

POTENSI KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT DARI *Excoecaria agallocha* SEBAGAI SUMBER ENZIM HIDROLITIK UNTUK APLIKASI BIOTEKNOLOGI INDUSTRI

Ruth Natalia Siagian, Eko Prasetya

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Medan
Jl. Willem Iskandar Psr. V Medan Estate, Medan, Indonesia, 20221
Email Korespondensi: eko.prasetya@unimed.ac.id

Abstract

Kebutuhan akan enzim hidrolitik yang memiliki ketahanan tinggi dan efisiensi optimal terus meningkat dalam industri bioteknologi modern. Salah satu sumber potensial untuk menemukan enzim baru tersebut adalah bakteri endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman mangrove *Excoecaria agallocha*, yang memiliki lingkungan internal dengan karakteristik kimiawi khas. Penelitian ini untuk pertama kalinya berfokus pada eksplorasi keragaman komunitas bakteri endofit pada daun *E. agallocha* sebagai sumber potensial penghasil enzim hidrolitik. Melalui pendekatan metagenomik dengan teknologi *Oxford Nanopore Technologies* (ONT) 16S Full-Length Metagenomic Sequencing, dilakukan pemetaan taksonomi komunitas bakteri secara menyeluruh. Hasil analisis menunjukkan tingginya keanekaragaman bakteri endofit, dengan dominasi beberapa genera yang dikenal berperan penting dalam produksi enzim industri, antara lain *Cytobacillus*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Vibrio*. Ditemukannya pula bakteri yang umumnya berasosiasi dengan lingkungan laut seperti *Pseudoalteromonas* dan *Alteromonas*, yang menunjukkan kemampuan adaptasi terhadap kondisi salinitas tinggi. Sebagian besar taksa yang teridentifikasi memiliki kekerabatan dekat dengan strain penghasil berbagai enzim hidrolitik, termasuk amilase, selulase, protease, dan lipase, yang berperan penting dalam proses kolonisasi jaringan inang. Temuan ini memperkuat bahwa komunitas bakteri endofit pada *E. agallocha* merupakan sumber daya biologis yang kaya dan belum banyak dimanfaatkan sebagai reservoir biokatalis baru yang berpotensi aktif serta stabil pada kondisi ekstrem. Dengan demikian, penelitian ini memberikan landasan penting bagi upaya lanjutan dalam isolasi dan karakterisasi enzim bernilai industri dari sumber hayati unik tersebut.

Keywords:

Bakteri endofit, Excoecaria agallocha, Enzim hidrolitik, Metagenomik, Bioprospeksi

Pendahuluan

Perkembangan bioteknologi modern saat ini semakin diarahkan oleh kebutuhan global terhadap efisiensi dan keberlanjutan dalam sistem ekonomi berbasis bio. Dalam konteks tersebut, enzim industri telah menjadi salah satu pilar utama bioekonomi dunia dengan pertumbuhan pasar yang signifikan. Nilai pasar global enzim diproyeksikan meningkat dari sekitar 8 miliar dolar AS pada tahun 2024 menjadi lebih dari 16 miliar dolar AS pada tahun 2034, dengan laju pertumbuhan tahunan sekitar 7% (Precedence Research, 2025). Pertumbuhan ini mencerminkan ketergantungan industri terhadap biokatalis yang mampu meningkatkan efisiensi proses dan mengurangi dampak lingkungan (Towards F&B, 2025).

Peningkatan permintaan terhadap enzim industri tidak terlepas dari perubahan paradigma menuju manufaktur yang ramah lingkungan dan kebutuhan akan proses yang hemat energi. Konsumen kini semakin memilih produk dengan label ramah lingkungan (*clean label*) yang

menggunakan proses biologis dibandingkan metode kimia konvensional (Palit et al., 2022). Enzim, sebagai biokatalis alami, menawarkan keunggulan melalui kemampuannya bekerja efektif pada suhu dan pH moderat sehingga menekan konsumsi energi serta emisi limbah berbahaya (Rigoldi et al., 2018). Dorongan global terhadap transisi energi hijau juga memperluas pasar enzim, khususnya untuk kelas enzim seperti selulase dan xilanase yang berperan penting dalam produksi bioetanol dan bioproses konversi biomassa lignoselulosa menjadi gula fermentatif (IMARC Group, 2025).

Dari berbagai kelas enzim industri, enzim hidrolitik atau hidrolase merupakan kelompok terbesar dan paling dominan secara komersial, mencakup lebih dari 75% total enzim yang digunakan di sektor industri (Rigoldi et al., 2018). Enzim ini meliputi karbohidrase seperti amilase, selulase, dan xilanase, serta protease yang berperan luas pada industri makanan, tekstil, kertas, hingga deterjen (Grand View Research, 2025). Misalnya, amilase berfungsi penting dalam likuifaksi pati pada pembuatan sirup dan roti, sedangkan xilanase dan selulase digunakan dalam peningkatan mutu produk minuman, pemrosesan pulp, serta pengolahan serat alami (Chukwuma et al., 2020). Di sisi lain, protease merupakan komponen utama deterjen dan berperan dalam pelunakan daging serta pengembangan cita rasa pada industri pangan (Pandit, 2024).

Namun, kebutuhan industri tidak hanya sekadar ketersediaan enzim, melainkan juga stabilitas dan aktivitasnya pada kondisi ekstrem. Banyak proses industri berlangsung pada suhu tinggi, pH ekstrem, salinitas tinggi, atau keberadaan inhibitor kimiawi yang dapat menghambat kinerja enzim (Siddikey, 2025). Oleh karena itu, muncul urgensi untuk menemukan “ekstremozim”, yaitu enzim dengan ketahanan dan aktivitas tinggi di bawah kondisi keras. Enzim termostabil memiliki nilai tinggi karena mampu meningkatkan kelarutan substrat, mempercepat hidrolisis, serta menekan risiko kontaminasi mikroba selama fermentasi skala besar (Rigoldi et al., 2018). Penemuan mikroorganisme yang mampu menghasilkan lebih dari satu jenis enzim hidrolitik yang kuat sekaligus menjadi fokus riset bioteknologi modern karena menawarkan efisiensi dan kelayakan ekonomi yang lebih tinggi (Chukwuma et al., 2020).

Mikroorganisme telah lama dikenal sebagai sumber utama enzim industri karena efisiensi produksinya. Lebih dari 80% enzim industri saat ini berasal dari mikroba, terutama dari genus *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Bacillus*, dan *Streptomyces* (Grand View Research, 2025). Produksi enzim berbasis mikroba lebih ekonomis dan ramah lingkungan dibandingkan sumber hewani atau nabati, karena proses fermentasi mikroba dapat berlangsung cepat, murah, dan konsisten (Pandit, 2024). Sementara sumber hewani atau tumbuhan kerap menghadapi kendala ketersediaan dan biaya pemurnian yang tinggi, fermentasi mikroba memungkinkan kontrol produksi secara presisi dan berkelanjutan (Towards F&B, 2025).

Selain itu, mikroorganisme memiliki keunggulan fisiologis berupa kemampuan menghasilkan enzim yang aktif dalam rentang suhu, pH, dan salinitas ekstrem (Pandit, 2024). Beberapa bakteri penghasil xilanase bahkan menunjukkan kestabilan lebih tinggi dibandingkan jamur, menjadikannya ideal untuk aplikasi pada suhu tinggi (Chukwuma et al., 2020). Di samping itu, mikroba mudah direkayasa secara genetik, memungkinkan peningkatan ekspresi gen pengkode enzim tertentu atau penggabungan sifat fungsional baru seperti termostabilitas dan spesifisitas substrat (Rigoldi et al., 2018). Kemudahan manipulasi genetik ini menjadikan mikroorganisme sebagai “pabrik seluler” yang ideal bagi pengembangan bioteknologi industri.

Dalam upaya eksplorasi sumber baru enzim, fokus penelitian kini beralih ke lingkungan ekstrem atau habitat unik yang belum banyak dijelajahi, salah satunya adalah ekosistem mangrove (Paul, Siddiqua, & Tayung, 2023). Ekosistem ini dikenal sebagai zona transisi antara darat dan laut dengan kondisi fisik yang keras dan dinamis, seperti salinitas tinggi, fluktuasi pasang surut, hipoksia, dan tekanan osmotik ekstrem (Smithsonian Ocean Portal, 2023; Palit et al., 2022). Kondisi tersebut memaksa mikroorganisme yang hidup di dalamnya beradaptasi dengan strategi metabolik dan

enzimatik yang unik (Hickman, 2024). Proses adaptasi inilah yang diyakini memunculkan enzim baru yang tahan terhadap salinitas dan variasi pH, serta mampu bekerja pada suhu ekstrem karakteristik yang sangat diinginkan oleh industri (Chukwuma et al., 2020).

Secara khusus, komunitas mikroba endofit yang hidup di dalam jaringan tumbuhan mangrove menjadi target bioprospeksi yang menjanjikan. Endofit adalah mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tanaman sehat tanpa menyebabkan penyakit, serta membentuk hubungan simbiotik yang saling menguntungkan (Santos et al., 2018). Tumbuhan menyediakan lingkungan yang stabil dan kaya nutrisi, sementara endofit membantu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap stres biotik maupun abiotik (Wu et al., 2021). Proses kolonisasi jaringan inang sering dimediasi oleh produksi enzim hidrolitik seperti selulase, pektinase, dan protease, yang membantu mikroba menembus dinding sel tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa enzim yang berperan dalam interaksi ekologis endofit juga memiliki relevansi langsung dengan aplikasi industri.

Spesies *Excoecaria agallocha*, yang dikenal sebagai mangrove buta-buta, merupakan salah satu tumbuhan mangrove yang menarik untuk dieksplorasi (Kaliampurhti & Selvaraj, 2016). Tumbuhan ini menghasilkan getah susu beracun yang kaya senyawa antimikroba seperti terpenoid, polifenol, dan flavonoid (Mondal, Ghosh, & Ramakrishna, 2016). Lingkungan internalnya yang kimiawinya “bermusuhan” menciptakan tekanan seleksi ganda bagi mikroorganisme yang berusaha berkolonisasi, sehingga hanya endofit dengan kemampuan detoksifikasi dan ketahanan tinggi yang dapat bertahan (Palit et al., 2022). Kondisi selektif ini menjadikan komunitas endofit pada *E. agallocha* sebagai sumber potensial bagi penemuan enzim-enzim baru yang kuat dan stabil untuk aplikasi industri (Okpara, 2022).

Namun, eksplorasi komunitas endofit secara komprehensif seringkali terhambat oleh keterbatasan teknik kultivasi. Metode kultur konvensional hanya mampu menumbuhkan sebagian kecil mikroorganisme yang ada di alam, umumnya kurang dari 2% total populasi mikroba (Wu et al., 2021). Oleh karena itu, pendekatan metagenomik berbasis sekuensing 16S rRNA menjadi solusi strategis untuk mengungkap keanekaragaman mikroba, termasuk yang tidak dapat dikulturkan. Teknologi sekuensing generasi ketiga seperti Oxford Nanopore Technologies (ONT) memberikan keunggulan dengan kemampuan membaca urutan gen penuh (1,5 kb) dari daerah V1–V9 sehingga memungkinkan identifikasi hingga tingkat spesies (Oxford Nanopore Technologies, 2025). Akurasi tinggi dari ONT, khususnya pada versi *flow cell* R10.4.1, telah mencapai lebih dari 99%, menjadikannya metode ideal untuk karakterisasi taksonomi resolusi tinggi dan penemuan spesies baru.

Dengan demikian, eksplorasi komunitas bakteri endofit pada daun *Excoecaria agallocha* melalui pendekatan metagenomik berbasis ONT berpotensi menghasilkan pemahaman baru mengenai keanekaragaman mikroba dan penemuan kandidat enzim hidrolitik yang bernilai industri. Pendekatan ini tidak hanya memperluas wawasan tentang ekologi mikroba di ekosistem mangrove, tetapi juga memberikan kontribusi terhadap pengembangan bioteknologi berkelanjutan dan penciptaan inovasi bioindustri yang lebih efisien serta ramah lingkungan.

Metode Penelitian

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *Sonneratia alba*, ethanol 70%, NaClO (12,5%), aquades steril, media NA, Zymobiomics DNA miniprep KIT, ZR BashingBead™ Lysis Tubes, DNA/RNA shield, ZymoBIOMICSTM DNA Binding Buffer, DNA Wash Buffer, ZymoBIOMICSTM HRC Prep Solution, primer 16S (27F-1492R), ice gel.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikropipet 200 μ l, microtube, microtip, microsentrifuge 1.5 ml, timbangan analitik, Laminar Air Flow, autoklaf, gelas beaker, Oxford Nanopore Technologies (ONT), coolbox, sentrifuge, filter Zymo-Spin™ III-F, collection tube, column tube, spuit 1 ml, aluminium foil, plastik wrap, mortal dan alu, gunting, sarung tangan, masker, plastik ziplock, alat tulis, kertas label dan kamera.

Sampel daun mangrove *Excoecaria agallocha* yang digunakan berjumlah sepuluh helai daun muda pada posisi ketiga hingga kelima dari pucuk. Daun disimpan dalam coolbox dan dibawa ke laboratorium untuk tahap isolasi DNA. Sebelum proses isolasi, daun dicuci dengan air mengalir, kemudian disterilisasi menggunakan etanol 70% selama dua menit dan larutan natrium hipoklorit selama satu menit, dilanjutkan pencucian lima kali dengan akuades steril. Sterilitas sampel diuji dengan menginokulasikan akuades ke media NA; daun dinyatakan steril jika tidak ada pertumbuhan koloni. Setelah steril, daun dihaluskan dan ditimbang hingga mencapai berat 100 mg.

Proses isolasi dan ekstraksi DNA dilakukan menggunakan ZR BashingBead™ Lysis Tubes dan ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit. Sampel dicampur dengan larutan lisis, disentrifugasi beberapa kali untuk memisahkan supernatan, dan difiltrasi melalui berbagai kolom Zymo-Spin™. DNA kemudian dicuci bertahap menggunakan DNA Wash Buffer dan dielusi dengan air bebas DNase/RNase. Hasil elusi DNA dimurnikan kembali menggunakan Zymo-Spin™ III-HRC Filter untuk memperoleh DNA berkualitas tinggi yang siap digunakan pada tahap analisis berikutnya.

Analisis Sampel

Analisis metagenomik terhadap DNA bakteri endofit dilakukan oleh PT Genetika Science, Jakarta, menggunakan instrumen Oxford Nanopore Technology. Tahapan pengurutan menargetkan gen 16S rRNA, khususnya wilayah V1–V9, dengan primer spesifik 27F dan 1492R. Data hasil amplifikasi gen 16S rRNA region V1–V9 dianalisis menggunakan Phusion Plus PCR Master Mix dan Oxford Nanopore Technologies 16S Full Length Metagenomic Sequencing Bioinformatics Analysis. Selanjutnya, prediksi keberadaan bakteri gelatinolitik pada daun *Excoecaria agallocha* diperdalam melalui studi literatur.

Hasil dan Pembahasan

Metagenomik merupakan pendekatan analisis berbasis sekuensing DNA lingkungan yang digunakan untuk mengidentifikasi keseluruhan komunitas mikroorganisme secara langsung tanpa perlu proses isolasi atau kultivasi konvensional (Galloway-Peña & Hanson, 2020). Pendekatan ini memungkinkan peneliti memperoleh gambaran menyeluruh tentang komposisi, keragaman, dan potensi fungsional mikroba pada suatu habitat, termasuk organisme yang sulit atau tidak dapat ditumbuhkan secara *in vitro*. Dalam penelitian terhadap daun *Excoecaria agallocha*, metode metagenomik digunakan untuk menelusuri komunitas bakteri endofit yang berperan dalam aktivitas bioteknologi, terutama dalam produksi enzim hidrolitik yang relevan bagi industri.

Proses kerja metagenomik diawali dengan isolasi DNA total dari jaringan daun *E. agallocha* menggunakan kit isolasi genomik berkemurnian tinggi yang memastikan rasio A260/280 antara 1,7–1,9 sebagai indikator kualitas DNA yang baik. DNA murni kemudian diamplifikasi menggunakan primer universal 27F–1492R yang menargetkan gen 16S rRNA penuh (daerah variabel V1–V9), untuk memperoleh representasi genetik yang komprehensif dari komunitas bakteri (Jin, Liu, & Shiroguchi, 2024). Produk PCR hasil amplifikasi selanjutnya dimurnikan dan disiapkan menjadi pustaka (*library preparation*) menggunakan *Native Barcoding Kit* dari Oxford Nanopore Technologies. Sistem ini dipilih

karena kemampuannya menghasilkan pembacaan sekuens panjang (>1400 bp) yang memungkinkan resolusi taksonomi hingga tingkat spesies, yang sulit dicapai oleh platform berbasis Illumina yang hanya membaca fragmen pendek (Matsuo et al., 2021).

Sekuensing dilakukan pada platform GridION dengan sistem *live basecalling* Dorado berakurasi tinggi. Data mentah (*raw reads*) kemudian melewati tahap trimming adaptor dan penyaringan kualitas menggunakan Nanofilt dengan ambang Q-score >9 untuk memastikan reliabilitas hasil. Selanjutnya, sekuens bersih diklasifikasikan secara taksonomi menggunakan algoritme BLASTn terhadap basis data NCBI 16S ribosomal RNA, dengan ambang kemiripan $\geq 97,5\%$ sebagai batas identifikasi tingkat spesies (Matsuo et al., 2021). Hasil klasifikasi divisualisasikan dalam bentuk Krona plot dan Sankey diagram untuk menggambarkan hubungan hierarkis antar takson, sedangkan analisis keanekaragaman alfa dan beta digunakan untuk menilai kompleksitas dan homogenitas komunitas (National Institute of Environmental Health Sciences, 2024).

Sebanyak 5 genus utama teridentifikasi sebagai anggota endofit dominan, yaitu *Cytobacillus firmus* (13,24%), *Pantoea dispersa* (6,76%), *Bacillus altitudinis* (2,94%), *Vibrio alginolyticus* (2,06%), dan *Pseudoalteromonas spongiae* (2,65%). Proporsi tersebut mencerminkan keseimbangan ekologi antara bakteri tanah, endofit adaptif, dan mikroba laut yang mampu bertahan di jaringan tumbuhan mangrove.

Dominasi *Cytobacillus firmus* dalam komunitas endofit menunjukkan kapasitas adaptasi tinggi genus ini terhadap kondisi daun mangrove yang bersalinasi tinggi. *C. firmus* dikenal sebagai produsen enzim hidrolitik seperti selulase dan protease dengan stabilitas luar biasa pada kondisi alkali (Wang et al., 2018). Dalam lingkungan daun *E. agallocha* yang terpapar garam dan senyawa fenolik, kemampuan ini memungkinkan *Cytobacillus* untuk mendekomposisi senyawa organik kompleks dan berkontribusi terhadap sirkulasi karbon internal tanaman. Aktivitas enzimatikanya juga berpotensi mendukung detoksifikasi metabolit sekunder tanaman dan mempertahankan keseimbangan fisiologis inang. Enzim dari *C. firmus* diketahui tahan terhadap surfaktan dan suhu tinggi, menjadikannya kandidat kuat untuk aplikasi pada industri deterjen dan pengolahan limbah tekstil (Henagamage, 2022).

Selain itu, *Pantoea dispersa* ditemukan dalam proporsi relatif tinggi dan memiliki reputasi sebagai penghasil selulase yang efisien. Enzim selulasenya aktif pada pH 7 dan suhu sekitar 30°C, serta memiliki berat molekul kecil (15 kDa) dengan aktivitas spesifik hingga 1.600 U/mg protein (Atala, Jasim, & Ibrahim, 2023). Aktivitas selulolitik ini penting dalam lingkungan mangrove, karena mendukung dekomposisi bahan organik dari guguran daun dan mempercepat siklus karbon. Di samping itu, kemampuan *P. dispersa* dalam mentoleransi konsentrasi fenol tinggi memungkinkan kolonisasi jaringan *E. agallocha* yang diketahui kaya senyawa alelopatik (Kaleh et al., 2022). Secara aplikatif, enzim selulase dari *Pantoea* banyak dimanfaatkan dalam industri pulp dan tekstil, karena dapat mengurai serat tanpa merusak kekuatan struktur selulosa.

Spesies *Bacillus altitudinis* juga terdeteksi sebagai anggota signifikan komunitas dengan proporsi 2,94%. Spesies ini termasuk dalam kelompok *Bacillales* yang berstatus GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (U.S. Food and Drug Administration, 2022) dan dikenal menghasilkan protease termotabil alkalifilik dengan aktivitas optimal pada pH 9–11 dan suhu sekitar 50°C (Osman, 2020). Enzim protease dari *B. altitudinis* memiliki stabilitas tinggi terhadap suhu dan deterjen, menjadikannya sangat potensial dalam industri pembersih dan penyamakan kulit (D'Costa, Shamim, & Dubey, 2013). Dalam uji aplikasi, protease ini mampu melakukan proses *dehairing* kulit secara efisien tanpa menyebabkan kerusakan kolagen, sehingga menjadi alternatif pengganti natrium sulfida yang berisiko tinggi terhadap lingkungan (Taylor & Francis Online, 2019). Keberadaannya di daun *E. agallocha* menggambarkan kemampuan spesies ini untuk beradaptasi terhadap fluktuasi suhu tropis dan kadar garam tinggi, sejalan dengan habitat mangrove yang ekstrem.

Kehadiran *Vibrio alginolyticus* dan *Pseudoalteromonas spongiae* dalam komunitas endofit menunjukkan adanya transfer genetik atau adaptasi lintas lingkungan antara mikroba laut dan jaringan tumbuhan darat. *V. alginolyticus* merupakan produsen kolagenase spesifik kolagen dengan aktivitas tinggi terhadap jaringan ikat (Google Patents, 2017; 2018). Enzim ini telah diaplikasikan secara komersial dalam bidang medis untuk mempercepat regenerasi jaringan dan penyembuhan luka kronis. Sementara *P. spongiae* menghasilkan protease adaptif dingin yang tahan terhadap salinitas tinggi dan memiliki potensi besar dalam industri kosmetik dan farmasi. Adaptasi kedua spesies laut ini di jaringan daun *E. agallocha* memperlihatkan adanya simbiosis yang memungkinkan pertukaran metabolit atau senyawa sinergis yang meningkatkan daya tahan inang terhadap stres osmotik dan infeksi patogen (Amalorpavamary, 2024).

Secara ekologis, komunitas bakteri endofit pada *E. agallocha* menunjukkan fungsi sinergis yang kompleks. *Cytobacillus firmus* dan *Bacillus altitudinis* berperan sebagai degrader utama bahan organik kompleks seperti lignin dan protein daun, *Pantoea dispersa* menyediakan aktivitas selulolitik untuk siklus karbon, sedangkan *Vibrio alginolyticus* dan *Pseudoalteromonas spongiae* berkontribusi terhadap ketahanan biologis melalui produksi metabolit antibakteri dan enzim halotoleran (Soto-Varela et al., 2024). Hubungan ini menunjukkan bahwa sistem mikroba endofit bukan hanya penghuni pasif, tetapi juga bagian integral dari mekanisme adaptasi dan fisiologi tumbuhan mangrove.

Integrasi antara hasil metagenomik dan data biokimia dari isolat memperlihatkan konsistensi tinggi. Spesies dominan yang ditemukan melalui sekuensing merupakan penghasil utama enzim hidrolitik industri. Hal ini menunjukkan bahwa metagenomik berfungsi efektif sebagai pendekatan bioprospeksi berbasis genetik, yang mempercepat identifikasi kandidat mikroba potensial tanpa harus melalui proses kultur panjang. Lebih jauh, hasil ini membuka peluang untuk mengembangkan pendekatan *functional metagenomics* dengan menggali langsung gen fungsional seperti *celA* (selulase), *aprE* (protease), dan *vha* (kolagenase) dari komunitas endofit daun *E. agallocha* (Mital, Christie, & Dikicioglu, 2021).

Dalam konteks industri bioteknologi, enzim-enzim hasil eksplorasi ini memiliki aplikasi lintas sektor. Enzim selulase *Pantoea dispersa* dan *Cytobacillus firmus* dapat digunakan dalam biokonversi biomassa menjadi bioetanol, sedangkan protease *Bacillus altitudinis* berpotensi besar untuk digunakan dalam formulasi deterjen ramah lingkungan dan pengolahan kulit (Razzaq et al., 2019). Kolagenase dari *Vibrio alginolyticus* serta protease adaptif dingin *Pseudoalteromonas spongiae* menawarkan potensi ekonomi tinggi dalam industri medis dan kosmetik laut (Natsir et al., 2024). Kombinasi karakteristik halotoleran dan termostabil dari komunitas ini menjadi aset penting dalam menghadapi tantangan efisiensi energi dan keberlanjutan produksi industri modern (Taylor & Francis Online, 2025).

Dengan demikian, hasil integrasi data metagenomik dan karakterisasi enzimatik menegaskan bahwa daun *Excoecaria agallocha* merupakan sumber potensial mikroba endofit penghasil enzim industri yang adaptif terhadap kondisi ekstrem. Penelitian lanjutan yang menggabungkan pendekatan *metatranscriptomic* dan *metaproteomic* diharapkan dapat menjelaskan ekspresi gen aktual serta regulasi enzim dalam kondisi *in vivo*. Pengetahuan ini akan memperkuat strategi bioprospeksi dan produksi enzim industri yang berkelanjutan, sekaligus mendukung pemanfaatan ekosistem mangrove sebagai sumber daya hayati bernilai tinggi (Soto-Varela et al., 2024; Kandasamy & Kathirvel, 2023).

Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mengungkap keragaman dan potensi fungsional komunitas bakteri endofit pada daun *Excoecaria agallocha* melalui pendekatan metagenomik berbasis sekuensing 16S rRNA, yang memetakan hubungan antara profil genetik dan aktivitas enzimatiknya. Hasil metagenomik menunjukkan dominasi genus *Cytobacillus firmus*, *Pantoea dispersa*, *Bacillus altitudinis*, *Vibrio alginolyticus*, dan *Pseudoalteromonas spongiae*, yang seluruhnya merupakan bakteri penghasil

enzim hidrolitik yang penting. Temuan ini membuktikan hipotesis penelitian bahwa komunitas endofit daun *E.agallocha* memiliki kemampuan adaptif tinggi terhadap kondisi lingkungan ekstrem mangrove serta menyimpan potensi bioteknologi besar bagi produksi enzim industri yang stabil pada variasi pH, suhu, dan salinitas. Secara ekologis, interaksi sinergis antarspesies endofit berkontribusi terhadap ketahanan fisiologis tanaman terhadap tekanan osmotik dan oksidatif, sementara secara industri, kombinasi karakter halotolerant dan termostabil dari enzim yang dihasilkan menunjukkan relevansi tinggi untuk aplikasi pada bidang bioenergi, biotekstil, farmasi dan pengolahan limbah ramah lingkungan. Hasil ini sekaligus menegaskan pentingnya pendekatan metagenomik dalam mempercepat bioprospeksi mikroba endofit potensial tanpa ketergantungan pada teknik kultivasi tradisional. Sebagai tindak lanjut, penelitian berikutnya akan difokuskan pada eksplorasi gen fungsional spesifik dari takson dominan melalui pendekatan fungsional metagenomik dan ekspresi heterologi pada inang industri seperti *Bacillus subtilis*, untuk mengoptimalkan produksi enzim secara berkelanjutan serta memperluas pemahaman terhadap mekanisme molekuler adaptasi mikroba endofit mangrove terhadap tekanan lingkungan ekstrem.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Eko Prasetya, M.Sc sebagai dosen pembimbing atas dukungan dan motivasi yang telah diberikan dalam proses penulisan artikel jurnal ini sehingga artikel ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi positif bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

References

- Amalorpavamary, G., Jayaseelan, K., & Panneerselvam, A. (2024). Diversity and identification of endophytic fungi isolated from different marine associated plants. *Kavaka*, 60(4), 36–45. <https://doi.org/10.36460/Kavaka/60/4/2024/36-45>
- Atala, M. L., Jasim, H. M., & Ibrahim, K. M. (2015). Production, purification and characterization of cellulase from local isolate of *Pantoea* spp. *Iraqi Journal of Science*, 56(2B), 1324–1330.
- Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudin, H. A., & Ismail, N. (2020). Lignocellulolytic enzymes in biotechnological and industrial processes: A review. *Sustainability*, 12(18), 7282. <https://doi.org/10.3390/su12187282>
- D'Costa, B., Shamim, K., & Dubey, S. K. (2013). Characterization of thermostable serine protease from *Bacillus altitudinis* strain BR1. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 72(3), 166–171.
- Galloway-Peña, J., & Hanson, B. M. (2020). Tools for analysis of the microbiome. *Digestive Diseases and Sciences*, 65(3), 674–685. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06091-y>
- Grand View Research. (2025). *Industrial enzymes market size, share, and trends analysis report, 2033*. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/industrial-enzymes-market>
- Henagamage, A. P. (2022). Evaluation of cellulolytic fungal-bacterial biofilms for the enhancement of bioethanol production. *Journal of Science (Eastern University, Sri Lanka)*, 13(2), 13–28. <https://doi.org/10.4038/jsc.v13i2.45>
- IMARC Group. (2025). *U.S. industrial enzymes market report 2025–2033*. <https://www.imarcgroup.com/united-states-industrial-enzymes-market>

- Kaleh, A. M., Singh, P., Mazumdar, P., Chua, K. O., & Harikrishna, J. A. (2022). Halotolerant rhizobacteria isolated from a mangrove forest alleviate saline stress in *Musa acuminata* cv. Berangan. *Microbiological Research*, 265, 127176. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127176>
- Kaliampurthi, S., & Selvaraj, G. (2016). Insight on *Excoecaria agallocha*: An overview. *Natural Products Chemistry & Research*, 4(2), 203. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000203>
- Kandasamy, G. D., & Kathirvel, P. (2023). Insights into bacterial endophytic diversity and isolation with a focus on their potential applications – A review. *Microbiological Research*, 266, 127256. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127256>
- Matsuo, Y., Komiya, S., Yasumizu, Y., Yasuoka, Y., Mizushima, K., Takagi, T., Kryukov, K., Fukuda, A., Morimoto, Y., Naito, Y., Okada, H., Bono, H., Nakagawa, S., & Hirota, K. (2021). Full-length 16S rRNA gene amplicon analysis of human gut microbiota using MinION™ nanopore sequencing confers species-level resolution. *BMC Microbiology*, 21(35). <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02094-5>
- Mital, S., Christie, G., & Dikicioglu, D. (2021). Recombinant expression of insoluble enzymes in *Escherichia coli*: A systematic review of experimental design and its manufacturing implications. *Microbial Cell Factories*, 20, 208. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01698-w>
- Mondal, S., Ghosh, D., & Ramakrishna, K. (2016). A complete profile on blind-your-eye mangrove *Excoecaria agallocha* L. (Euphorbiaceae): Ethnobotany, phytochemistry, and pharmacological aspects. *Pharmacognosy Reviews*, 10(19), 123–138. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194040>
- National Institute of Environmental Health Sciences. (2024). *Microbiome*. Retrieved from <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/science/microbiome>
- Natsir, H., Ahmad, A., Taba, P., Anita, A., & Rauf, W. (2024). Isolation, production of protease, and antimicrobial activities from marine sediment gamma-proteobacteria of MBS-L3 isolate. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 17(6), 243–250. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2024.00448>
- Okpara, M. O. (2022). Microbial enzymes and their applications in food industry: A mini-review. *Advances in Enzyme Research*, 10, 23–47. <https://doi.org/10.4236/aer.2022.101002>
- Osman, M. S., Idris, A. S. O., Anandan, D., Ismail, A. M., & El-Hussein, A. A. (2020). Optimization and production of alkaline proteases from *Bacillus subtilis* MMS15 isolate. *Neelain Journal of Science and Technology*, 4(1), 9–16.
- Palit, K., Rath, S., Chatterjee, S., & Das, S. (2022). Microbial diversity and ecological interactions of microorganisms in the mangrove ecosystem: Threats, vulnerability, and adaptations. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 34741–34758. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19048-7>
- Paul, S., Siddiqua, F., & Tayung, K. (2023). Exploration of mangroves associated microbes for bioactive metabolites. *International Journal of Plant and Environment*, 9(3), 202–209. <https://doi.org/10.18811/ijpen.v9i03.03>
- Razzaq, A., Shamsi, S., Ali, A., Ali, Q., Sajjad, M., Malik, A., & Ashraf, M. (2019). Microbial proteases applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 110. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00110>
- Rigoldi, F., Donini, S., Redaelli, A., Parisini, E., & Gautieri, A. (2018). Engineering of thermostable enzymes for industrial applications. *APL Bioengineering*, 2(1), 011501. <https://doi.org/10.1063/1.4997367>

- 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, e18160431. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2018160431>
- Siddikey, F., Jahan, M. I., Hormoni, M., Hasan, M. T., Nishi, N. J., Hasan, S. M. K., Rahman, N., Al Faik, M. A., & Hossain, M. A. (2025). Enzyme technology in the food industry: Molecular mechanisms, applications, and sustainable innovations. *Food Science & Nutrition*, 13, e70927. <https://doi.org/10.1002/fsn3.70927>
- Smithsonian Ocean Portal. (2023). *Mangroves*. Smithsonian Institution. <https://ocean.si.edu/ocean-life/plants-algae/mangroves>
- Soto-Varela, Z. E., Orozco-Sánchez, C. J., Bolívar-Anillo, H. J., Martínez, J. M., Rodríguez, N., Consuegra-Padilla, N., Robledo-Meza, A., & Amils, R. (2024). Halotolerant endophytic bacteria *Priestia flexa* 7BS3110 with Hg²⁺ tolerance isolated from *Avicennia germinans* in a Caribbean mangrove from Colombia. *Microorganisms*, 12(9), 1857. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12091857>
- Taylor & Francis Online. (2019). Halotolerant protease-producing *Bacillus altitudinis* from hypersaline soil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 478–488.
- Taylor & Francis Online. (2025). Optimization of industrial enzyme activity under extreme conditions. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 72(4), 856–867.
- Towards F&B. (2025). *Industrial enzymes market accelerating with innovation-driven growth and sustainability*. <https://www.towardsfnb.com/insights/industrial-enzymes-market>
- U.S. Food and Drug Administration. (2022). *Generally recognized as safe (GRAS) substances database*. Retrieved from <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/generally-recognized-safe-gras>
- Wang, L., Han, X., Zhu, G., Wang, Y., Chairoungdua, A., Piyachaturawat, P., & Zhu, W. (2018). Polyketides from the endophytic fungus *Cladosporium* sp. isolated from the mangrove plant *Excoecaria agallocha*. *Frontiers in Chemistry*, 6, 344. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00344>
- Wu, W., Chen, W., Liu, S., Wu, J., Zhu, Y., Qin, L., & Zhu, B. (2021). Beneficial relationships between endophytic bacteria and medicinal plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 646146. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.646146>