SATERA
Jurnal Sains dan Teknik Terapan

Jurnal Sains dan Teknik Terapan
2024, vol. 2 (no.2), 70-77
p-ISSN: 3025-5740, e-ISSN: 3025-3551
https://journal.akom-bantaeng.ac.id/index.php/jstt
DOI:

(Review Article) Identification of Endophytic Bacteria by 16S rRNA Analysis

(Artikel Rev.) Identifikasi Bakteri Endofit dengan Analisis 16S rRNA

Elfira Jumrah[1*], Islawati[1], Subakir Salnus[1]
[1]Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Makassar, Indonesia
*e-Mail Corresponding Author: elfira.jumrah@unm.ac.id

ABSTRACT

16S rRNA analysis has been used for decades to identify and identify phylogenetic relationships for microorganisms, for instance bacteria. 16S rRNA analysis can identify at the genus and species level. One of the most frequently identified microorganisms using 16S rRNA analysis is endophytic bacteria. Endophytic bacteria have a symbiotic relationship with plants and can synthesis the same compounds as their hosts. The existence of endophytic bacteria benefits their hosts because it can protect plants against insects or pathogens and can help plant growth by producing plant growth regulator compounds, such as IAA, GA3, and cytokinins. In addition, some endophytic bacteria such as Bacillus Burkholderia Enterobacter species, and Staphylococcus sp have antibacterial, antioxidant and anticancer activity. Hence endophytic bacteria need to be identified molecularly. Literature studies show that endophytic bacteria have been successfully isolated from various plants such as *Bacillus cereus, Baicillus pumilus, Baicillus siamensis, Burkholderia Enterobacter,* and *Staphylococcus sp*. These endophytic bacteria have antibacterial activity, especially on pathogenic bacteria such as *Klebsiella pneumonia, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus,* and *Salmonella* sp.

***Keywords**: 16S rRNA analysis, endophytic bacteria, identification*

ABSTRAK

Analisis 16S rRNA telah digunakan beberapa dekade untuk mengidentifikasi dan menetapkan hubungan filogenetik mikroorganisme, misalnya bakteri. Analisis 16S rRNA dapat mengidentifikasi sampai pada tingkat genus dan spesies. Salah satu mikroorganisme yang paling banyak diidentifikasi menggunakan analisis 16S rRNA yaitu bakteri endofit. Bakteri endofit merupakan bakteri yang bersimbiosis dengan tanaman, yang mampu menghasilkan senyawa yang sama dengan inangnya. Keberadaan bakteri endofit menguntungkan inangnya karena dapat melindungi tanaman melawan serangga, atau patogen, serta mampu membantu pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan senyawa-senyawa zat pengatur tumbuh, seperti IAA, GA3, dan Sitokinin. Selain itu, beberapa bakteri endofit seperti spesies *Bacillus Burkholderia* Enterobacter, dan *Staphylococcus sp* memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan maupun antikanker. Oleh sebab itu, bakteri endofit begitu penting diidentifikasi molekulernya. Penelusuran literatur menunjukkan bakteri endofit berhasil diisolasi dari berbagai tumbuhan seperti *Bacillus cereus, Baicillus pumilus, Baicillus siamensis Burkholderia* Enterobacter, dan *Staphylococcus sp.* Bakteri endofit tersebut memiliki aktivitas antibakteri terutama pada bakteri patogen

.

Jumrah dkk
Jurusan Kimia, Universitas Negeri Makassar, Indonesia
E-mail: elfira.jumrah@unm.ac.id

Article History
Submitted: 28 Jul 2024
In Reviewed: 1 Aug 2024
Accepted: 28 Aug 2024
Published: 29 Aug 2024

seperti *Klebsiella pneumonia, Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus,* dan *Salmonella* sp.

***Kata kunci**:* Analisis *16S rRNA, Bakteri endofit, Identifikasi*

1. PENDAHULUAN

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit pada inangnya (Yamco et al., 2024). Senyawa bioaktif yang disintesis oleh endofit yang membantu tanaman inang untuk mengembangkan resistensi sistemik terhadap patogen. Bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman yang sehat dan berperan antara lain di dalam memacu pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan senyawa-senyawa zat pengatur tumbuh, seperti IAA, GA3, dan Sitokinin serta dapat menghasilkan metabolit sekunder yang mirip inangnya (Setiani et al., 2024).

Beberapa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, terpenoid, peptida, poliketon, flavonoid, kuinol, dan fenol yang memiliki peran penting dalam aplikasi terapeutik seperti agen antikanker, antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, dan imunosupresif yang dapat dihasilkan bakteri endofit (Singh et al, 2017). Mengestrak metabolit sekunder dari bakteri endofit lebih efektif dibandingkan mengekstrak secara langsung senyawa aktif pada tumbuhan (Amrullah & Zulkifli, 2022).

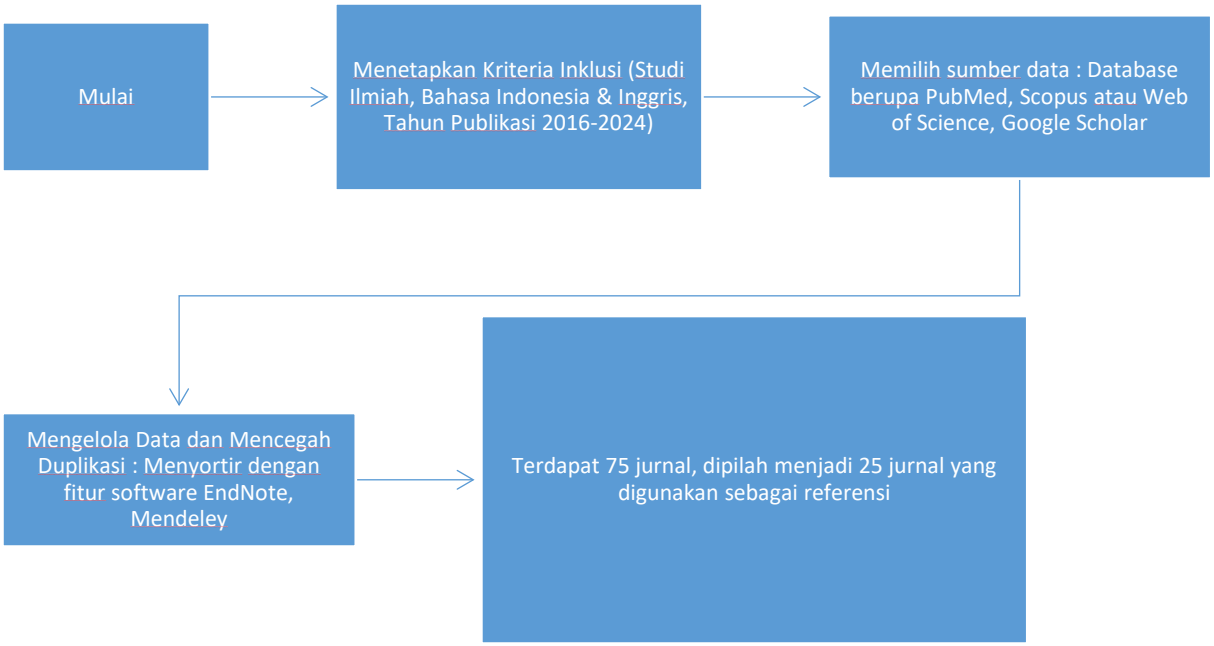
Bakteri endofit dari *Piper betel* L. berdasarkan analisis molekuler menunjukkan jenis bakeri endofit *Bacillus siamensis* yang memiliki aktivitas antibakeri terhadap *Staphylococcus aureus* (Sartika et al. 2023). Bakteri jenis *Eterobacter cloacae* yang diisolasi dari mangrove Buta-buta (*E. agallocha*) diketahui dapat menghasilkan enzim L-asparaginase. L-asparaginase yang mempunyai manfaat utama dalam bidang farmasi dan industri pangan (Prihanto et al., 2019).

Identifikasi bakteri endofit menjadi penting karena memiliki potensi sebagai penghasil senyawa bioaktif. Salah satu metode identifikasi bakteri endofit yang paling umum digunakan adalah dengan menggunakan penanda gen 16S rRNA. Panjang urutan gen 16S rRNA adalah sekitar 1.550 bp dan terdiri dari daerah yang dilestarikan (*conserved regions*). Gen 16S rRNA memiliki region yang sangat bervariasi dan berbeda setiap spesies bakteri. Beberapa keuntungan dalam identifikasi menggunakan 16S rRNA adalah dapat mengidentifikasi bakteri yang tidak dapat dikultur, memiliki tingkat akurasi yang tinggi, waktu yang dibutuhkan relatif cepat (Noer, 2021). Metode 16S rRNA dapat mengidentifikasi sampai pada tingkat genus dan spesies. Penggunaannya sebagai perangkat penelitian, gen 16S rRNA telah banyak membantu dalam proses identifikasi berbagai jenis bakteri secara akurat untuk berbagai penelitian di Indonesia. Gen 16S rRNA tidak hanya dapat mengidentifikasi tetapi dapat dijadikan arahan dalam mengetahui potensi suatu bakteri. Identifikasi urutan basa gen 16S rRNA telah digunakan secara luas untuk penelitian di bidang klinis, perikanan, kelautan, pertanian dan peternakan di Indonesia (Akihary & Kolondam, 2020)

.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Metodologi penelitian yang digunakan berupa studi pustaka. Berikut strategi seleksi data:



3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi senyawa aktif atau bioaktif dari tumbuhan memerlukan banyak sampel bahan oleh karena itu dibutuhkan alternatif lain yang dapat menghasilkan senyawa aktif dalam waktu yang relatif cepat. Salah satunya adalah memanfaatkan mikroorganisme endofit baik dalam bentuk bakteri maupun jamur (Rumalolas et al. 2024).

Bakteri endofit merupakan bakteri yang bersimbiosis dengan tanaman dan sebagian dari siklus hidupnya di dalam tanaman dan tidak mengakibatkan gejala tertentu pada tanaman inangnya. Keberadaan endofit menguntungkan inangnya karena dapat melindungi tanaman melawan serangga, atau patogen, serta mampu membantu pertumbuhan tanaman serta menghasilkan senyawa bioaktif (Rahmaniah et al. 2022). Seperti bakteri endofit yang berasal dari daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) (Hamtini, et al. 2024) dan Andaliman (*Zancthoxylum acanthopodium* DC.) (Rizqoh, et al. 2024) yang memiliki aktivitas antibakeri terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Bakteri endofit berhasil diisolasi dari daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan berdasarkan analisis secara molekuler dengan 16S rRNA menunjukkan isolat IRV3 adalah *Staphylococcus sp.* Analisis GC-MS isolate IRV3 *Staphylococcus sp* menghasilkan pirazin sebagai senyawa dominan, yang telah dikenal sebagai senyawa

bioaktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Sogandi et al., 2022). Penelitian Pudjas et al. (2022), menunjukkan Bakteri endofit *Bacillus siamensis* HMB1 dan kultur *Bacillus aryabhattai* HMD4 dari *Hoya multiflora* memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} (51.18 mg/ml) yang berdasarkan uji LC-MS terdeteksi senyawa piridoksamin. Selain itu, penelitian Janatigrum et al. (2021) mengungkapkan bahwa terdapat 31 isolat bakteri endofit yang diisolasi pada sirsak yang diperoleh dari berbagai daerah seperti Cianjur, Garut dan Sukabumi. Salah satu isolat G42 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri pathogen *Pseudomonas aeroginosa, Escherichia coli, Staphylococcus mutans,* dan *Streptococcus aureus*.

Analisis 16S rRNA telah digunakan beberapa dekade untuk mengidentifikasi dan menetapkan hubungan filogenetik dengan memanfaatkan urutan asam nukleat gen dan dapat mengidentifikasi dari tingkat genus hingga spesies (Church et al, 2020). Pengurutan gen 16S rRNA, biasa digunakan untuk identifikasi bakteri, klasifikasi dan kuantisasi, melibatkan hibridisasi penanda genetik subunit ribosom kecil urutan secara universal di semua bakteri. Perbandingan urutan gen bakteri 16S rRNA telah muncul sebagai teknik genetik yang disukai dibandingkan dengan identifikasi fenotipik bakteri berdasarkan morfologi sel, reaksi gram, morfologi koloni, uji katalase, uji sporulasi, produksi gas dari glukosa, dan lainnya (Faniyan et al. 2023). Gen 16S rRNA memiliki region yang sangat bervariasi dan berbeda setiap spesies bakteri. Penggunaannya sebagai perangkat penelitian, gen 16S rRNA telah banyak membantu dalam proses identifikasi berbagai jenis bakteri secara akurat untuk berbagai penelitian di Indonesia. Gen 16S rRNA tidak hanya dapat mengidentifikasi tetapi dapat dijadikan arahan dalam mengetahui potensi suatu bakteri. Sekuensing gen 16S rRNA telah digunakan secara luas untuk penelitian di bidang klinis, perikanan, kelautan, pertanian dan peternakan di Indonesia.

Analisis bakteri endofit dengan sekuen gen 16S rRNA dilakukan dengan menganalisis similaritas dengan bakteri referensi yang terdapat pada GenBank menggunakan aplikasi BLASTn (Basic Local Alignment Search Tools for nucleotide) pada NCBI, dilanjutkan analisis matriks jarak genetik dengan menggunakan pendekatan metode p-distance, dan rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan aplikasi Mega 6 dengan metode maximum-likelihood (Syah, 2022).

Identifikasi bakteri endofit dengan menggunakan analisis 16S rRNA telah banyak dikembangkan, hasil penelusuran ditunjukkan pada table 1.

Tabel 1. Jenis-jenis bakteri endofit hasil analisis 16S rRNA

No	Bakteri endofit	Asal	Aktivitas	Pustaka
1	*Bacillus amyloliquefaciens* DSM7, *Burkholderia gladioli* BSR3*, Burkholderia cenocepacia* J2315	*Alpinia purpuruta*	*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*	(Jumrah, 2016)
2	*Bacillus cereus, Bacillus sp., Bacillus cereus*	*Carica papaya*	*Escherichia coli*	(Irwandi, et al. 2023)

.

3	*Pantoea wallisii*	*Annona muricata* L	*Pseudomonas aeroginosa, Escherichia coli, Staphylococcus mutans,* dan *Streptococcus aureus*	(Janatimigrum, et al. 2021)
4	*Enterobacter cloacae*	*Excoecaria agallocha*	Menghasilkan Enzim L-asparaginase	(Prihanto et al. 2019)
5	*Bacillus cereus*	Spons *Stylissa sp*	*Escherchia coli dan Staphylococcus aureus*	(Kandio et al. 2021)
6	*Staphylococcus sp*	*Syzygium aromaticum L.*	Menghasilkan Senyawa pirazin	(Sogandi et al., 2022)
7	*Enterobacter cloacae*	*Mangifera casturi Kosterm*	*Escherichia coli, Salmonella typhi, Staphylococcus aureus, dan Pseudomonas aeruginosa.*	(Suhendar, et al. 2021)
8	*Baicillus pumilus, Bacillus cereus JL*	*Piper crocatum*	*Escherchia coli, K. pneumoniae* dan *Staphylococcus aureus*	(Amrullah & Zulkifli, 2022)
9	*Baicillus siamensis*	*Piper betle* L	*Staphylococcus aureus*	(Sartika, et al. 2023)
10	*Enterobacter ronggenkampii*	*Musa Balbisiana Colla*	*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*	Lakoro, et al. 2023)
11	*Kodamaea ohmeristrain* CBS 5367 dan *Bacillus cereusstrain* D21	*Ficus carica* L.	*Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumonia, Staphylococcus ludgunensis*	(Venita & Gultom, 2023)
12	*Bacillus cerreus* Strain MS54	*Arcangelisia flava* (L.) Merr	*Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*	(Sipriyadi, et al, 2021)

.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelusuran literatur menunjukkan bahwa bakteri endofit dapat diisolasi dan diidentifikasi dari berbagai tanaman dan memiliki berbagai potensi antibakteri. Seperti bakteri endofit spesies *Baicillus* yang berasal dari *Alpinia purpuruta Carica papaya, Spons Stylissa Piper crocatum, Piper betle*, *Arcangelisia flava* yang memiliki aktivitas antibakteri. *Burkholderia* dari *Alpinia purpuruta, Kodamaea ohmeristrain* dari *Ficus carica*, *Pantoea wallisii* dari *Annona muricata, Enterobacter* dari *Mangifera casturi Kosterm* dan *Musa Balbisiana Colla* memiliki aktivitas antibakteri. *Enterobacter cloacae* dari *Excoecaria agallocha* Menghasilkan Enzim L-asparaginase. *Staphylococcus sp* dari *Syzygium aromaticum L* Menghasilkan Senyawa pirazin.

Dengan analisis 16S rRNA bakteri endofit potensial dapat diidentifikasi dan ditentukan kedekatan filogenetik. Sehingga dimasa mendatang akan menjadi salah satu sumber senyawa bioaktif potensial.

REFERENSI

Akihary, C. V., Kolondam, B. J. (2020). Pemanfaatan Gen 16S rRNA sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri untuk Penelitian-Penelitian Di Indonesia. PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi, 9(1), 16-22

Amrulllah, L. W. Z., Zulkifli, L. (2022). DNA Barcoding of Endophytic Bacteria from The Stems of Tissue Piper crocatum and Activity Anti-Bacterial Properties. *Jurnal Biologi Tropis*, 22 (3), 1080 –1091 DOI: http://dx.doi.org/10.29303/jbt.v22i4.4299

Church, D. L., Cerutti, L., Gürtler, A., Griener, T., Zelazny, A., & Emler, S. (2020). *Performance and Application of 16S rRNA Gene Cycle Sequencing for Routine Identification of Bacteria in the Clinical Microbiology Laboratory. Clinical Microbiology Reviews, 33(4).* doi:10.1128/cmr.00053-19

Faniyan, O., Akpe, V., Cock, I. E. (2023). Analyzing Bacterial Species from Different Environments Using Direct 16S rRNA Gene Sequencing Methods. *Pharmacognosy Communications*, 13(1), 24-33

Hamtini, Anliza, S., Shufiyani, Nuraini I., Afriani, R. (2024). Uji Daya Hambat Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Daun Namnam (Cynometra cauliflora L.) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Jurnal Farmasi Higea*, 16, (1), 1-5

Irwandi, Azyenela, L., Sari, H. P., Wardi, E. S., & Sartika D. (2023). Isolasi dan identifikasi dengan gen 16s rRNA bakteri endofit dari tanaman pepaya (Carica papaya L.) serta uji aktivitas antibakterinya. Journal of Pharmaceutical and Sciences, 6(3), 1068-1078

Janatinigrum, I., Hasan, A. E. Z, Riyanti, E. I. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Daun Sirsak Annona Muricata L. dan Aktivitas Antibakterinya terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal,* 3(2), 75 – 82

Jumrah, E. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Potensial Lengkuas Merah (*Alpinia purpuruta*) dan Analisis Senyawa Antibakterinya. Institut Pertanian Bogor.

https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/80939?show=full

Kandio, E. F., Yudistira, A., Runtuwene, J. M. R. (2021). Isolasi Bakteri Endofit Simbion Dari Spons Stylissa Sp Dan Uji Aktivitas Antibakteri Serta Identifikasi Secara Molekuler Menggunakan Gen 16S rRNA. PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi, 10(1), 649-654

Lakoro, S. U., Retnowati, Y., Uno, W. D., Kumaji, S., Hasan, A. M., Nusantari, E. (2023). Endophytic Bacteria Producing Antimicrobial Compounds of *Musa balbisiana Colla*. E3S Web of Conferences 400, 02011. https://doi.org/10.1051/e3sconf/202340002011

Noer, S. (2021). Identifikasi Bakteri secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. EduBiologia, 1 (1), 1-6.

Pudjas, N. T. G., Mubarik N. R., Astuti R. I., & Sudirman, L. I. (2022). Antioxidant Activity of Endophytic Bacteria Derived from Hoya multiflora Blume Plant and Their Cellular Activities on Schizosaccharomyces pombe. HAYATI Journal of Biosciences, 23 (2), 214-221. DOI:10.4308/hjb.29.2.214-221

Prihanto, A. A., Ardiansyah, R. F., Pradarameswari, K. A. (2019). Molecular Identification of L-asparaginase-Producing Endophytic Bacteria Isolated from Mangrove Buta-Buta (*Excoecaria agallocha*). *JPB Kelautan dan Perikanan*, 14 (1), 29-34. DOI : http://dx.doi.org/10.15578/jpbkp.v14i1.577

Rahmaniah, Astuti, W., & Ruga, R. (2022). Skrining Bakteri Endofit Pengahasil Amilase, Lipase dan Protease dari daun Syzygium myrtifolium. Jurnal Atomik, 07(2), 6-9

Rumalolas, M., Kotala, S., & Alliffah, AF. A. N. (2024). Antibacterial Activity of Endophytic Fungi Isolated from Pulai Leaves (Alstonia scholaris*). Jurnal Biologi Tropis*, 24 (1): 85 – 91. http://dx.doi.org/10.29303/jbt.v24i1.6370

Rizqoh, D. Amelia, A. Kumala, W. O., Sipriyadi, Suryani, U. H., Sariyanti, M. (2024). Novel Endophytic Bacteria Isolates from Andaliman (*Zancthoxylum acanthopodium* DC.) which Potentially Inhibit *Escherichia coli and Staphylococcus aureus*. Journal of Biomedicine and Translational Research, 10 (1), 26-34. DOI: https://doi.org/10.14710/jbtr.v10i1.21740

Setiani, N. A., Zahraeni R., Hasanah S. U. (2024). Isolation and identification of endophytic bacteria from kumis kucing leaves (*Orthosiphon aristatus Benth*.). *Journal of Tropical Biology*, 12 (1), 1-7

Sartika, D., Irwandi, Novelni, R., Alena, M. (2023). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Dengan menggunakan Gen 16S rRNA Serta Uji Aktivitas Antibakterinya. Jurnal Kesehatan Medika Saintika, 14(2), 394-405. DOI: http://dx.doi.org/10.30633/jkms.v14i2.2053

Sogandi, Irviyani, Suhendar U. (2022). Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L) dan Mekanisme Aksinya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Sains Natural,* 12 (1), 27 – 35. https://doi.org/10.31938/jsn.v12i1.326

Suhendar, U. Mahyuni, S. Sogandi. (2021). Identifikasi molekuler isolat bakteri endofit daun mangga kasturi (Mangifera casturi Kosterm) dan analisis aktivitas antibakteri. *Jurnal Sains Natural*, 11 (1) 24–29.

.

https://doi.org/10.31938/jsn.v11i1.294

Sipriyadi, W. R. H., Darwis, W., Siboro, R., Yudha, S. P. (2021). Antibacterial Activities of Endophytic Bacteria Isolate AKEBG28 from Yellow Root Plant (Arcangelisia flava (L.) Merr) Against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *Advances in Biological Sciences Research*, 14(1), 509-514

Singh, M., Kumar, A., Singh, R., Pandey, K. D. (2017). Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. 3 Biotech, 7(315), DOI 10.1007/s13205-017-0942-z

Syah, M.A. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Molekuler Gen 16S rRNA Bakteri Lipolitik Asal Limbah Kulit Biji Jambu Mete. Jurnal Sumberdaya HAYATI, 8(1) 20-26.

Venita & Gultom, E. S. (2023). Identification of Endophyte in Figs Fruit (Ficus carica L.) Potentially as Antibacterial with 16s rRNA Marking Gene. *Proceeding International Conference on Religion, Science and Education*, 2, 801-809

Yamco, F., Massora, M., Mogea, R. A., Ruimassa, R. M. R., Mogea, R. A. R. (2024). Analisis Molekuler Bakteri Endofit SH 14 dari Mangrove Scyphiphora hydrophyllacea Pantai Rendani. *CASSOWARY*, 7(2), 85–92