

## Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Nurul Azmi Rusli\*, Sri Wahyuningsih, Irwan, Nurfidin Farid

Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky Makassar

**Sitasi:** Rusli, N. A., Wahyuningsih, S., Irwan, & Farid, N. (2024). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(2), 562–572.  
<https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.590>

**Submitted:** 22 Agustus 2024

**Accepted:** 28 November 2024

**Published:** 21 Desember 2024

\*Penulis Korespondensi:

Nurul Azmi Rusli

Email:

nurulazmirusli25@gmail.com



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

### ABSTRAK

Daun matoa mengandung metabolit sekunder yang memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tanaman tingkat tinggi mengandung bakteri endofit yang mampu menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri endofit dari Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) dan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta jenis isolat bakteri endofit tersebut. Metode penelitian merupakan eksperimental laboratorium, isolasi bakteri endofit Daun Matoa dilakukan dengan metode penanaman langsung. Isolat yang dihasilkan diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi agar dengan *paper disk*. Identifikasi bakteri endofit dilakukan secara makroskopik, mikroskopik, media selektif dan uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Daun Matoa menghasilkan 4 isolat bakteri endofit yaitu BE 1, BE 2, BE 3, dan BE 4. Keempat isolat bakteri endofit memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dimana rata-rata diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* pada isolat BE 1, BE 2, BE 3 dan BE 4 berturut-turut yaitu 23,6 mm, 25,3 mm, 28,3 mm dan 30,3 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Sedangkan terhadap *Escherichia coli* pada isolat BE 1, BE 2, BE 3, dan BE 4 berturut-turut sebesar 19,6 mm, 20 mm, 23 mm dan 24,6 mm yang masuk kedalam kategori kuat hingga sangat kuat. Jadi, Daun Matoa mengandung bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Isolat BE 1 merupakan *Escherichia sp.*, BE 2 yaitu *Staphylococcus sp.*, sedangkan BE 3 dan BE 4 merupakan *Pseudomonas sp.*

**Kata kunci :** Daun Matoa, Bakteri Endofit, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Zona Hambat

### ABSTRACT

Matoa leaves contain secondary metabolites that provide antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Higher plants contain endophytic bacteria that are capable of producing the same secondary metabolites as their host plants. This research aims to obtain endophytic bacterial isolates from Matoa leaves (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst.) and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as well as the types of endophytic bacterial isolates. The research method is laboratory experimental, isolation of Matoa leaf endophytic bacteria was carried out using the direct planting method. The resulting isolate was tested for its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* using the agar diffusion method with paper disks. Identification of endophytic bacteria is carried out using macroscopic, microscopic, selective media and biochemical tests. The results of this study showed that Matoa leaves produced 4 isolates of endophytic bacteria, namely BE 1, BE 2, BE 3, and BE 4. The four isolates of endophytic bacteria had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Where the average diameter of the inhibition zone against *Staphylococcus aureus* in isolates BE 1, BE 2, BE 3 and BE 4 were respectively 23.6 mm, 25.3 mm, 28.3 mm and 30.3 mm. Meanwhile, for *Escherichia coli* isolates BE 1, BE 2, BE 3 and BE 4 were 19.6 mm, 20 mm, 23 mm and 24.6 mm respectively. Isolate BE 1 is *Escherichia sp.*, BE 2 is *Staphylococcus sp.*, while BE 3 and BE 4 are *Pseudomonas sp.* Matoa leaves contain endophytic bacteria which have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

**Keywords :** Matoa Leaves, Endophytic Bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Inhibition Zone

## PENDAHULUAN

Salah satu masalah kesehatan terbesar adalah penyakit infeksi, tidak saja di Indonesia akan tetapi di seluruh dunia. Salah satu infeksi yang banyak terjadi adalah infeksi saluran kemih. Departemen Kesehatan Republik Indonesia memperkirakan bahwa prevalensi ISK di Indonesia masih cukup tinggi (Widiyastuti & Soleha, 2023). Sebagian besar infeksi saluran kemih disebabkan oleh bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* dan beberapa disebabkan oleh bakteri gram positif dari *Staphylococcus aureus* (Xu *et al.*, 2023). Berdasarkan penelitian sebelumnya, *Escherichia coli* merupakan penyebab terbanyak (34,3%), diikuti oleh *Staphylococcus aureus* (18,9%) (Rizka *et al.*, 2019).

Resistensi antibiotik telah banyak dilaporkan dan sekarang menjadi masalah utama dalam pengobatan kontemporer. Perubahan pola resistensi bakteri penyebab ISK terjadi lebih cepat daripada infeksi lainnya (Widiyastuti & Soleha, 2023). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian pada tanaman obat yang dapat memberikan aktivitas sebagai antibakteri. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan untuk pengobatan tradisional adalah matoa.

Tanaman Matoa adalah tanaman asli Papua yang tumbuh di berbagai tempat di Sumatera, Jawa, Sulawesi, Pulau Sumbawa (NTB), dan Maluku. Tanaman Matoa (*Pometia pinnata*) mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid, serta vitamin A, C, dan E, yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh karena senyawa-senyawa tersebut dapat bertindak sebagai antibakteri, antioksidan dan anti jamur (Islami, D. 2024).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Risna (2023) ekstrak etanol Daun Matoa memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Dimana pada konsentrasi 1% memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,36 mm pada *Staphylococcus aureus* sedangkan pada *Escherichia coli* memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,5 mm.

Penggunaan ekstrak langsung dari tanaman untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang dijadikan bahan antibakteri sudah tidak efektif lagi. Cara yang efisien untuk memperoleh senyawa bioaktif tersebut adalah dengan menggunakan bakteri endofit karena mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya (Radji, 2005).

Beberapa bakteri endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder dapat ditemukan dalam setiap tanaman

tingkat tinggi. Bakteri endofit ini memiliki peluang yang sangat baik dan dapat diandalkan untuk menghasilkan metabolit sekunder dari bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya (Radji, 2005). Bakteri endofit dapat hidup di semua organ tumbuhan, termasuk bunga, buah, daun, batang, akar, dan benih (Marsaoli *et al.*, 2020).

Karena siklus hidup mikroba yang lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya, bakteri endofit dapat digunakan sebagai agensia biofactory untuk menghasilkan berbagai senyawa aktif ini, yang sangat menguntungkan. Ini mengurangi waktu produksi dan memungkinkan pembuatan sejumlah besar senyawa antibakteri dalam skala besar tanpa menghabiskan banyak ruang. Tumbuhan Matoa sudah jarang dijumpai, hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh eksploitasi Matoa secara berlebihan, sedangkan upaya untuk pembudidayaannya tidak dilakukan secara intensif sehingga pemanfaatan pengobatan tumbuhan Matoa kemungkinan besar tidak akan ada lagi (Garuda, 2014).

Oleh karena itu, isolasi bakteri endofit untuk menarik senyawa metabolit sekunder dari Daun Matoa merupakan salah satu cara yang efisien karena tidak membutuhkan banyak bagian tanaman. Pengembangan bakteri endofit penghasil antibakteri membantu menjaga kelestarian tumbuhan obat, terutama tumbuhan langka, agar tidak dieksploitasi secara berlebihan, yang akhirnya akan menyebabkan kepunahan (Prihatiningtias, 2006).

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa Autoklaf, bunsen, batang pengaduk, beaker glass, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, inkubator, LAF (*Laminary Air Flow*), mikroskop, timbangan analitik, ose bulat, pipet, spoit, tabung reaksi, desikator, corong kaca, pinset, bunsen spiritus dan waterbath.

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah Daun Matoa, aquadest steril, tissue, etanol 75%, Natrium hipoklorit 5,3%, NaCl 0,9%, aluminium foil, swab steril, *paper disk*, media Nutrient Agar (NA), reagen pewarnaan gram (kristal violet, iodine, aseton alkohol, safranin), media EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*), media VJA (*Vogel Johnson Agar*), media CETA (*Cetrimide Agar*), media SSA (*Salmonella-Shigella Agar*), media TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*), reagen katalase H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, media SCA (*Simmon's Citrate Agar*), media MRVP, larutan alpha

naphtol, KOH 40, biakan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### Metodologi Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan menentukan Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun matoa (*Pometia pinnata* J. R. & G. Forst) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi agar menggunakan *paper disk*.

### Populasi Dan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah Tanaman Matoa (*Pometia pinnata* J. R. & G. Forst) yang akan diambil dari kelurahan Bongaya, kecamatan Mamajang, kota Makassar. Sampel yang akan digunakan adalah bakteri endofit dari Daun Matoa (*Pometia pinnata* J. R. & G. Forst).

### Isolasi Bakteri Endofit

Daun Matoa segar yang telah dibersihkan dipotong kecil 1-2 cm lalu disterilkan permukaannya menggunakan alkohol 75% dan Natrium Hipoklorit 5% dimana Natrium Hipoklorit untuk membunuh mikroorganisme lain sehingga yang tumbuh hanya bakteri endofit.

Daun Matoa yang telah disterilkan permukaannya kemudian ditanam pada media NA yang mengandung nistatin 0,1% b/v dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Penambahan nistatin pada media bertujuan untuk menghambat pertumbuhan jamur pada media. Bakteri yang ditumbuh disekitar daun di murnikan ke dalam media NA baru dengan metode *streak plate*.

### Fermentasi Bakteri Endofit

Fermentasi bakteri endofit merupakan proses untuk memproduksi lebih banyak sel bakteri sehingga senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan menjadi lebih optimal. Hal-hal yang mempengaruhi proses fermentasi yaitu waktu fermentasi, pH fermentasi, suhu fermentasi, dan kandungan media fermentasi (Nurhelmi & Putri, 2021).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, waktu fermentasi terbaik untuk menghasilkan senyawa metabolit antibakteri yaitu selama 3 sampai 7 hari (Nurayni & Handayani, 2021). Dimana dalam jangka waktu tersebut bakteri sudah memasuki fase stasioner. Fase stasioner merupakan fase dimana laju pertumbuhan sama dengan laju kematian bakteri sehingga hasil jumlah bakteri tersebut secara keseluruhan akan tetap (N. Kartikasari & Purwestri, 2021).

Dimasukkan isolat bakteri endofit yang didapatkan kedalam media cair Nutrient Broth (NB)

lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari untuk mencapai fase stasioner dari bakteri. Serta dilakukan pengocokan agar medium terus bergerak sehingga terjadi aerasi yang dapat mempertahankan pertumbuhan metabolit sekunder dengan adanya oksigen.

Selanjutnya hasil fermentasi diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan metode ekstraksi cair-cair didalam corong pisah untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder dengan media NB yang berisi sel bakteri. Ekstrak kemudian diuapkan untuk selanjutnya digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar, dimana *paper disk* direndam dalam masing-masing ekstrak hasil fermentasi dan DMSO sebagai kontrol negatif. *Paper disk* ditanam diatas media MHA yang telah diinokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Setelah itu diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk.

### Identifikasi Isolat Bakteri Endofit

#### 1. Pengamatan makroskopik

Dengan mengamati morfologi koloni (bentuk, warna, tepian, dan elevasi koloni).

#### 2. Pengamatan mikroskopik

Dilakukan dengan cara pewarnaan gram sebagai berikut: diberi 1 tetes akuades di atas kaca objek yang steril, diambil isolat bakteri endofit menggunakan jarum ose yang telah steril, dihomogenkan, difiksasi diatas api bunsen, ditetesi larutan kristal violet (selama 3 menit), dibilas dengan akuades, ditetesi larutan iodin (selama 3 menit), dibilas dengan akuades, ditetesi aseton alkohol 96 % (selama 10-20 detik), dibilas dengan akuades, terakhir ditetesi dengan larutan safranin (selama 1 menit), dibilas dengan akuades, diamati di bawah mikroskop.

#### 3. Media Selektif

Identifikasi menggunakan media selektif dapat membantu dalam menentukan jenis bakteri dengan cara melihat pertumbuhan koloni yang terdapat pada media selektif yang digunakan. Media selektif yang digunakan pada percobaan ini yaitu media EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) untuk pertumbuhan *Escherichia sp.*, media VJA (*Vogel Johnson Agar*) untuk pertumbuhan *Staphylococcus sp.*, media CETA (*Cetrimide Agar*) untuk pertumbuhan *Pseudomonas sp.*, media SSA (*Salmonella-Shigella Agar*) untuk pertumbuhan *Salmonella* dan *Shigella*, media TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*)

untuk pertumbuhan *Vibrio sp.* Diambil masing-masing 1 ose isolat bakteri endofit lalu digoreskan pada media EMBA, VJA, CETA, SSA, dan TCBSA. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam lalu diamati.

#### 4. Uji Biokimia

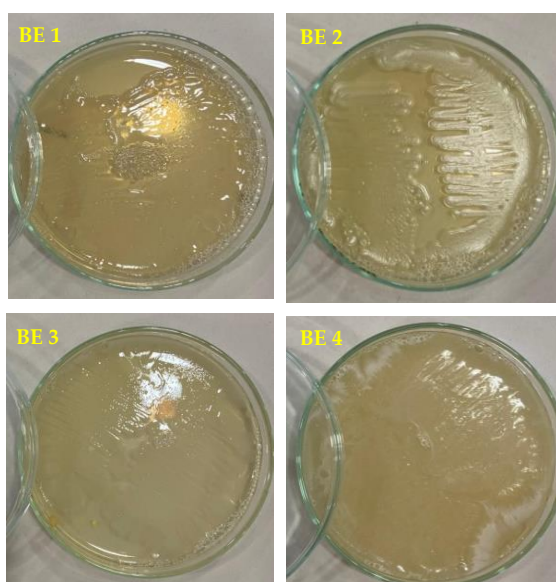
Uji biokimia bakteri adalah serangkaian tes laboratorium yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bakteri berdasarkan aktivitas metabolisme dan sifat biokimianya. Uji-uji ini memberikan informasi tentang kemampuan bakteri dalam memecah senyawa tertentu, menghasilkan enzim spesifik, atau melakukan reaksi biokimia lainnya. Hasil dari uji-uji tersebut kemudian diinterpretasikan untuk mengidentifikasi jenis bakteri.

- Katalase : Disiapkan kaca objek yang telah ditetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Selanjutnya, ditambahkan satu ose bakteri dan diamati terjadinya penguraian hidrogen peroksida.
- Uji Sitrat : Ambil 1 ose isolat bakteri endofit dengan menggunakan ose cincin kemudian diinokulasikan pada media Simmon's Citrate Agar (SCA) lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

- Uji Methyl Red : isolat bakteri endofit diinokulasikan kedalam media MR-VP lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu ditambahkan 3-4 tetes reagen Methyl red. Hasil positif jika berwarna merah, negatif jika berwarna kuning.
- Uji Voges Proskauer : diinokulasi 1 ose isolat bakteri endofit ke dalam MRVP broth. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Dipindahkan sebanyak 1 ml dari setiap MRVP broth yang tumbuh ke dalam tabung reaksi steril dan ditambahkan 0,6 ml larutan alpa naphthol dan 0,2 ml 40% KOH kemudian dikocok. Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda eosin sampai merah mirah delima (ruby).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, dilakukan 2 kali proses pemurnian, yang dari awalnya dihasilkan 5 isolat kemudian dilakukan lagi pemurnian hingga menjadi 4 isolat bakteri endofit. Keempat isolat tersebut yaitu isolat bakteri endofit 1 (BE 1), bakteri endofit 2 (BE 2), bakteri endofit 3 (BE 3), dan bakteri endofit 4 (BE 4), sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pemurnian Isolat Bakteri Endofit dari Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst)

Tujuan pemurnian isolat bakteri endofit adalah untuk memisahkan hasil inokulasi yang terdiri dari banyak koloni yang berlainan jenis sehingga didapatkan koloni murni pada setiap cawan petri (Sadikin et al., 2021). Pemurnian isolat bakteri merupakan proses untuk memisahkan hasil inokulasi yang terdiri dari banyak koloni bakteri yang berlainan jenis sehingga didapat koloni bakteri murni pada setiap biakan bakteri. Pemurnian dilakukan menggunakan metode cawan gores

(Sadikin et al., 2021).

Pada penelitian ini, dilakukan 2x proses pemurnian, yang dari awalnya dihasilkan 5 isolat kemudian dilakukan lagi pemurnian hingga menjadi 4 isolat bakteri endofit. Keempat isolat tersebut yaitu isolat bakteri endofit 1 (BE 1), bakteri endofit 2 (BE 2), bakteri endofit 3 (BE 3), dan bakteri endofit 4 (BE 4).

Semua isolat murni yang ditemukan dilakukan tahap fermentasi. Fermentasi bakteri endofit merupakan proses untuk memproduksi lebih

banyak sel bakteri sehingga senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan menjadi lebih optimal. Hal-hal yang mempengaruhi proses fermentasi yaitu waktu fermentasi, pH fermentasi, suhu fermentasi, dan kandungan media fermentasi (Nurhelmi & Putri, 2021).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, waktu fermentasi terbaik untuk menghasilkan senyawa metabolit antibakteri yaitu selama 3 sampai 7 hari (Nurayni & Handayani, 2021). Dimana dalam jangka waktu tersebut bakteri sudah memasuki fase

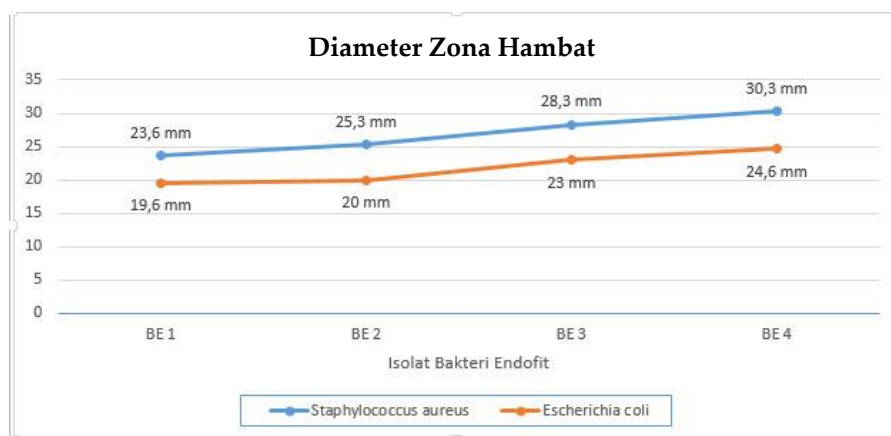
stasioner. Fase stasioner merupakan fase dimana laju pertumbuhan sama dengan laju kematian bakteri sehingga hasil jumlah bakteri tersebut secara keseluruhan akan tetap (N. Kartikasari & Purwestri, 2021). Oleh karena itu, bakteri endofit mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder selama fase stasioner. Isolat bakteri endofit pada penelitian ini difermentasi selama 7 hari agar mencapai fase stasioner dan menghasilkan lebih banyak senyawa metabolit sekunder.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit Dari Daun Matoa (*Pometia Pinnata* J.R. & G. Forst) Terhadap *Staphylococcus Aureus* 1x24 Jam

No.	Isolat Bakteri Endofit	Diameter Zona Hambat			Rata-rata ± SD	Kategori Hambatan
		I	II	III		
1	BE 1	23 mm	24 mm	24 mm	23.66 ± 0.577	Sangat kuat
2	BE 2	25 mm	25 mm	26 mm	25.33 ± 0.577	Sangat kuat
3	BE 3	29 mm	28 mm	28 mm	28.33 ± 0.577	Sangat kuat
4	BE 4	31 mm	30 mm	30 mm	30.33 ± 0.577	Sangat kuat
5	Kontrol negatif	0	0	0	0 ± 0	-

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit dari Daun Matoa terhadap *Escherichia Coli* 1x24 jam

No.	Isolat Bakteri Endofit	Diameter Zona Hambat			Rata-rata ± SD	Kategori Hambatan
		I	II	III		
1	BE 1	20 mm	19 mm	20 mm	19.66 ± 0.577	Kuat
2	BE 2	18 mm	20 mm	22 mm	20 ± 2	Kuat
3	BE 3	22 mm	23 mm	24 mm	23 ± 1	Sangat Kuat
4	BE 4	25 mm	24 mm	25 mm	24.66 ± 0.577	Sangat Kuat
5	Kontrol negatif	0	0	0	0 ± 0	-



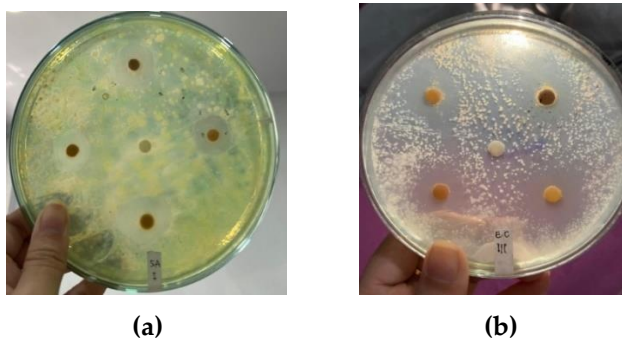
Keterangan: (BE 1) Bakteri Endofit 1, (BE 2) Bakteri Endofit 2, (BE 3) Bakteri Endofit 3, (BE 4) Bakteri Endofit 4

Gambar 2. Diameter Zona Hambat

Berdasarkan hasil pengamatan yang dapat dilihat pada diagram grafik diatas (Gambar 2), didapatkan rata-rata diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* pada isolat BE 1 yaitu 23,6 mm, pada isolat BE 2 sebesar 25,3 mm, pada isolat BE 3 sebesar 28,3 mm, dan pada isolat BE 4 sebesar 30,3 mm. Sedangkan rata-rata diameter zona hambat terhadap *Escherichia coli* pada isolat BE 1 yaitu 19,6

mm, pada isolat BE 2 sebesar 20 mm, pada isolat BE 3 sebesar 23 mm, dan pada isolat BE 4 sebesar 24,6 mm. Dari hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri endofit dari Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Adapun pada kontrol negatif DMSO tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat yang

membuktikan bahwa pelarut ini tidak memiliki aktivitas antibakteri.



Gambar 3. (a) Diameter Zona Hambat terhadap *Staphylococcus aureus* (cawan 150mm x 15mm); (b) Diameter Zona Hambat terhadap *Escherichia coli* (cawan 100mm x 15mm)

Pembentukan zona bening menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit Daun Matoa mengandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Semakin luas zona bening yang terbentuk maka semakin kuat senyawa bioaktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Suatu zat dikatakan sebagai senyawa bioaktif karena memiliki potensi sebagai antibakteri (Seko *et al.*, 2021).

Dari hasil pengamatan dapat dilihat bahwa rata-rata diameter zona hambat pada *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan dengan diameter zona hambat pada *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan kedua bakteri tersebut berbeda jenis gram dimana *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif sedangkan *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif. Penghambatan senyawa antibakteri lebih efektif terhadap gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Hal ini disebabkan karena perbedaan penyusunan dinding sel kedua bakteri tersebut (Anggrella *et al.*, 2014).

Pada bakteri gram positif struktur dinding selnya lebih sederhana daripada gram negatif. Dinding sel *Staphylococcus aureus* terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam teikoat yang berfungsi sebagai penyedia ion untuk sel, pada bagian dari dinding sel gram positif tidak terdapat membran luar yang melindungi sel dari pengaruh lingkungan.

Dinding sel gram negatif terdiri dari lipoprotein, membran luar, dan lapisan peptidoglikan yang tipis, dengan adanya lapisan luar menyebabkan gram negatif terlindungi dari pengaruh lingkungan yang dapat merusak sel. Selaput luar menyebabkan molekul antibiotik menembus sel bakteri lebih lambat, hal ini yang

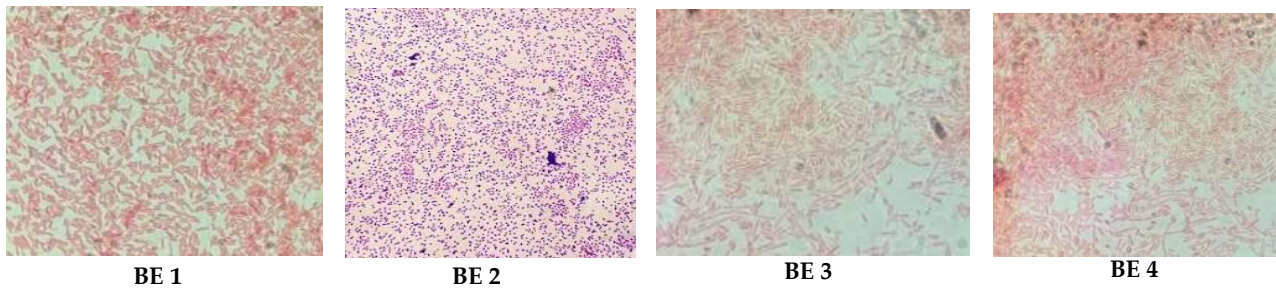
menyebabkan gram negatif relatif lebih resisten terhadap senyawa antibakteri (Anggrella *et al.*, 2014).

Isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri kemudian dilanjutkan pada tahap identifikasi untuk mengetahui jenis dari isolat bakteri endofit tersebut. Dapat dilihat pada Gambar 1 Isolat BE 1 memiliki penampakan makroskopik koloni tidak berwarna atau bening transparan, bentuk tidak beraturan, permukaan cembung, dan tepian bergelombang. Isolat BE 2 memiliki penampakan mikroskopik koloni berwarna putih agak krem, bentuk bulat besar, permukaan cembung, dan tepian bulat rata.

Kemudian untuk isolat BE 3 memiliki penampakan makroskopik koloni tidak berwarna atau bening transparan, bentuk seperti akar, permukaan lebih cembung, dan tepian bergerigi. Dan yang terakhir isolat BE 4 memiliki penampakan makroskopik koloni tidak berwarna tetapi tepian putih, berbentuk seperti benang, permukaan rata, dan tepian bergerigi.

Dari hasil pewarnaan gram, didapatkan 3 isolat bakteri endofit yang mendapatkan zat warna merah safranin sehingga dikategorikan kedalam bakteri gram negatif. Isolat tersebut ialah BE 1, BE 3, dan BE 4 dimana ketiganya memiliki morfologi sel berbentuk batang atau basil. Sedangkan isolat BE 2 mempertahankan zat warna kristal violet sehingga termasuk kedalam bakteri gram positif dan memiliki morfologi sel berbentuk bulat atau coccus. Kristal violet merupakan pewarna utama yang digunakan dalam pewarnaan gram yang akan meninggalkan warna ungu pada dinding sel. Dekolorisasi pewarna yang melekat pada peptidoglikan bakteri dilakukan dengan membilas preparat bakteri dengan menggunakan alkohol. Pencucian menggunakan alkohol juga dapat mendehidrasi peptidoglikan dan pori peptidoglikan mengkerut untuk mencegah terlepasnya kompleks kristal violet, sehingga bakteri

gram positif akan tetap berwarna ungu dan gram negatif berwarna merah (Irawati *et al.*, 2022).



**Keterangan:** (BE 1) Morfologi berbentuk Basil dan Termasuk Gram Negatif, (B) BE 2: Morfologi berbentuk Coccus dan Termasuk Gram Positif, (C) BE 3: Morfologi berbentuk Basil dan termasuk Gram Negatif, (D) BE 4: Morfologi berbentuk Basil dan termasuk Gram Negatif

Gambar 4. Hasil Identifikasi Mikroskopik

Tabel 3. Hasil Uji Bakteri Endofit pada Media Selektif

No.	Media Selektif	Isolat Bakteri Endofit				Literatur
		BE 1	BE 2	BE 3	BE 4	
1	CETA					Warna kehijauan pada agar
2	VJA					Media warna kuning, koloni bulat, cembung, berwarna hitam
3	EMBA					Koloni bulat, cembung, ungu gelap disertai kilap logam
4	SSA					<ul style="list-style-type: none"> <li>- Salmonella: Koloni bening bintik hitam</li> <li>- Shigella : Koloni bening tanpa bintik hitam</li> </ul>
5	TCBS	Tidak ada pertumbuhan koloni pada media				

**Keterangan:** CETA (Cetrimide Agar), VJA (Vogel Johnson Agar), EMBA (Eosin Methylene Blue Agar), (SSA) Salmonella-Shigella Agar, (TCBS) Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar

Selanjutnya dilakukan identifikasi menggunakan media selektif. Pengujian ini dapat membantu dalam menentukan jenis bakteri dengan cara melihat pertumbuhan koloni yang terdapat pada

media selektif yang digunakan. Media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) adalah media selektif dan media diferensial untuk menumbuhkan bakteri gram negatif dan pada umumnya digunakan untuk

isolasi dan diferensiasi bakteri non fecal coliform dan fecal coliform (Atmojo, 2019). Media ini merupakan media selektif untuk menumbuhkan bakteri anggota genus *Escherichia* (Sari et al., 2019).

Berdasarkan literatur, koloni yang positif pada media EMBA memiliki ciri-ciri yaitu koloni bulat, cembung, warna ungu gelap disertai kilap logam (Akhnah, 2022). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, salah satu isolat bakteri endofit memiliki ciri-ciri tersebut yaitu isolat BE 1 sehingga diduga merupakan *Escherichia sp.*

Media *Vogel Johnson* (VJA) adalah media selektif dan diferensial yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus*. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pertumbuhan *Staphylococcus* pada media VJA memiliki ciri-ciri yaitu media warna kuning, koloni bulat, cembung, dan berwarna hitam (Alverina et al., 2023). Isolat yang memiliki ciri-ciri sangat dekat yaitu

isolat BE 2 sehingga diduga sebagai *Staphylococcus sp.*

Media *Cetrimide Agar* (CETA) adalah media yang digunakan untuk mengidentifikasi *Pseudomonas*. Pertumbuhan koloni pada media CETA dikatakan memiliki ciri-ciri perubahan warna media dari bening menjadi kehijauan (ivada Ali, 2022). Terdapat 2 isolat yang mana medianya berubah menjadi warna kehijauan yaitu isolat BE 3 dan BE 4 sehingga keduanya diduga merupakan *Pseudomonas sp.*

Adapun pada media SSA disebutkan bahwa koloni yang tumbuh bening dan berbintik hitam merupakan *Salmonella sp.* sedangkan koloni bening tanpa bintik hitam merupakan *Shigella sp.* (Apriani et al., 2019). Dari hasil penelitian, tidak didapatkan isolat yang tumbuh dengan ciri-ciri tersebut dan pada media TCBSA tidak didapatkan pertumbuhan koloni sehingga dapat disimpulkan bahwa keempat isolate bukan merupakan bakteri genus *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, dan *Vibrio sp.*

Tabel 4. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Endofit Daun Matoa

No.	Parameter Pengujian	Isolat Bakteri Endofit			
		BE 1	BE 2	BE 3	BE 4
1	Makroskopik	- Bentuk: tidak beraturan - Warna: bening transparan - Permukaan : cembung - Tepi: bergelombang	- Bentuk: bulat besar - Warna: putih agak krem - Permukaan : cembung - Tepi: rata	- Bentuk: akar - Warna: bening transparan - Permukaan : cembung - Tepi: bergerigi	- Bentuk: benang - Warna: putih rata - Tepi: bergerigi
2	Morfologi Sel	Basil	Coccus	Basil	Basil
3	Pewarnaan Gram	Negatif	Positif	Negatif	Negatif
4	Selektif EMBA	+	-	-	-
5	Selektif VJA	-	+	-	-
6	Selektif CETA	-	-	+	+
7	Selektif SSA	-	-	-	-
8	Selektif TCBSA	-	-	-	-
9	Uji Katalase	-	+	+	+
10	Uji Sitrat	-	+	+	+
11	Uji MR	+	+	+	+
12	Uji VP	-	+	-	-
13	Jenis Bakteri	<i>Escherichia sp.</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>

Untuk memperkuat dugaan jenis bakteri dari keempat isolat bakteri endofit yang ada maka dilakukan uji biokimia. Uji biokimia bakteri adalah serangkaian tes laboratorium yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bakteri berdasarkan aktivitas metabolisme dan sifat biokimianya.

Uji Katalase adalah metode yang digunakan untuk mendeteksi adanya enzim katalase dalam

suatu organisme, terutama bakteri. Dikatakan positif jika terbentuk gelembung udara dan negatif jika tidak ada gelembung (Wadjudy & Setiadi, 2019). Dari hasil penelitian didapatkan 3 isolat positif menghasilkan gelembung yaitu isolat BE 2, BE 3, dan BE 4 sedangkan isolat BE 1 tidak menghasilkan gelembung atau negatif. Berdasarkan uji pada media selektif sebelumnya, BE 1 diduga merupakan bakteri *Escherichia sp.* dan berdasarkan penelitian

sebelumnya *Escherichia sp.* tidak menghasilkan gelembung pada uji katalase (Gunawan et al., 2022).

Adapun BE 2 yang diduga sebagai *Staphylococcus sp.* pada uji katalase menghasilkan gelembung yang sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa *Staphylococcus sp.* menghasilkan gelembung pada uji katalase (Hayati et al., 2019). Sedangkan BE 3 dan BE 4 yang diduga *Pseudomonas sp.* juga menghasilkan gelembung pada uji katalase yang sejalan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya (Masdini & Effendi, 2019). Sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat BE 2, BE 3, dan BE 4 dapat menghasilkan enzim katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Amalia et al., 2022).

Uji sitrat adalah metode yang digunakan untuk menentukan kemampuan suatu mikroorganisme dalam memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Hasil positif jika terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru yang menandakan terjadi peningkatan pH (Kartikasari et al., 2019). Dari hasil penelitian didapatkan 3 media berubah menjadi hijau yaitu media yang ditumbuhi isolat BE 2, BE 3, dan BE 4 sedangkan pada isolat BE 1 tidak ada perubahan warna atau tetap hijau.

Hasil dari uji sitrat ini sejalan dengan penelitian sebelumnya dimana *Escherichia sp.* negatif uji sitrat yang berarti medianya tetap berwarna hijau (Gunawan et al., 2022) sama dengan BE 1. *Staphylococcus sp.* menghasilkan perubahan warna media dari hijau menjadi biru yang artinya positif (Hayati et al., 2019) sama dengan BE 2. Sedangkan *Pseudomonas sp.* juga positif uji sitrat yaitu media berubah menjadi biru (Masdini & Effendi, 2019) sama dengan BE 3 dan BE 4. Sehingga dapat disimpulkan bahwa BE 2, BE 3, dan BE 4 memiliki kemampuan menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon yang dapat menaikkan pH dan mengubah warna medium biakan dari hijau menjadi biru (Apriyanthi et al., 2022).

Uji Methyl Red (MR) adalah salah satu metode dalam biokimia mikrobiologi untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan kemampuan mereka dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. Hasil positif jika media MR-VP berubah menjadi merah setelah penambahan Methyl Red, ini menunjukkan bahwa bakteri telah memfermentasi glukosa dengan menghasilkan asam yang cukup untuk menurunkan pH media di bawah 4,4. Artinya, bakteri tersebut adalah penghasil asam kuat. Hasil negatif (kuning) menunjukkan bakteri tidak

menghasilkan asam atau menghasilkan asam dalam jumlah kecil (Nuryanti et al., 2021).

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan semua isolat bakteri endofit positif uji MR. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya dimana bakteri *Escherichia sp.*, *Staphylococcus sp.*, dan *Pseudomonas sp.* positif uji Methyl Red. Yang artinya bakteri-bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa (Gunawan et al., 2022; Hayati et al., 2019; Masdini & Effendi, 2019).

Uji Voges-Proskauer (VP) adalah salah satu metode biokimia yang digunakan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam memproduksi asetil metil karbinol (acetoin) dari fermentasi glukosa. Bakteri yang positif VP akan memfermentasi glukosa menjadi asetoin (asetil metil karbinol). Asetoin kemudian dioksidasi menjadi diasetil dalam kondisi basa. Diacetyl bereaksi dengan alpha-naphtol dan kreatin (dari pepton) membentuk kompleks berwarna merah. Reaksi positif jika terbentuk warna merah muda eosin sampai merah mirah delima (ruby) (Nuryanti et al., 2021).

Berdasarkan hasil penelitian, salah satu isolat bakteri endofit positif karena terbentuk warna merah muda yaitu pada isolat BE 2. Sedangkan pada isolat BE 1, BE 3, dan BE 4 hasilnya negatif. Pada uji menggunakan media selektif VJA, BE 2 diduga sebagai *Staphylococcus sp.* positif uji vp dimana pada penelitian sebelumnya mengatakan bahwa bakteri *Staphylococcus sp.* memiliki kemampuan dalam menghasilkan produk akhir non-asam atau netral seperti asetil metil karbinol atau positif uji VP (Hayati et al., 2019).

Sedangkan pada isolat BE 1, BE 3, dan BE 4 yang diduga *Escherichia sp.* dan *Pseudomonas sp.* negatif uji VP. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa *Escherichia sp.* dan *Pseudomonas sp.* tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan produk akhir non-asam atau netral seperti asetil metil karbinol (Gunawan et al., 2022; Masdini & Effendi, 2019).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. & G. Forst) memiliki 4 isolat bakteri endofit yaitu BE 1, BE 2, BE 3, dan BE 4. Keempat isolat bakteri endofit memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Adapun isolat BE 1 diduga merupakan bakteri *Escherichia sp.*, isolat BE 2 memiliki kemiripan dengan bakteri *Staphylococcus*

*sp.*, sedangkan isolat BE 3 dan BE 4 dianggap memiliki kesamaan dengan bakteri *Pseudomonas sp.*

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alverina, Y. T. X., Widyaswara, G., & Sari, A. N. (2023). Uji Efektivitas Handsanitizer Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus sp* dan *Pseudomonas sp* pada Layar Smartphone. *Jurnal Kesehatan Rajawali*, 12(2), 28–30. <https://doi.org/10.54350/jkr.v12i2.150>
- Amalia, D., Rahmi, N. N., Hidayati, N., Oktaviana, R., Aurora, Z. F., Supriatno, B., & Anggraeni, S. (2022). Pengaruh Volume Substrat Terhadap Kerja Enzim Katalase Menggunakan Respirometer Ganong Sebagai Rekonstruksi Desain Kegiatan Praktikum Siswa. *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, 5(2), 7–12. <https://jurnal.uisu.ac.id/index.php/best/article/view/5361>
- Anggrella, D. P., Waluyo, J., & Wahyuni, D. (2014). Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Alpukat ( *Persea americana* Mill . ) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dengan *Staphylococcus*. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*, 1–5. <https://repository.unej.ac.id/handle/123456789/73033>
- Apriani, L., Rahmawati, R., & Kurniatuhadi, R. (2019). Deteksi Bakteri *Salmonella* Dan *Shigella* Pada Makanan Burger Di Sungai Raya Dalam Pontianak. *Jurnal Protobiont*, 8(3), 53–57. <https://doi.org/10.26418/protobiont.v8i3.36836>
- Apriyanti, D. P. R. V., Laksmita, A. S., & Widayanti, N. P. (2022). Identifikasi Bakteri Kontaminasi pada Gelang Tri Datu. *Jurnal Biologi Makassar*, 7(2), 24–33. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Atmojo, A. . (2019). Media EMB Agar. In *Indonesian Medical Laboratory*.
- Gunawan, Kholik, & Dwi Agustin, A. L. (2022). Profil Uji Biokimia Hasil Isolasi *Escherichia coli* pada Feses, Air Minum Dan Air Saluran Buangan Kandang Sapi Bali Di Kelompok Tani Ternak Menemeng (KT2M) Kabupaten Lombok Tengah. *Mendelika Veterinary Journal*, 2(18), 35–48. <https://doi.org/10.33394/MVJ.V1I2.2021.1-6>
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolation and Identification of *Staphylococcus aureus* in Dairy Milk of The Etawah Crossbred Goat with Subclinical Mastitis in Kalipuro Village, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76–82. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>
- Irawati, W., Ambarita, P. P., Sihombing, D. L., Ruth Advenita, V. E. S., & Marvella, E. B. (2022). Isolation and characterization of indigenous copper resistant bacteria from Yogyakarta tannery factory waste. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(3), 795–802. <https://doi.org/10.29303/jbt.v22i3.3621>
- Islami, D. (2024). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Buah Matoa (*Pometia Pinnata* J.R.Forst. & G.FORST). *Jurnal Aisyiyah Medika*, 9(1), 91–101.
- ivada Ali. (2022). *Cemran Mikroba Pada Masker Organik* DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/2trik12311> *Cemaran Bakteri*. 12(2), 267–274.
- Kartikasari, A. M., Hamid, I. S., Purnama, M. T. E., Damayanti, R., Fikri, F., & Praja, R. N. (2019). Isolation And Identification Of *Escherichia coli* As Bacterial Contamination In Broiler Chicken Meat In Poultry Slaughterhouse Lamongan District. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 66–71. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss1.2019.66-71>
- Masdini, A., & Effendi, I. (2019). Density OF *Pseudomonas sp.* Bacteria and Heterotrophic Bacteria In Dumai Seawater Of Riau Province. *Jurnal Universitas Riau*, 1(1), 1–12.
- Nuryanti, S., Fitriana, F., & Pratiwi, A. R. (2021). Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Selulosa Dari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 13(1), 71–79. <https://doi.org/10.33096/jifa.v13i1.768>
- Radji, M. (2005). Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. In *Majalah Ilmu Kefarmasian* (3rd ed., pp. 113–126).
- Rizka, Indah, H., & Seta, I. (2019). Pola Kepekaan Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Anak Terhadap Antimikroba Indri. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 47(2), 85–90.
- Sari, D. P., Rahmawati, & Wardoyo, E. R. P. (2019). Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri Coliform Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya. *Jurnal Labora Medika*, 3(1).
- Seko, M., Sabuna, A. C., & Ngginak, J. (2021). Ajeran Leaves Ethanol Extract (*Bidens pilosa* L) As An Antibacterial *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biosains*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.24114/jbio.v7i1.22671>
- Wadjdjy, E. F., & Setiadi. (2019). Pada Ikan Toman ( *Channa micropeltes* ). *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(2), 155–159.
- Widiyastuti, S. F., & Soleha, T. U. (2023). Faktor

Faktor Yang Mempengaruhi Terjadinya Infeksi Saluran Kemih. *Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, 13, 1069–1073. <https://journalofmedula.com/index.php/medula/article/view/825/670>

Xu, K., Wang, Y., Jian, Y., Chi Chen, T., Liu, Q., Wang, H., Li, M., & Dia, L. (2023). Staphylococcus aureus ST1 promotes persistent urinary tract infection by highly expressing the urease. *Front Microbiol*, 14. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1101754>