

ARTIKEL

KERAGAMAN DAN POTENSI BAKTERI ENDOFIT MATOA (*Pometia pinnata*) SEBAGAI PENGHASIL AGEN ANTIMIKROBA

[*Diversity and Antimicrobial Agent-Producing Potential of Endophytic Bacteria from Matoa (Pometia pinnata)*]

Isra Janatiningrum^{1*}, Lailatun Najah¹, Intan Permatasari¹, Fitriyanti^{1,2}, Vivi Anggia¹, Eka Putri¹

¹Pharmacy Study Program, Faculty of Health Sciences, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, South Tangerang 15419, Indonesia

²Graduate student of Chemistry Department, IPB University, Bogor, West Java, 16680

ABSTRAK

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup pada jaringan tanaman tanpa menimbulkan dampak negatif, namun memberikan manfaat bagi inangnya. Matoa (*Pometia pinnata*) diketahui memiliki senyawa antimikroba. Senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman tidak terlepas dari interaksinya dengan mikroba endofit yang hidup di jaringan tanaman. Meningkatnya resistensi antibiotik menyebabkan pencarian senyawa antibiotik terus dilakukan. Bakteri endofit dari *P. pinnata* diharapkan dapat menjadi sumber senyawa antibiotik baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengetahui keanekaragaman bakteri endofit tanaman matoa yang dapat dikulturkan, dan mengetahui potensinya sebagai antimikroba. Metode skrining untuk mengetahui aktivitas antimikroba menggunakan metode agar plug dan metode difusi cakram. Hasil isolasi bakteri endofit dari tanaman matoa diperoleh 32 isolat bakteri. Karakterisasi morfologi dari 32 isolat bakteri endofit yang diperoleh menunjukkan bahwa warna koloni terbanyak adalah *signal white*, *traffic yellow* dan *light pink*. Uji skrining aktivitas antimikroba diperoleh 2 isolat yang mempunyai daya hambat terhadap seluruh mikroba uji yaitu DMS4 dan PK1. Ekstrak isolat DMS4 dan PK1 diuji antimikroba, hasilnya menunjukkan adanya penghambatan pada konsentrasi 1000 ppm pada ekstrak etil asetat. Berdasarkan analisis sekuensing gen 16S rRNA isolat PK1 mempunyai kemiripan 99,18% dengan *Stenotrophomonas rhizophila* dan DMS4 99,85% mirip dengan *Brucella haematophila*.

Kata Kunci: antimikroba, endofit, *Pometia pinnata*, 16S rRNA

ABSTRACT

Endophytic bacteria are microorganisms that can live within plant tissues without causing negative effects, and often provide benefits to their host plants and the surrounding environment. Pometia pinnata is known to contain antimicrobial compounds. The production of secondary metabolites in plants is closely linked to their interactions with endophytic microbes residing in plant tissues. The rising issue of antibiotic resistance has led to continued efforts in the search for new antibiotic compounds. It is hoped that endophytic bacteria from P. pinnata could serve as a potential source of such compounds. This research aims to isolate and determine the diversity of culturable endophytic bacteria from P. pinnata, as well as evaluate their antimicrobial potential. The screening methods used to assess antimicrobial activity were the agar plug method and the disc diffusion method. Isolation of endophytic bacteria yielded 32 isolates. Morphological characterization showed that most colonies were signal white, traffic yellow, or light pink in color. The antimicrobial screening identified two isolates—DMS4 and PK1—that inhibited the growth of all tested microbes. Crude extracts of the DMS4 and PK1 isolates were further tested for antimicrobial activity, and both showed inhibition at a concentration of 1000 ppm in the ethyl acetate extract. Based on 16S rRNA gene sequencing analysis, isolate PK1 showed 99.18% similarity to Stenotrophomonas rhizophila, while DMS4 showed 99.85% similarity to Brucella haematophila.

Keywords: Antimicrobial, Endophytes, Pometia pinnata, 16S rRNA

PENDAHULUAN

Organisasi kesehatan dunia (WHO) memperkirakan resistensi antimikroba akan meningkat menjadi pembunuh nomor 1 di dunia pada tahun 2050. Resistensi antibiotik disebabkan oleh mutasi genetik yang dilakukan mikroba agar dapat bertahan hidup pada cekaman lingkungan yang tinggi. Pencarian sumber antimikroba baru terus dilakukan. Salah satu sumber antimikroba yang banyak diteliti akhir-akhir ini adalah mikroba yang hidup pada jaringan tanaman atau dikenal dengan nama mikroba endofit. Beberapa senyawa antibiotik telah banyak dikembangkan dari mikroba endofit seperti *Kakadumycins munumbicins*, *pseudomycins*, *ecomycins*, dan *xiamycins*

Mikroba endofit hidup di dalam jaringan tanaman yang sehat tanpa menimbulkan gejala atau kerusakan jaringan pada inangnya (Eshboev *et al.*, 2024). Mikroba yang menghabiskan sebagian atau seluruh siklus hidupnya dalam ruang intraseluler atau interseluler jaringan tanaman yang sehat biasanya dianggap sebagai endofit (Wilson 1995). Endofit hidup diruang antar sel yang mengandung nutrisi dalam jumlah tinggi (Monika *et al.*, 2020). Berbeda dengan patogen yang dapat menimbulkan efek negatif, sebaliknya mikroba endofit dapat memberikan manfaat bagi tanaman inang dan lingkungannya. Mikroba endofit dapat membantu tanaman inang menghilangkan stres hara dengan memperbaiki nitrogen dan menginduksi hormon pertumbuhan (Raut dan Kulkarni, 2018). Beberapa bakteri juga bermanfaat sebagai biokontrol yang dapat melawan bakteri patogen, beradaptasi terhadap kekeringan, salinitas serta tekanan biologis dan abiotik lainnya (Mukherjee *et al.*, 2014). Hasil dari asosiasi dan koevolusi endofit-inang yang erat, mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa aktif yang memiliki nilai farmakologis (Akinsanya *et al.*, 2015, Janatiningrum *et al.*, 2018). Penggunaan mikroba endofitik dalam menghasilkan senyawa aktif memiliki beberapa keuntungan, antara lain produksi senyawa yang lebih cepat dengan kualitas yang seragam, dapat diproduksi dalam skala besar, serta kemungkinan diperolehnya komponen bioaktif baru dengan memberikan kondisi yang berbeda (Sarjono *et al.*, 2019). Bakteri endofit dapat ditemukan pada bunga, daun, akar, biji, dan batang tanaman (Qin *et al.*, 2009).

Bakteri endofit mempunyai potensi yang cukup besar sebagai sumber senyawa bioaktif khususnya antimikroba. Bakteri endofit yang diisolasi dari *Dendrobium* berpotensi sebagai antimikroba (Wang *et al.*, 2019). Strain bakteri endofit yang diisolasi dari *Glycyrrhiza uralensis* memiliki aktivitas antimikroba terhadap patogen jamur dan bakteri patogen (Gu *et al.*, 2021). Masih banyak tanaman lain yang belum tereksplorasi potensi bakteri endofitnya, termasuk tanaman *P. pinnata*. *P. pinnata* merupakan tanaman buah Indonesia yang telah diteliti memiliki beragam senyawa bioaktif (Fatimah *et al.*, 2021, Hajar *et al.*, 2021). Beberapa penelitian sebelumnya telah menemukan bahwa *P. Pinnata* memiliki senyawa bioaktif berupa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Razoki, 2023; Rossalinda *et al.*, 2021). Tanaman ini diduga juga menjadi

inang bagi bakteri endofit dengan kemampuan serupa. Meskipun *P. pinnata* sudah dikenal luas, namun informasi terkait mikroba endofitnya belum banyak diteliti sebelumnya sehingga penelitian tentang kemampuan bakteri endofit *P. pinnata* sebagai agen antimikrob perlu dilakukan.

Berdasarkan berbagai temuan tersebut, dapat disimpulkan bahwa bakteri endofit memiliki potensi besar sebagai sumber senyawa bioaktif, terutama antimikroba. *P. pinnata* merupakan salah satu tanaman yang diketahui mengandung senyawa antimikroba dan diduga menjadi inang bagi bakteri endofit dengan kemampuan serupa. Namun, hingga saat ini informasi mengenai keberadaan dan potensi bakteri endofit dari *P. pinnata* masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian mengenai kemampuan bakteri endofit yang berasal dari *P. pinnata* sebagai agen antimikroba perlu dilakukan untuk menggali potensi senyawa bioaktif baru yang dapat berkontribusi dalam mengatasi masalah resistensi antimikroba secara berkelanjutan.

BAHAN DAN METODE

Pengumpulan sampel tanaman

Sampel tanaman matoa diambil dari perkebunan matoa kota Pekanbaru provinsi Riau, Indonesia. Bagian tanaman matoa yang diambil untuk penelitian ini adalah buah, kulit buah, dan daun. Sampel tanaman matoa sebagian diisolasi bakteri endofitnya dan sebagian lagi di determinasi oleh Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia dan Herbarium Depokensis (UIDEP).

Sterilisasi permukaan sampel tanaman

Sampel tanaman matoa (buah, kulit buah, dan daun) dicuci bersih permukaannya dengan air mengalir lalu dikering anginkan. Setelah itu, masing-masing sampel ditimbang sebanyak 1 g untuk dilakukan sterilisasi. Sterilisasi permukaan sampel tanaman dilakukan dengan cara menrendam dalam alkohol 70% selama 1 menit, lalu direndam kedalam larutan NaOCl 1% selama 5 menit, kemudian direndam kembali dalam alkohol 70% selama 1 menit dan terakhir dibilas sebanyak 3 kali dengan aquadest steril. Sampel yang telah di sterilisasi kemudian dikeringkan anginkan dalam kondisi steril (Janatiningrum *et al.*, 2022).

Isolasi bakteri endofit

Masing-masing sampel bagian tanaman matoa yang telah disterilisasi permukaannya kemudian dihaluskan menggunakan lumpang dan alu. Setelah halus sampel diencerkan menggunakan metode *serial dilution* menggunakan larutan fisiologis (NaCl 0,9%) sebanyak tiga kali. Sampel yang telah diencerkan kemudian diambil 0.1 mL lalu disebar pada media Hemic-acid Vitamin Agar sebanyak 0,1 mL (0,5 g Na₂HPO₄, 1,71 g KCl, 0,05 g MgSO₄.7H₂O, 0,01 g FeSO₄.7H₂O, 0,02 g CaCO₃ dan 18 g agar) (Hayakawa dan Nonomura, 1987). Selanjutnya, cawan petri diinkubasi pada suhu 25-28°C hingga 7 - 30 hari untuk mengisolasi bakteri endofit (Fitri, 2018). Jumlah koloni dihitung dan dinyatakan dalam satuan pembentuk koloni (CFU)/g jaringan. Koloni yang telah tumbuh dihitung dan diseleksi berdasarkan perbedaan morfologinya seperti warna, ukuran dan bentuk (Ashkan dan Bleakley, 2017).

Karakterisasi morfologi isolat bakteri endofit

Koloni bakteri yang tumbuh kemudian dimurnikan menggunakan media yeast malt agar dengan metode 4 kuadran. Isolat yang telah murni kemudian dikarakterisasi morfologinya secara mikroskopik dan makroskopik. Karakterisasi morfologi secara makroskopis dilihat berdasarkan kenampakan koloni bakteri yang tumbuh termasuk warna dan pigmentasi pada substrat. Sedangkan karakterisasi morfologi secara mikroskopis dilakukan dengan cara observasi menggunakan mikroskop pada perbesaran 4 x 10 (Janatiningrum *et al.*, 2018).

Skrining aktivitas antimikroba isolat bakteri endofit

Uji aktivitas antibakteri menggunakan bakteri patogen *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 1705, dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Sedangkan uji aktivitas antifungi menggunakan fungi patogen *Candida albicans* ATCC 10231 yang diperoleh dari Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Isolat patogen sebelumnya dikonfirmasi menggunakan pewarnaan Gram dan diremajakan, Uji aktivitas antimikroba menggunakan metode *plug agar* (Elleuch *et al.*, 2012). Bakteri patogen yang berumur 24 jam diukur kekeruhannya dan dibandingkan absorbansinya dengan larutan McFarland 0.5 atau setara dengan 10^8 CFU/mL. Suspensi bakteri kemudian diambil sebanyak 1 mL kedalam 100 mL media nutrient agar (NA) yang akan digunakan untuk pengujian lalu dihomogenkan dan dituang kedalam cawan petri. Isolat bakteri endofit yang akan digunakan diremajakan lalu dipotong menggunakan *cork borer* dengan diameter 5 mm. Plug agar tersebut kemudian diletakkan diatas media NA yang telah berisi bakteri patoge dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengujian antifungi menggunakan metode plug agar yang diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Pengamatan zona hambat dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat dan indeks zona bening dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Janatiningrum dan Lestari, 2022) (Fitri dan Rahayu, 2018).

$$\text{Diameter zona hambat (d)} = \frac{d_1+d_2+d_3}{3}$$

Keterangan:

d = diameter zona hambat

d1 = diameter zona hambat 1

d2 = diameter zona hambat 2

d3 = diameter zona hambat 3

$$\text{Indeks zona hambat (IZH)} = \frac{d \text{ Koloni zona hambat} - d \text{ Koloni bakteri}}{d \text{ Koloni bakteri}}$$

Keterangan:

IZH = Indeks Zona Hambat

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari bakteri endofit

Isolat terpilih yang memiliki indeks zona hambat terbesar kemudian diekstraksi untuk mengambil senyawa metabolit sekundernya. Fermentasi dilakukan menggunakan media *malt yeast broth* (200 ml) selama 5 hari pada suhu $\pm 28^\circ\text{C}$ - 30°C dengan kondisi aerobik menggunakan inkubator *shaker* (120 rpm). Setelah inkubasi, kultur disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk memisahkan biomassa dan supernatan. Supernatan yang didapatkan kemudian diekstraksi dengan etil asetat perbandingan (1:1) menggunakan metode maserasi sebanyak 3 kali selama 2 jam. Fase etil asetat dan supernatam dipisahkan menggunakan corong pisah, kemudian ekstrak etil asetat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (Musa *et al.*, 2020).

Uji aktivitas antimikroba ekstrak bakteri endofit dengan metode difusi cakram

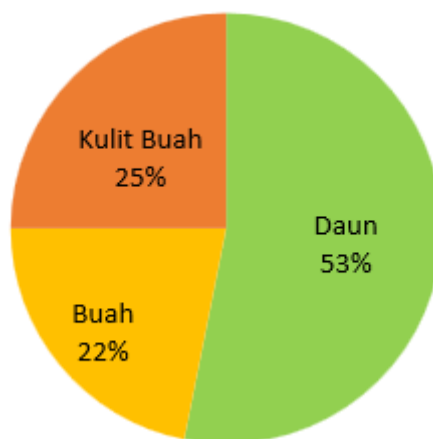
Aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan teknik difusi cakram Kirby-Bauer terhadap patogen bakteri. Ekstrak etil asetat dari bakteri endofit matoa dilarutkan dalam DMSO 1% lalu masing-masing ekstrak dibuat serial konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm dan 62,5 ppm. Pengujian menggunakan bakteri dan fungi yang sama dengan metode skrining sebelumnya. Metode difusi cakram menggunakan cakram kosong steril (6 mm) yang ditetaskan sampel, kemudian dibiarkan mengering pada suhu ruang lalu diletakan diatas media NA/PDA yang telah diinokulasi menggunakan bakteri dan fungi patogen. Pengujian menggunakan kloramfenikol 30 ppm sebagai kontrol positif dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk dianggap sebagai aktivitas penghambatan (Ngamsurach dan Praipipat, 2022).

Identifikasi molekuler dengan gen 16S rRNA

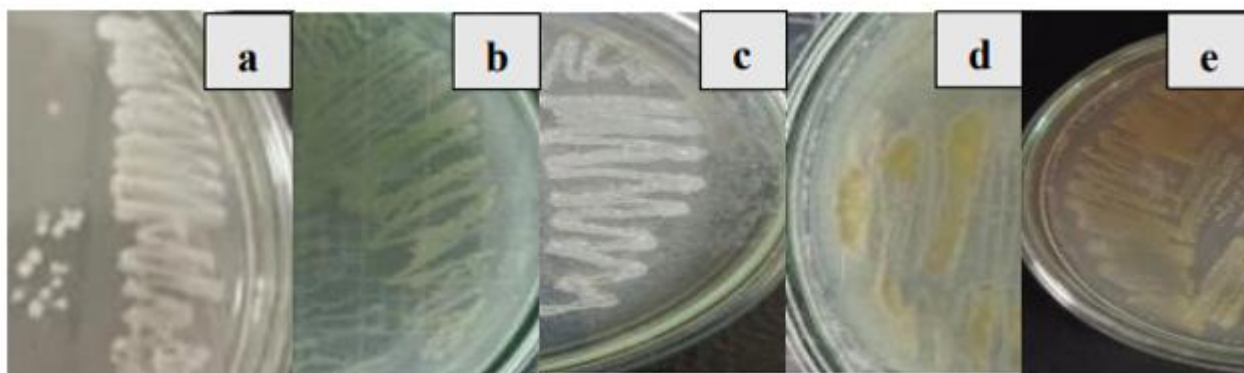
Bakteri endofit diidentifikasi dengan analisis molekuler menggunakan gen 16S rRNA. Bakteri endofit diekstraksi menggunakan ekstraksi DNA genom dengan Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit (Zymo Research, D6005). Total DNA genom diamplifikasi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan *Bi-Directional Sequencing*. Amplifikasi spesifik pada primer gen 16S 1492R dan 27F. Amplifikasi PCR dengan (2x) MyTaq HS Red Mix (Bioline, BIO-25048). Produk disekuensing di perusahaan Genetika Sciences. Hasil sequencing kemudian diolah dengan software Seqtrace kemudian diidentifikasi menggunakan Nucleotide Blast di website NCBI. Selanjutnya pohon filogenetik dibangun menggunakan software MEGA 7 dengan pendekatan metode neighbour-joining (Mahyarudin *et al.*, 2015).

HASIL

Sebanyak 32 isolat bakteri endofit telah berhasil diisolasi dari beberapa bagian tanaman matoa (daun, kulit buah, dan buah). Berdasarkan sebaran isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi, diketahui bahwa 53% (17 isolat) berasal dari daun, kemudian 25% (8 isolat) berasal dari kulit buah, dan 22% (7 isolat) berasal dari buah. (Gambar 1). Karakter isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi berbeda-beda dari warna dan bentuk.



Gambar 1. Distribusi isolat bakteri endofit matoa yang dapat dikulturkan (*Distribution of cultivable matoa endophytic bacterial isolates*).



Gambar 2. Isolat bakteri endofit tanaman matoa (*Endophytic bacterial isolates from the matoa plant*) (a) DMS1 (b) DMS13 (c) DMS1 (d) DMS8 (e) DMS2

Tabel 1. Aktivitas antimikroba bakteri endofit matoa terhadap beberapa mikroba patogen dengan metode plug agar (*Antimicrobial activity of matoa endophytic bacteria against several pathogenic microbes using the agar plug method*).

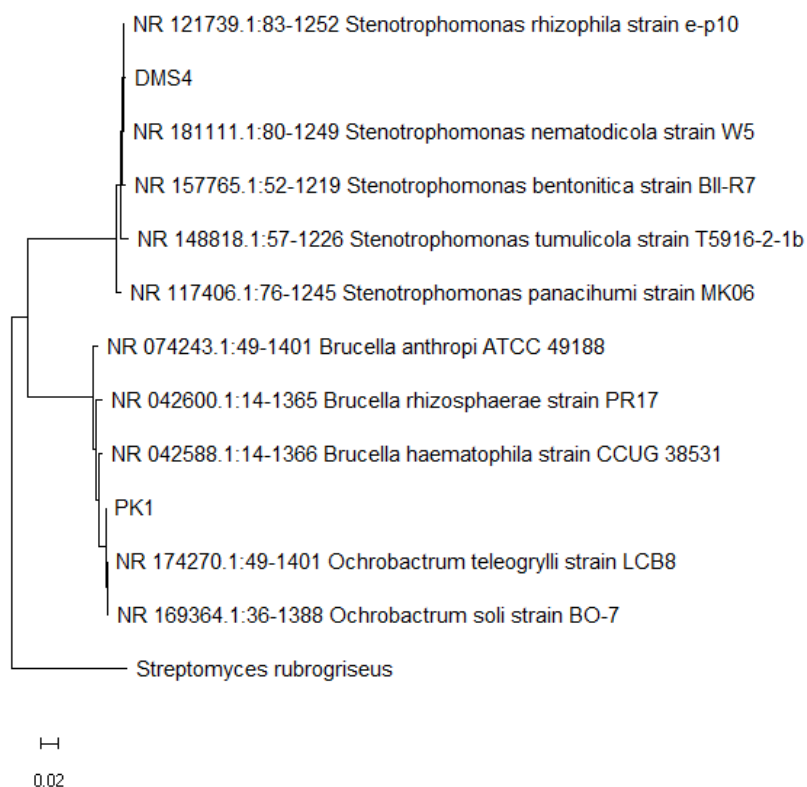
Kontrol/ Kode isolate (Control/Isolate)	Indeks zona hambat (Inhibition zone index)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumonia</i>	<i>C. albicans</i>
Kontrol + (Control +)	5.7 ± 0.00	2.7 ± 0.00	3.08 ± 0.11	2.30 ± 0.00
Kontrol – (Control -)	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
DMS1	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
DMS2	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0.48 ± 0.06
DMS3	0.19 ± 0.00	0.10 ± 0.08	0.29 ± 0.20	0.30 ± 0.17
DMS4	0.47 ± 0.08	2.30 ± 0.21	0.50 ± 0.13	0.57 ± 0.01
DMS5	0.09 ± 0.02	0.18 ± 0.14	0 ± 0.00	0.22 ± 0.0
DMS6	0.30 ± 0.03	0.12 ± 0.0	0 ± 0.00	0 ± 0.00
DMS8	0.86 ± 0.19	0.15 ± 0.09	1.50 ± 0.17	0.54 ± 0.05
DMS9	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0.11 ± 0.02
DMS10	0.35 ± 0.10	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0.48 ± 0.14
DMS11	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
DMS12	0 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0 ± 0.00	0.98 ± 0.04
DMS13	0 ± 0.00	0.25 ± 0.03	0 ± 0.00	0.78 ± 0.02
DMS14	0.35 ± 0.10	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0.11 ± 0.02
DMS15	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
DMS16	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0.49 ± 0.29
DMS17	0 ± 0.00	0.24 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
DMS18	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0.52 ± 0.08
Pb1	0 ± 0.00	2.2 ± 0.14	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pb2	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pb3	0 ± 0.00	2.0 ± 0.14	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pb4	2.4 ± 0.28	1.85 ± 0.07	2.15 ± 0.07	2.2 ± 0.14
Pb5	0 ± 0.00	2.35 ± 0.07	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pb6	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pb7	1.85 ± 0.07	0 ± 0.00	0 ± 0.00	2.35 ± 0.07
Pk1	2.35 ± 0.07	2.15 ± 0.07	2.25 ± 0.08	2.3 ± 0.00
Pk2	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pk3	2.8 ± 0.0	2.7 ± 0.14	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pk4	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pk5	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00
Pk6	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00	0 ± 0.00

Tabel 2. Aktivitas antibakteri ekstrak bakteri endofit matoa terhadap beberapa patogen dengan metode difusi cakram (*Antibacterial activity of matoa endophytic bacterial extract against several pathogens using the disc diffusion method*).

Kontrol/ Kode isolate (Control/Isolate)	Konsentrasi (Concentration) (ppm)	Indeks zona hambat (Inhibition zone index)			
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. pneumonia</i>	<i>C. albicans</i>
Kontrol + (Control +)		3.1	4.8	3	2.3
Kontrol – (Control -)		0	0	0	0
DMS4	1000	0	0.45	0.67	0
	500	0	0	0	0
	250	0	0	0	0
	125	0	0	0	0
	62.5	0	0	0	0
PK1	1000	0	0	0	0
	500	0	0	0	0
	250	0	0	0	0
	125	0	0	0	0
	62.5	0	0	0	0

Tabel 3. Identifikasi molekuler berdasarkan gen 16S rRNA bakteri endofit tanaman matoa (*Molecular identification of matoa plant endophytic bacteria based on the 16S rRNA gene*).

No	Code (Kode)	Species (Spesies)	Strain (Strain)	Similarity (Kemiripan) (%)	Accession number (No Akses)
1	DMS4	<i>Ochrobactrum teleogrylli</i>	LCB8	99.85	NR_174270.1
		<i>Brucella haematophila</i>	CCUG 38531	98.74	NR_042588.1
2	PK 1	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	e-p10	99.18	NR_121739.1:83- 1252
		<i>Stenotrophomonas nematodicola</i>	W5	99.18	NR_181111.1



Gambar 1. Pohon filogenetik berdasarkan gen 16S rRNA dari bakteri endofit *P. pinnata*. Angka pada setiap simpul menunjukkan persentase dukungan cabang dari 1.000 replikasi bootstrap. Skala 0.02 menunjukkan substitusi nukleotida per situs (*Neighbour-Joining tree of 16S rRNA gene of bacteria endophytes. Numbers at each nodes indicate the percentages of branch support of 1,000 bootstrap replicates. Bar 0.02 indicates nucleotides substitution per site*).

PEMBAHASAN

Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan pada inangnya, malah memberikan manfaat, termasuk produksi senyawa bioaktif seperti metabolit sekunder. Interaksi antara bakteri endofit dan tanaman dapat berkontribusi terhadap produksi senyawa antimikroba (Afzal *et al.*, 2019). Bakteri endofit umum ditemukan pada semua spesies tumbuhan berpembuluh (Duan *et al.*, 2013). Mereka ditemukan di keduanya spesies monokotil dan dikotil (Velicho *et al.*, 2022). Matoa merupakan tanaman dikotil yang memiliki bakteri endofit. Berdasarkan hasil isolasi bakteri endofit pada beberapa jaringan tanamannya, daun merupakan bagian tanaman yang paling menghasilkan isolat bakteri endofit yaitu sebanyak 53% atau 17 isolat. Kemudian disusul oleh bagian kulit batang yaitu sekitar 25% atau 8 isolat dan sebanyak 22% atau 7 isolat berasal dari buah.

Keanekaragaman bakteri endofit dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain jenis tumbuhan, kondisi lingkungan, dan jaringan spesifik tumbuhan inangnya (Khan *et al.*, 2020). Satu spesies tanaman inang dapat menjadi rumah beberapa genera endofit serta spesies. Keragaman bakteri endofit dapat ditentukan berdasarkan jaringan, jenis tanaman atau musim isolasi. Sebanyak 8 isolat bakteri endofit dari kulit buah memiliki warna koloni yang berbeda-beda seperti *light grey*, *light ivory*, *rose*, *zink yellow*, *pastel yellow*, dan *grey white*. Tidak jauh berbeda dengan isolat bakteri endofit kulit batang yang memiliki keragaman warna koloni seperti *oyster white*, *strawberry white*, *rose*, *salmon orange*, *light pink*, dan *light ivory*. Hasil isolasi bakteri endofit daun matoa didapatkan 17 isolat dengan warna koloni yang berbeda-beda. Warna koloni bakteri sebagian besar berwarna *signal white*, *traffic yellow* dan *light pink*. Keberagaman komunitas endofit dapat ditentukan oleh jenis jaringan, tipe tanaman, dan musim isolasi (Miliute *et al.* 2015). Mikroba endofit memiliki syarat tumbuh seperti nutrisi, pH, konsentrasi oksigen, dan lain sebagainya. Perbedaan kondisi habitat secara langsung

mempengaruhi peluang hidup mikroba endofit. Bagian tanaman memiliki perbedaan karakteristik dan genetik dalam pertumbuhannya sehingga kelimpahan struktur populasi bakteri endofit dari satu jaringan berbeda dengan jaringan yang lainnya (Lin *et al.*, 2022).

Bakteri endofit beberapa tahun terakhir telah dikembangkan potensinya sebagai penghasil senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba yang dihasilkan memiliki kebaruan dalam mekanisme aksi dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen (Gunatilaka, 2012). Berdasarkan hasil yang diperoleh yang ditunjukkan pada tabel 3 menunjukkan 11 isolat bakteri endofit yang mampu menghambat bakteri *E. coli* ATCC 25922. Isolat Pk3 yang diisolasi dari buah memiliki indeks penghambatan paling tinggi 2.8 ± 0.0 . Sebanyak 14 isolat memiliki penghambatan terhadap *S. aureus* ATCC 6538 dengan indeks penghambatan tertinggi pada isolat Pk3 sebesar 2.7 ± 0.14 . Bakteri endofit matao dapat menghambat pertumbuhan *S. pneumonia* ATCC 1705 sebanyak 5 isolat dengan penghambatan tertinggi pada isolat Pk1 yaitu sebesar 2.25 ± 0.08 . Lalu terdapat 11 isolat yang memiliki aktivitas antifungi terhadap *C. albicans* ATCC 10231. Indeks penghambatan antifungi tertinggi ada pada Pk7 sebesar 2.35 ± 0.07 . Hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari matao memiliki aktivitas penghambatan tertinggi terhadap bakteri uji Gram positif (*S. pneumonia* ATCC 1705 dan *S. aureus* ATCC 6538) dibandingkan dengan Gram negatif (*E. coli* ATCC 25922). Menurut Penelitian Fajrina *et al.*, 2020 bakteri Gram positif lebih sensitif dibandingkan dengan Gram negatif. dikarenakan dinding sel yang tebal namun sederhana pada bakteri gram-positif membuat mereka lebih mudah ditargetkan oleh antibiotik, sementara membran luar yang kompleks pada bakteri gram-negatif memberikan perlindungan tambahan yang membuat mereka lebih resisten terhadap banyak antibiotik. Struktur dinding sel bakteri Gram positif hanya terdiri dari lapisan tunggal dan peptidoglikannya tidak terlindungi oleh membran luar sedangkan bakteri Gram negatif struktur dinding selnya terdiri dari tiga lapis (Fajrina *et al.*, 2020). Perbedaan struktur lapisan membran tersebut yang menyebabkan bakteri Gram negatif lebih sulit menembus dinding sel bakteri sehingga kurang sensitif terhadap antibiotik dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian dari (Egamberdieva *et al.*, 2021) Bakteri endofit dari *Armoracia rusticana* mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen manusia *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*. Bakteri endofit dari daun *C. caudatus* Kunth mempunyai aktivitas melawan *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *C. albicans* (Ramadhan *et al.*, 2018).

Isolat DMS4 menunjukkan aktivitas antimikroba yang cukup kuat, terutama terhadap *S. aureus* ($2,30 \pm 0.21$ mm), *S. pneumoniae* ($0,50 \pm 0.13$), dan *C. albicans* ($0,57 \pm 0.01$). Pk1 memiliki aktivitas antimikroba yang kuat terhadap semua mikroba uji, dengan zona hambat terbesar untuk *E. coli* (2.35 ± 0.07), *S. aureus* (2.15 ± 0.07), *S. pneumonia* (2.25 ± 0.08), dan *C. albicans* (2.3 ± 0.00)., menunjukkan bahwa isolat ini sangat menjanjikan sebagai agen antimikroba. Hal ini menunjukkan bahwa DMS4 dan PK1 memiliki potensi yang baik sebagai agen antimikroba apat dipelajari lebih lanjut sebagai agen potensial untuk pengembangan antibiotik baru. Aktivitas antimikroba dari isolat DMS4 dan PK1 menyimpulkan bahwa kedua isolat tersebut memiliki kemampuan *broad spektrum*. Kedua isolat tersebut kemudian di fermentasi dan diekstraksi. Ekstrak etil asetat isolat PK1 dan DMS4 kemudian uji aktivitas antimikrobanya menggunakan metode difusi cakram. Berdasarkan pengujian aktivitas antimikroba pada ekstrak isolat bakteri endofit PK1 tidak memiliki penghambatan pada semua mikroba patogen. Sedangkan ekstrak etil asetat DMS4 memiliki penghambatan pada bakteri *E. coli* (0.45) dan *S. pneumonia* (0.67) dengan konsentrasi 1000 ppm. Indeks zona penghambatan dapat bergantung pada jenis dan kekuatan senyawa antibakteri serta jumlah komponen senyawa aktif yang dimilikinya (Septiani *et al.*, 2017). Faktor penyebab tidak adanya hambatan kemungkinan karena senyawa antibakteri yang tertarik saat ekstraksi hanya sedikit sehingga tidak mampu untuk menghambat (Septiani *et al.*, 2017), selain itu faktor lain dapat terjadi seperti kecepatan dan daya difusi metabolit sekunder pada medium agar serta kandungan senyawa metabolit yang ada pada ekstrak dapat mempengaruhi aktivitas antimikroba (Lestari *et al.*, 2018). Isolat DMS4 dan Pk1 menunjukkan aktivitas antimikroba yang paling signifikan terhadap beberapa mikroba uji. Hal ini menunjukkan bahwa isolat-isolat ini dapat dipelajari lebih lanjut sebagai agen potensial untuk pengembangan antibiotik baru.

Identifikasi molekuler gen 16S rRNA isolat DMS4 mirip dengan *Ochrobactrum teleogrylli* 99,85%. Bakteri endofit yang diisolasi dari kultivar buncis yaitu CRBE3 mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Fusarium* serupa dengan *Brucella haematophila* (Khanna *et al.*, 2022). FT2 merupakan bakteri endofit yang diisolasi dari *Glycyrrhiza uralensis* yang mempunyai aktivitas sebagai antijamur terhadap *Fusarium acuminatum* (Wang *et al.*, 2022). Isolat PK1 mirip dengan *Stenotrophomonas rhizophila* 99,18%. *S. rhizophila* adalah spesies bakteri baru yang ditemukan berasosiasi dengan tanaman dan memiliki sifat antijamur yang kuat. Strain-strain dari spesies ini menunjukkan efek antijamur yang signifikan terhadap patogen tanaman seperti *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, dan *Sclerotinia sclerotiorum* (Wolf *et al.*, 2002). Bakteri ini dikenal karena perannya yang menguntungkan dalam lingkungan pertanian dan ekosistem tanah. *S. rhizophila* dapat memproduksi berbagai senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba, termasuk lipopeptida, yang dapat menghambat pertumbuhan patogen tanaman seperti jamur dan bakteri patogen (Raio *et al.*, 2023). Berdasarkan pembahasan tersebut *S. rhizophila* dan *B. haematophila* telah diketahui memiliki kemampuan antimikroba, sehingga hasil penelitian ini membuka jalan untuk penelitian lebih lanjut dalam mengembangkan senyawa antimikroba berbasis mikroba.

KESIMPULAN

Isolasi bakteri endofit *P. pinnata* diperoleh total 46 isolat yang terdiri dari 39 isolat daun, 8 isolat kulit buah, dan 7 isolat buah. Berdasarkan karakterisasi morfologi bakteri endofit, matoa tidak mempunyai hifa udara dengan isolat yang bervariasi. Uji skrining antimikroba diperoleh 11 isolat bakteri yang mampu menghambat *E. coli* ATCC 25922, 14 isolat terhadap *S. aureus* ATCC 6538, 5 isolat yang mampu menghambat *S. pneumonia* ATCC 1705 dan 13 isolat yang mampu menghambat *C. albicans* ATCC 10231. Berdasarkan Pada hasil skrining diperoleh isolat bakteri yang berpotensi sebagai antimikroba yaitu DMS4 dan PK1. Uji antimikroba ekstrak isolat DMS4 mengalami penghambatan pada konsentrasi 1000 ppm dari ekstrak etil asetat. Berdasarkan 16S rRNA DMS4 99,85% mirip dengan *Brucella haematophila* dan PK1 99,18% *Stenotrophomonas rhizophila*. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa bakteri endofit dari matoa memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber antibiotik baru, terutama di tengah kekhawatiran global terhadap resistensi antibiotik sehingga dapat menjadi solusi alternatif menghadapi resistensi antibiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Bantuan Operasional Perguruan Tinggi Negeri (BOPTN) Direktorat Jenderal Pendidikan Islam Kementerian Agama Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah memberikan fasilitas untuk melakukan penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

IJN: Membuat konsep penelitian, membuat draf artikel, merevisi naskah akhir; LN: mengumpulkan data penelitian, membuat draf artikel; IP: mengumpulkan data penelitian, membuat draf artikel, F: Membuat konsep penelitian, merevisi naskah akhir; VA: Membuat konsep penelitian, merevisi naskah akhir .

REFERENSI

- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., Shahzad, S. 2019. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221, pp.36–49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- Akinsanya, M. A., Goh, J. K., Lim, S. P., Ting, A. S. Y. 2015. Diversity, antimicrobial and antioxidant activities of culturable bacterial endophyte communities in *Aloe vera*. *FEMS Microbiology Letters*, 362(23), pp.1–8. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv184>
- Ashkan, M. F., Bleakley, B. 2017. Isolation, Characterization and identification of putative bacterial endophytes from some plants in hot springs, south dakota. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(6), pp.756–767.

- Christina, A., Christopher, V., Bhore, S. 2013. Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: An overview. *Pharmacognosy Reviews*, 7(13), pp.11–16. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.112833>
- Duan, J. L., Li, X. J., Gao, J. M., Wang, D. S., Yan, Y., Xue, Q. H. 2013. Isolation and identification of endophytic bacteria from root tissues of *Salvia miltiorrhiza* Bge. and determination of their bioactivities. *Annals of Microbiology*, 63(4), pp.1501–1512. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0614-0>
- Egamberdieva, D., Jabborova, D., Babich, S., Xalmirzaeva, S., Salakhiddinov, K., Madazimov, M. 2021. Antimicrobial activities of herbal plants from Uzbekistan against human pathogenic microbes. *Environmental Sustainability*, 4(1), pp.87–94. <https://doi.org/10.1007/s42398-020-00147-5>
- Elleuch, L., Shaaban, K.A., Abdel-Aziz, M.S., Chakchouk, A., Mellouli, L., & Shaaban, M. (2012). Cyclic lipopeptides and other bioactive secondary metabolites from a new terrestrial *Streptomyces* sp. TN272. *African Journal of Microbiology Research*, 6, pp.2202–2210.
- Eshboev, F., Mamadalieva, N., Nazarov, P. A., Hussain, H., Katanaev, V., Egamberdieva, D., Azimova, S. 2024. Antimicrobial Action Mechanisms of Natural Compounds Isolated from Endophytic Microorganisms. *Antibiotics*, 13(3), p.271.
- Fajrina, A., Bakhtra, D. D. A., Mawarni, A. E. 2020. Isolasi dan uji aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat jamur endofit dari daun matoa (*Pometia pinnata*). *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1), pp.81–89. <http://jurnalfarmasihigea.org/index.php/higea/article/view/267>
- Fatimah, I., Purwiandono, G., Hidayat, H., Sagadevan, S., Ghazali, S. A. I. S. M., Oh, W. C., Doong, R. A. 2021. Flower-like sno2 nanoparticle biofabrication using *Pometia pinnata* leaf extract and study on its photocatalytic and antibacterial activities. *Nanomaterials*, 11(11). p.3012. <https://doi.org/10.3390/nano11113012>
- Fitri, W.N, Rahayu, D. 2018. Review: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Melastomataceae Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Farmaka*, 16, pp.69–77.
- Gu, G., Jia, X., Wang, W., Li, P., Zhao, S., Zhou, Z., Yin, R., Lai, D., Song, S., Zhou, L. 2021. Culturable Endophytic Fungi from *Glycyrrhiza inflata* Distributed in Xinjiang, China with Antifungal Activity. *Microbiology Research*, 12(4), pp.829–839.
- Gunatilaka, A. A. L. 2012. Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *Journal of Natural Product*, 69(3), pp.509–526. <https://doi.org/10.1021/np058128n>.
- Hajar, S., Rahmah, W., Maharani Putri, E., Septian Ressandy, S., Hamzah, H. 2021. Potensi ekstrak buah matoa (*Pometia pinnata*) sebagai sumber antioksidan: literatur review. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. 7(1). pp.59-66.
- Hasiani, V. V., Ahmad, I., Rijai, L. 2015. Isolasi Jamur endofit dan produksi metabolit sekunder antioksidan dari daun pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(4), pp.146–153. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i4.32>
- Hayakawa, M., Nonomura, H. 1987. Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology*, 65(5), pp.501–509. [https://doi.org/10.1016/0385-6380\(87\)90108-7](https://doi.org/10.1016/0385-6380(87)90108-7)
- Janatiningrum, I., Hasan, A. E. Z., Riyanti, E. I. 2022. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari daun sirsak *Annona muricata* l. dan aktivitas antibakterinya terhadap beberapa bakteri patogen. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*, 3(2), pp.75–82.
- Janatiningrum, I., Lestari, Y. 2022. Enzyme production, antibacterial and antifungal activities of actinobacteria isolated from *Ficus deltoidea* rhizosphere. *Biodiversitas*, 23(4), pp.1950–1957. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230429>
- Janatiningrum, I., Solihin, D. D., Meryandini, A., Lestari, Y. 2018. Comparative study on the diversity of endophytic actinobacteria communities from *Ficus deltoidea* using metagenomic and culturedependent approaches. *Biodiversitas*, 19(4), pp.1514–1520. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190443>
- Khan, S. S., Verma, V., Rasool, S. 2020. Diversity and the role of endophytic bacteria: a review. *Botanica Serbica*, 44(2), pp.103–120. <https://doi.org/10.2298/BOTSERB2002103K>

- Khanna, A., Raj, K., Kumar, P., Wati, L. 2022. Antagonistic and growth-promoting potential of multifarious bacterial endophytes against *Fusarium* wilt of chickpea. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1), p. 17. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00516-8>
- Lestari, Y., Murdini, L. A., Solihin, D. D. 2018. The existence of endophytic actinobacteria from *Rhododendron zoelleri* revealed by culture-dependent and culture-independent approaches. *HAYATI Journal of Biosciences*, 25(2), pp.54–62. <https://doi.org/10.4308/hjb.25.2.54>
- Lin, H., Liu, C., Peng, Z., Tan, B., Wang, K., Liu, Z. 2022. Distribution pattern of endophytic bacteria and fungi in tea plants. *Frontiers in Microbiology*, 13(9), p.872034 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.872034>
- Mahyarudin, Rusmana, I., Lestari, Y. 2015. Metagenomic of Actinomycetes Based on 16S rRNA and nifH Genes in Soil and Roots of Four Indonesian Rice Cultivars Using PCR-DGGE. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(3), pp.113–121. <https://doi.org/10.1016/J.HJB.2015.10.001>
- Miliute, I., Buzaitė, O., Baniulis, D., & Stanys, V. 2015. Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance: a review. *Zemdirbyste Agriculture*, 102, pp.465–478.
- Monika, R., Singh, R. K., Shrivastava, A., Yadav, A., Srivastava, A. K. 2020. Endophytic bacteria as a source of bioactive compounds. *Microbial Endophytes: Prospects for Sustainable Agriculture*, pp 175–188. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818734-0.00008-5>
- Mukherjee, A. K., Sampath Kumar, A., Kranthi, S., Mukherjee, P. K. 2014. Biocontrol potential of three novel *Trichoderma* strains: isolation, evaluation and formulation. *3 Biotech*, 4(3), pp 275–281. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0150-4>
- Musa, Z., Ma, J., Egamberdieva, D., Abdelshafy Mohamad, O. A., Abaydulla, G., Liu, Y., Li, W. J., Li, L. 2020. Diversity and Antimicrobial Potential of Cultivable Endophytic Actinobacteria Associated With the Medicinal Plant *Thymus roseus*. *Frontiers in Microbiology*, 11(3). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00191>
- Ngamsurach, P., Praipipat, P. 2022. Antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* of extracted *Piper betle* leaf materials by disc diffusion assay and batch experiments. *RSC Advances*, 12(40), pp 26435–26454. <https://doi.org/10.1039/d2ra04611c>
- Qin, S., Li, J., Chen, H. H., Zhao, G. Z., Zhu, W. Y., Jiang, C. L., *et al.* 2009. Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, pp.6176–6186. doi: 10.1128/AEM.01034-09
- Raio, A., Brilli, F., Neri, L., Baraldi, R., Orlando, F., Pugliesi, C., Chen, X., Baccelli, I. 2023. *Stenotrophomonas rhizophila* Ep2.2 inhibits growth of *Botrytis cinerea* through the emission of volatile organic compounds, restricts leaf infection and primes defense genes. *Frontiers in Plant Science*, 14(9), pp.1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1235669>
- Ramadhan, F., Mukarramah, L., Oktavia, F. A. R. H., Yulian, R., Annisyah, N. H., Asyiah, I. N. 2018. Flavonoids from endophytic bacteria of *Cosmos caudatus* Kunth. Leaf as anticancer and antimicrobial. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(1), pp.200–204. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i1.21987>
- Raut, R.A., Kulkarni, S.W. 2018. Isolation, characterization and biodiversity of actinomycetes from rhizosphere soil of some medicinal plants. *International Journal of Recent Trends in Science And Technology, P-Special Issue*, pp.13–18.
- Razoki, R. 2023. Antioxidant and Antibacterial Activities of Ethanol Extract of Matoa (*Pometia pinnata*) Leaves. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, pp.351-357.
- Sarjono, P. R., Putri, L. D., Budiarti, C. E., Mulyani, N. S., Kusri, D., Prasetya, N. B. A. 2019. Antioxidant and antibacterial activities of secondary metabolite endophytic bacteria from papaya leaf (*Carica papaya* L.). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 509(1), p.012112. IOP Publishing.
- Septiani, S., Dewi, E. N., Wijayanti, I. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Saintek perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 13(1), pp.1-6. <https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6>

- Wang, L., Xi, N., Lang, D., Zhou, L., Zhang, Y., Zhang, X. 2022. Potential biocontrol and plant growth promotion of an endophytic bacteria isolated from *Glycyrrhiza uralensis* seeds. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1), p.55. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00556-0>
- Wang, S. S., Liu, J. M., Sun, J., Sun, Y. F., Liu, J. N., Jia, N., Fan, B., Dai, X. F. 2019. Diversity of culture-independent bacteria and antimicrobial activity of culturable endophytic bacteria isolated from different *Dendrobium* stems. *Scientific Reports*, 9(1), p.10389
- Wilson, D. 1995. Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos* 73, pp.274–276.
- Wolf, A., Fritze, A., Hagemann, M., Berg, G. 2002. *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), pp.1937–1944. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-6-1937>