis eksogen menyatakan bahwa endofit memasuki tanaman inangnya melalui berbagai cara, seperti kontak permukaan, pembentukan saluran yang diinduksi, atau melalui luka pada akar. Seiring berjalannya waktu, jamur endofit dan tanaman inangnya telah mengembangkan beragam jenis hubungan. Ini bisa berupa mutualisme, di mana keduanya saling menguntungkan, antagonisme, di mana ada persaingan atau

konflik, atau netralisme, di mana keduanya hidup bersama tanpa interaksi yang signifikan. Jamur endofit biasanya tidak aktif selama mereka berada di dalam jaringan tanaman inangnya, selama inangnya masih hidup. Namun, ada jamur endofit tertentu yang bisa tetap tidak aktif untuk jangka waktu yang lama hingga kondisi lingkungan mendukung aktivasi mereka. Jamur endofit diketahui menghasilkan agen biokontrol untuk inangnya, karena mereka memberikan sifat antimikroba dan pestisida sifat antimikroba dan pestisida pada tanaman. *Antixenosis* dan antibiosis adalah senyawa pelindung yang mencegah serangga untuk makan atau mengurangi efisiensinya. Jamur endofit mensintesis dan melepaskan molekul bioaktif spesifik jaringan tanaman yang tidak berbahaya bagi inang. Sebagian besar fitokimia tanaman dan beberapa senyawa lain termasuk di antara senyawa pertahanan yang dapat diklasifikasikan ke dalam kelas fungsional yang berbeda. Berbeda dengan jamur mikoriza yang tumbuh di rizosfer dan membentuk asosiasi dengan akar tanaman, jamur endofit tumbuh sepenuhnya di dalam jaringan tanaman, termasuk akar, batang, dan daun. Mereka mulai membentuk spora setelah tanaman atau jaringan inangnya memasuki tahap penuaan. Jamur endofit dapat dikelompokkan menjadi dua kategori utama: endofit klavikula (C-endofit), yang biasanya menginfeksi rumput musim dingin dan musim panas, dan endofit non-klavikula (NC-endofit), yang dapat ditemukan di tanaman vaskular dan non-vaskular. Pengelompokan ini didasarkan pada berbagai kriteria, seperti jenis tanaman inang, jenis jaringan yang mereka kolonisasi, tingkat kolonisasi, cara penularan, dan manfaat yang mereka berikan kepada tanaman inangnya. Endofit C, yang juga dikenal sebagai endofit Kelas 1, memiliki ciri-ciri seperti kisaran inang yang terbatas, keanekaragaman filogenetik yang lebih rendah, kolonisasi yang luas di dalam tanaman, penularan

melalui mode vertikal dan horizontal. Di sisi lain, NC-endofit terutama terdiri dari jamur ascomycetous dan dapat dibagi menjadi tiga kelas yang berbeda, yaitu Kelas 2, 3, dan 4. Meskipun ketiga kelas NC-endofit memiliki kisaran inang yang luas, ada perbedaan dalam kemampuan mereka untuk mengkolonisasi jaringan tanaman. Kelas 2 mampu mengkolonisasi jaringan di atas dan di bawah tanah pada pucuk, akar, dan rimpang, sementara Kelas 3 dan Kelas 4 hanya mampu mengkolonisasi jaringan di atas tanah pada pucuk dan akar. Kelas 3 memiliki ciri khas kolonisasi yang terbatas dalam tanaman inang, sedangkan Kelas 2 dan Kelas 4 dapat melakukan kolonisasi yang lebih luas. Kelas 2 dan Kelas 3 memiliki tingkat keanekaragaman yang berbeda, dengan Kelas 2 memiliki keanekaragaman rendah dan Kelas 3 memiliki tingkat keanekaragaman tinggi dalam tanaman inang tertentu. Saat ini, kita belum memiliki informasi tentang Kelas 4. Kelas 2 mentransmisikan endofit baik secara vertikal maupun horizontal, sementara Kelas 3 dan Kelas 4 hanya mentransmisikan melalui mode horizontal. Perlu diperhatikan bahwa seperti Kelas 1, ketiga kelas lainnya memberikan manfaat kepada tanaman inang yang tidak beradaptasi dengan habitat. Selain itu, NC-endofit dapat ditemukan di berbagai wilayah darat, mencakup berbagai ekosistem terestrial mulai dari daerah tropis hingga tundra (Caruso et al., 2022).

- **Bakteri Endofit**

Bakteri endofit, yang ditemukan dalam hampir semua tanaman, adalah bakteri yang dapat ditemukan dalam jaringan tanaman yang tampaknya sehat pada waktu tertentu. Sebagian besar dari mereka mengkolonisasi berbagai bagian dalam tanaman, seperti ruang antar sel pada dinding sel dan pembuluh xilem. Beberapa bahkan dapat ditemukan di organ

reproduksi tanaman seperti bunga, buah, dan biji. Penting untuk dicatat bahwa bakteri endofit ini tidak menyebabkan perubahan morfologi yang signifikan pada tanaman, seperti yang terjadi pada simbiosis bintil akar, dan juga tidak menimbulkan gejala penyakit seperti yang dilakukan oleh fitopatogen. Banyak dari bakteri endofit ini memiliki sifat-sifat yang bermanfaat untuk tanaman jika diuji secara *in vitro*, meskipun hanya sedikit yang telah terbukti sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman (Malfanova et al., 2013). Sejak laporan pertama yang dapat diterima mengenai isolasi bakteri endofit dari tanaman yang disterilkan dari permukaan, lebih dari 200 genera bakteri dari 16 filum telah dilaporkan sebagai endofit. Ini termasuk bakteri yang dapat dikultur dan tidak dapat dikultur yang termasuk dalam *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Aquificae*, *Bacteroidetes*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Deinococcus Thermus*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospira*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, dan *Verrucomicrobiae*. Namun, endofit yang paling dominan dan dipelajari termasuk dalam tiga filum utama - *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, dan *Firmicutes* - dan termasuk anggota *Azoarcus*, *Acetobacter* (berganti nama menjadi *Gluconobacter*), *Enterobacter*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, dan *Streptomyces* (Malfanova et al., 2013). Endofit bakteri mengkolonisasi ceruk ekologi yang serupa dengan fitopatogen, yang membuatnya cocok sebagai agen biokontrol. Memang, banyak laporan telah menunjukkan bahwa mikroorganisme endofit dapat memiliki kapasitas untuk mengendalikan patogen tanaman, serangga, dan nematoda. Dalam beberapa kasus, mereka juga dapat mempercepat kemunculan bibit, mendorong pertumbuhan tanaman dalam kondisi yang kurang menguntungkan dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Endofit bakteri telah terbukti dapat mencegah perkembangan penyakit melalui sintesis *de novo* yang dimediasi oleh endofit dari senyawa

baru dan metabolit antijamur. Investigasi keanekaragaman hayati strain endofit untuk metabolit baru dapat mengidentifikasi obat baru untuk pengobatan penyakit yang efektif pada manusia, tanaman dan hewan. Seiring dengan produksi bahan kimia baru, banyak endofit telah menunjukkan kapasitas alami untuk degradasi xenobiotik atau dapat bertindak sebagai vektor untuk memperkenalkan sifat-sifat degradatif. Kemampuan beberapa endofit untuk menunjukkan ketahanan terhadap logam berat/antimikroba dan mendegradasi bahan organik mungkin berasal dari paparan mereka terhadap beragam senyawa di ceruk tanaman/tanah. Kemampuan alami untuk mendegradasi xenobiotik ini sedang diselidiki sehubungan dengan peningkatan fitoremediasi (Ryan et al., 2008). Banyak endofit yang merupakan anggota dari genera bakteri tanah yang umum, seperti *Pseudomonas*, *Burkholderia*, dan *Bacillus*. Genera ini terkenal dengan beragam produk metabolik sekundernya termasuk antibiotik, senyawa antikanker, senyawa organik yang mudah menguap, antijamur, antivirus, insektisida, dan agen penekan kekebalan tubuh. Meskipun berbagai macam senyawa aktif biologis telah diisolasi dari organisme endofit, mereka masih tetap menjadi sumber yang relatif belum dimanfaatkan untuk produk alami baru. Sebagian besar penelitian berfokus pada produksi produk antimikroba dari jamur, tetapi beberapa senyawa dengan berat molekul rendah dari endofit bakteri juga telah diisolasi. Senyawa-senyawa ini efektif melawan bakteri penyakit pada manusia, hewan, dan tumbuhan dengan konsentrasi rendah. Misalnya, *Pseudomonas viridiflava*, yang hidup dalam tanaman, menghasilkan dua senyawa antimikroba baru yang disebut ekomisin. *Ecomycins* adalah jenis lipopeptida yang unik dan dapat menghambat patogen manusia seperti *Cryptococcus neoformans* dan *Candida albicans*. Selain itu, jamur *Cytomaema sp.* telah menghasilkan senyawa seperti asam sitonat A dan D yang mampu menghambat cytomegalovirus manusia. Sayangnya, penelitian menyeluruh untuk senyawa

antivirus dari endofit bakteri masih belum lengkap dilaporkan (Ryan et al., 2008). Sebagian besar tanaman obat yang diteliti untuk isolasi bakteri endofit didasarkan pada penggunaan etnomedisin oleh satu atau lebih dari ratusan suku di Indonesia. Telah dilaporkan bahwa bakteri endofit mengalami komunikasi yang canggih dengan tanaman inangnya dan menghasilkan kemampuan untuk menghasilkan metabolit yang sama atau mirip dengan yang dihasilkan oleh tanaman inangnya. Oleh karena itu, tanaman obat merupakan sumber daya yang menjanjikan untuk mendapatkan bakteri yang mampu menghasilkan metabolit penting untuk pengobatan. Tanaman obat yang dilaporkan sebagai tanaman inang bakteri endofit di Indonesia antara lain sambiloto (*Andrographis paniculata*), purwoceng (*Pimpinella alpine*), sambung nyawa (*Gynura procumbens*), *Athyrium bantamense*, binahong, trengguli (*Cassia fistula*), johor (*C. siamea*), ketepeng cina (*C. alata*), miana (*Coleus scutellarioides*), *Helixanthera sp.* dan *Scurulla sp.*, sirih (*Piper betle*), dan *Leucosyke capitellata* (Hartanti & Yunita, 2016). Pemilihan bioaktivitas bakteri endofit yang disaring didasarkan pada bioaktivitas tanaman inangnya masing-masing. Bioaktivitas bakteri endofit yang paling sering diteliti di Indonesia adalah antimikroba, dan diikuti oleh antinematodik, pemacu pertumbuhan, pemacu metabolisme tanaman inang, dan antidiabetes (Hartanti & Yunita, 2016). Ada dua tujuan utama mempelajari aktivitas antimikroba dari bakteri endofit, yaitu memproduksi antibiotik untuk penyakit manusia dan mengembangkan agen hayati untuk memerangi jamur dan bakteri patogen tanaman. Bakteri endofit sebagai sumber antibiotik baru, seperti *Ecomycins*, *Pseudomycins*, *Munumbicins*, dan *Kakadumycins*, telah banyak diulas sebelumnya. Bakteri endofit yang disaring untuk menghasilkan antibiotik terutama diisolasi dari tanaman obat antimikroba seperti sambung nyawa, binahong, dahlia, trengguli, johor,

ketepeng cina, miana, *Helixanthera sp*, *Scurulla sp*, suren, dan sirih (Hartanti & Yunita, 2016).

2.2 Ekologi Endofit dan Keragaman

Tanaman berinteraksi dengan beragam populasi mikroba di dalam ekosistem. Mikroorganisme dapat berkoloni di permukaan atau bagian dalam tanaman tergantung pada genotipe inang dan sinyal molekuler yang dikeluarkan oleh akar tanaman. Mikroorganisme dapat berkoloni pada permukaan atau bagian dalam tanaman tergantung pada genotipe inang dan sinyal molekuler yang dikeluarkan oleh akar tanaman. Endofit adalah bakteri prokariotik yang ditemukan di dalam jaringan inang yang sehat. Bakteri endofit dapat menguntungkan inang dengan beberapa cara, seperti ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik, peningkatan ketersediaan nutrisi, degradasi molekul toksik, dan produksi fitohormon (Liu et al., 2017).

Spesies atau strain endofit tertentu dapat berperilaku sangat berbeda tergantung pada inang dan lingkungan sekitarnya, yang mencakup segala sesuatu mulai dari karakteristik fisika-kimia tanah hingga organisme dan mikroba lain yang merupakan bagian dari keseluruhan sistem makro tanaman yang diperluas. Banyak kontributor yang mengkonfirmasi bahwa dampak endofit terhadap spesies inang pada dasarnya berkorelasi dengan lingkungan, jenis jaringan, genotipe dan mikrobioma (Murphy & Hodkinson, 2018). Kekayaan spesies endofit sangat beragam, dan hanya sebagian kecil dari endofit yang telah diidentifikasi dengan baik. Di hampir setiap tanaman darat, kita dapat menemukan satu atau lebih organisme endofit. Diperkirakan bahwa di seluruh dunia ada sekitar 1 juta spesies jamur endofit. Keanekaragaman ini diilustrasikan dalam sebuah penelitian oleh Murphy dan timnya pada tahun 2015. Mereka meneliti tingkat keanekaragaman spesies jamur endofit yang hidup di

akar tanaman barley liar. Hasil studi tersebut juga menunjukkan bahwa sebagian besar spesies jamur yang ditemukan dalam sampel tersebut adalah spesies yang belum pernah tercatat sebelumnya, dengan sekitar 28% di antaranya tidak termasuk dalam ordo jamur yang sudah dikenal.

Pendekatan baru dalam karakterisasi keanekaragaman endofit telah mengungkapkan bahwa keberagaman ini jauh lebih besar daripada yang kita perkirakan sebelumnya. Melalui analisis metagenomik dari komunitas endofit di lingkungan tertentu, kita dapat memahami lebih rinci struktur dan fungsi mikroba ini seperti yang telah dibahas dalam bagian sebelumnya tentang ekologi. Endofit telah mengalami evolusi bersama dengan tanaman inang mereka sejak awal tanaman pertama kali tumbuh di daratan. Hal ini menghasilkan berbagai bentuk hubungan simbiosis yang menarik yang dapat kita amati di sekitar kita saat ini. Setiap spesies tanaman yang tumbuh secara alami yang telah kita pelajari hingga saat ini ternyata mengandung endofit, dan sifat simbiosis ini sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Murphy & Hodkinson, 2018).

2.3 Metode Isolasi dan Identifikasi Mikroba Endofit

Mikroorganisme hidup bebas di lingkungan, tersebar di udara, tanah, air, makanan, bahkan mikroorganisme yang hidup di dalam tubuh manusia. Pengamatan terhadap mikroorganisme tertentu hanya dapat dilakukan jika mikroorganisme tersebut dipisahkan dari lingkungan dan mikroorganisme lainnya. Hal ini dapat dilakukan dengan teknik isolasi. Beberapa metode sering digunakan dalam isolasi mikroba. Metode yang digunakan juga disesuaikan dengan jenis mikroba yang akan diamati. Isolasi adalah proses di mana mikroorganisme diperoleh pada media kultur buatan dari bagian tanaman yang sakit, tanah atau sumber lain untuk berbagai studi fitopatologi dan mikrobiologi. Atau, Isolasi berarti

pemisahan patogen tanaman dari inangnya, atau dari tanah dan menumbuhkannya dalam kultur murni pada media buatan (Dastogeer, 2022). Dari sumber lain disebutkan bahwa teknik isolasi mikroba adalah suatu usaha untuk menumbuhkan mikroorganisme di luar lingkungan alaminya. Pemisahan mikroorganisme di luar lingkungannya bertujuan untuk mendapatkan biakan bakteri yang sudah tidak tercampur lagi dengan bakteri lain yang disebut biakan murni. Prinsip isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran berbagai mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya pada media padat, sel mikroba akan membentuk koloni sel yang tetap pada tempatnya (Jufri, 2020).

Penyediaan sampel sebagai sumber isolat mikroba dapat diperoleh dengan berbagai cara ada sampel yang diperoleh dari tanah, kotoran ternak, cairan rumen ternak, bagian tanaman. produk makanan seperti susu, daging, ikan, terasi dan lain-lain. Ada pengambilan sampel dengan melakukan proses fermentasi untuk mendapatkan mikroorganisme indigenus (MOI) yang bertujuan untuk memacu proses penguraian oleh mikroba. Mikroba yang telah tumbuh dan berkembang dari media MOI digunakan sebagai sumber isolat untuk keperluan isolasi. Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan isolasi mikroba antara lain; (1) Sifat dari setiap jenis mikroba yang akan diisolasi; (2) Tempat hidup atau asal mikroba; (3) Media pertumbuhan yang sesuai; (4) Cara menginokulasikan mikroba; (5) Cara menginkubasi mikroba; (6) Cara menguji bahwa mikroba yang diisolasi telah dalam bentuk biakan murni dan sesuai dengan yang dikehendaki; (7) Cara mempertahankan agar mikroba yang telah diisolasi tetap menjadi biakan murni.

Mengisolasi mikroba dari lingkungan sekitar, seperti makanan (substrat padat), minuman (substrat cair), dan diri sendiri merupakan proses yang sangat penting, karena

banyak mikroba sulit diamati atau dibedakan secara langsung melalui panca indera. Isolasi ini memudahkan pengamatan pertumbuhan mikroba dan morfologi mereka pada berbagai media. Salah satu teknik yang digunakan untuk mencapai isolasi ini adalah inokulasi, di mana biakan tertentu dipindahkan dari medium lama ke medium baru tanpa kontaminasi oleh mikroba yang tidak diinginkan. Ada beberapa metode yang umum digunakan untuk mendapatkan biakan murni dari campuran mikroba, termasuk metode cawan gores dan metode cawan tuang. Prinsipnya adalah mengencerkan sampel dengan tujuan untuk memisahkan spesies individu, dengan asumsi bahwa setiap koloni dapat diisolasi. Kultur murni penting dalam berbagai teknik mikrobiologi, terutama dalam identifikasi mikroba dan pengamatan karakteristik morfologi, fisiologi, serta serologi dari suatu spesies mikroba.

Bakteri endofit umumnya diisolasi dari jaringan tanaman yang sehat, seperti akar, batang dan daun, yang terlebih dahulu diawali dengan proses sterilisasi permukaan jaringan. Tujuan sterilisasi permukaan ini adalah untuk mengeliminasi mikroba epifit. Dalam suatu laporan penelitian dijelaskan proses isolasi bakteri endofit dari daun *Anredera cordifolia*. Permukaan daun didesinfeksi dengan mencelupkannya ke dalam etanol 75% selama 5 menit, diikuti dengan mencelupkannya ke dalam natrium hipoklorit (2% b/v NaOCl) selama 4 menit. Selanjutnya dicelupkan ke dalam natrium bikarbonat (10% NaHCO₃) selama 2 menit dan kemudian dibilas dengan air suling steril sebanyak enam kali. Kelebihan air dikeringkan di bawah ruang aliran udara laminar. Untuk memastikan proses desinfeksi, aliquot air steril yang digunakan pada pembilasan akhir diteteskan pada media Nutrient Agar (NA). Pelat kemudian diinkubasi pada suhu 28 °C selama 5 hari dan diamati untuk pertumbuhan mikroba. NA digunakan untuk isolasi bakteri endofit. Daun yang telah didesinfeksi, tanpa pelepah, digerus dalam 6 ml larutan garam steril (0,9% NaCl) menggunakan mortar steril, dalam kondisi

aseptik. Ekstrak jaringan diencerkan secara serial dalam larutan air steril. Sekitar 100 µl dari setiap sampel yang diencerkan (10^{-1} dan 10^{-2}) dan sampel yang tidak diencerkan dipipet pada pelat NA dan disebar secara merata menggunakan penyebar kaca yang telah disterilkan. Pelat ditutup rapat dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 5 hari. Koloni dihitung sebagai unit pembentuk koloni (CFU) per gram dan dinyatakan sebagai kepadatan populasi. Koloni-koloni tersebut dipilih berdasarkan perbedaan morfologi, ukuran dan warna (Nxumalo et al., 2020).

Proses isolasi jamur endofit memiliki kemiripan teknik dengan proses isolasi bakteri endofit, tetapi berbeda dalam waktu inkubasi. Contoh proses isolasi jamur endofit dari tanaman *Houttuynia cordata* adalah sebagai berikut. Secara singkat, untuk isolasi jamur endofit, daun yang sehat dicuci bersih dengan air keran diikuti dengan pencucian dengan 10% bio-deterjen ringan dan terakhir dengan air suling ganda untuk menghilangkan sisa-sisa permukaan. Sterilisasi permukaan daun dilakukan mengikuti protokol standar dengan sedikit modifikasi (Jena dan Tayung, 2013). Daun dicelupkan secara berurutan ke dalam etanol 70% (3 menit), diikuti dengan 0,5% natrium hipoklorit (NaOCl) (2 menit), dan kemudian dibilas secara menyeluruh dengan akuades steril (1 menit). Terakhir, daun dikeringkan di atas kertas penyerap steril di dalam ruang aliran udara laminar. Daun yang telah disterilkan permukaannya dengan diameter sekitar 0,5 mm kemudian dilubangi dengan menggunakan alat tusuk steril dan diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media potato dextrose agar (PDA) yang ditambah dengan streptomisin sulfat (50 µg/ml). Cawan petri yang berisi potongan daun kemudian diinkubasi pada suhu 25 ± 2 °C selama 2 minggu dan diamati sekali sehari untuk melihat pertumbuhan miselia. Ujung hifa yang tumbuh dari fragmen daun dipindahkan ke media PDA miring, disubkultur, dan disimpan pada suhu 4 °C (Talukdar et al., 2021).

Bakteri terutama dikelompokkan berdasarkan karakteristik morfologi mereka (bentuk, ada tidaknya flagela, dan susunan flagela), penggunaan substrat, dan pewarnaan Gram. Ciri penting lainnya adalah pola pertumbuhannya pada media padat karena spesies yang berbeda dapat menghasilkan struktur koloni yang sangat beragam. Metode tradisional yang menggunakan pengamatan morfologi sel tunggal atau karakteristik koloni tetap menjadi parameter yang dapat diandalkan untuk identifikasi spesies bakteri. Namun, teknik tradisional ini memiliki beberapa kelemahan. Pertama, metode ini memakan waktu dan melelahkan. Kedua, variabilitas kultur karena kondisi lingkungan yang berbeda dapat menyebabkan hasil yang ambigu. Ketiga, kultur murni diperlukan untuk melakukan identifikasi, sehingga membuat identifikasi bakteri yang rewel dan tidak dapat dikultur menjadi sulit dan terkadang tidak mungkin dilakukan. Untuk menghindari masalah ini, metode yang lebih baru dan otomatis yang secara cepat dan andal mengidentifikasi bakteri telah diadopsi oleh banyak laboratorium di seluruh dunia. Setidaknya salah satu dari metode ini, yaitu analisis gen 16S rRNA, tidak memerlukan kultur murni. Menggabungkan sistem otomatis ini dengan metode tradisional memberikan tingkat kepercayaan yang lebih tinggi bagi pekerja untuk identifikasi bakteri (Phumudzo et al., 2013).

- **Identifikasi Morfologi Bakteri**

Karena manusia selalu ingin memahami lingkungan mereka, klasifikasi dan identifikasi organisme selalu menjadi fokus utama para ilmuwan awal. Ahli zoologi dan ahli botani memiliki banyak ciri morfologi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi hewan dan tumbuhan, tetapi saat mengidentifikasi bakteri, kita hanya memiliki sedikit karakter morfologi yang terbatas. Ini adalah tantangan, tetapi juga memberikan peluang untuk

keaktivitas. Pewarnaan Gram adalah hasil dari ide kreatif Hans Christian Joachim Gram (1850-1938) untuk mengklasifikasikan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya. Dengan metode ini, bakteri dapat dengan mudah diklasifikasikan sebagai Gram positif atau Gram negatif, yang masih digunakan secara luas sebagai alat identifikasi dan klasifikasi hingga hari ini. Meskipun ciri-ciri morfologi terbatas dan memiliki sedikit variasi, identifikasi berdasarkan morfologi masih memiliki nilai taksonomi yang penting. Saat mengidentifikasi bakteri, banyak perhatian diberikan pada cara mereka tumbuh di media, yang membantu mengidentifikasi karakteristik kulturalnya. Ini disebabkan oleh kemampuan spesies yang berbeda menghasilkan koloni dengan penampilan yang sangat berbeda. Setiap koloni dapat memiliki karakteristik yang unik, yang dapat berguna dalam identifikasi awal spesies bakteri. Koloni yang memiliki penampilan yang sangat berbeda dapat dianggap sebagai campuran kultur atau hasil dari pengaruh lingkungan pada kultur bakteri yang biasanya menghasilkan karakteristik koloni yang dikenal atau bahkan spesies yang baru ditemukan. Ciri-ciri koloni pada media agar padat antara lain bentuknya (melingkar, tidak beraturan atau rizoid), ukuran (diameter koloni: kecil, sedang, besar), elevasi (tampak samping koloni: meninggi, cembung, cekung, umbonat/umbilikat), permukaan (bagaimana permukaan koloni tampak: halus, bergelombang, kasar, granular, papil atau berkilau), margin/batas (tepi koloni: keseluruhan, bergelombang, crenated, fimbriate atau melengkung), warna (pigmentasi: kuning, hijau di antara yang lainnya), struktur/opacity (buram, tembus cahaya atau transparan), tingkat pertumbuhan (sedikit, sedang atau banyak) dan sifat (terpisah atau menyatu, filiform, menyebar atau rizoid). Bentuk sel juga telah digunakan dalam deskripsi dan klasifikasi spesies bakteri. Bentuk bakteri yang paling umum adalah kokus (berbentuk bulat), basil (berbentuk batang), dan spirilli (berbentuk spiral). Pengamatan morfologi bakteri melibatkan penggunaan

mikroskop cahaya yang diperkuat oleh pewarnaan. Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), seorang ahli mikrobiologi Belanda, adalah orang pertama yang memeriksa bakteri menggunakan mikroskop. Tanpa pewarnaan, bakteri bersifat transparan dan tidak berwarna, sehingga sulit terlihat dengan jelas. Pewarnaan bertujuan membedakan struktur sel bakteri untuk studi yang lebih rinci. Salah satu metode pewarnaan yang umum digunakan adalah pewarnaan Gram, yang membantu mengkategorikan bakteri sebagai Gram positif atau Gram negatif. Biasanya, langkah pertama dalam identifikasi bakteri adalah mengamati morfologi mereka dan reaksi Gram. Selain itu, pewarnaan khusus untuk flagela membantu mengungkapkan apakah bakteri memiliki atau tidak memiliki flagela, serta susunan flagela yang berbeda di antara spesies bakteri. Ini adalah fitur morfologi yang berguna dan dapat diandalkan untuk mengidentifikasi serta mengklasifikasikan spesies bakteri. Mikroskop cahaya biasanya digunakan untuk mengidentifikasi koloni bakteri dan morfologi bakteri individu secara tradisional. Namun, salah satu keterbatasannya adalah resolusi yang seringkali tidak cukup untuk mencapai gambaran yang jelas dalam identifikasi bakteri. Untuk mengatasi keterbatasan ini, digunakan teknik pemindaian mikroskop elektron (SEM) yang dikombinasikan dengan pencitraan elektron hamburan balik beresolusi tinggi. Teknik ini membantu mendeteksi dan mengidentifikasi ciri-ciri morfologi bakteri dengan lebih baik. SEM telah banyak digunakan dalam mengidentifikasi morfologi bakteri dengan menganalisis struktur permukaannya dan mengukur perlekatan sel serta perubahan morfologi. Selanjutnya, gabungan identifikasi morfologi dengan SEM dan teknik hibridisasi in situ (ISH) menciptakan SEM-ISH. Kombinasi ini memberikan pemahaman yang lebih baik tentang distribusi spasial sel target pada berbagai bahan. Metode ini telah dikembangkan untuk mendapatkan informasi filogenetik dan morfologi tentang spesies bakteri. Proses ini melibatkan penggunaan

hibridisasi in situ dengan probe oligonukleotida yang diarahkan pada rRNA, yang membantu dalam identifikasi bakteri (Phumudzo et al., 2013).

- **Analisis sekuens gen 16SrRNA**

Gen RNA ribosom memiliki peran penting dalam mesin sintesis protein. Gen ini tersebar luas dalam berbagai bakteri, sehingga analisis berdasarkan gen RNA ribosom menjadi alat yang sangat efektif untuk mengidentifikasi spesies bakteri dan mengkategorikannya secara taksonomi. Salah satu keunggulan gen RNA ribosom adalah konservasinya yang tinggi, namun memiliki variasi yang cukup untuk membedakan taksa. Pada prokariota, gen RNA ribosom biasanya ada dalam tiga atau empat salinan dalam satu genom. Gen 16S rRNA khususnya telah menjadi alat yang sangat dapat diandalkan dalam identifikasi dan klasifikasi bakteri. Selain itu, panjang gen ini sekitar 1.500 bp, cukup untuk memfasilitasi analisis bioinformatika yang mendalam (Janda & Abbott, 2007).

Analisis gen 16S rRNA melibatkan beberapa langkah. Pertama, gen ini perlu di-amplifikasi menggunakan reaksi berantai polimerase (PCR), dan hasil PCR kemudian diurutkan. Urutan gen ini kemudian dapat dibandingkan dengan urutan yang telah ada sebelumnya, yang dapat ditemukan dalam berbagai database DNA. Metode ini telah banyak digunakan, dan sebagian besar basis data sekuens DNA sekarang penuh dengan sekuens gen 16S rRNA. Hampir semua sekuens baru yang dimasukkan ke dalam basis data ini memiliki kemiripan dengan sekuens gen 16S rRNA yang ada, tetapi mereka juga sering memiliki variasi dalam gen tersebut yang tidak cocok dengan spesies bakteri yang telah dikenal. Variasi ini seringkali menunjukkan bahwa kita mungkin telah menemukan spesies bakteri baru. Yang menarik, dalam beberapa kasus, tidak perlu memiliki koloni murni dari gen 16S rRNA untuk

melakukan analisis ini. Selain itu, metode ini juga sangat berguna untuk menganalisis sampel lingkungan secara keseluruhan, seperti dalam metagenomika, di mana kita dapat mengidentifikasi semua genom mikroba dalam suatu lingkungan tanpa perlu mengkultur mereka. Menurut Petrosino dkk. (2009), metagenomika adalah "studi yang tidak bergantung pada kultur dari kumpulan genom komunitas mikroba campuran, yang dapat diterapkan pada eksplorasi semua genom mikroba dalam konsorsium yang berada di lingkungan tertentu, pada tanaman, atau pada hewan inang" (Petrosino et al., 2010). Analisis gen 16S rRNA telah terbukti sangat berguna, terutama dengan munculnya metagenomik dalam pengolahan sampel DNA kasar. Dalam metagenomik berbasis 16S rRNA, pengurutan gen telah banyak digunakan untuk mengkaji beragam spesies bakteri dalam lingkungan. Penggunaan sekuens gen 16S rRNA memungkinkan pendeteksian spesies bakteri dalam sampel alami dan pembentukan hubungan filogenetik antara mereka. Keunggulannya adalah bahwa semua spesies bakteri memiliki gen 16S rRNA, yang memiliki daerah yang sangat terkonservasi yang memungkinkan perancangan primer universal, serta daerah hipervariabel yang berguna untuk membedakan spesies (Murat Eren et al., 2011). Kumrapich dkk. (2011) meneliti bakteri endofit pada jaringan internal daun dan batang tebu dengan menggunakan metode molekuler. Mereka menggunakan media nutrient agar untuk membudidayakan endofit, kemudian 107 isolat bakteri di jaringan internal daun dan batang tebu dipilih untuk dianalisis dan 23 spesies bakteri diidentifikasi dan dibagi menjadi tiga kelompok, berdasarkan sekuens 16S rRNA dan analisis filogenetik. Taksa yang diidentifikasi adalah *Sphingobacterium*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium larrymoorei*, *Burkholderia cepacia*, *Chromobacterium violaceum*,

Acinetobacter (satu strain), *Enterobacter* (tiga strain), *Klebsiella* (satu strain), *Serratia* (satu strain), *Pantoea* (tiga strain), dan *Pseudomonas* (dua strain).

Berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA yang diamplifikasi, Bhore dkk. (2010) mengidentifikasi isolat bakteri dari daun *Gaultheria procumbens* (*eastern teaberry*, *checkberry*, *boxberry*, atau *American wintergreen*) sebagai *Pseudomonas resinovorans*, *Paenibacillus polymaxa*, dan *Acinetobacter calcoaceticus* (Bhore et al., 2010). Muzzamal dkk. (2012) mengisolasi dan mengidentifikasi 76 bakteri endofit dari akar, batang, dan daun segar dan layu dari berbagai tanaman di Pakistan. Karakterisasi morfologi, biokimia dan fisiologi serta analisis sekuens gen 16S rRNA dari isolat endofit yang dipilih mengarah pada identifikasi spesies bakteri yang berbeda yang termasuk dalam genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, dan *Micromonospora* (Muzzamal et al., 2012).

- **Identifikasi Morfologi Jamur**

Metode konvensional identifikasi jamur melibatkan pencatatan karakteristik morfologi jamur seperti ukuran dan warna. Bagian melintang dari sporokarp disiapkan. Pertumbuhan miselium dan morfologi spora kering diperiksa secara mikroskopis. Hifa jamur diwarnai dengan larutan biru kapas laktofenol dan diamati di bawah mikroskop dan gambarnya diambil menggunakan mikroskop dan dibandingkan dengan buku referensi. Dalam penelitiannya, Suhartina et al (2018) mengisolasi dan identifikasi jamur endofit pada tanaman paku. Pengamatan makroskopik dilakukan dengan mengamati warna koloni, warna sebalik, permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin, ada atau tidak tetes-tetes eksudat), diameter pertumbuhan koloni jamur, dan lingkaran-lingkaran konsentris. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan menggunakan mikroskop, dengan cara pada kaca

objek diletakkan sedikit hifa lalu ditetaskan dengan pewarna metilen blue setelah itu dilakukan pengamatan identifikasi isolat jamur endofit. Dalam penelitian ini, berhasil diisolasi lima isolat jamur endofit, yaitu AN1, AN2, AN3, AN4, dan AN5. Identifikasi jamur endofit dilakukan melalui pengamatan makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik mencakup beberapa aspek seperti warna koloni, warna bagian bawah koloni, karakteristik permukaan koloni (seperti granular, seperti tepung, berbukit, keberadaan tetesan eksudat), diameter pertumbuhan koloni jamur, serta pola pertumbuhan dalam bentuk lingkaran konsentris dan bentuk koloni. Sementara itu, pengamatan mikroskopik mencakup hal-hal seperti keberadaan sekat pada hifa, tipe pertumbuhan hifa (bercabang atau tidak), keberadaan konidia, bentuk konidiofor (halus, persegi panjang, dan sepat), bentuk konidia (bulat dan keberadaan artrokonidia), dan phialid. Hasil identifikasi jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan paku *Asplenium nidus* ini kemudian dicocokkan dengan referensi dari buku identifikasi "Compendium of soil fungi" (Suhartina et al., 2018).

- **Analisis sekuens ITS (Internal Transcribed Spacer)**

DNA barcoding adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengidentifikasi makhluk hidup berdasarkan data urutan dari gen mereka. Metode ini menggunakan sekuens pendek yang universal dan akurat untuk identifikasi, hingga ke tingkat spesies. Selanjutnya, berbagai penelitian dilakukan untuk mendukung DNA barcoding sebagai proses identifikasi spesies pada hewan, tumbuhan, dan jamur. Yang dkk. (2018) juga berpendapat bahwa DNA barcoding merupakan kerangka kerja yang solid untuk mengidentifikasi spesimen (Yang et al., 2018). Proses identifikasi jamur liar secara tradisional sering memakan waktu yang cukup lama karena mengharuskan para ahli untuk memeriksa morfologi dan bergantung pada tingkat

ketelitian mereka. Ini disebabkan oleh perluasan waktu yang diperlukan oleh setiap jenis jamur untuk tumbuh dan menghasilkan tubuh buah. Namun, kemudahan dan akurasi identifikasi telah meningkat seiring dengan diperkenalkannya teknologi DNA barcoding. Ini terjadi karena teknologi ini tidak terpengaruh oleh tahap perkembangan dan kondisi lingkungan, yang dapat memengaruhi hasil identifikasi berdasarkan morfologi tradisional. Selain itu, data DNA yang tercatat dalam GenBank sekarang dapat diakses oleh peneliti di seluruh dunia. Sumber data yang paling sering digunakan sebagai barcode untuk jamur adalah gen ITS (Internal Transcribed Spacer), yang merupakan daerah pengulangan dari sekuen DNA yang tidak dikodekan yang terdapat pada daerah pengkodean molekul RNA ribosom. Lebih lanjut, ditunjukkan bahwa daerah ITS dapat mengidentifikasi taksa jamur secara sistematis hingga tingkat spesies (Schoch et al., 2012). Dalam suatu penelitian dilaporkan bahwa amplifikasi gen ITS digunakan untuk mengidentifikasi jamur makroskopis di wilayah Aceh, Indonesia. Sebanyak 23 sampel dikumpulkan dari Taman Hutan Raya Pocut Meurah Intan di Aceh, Indonesia. Sampel diekstraksi, diamplifikasi, dielektroforesis, dan diurutkan. Urutan nukleotida dari produk yang diamplifikasi dianalisis dengan menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). 7 dari 11 sampel dengan puncak yang baik dan teratur dilanjutkan untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan BLAST. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel aga2, aga4, aga5, aga6, aga9, rus, dan pol diidentifikasi sebagai *Pleurocollybia* sp., *Pleurotus djamour*, *Filoboletus manipularis*, *Schizophyllum commune*, *Gymnopilus lepidotus*, *Auriscalpium vulgare*, dan *Gyrodontium sacchari*. Temuan penelitian menunjukkan bahwa penggunaan gen ITS sebagai barcode secara efektif memisahkan hingga tingkat spesies dari jenisnya (Harnelly et al., 2022).

BAB 3

POTENSI MIKROBA ENDOFIT UNTUK KESEHATAN MANUSIA

3.1 Mikroba Endofit sebagai Sumber Antibiotik Alami

Awalnya, pengembangan obat antibiotik memberikan harapan palsu akan penyelesaian pasti bagi masalah penyakit menular. Namun, seiring berjalannya waktu, pandangan ini telah berubah dan kembali muncul ketakutan terhadap penyakit menular. Selain mikroba patogen yang saat ini belum memiliki pilihan pengobatan yang efektif, kita juga menghadapi ancaman dari organisme yang semakin resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Resistensi mikroba telah lama dikenal dapat menghambat efektivitas pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit, sehingga mengurangi efektivitas terapi. Kemampuan mikroba untuk beradaptasi dan mengembangkan resistensi terhadap antibiotik bergerak sangat cepat. Sebagai ilustrasi, segera setelah diperkenalkannya obat sulfonamida pertama, yang dikenal sebagai senyawa azo "Prontosil" pada tahun 1930-an sebagai solusi untuk mengatasi infeksi bakteri gram negatif dan gram positif, kita melihat munculnya organisme yang resisten terhadap sulfonamida, seperti *Streptococcus pyrogenes* (Silva et al., 2022).

Resistensi bakteri menjadi salah satu faktor utama yang mendesak dalam pencarian agen antimikroba baru. Dalam analisis epidemiologi, resistensi yang terkait dengan patogen yang sudah dikenal seperti *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), patogen pernapasan seperti *Streptococcus pneumoniae*, dan patogen gram negatif semakin sering diidentifikasi. Hal ini memiliki dampak yang signifikan pada semua aspek kedokteran dan merupakan ancaman serius bagi kesehatan masyarakat. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) telah menyusun daftar prioritas untuk bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Tujuannya adalah untuk membimbing penelitian dan pengembangan antibiotik baru. Organisme yang

dianggap sebagai prioritas kritis mencakup *Acinetobacter baumannii* yang resisten terhadap karbapenem, *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap karbapenem, *Enterobacteriaceae* yang resisten terhadap karbapenem, dan sefalosporin generasi ke-3. Kelompok dengan prioritas tinggi mencakup *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*, *Salmonella* spp, dan *Neisseria gonorrhoeae*. Sedangkan *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, dan *Shigella* spp dianggap sebagai prioritas menengah (Davies, 2017).

Infeksi oleh mikroba yang resisten sering terkait dengan lingkungan rumah sakit karena praktik klinis yang rutin dilakukan, tetapi juga terjadi di masyarakat secara umum. Ini merupakan hasil dari tekanan selektif yang dihasilkan oleh penggunaan antibiotik pada manusia dan hewan. Selain itu, akumulasi antimikroba di lingkungan juga berperan dalam meningkatkan Resistensi Antimikroba (AMR). Dalam konteks lingkungan, resistensi antimikroba juga dapat dikaitkan dengan polusi air perkotaan, seperti yang terjadi di kanal Hua Krabue di Thailand tengah. Di Asia, yang memiliki peran penting dalam produksi akuakultur global dengan 91% kontribusinya, pertumbuhan cepat sektor ini telah mengubah dan mengganggu ekosistem. Hal ini meningkatkan kerentanan dan pencemaran perairan, yang pada gilirannya menyebabkan penyebaran penyakit dan penggunaan antibiotik yang tidak terkendali. Dampaknya, dari perspektif produsen, mencakup risiko terhadap kesehatan manusia dan kontribusi pada resistensi antimikroba. Pertanian berkontribusi secara signifikan terhadap AMR pada manusia; di Amerika Serikat, 80% dari antibiotik yang dijual ditambahkan ke pakan ternak sebagai cara untuk mencegah penyakit di masa depan, selain digunakan untuk mengobati hewan yang sakit. Sekitar 63 ribu ton antibiotik telah digunakan dalam produksi ternak di seluruh dunia [10]. Dalam beberapa dekade terakhir, kemudahan

perjalanan internasional juga berkontribusi terhadap masalah global AMR; sekitar 30% dari wisatawan internasional mendapatkan *Escherichia coli* penghasil β -laktamase spektrum luas (ESBL-PE). Bakteri ini sering kali resisten terhadap berbagai antimikroba, sehingga perjalanan ini memiliki peran dalam penyebaran gen dan organisme yang resisten (Sridhar et al., 2021).

Di sisi lain, perhatian yang signifikan telah difokuskan pada pengujian kerentanan antimikroba. Dari perspektif klinis, pengujian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas atau ketidakberhasilan kandidat antimikroba yang potensial. Namun, ada bukti yang menunjukkan bahwa uji-uji ini mungkin tidak selalu dapat memilih antimikroba yang efektif secara klinis, mengingat perbedaan yang dapat diamati antara hasil uji in vitro dan kegagalan terapi pada pasien yang diberikan obat yang kemudian dipilih. Selain itu, masalah regulasi penggunaan antibiotik oleh populasi global juga menjadi perhatian. Beberapa negara di Barat masih menggunakan antibiotik seperti *ciprofloxacin* dalam terapi melawan *Salmonella typhi*, sementara negara-negara di Afrika Selatan menghadapi strain yang resisten terhadap *ciprofloxacin* dan menggunakan azitromisin dan *ceftriaxone* sebagai pilihan pertama dalam pengobatan antimikroba. Perolehan antibiotik tanpa resep juga menunjukkan tantangan nyata dalam upaya memerangi patogen yang resisten (Pokhrel, 2022).

Resistensi mikroba berkembang melalui berbagai mekanisme, salah satunya adalah evolusi gen resistensi seiring berjalannya waktu sebagai tanggapan terhadap tekanan selektif yang timbul akibat penggunaan antibiotik yang tidak tepat, serta kekurangan obat antimikroba baru dalam situasi saat ini. Gen resistensi ini dapat ditransfer dari satu bakteri ke bakteri lain melalui proses transfer horizontal, yang terjadi dalam bentuk plasmid, transposon, integron, atau bahkan melalui bakteriofag. Kontaminasi lingkungan oleh senyawa farmasi, terutama

antibiotik, memainkan peran penting dalam penyebaran resistensi mikroba. Karena sistem pengolahan air limbah tidak selalu efektif dalam menghilangkan kontaminan ini, sistem air minum menjadi rentan dan dengan demikian mengakibatkan eksposur antibiotik dan gen resistensi pada berbagai lingkungan dan organisme. Dampak dari resistensi mikroba tidak dapat diukur dengan mudah dan seringkali mengakibatkan penyakit yang berkepanjangan, tingkat kematian yang lebih tinggi, serta dampak sosial dan ekonomi yang signifikan pada sektor kesehatan. Masalah resistensi antimikroba semakin memburuk karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat, serta kurangnya antibiotik baru dan investasi dalam penelitian dan pengembangan antibiotik baru, yang semuanya turut berkontribusi pada situasi yang memprihatinkan ini. Dalam dua dekade terakhir, hanya ada dua kelas antibiotik baru yang disetujui oleh badan pengawas obat internasional, yaitu Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat (FDA) dan Badan Obat Eropa (EMA). Kedua kelas tersebut hanya efektif melawan bakteri gram positif. Sementara itu, untuk bakteri gram negatif, kelas antibiotik terakhir yang ditemukan pada tahun 1962 adalah kelompok obat terakhir yang masih efektif (WHO, 2012).

- **Produk Alami dari Mikroorganisme Endofit sebagai Sumber Daya dalam Pencarian Molekul Bioaktif**

Resistensi mikroba yang semakin cepat berkembang terhadap obat-obatan, serta meningkatnya kejadian penyakit yang berulang dan kasus infeksi berbahaya telah meningkatkan kebutuhan akan senyawa terapeutik baru. Sejak zaman dahulu, penduduk dunia telah menggunakan produk alami sebagai pengobatan. Penemuan dan pemahaman tentang beberapa senyawa, seperti taksol sebagai contoh utama, telah menjadi titik awal dalam pencarian terapi baru. Senyawa metabolit khusus ini diproduksi oleh organisme sebagai

respons terhadap perubahan lingkungan eksternal, seperti perubahan nutrisi, infeksi, dan persaingan, dan kini dianggap sebagai pilihan yang menjanjikan dalam upaya mencari obat baru. Hampir satu dari lima obat baru yang disetujui antara tahun 1981 dan 2019 berasal dari produk alami. Ketika kita berfokus pada agen antibakteri, sekitar 48% dari obat baru yang disetujui antara tahun 2015 dan 2019 berasal dari produk alami dan turunannya. Dengan menggabungkan kekuatan biologi dan kimia sintetis, kita memiliki potensi besar untuk menemukan struktur-struktur baru yang dapat efektif sebagai obat untuk berbagai penyakit. Mikroorganisme, seperti jamur dan bakteri, adalah sumber potensi senyawa kimia bioaktif yang menjanjikan dan dapat diproduksi secara lebih efisien dibandingkan dengan sumber alami lainnya seperti tanaman dan hewan. Organisme-organisme ini memainkan peran mendasar dalam produksi produk alami baru (Newman & Cragg, 2020).

Mikroorganisme endofit dapat memengaruhi berbagai karakteristik tanaman dan juga memiliki peran penting dalam menjaga kesejahteraan tanaman tersebut. Salah satu peran utama mereka adalah bertindak sebagai perlindungan terhadap patogen dan herbivora. Ada beberapa mekanisme yang digunakan oleh mikroorganisme endofit untuk memberikan perlindungan pada tanaman. Mekanisme ini dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu mekanisme langsung dan mekanisme tidak langsung. Mekanisme langsung melibatkan tindakan seperti produksi antibiotik untuk membantu menghilangkan patogen, sekresi enzim seperti kitinase, hemiselulase, dan selulase, serta produksi fitohormon seperti asam giberelat yang mempromosikan pertumbuhan tanaman. Ini adalah atribut yang sangat bernilai dalam konteks pertanian. Selain itu, mikroorganisme endofit juga dapat menghasilkan siderofor yang berfungsi sebagai pengkhelat zat besi penting dan senyawa indol, dan lain sebagainya. Sementara itu, dalam mekanisme tidak langsung, mikroorganisme endofit menginduksi

ketahanan tanaman. Ini mengakibatkan peningkatan produksi metabolit sekunder, promosi pertumbuhan tanaman, dan pengaturan fisiologi tanaman secara lebih umum (Fadji & Babalola, 2020).

Saat ini, kita telah mengetahui bahwa mikroorganisme endofit mampu menghasilkan berbagai zat, termasuk racun, antibiotik, dan beragam produk lain yang memiliki nilai penting dalam bidang bioteknologi. Selain berperan dalam perlindungan tanaman, potensi mikroorganisme endofit untuk menghasilkan berbagai metabolit sekunder membuatnya menjadi sumber yang menarik dalam pencarian agen antimikroba baru. Selain itu, penggunaan mereka dalam industri makanan dan kosmetik dapat memberikan kontribusi berharga pada berbagai aplikasi bioteknologi. Beberapa contoh metabolit yang dihasilkan oleh mikroorganisme endofit mencakup terpen, alkaloid, fenol, tanin, kuinon, saponin, steroid, dan lain sebagainya (Silva et al., 2022).

Beberapa faktor mempengaruhi produksi metabolit sekunder oleh mikroorganisme endofit, termasuk kondisi iklim, lokasi geografis, kondisi tanah di mana mereka hidup, dan musim saat sampel dikumpulkan. Dalam beberapa kasus, endofit diyakini mampu menghasilkan metabolit yang serupa dengan yang dihasilkan oleh tanaman inangnya, yang menjadikannya sangat menarik. Proses fermentasi yang digunakan oleh mikroorganisme ini selama produksi metabolit berjalan efisien dan dalam skala besar. Ini memberikan keuntungan ekologis karena bahan baku yang dibutuhkan untuk fermentasi di laboratorium jauh lebih sedikit dibandingkan dengan bahan baku dari tanaman aslinya, yang memerlukan jumlah yang besar dan tidak ramah lingkungan. Hampir semua spesies tanaman yang telah diteliti hingga saat ini memiliki mikroorganisme endofit, baik itu jamur atau bakteri, yang ditemukan di berbagai jaringan dan organ tanaman. Diperkirakan bahwa banyak khasiat obat dari tanaman

tertentu mungkin terkait dengan metabolit yang dihasilkan oleh mikroorganisme endofit. Oleh karena itu, mikroorganisme endofit telah menjadi objek penelitian yang semakin menarik, terutama yang berasal dari tanaman yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional karena potensi sifat terapeutiknya (Shukla et al., 2014). Beberapa produk alami mikroorganisme endofit yang berpotensi sebagai antibiotik adalah sebagai berikut :

- Asam

Jamur endofit *Diaporthe phaseolorum* (8S) diisolasi dari biji tanaman Amazon *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.), yang dikenal sebagai guarana, dikoleksi di kota Manaus (2°53'29.14" S dan 59°58'39.90" W, tinggi 99 m) dan Maue's (3°22'54" S dan 57°42'55" W, tinggi 18 m), Negara Bagian Amazonas, Brasil. Tanaman dikumpulkan pada akhir musim kemarau, dengan curah hujan dan suhu masing-masing 196,0 mm dan 28,46 °C di Manaus, dan 272,3 mm dan 28,17 °C di Maue's. Para penulis melaporkan produksi asam 3-hidroksipropionat (1) (3-HPA). Senyawa ini dievaluasi untuk aktivitas antimikrobanya dan menunjukkan aktivitas terhadap strain *E. coli* dan *P. aeruginosa* yang resisten dan sensitif. Nilai MIC > 30 µg / mL untuk strain *E. coli* dan 0,23 µg / mL untuk strain *P. aeruginosa* (De Azevedo Silva et al., 2018).

- Alkaloid

Pinheiro dan rekan-rekannya (Pinheiro et al., 2013) mengisolasi jamur endofit *Aspergillus* sp. EJC08 dari tanaman *Bauhinia guianensis*, yang dikumpulkan di kota Belém-PA, spesies khas dari Hutan Hujan Amazon dari keluarga Leguminosea. Dari endofit ini, penulis mengisolasi dua alkaloid dengan aktivitas antibakteri, pseurotin A (5) dan fumigaclavine C (6), keduanya aktif melawan *E. coli* dan *P. aeruginosa*. Jamur ditumbuhkan

dalam media beras selama tiga puluh hari, dan alkaloid diperoleh dengan ekstraksi etil asetat dan fraksinasi berturut-turut diikuti dengan pemurnian pada kolom kromatografi silika gel.

- Antrakuinon dan turunannya

Sun dan rekannya (Sun et al., 2012) mendeskripsikan tujuh antrakuinon dari jamur endofit *Coniothyrium* sp. (strain internal No. zw86), yang diisolasi dari tanaman *Salsola oppositifolia*, yang diperoleh dari pulau Gomera, di Kepulauan Canary. Para penulis mengevaluasi aktivitas antibakteri dari senyawa tersebut terhadap *E. coli* menggunakan uji difusi agar dan memperoleh zona hambat sebagai berikut: 11 mm untuk senyawa (9) dan (10), 15 mm untuk (11), 7,5 mm untuk (12) dan (14), dan 6 mm untuk senyawa (13) dan (15). Jamur endofit *Xylaria* sp. JK50 (nomor aksesori: JX624289.1), yang diisolasi dari *Taxus mairei* dan termasuk dalam famili *Taxaceae*, menghasilkan turunan antrakuinon yang memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa nalgiovensin (11) menunjukkan nilai MIC sebesar 50 µg/mL terhadap strain *E. coli*

- Benzofuranoid

Cai dan kolaborator (Cai et al., 2019) mengisolasi dua benzofuranoid dengan aktivitas antibakteri; 2- (hidroksimetil)-3-propilfenol (16) dan (-)-brassicadiol (17) diisolasi dari jamur endofit *Aspergillus* sp. ZJ-68 yang ditemukan pada daun tanaman bakau *Kandelia* yang dikumpulkan dari Cagar Alam Bakau Zhanjiang di Provinsi Guangdong, Cina. Benzofuranoid aktif terhadap strain *E. coli* dan *P. aeruginosa* dengan MIC = 8,3 dan >100 µg/mL, masing-masing, untuk (16), dan MIC = 12,5 dan >100 µg/mL untuk (17).

3.2 Peran Mikroba Endofit dalam Keseimbangan Mikrobiota Usus

Mikrobiota usus terdiri dari triliunan bakteri dan jamur dan sangat penting dalam menjaga kesehatan manusia karena perannya dalam akuisisi nutrisi dan regulasi energi.

Mikroba yang mengkolonisasi jaringan tanaman bagian dalam disebut endofit. Endofit terdapat secara luas pada tanaman inang dan merupakan komponen penting dalam ekosistem mikro tanaman. Endofit semakin menjadi pusat penelitian para sarjana di seluruh dunia karena dapat menghasilkan komponen aktif, meningkatkan pertumbuhan tanaman inang, dan meningkatkan ketahanan tanaman inang terhadap cekaman biotik dan abiotik. Penelitian terbaru telah menemukan mikroba endofit yang memproses kotoran hewan untuk dijadikan inokulan mikroba alami bagi tanaman. Ini berfungsi sebagai sumber bakteri untuk sistem usus hewan. Mikrobiota usus mengandung ratusan hingga ribuan bakteri yang diperoleh dari makanan tertentu. Li dkk. (2012) menemukan bahwa *Paenibacillus* sp. strain Aloe-11 memiliki kemampuan kolonisasi usus yang sangat baik dan secara signifikan dapat meningkatkan degradasi serat hijauan, sehingga menghasilkan aktivitas antibiotik terhadap banyak bakteri dan jamur patogen (N. Z. Li et al., 2012).

Dalam penelitian lain dilaporkan bahwa mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman herbal *E. prostrata* berpotensi untuk menjaga keseimbangan flora normal usus. Disebutkan dalam penelitiannya bahwa sepuluh endofit dikarakterisasi di berbagai lokasi tanaman *E. prostrata* yang termasuk dalam kelompok *Lactococcus*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Exiguobacterium*, dan *Pantoea*. Aktivitas antimikroba endofit EP01-10 diselidiki melalui metode cawan oxford. Lebih jauh lagi, kemampuan tahan asam dan garam empedu dari EP01-10 terdeteksi untuk mengetahui kemampuan bertahan hidup mereka di saluran pencernaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa strain *Lactococcus*, *Bacillus* dan *Exiguobacterium* (EP01, 03 dan 05) menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta strain *Lactococcus*, *Bacillus* dan *Enterococcus* (EP01, 02, 04, 08 dan 10) memiliki kemampuan untuk bertahan hidup di saluran pencernaan. Pengurutan 16S

rRNA GM pada mencit C57BL/6J dilakukan untuk mengetahui keragaman dan analisis struktur sebagai respon terhadap pemberian ekstrak *E. prostrata*. Ekstrak *E. prostrata* berperan dalam meningkatkan keanekaragaman mikroflora, terutama dalam meningkatkan kelimpahan *Lactococcus* secara signifikan (X. Zhao et al., 2020).

3.3 Mikroba Endofit dalam Terapi Penyakit Tropis

Penyakit tropis (TD) menyebabkan lebih dari 500.000 kematian setiap tahunnya dan diperkirakan mengakibatkan hilangnya masa hidup yang disesuaikan dengan kecacatan yang lebih besar dibandingkan dengan malaria dan tuberkulosis (Hotez dkk. 2006, 2009). Penyakit tropis yang tidak diperhatikan atau terabaikan (Neglected Tropical Diseases/NTD) adalah sekelompok infeksi parasit, bakteri, virus, dan jamur yang kronis, melemahkan, dan menyebabkan kemiskinan, yang terjadi secara sporadis pada masyarakat termiskin yang tinggal di negara-negara dunia ketiga. Penyebab utama penyakit-penyakit ini adalah kurangnya sanitasi, pasokan air yang tidak higienis, malnutrisi, dan yang terpenting adalah buta huruf dan rendahnya status ekonomi di daerah prevalensi. Bahkan, kaitan antara penyakit ini dengan kemiskinan sangat kuat sehingga prevalensi penyakit ini menjadi indikator tingkat pembangunan sosial ekonomi suatu negara. Penyakit tropis terjadi di lingkungan yang miskin dan merupakan kondisi kronis; korban dapat mengalami TD kronis selama bertahun-tahun atau puluhan tahun, yang sering kali mengakibatkan kecacatan, cacat, dan stigmatisasi.

TD yang tidak terkait dengan virus yang paling penting adalah demam berdarah dan demam kuning. Daerah beriklim tropis telah mengalami peningkatan demam berdarah yang luar biasa dalam beberapa tahun terakhir, dan tampaknya menyebar ke daerah-daerah baru. WHO melaporkan bahwa dua per lima dari populasi dunia berisiko terkena infeksi dengue, dengan peningkatan jumlah kasus setiap tahunnya. Sejauh ini belum ada pengobatan khusus

yang tersedia untuk demam berdarah. Demam berdarah semakin menjadi perhatian karena kurangnya vaksin yang melindungi dari semua serotipe dengue. Peningkatan infeksi dengue dan prevalensi keempat serotipe dengue yang beredar telah berkontribusi terhadap peningkatan kejadian demam berdarah dengue (Verma & Gange, 2014).

Paracoccidioidomycosis (PCM), sejenis mikosis, juga bertanggung jawab atas beban kesehatan masyarakat dan ekonomi yang besar di Amerika Latin. Obat-obatan yang tersedia yang paling sering digunakan untuk pengobatan PCM adalah sulfonamid, ketokonazol, itrakonazol, dan amfoterisin B. Diperlukan periode pengobatan yang panjang dan lama; selain meningkatkan kekhawatiran tentang toksisitas obat, biaya pengobatan dan tingkat ketidakpatuhan yang tidak dapat diterima terhadap terapi ini semakin memperumit situasi (Travassos et al., 2008).

Beberapa parasit cacing juga merupakan salah satu agen infeksi yang paling umum terjadi pada manusia di negara-negara berkembang, seperti *schistosomiasis*, *sistiserkosis*, *hidatidosis*, dan *onchocerciasis*. Ada dua filum utama cacing, yang meliputi cacing usus utama, cacing filaria (*Wuchereria bancrofti*) yang menyebabkan filariasis limfatik dan *onchocerciasis* serta cacing gelang (*platyhelminthes*) seperti *schistosomiasis* dan agen sistiserkosis. Obat-obatan *albendazole*, *oxamniquine*, *praziquantel*, dan *ivermectin* adalah satu-satunya obat yang tersedia untuk mengobati kecacingan sejauh ini. *Leishmania* (*Trypanosomatidae*) adalah parasit protozoa yang menyebabkan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi dan diakui oleh WHO sebagai masalah kesehatan masyarakat tropis yang utama. Saat ini belum ada vaksin untuk leishmaniasis, dan obat-obatan yang tersedia untuk pengobatan leishmaniasis bersifat toksik, mahal, dan terkadang tidak efektif. Penyakit Chagas (*American Trypanosomiasis*) disebabkan oleh protozoa *hemofl agelate Trypanosoma*

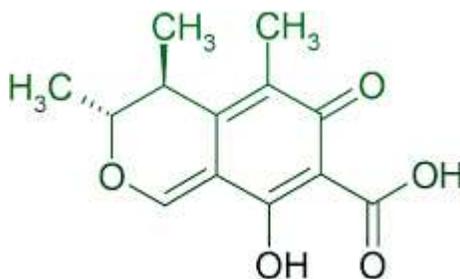
cruzi dan ditularkan ke manusia baik melalui vektor triatomine yang menghisap darah, transfusi darah, atau penularan bawaan. Distribusi geografis infeksi *T. cruzi* pada manusia membentang dari Amerika Serikat bagian selatan dan Meksiko hingga Argentina bagian selatan. Ada bukti bahwa pengobatan obat *trypanocidal* dengan senyawa nitrofurannya dan imidazol dapat mengobati infeksi *T. cruzi* akut, tetapi penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengembangkan pengobatan baru (Verma & Gange, 2014).

Metabolit jamur terutama berfungsi sebagai struktur utama untuk pengembangan antikanker, antijamur, dan agen antibakteri, tetapi baru-baru ini beberapa laporan tentang aktivitas anti-parasitida terutama terhadap kista hidatid *Echinococcus granulosus* juga telah dilaporkan baru-baru ini (Verma dkk., 2013). Meskipun obat-obatan baru diperlukan untuk mengobati semua aspek leishmaniasis, literatur ilmiah tentang bioprospeksi jamur endofit hutan hujan tropis masih terbatas. Investigasi kimiawi terhadap jamur endofit baru *Mycosphaerella sp. nov.* strain F2140 yang berasosiasi dengan dedaunan tanaman *Psychotria horizontalis* (*Rubiaceae*) di Panama menghasilkan serkosporin dan analognya. Senyawa ini diuji secara *in vitro* untuk menentukan aktivitas antiparasitnya terhadap agen penyebab malaria (*Plasmodium falciparum*), leishmaniasis (*Leishmania donovani*), dan penyakit Chagas (*Trypanosoma cruzi*). Beberapa endofit jamur dari Panama telah dilaporkan memiliki aktivitas antiparasit terhadap *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum*, dan *Trypanosoma cruzi* dan ditemukan memiliki aktivitas antimalaria yang signifikan dengan toksisitas yang relatif rendah (Martínez-luis et al., 2012).

Jamur endofit *Aspergillus sp.* strain F1544 dilaporkan memiliki aktivitas anti-leishmanial dari senyawa yang diisolasi yaitu *pseurotin A*, *14-norpseurotin A*, *FD-838*, *pseurotin D*, dan *fumokuinon B*. *Citrinin*, poliketida yang diisolasi dari *Penicillium*

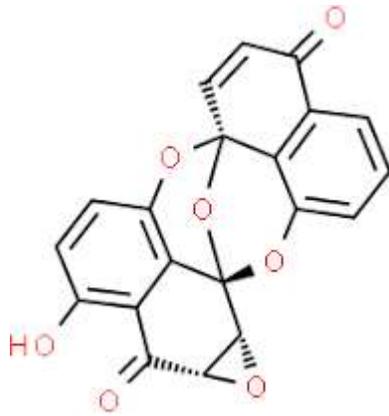
janthinellum dari buah *Melia azedarach* (*Meliaceae*) di Brasil, sebelumnya ditemukan di *Penicillium citrinum* dan beberapa spesies *Aspergillus* lainnya dan secara signifikan menghambat *Leishmania mexicana* pada konsentrasi 40 µg / mL (Do Rosário Marinho et al., 2005).

Citrinin, poliketida yang diisolasi dari *Penicillium janthinellum* dari buah *Melia azedarach* (*Meliaceae*) di Brasil, sebelumnya ditemukan di *Penicillium citrinum* dan beberapa spesies *Aspergillus* lainnya dan secara signifikan menghambat *Leishmania mexicana* pada konsentrasi 40 µg / mL.



Gambar 1. Struktur molekul *Citrinin* (micotoxins.info)

Jamur endofit *Edenia sp.* diisolasi dari daun dewasa *Petrea volubilis* (*Verbenaceae*), yang dikumpulkan dari Taman Nasional Coiba di Panama. Fraksinasi yang dipandu bioassay dari ekstrak organik *Edenia sp.* mengarah pada isolasi senyawa anti-leishmania preussomerin EG1 (IC₅₀ 0,12 µM), *palmarumycin* CP2 (IC₅₀ 3,93 µM), *palmarumycin* CP2 (IC₅₀ 3,93 µM), *palmarumycin* CP3 (IC₅₀ 93 µM), *palmarumycin* CP17 (IC₅₀ 1,34 µM), *palmarumycin* CP18 (IC₅₀ 0,62 µM), CJ-12, 37 (IC 50 8,40 µM), *palmarumycin* CP19 (IC₅₀ 11,6 µM), dan 5-metiloksiklin (IC₅₀ 33,4 µM), yang menghambat pertumbuhan bentuk amastigot *Leishmania donovani*. Preussomerin EG1 adalah zat yang paling aktif dan menghambat pertumbuhan *L. donovani* dengan potensi yang mirip dengan amfoterisin B (IC₅₀ 0,09 µM) (Martínez-Luis et al., 2008).



Gambar 2. Preussomerin G

Altenusin adalah metabolit yang diperoleh dari ekstrak organik dari kultur kaldu jamur endofit *Alternaria sp.* UFMGCB 55, yang diisolasi dari tanaman yang diketahui mengandung senyawa *trypanosidal*, *Trixis vauthieri*. Jamur ini menghambat aktivitas enzim TryR dengan nilai IC 50 sebesar 4,3 mM. Jamur mirip ragi *Aureobasidium pullulans*, yang diisolasi dari daun *Calophyllum sp.* yang dikumpulkan di Provinsi Narathiwat, Thailand, menghasilkan sikloheksadepsipeptida pullularin A-D. Pullularin A menunjukkan aktivitas antimalaria (IC 3,6 $\mu\text{g} / \text{mL}$) dan aktivitas antituberkulosis sedang (MIC 25 $\mu\text{g} / \text{mL}$). Pullularin B menunjukkan aktivitas antimalaria yang cukup besar (IC 50 3,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), tetapi zat ini dan pullularin C menunjukkan aktivitas yang lebih lemah dalam pengujian lain jika dibandingkan dengan pullularin A. Lipofilisitas yang rendah dari analog deprenil dari pullularin A dapat menjelaskan ketidakaktifan zat ini dalam semua pengujian (Isaka et al., 2007)

BAB 4

POTENSI APLIKASI MIKROBA ENDOFIT DALAM TERAPI MEDIS

4.1 Potensi sebagai Senyawa Anti Kanker

Kanker adalah penyebab utama kematian kedua di dunia. Ini adalah masalah global kesehatan pada abad ke-21 karena tingginya tingkat kejadiannya. Setiap tahun, sekitar 15 juta orang meninggal karena sel-sel ganas yang terus berkembang, dan jumlah kasusnya terus meningkat. Ini adalah hambatan utama dalam mengembangkan terapi kanker menggunakan metode konvensional seperti radiasi, pembedahan, dan kemoterapi. Saat ini, meskipun telah ada berbagai jenis obat kemoterapi, mereka masih memiliki efek samping serius pada organ-organ penting seperti paru-paru, hati, dan ginjal. Resistensi terhadap berbagai obat juga meningkatkan risiko perkembangan kanker.

Meningkatnya angka kejadian kanker dapat diatasi dengan senyawa alami baru yang menjanjikan dari flora endofit jamur yang aman bagi kesehatan, biokompatibel, memiliki lebih sedikit masalah toksisitas, dan lebih sedikit resistensi dibandingkan dengan agen anti-kanker konvensional. Senyawa-senyawa alami ini merupakan pilihan alternatif untuk obat kemoterapi dan solusi yang mungkin untuk pengobatan kanker. Senyawa-senyawa alami ini menunjukkan sifat antikanker dan dapat digunakan untuk mengendalikan berbagai jenis kanker. Karena kelimpahannya yang tinggi, mereka dapat digunakan sebagai agen terapeutik untuk mencegah perkembangan perkembangan kanker.

Jamur endofit menarik perhatian khusus karena mereka adalah sumber senyawa bioaktif yang sangat baik. Mereka dapat dengan mudah dibiakkan dalam media fermentasi dan secara konsisten menghasilkan metabolit sekunder. Endofit adalah kelompok mikroorganisme yang hidup bersimbiosis, biasanya terdiri dari jamur dan bakteri, yang mengkolonisasi

jaringan inangnya. Di antara semua mikroorganisme, jamur endofit adalah kelompok yang paling penting.

Jamur endofit menghasilkan berbagai senyawa bioaktif seperti *paclitaxel*, *podophyllotoxin*, *camptothecin*, *vinblastine*, *hypericin*, dan diosgenin. Senyawa-senyawa ini diisolasi dari jamur endofit seperti *Thielavia subtermophila*, *Seimatoantlerium nepalense*, *Catharanthus roseus*, *Sinopodophyllum hexandrum*, *Dyosma veitchii*, *Rhizopus oryzae* (94Y-01), *Chaetomella raphigera*, *Aspergillus fumigatus*, *Rhizopus oryzae*, dan *Seimatoantlerium nepalense*. Senyawa-senyawa ini memiliki sifat yang bisa menargetkan kanker dan berbagai penyakit lainnya, sehingga dapat digunakan untuk tujuan terapeutik. Senyawa-senyawa sitotoksik baru yang berasal dari jamur endofit telah berhasil diisolasi. Namun, cara kerja senyawa-senyawa ini dalam melawan kanker masih belum dipahami dengan jelas, dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada tingkat seluler dan molekuler. Keunikan senyawa-senyawa baru ini adalah mereka lebih diinginkan daripada obat kimia konvensional karena mereka aman bagi berbagai jenis jaringan, biokompatibel, memiliki tingkat penyerapan yang tinggi dalam tubuh, dan memiliki keanekaragaman biologis yang luas. Sifat kimia mereka mencakup flavonoid, kuinon, alkaloid, dan lakton. Senyawa-senyawa ini telah terbukti efektif melawan berbagai jenis sel kanker, menjadikannya pilihan terapi kanker yang lebih diandalkan (Kousar et al., 2022).

Agen kemoterapi telah digunakan untuk pengobatan kanker selama beberapa dekade terakhir, tetapi sebagian besar menyebabkan toksisitas seluler. Karena masalah toksisitas, agen kemoterapi telah digantikan dengan senyawa anti-kanker alami yang diisolasi dan dimurnikan dari kelompok jamur endofit dan digunakan untuk melawan berbagai jenis kanker seperti sarkoma Kaposi, prostat, paru-paru, ovarium, dan kanker payudara. Senyawa ini menginduksi

apoptosis dan menekan perkembangan perkembangan kanker. Beberapa jamur endofit seperti *T. andreanae*, *Seimatoantlerium nepalense*, *Alternaria alternata* dan *Chaetomella raphigera* telah dilaporkan dalam penelitian sebelumnya yang menghasilkan *paclitaxel* sebagai obat anti-kanker . *Paclitaxel* telah digunakan untuk pengobatan kanker kulit seperti sarkoma Kaposi, yang menghasilkan massa yang timbul dari akumulasi sel-sel abnormal, kanker prostat, kanker paru-paru, dan kanker ovarium. Karena kemampuannya mengikat protein tubulin, maka secara khusus menghambat depolimerisasi selama fase pembelahan sel pada siklus sel (J. Zhao et al., 2011).

Tim peneliti Kumaran dan rekan-rekannya melakukan eksperimen menggunakan buah cabai yang sakit untuk mengisolasi senyawa bioaktif dari jamur, seperti taksol. Mereka menemukan bahwa taksol menunjukkan efek sitotoksik yang signifikan pada berbagai jenis sel manusia, termasuk MCF-7, HLK-210, dan HL-251, pada berbagai dosis seperti 0,005, 0,05, 0,5, dan 5 μM . Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa taksol dari jamur memiliki aktivitas antikanker terbaik pada tingkat 0,5 μM , dengan persentase apoptosis sebesar $79,37 \pm 7,57$, $83,86 \pm 5,76$, dan $74,76 \pm 5,41\%$ terhadap MCF-7, HLK-210, dan HL-251, berturut-turut. Senyawa ini menginduksi apoptosis dan menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat proses mitosis. Penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian taksol dan baccatin III (dalam konsentrasi 0,1 dan 5 μM) menyebabkan apoptosis pada sel kanker ovarium (OVCAR-3) dan sel kanker hati (HepG2) serta mengurangi invasi metastasis sebesar 68% dan 65% masing-masing (Kumaran et al., 2011).

4.2 Potensi sebagai Obat Tuberculosis

Tuberculosis (TBC) adalah penyakit pernapasan yang menyerang paru-paru manusia, disebabkan oleh bakteri bernama *Mycobacterium tuberculosis*. Di seluruh dunia, TB

umumnya tinggi di kalangan orang dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah [66]. Gejalanya mencakup demam, kelelahan, penurunan berat badan, batuk, dan keringat malam. Menurut data dari Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2018, dari 2,3 juta kasus TB baru yang tercatat, 1,1 juta di antaranya menyerang anak-anak usia 0-14 tahun. Dari jumlah tersebut, 230.000 anak yang terinfeksi TB terkait HIV meninggal dunia. Alkoholisme dan merokok menyebabkan sekitar 0,83 juta dan 0,86 juta kasus TB baru. TB adalah masalah global dengan 44% kasus baru terjadi di Asia Tenggara, 24% di Afrika, dan 18% di Pasifik Barat. Negara-negara yang paling terdampak adalah India, Nigeria, Indonesia, Pakistan, Bangladesh, Afrika Selatan, dan Filipina. WHO melaporkan bahwa lebih dari 10 juta orang menderita TB. Salah satu tujuan kesehatan dalam Agenda Pembangunan Berkelanjutan (SDG) adalah mengakhiri epidemi TB pada tahun 2030. Salah satu strateginya adalah mencari agen antimikobakteri alternatif dari sumber alam, karena *Mycobacterium tuberculosis* telah mengembangkan resistensi terhadap banyak obat sintetis. Di lingkungan sekitar kita, banyak tanaman obat memiliki jamur endofit yang bermanfaat. Jamur ini menghasilkan senyawa struktural dan biologis aktif yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap mikroorganisme berbahaya [67]. Senyawa-senyawa ini dapat digunakan dalam pengobatan modern [68]. Beberapa penelitian telah melaporkan isolasi jamur endofit dari berbagai tanaman obat yang mampu membuat obat antimikroba baru [21]. Penelitian bioprospeksi jamur endofit sebagai obat untuk tuberkulosis menunjukkan hasil yang menjanjikan. Sebabnya adalah banyak metabolit jamur yang dapat digunakan sebagai antimikroba dengan mudah. Contohnya, jamur endofit yang diambil dari *Azadirachta indica* dan *Parthenium hysterophorus* telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap tuberkulosis. Jamur endofit *Phomopsis spp.* yang diambil dari *Garcinia spp.* menghasilkan *Phomoxanthone A* dan B, senyawa yang telah

terbukti memiliki efek antimikobakteri terhadap *M. tuberculosis*. Jamur endofit lainnya, seperti *Alternaria alternate* dan *Phomopsis spp.* yang diambil dari tanaman obat di Thailand, menghasilkan senyawa seperti Asam 3-Nitropropionat dan asam Tenuazonat. Senyawa-senyawa ini telah terbukti menghambat *M. tuberculosis* H37Ra dengan cara mengganggu jalur enzim isositrate lyase yang dibutuhkan oleh bakteri untuk metabolisme dan virulensi. Jamur endofit *Phomopsis spp.* dari *Garcinia dulcis* juga dapat mensintesis senyawa bioaktif *Phomoenamide* dan *Phomonitroester*, yang terbukti menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis*. Dalam penelitian terbaru, senyawa bioaktif benzopyran, diaporthone A dan B yang dihasilkan oleh jamur *Diaporthe spp.* yang ditemukan pada daun *Pandanus amaryllifolius*, telah terbukti menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* yang bersifat virulen. Penelitian in vitro juga menunjukkan bahwa berbagai metabolit dari jamur endofit memiliki efek menghambat agen penyebab *tuberculosis* (Adeleke & Babalola, 2021).

4.3 Potensi sebagai anti diabetes

Diabetes melitus (DM) merupakan masalah kesehatan global yang cepat berkembang di perkotaan dan merupakan salah satu tantangan utama terkait gaya hidup pada abad ke-21. Studi terbaru menunjukkan bahwa sekitar 415 juta orang di seluruh dunia saat ini menderita diabetes. Sebagian besar dari mereka (90%) memiliki tipe 2 diabetes melitus (T2-DM) yang terkait dengan rendahnya produksi insulin atau resistensi insulin karena faktor genetik dan/atau epigenetik. T2-DM membawa risiko serius, seperti penyakit jantung, gangguan pembuluh darah, stroke, neuropati diabetes, amputasi, gagal ginjal, dan kebutaan. Hal ini mengakibatkan peningkatan cacat, penurunan harapan hidup, dan biaya kesehatan yang besar. Menurut Federasi Diabetes Internasional (IDF), sekitar 40,9 juta orang di India saat ini menderita diabetes, dan jumlah ini diperkirakan akan naik menjadi 69,9 juta pada tahun 2025.

Yang membuat lebih khawatir adalah bahwa diabetes kini muncul pada usia yang lebih muda daripada sebelumnya. Ini bisa berdampak buruk jangka panjang pada kesehatan dan ekonomi negara (Agrawal et al., 2022).

Endofit mewakili keanekaragaman adaptasi mikroba yang sangat besar yang telah berkembang di lingkungan khusus dan terisolasi dalam keragaman dan pembiasaan khusus mereka menjadikannya bidang studi yang menarik dalam pencarian obat-obatan baru. Keanekaragaman bakteri dan jamur endofit telah banyak diseleksi untuk antibakteri, sitotoksik, sebagai antioksidan, antidiabetes dan anti imunosupresif. Banyak literatur sebelumnya yang menyatakan bahwa endofit tanaman obat merupakan sumber potensial untuk metabolit sekunder dan memiliki aktivitas biologis yang sama dengan simbiosis tanamannya.

Beberapa inhibitor α -glukosidase, seperti acarbose, trestatin, amylostatin dan valioline telah diisolasi dari mikroorganisme. Acarbose yang diisolasi dari *Actinoplanes* sp. umumnya digunakan dalam penanganan diabetes tipe 2. Kelemahan utama dari penggunaan obat-obatan seperti Acarbose adalah efek samping seperti perut kembung, meteorisme dan kemungkinan diare. Telah disarankan bahwa efek samping tersebut mungkin disebabkan oleh penghambatan α -amilase pankreas yang berlebihan, yang mengakibatkan fermentasi bakteri yang tidak normal dari karbohidrat yang tidak tercerna di usus besar. Penghambat α -amilase dan α -glukosidase alami dari sumber tanaman tingkat makanan menawarkan strategi yang menarik untuk mengendalikan hiperglikemia pasca-prandial. Mikroorganisme yang berpotensi sebagai inhibitor α -glukosidase adalah probiotik. Disimpulkan bahwa isolat *Lactobacillus* menurunkan kadar glukosa darah yang serupa dengan isolat probiotik komersial. Probiotik yang dienkapsulasi menurunkan kadar glukosa lebih banyak daripada yang tidak dienkapsulasi. Selain itu, bakteri tersebut menurunkan kadar

glukosa menjadi normal dalam waktu 14 hari meskipun pada tingkat yang lebih rendah, tetapi obat glibenklamid mengakibatkan kondisi hipoglikemik. Semua kelompok uji menunjukkan penurunan kadar glukosa darah yang bervariasi antara 36% - 57%. Pada kelompok yang diberi obat, kelompok yang diperlakukan dengan bakteri yang tidak dienkapsulasi, penurunan kadar glukosa masing-masing adalah 37,85% dan 36,50% sedangkan pada kelompok yang diperlakukan dengan bakteri yang dienkapsulasi LB10 dan komersial yang dienkapsulasi, menunjukkan penurunan masing-masing 41,84% dan 40,97%. Penurunan kadar glukosa maksimum diamati pada kelompok yang diberi obat yaitu 57,19%. Pada hari ke-14, obat tersebut menghasilkan kondisi hipoglikemik. Hal ini membuktikan bahwa enkapsulasi meningkatkan kelangsungan hidup bakteri dalam kondisi GI dan menyediakan substrat yang lebih mudah diakses oleh bakteri ini. Oleh karena itu, untuk efek kesehatan yang menguntungkan dari probiotik yang berkelanjutan, enkapsulasi bakteri dapat menjadi alternatif yang lebih baik untuk menurunkan kadar glukosa darah. Bakteri endofit dari daun *Murraya koenigii* (L.) Spreng, diisolasi, difermentasi dan diekstraksi dengan kloroform. Fraksi kloroform menunjukkan aktivitas hipoglikemik yang signifikan pada tikus normal dan aktivitas antidiabetes pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin. Fraksi endofit kloroform bakteri (MKLB) menunjukkan aktivitas penangkap radikal bebas dengan $IC_{50} = 73,71 \mu\text{g/mL}$ (uji DPPH) dan $IC_{50} = 290,44 \mu\text{g/mL}$ (Hidroksil radikal). OGTT pada tikus normoglikemik menunjukkan bahwa MKLB (50 mg / kg p.o. dan 100mg / kg, p.o.) menyebabkan penurunan 25,03% dan 26,57% ($P < 0,001$) dalam kadar glukosa serum (SG), masing-masing; setelah dosis kronis, perbandingan kadar SG pada tikus diabetes yang diinduksi STZ menunjukkan bahwa dosis yang lebih tinggi dari fraksi tersebut mengurangi hiperglikemia hingga tingkat maksimum 45. 79% dan juga uji toleransi glukosa menunjukkan

bahwa tikus diabetes yang diobati dengan MKLB (50 mg / kg, p.o. dan 100mg / kg, p.o.) menyebabkan efek hipoglikemik yang signifikan dengan penurunan masing-masing 47,19%, 49,92% (Chatbar & Kuppusamy, 2021).

BAB 5

RISET TERKINI

5.1 Penelitian Terkini terkait Mikroba Endofit dalam dunia kesehatan

Telah diketahui bahwa pengguna bakteri endofit menggunakan strategi yang sebanding untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Selain itu, bakteri endofit lebih berhasil daripada rizobakteri dalam mengurangi dampak negatif dari tekanan lingkungan pada tanaman. Bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman terutama melalui akar dan bukaan alami lainnya pada tanaman. Setelah memasuki tanaman, bakteri endofit dapat menyebar ke seluruh jaringan tanaman inang. Tanaman obat dan herbal memiliki metabolit sekunder yang berfungsi sebagai obat penting, perasa, wewangian, agrokimia, pewarna, pigmen, pestisida, dan dapat memainkan peran kunci dalam adaptasi tanaman terhadap lingkungannya. Bakteri endofit dari genera *Bacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, dan *Serratia* dapat menghasilkan fitohormon, seperti auksin dan giberelin, serta protease dan hidrogen sianida, dan berperan dalam produksi siderofor, pelarutan fosfat, dan fiksasi nitrogen di atmosfer. Di antara endofit lainnya, spesies *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, dan *Flavobacterium* melarutkan senyawa fosfat anorganik dengan fosfatase. Spesies bakteri dari genera *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bradyrhizobium*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Streptomyces*, *Serratia*, dan *Thiobacillus* mensekresikan asam organik untuk melarutkan fosfor yang tidak dapat larut. *Pseudomonas spp.* dan *Bacillus spp.* dikenal sebagai endofit yang terlibat dalam produksi siderofor. Sebagai contoh, metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri endofit *Bacillus pumilus* memiliki efek penghambatan yang signifikan terhadap spesies jamur, seperti *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, dan *Sclerotium rolfsii*. Tanaman daun bulan berdaun hati (*Tinospora cordifolia*) memiliki daun dan batang

yang mengandung berbagai jenis bakteri seperti *Bacillus*, *Aneurinibacillus*, dan *Pseudomonas*. Tanaman ini telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan seperti demam, penyakit kuning, diare kronis, kanker, disentri, patah tulang, nyeri, asma, masalah kulit, gigitan serangga mematikan, dan masalah mata. Ada beberapa spesies bakteri seperti *Gluconacetobacter diazotrophicus* dan *Azorhizobium caulinodans* yang mampu memfiksasi nitrogen. Bakteri lainnya seperti *Pseudomonas putida*, *Azospirillum brasilense*, dan *Enterobacter cloacae* membantu tanaman bertahan hidup di lingkungan dengan kadar hidrokarbon poliaromatik (PAH) tinggi melalui fitoremediasi. Bakteri endofit seperti *Arthrobacter sp.* dan *Bacillus sp.* menghasilkan metabolit sekunder yang membantu tanaman beradaptasi terhadap stres abiotik. Penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit berperan penting dalam pertumbuhan tanaman, meskipun belum jelas bakteri mana yang memiliki kontribusi terbesar terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman obat. Bakteri pemacu pertumbuhan tanaman yang memfiksasi nitrogen dapat digunakan sebagai pupuk hayati untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Beberapa dari bakteri ini juga menghasilkan fitohormon, contohnya bakteri strain SCCPVE07 yang meningkatkan pertumbuhan ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) di lingkungan dengan tingkat salinitas tinggi. Tanaman ketumbar juga memiliki kualitas antimikroba dan antibakteri pada batang dan daunnya. Ketika diinokulasi dengan bakteri, tanaman ini menunjukkan peningkatan signifikan dalam kandungan zat seperti kalsium, karbon, zat besi, dan kalium. Selain itu, kadar beberapa senyawa seperti asam sinamat, 4-metoksi-asam sinamat heksosida, asam 5-O-kafeoilkuinat, K-3-O-rutinosida, Q-3-O-rutinosida, Q-3-O-glukosida, dan Q-3-O-glukuronida juga meningkat (Tshikhudo et al., 2023).

Salah satu tantangan terbesar dalam dunia kesehatan adalah pengembangan antibiotik baru untuk menghadapi munculnya berbagai bakteri yang resisten. Resistensi mikroba telah lama diketahui dapat menimbulkan masalah dalam pengobatan beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit, sehingga menurunkan efektivitas terapi. Kemampuan beradaptasi dan resistensi agen infeksius terhadap antibiotik bergerak sangat cepat. Sebagai contoh, organisme yang resisten terhadap sulfonamida, seperti *Streptococcus pyrogenes*, muncul tidak lama setelah pengenalan obat sulfonamida pertama, senyawa azo "Prontosil", yang dikembangkan pada tahun 1930-an sebagai solusi untuk terapi antimikroba gram negatif dan gram positif. Infeksi oleh mikroba resisten sering dikaitkan dengan lingkungan rumah sakit karena rutinitas klinis, tetapi juga terjadi di masyarakat dan merupakan konsekuensi dari pengaruh selektif dari penggunaan antibiotik pada manusia dan hewan. Akumulasi antimikroba di lingkungan juga berkontribusi terhadap peningkatan AMR (Resistensi Antimikroba). Resistensi antimikroba lingkungan juga terkait dengan polusi air perkotaan, seperti di kanal Hua Krabue di Thailand tengah. Asia memiliki hubungan penting dengan akuakultur, menyumbang 91% dari produksi akuakultur global, sehingga pertumbuhan yang cepat dari sektor ini telah memodifikasi dan mengganggu kestabilan beberapa ekosistem. Hal ini menyebabkan kerentanan dan pencemaran pada perairan ini dan, akibatnya, penyebaran penyakit telah menyebabkan penggunaan antibiotik yang tidak terkendali (Silva et al., 2022).

Saat ini, diketahui bahwa endofit mampu menghasilkan racun, antibiotik, dan banyak produk lain yang memiliki kepentingan bioteknologi, selain mempromosikan perlindungan tanaman. Potensi mikroorganisme endofit untuk menghasilkan berbagai metabolit sekunder menjadikannya sumber yang menarik dalam pencarian agen antimikroba baru, dan aplikasinya

dalam industri makanan dan kosmetik dapat berkontribusi pada beberapa aplikasi bioteknologi. Beberapa metabolit yang dihasilkan oleh endofit adalah terpen, alkaloid, fenol, tanin, kuinon, saponin, steroid, dan lain-lain.

Di dalam bidang kesehatan, jamur endofit telah banyak diteliti dan dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi yang cukup luas. Senyawa aktif beberapa jamur endofit telah berhasil diisolasi dan menunjukkan struktur kimia yang bervariasi mulai dari benzopiran, poliketida, terpenoid, senyawa fenolik, alkaloid, peptida dan peptida siklik, serta diketopiperazin (Triastuti, 2020). Contoh metabolit beserta jamur penghasil dan aktivitas farmakologinya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2. Molekul yang diisolasi dari jamur endofit dengan aktivitas antimikroba

Sumber tanaman	Kelas senyawa kimia	Senyawa	Bakteri target	Referensi
<i>Diaporthe phaseolorum</i> (8S) (biji)	Asam	3- <i>hydroxypropionic acid</i> (3-HPA)— $C_3H_6O_3$ / 91.03897 [M + H] ⁺	<i>Escherichia coli</i> strain <i>Multiresisten</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain <i>Multiresisten</i>	(De Azevedo Silva et al., 2018)
<i>Fusarium proliferatum</i> AF-04 (bawang)	Alkaloid	<i>Indol-3-acetic acid</i> - $C_{10}H_9NO_2$ / 176.070605 [M + H] ⁺	<i>E.coli</i>	(Jiang et al., 2019)
<i>Phomopsis long-</i>	Antrakuinon	Altersolanol B—	<i>Vibrio</i>	(X. B. Li et

<i>icolla</i> HL-2232 (mangrove)		$C_{16}H_{16}O_6$ / 305.101965 [M + H] ⁺	<i>parahaemolyticus</i> <i>Vibrio</i> <i>anguillarum</i>	al., 2017)
<i>Coniothyrium sp</i>	Antrakuinon	1,7-dihydroxy-3- methyl-9, 10-anthraquin- one—254 [M] ⁺	<i>E.coli</i>	(Sun et al., 2012)
<i>Coniothyrium sp</i>	Antrakuinon	Phomarin— $C_{15}H_{10}O_4$ / 254 [M] ⁺	<i>E.coli</i>	(Sun et al., 2012)
<i>Coniothyrium sp</i>	Antrakuinon	1-Hydroxy-3- hydroxymethyl- 9, 10- anthraquinone— $C_{15}H_{10}O_4$ / 254 [M] ⁺	<i>E.coli</i>	(Sun et al., 2012)

Membran plasma terdiri dari asam lemak, fosfolipid, polisakarida, dan protein, dan bertanggung jawab untuk mengontrol pengangkutan molekul dan ion melalui permeabilitas selektif yang dilakukan oleh protein transmembran, seperti porin, yang membentuk saluran yang memungkinkan lewatnya molekul seperti peptida, asam amino, nukleotida, vitamin, dan lain-lain. Ketika membran ini terganggu oleh agen antimikroba, permeabilitas selektif diubah

dan gradien ionik sel hilang, yang mengakibatkan kerusakan sel dan kematian sel. Dalam jenis mekanisme ini, antimikroba berusaha mengganggu sintesis asam lemak dan fosfolipid dalam membran. Contoh antimikroba yang bekerja pada jalur ini adalah *Polymyxin B*, yang memengaruhi permeabilitas membran bakteri, memfasilitasi pergerakan ion yang tidak terkendali melaluinya. *Daptomycin* adalah lipopeptida yang bekerja dengan berinteraksi dengan fosfolipid membran, mendepolarisasi dan mengganggu potensial membran, melepaskan ion dari sitoplasma ke matriks ekstraseluler. Mekanisme ini terjadi pada *Pseudomonas aeruginosa* yang diperlakukan dengan polimiksin B.

Dinding sel terdiri dari peptidoglikan yang membentuk dinding yang kaku dan tebal; dinding Dinding bakteri gram negatif hanya memiliki lapisan tipis peptidoglikan, dan melalui lapisan inilah difusi non-spesifik zat terlarut hidrofilik terjadi, melalui porin. Agen antimikroba menargetkan sintesis dinding sel, sementara β -thalaktam, penisilin, vankomisin, bacitracin, kaphalosporin, glikopeptida, dan karbapenem bekerja pada dinding sel dengan melintasi porin yang ada di membran luar dan berikatan dengan reseptor protein jenis protein pengikat penisilin (PBP), sehingga menonaktifkannya dan mengganggu langkah terakhir sintesis dinding sel. Pada bakteri gram negatif, proses ini sulit dilakukan karena antibiotik harus melewati membran sel. Hal sebaliknya terjadi pada bakteri gram positif karena polimer peptidoglikan lebih dekat ke permukaan, sehingga memudahkan pengikatan antibiotik dengan PBP. Penisilin, seperti antibiotik β -laktam lainnya, memiliki kekuatan bakterisida. Penisilin G adalah penisilin alami yang diberikan secara klinis; turunannya penisilin V lebih stabil ketika diberikan secara oral, tetapi kedua bentuk tersebut memiliki aktivitas terbatas terhadap bakteri gram negatif, karena bakteri ini menghasilkan enzim penghidrolisis β -laktamase yang disintesis oleh bakteri gram positif dan gram negatif, dan enzim ini mendegradasi sebagian

cincin β -laktam dari antibiotik β -laktam. Spesies gram negatif seperti *Klebsiela pneumoniae* dan *Escherichia coli* menghasilkan β -laktamase spektrum luas (ESBL) dengan mendegradasi cincin β -laktam dari antibiotik ceftazidime. Penisilin dan sefalosporin bekerja pada langkah terakhir pembentukan peptidoglikan sebagai analog dari gugus D-alanin-D-alanin.

Dalam proses sintesis protein, agen antimikroba seperti tetrasiklin, eritromisin, dan streptomisin menargetkan ribosom. Ribosom memiliki dua subunit: satu terbuat dari protein dan yang lainnya dari jenis RNA yang disebut ribosomal RNA (rRNA). Subunit ribosom 70S terdiri dari unit 30S yang lebih kecil dengan satu molekul rRNA dan unit 50S yang lebih besar dengan dua molekul rRNA. DNA bakteri digunakan untuk membuat molekul RNA melalui proses transkripsi. Struktur ribosom membuat protein yang diatur dalam mRNA melalui proses translasi. Antibiotik seperti tetrasiklin dan aminoglikosida (seperti streptomisin dan gentamisin) bekerja dengan mengikat pada subunit 30S ribosom bakteri. Ini mencegah aminoacyl tRNA mengikat di situs A ribosom dan mencegah penambahan asam amino. Akibatnya, sintesis protein terhambat. Pada bakteri gram negatif, tetrasiklin melintasi membran luar melalui porin, membentuk kompleks ion-tetrasiklin yang tertarik oleh potensial membran luar dan mengakibatkan penumpukan di periplasma. Di sana, kompleks tersebut terurai dan melepaskan tetrasiklin ke dalam medium tanpa muatan, yang memungkinkannya berdifusi melalui membran dalam. Setelah berada di dalam sel bakteri, tetrasiklin terikat dengan ribosom secara reversibel, menjelaskan sifat bakteriostatiknya (Silva et al., 2022).

5.2 Inovasi Terkini terkait Mikroba Endofit dalam dunia pertanian

Bakteri endofit menggunakan mekanisme yang sama dengan bakteri rizosfer untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman di bidang silvikultur, hortikultura, dan pertanian, serta fitoremediasi. Efek pemacu pertumbuhan dapat berupa efek langsung atau tidak langsung.

Pemacu Pertumbuhan Langsung

- **Produksi fitohormon**

Zat pengatur tumbuh atau fitohormon adalah zat organik yang memodifikasi, menghambat, atau mendorong pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada konsentrasi rendah (<1 mM) [60]. Untuk aplikasi pertanian, mereka disintesis secara kimiawi, diekstraksi dari bahan tanaman, atau diproduksi oleh fermentasi mikroba. Namun, struktur kimia yang kompleks atau kelimpahannya yang rendah pada tanaman sering kali menghalangi penerapan teknik-teknik ini. Sebagai alternatif, pengembangan teknik untuk produksi hormon secara fermentasi dapat menurunkan biaya produksi dan meningkatkan produktivitas. Fitohormon utama yang diproduksi oleh bakteri endofit adalah auksin, sitokinin, asam absisat, etilen, brassinosteroid, giberelin, strigolakton, dan jasmonat. *Indole-3-acetic acid* (IAA) terutama mendorong pemanjangan dan diferensiasi sel tanaman. Dalam simbiosis, IAA yang diproduksi oleh bakteri merangsang perkembangan akar adventif dan lateral, meningkatkan akses nutrisi, dan meningkatkan eksudasi akar untuk meningkatkan interaksi. Produsen IAA endofit yang umum termasuk dalam genera bakteri *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Alcaligenes*, *Herbaspirillum*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Acetobacter*, dan *Rhodococcus*. Bakteri ini sering ditemukan di alam, seperti yang baru-baru ini ditunjukkan pada populasi tanaman obat di Mesir.

Beberapa penelitian melaporkan spesies bakteri endofit yang menghasilkan giberelin dan sitokinin. Giberelin mengontrol pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui peningkatan perkecambahan biji, peningkatan pertumbuhan batang dan daun, stimulasi pembungaan dan perkembangan buah, dan menunda penuaan tanaman. Sitokinin mengontrol pembelahan dan diferensiasi sel, meningkatkan ketahanan terhadap stres biotik dan abiotik,

meningkatkan transportasi floem, dan mendorong pembungaan dan pertumbuhan tunas ketiak. *Azospirillum lipoferum* endofit diinokulasikan pada tanaman jagung yang sebelumnya diperlakukan dengan sintesis penghambat giberelin dan mengalami cekaman kekeringan. Tanaman jagung yang diinokulasi berkinerja lebih baik daripada kontrol yang tidak diinokulasi, terutama di bawah tekanan karena bakteri giberelin. Selain itu, strain bakteri endofit termasuk *Pseudomonas resinovorans* dan *Paenibacillus polymaxa* yang diisolasi dari *Gynura procumbens* menunjukkan kemampuan yang efisien untuk menghasilkan senyawa yang mirip dengan sitokinin (Ahmed M. Eid et al., 2021).

- Biofertilisasi

Pembuatan pupuk nitrogen mahal dan menggunakannya meningkatkan polusi air tanah dengan nitrat. Namun, fiksasi nitrogen biologis (BNF) sangat penting karena menyumbang sekitar dua pertiga dari nitrogen global yang terfiksasi. Fiksasi nitrogen biologis adalah proses biologis istimewa yang terbatas pada organisme prokariotik. Bakteri endofit, misalnya, dapat membentuk hubungan tertutup dengan tanaman. Di dalam endosfer tanaman, yang memiliki lebih banyak karbon dan kurang oksigen, kondisi yang cocok untuk fiksasi nitrogen tercipta. Bakteri endofit ini memungkinkan tanaman inangnya mendapatkan nitrogen tanpa membentuk struktur seperti bintil. Beberapa bakteri endofit memiliki gen BNF yang memungkinkan mereka mengubah gas nitrogen (N_2) menjadi bentuk nitrogen lain seperti nitrat dan amonium. Tanaman inang dapat menggunakan bentuk-bentuk ini. Di Brasil, penelitian menunjukkan bahwa tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L) yang dibudidayakan tanpa pupuk nitrogen, tetapi terinfeksi dengan bakteri endofit seperti *Herbaspirillum seropedicae* dan *Acetobacter diazotrophicus*, dapat memperoleh semua kebutuhan nitrogen mereka dari udara. Dalam konteks fiksasi nitrogen, bakteri endofit lebih efisien daripada mikroba rizosfer dalam

meningkatkan pertumbuhan dan kesehatan tanaman. Mereka membantu tanaman tumbuh subur, terutama di tanah yang kurang memiliki nitrogen.

Inokulasi bakteri endofit telah berkontribusi terhadap peningkatan biomassa dibandingkan dengan tanaman kontrol yang tidak diinokulasi, seperti yang dicatat oleh beberapa penulis. Beberapa strain endofit *Enterobacter spp.* dan *Klebsiella spp.* telah dilaporkan dapat memfiksasi N₂ dan meningkatkan pertumbuhan tebu dalam kondisi gnotobiotik dan kondisi alami. Wei dkk mengisolasi *Klebsiella variicola* DX120E, bakteri penambat nitrogen, dari akar kultivar tebu ROC22. Strain ini mampu menambat N₂ dalam hubungannya dengan tanaman tebu di bawah kondisi gnotobiotik, mendorong pertumbuhan kultivar GT21 dan serapan N, P, dan K dalam kondisi rumah kaca. Kandungan nitrogen total tanaman *Poa pratensis* L. meningkat sebesar 37% setelah diinokulasi dengan strain endofit *Burkholderia vietnamiensis* WPB (Wei et al., 2014).

Pemanfaatan inokulan bakteri endofit sebagai kandidat pupuk hayati mikroba akan memberikan alternatif yang menjanjikan untuk pupuk kimia dan untuk aplikasi komersial. Inokulasi kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan endofit bintil pelarut P, *Pantoea* J49, meningkatkan berat kering udara dalam percobaan di rumah kaca. *Pseudomonas letiola* memobilisasi P yang tidak larut dan meningkatkan panjang tunas dan pertumbuhan pohon apel varietas Ligol [131]. Selain itu, inokulasi *Rhodococcus* sp. EC35, *Pseudomonas* sp. EAV, dan *Arthrobacter nicotinovorans* EAPAA meningkatkan ketersediaan P dan pertumbuhan tanaman *Zea mays* di tanah yang diberi tambahan trikalsium fosfat (Ahmed M. Eid et al., 2021).

Pemacu Pertumbuhan Langsung

- Strees Toleran

Tanaman seringkali menghadapi berbagai tantangan, seperti paparan terhadap zat beracun, kekurangan nutrisi, tekanan biotik (dari patogen hingga serangga), dan tekanan abiotik (seperti suhu ekstrem, kekeringan, salinitas, logam berat, dan banjir). Kedua jenis tekanan ini, baik yang berasal dari faktor biotik maupun abiotik, menyebabkan kerugian besar dalam pertanian global, mencapai sekitar 30-50%. Untuk mengatasi tantangan ini, penelitian di masa depan bertujuan untuk mengembangkan teknologi ramah lingkungan yang meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan biotik dan abiotik. Salah satu strategi yang menjanjikan adalah menghasilkan tanaman yang lebih kuat dan sehat dengan sistem kekebalan yang lebih baik. Endofit, mikroorganisme yang hidup di dalam tanaman, telah terbukti efektif dalam memperkuat tanaman ini. Mereka tidak hanya mengaktifkan sistem respons yang melawan stres secara langsung dan spesifik, tetapi juga menghasilkan senyawa anti-stres yang memperkuat tanaman. Selain itu, mereka melibatkan respons imun yang luas yang melindungi tanaman dari berbagai jenis tekanan stres. Memahami mekanisme di balik strategi ini dapat memberikan kita pengetahuan tentang alat-alat molekuler dan biokimia yang diperlukan untuk meningkatkan pertanian di masa depan (Ahmed M. Eid et al., 2021).

Bakteri endofit mendukung tanaman dalam menghadapi stres kekeringan dengan cara memproduksi senyawa volatil, asam absisat, ACC-deaminase, dan IAA. Selain itu, mereka juga meningkatkan aktivitas antioksidan dan penyesuaian osmotik untuk membantu tanaman melawan stres. Sebagai contoh, penelitian oleh Razzaghi-Komaresofla dan timnya [149] memperkenalkan strain *Staphylococcus sp.* yang dapat bertahan dalam kondisi salinitas tinggi, yang secara signifikan meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan garam pada tanaman

Salicornia sp., baik jika digunakan secara individu maupun dalam kombinasi. Selain membantu tanaman melawan kekeringan dan garam, bakteri endofit juga melindungi tanaman dari patogen. Mereka melakukan ini dengan bersaing di lingkungan tanaman dan memproduksi senyawa pertahanan seperti antibiotik, antimikroba, dan senyawa struktural. Selain itu, mereka juga dapat merangsang sistem kekebalan tanaman inang, memperkuat resistensi terhadap serangan patogen (Razzaghi et al., 2019).

Tanaman yang mengalami tekanan baik dari serangan organisme biologis (stres biotik) maupun kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (stres abiotik) menghasilkan hormon etilen dalam jumlah tinggi, yang disintesis dari senyawa ACC. Hormon pertahanan ini, etilen, memiliki efek meredakan pertumbuhan tanaman secara keseluruhan. Namun, penelitian oleh Afridi dan timnya menunjukkan bahwa inokulasi dua varietas gandum dengan bakteri endofit yang menghasilkan ACC dapat meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan tanaman terhadap stres. Keuntungan dari bakteri endofit penghasil etilen adalah bahwa hormon ini disintesis secara lokal dalam jaringan simbiosis. Hal ini memastikan bahwa respons pertahanan yang diinduksi oleh etilen hanya terjadi pada bagian tanaman yang benar-benar terpapar stres. Selain itu, enzim ACC-deaminase yang dihasilkan oleh bakteri endofit dapat mengurangi dampak konsentrasi etilen yang tinggi pada tanaman yang mengalami stres. Enzim ini memecah ACC menjadi α -ketobutirat dan amonia, memberikan tanaman akses pada amonia yang dapat digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan. Endofit juga memiliki sejumlah fitur menguntungkan lainnya, seperti produksi etilen, siderofor, atau eksopolisakarida; kemampuan fiksasi nitrogen; dan kemampuan pelarutan fosfat. Semua ini membantu memperkuat tanaman dalam menghadapi tekanan atau keterbatasan nutrisi. Menariknya, beberapa bakteri endofit juga memiliki faktor sigma, yang digunakan untuk

mengatur ekspresi gen-gen tertentu dalam kondisi tidak menguntungkan, membantu mengurangi dampak negatif pada tanaman (Afridi et al., 2019).

- Fitoremediasi

Fitoremediasi, khususnya dengan bantuan bakteri endofit, merupakan metode yang menjanjikan untuk membersihkan tanah, air, dan udara dari kontaminan (Ma et al., 2016). Dalam konteks ini, fitoremediasi dengan endofit digunakan untuk membersihkan logam berat dalam tanah, memungkinkan pertumbuhan tanaman di tanah yang sebelumnya terkontaminasi. Penelitian lain juga telah melibatkan penggunaan bakteri endofit untuk mengatasi berbagai jenis kontaminan seperti senyawa organik, hidrokarbon, bahan peledak, herbisida, limbah penyamakan kulit, dan uranium (Ahsan et al., 2017). Contohnya, penelitian oleh Eevers dan timnya memperlihatkan bahwa tanaman zucchini yang diinokulasi dengan beberapa strain bakteri endofit mengalami peningkatan berat di lahan yang terkontaminasi senyawa kimia tertentu. Begitu juga, tanaman semanggi putih manis yang diinokulasi dengan bakteri endofit pendegradasi hidrokarbon mampu mengatasi penghambatan pertumbuhan akibat kontaminasi solar di tanah. Bakteri endofit juga dapat menghadapi tantangan lingkungan yang ekstrim. Contohnya, dalam sebuah penelitian, strain Bakteri Safensis endofit (ZY16) yang diisolasi dari akar tanaman *Chloris virgate* mampu mendegradasi minyak diesel dan hidrokarbon aromatik polisiklik dalam kondisi lingkungan yang sangat asin, sambil menghasilkan senyawa biosurfaktan. Tanaman yang diinokulasi dengan bakteri ini tumbuh lebih baik dan menghasilkan lebih banyak biomassa dibandingkan dengan tanaman yang tidak diinokulasi (Wu et al., 2019).

DAFTAR PUSTAKA

- Adeleke, B. S., & Babalola, O. O. (2021). Pharmacological potential of fungal endophytes associated with medicinal plants: A review. *Journal of Fungi*, 7(2), 1–16. <https://doi.org/10.3390/jof7020147>
- Afridi, M. S., Amna, Sumaira, Mahmood, T., Salam, A., Mukhtar, T., Mehmood, S., Ali, J., Khatoon, Z., Bibi, M., Javed, M. T., Sultan, T., & Chaudhary, H. J. (2019). Induction of tolerance to salinity in wheat genotypes by plant growth promoting endophytes: Involvement of ACC deaminase and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 569–577. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.041>
- Agrawal, S., Samanta, S., & Deshmukh, S. K. (2022). The antidiabetic potential of endophytic fungi: Future prospects as therapeutic agents. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(3), 1159–1165. <https://doi.org/10.1002/bab.2192>
- Ahsan, M. T., Najam-ul-haq, M., Idrees, M., Ullah, I., & Afzal, M. (2017). Bacterial endophytes enhance phytostabilization in soils contaminated with uranium and lead. *International Journal of Phytoremediation*, 19(10), 937–946. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1303813>
- Bhore, S. J., Nithya, R., & Loh, C. Y. (2010). Screening of endophytic bacteria isolated from leaves of Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] for cytokinin-like compounds. *Bioinformation*, 5(5), 191–197. <https://doi.org/10.6026/97320630005191>
- Cai, R., Jiang, H., Zang, Z., Li, C., & She, Z. (2019). New Benzofuranoids and Phenylpropanoids from the Mangrove Endophytic Fungus, *Aspergillus* sp. ZJ-68. *Marine Dr*, 17(478), 2–11.
- Caruso, D. J., Palombo, E. A., Moulton, S. E., & Zaferanloo, B. (2022). Exploring the Promise of Endophytic Fungi: A Review of Novel Antimicrobial Compounds. In *Microorganisms* (Vol. 10, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101990>
- Chatbar, G., & Kuppusamy, A. (2021). Anti diabetic Activity of Bacteria and Fungi : A Review Anti diabetic Activity of Bacteria and Fungi : A Review. *International Journal of Frontiers in Science and Technology*, 4(2), 1–8.

- Dastogeer, K. (2022). *Isolation Techniques of Microorganisms* (Issue January).
- Davies, O. L. (2017). *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed.*
- De Azevedo Silva, F., Liotti, R. G., Ana Paula deAraújo, B., De Melo Reis, É., Passos, M. B. S., Dos Santos, E. L., Sampaio, O. M., Januário, A. H., Branco, C. L. B., Da Silva, G. F., De Mendonça, E. A. F., & Soares, M. A. (2018). Diversity of cultivable fungal endophytes in *Paullinia cupana* (Mart.) Ducke and bioactivity of their secondary metabolites. In *PLoS ONE* (Vol. 13, Issue 4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195874>
- Do Rosário Marinho, A. M., Rodrigues-Filho, E., Moitinho, M. D. L. R., & Santos, L. S. (2005). Biologically active polyketides produced by *Penicillium janthinellum* isolated as an endophytic fungus from fruits of *Melia azedarach*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *16*(2), 280–283. <https://doi.org/10.1590/s0103-50532005000200023>
- dos Santos, M. L., Berlitz, D. L., Wiest, S. L. F., Schünemann, R., Knaak, N., & Fiuza, L. M. (2018). Benefits Associated with the Interaction of Endophytic Bacteria and Plants. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *61*, 1–11. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2018160431>
- Eid, Ahmed M., Fouda, A., Abdel-rahman, M. A., Salem, S. S., Elsaied, A., Oelmüller, R., Hijri, M., Bhowmik, A., Elkelish, A., & El-Din Hassan, S. (2021). Harnessing bacterial endophytes for promotion of plant growth and biotechnological applications: An overview. *Plants*, *10*(5), 1–33. <https://doi.org/10.3390/plants10050935>
- Eid, Ahmed Mohamed, Salim, S. S., Hassan, S. E. D., Ismail, M. A., & Fouda, A. (2019). Role of Endophytes in Plant Health and Abiotic Stress Management. In *Microbiome in Plant Health and Disease: Challenges and Opportunities* (pp. 119–144). https://doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0_6
- Fadiji, A. E., & Babalola, O. O. (2020). Elucidating Mechanisms of Endophytes Used in Plant Protection and Other Bioactivities With Multifunctional Prospects. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *8*(May), 1–20.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467>

- 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. <https://doi.org/10.1128/membr.00050-14>
- Harnelly, E., Kusuma, H. I., Thomy, Z., & Samingan. (2022). Internal Transcribed Spacer (ITS) gene as an accurate DNA barcode for identification of macroscopic fungus in Aceh, Indonesia. *Biodiversitas*, 23(5), 2369–2378. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230514>
- Hartanti, D., & Yunita, R. (2016). Endophytic Bacteria Research in Indonesia : A Review. *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 1–9.
- Isaka, M., Berkaew, P., Intereya, K., Komwijit, S., & Sathitkunanon, T. (2007). Antiplasmodial and antiviral cyclohexadepsipeptides from the endophytic fungus *Pullularia* sp. BCC 8613. *Tetrahedron*, 63(29), 6855–6860. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.04.062>
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761–2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
- Jiang, C. X., Li, J., Zhang, J. M., Jin, X. J., Yu, B., Fang, J. G., & Wu, Q. X. (2019). Isolation, Identification, and Activity Evaluation of Chemical Constituents from Soil Fungus *Fusarium avenaceum* SF-1502 and Endophytic Fungus *Fusarium proliferatum* AF-04. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(7), 1839–1846. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05576>
- Jufri, R. F. (2020). Microbial Isolation. *Journal La Lifesci*, 01(01), 18–23.
- Kousar, R., Naeem, M., Jamaludin, M. I., Arshad, A., Shamsuri, A. N., Ansari, N., Akhtar, S., Hazafa, A., Uddin, J., Khan, A., & Al-Harrasi, A. (2022). Exploring the anticancer activities of novel bioactive compounds derived from endophytic fungi: mechanisms of

- action, current challenges and future perspectives. *American Journal of Cancer Research*, 12(7), 2897–2919. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35968347><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC9360238>
- Kumar, J., Singh, D., Ghosh, P., & Kumar, A. (2017). Plant-microbe interactions in agro-ecological perspectives. In *Endophytic and Epiphytic Modes of Microbial Interactions and Benefits* (Vol. 1, pp. 227–251). <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5813-4>
- Kumaran, R. S., Jung, H., & Kim, H. J. (2011). In vitro screening of taxol, an anticancer drug produced by the fungus, *Colletotrichum capsici*. *Engineering in Life Sciences*, 11(3), 264–271. <https://doi.org/10.1002/elsc.201000119>
- Li, N. Z., Xia, T., Xu, Y. L., Qiu, R. R., Xiang, H., He, D., & Peng, Y. Y. (2012). Genome sequence of *Paenibacillus* sp. strain Aloe-11, an endophytic bacterium with broad antimicrobial activity and intestinal colonization ability. *Journal of Bacteriology*, 194(8), 2117–2118. <https://doi.org/10.1128/JB.00087-12>
- Li, X. B., Chen, G. Y., Liu, R. J., Zheng, C. J., Song, X. M., & Han, C. R. (2017). A new biphenyl derivative from the mangrove endophytic fungus *Phomopsis longicolla* HL-2232. *Natural Product Research*, 31(19), 2264–2267. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1300799>
- Liu, H., Carvalhais, L. C., Crawford, M., Singh, E., Dennis, P. G., Pieterse, C. M. J., & Schenk, P. M. (2017). Inner plant values: Diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8(DEC), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02552>
- Ma, Y., Rajkumar, M., Zhang, C., & Freitas, H. (2016). Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. *Journal of Environmental Management*, 174, 14–25. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.02.047>
- Malfanova, N., Lugtenberg, B. J. J., & Berg, G. (2013). Bacterial Endophytes: Who and Where, and What Are They Doing There? *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere: Volume 1, 1*, 391–403. <https://doi.org/10.1002/9781118297674.ch36>

- Martínez-luis, S., Cherigo, L., Higginbotham, S., Arnold, E., Spadafora, C., Ibañez, A., Gerwick, W. H., & Cubilla-rios, L. (2012). Screening and evaluation of antiparasitic and in vitro anticancer activities of Panamanian endophytic fungi. *Int Microbiol*, *14*(2), 95–102.
- Martínez-Luis, S., Della-Togna, G., Coley, P. D., Kursar, T. A., Gerwick, W. H., & Cubilla-Rios, L. (2008). Antileishmanial constituents of the panamanian endophytic fungus *Edenia* sp. *Journal of Natural Products*, *71*(12), 2011–2014. <https://doi.org/10.1021/np800472q>
- Murat Eren, A., Ferris, M. J., & Taylor, C. M. (2011). A framework for analysis of metagenomic sequencing data. *Pacific Symposium on Biocomputing 2011, PSB 2011*, 131–141. https://doi.org/10.1142/9789814335058_0015
- Murphy, B. R., & Hodkinson, T. R. (2018). Endophyte ecology, diversity and utilisation. *Plant Ecology and Diversity*, *11*(5–6), 551–554. <https://doi.org/10.1080/17550874.2019.1616001>
- Muzzamal, H., Sarwar, R., Sajid, I., & Hasnain, S. (2012). Isolation, identification and screening of endophytic bacteria antagonistic to biofilm formers. *Pakistan Journal of Zoology*, *44*(1), 249–257.
- Nair, D. N., & Padmavathy, S. (2014). Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans. *The Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/250693>
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, *83*(3), 770–803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>
- Nxumalo, C. I., Ngidi, L. S., Shandu, J. S. E., & Maliehe, T. S. (2020). Isolation of endophytic bacteria from the leaves of *Anredera cordifolia* CIX1 for metabolites and their biological activities. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, *20*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03095-z>
- Padhi, L., Laxmipriya Padhi, Y., Sujogya, K. M., & Panda, K. (2013). Endophytic fungi with

- great promises : A Review. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 3(3), 152–170.
- Petrosino, J. F., Highlander, S., Luna, R. A., Gibss, R. A., & Versalovic, J. (2010). Metagenomic Pyrosequencing and Microbial Identification. *Clinical Chemistry*, 55(5), 856–866. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.107565>.Metagenomic
- Phumudzo, T., Ronald, N., Khayaletu, N., & Fhatuwani, M. (2013). Bacterial species identification getting easier. *African Journal of Biotechnology*, 12(41), 5975–5982. <https://doi.org/10.5897/ajb2013.12057>
- Pinheiro, E. A. A., Carvalho, J. M., Dos Santos, D. C. P., De Oliveira Feitosa, A., Marinho, P. S. B., Guilhon, G. M. S. P., De Souza, A. D. L., Da Silva, F. M. A., & Andrey, A. M. (2013). Antibacterial activity of alkaloids produced by endophytic fungus *Aspergillus* sp. EJC08 isolated from medical plant *Bauhinia guianensis*. *Natural Product Research*, 27(18), 1633–1638. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.750316>
- Pokhrel, A. (2022). Antimicrobial(Antibiotic) resistance: An evolving threat to medicine. *Annals of Medicine and Surgery*, 81(July), 104357. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104357>
- Qin, Z., Arakawa, A., Baba, E., Fukata, T., & Sasai, K. (1996). Effect of *Eimeria tenella* infection on the production of *Salmonella enteritidis*-contaminated eggs and susceptibility of laying hens to *S. enteritidis* infection. *Avian Diseases*, 40(2), 361–367. <https://doi.org/10.2307/1592233>
- Razzaghi, K., Behzad, Alikhani, H. A., Etesami, H., & Khoshkholgh-Sima, N. A. (2019). Improved growth and salinity tolerance of the halophyte *Salicornia* sp. by co-inoculation with endophytic and rhizosphere bacteria. *Applied Soil Ecology*, 138(January), 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.022>
- Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. (2011). Living inside plants: Bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(4), 435–443. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.04.004>
- Rosenblueth, M., & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(8), 827–837.

<https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0827>

- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2008). Bacterial endophytes: Recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters*, 278(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Bolchacova, E., Voigt, K., Crous, P. W., Miller, A. N., Wingfield, M. J., Aime, M. C., An, K. D., Bai, F. Y., Barreto, R. W., Begerow, D., Bergeron, M. J., Blackwell, M., ... Schindel, D. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(16), 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Shukla, S. T., Habbu, P. V., Kulkarni, V. H., Jagadish, K. S., Pandey, A. R., & Sutariya, V. N. (2014). Endophytic microbes: A novel source for biologically/pharmacologically active secondary metabolites. *Asian Journal of Pharmacology and Toxicology*, 03, 1–16.
- Silva, D. P. D., Cardoso, M. S., & Macedo, A. J. (2022). Endophytic Fungi as a Source of Antibacterial Compounds—A Focus on Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111509>
- Sridhar, S., Turbett, S. E., Harris, J. B., & Larocque, R. C. (2021). Antimicrobial-resistant bacteria in international travelers. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 34(5), 423–431. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000751>
- Suhartina, Kandou, F. E. F., & Singkoh, M. F. O. (2018). Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Tumbuhan Paku *Asplenium nidus*. *Jurnal MIPA*, 7(2), 24. <https://doi.org/10.35799/jm.7.2.2018.20640>
- Sun, P., Huo, J., Mandi, A., Antus, S., Tang, H., Draeger, S., Schulz, B., Hussain, H., Krohn, K., Pan, W., Yi, Y., & Zhang, W. (2012). Structural and Stereochemical Studies of Hydroxyanthraquinone Derivatives from the Endophytic Fungus *Coniothyrium* sp. *Chirality*, 1–8. <https://doi.org/10.1002/chir>
- Talukdar, R., Padhi, S., Rai, A. K., Masi, M., Evidente, A., Jha, D. K., Cimmino, A., &

- Tayung, K. (2021). Isolation and Characterization of an Endophytic Fungus *Colletotrichum coccodes* Producing Tyrosol From *Houttuynia cordata* Thunb. Using ITS2 RNA Secondary Structure and Molecular Docking Study. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9(June), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.650247>
- Travassos, L. R., Taborda, C. P., & Colombo, A. L. (2008). Treatment options for paracoccidioidomycosis and new strategies investigated. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 6(2), 251–262. <https://doi.org/10.1586/14787210.6.2.251>
- Triastuti, A. (2020). Fungal endophytes as the source of medicinal natural product Jamur endofit sebagai sumber obat bahan alam. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 16(1), 1–95. <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF52>
- Tshikhudo, P. P., Ntushelo, K., & Mudau, F. N. (2023). Sustainable Applications of Endophytic Bacteria and Their Physiological/Biochemical Roles on Medicinal and Herbal Plants: Review. *Microorganisms*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020453>
- Verma, V. C., & Gange, A. C. (2014). Advances in endophytic research. *Advances in Endophytic Research*, May, 1–454. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1575-2>
- Wei, C. Y., Lin, L., Luo, L. J., Xing, Y. X., Hu, C. J., Yang, L. T., Li, Y. R., & An, Q. (2014). Endophytic nitrogen-fixing *Klebsiella variicola* strain DX120E promotes sugarcane growth. *Biology and Fertility of Soils*, 50(4), 657–666. <https://doi.org/10.1007/s00374-013-0878-3>
- WHO. (2012). GLOBAL report on AM resistance. In *World Health Organization* (Vol. 33).
- Wu, T., Xu, J., Liu, J., Guo, W. H., Li, X. Bin, Xia, J. B., Xie, W. J., Yao, Z. G., Zhang, Y. M., & Wang, R. Q. (2019). Characterization and initial application of endophytic *Bacillus safensis* strain ZY16 for improving phytoremediation of oil-contaminated saline soils. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAY), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00991>
- Yang, F., Ding, F., Chen, H., He, M., Zhu, S., Ma, X., Jiang, L., & Li, H. (2018). DNA

Barcoding for the Identification and Authentication of Animal Species in Traditional Medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5160254>

Zhao, J., Shan, T., Mou, Y., & Zhou, L. (2011). Plant-Derived Bioactive Compounds Produced by Endophytic Fungi. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(2), 159–168. <https://doi.org/10.2174/138955711794519492>

Zhao, X., Shi, H., & Wang, Y. (2020). Characterization of Endophytes Isolated from *Eclipta prostrata* and Roles in Regulating the Gut Microbiota of C57BL/6J Mice. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 11(05), 166–187. <https://doi.org/10.4236/abb.2020.115014>

PROFIL PENULIS



Harmileni, M.Si., Lahir di Pesisir Selatan, 15 Juni 1985 dari Pasangan seorang ayah Darusman dan ibu Yurniati. Lulus S1 dan S2 di Program Studi Kimia FMIPA Universitas Andalas pada tahun 2008 dan 2010. Pernah bekerja menjadi guru di SMA Unggul CT Foundation tahun 2013 hingga tahun 2015 dan menjadi dosen tetap di Prodi Agroteknologi Universitas Prima Indonesia Medan hingga tahun 2017. Pada tahun 2018 mulai bergabung di Kementerian Perindustrian Republik Indonesia dengan penempatan di kampus Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan dan menjadi dosen tetap di program studi Teknik Kimia. Tahun 2020 diangkat menjadi Sekretaris Program Studi Teknik Kimia Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan hingga sekarang. Penulis mengampu mata kuliah Oleokimia dan Kimia Organik. Aktif menulis artikel di jurnal nasional dan internasional. Penulis juga sering memenangkan berbagai macam hibah penelitian dari Kemdikbud-DIKTI dan Kemenperin sejak 2016 hingga sekarang. Selain itu, penulis juga menjadi asesor kompetensi BNSP dan auditor SPMI PTKI Medan.



Dr. Gimelliya Saragih, M.Si., Lahir di Pekan Kamis Dolok Masihul, 07 Oktober 1976 dari Pasangan seorang ayah Samian Saragih dan ibu Ayurni. Lulus S2 dan S3 di Program Studi Kimia dan Ilmu Kimia FMIPA Universitas Sumatera Utara pada tahun 2014 dan 2020. Bekerja di Kementerian Perindustrian Republik Indonesia pada tahun 2003 dengan penempatan di kampus Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan dan menjadi dosen tetap di program studi Teknik Kimia. Tahun 2019 diangkat menjadi Sekretaris Unit Penelitian Pengabdian Masyarakat (UPPM) Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan hingga sekarang. Penulis mengampu mata kuliah Teknologi Bioproses, Oleokimia dan Kimia Polimer. Aktif menulis artikel di jurnal nasional dan internasional. Penulis juga sering memenangkan berbagai macam hibah penelitian Kemenperin sejak 2015 hingga sekarang dan sebagai anggota peneliti pada penelitian yang di danai Badan Pengelola Dana Perkebunan Kelapa Sawit (BPDPKS).



Dr. Tengku Rachmi Hidayani, M.Si., Lahir di Medan, 15 Maret 1988 dari Pasangan seorang ayah Tengku Syahril, SH dan ibu Dra. Nurtizar, Apt. Lulus S1 pada tahun 2010, , S2 pada tahun 2012 dan S3 pada tahun 2022 di Program Studi Ilmu Kimia FMIPA Universitas Sumatera Utara. Memulai karierr menjadi dosen di Fakultas Farmasi Universitas Tjut Nyak Dhien Medan pada tahun 2013, dan bergabung dengan Kementerian Perindustrian sebagai dosen PNS di Politeknik ATI Padang Program Studi Analisis Kimia dari tahun 2014-2018. Bergabung menjadi dosen di Politeknik Teknologi Kimia Medan Program Studi Agribisnis Kelapa Sawit dari tahun 2019-sekarang. Menjabat menjadi ketua program studi Agribisnis Kelapa Sawit periode 2020-2024, menjabat menjadi ketua Lembaga Sertifikasi Profesi PTKI Medan dari tahun 2020-sekarang. Selain itu, penulis juga menjadi asesor kompetensi BNSP dan auditor internal PTKI Medan. Fokus kegiatan tri dharma perguruan tinggi dalam roadmap pribadi adalah mengenai pengolahan kelapa sawit baik dari sisi kimia material, maupun sistem manajerial.



Meutia Mirnandaulia, MT., Lahir di Langsa, 23 April 1988 dari Pasangan Drs. Hasan Basri Pulungan S.Pd dan Ani Dalimunthe, M.Pd. Penulis meraih gelar Sarjana Teknik Kimia pada tahun 2011 dan Magister Teknik Kimia pada tahun 2017 di Universitas Sumatera Utara. Saat ini aktif sebagai dosen di Program Studi Agribisnis Kelapa Sawit Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan di bawah Kementerian Perindustrian. Tahun 2020 diangkat menjadi Sekretaris Program Studi Agribisnis Kelapa Sawit Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan hingga sekarang. Penulis mengampu mata kuliah Satuan Operasi, Laboratorium Pabrik Kelapa Sawit, Ekonomi Teknik dan Matematika. Penulis juga menjadi asesor kompetensi BNSP dan auditor internal PTKI Medan.



Prof. Dr. Chrismis Novalinda Ginting, M.Kes., AIFO, sebagai dosen tetap (Guru Besar), di Fakultas Keperawatan dan Kebidanan Universitas Prima Indonesia di Medan. Lahir di Tigapanah (Kab. Karo), 15 Desember 1978. Mendapatkan gelar Doktor di Universitas Andalas Padang pada tahun 2017, lulus Magister Kesehatan bidang ilmu Kesehatan Reproduksi di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada tahun 2004. Pada saat ini menjabat sebagai Rektor Universitas Prima Indonesia sejak tahun 2017. Mendapat sertifikat AIFO (Ahli Ilmu Faal Olahraga), pada tahun 2012. Sebagai Assesor Beban Kerja Dosen (BKD) di LLDIKTI wilayah I sejak tahun 2016. Aktif di organisasi APTISI (Assosiasi Perguruan Tinggi Swasta Indonesia), wilayah Indonesia sejak tahun 2016, sebagai Sekretaris HPTKes (Himpunan Perguruan Tinggi Kesehatan), wilayah I sejak tahun 2016. Mengampu mata kuliah Keluarga Berencana dan Kesehatan Reproduksi di program studi DIII Kebidanan dan S1 Kesehatan Masyarakat, Metodologi Penelitian di Program Studi S2 Kesehatan Masyarakat.



Edy Fachrial, M.Si., Lahir di Bengkulu, 21 Mei 1984 dari pasangan seorang ayah Mey Jumadi dan ibu Ely Afrida. Lulus S1 di Program Studi Kimia FMIPA Universitas Bengkulu pada tahun 2008. Kemudian bekerja di salah satu perusahaan bidang pembiayaan otomotif sebagai Marketing Head pada tahun 2009 hingga 2012. Pada tahun 2012 memutuskan untuk melanjutkan studi S2 di Universitas Andalas. Lulus S2 di Program Studi Kimia FMIPA Universitas Andalas tahun 2014. Saat ini bertugas sebagai dosen tetap pada Fakultas Kedokteran Universitas Prima Indonesia, sekaligus menjabat sebagai ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Prima Indonesia masa kerja 2017-sekarang. Pernah menjabat sebagai Koordinator Wilayah verifikator SINTA Sumatera Utara pada tahun 2018-2019. Mengampu mata kuliah Biokimia dan Metode Penelitian. Aktif menulis artikel di jurnal nasional terakreditasi dan jurnal internasional terindeks scopus. Penulis juga sering memenangkan berbagai macam hibah penelitian dari Kemdikbud DIKTI sejak 2016 hingga sekarang. Saat ini penulis sedang melanjutkan pendidikan S3 Ilmu Kimia di Universitas Riau.

ISBN 978-623-8299-09-6 (PDF)



9

786238

299096