

Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan dari Metabolit Ekstraseluler Bakteri Endofit Tumbuhan Mahang (*Macaranga bancana*)

Antibacterial and Antioxidant Activity Test of Extracellular Metabolites of Endophytic Bacteria of Mahang Plants (*Macaranga bancana*)

HELEN CHANG¹, SRI PUJIYANTO¹, MUHAMMAD EKA PRASTYA², GIAN PRIMAHAANA², APRIZA YUSWAN³, DWI RETNOWATI⁴, VERA PERMATASARI^{2*}

¹Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang, Kota Semarang, Indonesia

²Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi B.J. Habibie (PUSPIPTEK), Serpong, Tangerang Selatan, Indonesia

³PT Sukses Abadi Farmino, Jalan Raya Industri 3 Blok AI No.3, Kawasan Industri Jatake, Pasir Jaya, Kec. Cikupa, Kabupaten Tangerang, Indonesia

⁴Medical Intelligence Postgraduate Program, National Intelligence Collage, Sumur Batu, Babakan Madang, Bogor, Indonesia

Diterima 15 Agustus 2024/Diterima dalam Bentuk Revisi 7 Oktober 2024/Disetujui 26 November 2024

The increasing pollution which promotes accumulation of free radicals and a significant number of bacterial resistances to antibiotics have prompted various efforts to search for new sources of bioactive compounds. The aim of this study was to investigate the antibacterial and antioxidant properties of bioactive compounds produced by endophyte bacteria from *M. bancana*. The most potential bacterial isolate was extracted its active constituents until obtained crude extract and tested using disc diffusion technique and determined MIC and MBC values. Antioxidant properties using DPPH radicals were performed followed by GC-MS analysis of its crude extract. We obtained that MB3.1 isolate exhibited antibacterial activity against all four tested bacteria including *Escherichia coli* strain ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* strain ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923, and *Bacillus subtilis* strain ATCC 6633. The best MIC values of this extract were shown against *B. subtilis* with an MIC value of 39.06 µg/ml. Further, MB3.1 extract showed a moderate antioxidant activity with an IC₅₀ value of 248.19 µg/ml. GC-MS analysis of MB3.1 extract revealed 10 dominant compounds, including phenylethyl alcohol, benzenethanol, 4-hydroxy, and tryptophol, which might be responsible for the antibacterial and antioxidant properties.

Key words: antibakteri, antioksidan, *Bacillus subtilis*, *Macaranga bancana*, phenylethyl alcohol

PENDAHULUAN

Peningkatan masalah kesehatan berupa jumlah patogen yang resisten terhadap antibiotik, dan peningkatan polusi udara yang mengandung banyak radikal bebas telah menjadikan fenomena ini menjadi tantangan global (Photolo *et al.* 2020). Masalah ini memerlukan penyelesaian dengan melakukan pencarian senyawa bioaktif baru yang memiliki potensi dalam bidang obat-obatan dan farmasi. Selain itu, peningkatan kandungan polutan dalam polusi udara diketahui dapat membahayakan tubuh

dengan menyebabkan beberapa penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus, seranga jantung dan penyakit degeneratif lain (Dijkhoff *et al.* 2020). Seiring dengan pertumbuhan populasi manusia dan meningkatnya kesadaran untuk hidup sehat, masyarakat lebih memilih bahan-bahan alami. Oleh karena itu, diperlukan pencarian senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai alternatif senyawa antibakteri dan antioksidan.

Salah satu sumber senyawa bioaktif yang populer berasal dari mikroba endofit. Mikroba endofit dapat berupa bakteri maupun jamur yang tumbuh dan mengkolonisasi jaringan tumbuhan inang. Bakteri endofit mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa bioaktif dengan beragam fungsi

*Corresponding author:
E-mail: vera004@brin.go.id

farmaseutikal. Kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif seperti antibiotik, antikanker, antijamur, dan antivirus, serta memiliki siklus hidup yang pendek menjadikannya sebagai sumber potensial bioaktif dalam bidang kesehatan. Metabolit sekunder bioaktif ini dapat diperoleh dengan cara kultur dan ekstraksi dari bakteri endofit yang diisolasi dari tumbuhan inang yang biasa dimanfaatkan untuk pengobatan (Strobel 2018).

Tumbuhan mahang (*Macaranga bancana*) dapat ditemukan di hutan beberapa wilayah negara Asia Tenggara salah satunya Indonesia yang banyak tumbuh di pulau Kalimantan. Tumbuhan ini memiliki banyak manfaat, diantaranya untuk rangka konstruksi rumah, kayu bakar, beberapa peralatan rumah tangga, daun sebagai pembungkus makanan, dan obat untuk menyembuhkan beragam penyakit. Bagian daun dan buah tumbuhan *M. bancana* dapat dimanfaatkan sebagai obat sariawan dan diare dengan cara meminum air rebusannya (Amirta *et al.* 2017). Pada penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh Putri *et al.* (2019), telah diketahui bahwa ekstrak daun *M. bancana* dapat dimanfaatkan sebagai sumber potensial sebagai agen antibakteri dan antijamur. Namun, belum ada penelitian tentang uji antibakteri dan antioksidan dari senyawa bioaktif asal bakteri endofit dari tumbuhan ini. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antibakteri dan antioksidan dari senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit asal tumbuhan *M. bancana*, dan menganalisis profil senyawa yang berperan pada aktivitas tersebut menggunakan alat GC-MS.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian. Bahan yang digunakan yaitu 10 isolat bakteri endofit *M. bancana* yang diisolasi dari Bukit Soeharto Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur, 4 isolat bakteri uji meliputi *Escherichia coli* strain ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* strain ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923, dan *Bacillus subtilis* strain ATCC 6633 (Bakteri sampel dan target tersebut merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional (BRIN), Serpong). Bahan lain meliputi Nutrient Broth (NB) (HiMedia), Nutrient Agar (NA) (HiMedia), Mueller-Hinton Broth (MHB) (HiMedia), Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid), etil asetat (Supelco), kertas cakram (Cytiva & Macherey-Nagel), metanol, dimetil sulfoksida (DMSO) (Supelco), tetrasiklin (Sigma Aldrich), 2,1-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich), alkohol, dan akuades.

Penapisan Isolat Bakteri Endofit *M. bancana* dengan Uji Kultur Ganda. Sebanyak 10 isolat bakteri endofit *M. bancana* diuji aktivitas antibakterinya

terhadap empat bakteri uji menggunakan metode kultur ganda (Zhou *et al.* 2021). Bakteri target yang sebelumnya diremajakan pada media NB selama 24 jam pada suhu 37°C diinokulasi 1% (v/v) ke media NA yang masih cair ($\pm 40^\circ\text{C}$) dan dituang pada cawan petri steril. Setelah media memadat, bakteri endofit *M. bancana* digoreskan membulat di atasnya. Cawan petri tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya aktivitas antibakteri diindikasikan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar koloni bakteri endofit *M. bancana*. Pengujian ini dilakukan sebanyak 2 kali ulangan (Priyanto *et al.* 2023a).

Fermentasi dan Ekstraksi Senyawa Bioaktif Bakteri Endofit Potensial. Bakteri endofit *M. bancana* potensial dikulturkan dan diekstraksi untuk didapatkan ekstrak kasarnya. Kultur starter isolat bakteri endofit *M. bancana* yang telah diinkubasi 24 jam pada media NB diinokulasikan sebanyak 1% (v/v) ke dalam 2 L media NB baru. Biakan fermentasi diinkubasi selama 72 jam pada shaker dengan kecepatan 120 rpm dan pada suhu 28°-29°C. Sebanyak 2 L kultur bakteri kemudian ditambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan volume 1:1 (v/v) dan diletakkan di shaker selama 1 jam dengan kecepatan 150 rpm dan suhu 28°-29°C (2 kali pengulangan). Lapisan etil asetat yang tampak dipisahkan, kemudian diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C. Ekstrak kasar yang diperoleh selanjutnya dilarutkan dengan DMSO untuk digunakan pada uji aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram (Priyanto *et al.* 2023a).

Uji Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Cakram. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak senyawa bioaktif bakteri endofit *M. bancana* dilakukan dengan meneteskan sebanyak 20 μL ekstrak kasar yang telah dilarutkan dalam DMSO 99% pada kertas cakram steril. Konsentrasi ekstrak senyawa yang diuji yaitu 115,7 mg/ml. kertas cakram yang telah ditetesi ekstrak senyawa bioaktif didiamkan selama 5-10 menit hingga ekstrak terserap sempurna pada kertas cakram tersebut, lalu diletakkan pada media MHA yang telah mengandung bakteri target sebanyak 1% DMSO 99% and tetrasiklin (200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan kontrol positif. Adanya aktivitas antibakteri ditandai oleh terbentuknya zona hambat di sekitar cakram setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur diameternya. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali ulangan (Priyanto *et al.* 2022).

Penentuan Nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Penentuan nilai MIC dan MBC dilakukan berdasarkan metode *microbroth-dilution* (CLSI 2020). Suspensi bakteri target yang telah diinkubasi selama 24 jam diencerkan dengan

NaCl 0,85% untuk mencapai standar McFarland 0,5 yang setara dengan 10^8 CFU/ml bakteri 0,078 hingga 10 mg/ml, kemudian ditambahkan ke 96-well plate yang telah diinokulasikan medium MHB (*Mueller-Hinton Broth*) steril hingga volume akhir 200 μ L dan konsentrasi akhir sel bakteri sebanyak 5×10^5 CFU/ml pada masing-masing well. Tetrasiklin dan DMSO masing-masing digunakan sebagai kontrol positif dan negatif uji MIC. Microplate tersebut diinkubasi pada kecepatan 150 rpm dan suhu 37°C selama 24 jam.

Uji Antioksidan Metode DPPH. Uji antioksidan DPPH dilakukan dengan melarutkan sampel dalam metanol dan dibuat 5 variasi konsentrasi. Sebanyak 100 μ L dari masing-masing sampel pada berbagai variasi konsentrasi (78-1250 μ g/ml) dan kontrol positif (asam askorbat) dimasukkan ke dalam sumuran *microplate well* 96 dengan masing-masing sebanyak 3 kali ulangan. Setiap sumuran yang telah berisi sampel ditambah dengan 100 μ L larutan DPPH pada konsentrasi akhir. Campuran kemudian diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 30°C di ruangan gelap. Nilai serapan sampel diukur menggunakan spektrofotometer ELISA reader pada panjang gelombang 514 nm. Hasil serapan panjang gelombang digunakan untuk menghitung persentase penghambatan (inhibisi). Nilai inhibisi diregresikan pada persamaan regresi linear untuk mendapatkan nilai *Inhibitory Capacity* 50% (IC_{50}) kemampuan antioksidan dari masing-masing sampel. Nilai IC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50% (Prastya *et al.* 2019).

Analisis GC-MS Ekstrak Potensial. Sampel ekstrak potensial dilanjutkan untuk analisis menggunakan alat GC-MS menggunakan dengan spesifikasi dari GC-MS Agilent 190915-433: 93,92873. Sebanyak 1,0 μ L volume sampel ekstrak senyawa bioaktif diinjeksikan menggunakan Agilent *Automatic Liquid Sampler* (ALS) ke dalam kolom HP-5MS 5% *Phenyl Methyl Silox* yang berdimensi 30 m \times 250 μ m \times 0,25 μ m dan pada rentang suhu 0°-325°C (325°C). Gas pembawa yang digunakan yaitu gas helium sebagai pembawa laju aliran konstan 1 ml/menit. Oven dimulai pada suhu 40°C dan ditahan selama 1 menit, kemudian diatur 10°C/menit sampai 300°C dan ditahan selama 4 menit. Tekanan diatur pada 7,0699 psi dengan kecepatan rata-rata 36,262 cm/s. Proses identifikasi menggunakan alat GC-MS menghasilkan beberapa senyawa bioaktif yang dapat dilihat dari puncak kromatogram sebagai identifikasi data hasil kromatografi dan spektrofotometri massa (MS) dilihat dari spektrum massa dengan berat molekul senyawa bioaktif masing-masing. Metode library yang digunakan adalah NIST20 (*National Institute of Standards Technology Series* 20).

HASIL

Penapisan Aktivitas Antibakteri dan Ekstraksi Senyawa Bioaktif. Berdasarkan hasil pengujian dengan metode uji tantangan (Tabel 1), aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh adanya zona hambat di sekitar koloni bakteri endofit (Gambar 1). Sebanyak sepuluh isolat bakteri endofit yang diuji, dua di antaranya menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap setidaknya satu jenis bakteri target. Isolat kode MB3.1 menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik karena mampu menghambat pertumbuhan keempat bakteri target dengan diameter zona hambat terbesar, yaitu antara 3,7 hingga 5,1 mm. Oleh karena itu, isolat ini dipilih untuk diekstraksi.

Hasil ekstraksi dari isolat MB3.1 diperoleh jumlah ekstrak kasar seberat 0,2192 g, dengan persentase rendemen sebesar 0,0109%. Berdasarkan karakteristiknya, ekstrak tersebut memiliki tekstur seperti pasta dan berwarna coklat kekuningan.

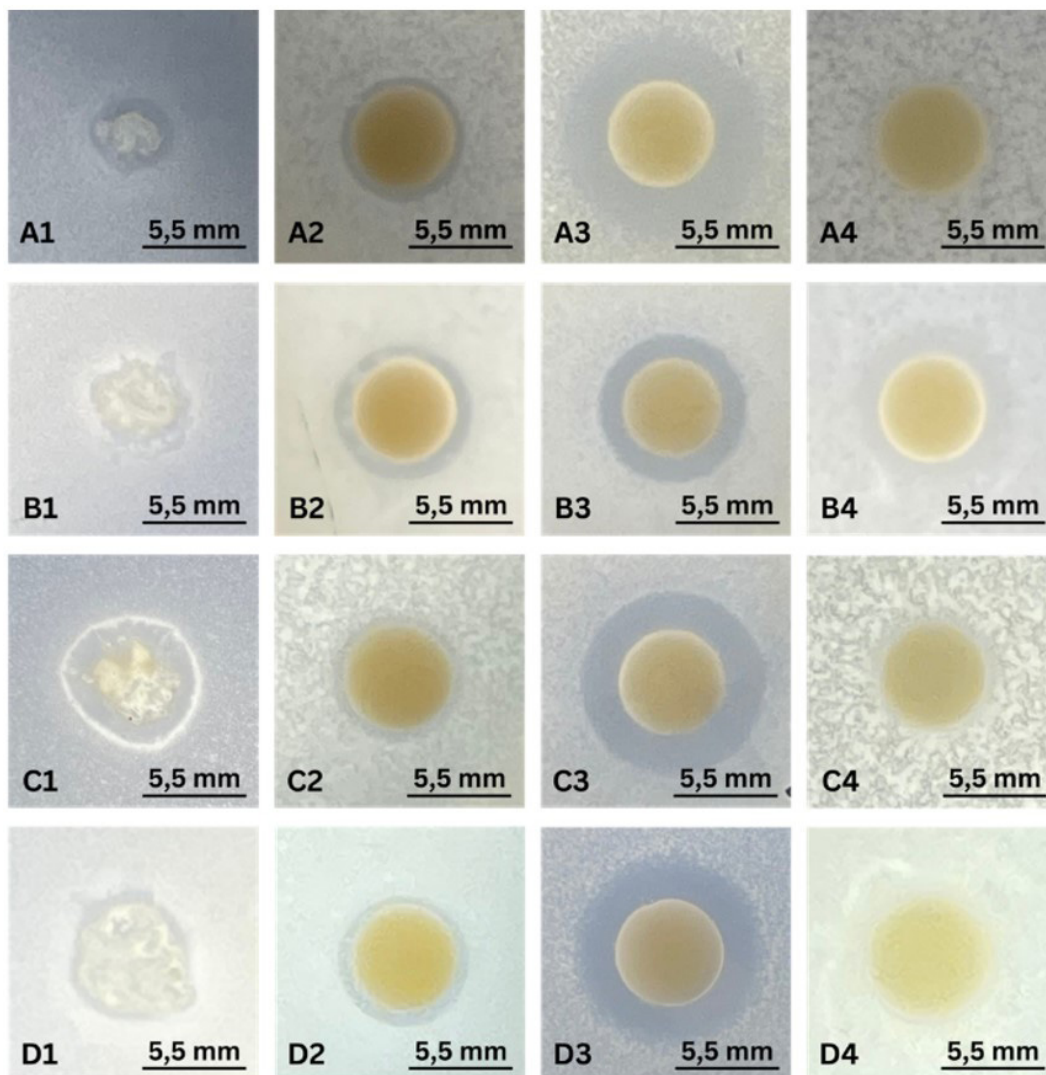
Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Kasar Isolat MB3.1. Hasil uji cakram menunjukkan bahwa ekstrak kasar MB3.1 mampu menghambat pertumbuhan keempat bakteri target pada konsentrasi 80 mg/ml. Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram (Gambar 1). Ekstrak tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat yang berkisar antara 6,1–6,6 mm (Tabel 2).

Berdasarkan analisis penentuan nilai MIC dan MBC, ekstrak MB3.1 memiliki nilai MIC berkisar antara 39 hingga 1250 μ g/ml (Tabel 3). Ekstrak ini paling aktif terhadap *B. subtilis* strain ATCC 25923 dengan nilai MIC terkecil, yaitu 39,06 μ g/ml. Nilai MBC ekstrak kasar MB3.1 lebih besar dibandingkan MIC pada seluruh bakteri target yang diuji.

Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Kasar Isolat MB3.1. Hasil uji aktivitas antioksidan DPPH ekstrak MB3.1 ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 1. Aktivitas antibakteri dari koloni isolat bakteri *M. bancana* terhadap empat bakteri uji melalui uji antagonis

Kode isolat	Rata-rata diameter zona hambat \pm deviasi standar (mm)*			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
	strain ATCC 8739	strain ATCC 9027	strain ATCC 6633	strain ATCC 25923
MB1.1	-	-	-	-
MB1.2	-	-	-	-
MB1.3	-	-	-	-
MB2.4	-	-	-	-
MB2.5	-	-	-	-
MB2.6	-	-	-	-
MB3.1	4,3 \pm 0,6	4,5 \pm 0,4	4,6 \pm 0,2	4,7 \pm 0,4
MB3.2	-	4,3 \pm 0,3	-	5,4 \pm 0,4
MB3.3	-	-	-	-
MB3.4	-	-	-	-



Gambar 1. Aktivitas antibakteri dari isolat MB3.1 terhadap *E. coli* strain ATCC 8739 (A), *P. aeruginosa* strain ATCC 9027 (B), *S. aureus* strain ATCC 6633 (C), dan *B. subtilis* strain M19 (D); dengan koloni (1), ekstrak kasar konsentrasi 80 mg/ml (2), tetrasiklin konsentrasi 80 µg/ml (2), tetrasiklin konsentrasi 200 µg/ml (3), dan DMSO (4)

Tabel 2. Aktivitas antibakteri dari ekstrak bakteri *M. bancana*

Kode isolat	Rata-rata diameter zona hambat±deviasi standar (mm)*			
	<i>E. coli</i> strain ATCC 8739	<i>P. aeruginosa</i> strain ATCC 9027	<i>S. aureus</i> strain ATCC 6633	<i>B. subtilis</i> strain ATCC 25923
MB3.1	6,1±0,7	6,4±0,5	6,6±0,7	6,4±0,6
Tetrasiklin	10,8±0,5	8,8±0,3	9,6±0,1	10,9±0,6
DMSO	0±0	0±0	0±0	0±0

Tabel 3. Nilai MIC dan MBC ekstrak kasar senyawa bioaktif isolat MB3.1

Sampel	Nilai MIC dan MBC (µg/ml) terhadap bakteri target							
	<i>E. coli</i> strain ATCC 8739		<i>P. aeruginosa</i> strain ATCC 9027		<i>S. aureus</i> strain ATCC 6633		<i>B. subtilis</i> strain ATCC 25923	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
MB3.1	1250	>2500	1250	>5000	625	>2500	39,06	>156,25
Tetrasiklin	15.625	>62,5	15.625	>62,5	15.625	>62,5	15.625	>62,5

Uji tersebut menunjukkan bahwa ekstrak MB3.1 memiliki nilai IC_{50} DPPH sebesar 248,19 µg/ml, yang mengindikasikan aktivitas antioksidan pada kategori sedang. Sebagai perbandingan, hasil uji asam

askorbat menunjukkan nilai IC_{50} DPPH sebesar 4,21 µg/ml, yang tergolong dalam kategori sangat kuat.

Analisis GC-MS dari Ekstrak Kasar Isolat MB3.1. Senyawa volatil dalam ekstrak potensial

Tabel 4. Aktivitas antioksidan ekstrak kasar senyawa bioaktif isolat MB3.1

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi		% inhibisi		IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Ekstrak MB3.1	1250	0,073	0,158	95,80	81,81	248,19 \pm 4,41
	625	0,255	0,244	65,84	67,65	
	312,5	0,342	0,322	51,52	54,81	
	156,25	0,383	0,375	44,77	46,09	
	78,125	0,423	0,382	38,19	44,94	
Asam askorbat	12,5	0,065	0,068	95,89	95,40	4,21 \pm 0,09
	3,125	0,367	0,361	46,31	47,29	
	1,56	0,44	0,458	34,32	31,36	

MB3.1 dianalisis menggunakan alat GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry). Hasil analisis kromatogram menunjukkan terdapat 10 puncak senyawa dominan. Beberapa senyawa dominan yang terdeteksi meliputi phenylethyl alcohol, benzeneethanol, 4-hydroxy, dan tryptophol (Tabel 5). Senyawa dengan konsentrasi tertinggi yang terdeteksi adalah phenylethyl alcohol, yang muncul pada puncak dengan kelimpahan konsentrasi 35,84% pada waktu retensi 9,406. Senyawa kedua dengan kelimpahan tertinggi adalah benzeneethanol, 4-hydroxy, dengan konsentrasi kelimpahan 21,17% yang terdeteksi pada waktu retensi 13,905. Sementara itu, senyawa dengan kelimpahan ketiga tertinggi adalah tryptophol, yang muncul pada waktu retensi 17,761 dengan konsentrasi kelimpahan sebesar 12,46%.

PEMBAHASAN

Peningkatan permintaan global untuk produk kesehatan untuk tujuan terapeutik dan nutraceutical telah memicu pencarian untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang bersumber dari beragam jenis sumberdaya alam serta berbagai aktivitas farmakologisnya. Selain itu, kebutuhan bagi para peneliti untuk mencari antioksidan yang lebih aman dari sumber alami dibandingkan produk sintesis, seperti BHT, BHA, propil gallat, dan hidrokuinon tert-butyl yang dikenal sebagai karsinogenik, juga semakin meningkat (Altemimi *et al.* 2017). Oleh karena itu, penelitian terkait potensi senyawa bioaktif dari beragam sumber menjadi penting untuk dilakukan salah satu yang bersumber dari bakteri endofit. Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit. Bakteri ini berinteraksi secara simbiotik dengan tanaman, dan memberikan manfaat bagi kedua belah pihak (Strobel 2018). Menariknya bakteri endofit dilaporkan dapat memproduksi senyawa bioaktif dengan beragam fungsi farmasi seperti antibakteri, antioksidan, antibiofilm dan sitotoksik (Urumbil *et al.* 2020; Stelmasiewicz *et al.* 2022).

Hasil uji aktivitas antibakteri dari semua isolat bakteri endofit *M. bancana* terhadap 4 bakteri target memiliki spektrum aktivitas yang beragam. Isolat

bakteri MB3.1 diketahui merupakan isolat potensial yang memiliki aktivitas antibakteri terkuat melawan bakteri uji *B. subtilis* dengan nilai MIC sebesar 39,06 $\mu\text{g/ml}$. Nilai aktivitas tersebut tergolong aktivitas antibakteri sangat kuat karena memiliki nilai MIC <100 $\mu\text{g/ml}$ (Saraiva *et al.* 2011). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak potensial MB3.1 memiliki aktivitas antibakteri melawan *B. subtilis* lebih kuat dibanding dengan ekstrak dari bakteri endofit lain seperti dari bakteri endofit *Archidendron pauciflorum* dan *Myristica fatua* dengan nilai MIC berturut-turut sebesar 3750 $\mu\text{g/ml}$ dan 62,50 $\mu\text{g/ml}$ (Priyanto *et al.* 2023b, 2024). Berdasarkan hasil tersebut maka dapat diketahui bahwa ekstrak MB3.1 berpotensi untuk diteliti lebih lanjut terkait dengan potensinya sebagai aktivitas antibakteri atau potensi bioaktivitas lainnya.

Uji selanjutnya dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan menggunakan metode radikal DPPH (Tabel 4). Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC_{50} , dengan satuan $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} menggambarkan konsentrasi sampel (ppm) yang diperlukan untuk menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dimiliki. Antioksidan merupakan senyawa yang berperan penting dalam menjaga kesehatan tubuh dari cekaman oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas, sehingga dapat membantu mencegah berbagai penyakit. Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah DPPH, karena metode ini sederhana, cepat, dan sensitif, serta hanya memerlukan sedikit sampel. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning pada bercak menunjukkan adanya aktivitas antiradikal bebas. Senyawa antioksidan berinteraksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen, yang mengakibatkan peluruhan warna ungu menjadi kuning (Handayani *et al.* 2014).

Hasil uji antioksidan ekstrak MB3.1 menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki nilai IC_{50} sebesar 248,19 $\mu\text{g/ml}$, tergolong dalam kategori sedang. Menurut Putri (2020), suatu senyawa dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} -nya kurang dari 50 ppm, kuat jika berada di antara 50 hingga 100 ppm, sedang jika nilainya berkisar

Tabel 5. Kandungan senyawa kimia yang terdeteksi pada ekstrak senyawa MB3.1

Nama senyawa	Retention time (RT)	Abundance (%)	Similarity (%)	Sumber lain senyawa	Bioaktivitas	Referensi
Phenylethyl alcohol	9,406	35,82	91	Jamur endofit <i>Ustilago</i> sp., Jamur endofit <i>Aspergillus niger</i>	Antibakteri, antimikroba	(Monggoot <i>et al.</i> 2016; Wani <i>et al.</i> 2010)
Benzeneethanol, 4-hydroxy	13,905	21,17	94	Khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Antioksidan, antibakteri	(Makky <i>et al.</i> 2021)
Tryptophol	17,761	12,46	91	Jamur <i>Ceratocystis adiposa</i> , jamur endofit <i>Colletotrichum</i> sp. SC1355	Antibakteri, antijamur	(Guzman-Lopez <i>et al.</i> 2007; Shao <i>et al.</i> 2020)
Butyl citrate	22,361	6,64	86	Bunga <i>Lobularia maritima</i>	Antimikroba, antioksidan	(Kouidhi <i>et al.</i> 2021)
Pyrrolo(1,2-a)pyrazine-1,4-dione,hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	19,501	3,39	93	Bakteri <i>Bacillus tequilensis</i> MSI45, bakteri <i>Streptomyces mangrovisoli</i> sp. nov.	Antibakteri, antioksidan	(Kiran <i>et al.</i> 2018; Ser <i>et al.</i> 2015)
Ethyl p-methoxycinnamate	17,535	1,65	98	Rimpang <i>Kaempferia galanga</i> L.	Antijamur, antibakteri, antiinflamasi	(Fareza <i>et al.</i> 2017; Winingsih & Husein, 2021)
Cyclo(l-prolyl-l-valine)	18,316	1,65	91	Bakteri <i>Pseudomonas cedrina</i> , jamur endofit <i>Amesia atrobrunnea</i> , bakteri <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Antiproliferatif, antijamur, antibakteri, antivirus	(Sanchez-Tafolla <i>et al.</i> 2019; Ramya <i>et al.</i> 2022; Patel <i>et al.</i> 2021)
1-propanol, 3-(methylthio)	7,024	1,58	99	Khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , khamir <i>Kluyverimyces lactis</i>	Antioksidan	(Ma <i>et al.</i> 2022)
Di-isononyl phytlate	26,520	0,62	87	Spons laut <i>Haliclona (Soestella) caerulea</i>	Antimikroba, antijamur	(Shafeian <i>et al.</i> 2022)
1,2-benzenedicarboxylic acid, dinonyl ester	26,886	0,57	76	Jamur <i>Aspergillus flavipes</i>	Antijamur	(Verma <i>et al.</i> 2014)

antara 100 hingga 250 ppm, dan dianggap lemah jika nilai IC_{50} lebih dari 500 ppm. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dari ekstrak bakteri endofit tumbuhan *A. pauciflorum* dan *M. fatua* dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 98,31 $\mu\text{g/ml}$ dan 242,61 $\mu\text{g/ml}$ (Priyanto *et al.* 2023b, 2024).

Hasil analisis GC-MS menunjukkan bahwa ekstrak MB3.1 mengandung beragam senyawa potensial, beberapa di antaranya berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa dengan konsentrasi tertinggi adalah phenylethyl alcohol, yang termasuk dalam kelompok senyawa alkohol dengan kemampuan antibakteri dan antimikroba. Wani *et al.* (2010) menyatakan bahwa senyawa alkohol ini dapat dimanfaatkan karena sifat antimikrobanya dalam pembuatan disinfektan, antiseptik, dan sebagai pengawet di bidang farmasi.

Senyawa dengan kelimpahan kedua terbanyak adalah benzeneethanol, 4-hydroxy. Makky *et al.* (2021) melaporkan bahwa senyawa ini, yang sering disebut tirosol, menunjukkan aktivitas antioksidan secara *in vitro* dan mampu menghambat atau memperlambat reaksi oksidasi yang disebabkan oleh dioksigen atau peroksida dalam jaringan hewan. Senyawa ketiga yang paling melimpah adalah tryptophol. Guzman-Lopez *et al.* (2007) melaporkan kemampuan bioaktivitas senyawa tryptophol sebagai antibiotik (antibakteri) yang diisolasi dari jamur *Ceratocystis adiposa*. Berdasarkan hasil analisis yang diperoleh, diduga bahwa aktivitas antibakteri dan antioksidan dari ekstrak isolat MB3.1 berkaitan dengan peran ketiga senyawa dominan: phenylethyl alcohol, benzeneethanol, 4-hydroxy, dan tryptophol.

Kesimpulannya, sebanyak 1 dari 10 isolat bakteri endofit tumbuhan *M. bancana* menunjukkan aktivitas antibakteri dan antioksidan yaitu isolat bakteri kode MB3.1. Ekstrak kasar isolat MB3.1 tersebut mampu menghambat pertumbuhan keempat bakteri uji dengan diameter zona hambat antara 6,1-6,6 mm. Nilai MIC terkuat dari ekstrak ini melawan *B. subtilis* dengan konsentrasi MIC sebesar 39,06 µg/ml. Aktivitas antioksidan ekstrak ini dikategorikan sedang, dengan nilai IC₅₀ DPPH sebesar 248,19 µg/ml. Berdasarkan analisis GC-MS, senyawa bioaktif yang diduga berperan dalam aktivitas antibakteri dan antioksidan dari ekstrak ini adalah phenylethyl alcohol, benzeneethanol, 4-hydroxy, dan tryptophol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis sampaikan kepada Organisasi Riset Kesehatan, BRIN, Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui skema Rumah Program Purwarupa Bahan Baku Obat Terapi Terarah (2024) yang diberikan kepada VP.

DAFTAR PUSTAKA

- Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA. 2017. Phytochemicals: extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants* 6:42. <https://doi.org/10.3390/plants6040042>
- Amirta R, Angi EM, Ramadhan R, Kusuma IW, Wiati CB, Haqiqi MT. 2017. Potensi Pemanfaatan *Macaranga*. Samarinda: Mulawarman Univ Press.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute. DOI:10.1128/jcm.00213-21
- Dijkhoff IM, Drasler B, Karakocak BB, Petri-Fink A, Valacchi G, Eeman M, Rothen-Rutishauser B. 2020. Impact of airborne particulate matter on skin: a systematic review from epidemiology to *in vitro* studies. *Particle and Fibre Toxicology* 17:1-28. DOI:10.1186/s12989-020-00366-y
- Fareza MS, Rehana R, Nuryanti N, Mujahidin D. 2017. Transformasi etil-p-metoksisinamat menjadi asam p-metoksisinamat dari kencur (*Kaempferia galanga* L.) beserta uji aktivitas antibakterinya. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia* 13:176-190.
- Guzman-Lopez O, Trigos A, Fernandez FJ, Yanez-Morales MJ, Saucedo-Castaneda G. 2007. Tyrosol and tryptophol produced by ceratocystis adiposa. *World Journal of Microbiol and Biotechnol* 23:1473-1477. DOI:10.1007/s11274-007-9392-9
- Handayani V, Ahmad AR, Sudir M. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) menggunakan metode DPPH. *Pharmaceutical Sci and Res* 1:86-93.
- Kiran GS, Priyadharsini S, Sajayan A, Ravindran A, Selvin J. 2018. An antibiotic agent Pyrrolo(1,2-□)Pyrazine-1,4-Dione, Hexahydro isolated from a marine bacteria *Bacillus tequilensis* MS145 effectively controls multi-drug resistant *Staphylococcus aureus*. *RSC Advances* 8:17837-17846. DOI:10.1039/c8ra00820e
- Kouidhi S, Zidi O, Abdelwahed S, Souissi Y, Trabelsi N, Redissi A, Hamdi M, Trabelsi E, Amara Y, Bhiri T, Khrouf R, Selmi B. 2021. Investigation of the chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of *Lobularia maritima*: potent therapeutic applications. *Hindawi Journal of Chemistry* 2021:1-12. DOI:10.1155/2021/1981680
- Ma J, Cheng L, Zhang Y, Liu Y, Sun Q, Zhang J, Liu X, Fan G. 2022. Screening of yeasts isolated from Baijiu environments for producing 2-Methylthio-1-Propanol and optimizing production conditions. *Foods* 11:3616. DOI:10.3390/foods11223616
- Makky EA, Al-Matar M, Mahmood MH, Ting OW, Qi WZ. 2021. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of ethyl acetate extract of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Technology and Biotechnology* 59:127-136. DOI:10.17113/ftb.59.02.21.6658
- Monggoot S, Burawat J, Pripdeevech P. 2016. Antibacterial activities of endophytic fungi isolated from *Mentha cordifolia* leaves and their volatile constituents. *Natural Product Communications* 11:1349-1351. DOI: 10.1177/1934578X1601100941
- Patel M, Siddiqui AJ, Hamadou WS, Surti M, Awadelkareem AM, Ashraf SA, Alreshidi M, Snoussi M, Rizvi SMD, Bardakci F, Jamal A, Sachidanandan M, Adnan M. 2021. Inhibition of bacterial adhesion and antibiofilm activities of a glycolipid biosurfactant from *Lactobacillus rhamnosus* with its psychochemical and functional properties. *Antibiotics* 10:1546. DOI:10.3390/antibiotics10121546
- Photolo MM, Mavumengwana V, Sitole L, Tlou MG. 2020. Antimicrobial and antioxidant properties of a bacterial endophyte, *Methylobacterium radiotolerans* MAMP 4754, isolated from *Combretum erythrophyllum* seeds. *International Journal of Microbiology* 2020:9483670. DOI:10.1155/2020/9483670
- Prastya ME, Astuti RI, Batubara I, Wahyudi AT. 2019. Antioxidant, antiglycation and *in vivo* antiaging effects of metabolite extracts from marine sponge associated bacteria. *Ind J Pharm Sci.* 81:344-353. <https://doi.org/10.36468/pharmaceuticalsciences.516>
- Priyanto JA, Prastya ME, Sinarawadi GS, Datu'salamah W, Avelina TY, Yanuar AIA, Azizah E, Tachrim ZP, Mozef T. 2022. The antibacterial and antibiofilm potential of *Paederia foetida* Linn. leaves extract. *J Appl Pharm Sci* 12, 117-124. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2022.121012>
- Priyanto JA, Prastya ME, Astuti RI, Kristiana R. 2023a. The antibacterial and antibiofilm activities of the endophytic bacteria associated with *Archidendron pauciflorum* against multidrug-resistant strains. *Appl Biochem Biotechnol* 195:6653-74. DOI:<https://doi.org/10.1007/s12010-023-04382-4>
- Priyanto JA, Prastya ME, Astuti RI, Minarti, Mozef T. 2023b. Endophytic *Bacillus* spp. isolated from *Archidendron pauciflorum*: pharmacological property and their phytochemical constituents. *J Res Pharm* 27:2511-2521. <http://doi.org/10.29228/jrp.540>
- Priyanto JA, Primahana G, Prastya ME, Satiyaningsih D, Hutagaol RP, Permatasari V, Megawati, Darmawan A. 2024. Bioactivity potential and chemical profile of endophytic *Stutzerimonas stutzeri* strain D2 isolated from *Myristica fatua* Houtt. *J Res Pharm* 28:51-62. <http://dx.doi.org/10.29228/jrp.672>
- Putri AM. 2020. Perbandingan aktivitas antioksidan terhadap biji bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan tumbuhan lainnya. *Journal of Research and Education Chemistry* 2:85-91. DOI:10.25299/jrec.2020.vol2(2).5667
- Putri R, Kandou FEF, Teruna HY. 2019. Skrining fitokimia dan uji toksisitas dari ekstrak daun mahang (*Macaranga bancana*). *Jurnal Photon* 9:19-23.
- Ramya AK, Devika R, Sethumadhavan K. 2022. A comparative study of GCMS analysis of bioactive compound isolated from marine algae-derived endophytic fungi. *Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology* 30:482-490.
- Sanchez-Tafolla L, Padron JM, Mendoza G, Luna-Rodriguez M, Fernandez JJ, Norte M, Trigos A. 2019. Antiproliferative activity of biomass extract from *Pseudomonas cedrina*. *Electronic Journal of Biotechnology* 40:40-44. DOI:10.1016/j.ejbt.2019.03.010
- Saraiva AM, Castro RHA, Cordeiro RP, Peixoto Sobrinho TJS, Castro VTNA, Amorim ELC, Xavier HS, Pisciotano MNC. 2011. *In vitro* evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae). *African J Pharm Pharmacol* 5:1724-1731. DOI:10.5897/AJPP11.428.
- Ser HL, Palanisamy UD, Yin WF, Malek SNA, Chan KG, Goh BH, Lee LH. 2015. Presence of antioxidative agent, Pyrrolo(1,2-□)Pyrazine-1,4-Dione, Hexahydro- in newly isolated *Streptomyces mangrovisoli* sp. nov. *Frontiers in Microbiology* 6:1-11. DOI:10.3389/fmicb.2015.00854

- Shafeian E, Mostafavi PG, Farimani MM, Moradi AM, Nazemi M. 2022. Extraction and investigation of biological activities of dioctyl phthalate and dibutyl phthalate from marine sponge *Haliclona (Soestella) caerulea* Larak Island, Persian Gulf. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 21:1141-1155. DOI:10.22092/ijfs.2022.127710
- Shao L, Wu P, L, Xu, Xue J, Li H, Wei X. 2020. Colletotryptins A-F, new dimeric tryptophol derivatives from the endophytic fungus *Colletotrichum* sp. SC1355. *Fitoterapia* 141:104465. DOI:10.1016/j.fitote.2019.104465
- Stelmasiewicz M, Świątek Ł, Ludwiczuk A. 2022. Phytochemical profile and anticancer potential of endophytic microorganisms from liverwort species, *Marchantia polymorpha* L. *Molecules* 27:153. <https://doi.org/10.3390/molecules27010153>
- Strobel G. 2018. The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *Journal of Fungi* 4:1-19. <https://doi.org/10.3390/jof4020057>
- Urumbil SK, Jesy EJ, Anilkumar M. 2020. Antimicrobial and antioxidant potential of endophytic bacteria isolated from *Emilia sonchifolia*. *Biosci Biotechnol Res Comm* 13:620-626. <http://doi.org/10.21786/bbrc/13.2/39>
- Verma A, Johri BN, Prakash A. 2014. Antagonistic evaluation of bioactive metabolite from endophytic fungus, *Aspergillus flavipes* KF671231. *Hindawi Journal of Mycology* 2:1-5. DOI:10.1155/2014/371218
- Wani MA, Sanjana K, Kumar DM, Lal DK. 2010. GC-MS analysis reveals production of 2-Phenylethanol from *Aspergillus niger* endophytic in rose. *Journal of Basic Microbiology* 50:110-114. DOI:10.1002/jobm.200900295
- Winingsih W, Husein SG. 2021. Analysis of ethyl p-Methoxycinnamate from *Kaempferia galanga* L. extract by high performance liquid chromatography. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry* 5:353-358. DOI:10.25026/jtpc.v5i4.331
- Zhou L, Song CX, Li ZB, Kuipers OP. 2021. Antimicrobial activity screening of rhizosphere soil bacteria from tomato and genome-based analysis of their antimicrobial biosynthetic potential. *BMC Genomics* 22:1-14. DOI:10.1186/s12864-020-07346-8