

Potential of Endophytic Bacterial Isolates from Meniran Plants (*Phyllanthus niruri* L.) as Antibacterials that Cause Diarrhea

Nola Artita¹, Novinda Karya Ramadhani¹, Sisilia Amelia Putri¹, dan Monica Kharisma Swandi^{2✉}

¹Mahasiswa Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Bangka Belitung Desa Balunijuk, Kecamatan Merawang, Kabupaten Bangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung, Indonesia

²Dosen Progam Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Bangka Belitung Desa Balunijuk, Kecamatan Merawang, Kabupaten Bangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung, Indonesia

Info Artikel

Diterima : 12-02-2025

Disetujui : 13-07-2025

Dipublikasikan : 24-11-2025

Keywords:

Uji Antagonis

Uji Fitokimia

Antibakteri

Escherichia coli

Shigella dysenteriae

Abstrak

Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dimanfaatkan di beberapa daerah sebagai obat diare. Pada masyarakat di daerah Kelurahan Lubuk Tanjung Kecamatan Lubuklinggau Barat, suku Madura di Kecamatan Lenteng, Guluk-Guluk, dan Bluto diolah dengan cara bagian daunnya ditumbuk dan direbus. Metode riset dimulai dari dilakukannya isolasi bakteri endofit, penapisan isolat bakteri endofit dengan metode uji antagonis, uji biokimia, fermentasi dan ekstraksi metabolit sekunder, skrining fitokimia ekstrak metabolit sekunder bakteri endofit, uji aktivitas antibakteri difusi cakram, dan analisis data. Dari hasil penelitian yang didapatkan, disimpulkan bahwa isolat bakteri endofit yang didapatkan dari sampel daun tanaman meniran sebanyak 10 isolat bakteri endofit, 3 diantaranya menunjukkan nilai antagonis lebih besar terhadap bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* yaitu isolat bakteri Na(P)1, Na(P)2, dan Na(P)5. Kandungan senyawa metabolit sekunder dari ketiga isolat tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri Na(P)1 positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan steroid, isolat bakteri Na(P)2 positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid, serta isolat bakteri Na(P)5 positif mengandung senyawa alkaloid, dan steroid. Ekstrak etil asetat isolat bakteri endofit memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap *Escherichia coli* pada isolat Na(P)5 dan *Shigella dysenteriae* pada isolat Na(P)2.

Abstract

The meniran plant (*Phyllanthus niruri* L.) is used in several areas as a diarrhea medicine. In the people of Lubuk Tanjung Village, West Lubuklinggau District, Madurese tribes in Lenteng, Guluk-Guluk and Bluto Districts, it is processed by pounding and boiling the leaves. The research method starts with isolating endophytic bacteria, screening endophytic bacterial isolates using the antagonist test method, biochemical tests, fermentation and extraction of secondary metabolites, phytochemical screening of secondary metabolite extracts of endophytic bacteria, disc diffusion antibacterial activity tests, and data analysis. From the research results obtained, it was concluded that there were 10 endophytic bacterial isolates obtained from samples of meniran plant leaves, 3 of which showed greater antagonistic values against the test bacteria, namely *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae*, namely Na(P)1, Na bacterial isolates. (P)2, and Na(P)5. The content of secondary metabolite compounds from the three isolates showed that the Na(P)1 bacterial isolate was positive for containing flavonoid, alkaloid and steroid compounds, the Na(P)2 bacterial isolate was positive for containing flavonoid, alkaloid and triterpenoid compounds, and the Na(P) bacterial isolate)5 was positive for containing alkaloid compounds and steroids. Ethyl acetate extract of endophytic bacterial isolates had the greatest antibacterial activity against *Escherichia coli* in Na(P)5 isolates and *Shigella dysenteriae* in Na(P)2 isolates.

Pendahuluan

Penyakit diare sering dianggap oleh beberapa orang merupakan hal yang sepele. Namun sebenarnya, diare berada diposisi ke lima dari daftar penyakit yang menyebabkan kematian (Sari *et al.*, 2023). Di Indonesia, diare merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi persoalan terbesar termasuk di Negara-Negara Asia Tenggara (Irawan, 2013; Supiana, 2022). Penyakit diare merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus, bakteri, dan parasit (Zein *et al.*, 2004; Supiana, 2022). Masyarakat Indonesia sebagian besar mengkonsumsi obat-obatan kimia untuk mencegah diare, yang mana penggunaannya tidak efektif dan tidak aman untuk dikonsumsi secara terus menerus. Penggunaan obat tradisional menjadi salah satu solusi untuk mengurangi penggunaan obat-obatan kimia (Supiana, 2022). Salah satu tumbuhan memiliki khasiat sebagai obat diare adalah tanaman meniran.

Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* L.) diketahui memiliki berbagai khasiat, termasuk antibakteri, menurunkan demam, melindungi hati dari racun, antidiare, pereda batuk, menghilangkan jerawat, serta meningkatkan aktivitas dan fungsi sistem imun. Khasiat ini diduga berasal dari kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, etil asetat, dan kloroform meniran memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Raudah *et al.*, 2020). Jamur endofit dan jamur rizosfer yang berasal dari tanaman meniran telah berhasil diisolasi dan diuji aktivitas pemacu pertumbuhan tumbuhan (Sugiarto, 2022).

Pada umumnya penggunaan tumbuhan obat meniran sebagai obat antidiare oleh masyarakat di beberapa daerah dengan cara bagian daunnya ditumbuk dan direbus, seperti di Kelurahan Lubuk Tanjung Kecamatan Lubuklinggau Barat (Sari *et al.*, 2023), suku Madura di Kecamatan Lenteng, Guluk-Guluk, dan Bluto (Destryana & Ismawati, 2019). Sedangkan di Kabupaten Bangka Barat oleh suku Jerieng, tumbuhan meniran dimanfaatkan bagian akarnya sebagai tanaman obat (Novalia *et al.*, 2018). Pada umumnya tumbuhan ini memiliki kandungan metabolit sekunder, seperti fenol, alkaloid, tanin, dan senyawa lainnya serta dapat juga memiliki interaksi dengan organisme pendukung dalam ekosistem dengan tujuan meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan, serta melindungi diri dari mikroorganisme patogen (Ali *et al.*, 2021; Dalimunthe *et al.*, 2023). Salah satu mikroorganisme yang memiliki hubungan dengan tumbuhan adalah bakteri endofit. Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di jaringan intraseluler tumbuhan dan tidak memberikan dampak negatif pada tumbuhan tersebut.

Bakteri endofit dan tumbuhan membentuk hubungan simbiosis mutualisme, di mana bakteri memperoleh nutrisi dari hasil metabolisme tumbuhan dan melindungi tumbuhan dari patogen dan lingkungan yang ekstrem. Sebaliknya, tumbuhan memperoleh turunan nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan untuk bertahan hidup (Dalimunthe *et al.*, 2023). Beberapa jenis bakteri endofit diketahui menghasilkan senyawa aktif yang sama atau lebih efektif daripada inangnya, seperti antifungi, antioksidan, aktivitas sitotoksik, dan antibiotik. Kemampuan bakteri endofit ini didasari oleh manfaat endofit untuk tanaman, yaitu meningkatkan kesehatan tanaman dengan menghasilkan antibiotik, enzim hidrolitik, dan pembatasan nutrisi (Janatiningrum *et al.*, 2021).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur tersebut memproduksi hormon IAA, enzim selulase, dan memiliki aktivitas pelarutan fosfat. Jamur tersebut telah dikoleksi di Laboratorium Industri Agro dan Biomedika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), dengan jumlah 9 isolat jamur (Sugiarto, 2022). Selain itu, menurut Rollando *et al.* (2017) sel fungi endofit dari genus *Fusarium* sp. yang diisolasi dari daun tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* L.) telah ditemukan dan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, dan sitotoksik. Pemanfaatan bakteri endofit sangat sesuai karena melihat pengambilan tumbuhan secara terus menerus dapat mengancam ketersediaan tumbuhan di alam. Dari hal tersebut perlu dilakukan isolasi bakteri endofit pada daun meniran untuk mengetahui keberadaan bakteri endofit pada daun meniran. Hal ini dapat meminimalisir hilangnya ketersediaan tumbuhan dan mengetahui peranan bakteri endofit pada meniran. Selain itu belum dilakukannya penelitian mengenai keberadaan bakteri endofit pada tumbuhan meniran.

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, perlu adanya penelitian terkait tahapan kerja dari isolasi bakteri endofit daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.), mengkarakteristik bakteri endofit dan karakterisasi fisiologis daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.), mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak bakteri endofit daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.) serta mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.), mengkarakterisasi dan mengidentifikasi bakteri endofit daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.), mengkarakterisasi fisiologis bakteri endofit melalui uji biokimia, dan menentukan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Dasar Terpadu, Fakultas Sains dan Teknik Universitas Bangka Belitung. Sampel daun tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* L.) diambil dari Desa Tumbak Petar, Jebus, Bangka Barat, Kepulauan Bangka Belitung.

Alat-alat yang digunakan adalah *cool box*, kantong plastik steril, gunting steril, alat gelas, bunsen, cawan petri, inkubator, jarum ose, *Laminar Air Flow*, pinset steril, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *rotary evaporator*, *shaker*, *colony counter*, kertas cakram, jarang sorong, dan vortex. Adapun bahan yang digunakan yaitu alkohol 70%, *bayclin*, aquadest, media *Nutrient Agar* (NA), dan media *Nutrient Broth* (NB), H₂O₂ 3%, media SIM, media Urease, media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), dan media *Simmon Citrat Agar* (SCA), media *Nutrient Broth* (NB) dan *ethyl acetate*, ethanol 70%, ammonia-kloroform, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ 2M, H₂SO₄ 2N, HCl 2N, NaOH 10%, HCl pekat, reagen Mayer, reagen Wagner, dan reagen Dragendorff, amoxilin, dimetil sulfoksida (DMSO), media *Nutrient Agar* (NA), aquadest, dan Mc Farland 0,5.

Prosedur diawali dengan isolasi sampel daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dicuci bersih menggunakan air mengalir, lalu dikeringkan. Selanjutnya, permukaan disterilisasi menggunakan alkohol 70% selama 30 detik, *bayclin* 30 detik, dan dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 kali. Sampel dikeringkan menggunakan tisu steril. Untuk memastikan sterilisasi permukaan berhasil, air bilasan terakhir diinokulasi pada media *Nutrient Agar* (NA), lalu diinkubasi pada suhu 37°C di inkubator selama 2 hari. Setelah sterilisasi, sampel dipotong dengan ukuran 1-2 cm menggunakan gunting steril. Potongan sampel diletakkan di cawan petri yang sudah berisi media NA. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam. Koloni bakteri dimurnikan sampai diperoleh isolat murni pada media NA yang baru (Agustien *et al.*, 2017).

Uji antibakteri dilakukan sebagai penapisan awal aktivitas antibakteri dengan metode uji antagonis terhadap bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Masing-masing bakteri uji di kultur pada media *Nutrient Broth* (NB) pada shaker inkubator dengan kecepatan 120 rpm dan suhu $\pm 37^\circ\text{C}$ selama 24 jam. Selanjutnya, 1.5% (v/v) dari masing-masing kultur bakteri uji ($\pm 1 \times 10^5$ CFU/ml) yang masih cair ($\pm 40^\circ\text{C}$) dan dituangkan ke cawan petri steril. Setelah memadat, bakteri endofit yang telah diremajakan sebelumnya selama 24 jam digoreskan membulat di atasnya. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $\pm 37^\circ\text{C}$. Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan munculnya zona hambat di sekitar koloni bakteri endofit (Putra *et al.*, 2024).

Uji biokimia yang dilakukan yaitu uji katalase dilakukan dengan mengolesi kaca preparat dengan satu ose isolat bakteri endofit, kemudian ditetes dengan H₂O₂ 3% sebanyak 2-3 tetes. Uji katalase bersifat negatif jika tidak terbentuk gelembung oksigen pada preparat (Amaliah *et al.*, 2018; Salsabila & Trimulyono, 2022). Uji motilitas dapat dilakukan dengan mengambil isolat bakteri endofit dari media NA yang ditusukkan pada 5 ml media SIM tegak di tabung reaksi, kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Adanya akar-akar di sekitar bekas tusukan pada media menunjukkan hasil positif (Detha *et al.*, 2019; Salsabila & Trimulyono, 2022).

Uji urease dilakukan terhadap bakteri terhadap bakteri endofit diambil dan ditusukkan pada media miring urea di tabung reaksi. Kemudian dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. Adanya perubahan warna merah-ungu pada media menunjukkan hasil positif (Mahmudah *et al.*, 2014; Nia, 2024). Uji sitrat terhadap bakteri endofit diambil dan ditusukkan pada media miring SCA di tabung reaksi pada bagian tengah hingga kedalaman $\frac{3}{4}$ bagian dan digores pada bagian miring dari media. Kemudian dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam, hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru (Kosasi *et al.*, 2019; Nia, 2024). Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dilakukan terhadap bakteri endofit diambil dan ditusuk tegak pada bagian butt dan digores pada bagian slant. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif bakteri mampu memfermentasi glukosa menunjukkan jika pada bagian slant media berwarna merah dan butt berwarna kuning. Kemudian apabila pada bagian slant dan butt media berwarna kuning, maka menunjukkan bakteri mampu memfermentasi sukrosa, laktosa, dan glukosa (Fallo & Sine, 2016; Nia, 2024).

Isolat bakteri endofit potensial diekstraksi metabolit sekundernya untuk mendapatkan ekstrak kasar. Masing-masing isolat dibuat kultur *starter* ke dalam media NB dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya, masing-masing kultur *starter* diinokulasikan ke dalam media NB baru sebanyak 1 Liter. Fermentasi diinkubasi pada shaker inkubator selama 72 jam dengan suhu 28-29°C pada kecepatan 120 rpm. Setiap satu liter kultur bakteri ditambahkan etil asetat dengan perbandingan volume 1:1 (v/v) dan di simpan pada *shaker* inkubator dengan suhu 28-29°C pada kecepatan 180 rpm selama 60 menit. Lapisan pelarut etil asetat dipisahkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kasar (Putra *et al.*, 2024).

Skrining fitokimia ekstrak metabolit sekunder bakteri endofit dilakukan uji alkaloid yaitu fase bawah terdiri dari asam yang diperoleh dari pengujian terpenoid dan steroid. Asam ini ditempatkan dalam tabung

reaksi, lalu ditambahkan dengan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Hasil uji akan menunjukkan keberadaan alkaloid yang positif bila terjadi perubahan warna larutan menjadi putih, merah jingga, atau coklat muda hingga kuning setelah ditambahkan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff (Aristina *et al.*, 2019).

Uji flavonoid dilakukan terhadap ekstrak bakteri endofit berasal dari isolat bakteri endofit yang telah melalui proses ekstraksi. Ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan beberapa tetes etanol 70% dan dipanaskan. Campuran dijejalkan bersama pita magnesium dan setetes HCl pekat. Jika larutan mengalami perubahan warna menjadi merah muda, itu menunjukkan bahwa uji telah menunjukkan positif mengandung flavonoid (Aristina *et al.*, 2019). Uji saponin dilakukan terhadap ekstrak bakteri endofit dari masing-masing isolat bakteri endofit diambil beberapa tetes, lalu ditambahkan dengan aquades panas, kemudian dikocok kuat. Hasil uji dipandang positif mengandung saponin jika busa muncul secara stabil selama sekitar ± 10 menit (Aristina *et al.*, 2019).

Uji tanin dilakukan terhadap ekstrak kasar metabolit sekunder bakteri endofit sebanyak 1 mL ditambahkan 5 mL air panas dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 - 2 tetes FeCl_3 1%. Kemudian diamati perubahan jika terbentuk timbulnya warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol (Departemen Kesehatan RI, 2000). Uji steroid dan terpenoid dilakukan terhadap ekstrak bakteri endofit dari masing-masing isolat bakteri endofit yang telah didapat, ditambahkan dengan kloroform beraroma dan larutan H_2SO_4 2N ke dalam tabung. Lalu dikocok kuat, kemudian campuran didiamkan sampai terbentuk dua fase, yaitu fase asam (atas) dan fase kloroform (bawah). Lapisan kloroform disimpan di dalam plat tetes dan dibiarkan menguap. Setelah itu, ditambahkan dengan asam asetat glasial dan H_2SO_4 pekat (pereaksi Lieberman-Burchard). Apabila terbentuk warna hijau-biru, itu menunjukkan adanya senyawa steroid, sedangkan warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid (Aristina *et al.*, 2019).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram, Pengujian ini mengacu pada Astuty *et al.* (2020) dengan beberapa modifikasi. Pengujian dimulai dengan menginokulasikan bakteri uji yang telah dibuat suspensinya dan disamakan tingkat kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5 di ambil sebanyak 1 mL ke dalam cawan petri steril. Kemudian media NA di tuang ke dalam cawan petri yang telah berisikan suspensi bakteri uji dengan metode pour plate dan homogenkan hingga memadat. Sebanyak 20 μL bakteri endofit, antibiotik berupa amoxilin sebagai kontrol positif, dan dimetil sulfoksida (DMSO) 10% sebagai kontrol negatif diteteskan pada kertas cakram steril kemudian diletakkan diatas media NA. Kemudian dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat berupa zona bening yang terbentuk diamati dan diukur dengan menggunakan jangka sorong untuk menentukan aktivitas antibakteri.

Analisis data dilakukan dengan metode kualitatif dan kuantitatif. Metode kualitatif dilakukan secara deskriptif dengan menampilkan hasil penelitian menggunakan gambar dan tabel, kemudian diinterpretasikan yaitu pada hasil isolasi bakteri endofit, uji biokimia fermentasi dan ekstraksi metabolit sekunder, dan skrining fitokimia. Metode kuantitatif dilakukan pada tahapan penapisan bakteri endofit dengan metode uji antagonis dan uji aktivitas antibakteri.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri Endofit

Daun yang dipilih dalam kondisi segar, berwarna hijau, tidak layu dan tidak ada kerusakan pada daun. Pemilihan daun yang sehat karena bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tumbuhan yang sehat. Pada penelitian ini sampel daun meniran terlebih dahulu disterilisasi permukaan. Sterilisasi permukaan sampel daun meniran dilakukan dengan tujuan agar tidak ada bakteri kontaminan. Berdasarkan penelitian dari Sagita *et al.* (2017), sterilisasi permukaan sangat penting dalam mengisolasi bakteri endofit daun agar tidak terkontaminasi dengan mikroorganisme lain yang bukan endofit.

Proses isolasi bakteri dari daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dimulai dengan mencuci daun tersebut secara menyeluruh menggunakan air mengalir. Selanjutnya, daun direndam dalam larutan bayclin 5,25% selama 30 detik dan kemudian dalam alkohol 70% selama 1 menit. Penggunaan bayclin dan alkohol 70% berfungsi sebagai desinfektan yang efektif untuk mensterilkan permukaan daun dari mikroflora secara kimiawi.

Setelah proses sterilisasi, sampel dibilas dengan aqua pro injeksi untuk menghilangkan sisa-sisa desinfektan yang mungkin masih menempel pada permukaan daun. Ini penting agar tidak mengganggu pertumbuhan bakteri endofit dan juga berfungsi sebagai kontrol. Keberhasilan proses sterilisasi dapat ditentukan jika tidak ada pertumbuhan mikroorganisme yang terdeteksi pada cawan petri yang diberi bilasan terakhir. Untuk memastikan efektivitasnya, proses sterilisasi dilakukan sebanyak tiga kali (Pakaya *et al.*, 2022).

Daun meniran yang telah melalui proses sterilisasi dipotong bagian tepinya secara horizontal menggunakan gunting steril, kemudian ditanam pada cawan petri yang berisi media *Nutrient Agar* (NA) dengan cara aseptis. Posisi potongan daun meniran yang tertanam di permukaan media memungkinkan bakteri endofit yang terdapat dalam jaringan tanaman untuk memperoleh nutrisi dari media NA. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Sedangkan inokulasi pada media NB, perendaman dilakukan selama 24-48 jam. Kemudian dilakukannya metode *pour plate* pada media NA. Selama periode ini, bakteri melakukan pembelahan secara aktif, sehingga jumlah selnya meningkat (Pakaya *et al.*, 2022). Aquadest dari bilasan terakhir digunakan sebagai kontrol negatif yang dicawakan ke dalam media NA dan NB pada cawan petri yang berbeda.

Pewarnaan Gram

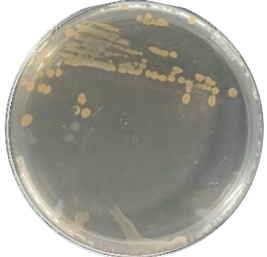


Bakteri endofit yang diperoleh kemudian dilakukan pemurnian untuk memperoleh isolat tunggal. Pemilihan koloni bakteri yang dimurnikan dilakukan berdasarkan pengamatan secara makroskopis. Pengamatan secara makroskopis dilakukan berdasarkan bentuk koloni yang dilihat dari atas, elevasi atau permukaan koloni dilihat dari samping, margin dilihat dari atas dan warna koloni serta tekstur permukaan koloni. Isolat-isolat bakteri endofit tersebut kemudian dimurnikan dengan memindahkan masing-masing koloni yang berbeda ke media NA dengan metode *streak plate*.







Menurut Gandjar *et al.* (1992) dalam penelitian Rori *et al.* (2020), isolasi adalah suatu cara yang dilakukan untuk memisahkan mikroorganisme tertentu dari lingkungan, sehingga diperoleh biakan murni atau biakan yang tidak tercampur dengan jenis yang lain. Tujuan dari pemisahan atau isolasi bakteri endofit ini yaitu untuk memperoleh isolat bakteri endofit murni. Isolat endofit harus dalam keadaan murni atau biakan tunggal dan tidak boleh bercampur dengan bakteri lain (Rori *et al.*, 2020). Isolat bakteri endofit disubkultur hingga menjadi isolat murni lalu dijadikan stok kultur murni pada medium NA miring dalam tabung reaksi pada suhu 37°C.


Berdasarkan hasil isolasi dan pemurnian, diperoleh 10 isolat atau biakan murni dari bakteri endofit daun meniran. Selanjutnya, isolat-isolat endofit yang telah dikarakterisasi secara makroskopis kemudian dikarakterisasi secara mikroskopis. Karakterisasi morfologi bakteri endofit dilakukan secara makroskopis

dengan mengamati koloni bakteri yang tumbuh diatas permukaan media agar seperti bentuk, warna, margin, dan elevasi koloni. Hasil pengamatan secara makroskopis dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4. 1 Identifikasi morfologi isolat bakteri endofit daun meniran

Kode Isolat	Makroskopis				Foto
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	
Na(C)1	Circular	Entire	Flat	Kuning	
Na(C)2	Circular	Entire	Flat	Kuning	
Na(C)3	Circular	Entire	Flat	Kuning	

Kode Isolat	Makroskopis				Foto
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	
Na(C)4	Circular	Entire	Flat	Kuning	
Na(C)5	Circular	Entire	Flat	Kuning	
Na(C)6	Circular	Entire	Flat	Kuning	
Na(P)2	Irregular	Serrate	Flat	Putih Susu	
Na(P)1	Irregular	Serrate	Flat	Putih Susu	
Na(P)5	Irregular	Serrate	Flat	Putih Susu	

Kode Isolat	Makroskopis				Foto
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	
Na(P)4	Irregular	Serrate	Flat	Putih Susu	

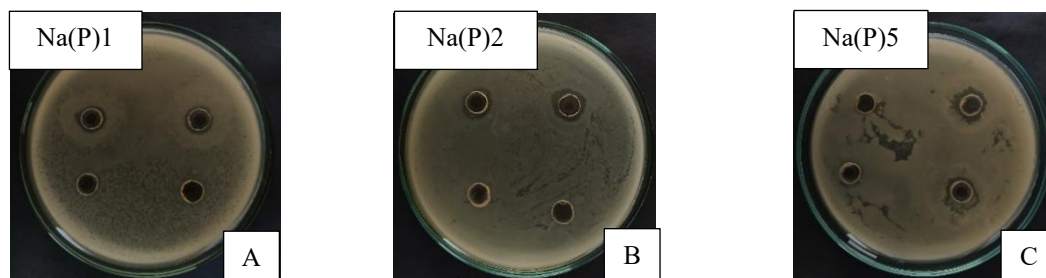
Karakterisasi morfologi mikroskopis dilakukan dengan serangkaian metode pewarnaan Gram sel bakteri lalu diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000× (Aqlinia *et al.*, 2020). Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram untuk melihat bentuk sel bakteri dan kelompok Gram. Pewarnaan Gram menggunakan reagen seperti kristal violet, iodine, alkohol 95%, dan safranin. Bakteri yang diwarnai dengan metode Gram dibagi menjadi dua kelompok. Pada kelompok bakteri Gram positif mempertahankan zat pewarna ungu kristal dan tampak berwarna ungu tua. Sedangkan pada kelompok bakteri Gram negatif akan terjadi kehilangan ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi warna merah safranin, tampak berwarna merah (Bibiana, 1994; Putri *et al.*, 2018). Hasil pengamatan secara mikroskopis dari isolat dapat dilihat pada Tabel 4.2 berikut.

Tabel 4. 2 Pewarnaan Gram isolat bakteri endofit daun meniran

Kode Isolat	Mikroskopis	
	Bentuk Sel	Jenis Gram
Na(C)1	Basil	Negatif
Na(C)2	Basil	Negatif
Na(C)3	Basil	Negatif
Na(C)4	Basil	Negatif
Na(C)5	Basil	Negatif
Na(C)6	Basil	Negatif
Na(P)2	Basil	Negatif
Na(P)1	Basil	Negatif
Na(P)5	Basil	Negatif
Na(P)4	Basil	Negatif

Penapisan Isolat Bakteri Endofit Dengan Metode Uji Antagonis

Penapisan isolat bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan metode uji antagonis dengan cara sumuran. Uji antagonis dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas isolat bakteri endofit daun meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Aktivitas bakteri endofit yang menghambat kedua bakteri ini dapat diketahui dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran yang berisikan bakteri endofit (Oktavia dan Pujiyanto, 2018). Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dipilih dikarenakan keduanya merupakan salah satu bakteri yang menjadi penyebab penyakit diare. Dari sepuluh isolat bakteri endofit yang diujikan terhadap bakteri uji diperoleh 3 isolat yang menunjukkan aktivitas daya hambat bakteri endofit terhadap bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* yang memiliki zona hambat terbesar, yaitu isolat bakteri Na(P)1, Na(P)2, dan Na(P)5 yang dapat dilihat sebagai berikut.



Gambar 4. 1 Zona Bening Isolat Bakteri Endofit dari Hasil Penapisan

Dari 3 isolat yang terpilih ini hanya memiliki daya hambat yang besar pada bakteri uji *Shigella dysenteriae*, sedangkan bakteri *Escherichia coli* tidak menunjukkan zona hambat yang besar. Zona hambat yang terbentuk pada ketiga isolat ini dapat dilihat pada Tabel 4.3 berikut.

Tabel 4. 3 Hasil Aktivitas Uji Antagonis

Kode Isolat	Zona Hambat (mm)	Kategori
Na(P)1	2,7375	Lemah
Na(P)2	4,41	Lemah
Na(P)5	4,4525	Lemah

Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Maarisit *et al.* (2021) dan Sirri *et al.* (2022) mengatakan bahwa zona hambat terbagi menjadi empat kategori, yaitu zona hambat lemah ≤ 5 mm, zona hambat sedang 5-10 mm, zona hambat kuat 10-20 mm, zona hambat sangat kuat ≥ 20 mm. Dari pernyataan tersebut, dapat diketahui bahwa pada penapisan awal dari ketiga isolat ini memiliki zona hambat dengan kategori lemah.

Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada ekstrak bakteri endofit daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) diperoleh hasil positif terhadap alkaloid, steroid, triterpenoid dan saponin. Seluruh ekstrak bakteri endofit positif mengandung alkaloid berdasarkan hasil uji menggunakan pereaksi *Dragendorff* dengan hasil uji positif terbentuk endapan jingga kemerahan dan endapan berwarna putih untuk pereaksi *Mayer*. Warna putih yang terbentuk tersebut karena terbentuknya senyawa kompleks antara alkaloid dengan ion K dari pereaksi *Mayer*, dimana atom nitrogen pada cincin alkaloid akan berikatan secara kovalen koordinasi dengan ion K dari pereaksi *Mayer* (Marliana, 2005; Nugrahani *et al.*, 2016). Endapan yang terbentuk adalah kalium-alkaloid. Senyawa alkaloid mencakup atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas, memungkinkannya berikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Nitrogen dalam alkaloid akan berubah saat bertemu dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II), membentuk senyawa kompleks kalium-alkaloid yang kemudian mengendap. (Marliana, 2005; Nugrahani *et al.*, 2016).

Tabel 4. 4 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Bakteri Endofit

Kode	Senyawa Metabolit Sekunder							
	Flavonoid	Alkaloid			Steroid	Triterpenoid	Saponin	Tanin
		Mayer	Dragendorff	Wagner				
Na (P)1	+	+	+	+	+	-	-	-
Na (P)2	+	-	+	-	-	+	-	-
Na (P)5	-	-	+	+	+	-	-	-

Keterangan: (+) Positif mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) Negatif mengandung senyawa metabolit sekunder

Sedangkan tiga ekstrak bakteri endofit tidak mengandung saponin dengan hasil uji negatif dengan hilangnya busa stabil setelah ditambahkan aquades panas dan dikocok kuat dan ditunggu selama 10 menit. Tidak munculnya busa stabil tersebut dikarenakan tidak terjadinya hidrolisis senyawa saponin menjadi

glikosida dan senyawa lainnya, tidak adanya kemampuan glikosida ini yang menyebabkan tidak timbulnya busa (Marliana, 2005; Nugrahani *et al.*, 2016). Sebanyak satu ekstrak bakteri endofit positif mengandung triterpenoid dengan hasil uji positif terbentuknya warna jingga dan dua ekstrak bakteri endofit positif mengandung steroid dengan hasil uji positif terbentuknya warna hijau, perubahan warna yang terbentuk pada uji triterpenoid dan steroid dikarenakan terjadinya perpanjangan konjugasi akibat adanya penambahan pereaksi *Lieberman-Burchard* (Setyowati *et al.*, 2014). Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam tumbuhan yang telah diproduksi oleh bakteri endofit memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri dan sebagai inhibitor amilase.

Sedangkan ketiga ekstrak bakteri endofit tidak mengandung saponin. Uji menunjukkan hasil negatif karena busa stabil hilang setelah tambahan aquades panas, kemudian dikocok kuat, dan diamkan selama 10 menit. Tidak munculnya busa yang stabil disebabkan oleh ketiadaan hidrolisis saponin menjadi glikosida dan senyawa lainnya. Tidak adanya kemampuan glikosida ini mengakibatkan tidak munculnya busa (Marliana, 2005; Nugrahani *et al.*, 2016). Terdapat satu ekstrak bakteri endofit positif mengandung triterpenoid dengan hasil uji positif terbentuknya warna jingga. Dua ekstrak bakteri endofit positif mengandung steroid dengan hasil uji positif terbentuknya warna hijau. Perubahan warna yang terbentuk pada uji triterpenoid dan steroid disebabkan oleh perpanjangan konjugasi akibat penambahan pereaksi *Lieberman-Burchard* (Setyowati *et al.*, 2014). Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan, yang diproduksi oleh bakteri endofit, memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri dan sebagai inhibitor amilase.

Pengujian tanin dapat dilakukan dengan uji reaksi warna dengan penambahan FeCl₃ 5%. Jika uji reaksi warna terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Marjoni, 2016). Senyawa tanin adalah senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, oleh karena itu ketika sampel ditambahkan FeCl₃ 5% akan terjadi perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin (Jones & Kinghorn, 2006; Nugrahani *et al.*, 2016). Sedangkan menurut Santi *et al.* (2008) dalam Nugrahani *et al.* (2016), senyawa tanin dengan FeCl₃ akan terhidrolisis membentuk warna biru kehitaman. Hasil uji tanin dengan FeCl₃ 5% baik pada serbuk, ekstrak dan semua fraksi menunjukkan negatif tanin, karena hasil yang diperoleh adalah warna kuning.

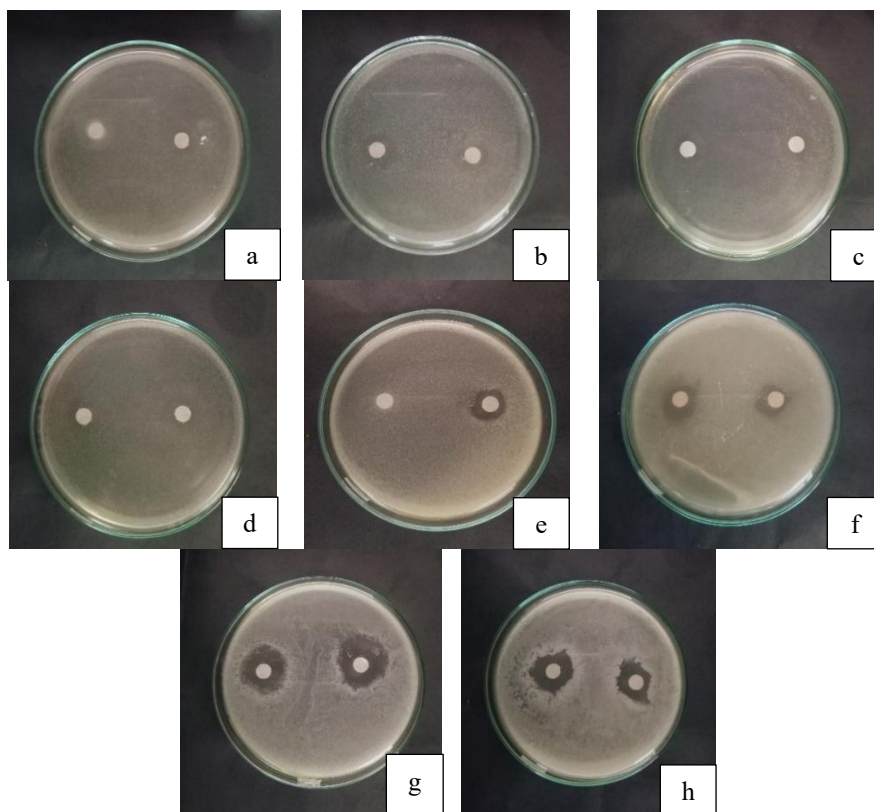
Uji Kemampuan Antibakteri Endofit

Pengendalian bakteri penyebab diare memanfaatkan tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) sebagai zat antibakteri. Antibakteri adalah salah satu komponen antimikroba yang dapat menekan pertumbuhan bakteri sekaligus membunuh bakteri patogen penyebab infeksi (Ming *et al.*, 2021; Pangestu & Kusuma, 2023). Aktivitas antibakteri dari bakteri endofit terhadap bakteri uji dapat diketahui melalui uji antibakteri yang pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode cakram. Adanya zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang menghambat pertumbuhan dari bakteri uji (Oktavia dan Pujiyanto, 2018). Zona bening adalah suatu petunjuk kepekaan dari bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan diameter zona hambat.

Pada umumnya, adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri target oleh bakteri endofit dapat terjadi karena bakteri endofit dapat menghasilkan suatu senyawa yang bersifat antibakteri (Khairani *et al.*, 2017). Isolat bakteri endofit yang telah dipilih dari hasil penapisan terdapat 3 isolat, ketiga isolat tersebut setelah melalui tahapan ekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat dan didapatkan berupa ekstrak isolat bakteri endofit yang kemudian dilakukan uji antibakteri dengan metode difusi cakram. Hasil uji antibakteri menunjukkan adanya perbedaan dengan diameter yang terbentuk antara penapisan awal dengan uji antibakteri. Hasil uji antibakteri dengan metode cakram dapat dilihat pada Tabel 4.6 berikut.

Tabel 4. 5 Hasil Uji Antibakteri Difusi Cakram

Kode Isolat	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori Zona Hambat
<i>Escherichia coli</i>		
Kontrol +	9,4175	Sedang
Kontrol -	-	-
Na(P)1	2,74	Lemah
Na(P)2	5,65375	Sedang
Na(P)5	8,285	Sedang
<i>Shigella dysenteriae</i>		
Kontrol +	7,855	Sedang
Kontrol -	-	-
Na(P)1	8,57875	Sedang
Na(P)2	12,14625	Kuat
Na(P)5	10,0625	Kuat



Gambar 4. 2 Zona Hambat Pada Uji Antibakteri Bakteri Endofit. (a; e) control + dan - ; (b; f) Na(P)1; (c; g) Na(P)2; (d; h) Na(P)5

Berdasarkan Tabel 4.6 dapat dilihat bahwa ekstrak isolat bakteri endofit menunjukkan kemampuan hambat yang lebih besar terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dibandingkan bakteri *Eshcherichia coli*. Adanya perbedaan tinggi rendahnya diameter hasil zona hambat yang diperoleh bergantung pada kemampuan dari bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa antibakteri. Zona bening yang tidak dapat terbentuk pada saat bakteri menuju fase kematian dikarenakan bakteri yang kurang optimal dalam menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa antibakteri (Iqlima *et al.*, 2017; Rizqoh *et al.*, 2022). Terdapat kontrol positif dan kontrol negatif pada pengujian antibakteri ini, kontrol positif pada penelitian ini menggunakan *amoxicillin*. *Amoxicillin* digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan golongan antibiotik penisilin yang memiliki spektrum luas, sehingga dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun gram negatif. Sedangkan untuk kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah *dimethyl sulfoxide* (DMSO).

DMSO yang digunakan sebagai konsentrasi negatif pada uji aktivitas antibakteri adalah DMSO 10%, karena telah terbukti tidak menunjukkan penghambatan pada bakteri uji. Hal itu sesuai dengan pendapat Rizki *et al.* (2021) yang mengatakan bahwa pelarut DMSO tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri dan memiliki kemampuan dalam melarutkan semua senyawa yang bersifat polar, semipolar, dan nonpolar. Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Maarisit *et al.* (2021) dan Sirri *et al.* (2022) mengatakan bahwa zona hambat terbagi menjadi empat kategori, yaitu zona hambat lemah ≤ 5 mm, zona hambat sedang 5-10 mm, zona hambat kuat 10-20 mm, zona hambat sangat kuat ≥ 20 mm. Dari pernyataan tersebut, dapat diketahui bahwa pada penapisan awal dari ketiga isolate ini memiliki zona hambat dengan kategori lemah.

Zona bening pada bakteri uji *Eshcherichia coli* dengan kontrol positif (+) berdiameter 9,4175 kategori sedang, isolat Na(P) 1 memiliki diameter 2,74 mm kategori lemah, isolat Na(P)2 berdiameter 5,65375 mm kategori sedang, dan isolat Na(P)5 berdiameter 8,285 mm kategori sedang. Sedangkan Zona bening pada bakteri uji *Shigella dysenteriae* dengan kontrol positif (+) berdiameter 7,855 mm kategori sedang, isolat Na(P) 1 memiliki diameter 8,57875 mm kategori sedang, isolat Na(P)2 berdiameter 12,14625 mm kategori kuat, dan isolat Na(P)5 berdiameter 10,0625 mm kategori kuat. Perbedaan antara hasil penapisan awal isolat bakteri endofit daun meniran dan ekstrak kasar disebabkan oleh beberapa hal. Menurut Rizqoh *et al.* (2022) mengatakan bahwa jumlah pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi yaitu pelarut etil asetat tidak dapat menjerat seluruh senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat endofit sehingga hanya sebagian saja yang terekstraksi. Namun pada penelitian ini menunjukkan zona hambat yang terbentuk dari ekstrak etil asetat isolate bakteri endofit menunjukkan memiliki kemampuan sebagai antibakteri, sehingga diduga karena

adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak isolat bakteri endofit dari daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dapat membunuh *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* yang ditandai dengan adanya zona bening dengan diameter lemah hingga kuat.

Menurut penelitian Munfaati *et al* (2015) mengatakan bahwa ekstrak daun meniran dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* karena memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder. Sedangkan bakteri *Escherichia coli* juga dapat dihambat dengan menggunakan ekstrak etil asetat tumbuhan meniran, hal itu dikarenakan adanya kandungan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya (Rahman *et al.*, 2012). Bakteri *Shigella dysenteriae* dan bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang menjadi penyebab penyakit diare, sehingga daun meniran memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab penyakit diare.

Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit

Uji Biokimia dilakukan untuk melihat karakteristik bakteri melalui reaksi biokimia (Apriyanthi *et al.*, 2022). Uji biokimia yang dilakukan pada penelitian ini, yaitu uji motilitas, uji katalase, uji sitrat, uji urease, dan uji TSIA.

Tabel 4.6 Hasil Karakter Isolat Bakteri Endofit Asal Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

No	Karakter	Isolat Bakteri Endofit		
		Na(P)1	Na(P)2	Na(P)3
1	Pewarnaan Gram	Negatif	Negatif	Negatif
2	Bentuk Sel	<i>Cocco Basil</i>	<i>Cocco Basil</i>	<i>Cocco Basil</i>
3	Motilitas	+	+	+
4	Katalase	+	+	+
5	Urease	-	-	-
6	Sitrat	-	-	-
7	TSIA	K/A	K/A	K/A
Genus				

Keterangan: (+) mampu menghasilkan

(-) tidak mampu menghasilkan

(K/A) bersifat alkalis (K) dan bersifat asam (A) namun tidak memproduksi gas dan H₂S

Uji motilitas yang sudah dilakukan menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar di sekitar bekas tusukan. Ketiga isolat menunjukkan bahwa bakteri bersifat motil, sementara pertumbuhan bakteri hanya terjadi di area bekas tusukan menandakan sifat non-motil. Uji motilitas pada bakteri dilakukan untuk memahami sifat motil bakteri (Pattuju *et al.*, 2014). Bakteri dikatakan bersifat motil jika pertumbuhan bakteri tersebut menyebar di sekitar area tusukan dan menyebabkan kekeruhan pada media. Di sisi lain, bakteri dikatakan non motil apabila pertumbuhan bakteri tersebut tidak menyebar, hanya berupa garis sepanjang tusukan saja (Aisyah *et al.*, 2014). Pergerakan bakteri motil mengindikasikan keberadaan alat gerak berupa flagela. Sedangkan bakteri yang tidak motil tidak memiliki flagella (Panjaitan *et al.*, 2020).

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa tiga isolat bakteri memiliki enzim katalase. Enzim katalase dalam bakteri dapat diketahui pasti melalui uji biokimia, yakni uji katalase (Sya'baniar *et al.*, 2017). Uji katalase positif jika menunjukkan adanya gelembung udara, menandakan terbentuknya gas oksigen (O₂). Uji katalase negatif ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung gas O₂ (Santri *et al.*, 2018). Enzim katalase berperan sebagai katalisator pada proses respirasi aerob dengan mengkatalis dekomposisi hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air (H₂O) dan oksigen (O₂) (Pattuju *et al.*, 2014). Reaksi katalase oleh bakteri merupakan bagian dari sistem pertahanan antioksidan untuk melindungi diri dari kerusakan yang disebabkan oleh akumulasi H₂O₂ (Kurnia *et al.*, 2023).

Ketiga isolat bakteri endofit dari daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) tidak memiliki kemampuan dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan energinya yang diamati dari tidak terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru pada uji biokimia sitrat. Uji sitrat menandakan hasil reaksi positif karena penggunaan sitrat oleh bakteri mengakibatkan media berwarna biru. Menurut Yanti *et al.* (2021) bahwa media uji sitrat terdiri dari *Simmon's Citrate Agar* (SCA), Na sitrat berfungsi untuk sumber karbon, dan bromthymolblue untuk indikator.

Semua isolat bakteri endofit daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) menunjukkan hasil uji urease negatif karena tidak terjadinya perubahan warna media menjadi merah muda yang menandakan bakteri tersebut tidak memiliki enzim urease. Uji Urease bertujuan untuk mengetahui bakteri yang memiliki enzim urease. Keberadaan enzim katalase menunjukkan bakteri mampu mengubah urea menjadi amoniak (Ulfa *et al.*, 2016). Hasil uji urease negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan media menjadi merah muda yang menunjukkan bakteri tidak menghasilkan urease (Yusnia *et al.*, 2019). Perubahan warna dapat terjadi saat enzim urease memutus ikatan karbon dan nitrogen untuk membentuk amoniak. Adanya amoniak

menyebabkan suasana media menjadi alkali atau basa sehingga indikator phenol red akan berubah menjadi merah muda pada media (Fallo & Sine, 2016).

Uji TSIA dilakukan pada bakteri endofit daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan menggunakan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Media TSIA merupakan media yang dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu mikroorganisme dalam mengfermentasi gula (Saidah & Susilawati, 2018). Media TSIA mengandung karbohidrat berupa glukosa, sukrosa, dan laktosa, fenol merah sebagai indikator pH, serta natrium tiosulfat (Haryani *et al.*, 2012). Uji TSIA menunjukkan bahwa ketiga isolat menghasilkan warna merah di bagian slant dan warna kuning di bagian butt. Apabila pada bagian slant media berwarna merah dan butt berwarna kuning, menandakan bahwa bakteri mampu memfermentasi glukosa. Apabila pada bagian slant dan butt media berwarna kuning, maka bakteri mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa (Ismail *et al.*, 2017).

Simpulan

Isolat bakteri endofit yang didapatkan dari sampel daun tanaman meniran sebanyak 10 isolat bakteri endofit, 3 diantaranya menunjukkan nilai antagonis lebih besar terhadap bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* yaitu isolat bakteri Na(P)1, Na(P)2, dan Na(P)5. Kandungan senyawa metabolit sekunder dari ketiga isolat tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri Na(P)1 positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan steroid, isolat bakteri Na(P)2 positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid, serta isolat bakteri Na(P)5 positif mengandung senyawa alkaloid, dan steroid. Ekstrak etil asetat isolat bakteri endofit memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap *Escherichia coli* pada isolat Na(P)5 dan *Shigella dysenteriae* pada isolat Na(P)2.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi atas hibah dana penelitian Progam Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) Riset melalui Program Kompetisi Kampus Merdeka (PKKM) – Program Studi Biologi Tahun 2024.

Daftar Referensi

- Agustien, A., Santoso, P., Permata, S.N., Annisa, F., Nasir, N. & Rilda, Y. (2017). Screening of Endophyte Piper betle Bacteria from the Forests of HPPB University Andalas as Antibiotics Producer. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 6(12):3970 – 3975.
- Aisyah, A., Kusdiyantini, E., Supriyadi, A. (2014). Isolasi, Karakterisasi Bakteri Asam Laktat, Dan Analisis Proksimat Dari Pangan Fermentasi “Tempoyak”. *Jurnal Biologi*, 3(2), 31-39.
- Aqlinia, M., Pujiyanto, S., Wijanarka, (2020). Isolasi Bakteri Endofit Bangle (*Zingiber Cassumunar* Roxb.) Dan Uji Antibakteri Supernatan Crude Metabolit Sekunder Isolat Potensial Terhadap *Staphylococcus aureus*. *J. Akad. Biol.* 9, 23–31
- Aristina, R.F., Astuti, W. & Pratiwi, D.R. (2019). Skrining Dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Bakteri Endofit Dari Batang Pacing (*Costus* sp.). *Jurnal Atomik*, 04 (1):21-24.
- Astuty, E., Banna, M. Z. A., & Sumah. (2020). Uji Antibakteri Isolat Endofit Asal Tanaman Kayu Jawa *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. Terhadap MRSA Methicili-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 11(2): 34-39.
- Dalimunthe, A.I.R., Susanna. & Hakim, L. (2023). Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Asal Tanaman Padi Sawah di Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(3):550 – 564.
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. URL: https://akfarstfransiskusxaverius.ac.id/wp-content/uploads/2023/08/51_Parameter-standar-umum-ekstrak-tumbuhan-obat-1.pdf. Diakses tanggal 10 Februari 2024.
- Destryana, R. A., & Ismawati. (2019). Etnobotani Dan Penggunaan Tumbuhan Liar Sebagai Obat Tradisional Oleh Masyarakat Suku Madura (Studi Di Kecamatan Lenteng, Guluk-Guluk, Dan Bluto). *Journal of Food Technology and Agroindustry*, 1 (2): 1-8.
- Fallo, G. & Sine, Y. (2016). Isolasi dan Uji Biokimia Bakteri Selulolitik Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes* spp.). *Jurnal Pendidikan Biologi*, 1(2):27-29.
- Haryani, Y., Cahinulfifah. & Rustiana. (2012). Fermentasi Karbohidrat Oleh Isolat *Salmonella* spp. Dari Jajanan Pinggir Jalan. *Jurnal Ind.Che.Acta*. 3(1):23-24.

- Hayati, R. (2023). Karakterisasi Bakteri Endofit dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Universitas Jambi: Jambi.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C. & Putriani. (2017). Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Bioleuser*, 1(2):45-53.
- Janatiningrum, I.I., Hasan, A.E.Z. & Eny, 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.
- Khairani, K., Busman. & Edrizal. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Tiram Purih (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *Jurnal B-Dent*, 4(2):110 – 116.
- Kurnia, T.I.D., Nurmasari, F.N. & As'ari, H. (2023). Potensi Konsorsium Mikroba Endofit Akar Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*) dalam meningkatkan Produktivitas Pertanian Buah Naga. *BIOSFER, J.Bio. & Pend.Bio*, 8(2):106-114.
- Marjoni, R. (2016). Dasar-Dasar Fitokimia. CV. Trans Info Media. Jakarta.
- Munfaati, P.N., Ratnasari, E. & Trimulyono, G. (2015). Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara in Vitro. *LenteraBio*, 4(1):64 – 71.
- Nia, L. (2024). Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Asam Indol-3-Asetat Dari Akar Karamunting (*Melastoma Malabathricum* L.) Pada Lahan Pascatambang Timah Dan Potensinya Sebagai Agen Pupuk Hayati. *Skripsi*. Universitas Bangka Belitung.
- Novalia, Afriyansyah, B., & Juairiah, L. (2018). Pemanfaatan Tanaman Obat Oleh Suku Jerieng Di Kabupaten Bangka Barat. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, 03(2): 63-69.
- Nugrahani, R., Andayani. & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1):97-103.
- Oktavia, N. & Pujiyanto, S. (2018). Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapak Dara (*Catharanthus Roseus*, L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi*, 1(1):6 – 12.
- Pakaya, N., Lapagulu, F., Suleman, I., & Yunus, J. (2022). Penerapan Early Enteral And Parenteral Nutrition Terhadap Pasien Kritis. *Jambura Journal, Of Health Science and Research*, 4(3) : 806-815.
- Pangestu, E.C., & Kusuma, S. B. W. (2023). Antibacterial Test of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Extract on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Mouthwash. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 12(3): 226 - 236.
- Panjaitan, F.J., Bachtiar, T., Arsyad, I., Lele, O.K. & Indriyani, W. (2020). Karakterisasi Mikroskopis Dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) Dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan*, 1(1):9-17.
- Pattuju, S.M., Fatimawali. & Manampiring, A. (2014). Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri Pada Urine, Feses dan Kalkulus Gigi Pada Individu Di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, 2(2):532-540.
- Putra, R.H., Retnowati, D., Cordova, D.M., Zahra, A.A., Primahana, G., Dewi, R.T., Filaila, E., Sukirno. & Prastya, M.E. (2024). Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan dari Senyawa Bioaktif Asal Bakteri Endofit Tanaman Nyatoh (*Palaquium amboinense* B.). *Jurnal Sumberdaya HAYATI*, 10(1):25-32.
- Putri, M. F. (2018). Diversitas Bakteri Endofit Pada Daun Muda Dan Tua Tumbuhan Muda. *Eksakta*, 19(1) : 125 – 130.
- Rahman, D.T., Sutrisna, E.M. & Candrasari, A. (2012). Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etil Asetat dan Kloroform Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 112229 Secara in Vitro. *Biomedika*, 4(2):18 -25.
- Raudah, S., Huzaimah, Trisnawati, N. & Aja, A.R. (2020). Pengaruh Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) dan Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Luka Diabetes Melitus secara in vitro. *Proceeding 1st SETIABUDI – CIHAMS 2020 Setia*, 86 – 95.

- Rizki, S.A., Latief, M., Fitrianiingsih. & Rahman, H. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, Dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jamhesic*, 10(3):442-457.
- Rizqoh, D., Sahfitri, F.D., Sipriyadi, Dita, D.A.A. & Suryani, U.H. (2022). Ekstraksi dan Uji Penghambatan Minimum Bakteri Endofit Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) terhadap Jamur *Candida albicans*. *Perlindungan Tanaman (Snpt)*, 1:90 – 97.
- Rollando, Aditya, M., Notario, D., Monica, E. & Sitepu, R. (2017). Kajian Aktivitas Antibakteri, Antioksidan, dan Sitotoksik Fungi Endofit. *Pharmaciana*, 7(1):95-104.
- Rori, C.A., Kandou, F.E.F., & Tangapo, A.M. (2020). Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove. *Jurnal Bios Logos*, 10(2): 48-55.
- Sagita, D., Suharti, N., & Azizah, N. (2017). Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ipteks Terapan*, 11(1), 65–74.
- Saidah, R. & Susilawati, I.O. (2018). Deteksi Cemaran Bakteri *Escherichia Coli* Dalam Jaruk Tigaron Pada Pasar Sungai Andai Dan Pasar Lama Kota Banjarmasin. *Bio-site*, 04(1):1-40.
- Salsabila, K.N. & Trimulyono, G. (2022). Isolasi dan Uji Antagonis Bakteri Asam Laktat dari Tape Pisang Kepok terhadap *Escherichia coli*. *LenteraBio*, 11(3):430-440.
- Santri, P., Mulyadi. & Taurina, H. (2018). Angka dan Pola Bakteri Penyebab *Healthcare-Associated Infections* (HAIs) pada Udara di Ruang *Intensive Cardiac Care Unit* (ICCU) Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) dr. M. Yunus Bengkulu. *Jurnal Kedokteran Rafflesia*, 4(1):1-14.
- Sari, I. P., Fitriani, L., & Triyanti. (2023). Inventarisasi Tumbuhan Obat Anti Diare Di Kelurahan Lubuk Tanjung Kecamatan Lubuklinggau Barat I Sebagai Pengembangan Booklet Pada Masyarakat. *Biodik: Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 09(03):197-214.
- Setyowati, E.A.W., Ariani, D.R.S., Ashadi, & Mulyani. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethius* Murr.) Varietas Petruk. *Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*:271-280.
- Sirri, Y., Warouw, V., Rumengan, I.F.M., Paransa, D.S., Undap, S.L., Ginting, E.L. (2022). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Simbion pada Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Asal Pantai Batu Meja Tongkaina, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*, 10(2): 424-432.
- Sugiarto, A.Z. (2022). Respon Pertumbuhan Meniran (*Phyllanthus Niruri* L.) Terhadap Aplikasi Beberapa Isolat Jamur Endofit Dan Rizosfer. *Skrripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta: Jakarta.
- Supiana, H. (2022). Diare Dan Penggunaan Obat Tradisionalnya di Indonesia: Suatu Kajian Literatur. *Journal of Village and Local Community*, 1(1): 37-46.
- Sya'baniar, L., Erina. & Sayuti, A. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Genus *Lactobacillus* Dari Feses Orangutan Sumatera Pongo abelii Di Kebun Binatang Kasang Kulim Bangkinang Riau. *JIMVET*, 01(3):351-359.
- Ulfa, A., Suarsini, E. & Muhdhar, M.H.I.A. (2016). Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1):793-799.
- Yanti, D., Rahmawati. & Kurniatuhadi, R. (2021). Karakteristik Morfologis Dan Fisiologis Bakteri Endofit Dari Akar Napas Tumbuhan *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh Di Mempawag *Mangrove Park* (Mmp). *Jurnal Biologica Samudra*, 3(2):166-183.
- Yusnia, E.D., Gunam, I.B.W. & Antara, N.S. (2019). Isolasi Dan Skrining Bakteri Selulolitik dari Beberapa Tanah Hutan di Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(1):11-20.