

## Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Daun Sirsak *Annona Muricata* L. dan Aktivitas Antibakterinya terhadap Beberapa Bakteri Patogen

Isra Janatiningrum<sup>1,2\*</sup>, Akhmad Endang Zainal Hasan<sup>2</sup>, Eny Ida Riyanti<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, Faculty Of Mathematics and Natural Sciences, Bogor Agricultural University. Jl Raya Dramaga Bogor, West Java 16680, Indonesia

<sup>3</sup>Center for Biotechnology and Genetic Resources of Agriculture, Agricultural Research Agency, Bogor, West Java 16111, Indonesia

\*corresponding author: [isra.janatiningrum@uinjkt.ac.id](mailto:isra.janatiningrum@uinjkt.ac.id)

Received: 19 January 2022; Accepted: 17 February 2022

**Abstract:** Soursop (*Annona muricata* L.) is a plant with many health benefits. Soursop leaves are widely used as traditional medicine by Indonesian citizens for wound infection healing. The antibacterial activity of soursop leaves cannot be separated from the presence of endophytic microbes that live inside. Endophytic bacteria live in plant tissues and have benefits for their host plants. Endophytic microbes are able to produce the same secondary metabolites as their host such as producing antibacterial compounds. Thirty-one bacterial endophytes were isolated from soursop leaves from 3 different regions: Garut, Cianjur, and Sukabumi. Morphologically, endophytic bacterial isolates from the three regions had different diversity. Bacterial isolates were tested for their activity against 4 test pathogenic bacteria, such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus mutans*, and *Streptococcus aureus*. Antibacterial test using disc diffusion method with chloramphenicol 500 µg/mL as a positive control. Based on the antibacterial activity test, isolate G42 was able to inhibit all types of test bacteria. G42 isolates form a zone of inhibition up to 17 mm in *P. aeruginosa*. Based on 16S rRNA, G42 isolates had similarities with *Pantoea wallisii* up to 93.24%. This study shows that endophytic bacteria isolated from soursop leaves have the potential to be developed into antibacterial agents.

**Keywords:** *Annona muricata* L, antibacterial, endophytic bacteria, noni leaf, 16S rRNA

**Abstrak:** Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman buah yang banyak manfaat untuk kesehatan. Daun sirsak banyak digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat lokal seperti untuk mempercepat penyembuhan luka infeksi. Aktivitas antibakteri pada daun sirsak tidak terlepas dari keberadaan mikrob endofit yang hidup didalamnya. Bakteri endofit hidup pada jaringan tanaman dan menguntungkan untuk kehidupan tanaman inangnya. Mikrob endofit mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya bahkan lebih baik seperti menghasilkan senyawa antibakteri. Sebanyak 31 isolat bakteri endofit telah berhasil diisolasi dari 3 daerah yang berbeda yaitu Garut, Cianjur, dan Sukabumi. Secara morfologi isolat bakteri endofit dari ketiga daerah tersebut memiliki keragaman yang berbeda. Isolat bakteri yang telah berhasil diisolasi diuji aktivitasnya terhadap 4 bakteri patogen uji yaitu, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus mutans*, dan *Streptococcus aureus*. Uji antibakteri menggunakan metode difusi cakran dengan kontrol positif adalah kloramfenikol 500 µg/mL. Berdasarkan uji aktivitas antibakteri isolat G42 mampu menghambat seluruh jenis bakteri uji. G42 membentuk zona bening hingga 17 mm pada *P. aeruginosa*. Berdasarkan identifikasi 16S rRNA, isolat G42 memiliki kemiripan dengan *Pantoea wallisii* sebesar 93,24%. Studi ini menunjukkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari daun sirsak memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi agen antibakteri.

**Kata Kunci:** *Annona muricata* L, antibakteri, bakteri endofit, daun sirsak, 16S rRNA

DOI: 10.15408/pbsj.v3i2.24321

### 1. PENDAHULUAN

Bakteri endofit hidup pada jaringan tanaman selama siklus hidupnya (Mano dan Morisaki, 2008). Bakteri endofit bersimbiosis mutualisme dengan jaringan tanaman dengan memberikan beberapa keuntungan

untuk tanaman seperti memacu pertumbuhan dan biokontrol dari patogen tanaman (Tianxing *et al.*, 2013). Beberapa jenis bakteri endofit diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif yang sama atau bahkan lebih baik daripada inangnya seperti menghasilkan antifungi (Qiao *et al.*, 2006; Zhang *et*

*al.*, 2008), antioksidan, aktivitas sitotoksik, dan antibiotik (Xiao *et al.*, 2014). Kemampuan bakteri endofit tersebut didasari oleh manfaat endofit untuk tanaman secara alami adalah meningkatkan kesehatan tanaman dengan menghasilkan antibiotik, enzim hidrolitik, dan pembatasan nutrisi (Afzal *et al.*, 2019). Bakteri endofit dalam beberapa tahun ini telah menjadi fokus penelitian untuk menemukan senyawa aktif baru (Latupeirisa, 2014). Pemanfaatan bakteri endofit sangatlah tepat mengingat siklus hidup mikroba yang lebih singkat dibandingkan siklus hidup tanaman inangnya. Hal tersebut dapat menghemat waktu produksi senyawa bioaktif pada skala industri.

Sirsak (*Annona muricata* L.) atau nangka belanda adalah tanaman asli dari Kepulauan Karibia, daerah bagian di Amerika Tengah dan Selatan. Secara umum sirsak dimanfaatkan bagian buahnya. Namun, di Indonesia penggunaan air rebusan daun sirsak sebagai obat herbal telah banyak diketahui. Senyawa bioaktif yang terkandung didalam daun sirsak memiliki beragam manfaat untuk pengobatan. (Adri dan Wikanastri, 2013). Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa daun sirsak memiliki manfaat untuk mengobati penyakit kulit, flu, batuk, rematik, kanker (Orwa *et al.*, 2009), hipertensi (Lans, 2006), infeksi bakteri (Gajalakshmi *et al.*, 2012). Indonesia merupakan salah satu negara tropis penghasil buah sirsak. Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) Jawa Barat adalah salah satu sentra buah sirsak di Indonesia dengan angka produksi sebesar 11 188 juta ton pada tahun 2020 (BPS, 2020). Penyebaran perkebunan buah sirsak tersebar diseluruh Jawa Barat dengan dengan penghasil terbesar Cianjur (1.811 ton), Sukabumi (706,1 ton), dan Garut (1.784,5 ton) (BPS Jabar, 2018).

Penyakit infeksi saat ini adalah salah satu masalah besar untuk bidang kesehatan. Infeksi dapat

disebabkan oleh berbagai macam jenis mikroba seperti, bakteri, jamur, protozoa, dan virus. Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri saat ini bergantung pada antibiotik. Namun, bakteri terus bermutasi yang menyebabkan resistensi antibiotik kian bertambah sehingga dibutuhkan penelitian untuk menemukan senyawa antibiotik baru. Bakteri, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus mutans*, dan *Streptococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi yang sangat sering dijumpai pada kehidupan sehari-hari. Resistensi bakteri-bakteri tersebut terhadap antibiotik terus meningkat dan sulit dikendalikan (Pachori *et al.*, 2019; Ng *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2020).

Senyawa bioaktif yang terkandung pada daun sirsak tidak terlepas dari interaksinya dengan bakteri endofit yang hidup pada jaringannya. Belum pernah ada laporan sebelumnya tentang aktivitas antibakteri dari bakteri endofit daun sirsak menggunakan bakteri *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. mutans* sebagai bakteri ujinya. Berdasarkan literatur maka tujuan penelitian ini adalah mendapatkan bakteri endofit dari daun sirsak yang memiliki kemampuan menghambat bakteri patogen uji yang selanjutnya dapat dikembangkan menjadi agen antibakteri.

## 2. METODE

### 2.1 Isolasi Bakteri Endofit

Daun sirsak diperoleh dari perkebunan Sirsak di Garut, Cianjur, dan Sukabumi. Sampel kemudian dicuci dengan air mengalir selanjutnya dipotong dengan ukuran 3 x 0,5 cm. Sampel daun sirsak tersebut kemudian disterilisasi bertahap menggunakan etanol 96%, NaOCl, dan akuades steril. Setelah sterilisasi daun sirsak dikering anginkan. Irisan daun sirsak tersebut kemudian diletakkan diatas media *Nutrient Agar* (NA) secara horizontal lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang ( $\pm 28^{\circ}\text{C}$ )

(Desriani *et al.*, 2013).

## 2.2 Purifikasi Bakteri Endofit

Koloni bakteri yang tumbuh disekitar sampel daun sirsak dimurnikan dengan cara digores 4 kuadran pada media NA lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang ( $\pm 28^\circ\text{C}$ ). Selanjutnya koloni tunggal yang tumbuh pada kuadran terakhir diambil untuk disimpan pada agar miring dan disimpan pada suhu ( $\pm 4^\circ\text{C}$ ).

## 2.3 Uji Aktivitas Antibakteri

### a. Persiapan bakteri uji

Bakteri *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. mutans*, dan *S. aureus* yang telah diremajakan ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* (NB). Kultur bakteri tersebut kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$ . Selanjutnya, sebanyak 40  $\mu\text{L}$  kultur bakteri dicampurkan dengan 20 mL media NA bersuhu  $\pm 47^\circ\text{C}$  dan dihomogenkan dengan cara digoyang. Media NA yang telah diinokulasi bakteri uji tersebut dituang ke cawan petri dan dibiarkan hingga padat.

### b. Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan dua metode. Pertama, pengujian antibakteri menggunakan kultur bakteri endofit. Selanjutnya bakteri endofit dengan aktivitas tertinggi diuji supernatannya terhadap patogen uji. Kertas cakram steril diletakkan diatas media NA yang berisi bakteri uji lalu ditetesi 100  $\mu\text{L}$  kultur dan supernatant bakteri endofit. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang  $\pm 28^\circ\text{C}$ . Kloramfenikol 500  $\mu\text{g/ml}$  dijadikan kontrol positif dan kontrol negatif adalah media NB tanpa kultur. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram (Simarmata *et al.*, 2007).

## 2.4 Ekstraksi DNA Genom Isolat Bakteri Endofit Terpilih

Bakteri endofit yang memiliki aktivitas tertinggi dipilih untuk dilakukan identifikasi morfologi dan molekuler. Identifikasi molekuler dimulai dengan ekstraksi DNA genom bakteri. Sel bakteri dipecah menggunakan 0.65 mL buffer lisis (Tris HCl, NaCl, EDTA, PVP, SDS) diinkubasi pada suhu  $65^\circ\text{C}$  selama 30 menit. Suspensi sel bakteri kemudian ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  kalium asetat dan disentrifugasi (13000 rpm, 5 menit). Supernatan dimurnikan dengan etanol 95% sebanyak 2x volume supernatan dan disentrifugasi lagi (10000 rpm, 10 menit). Pelet yang dihasilkan ditambah dengan 500  $\mu\text{L}$  etanol 70% lalu disentrifugasi kembali (13000 rpm, 10 menit). Pelet hasil sentrifugasi selanjutnya ditambah 20  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O dan 1  $\mu\text{L}$  RNase dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang ( $\pm 28^\circ\text{C}$ ) (Zheng *et al.*, 1995).

## 2.5 Amplifikasi Gen 16S rRNA

Gen 16S rRNA dari genom bakteri endofit diamplifikasi menggunakan 1  $\mu\text{L}$  DNA, 12.5  $\mu\text{L}$  enzim taq polymerase (KAPA Taq PCR Kit, Sigma Aldrich), 0.5  $\mu\text{L}$  MgCl<sub>2</sub>, 1.25  $\mu\text{L}$  UFP, 1.25  $\mu\text{L}$  URP, dan 8.5  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O. Primer *forward* 27F (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG'3) dan primer *reverse* 1492R (5'CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT'3). Proses amplifikasi dilakukan selama 129 menit dengan 27 siklus. Siklus amplifikasi dimulai dengan predenaturasi ( $95^\circ\text{C}$ , 10 s), denaturasi ( $95^\circ\text{C}$ , 30 s), *annealing* ( $55^\circ\text{C}$ , 60 s), elongasi ( $72^\circ\text{C}$ , 60 s), pasca elongasi ( $72^\circ\text{C}$ , 10 s) (Marchesi *et al.*, 1998).

## 2.6 Sekuensing dan Konstruksi Pohon Filogenetik

DNA gen 16S rRNA hasil amplifikasi disekuensing urutan basa nitrogennya. Hasil sekuensing diolah dengan *Software Seqtrace* kemudian dibandingkan sekuennya dengan sekuen yang ada pada bank genom menggunakan program BLASTN. Hasil perbandingan sekuen dengan bank genom di

*alignment* dan dikonstruksi pohon filogenetiknya menggunakan software MEGA 7 dengan *bootstrap* 1000x dan pendekatan metode *Neighbour Joining* (Janatiningrum *et al.*, 2018).

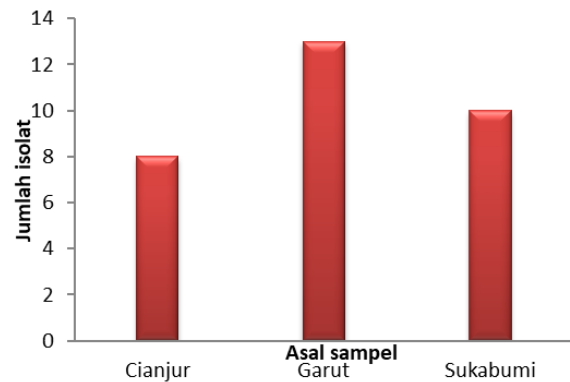
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri endofit telah berhasil diisolasi dari daun sirsak (*A. muricata L.*) Hasil isolasi didapatkan 31 isolat bakteri dengan penyebaran 13 isolat dari Garut, 8 isolat dari Cianjur, dan 10 isolat dari Sukabumi (Gambar 1). Perbedaan hasil isolasi disebabkan oleh kondisi lingkungan di sekitar tumbuhnya pohon sirsak yang berbeda. Endofit merupakan mikroorganisme yang awalnya merupakan bakteri rhizosfer yang kemudian menginvasi jaringan tanaman untuk melakukan simbiosis. Tanah yang ada disekitar tanaman mempengaruhi banyaknya mikroba endofit pada jaringan tanaman (Janatiningrum *et al.*, 2018). Morfologi isolat bakteri endofit secara keseluruhan memiliki karakter yang bervariasi. Isolat bakteri endofit yang telah berhasil dikulturkan menunjukkan karakteristik morfologi yang berbeda pada warna, bentuk koloni, tepian dan elevasi koloni (Tabel 1).

Tabel 1. Morfologi isolat bakteri endofit daun sirsak

Kode isolat	Warna	Koloni	Tepian	Elevasi
C2.2	Kuning	Berlendir	Rata	Rata
C2.3	Putih susu	Berlendir	Rata	Cembung
C4.1	Kuning	Berlendir	Rata	Cembung
C4.2	Orange	Berlendir	Rata	Cembung
C5.2	Putih keuningan	Tidak berlendir	Bergerigi	Rata
G1.2	Kuning	Berlendir	Rata	Cembung
G2.1	Putih susu	Berlendir	Rata	Rata
G2.2	Putih susu	Berlendir	Rata	Rata
G2.4	Kuning	Berlendir	Rata	Cembung
G4.2	Kuning	Berlendir	Rata	Cembung
G5.1	Orange	Berlendir	Rata	Cembung
G5.2	Kuning	Berlendir	Rata	Cembung
G5.4	Orange	Berlendir	Rata	Cembung
S1.4	Putih susu	Tidak berlendir	Bergelombang	Cembung
S4.2	Putih susu	Tidak berlendir	Bergelombang	Cembung
S5.1	Putih susu	Berlendir	Rata	Rata
S5.5	Putih susu	Berlendir	Rata	Rata

Ket: C ( Cianjur), G (Garut), S (Sukabumi), Angka pertama: nomor isolat, angka kedua: ulangan



Gambar 1. Jumlah isolat bakteri endofit dari tiga daerah penghasil sirsak di Jawa Barat

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan munculnya zona bening di sekitar kertas cakram setelah inkubasi. Zona bening tersebut dapat dikatakan sebagai zona hambat bakteri. Kemampuan aktivitas antibakteri dihitung berdasarkan ukuran zona bening yang terbentuk. Seluruh isolat bakteri endofit telah diuji dengan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. mutans*, dan *P. aeruginosa*.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri beberapa isolat bakteri endofit menggunakan kultur bakteri

kode isolat	Diameter zona bening (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
C22	-	17	-	7
C23	-	10	-	-
C41	8	13	8	-
C42	-	7	-	-
C43	8	-	-	-
C51	-	9	7	13
G22	-	-	-	9
G33	9	13	-	-
G42	14	10	12	7
G45	08	8	6	-
G51	-	8	6	-
G52	-	-	-	-
G53	-	9	-	9
G54	-	7	-	-
S41	-	12	-	-
S42	-	9	8	14
S43	-	12	-	-
S54	-	13	7	11

Keterangan: Cianjur (C), Garut (G), Sukabumi (S)

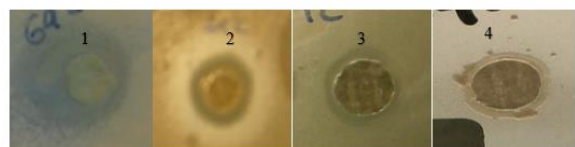
Berdasarkan hasil uji antibakteri didapatkan 18 isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri (Tabel 2). Isolat bakteri endofit paling banyak menghambat bakteri *P. aeruginosa* dengan adanya 15 isolat yang membentuk zona bening pada biakan bakteri patogen tersebut. Kemudian untuk bakteri *S. mutans* terdapat 8 isolat yang menghambat diikuti bakteri *S. aureus* dihambat 7 isolasi dan terakhir bakteri *E. coli* 5 isolat. Berdasarkan hasil pengujian dapat disimpulkan bahwa isolat lebih menghambat bakteri gram positif dibandingkan gram negatif. Hal ini terkait aktivitas senyawa antibakterinya dalam melisis sel bakteri.

Isolat G42 menunjukkan aktivitas paling tinggi diantara isolat bakteri endofit lainnya. Isolat G42 mampu menghambat seluruh bakteri patogen uji (Gambar 2). Isolat S52 dan S54 yang menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *S. mutans*. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan gram positif sehingga dapat dikatakan bahwa isolat tersebut menghasilkan senyawa antibakteri golongan berspektrum luas. Menurut Rosidah dan Afizia (2012), golongan senyawa berspektrum luas adalah senyawa yang efektif untuk menghambat hingga membunuh seluruh jenis bakteri baik gram negatif maupun positif. Senyawa antibakteri berspektrum luas biasanya digunakan untuk mengobati penyakit infeksi yang belum diketahui bakteri penyebabnya. Namun, penggunaan golongan senyawa antibakteri ini dapat menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotik.

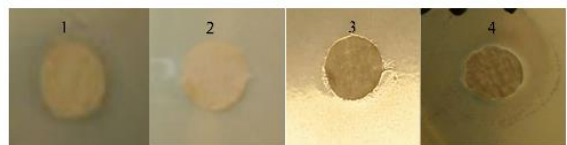
Isolat G42 sebagai isolat terpilih diuji supernatan kulturnya. Hal ini dilakukan untuk mengetahui senyawa antibakteri yang dihasilkan terdapat didalam kultur tanpa sel atau tidak. Hasil pengujian menunjukkan bahwa supernatan isolat G42 juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji

(Gambar 3). Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh isolat G42 dikeluarkan secara ekstraseluler dan bertahan didalam kultur walaupun tanpa adanya sel bakteri yang tumbuh. Hal ini menjadi informasi awal senyawa antibakteri dapat diekstraksi agar mendapat konsentrasi senyawa yang lebih tinggi. Namun, pengujian dengan kultur bakteri menghasilkan penghambatan lebih besar dibandingkan dengan menggunakan supernatannya. Hal ini disebabkan oleh belum dilakukannya optimasi waktu tumbuh bakteri endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif.

Hasil penelitian ini sesuai dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa bakteri endofit memiliki aktivitas senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya. Pada penelitian Ghadin *et al.*, (2008), menemukan bakteri endofit dengan genus *Streptomyces* memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi. Bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman *Mentha longifolia*, *Malva parviflora* dan *Pulicaria undulata* memiliki aktivitas penghambatan terhadap beberapa bakteri patogen pada susu sapi yang telah resisten terhadap antibiotik (Ameen *et al.*, 2019).



Gambar 2. Aktivitas antibakteri isolat G42 pada *S. aureus* (1), *E. coli* (2) *P. aeruginosa* (3), *S. mutans* (4)



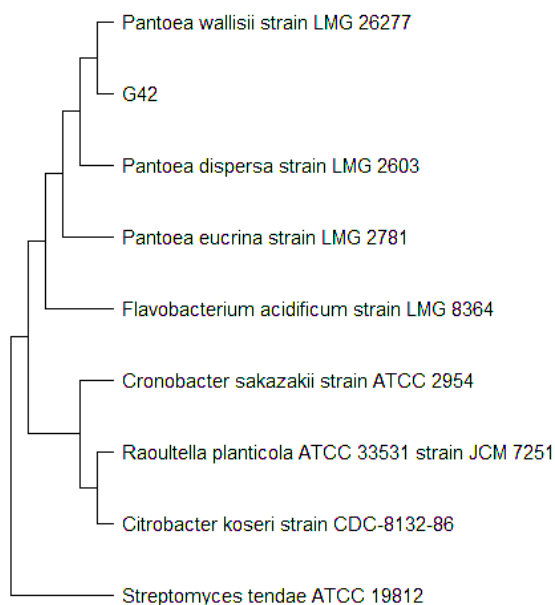
Gambar 3 Aktivitas antibakteri supernatan isolat G42 pada *P. aeruginosa* (1) *S. mutans* (2) *S. aureus* (3) *E. coli* (4)

Isolat bakteri endofit *Piper betle L.* yang memiliki kesamaan genus *Pseudomonas* sp. Mampu menghasilkan senyawa antibakteri 1-metil-2,4-

imidazolidindion yang menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*, *E. coli*, dan *S. aureus* (Purwanto, 2014). Bakteri endofit dari daun binahong (*Anredera cordifolia*) memiliki aktivitas penghambatan terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Setelah diidentifikasi secara molekuler bakteri endofit tersebut mirip dengan genus *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, dan *Bacillus* (Nursulistyarini, 2014).

Tabel 3. Hasil BLAST sekuen isolat bakteri endofit daun sirsak G42 yang dibandingkan dengan sekuen pada genbank menggunakan gen 16S rRNA

No	Spesies	Similarity (%)	Accession number
1	<i>Pantoea wallisii</i>	93.24	NR_118122.1
2	<i>Pantotea dispersa</i>	93.24	NR_116755.1
3	<i>Pantotea eucrina</i>	92.63	NR_116246.1
4	<i>Flavobacterium acidificum</i>	92.08	NR_104962.1
5	<i>Cronobacter sakazakii</i>	92.01	NR_118449.1



Gambar 4 Pohon filogenetik isolat bakteri endofit daun sirsak G42 dengan sekuen 16S rRNA pembandingan (analisis *bootstrap* 1000 kali)

Berdasarkan identifikasi gen 16S rRNA isolat bakteri endofit daun sirsak G42 memiliki kemiripan 93,24% dengan *Pantoea wallisii*. *P. wallisii* adalah bakteri berbentuk batang, Gram-negatif, tidak berkapsul, dan tidak membentuk spora. Genus *Pantoea* adalah

bakteri yang berasosiasi dengan tanaman (Alyssa *et al.*, 2015). Selain berasosiasi dengan tanaman *Pantoea* juga dikenal membentuk asosiasi dengan berbagai inang seperti serangga, dan manusia (Gavini *et al.* 1989; Walterson *et al.* 2015).

*Pantoea* telah banyak diisolasi dari berbagai jenis lingkungan dan memiliki banyak spesies yang bermanfaat (Volksch *et al.* 2009; Nadarasah dan Stavrinides 2014). Genus ini telah dimanfaatkan untuk keperluan industri termasuk bioremediasi, degradasi herbisida fiksasi nitrogen, agen biokontrol dan kemampuan lain yang mendorong pertumbuhan tanaman (Pileggi *et al.* 2012). Selain itu, *Pantoea* sedang banyak dieksplorasi kemampuannya dalam menghasilkan antibiotik. Smiths *et al.* (2019) melaporkan bahwa genus ini umumnya menghasilkan satu atau lebih senyawa antimikroba dan beberapa spesies *Pantotea* menghasilkan antibiotik histidin-reversibel.

#### 4. KESIMPULAN

Daun sirsak (*A. muricata L.*) yang diambil dari daerah penghasil sirsak di Indonesia (Garut, Cianjur, Sukabumi) memiliki bakteri endofit yang telah berhasil dikulturkan. Sebanyak 31 isolat yang terdiri 13 isolat dari Garut, 8 isolat dari Cianjur, dan 10 isolat dari Sukabumi. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa 17 isolat bakteri endofit dapat menghambat bakteri patogen uji dengan aktivitas yang beragam. Isolat G42 memiliki aktivitas paling tinggi diantara isolat lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan kemampuannya yang dapat menghambat semua bakteri uji (*S. aureus*, *E. coli*, dan *S. mutans*, *P. aeruginosa*). Berdasarkan identifikasi morfologi G42 memiliki warna koloni kuning dan berlendir. Identifikasi lebih lanjut menggunakan gen 16S rRNA bakteri endofit ini memiliki kesamaan dengan *P. wallisi* hingga 93,24%.

## 5. DAFTAR PUSTAKA

- Adri, D. dan Wikanastri, H. (2013) 'Aktivitas antioksidan dan sifat organoleptik teh daun sirsak (*Annona muricata* Lin.) berdasarkan variasi lama pengeringan', *J Pangan Gizi*, 7(7):12-17.
- Afzal, I. et al. (2019) 'Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants', *Microbiological Research*, 221:36-49.
- Alyssa, M. et al. (2015) 'Pantoea: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae', *FEMS Microbiology Reviews*, 27(39), pp. 968-984.
- Ameen, F. et al. (2019). 'Prevalence of antibiotic resistant mastitis pathogens in dairy cows in Egypt and potential biological control agents produced from plant endophytic actinobacteria', *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7): 1492-1498.
- Badan Pusat Statistik (2020) Produksi Tanaman Buah-buahan 2020. Available at: <https://www.bps.go.id/indicator/55/62/1/produksi-tanaman-buah-buahan.html> (Accessed: pada 17 February 2022)
- Badan Pusat Statistik Jawa Barat (2018) Produksi Buah-Buahan (Salak, Sawo, Sirsak, Belimbing dan Nangka) Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Jawa Barat, 2016. Available at: <https://jabar.bps.go.id/statictable/2018/03/14/326/-produksi-buah-buahan-salak-sawo-sirsak-belimbing-dan-nangka-menurut-kabupaten-kota-di-provinsi-jawa-barat-2016.html> (Accessed : 17 February 2022).
- Desriani, et al. (2013) 'Potential endophytic bacteria for increasing paddy var rojolele productivity', *Int. J. on Adv. Sci., Eng. and Information Tech*, 3 (1) : 76-78.
- Gajalakshmi, S. et al. (2012) 'Phytochemical and pharmacological properties of *Annona muricata*: A Review', *Inter J. PPS*, 4(2): 5.
- Gavini, F. et al. (1989) 'Transfer of Enterobacter agglomerans (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen-nov as *Pantoea agglomerans* comb nov and description of *Pantoea dispersa* sp-nov', *Int J of Syst Bacteriol*, 39:337-345.
- Ghadin, N. et al. (2008) 'Isolation and characterization of a novel endophytic *Streptomyces* SUK06 with antimicrobial activity from Malaysian plant', *Asian J. Plant Sci*, 7:2:189-194.
- Guo, Y. et al. (2020) 'Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*', *Front. Cell. Infect. Microbiol*, 10:107-118.
- Janatiningrum, I. et al. (2018). 'Comparative study on the diversity of endophytic actinobacteria communities from *Ficus deltoidea* using metagenomic and culture dependent approaches', *Biodiveristas*, 19 (4): 1514-1520.
- Lans, C.A. (2006) 'Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus', *J. Ethnobiol Ethnomed*, 2:45-55.
- Latupeirisa, Y. (2014) Seleksi Dan Identifikasi Bakteri Bermanfaat Asal Tanaman Pisang Tongkat Langit (*Musa troglodytarum* L.) Untuk Mengendalikan Penyakit Darah Pisang, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Mano, H. dan Morisaki, H. (2008) 'Minireview: Endophytic bacteria in the rice plant', *Microbes and Environments*, 23:109-117.
- Marchesi, J.R. et al. (1998) 'Design and evaluation of useful bacterium specific PCR primer that amplify genes coding for bacterial 16SrRNA', *Appl Environ Microbiol*, 64:795-799.
- Nadarasah, G. dan Stavrinides, J. (2014) 'Quantitative evaluation of the hostcolonizing capabilities of the enteric bacterium *Pantoea* using plant and insect hosts. *Microbiology*', 160:602-615.
- Ng, C. et al. (2018) 'Microbial water quality and the detection of multidrug resistant *E. coli* and antibiotic resistance genes in aquaculture sites of Singapore', *Marine Pollution Bulletin*, 135: 475-480.
- Nursulistyarini, F. (2014) 'Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri dari Daun Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis)', Yogyakarta: Universitas Negeri Sunan Kalijaga
- Pachori, P. et al. (2019) 'Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review', *Genes and Diseases*, 6(2):109-119.
- Pileggi, M. et al. (2012) 'Isolation of mesotriene degrading bacteria from aquatic environments in Brazil', *Chemosphere*, 86:1127-32.
- Purwanto, U.M.S. (2014) 'Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antibakteri dari Bakteri Endofit Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.)', Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Qiao, H. et al. (2006) 'Endophytic bacteria isolated from wheat and their antifungal activities to soil-borne disease pathogens', *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 17(4):690-694.
- Rosidah, dan Afizia, W.M. (2012) 'Potensi ekstrak daun jambu biji sebagai antibakterial untuk menanggulangi serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan gurame (*Osprhonemus gouramy lacepede*)', *J Akuatika*, 3(1): 19-27.
- Simarmata, R. et al. (2007) 'Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gymura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba', *Berk Penel Hayati*, 13: 85-90.
- Smits, T.H.M. (2019) 'Pantocin A, a peptide-derived antibiotic involved in biological control by plant-associated *Pantoea* species', *Archives of Microbiology*', 201: 713-722.
- Tianxing, L. et al. (2013) 'Potential of endophytic bacteria isolated from *Sophora alopecuroides* nodule in biological control against *Verticillium wilt* disease', *AJCS*, 7(1):139-146.

Volksch, B. et al. (1993) 'Occurrence of antimicrobial activities of bacteria from soybean leaf spots', *J Basic Microbiol*, 33:349-355.

Walterson, A.M. et al. (2014) 'Identification of a *Pantoea* biosynthetic cluster that directs the synthesis of an antimicrobial natural product', *PLoS One*, 39: 968-984

Xiao, J.1. et al. (2014) 'Secondary metabolites from the endophytic *Botryosphaeria dothidea* of *Melia azedarach* and their antifungal, antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities', *J Agric Food Chem*, 62(16):3584-3590.

Zhang, S.M. et al. (2008) 'Isolation and characterization of antifungal endophytic bacteria from soybean', *J Microbiol*, 35(10):1593-1599.

Zheng, K. et al. (1995) PCR-based marker assisted selection in rice breeding. IRRI discussion paper series No. 12. International Rice Research Institute, P. O. Box 933, Manila, Philippines.