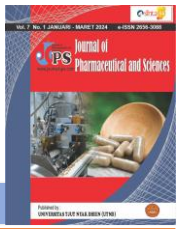
Journal of Pharmaceutical and Sciences
Electronic ISSN: 2656-3088 DOI: https://doi.org/10.36490/journal-jps.com
Homepage: https://journal-jps.com



ORIGINAL ARTICLE JPS. 2026, 9(4), 3406-3416

Antibacterial Activity of Endophytic Bacteria Isolated from Noni (*Morinda citrifolia* L.) Leaves Against *Staphylococcus aureus* Growth

Uji aktivitas antibakteri dari bakteri endofit daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Oza Patlida [a*]

[a] *Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Adiwangsa Jambi, Jambi, Indonesia.*

**Penulis korespondensi* ozapatlida25@gmal.com

Abstract

Introduction: Endophytic bacteria from noni (*Morinda citrifolia* L.) leaves may represent a source of antibacterial metabolites, but their activity against *Staphylococcus aureus* requires further investigation. This study aimed to characterize culturable leaf endophytes and assess their preliminary inhibitory responses against *S. aureus*. **Methods:** In this laboratory experiment, noni leaves collected in Jambi, Indonesia, were surface-disinfected, homogenized, and cultured on nutrient agar. Isolates were characterized by colony morphology, Gram staining, and catalase, motility, citrate utilization, and methyl red tests. Antibacterial screening employed a disc diffusion assay with 20 µL of whole culture per disc and a 30-µg chloramphenicol disc as the positive control. Measurements from three replicates were analyzed descriptively. **Results:** Three isolates (A, B, and C) were obtained; all were Gram-negative, motile, catalase-negative rods. Isolates A and B were citrate- and methyl red-positive, whereas isolate C was negative in both tests. Mean recorded clear-zone measurements (± standard deviation) were 1.95 ± 1.61, 1.81 ± 0.72, and 2.86 ± 0.31 mm for isolates A, B, and C, respectively. Chloramphenicol yielded 0.76 ± 0.66 mm, including one zero reading. **Discussion:** Isolate C showed the highest mean recorded reading and the lowest between-replicate variation. However, unavailable raw diameter measurements, nonstandard susceptibility-testing medium, and an inconsistent positive-control response preclude reliable potency comparisons. These findings constitute preliminary screening observations and support prioritizing isolate C for further characterization and repeat testing under standardized conditions.

Keywords : bacterial endophytes, colony morphology, disc diffusion, noni leaf, Staphylococcus aureus.

Abstrak

Pendahuluan: Bakteri endofit daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) berpotensi menjadi sumber senyawa antibakteri, tetapi aktivitas isolatnya terhadap *Staphylococcus aureus* masih perlu diteliti. Penelitian ini bertujuan mengarakterisasi isolat bakteri endofit daun mengkudu dan mengevaluasi hasil penapisan aktivitas penghambatannya terhadap pertumbuhan *S. aureus*. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratorium dilakukan dengan mengisolasi bakteri dari jaringan daun mengkudu asal Jambi melalui disinfeksi permukaan, homogenisasi jaringan, dan kultivasi pada agar nutrien. Isolat dikarakterisasi berdasarkan morfologi koloni, pewarnaan Gram, serta uji katalase, motilitas, sitrat, dan metil merah. Penapisan antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan 20 µL kultur utuh setiap isolat dan kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif. Data dari tiga ulangan dianalisis secara deskriptif. **Hasil:** Diperoleh tiga isolat (A, B, dan C) yang seluruhnya berbentuk batang, Gram-negatif, motil, dan katalase-negatif. Isolat A dan B menunjukkan reaksi positif pada uji sitrat dan metil merah, sedangkan isolat C menunjukkan reaksi negatif. Rerata ukuran zona bening tercatat (± simpangan baku) untuk isolat A, B, dan C masing-masing sebesar 1,95 ± 1,61; 1,81 ± 0,72; dan 2,86 ± 0,31 mm. Kontrol kloramfenikol menghasilkan nilai 0,76 ± 0,66 mm, dengan satu pengukuran bernilai nol. **Pembahasan:** Isolat C menunjukkan rerata pembacaan zona tertinggi dan variasi antarpengulangan terkecil. Namun, keterbatasan data pengukuran mentah, penggunaan medium yang belum terstandar untuk uji kepekaan, dan respons kontrol positif yang tidak konsisten membatasi interpretasi aktivitas antibakteri. Temuan ini merupakan hasil penapisan awal yang menempatkan isolat C sebagai kandidat prioritas untuk karakterisasi lebih lanjut dan pengujian ulang menggunakan prosedur terstandar.

Kata kunci : bakteri endofit, daun mengkudu, difusi cakram, morfologi koloni, Staphylococcus aureus.

Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0) License

https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i4.2169

Article History:
Received: 09/10/2026,
Revised: 11/11/2026,
Accepted: 11/11/2026
Available Online: 11/11/2026.

QR access this Article

Pendahuluan

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) telah diteliti sebagai sumber berbagai senyawa bioaktif, tetapi aktivitas senyawa yang diekstraksi dari jaringan tumbuhan harus dibedakan dari aktivitas mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tersebut. Aktivitas antimikroba ekstrak mengkudu dipengaruhi oleh organ tumbuhan, pelarut, metode ekstraksi, dan bakteri indikator [1,2]. Penelitian terhadap konstituen daun serta ekstrak buah memperlihatkan perbedaan bahan dan sasaran uji [3,4]. Temuan dari ekstrak tumbuhan tidak secara langsung membuktikan aktivitas suatu isolat endofit karena sumber bahan aktif dan komposisi sediaan uji berbeda.

Bakteri endofit dapat diisolasi dari jaringan sehat setelah proses disinfeksi permukaan dan penanaman pada medium kultur. Pada ranting mengkudu, Kumala dan Siswanto melaporkan isolat endofit dengan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus* pada pengujian supernatan fermentasi [5]. Keberadaan endofit antagonis juga telah dilaporkan pada buah mengkudu [6]; akan tetapi, temuan dari ranting dan buah tidak dapat digeneralisasi ke daun. Proses disinfeksi permukaan dan jenis medium turut menentukan kelompok bakteri yang dapat dipulihkan melalui kultur [7].

Sejumlah penelitian di Indonesia telah menguji bakteri endofit dari daun mangrove, kunyit, kulit jeruk nipis, serta daun matoa terhadap bakteri indikator [8–11]. Perbandingan hasil perlu memperhatikan apakah material yang ditempatkan pada cakram berupa kultur utuh, supernatan bebas sel, atau ekstrak metabolit. Penelitian pada daun *Hippobroma longiflora* dan Mitrephora heyneana, misalnya, menggunakan pendekatan preparasi serta pengukuran yang tidak identik [12,13]. Karena itu, diameter zona dari penelitian yang berbeda tidak dapat diperbandingkan tanpa kesetaraan prosedur dan bahan uji.

Pemilihan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri indikator didukung oleh kajian penapisan endofit akar ciplukan yang menunjukkan aktivitas berbeda antarjenis bakteri uji [14]. Perbedaan aktivitas antarisolat juga ditemukan pada metabolit *Bacillus subtilis* endofit tanaman obat [15]. Bukti tersebut menegaskan bahwa penilaian harus dilakukan pada tingkat isolat serta mencantumkan secara jelas organisme indikator, bentuk sediaan, dan batas interpretasi pengukuran.

Penelitian ini bertujuan memperoleh dan mengarakterisasi isolat bakteri dari jaringan daun mengkudu serta mendeskripsikan pembacaan zona bening yang terbentuk pada penapisan terhadap *S. aureus*. Analisis mencakup morfologi koloni, pewarnaan Gram, reaksi biokimia, dan distribusi hasil tiga ulangan, dengan perhatian khusus terhadap validitas prosedur pengukuran dan kinerja kontrol. Kajian ini tidak dimaksudkan untuk menetapkan identitas genus atau spesies isolat maupun membuktikan potensi antibakteri secara kuantitatif sebelum verifikasi menggunakan metode terstandar.

Metode penelitian

Asal sampel dan rancangan percobaan

Penelitian eksperimental laboratorium dilaksanakan pada Agustus–September 2026 di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Adiwangsa Jambi. Sampel berupa 1 g daun segar *Morinda citrifolia* L. berasal dari tanaman sehat di kawasan Paal Merah, Jambi. Daun dipilih dari posisi kedua pada ujung ranting, dengan helaian utuh dan tanpa kerusakan yang tampak. Bakteri indikator *S. aureus* berasal dari koleksi kultur laboratorium; nomor strain rujukan tidak terdokumentasi. Rangkaian isolasi, karakterisasi fenotipik, dan penapisan diilustrasikan pada Gambar 1.

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

Sterilisasi permukaan dan pemurnian isolat

Daun dicuci dengan air mengalir, kemudian disinfeksi permukaannya secara berurutan menggunakan etanol 70% selama 1 menit dan natrium hipoklorit 5% selama 2 menit, diikuti dua kali pembilasan dengan akuades steril. Air bilasan terakhir diinokulasikan ke agar nutrien (nutrient agar, NA) sebagai kontrol keberhasilan disinfeksi permukaan [7,16]. Jaringan daun selanjutnya digerus secara aseptik dan disuspensikan dalam 10 mL akuades steril. Pemulihan isolat dari jaringan internal didukung oleh tidak adanya pertumbuhan pada kontrol bilasan, tetapi temuan ini tidak menyingkirkan seluruh kemungkinan kontaminasi pada tahap lain.

Suspensi homogenat diencerkan bertingkat hingga 10^{-6}. Sebanyak 100 µL suspensi dari masing-masing pengenceran 10^{-2}, 10^{-4}, dan 10^{-6} disebarkan pada NA yang mengandung nistatin 0,1% menggunakan batang penyebar berbentuk L. Setelah inkubasi pada 37 °C selama 24 jam, koloni dipilih berdasarkan perbedaan morfologi dan dimurnikan menggunakan teknik gores empat kuadran. Pemurnian diulang hingga diperoleh penampilan koloni yang seragam [11,17]. Pemilihan morfotipe merupakan seleksi operasional, bukan identifikasi taksonomi.



Gambar 1. Alur isolasi dan karakterisasi bakteri endofit daun *Morinda citrifolia* L. serta penapisan terhadap *Staphylococcus aureus*. Disinfeksi permukaan meliputi etanol 70% (1 menit), NaOCl 5% (2 menit), dan dua kali pembilasan akuades steril; NA = agar nutrien.

Pengamatan morfologi dan reaksi biokimia

Setiap kultur diperiksa berdasarkan bentuk koloni, warna, elevasi, dan tepi. Untuk pewarnaan Gram, apusan dari koloni murni difiksasi, diberi kristal violet dan lugol masing-masing selama 1 menit, lalu dilunturkan dengan etanol 96% selama 10–30 detik. Safranin digunakan sebagai pewarna tandingan selama 1 menit. Preparat diamati dengan mikroskop untuk mencatat bentuk sel dan reaksi Gram [18]. Kode A, B, dan C digunakan secara konsisten pada pengamatan koloni, pengujian biokimia, dan penapisan antibakteri.

Aktivitas katalase diperiksa dengan menambahkan H_2O_2 3% pada isolat dan mengamati pembentukan gelembung. Motilitas dinilai dari pertumbuhan yang menyebar keluar dari jalur tusukan pada media SIM setelah inkubasi 24 jam pada 37 °C. Pemanfaatan sitrat dinilai pada agar sitrat Simmons setelah 48 jam berdasarkan perubahan warna hijau menjadi biru. Untuk uji metil merah, isolat diinkubasi dalam media MR–VP pada 37 °C selama 24 jam, kemudian ditambahkan 2–3 tetes pereaksi. Warna merah dicatat sebagai reaksi positif [11,16].

Penapisan dengan difusi cakram dan analisis data

Setiap isolat dikulturkan dalam 5 mL kaldu nutrien (nutrient broth, NB) pada 37 °C selama 24 jam. Pemeriksaan kekeruhan dilakukan pada 600 nm dengan NB steril sebagai blanko; catatan akhir absorbansi tiap kultur yang diperlukan untuk membuktikan kesetaraan inokulum tidak tersedia. Bakteri indikator *S. aureus* dinyatakan memiliki acuan kekeruhan 0,1 pada catatan prosedur, tetapi satuan serta kesetaraannya

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

dengan standar 0,5 McFarland tidak dapat diverifikasi. Sebanyak 100 µL suspensi *S. aureus* disebarkan pada NA, kemudian cakram steril diberi 20 µL kultur utuh dari masing-masing isolat. Cakram kloramfenikol berlabel C30 (30 µg) digunakan sebagai kontrol positif, dan cawan diinkubasi 24 jam pada 37 °C. Pengujian merupakan penapisan nonterstandar, bukan metode uji kepekaan klinis [9,14].

Pembacaan dilakukan dengan jangka sorong terhadap area bening pada dua sumbu. Namun, pasangan pengukuran diameter vertikal dan horizontal serta diameter cakram yang digunakan untuk menghitung tiap hasil tidak tersedia untuk pemeriksaan ulang. Rumus penghitungan yang terdokumentasi juga tidak memberikan dasar yang memadai untuk merekonstruksi diameter zona total. Oleh sebab itu, nilai yang dipertahankan di sini diberi istilah 'ukuran zona bening tercatat', bukan diameter zona hambat yang telah terverifikasi menurut standar. Tiga hasil untuk setiap perlakuan dirangkum menggunakan rerata aritmetika, simpangan baku sampel, dan rentang pengamatan. Analisis tidak mencakup uji hipotesis atau nilai p karena jumlah pengulangan terbatas, ketidakpastian pengukuran, serta kinerja kontrol positif yang tidak memenuhi persyaratan validasi metode; perbedaan deskriptif tidak ditafsirkan sebagai perbedaan bermakna secara statistik.

Hasil dan pembahasan

Perolehan isolat dan morfologi koloni

Diperoleh tiga morfotipe bakteri yang dapat dikultur dan dimurnikan dari daun mengkudu, masing-masing diberi kode A, B, dan C. Tidak terdapat pertumbuhan pada kontrol air bilasan terakhir. Catatan perolehan koloni pada cawan asal menunjukkan 140 (A), 156 (B), dan 450 (C) koloni. Karena pengenceran serta unit sampling tidak dilengkapi informasi yang memadai untuk perhitungan kepadatan bakteri per gram, angka tersebut hanya dilaporkan sebagai hitungan koloni pada cawan, bukan jumlah spesies ataupun estimasi kelimpahan endofit. Kepadatan pertumbuhan pada cawan C juga dapat meningkatkan risiko penghitungan koloni yang saling berdekatan.

Perbandingan morfologi memperlihatkan koloni A berbentuk bulat dan berwarna krem, sedangkan B dan C memiliki bentuk titik dengan warna masing-masing kuning dan putih (Tabel 1). Semua koloni menunjukkan elevasi cembung dan tepi rata. Perbedaan ini memungkinkan pemberian kode kultur secara konsisten, tetapi tidak cukup untuk menetapkan adanya tiga spesies bakteri yang berbeda.

Tabel 1. Karakter koloni, sel, dan reaksi biokimia tiga isolat dari daun mengkudu.

Karakter	Isolat A	Isolat B	Isolat C
Bentuk dan warna koloni	Bulat, krem	Titik, kuning	Titik, putih
Elevasi dan tepi	Cembung, rata	Cembung, rata	Cembung, rata
Bentuk sel dan Gram	Batang, negatif	Batang, negatif	Batang, negatif
Katalase	−	−	−
Motilitas	+	+	+
Pemanfaatan sitrat	+	+	−
Metil merah	+	+	−

Tanda (+) menunjukkan reaksi positif dan (−) reaksi negatif.

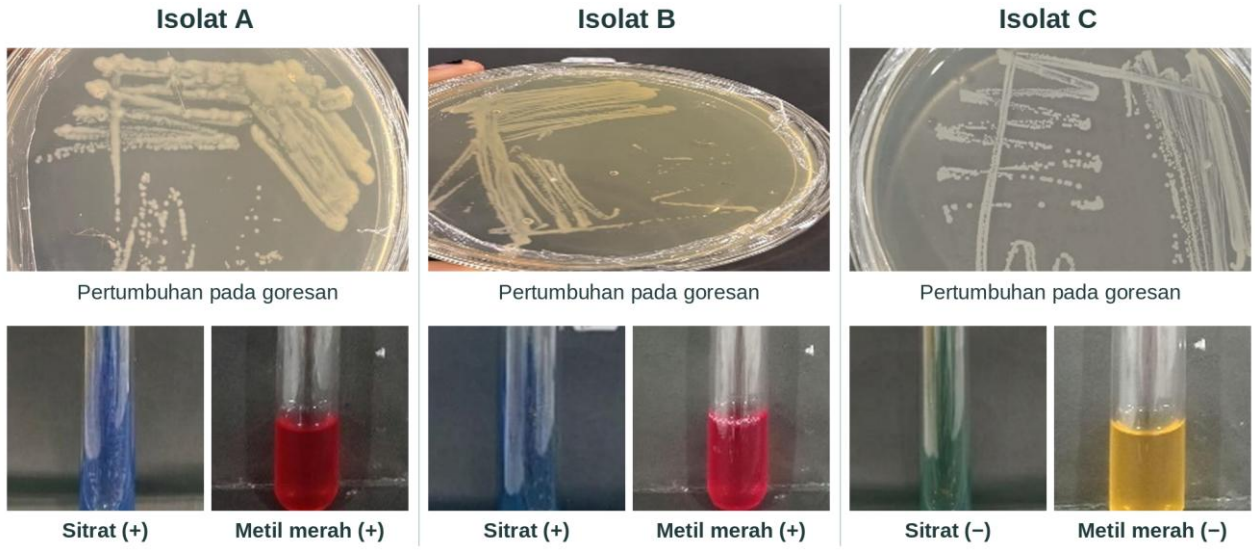
Morfotipe koloni merupakan dasar praktis untuk memilih kultur yang akan ditelaah lebih lanjut. Variasi warna dan bentuk koloni juga dilaporkan pada bakteri endofit daun Avicennia marina dan daun namnam [19,20]. Pada penelitian daun mengkudu ini, satu kombinasi media, suhu, dan lama inkubasi menentukan koloni yang tersedia untuk dipilih. Bakteri yang tumbuh lambat atau memerlukan media berbeda dapat luput dari pengamatan. Jumlah tiga isolat karena itu menggambarkan hasil seleksi kultur dari sampel yang diuji dan belum mencerminkan keragaman komunitas endofit daun mengkudu di Jambi.

Perbedaan organ inang juga penting dalam menafsirkan hasil isolasi. Pada Cordia dichotoma, pemilahan berdasarkan fenotipe menghasilkan 33 isolat dari gabungan jaringan akar, batang, dan daun [21]. Angka itu menjawab pertanyaan tentang perolehan kultur dari beberapa organ. Sebaliknya, pemilihan daun pada posisi tertentu dari ranting mengkudu mempersempit variasi bahan yang diproses di sini. Untuk menilai seberapa sering fenotipe yang sama dijumpai di lapangan, unit pengamatan perlu diperluas ke daun dari beberapa tanaman, dengan identitas tanaman asal tetap tercatat pada setiap kultur.

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

Karakter sel dan pemisahan fenotipe biokimia

Pewarnaan Gram menunjukkan ketiga isolat berbentuk batang dengan reaksi Gram-negatif. Ketiganya memberikan hasil negatif pada uji katalase dan positif pada uji motilitas. Perbedaan reaksi utama ditemukan pada pemanfaatan sitrat dan uji metil merah: isolat A dan B positif pada kedua uji, sedangkan isolat C negatif (Tabel 1; Gambar 2). Dengan demikian, dua kombinasi fenotipe dapat dibedakan pada kondisi pemeriksaan yang digunakan, tanpa dapat ditarik identitas genus maupun spesies.



Gambar 2. Biakan isolat A, B, dan C pada agar nutrien (atas) serta reaksi sitrat dan metil merah (bawah). Tanda (+) dan (−) menyatakan reaksi positif dan negatif.

Kesamaan profil katalase, motilitas, sitrat, dan metil merah pada isolat A dan B menegaskan terbatasnya daya resolusi panel fenotipik yang digunakan. Warna koloni membedakan kedua isolat secara praktis, tetapi tidak membuktikan bahwa keduanya termasuk takson yang berlainan. Isolat C menunjukkan profil reaksi yang berbeda dari A dan B, namun identifikasi hingga tingkat genus atau spesies memerlukan pengujian molekuler, misalnya sekuensing gen 16S ribosomal ribonucleic acid (rRNA) yang ditafsirkan bersama data fenotipe dan, bila diperlukan, penanda genomik tambahan.

Hasil negatif pada uji sitrat dan metil merah menggambarkan tidak terdeteksinya respons pada kondisi pengamatan, bukan ketidakmampuan metabolik absolut. Kedua uji tersebut juga tidak mengukur produksi bakteriosin, enzim litik, atau senyawa ekstraseluler lain. Karena itu, hubungan sebab-akibat antara profil biokimia isolat C dan ukuran zona bening yang tercatat belum dapat ditetapkan.

Pada jaringan akar mangrove, karakterisasi endofit juga menghasilkan isolat dengan ciri sel dan fisiologi yang bervariasi [17,22]. Variasi reaksi biokimia telah dijumpai pula pada isolat dari lingkungan lain, termasuk sedimen mangrove, pasir pantai, dan air panas [23–25]. Karena asal dan tujuan seleksi kultur pada penelitian tersebut berbeda, kesamaan satu atau dua reaksi tidak dapat digunakan untuk menamai isolat daun mengkudu. Pemeriksaan molekuler perlu melengkapi data fenotipik. Bahkan pada analisis gen 16S rRNA, kemampuan membedakan spesies berkerabat dekat bergantung pada kelompok bakteri yang diperiksa [26].

Ukuran zona bening dan respons kontrol

Pengukuran zona bening tercatat menunjukkan variasi yang cukup besar pada beberapa perlakuan (Tabel 2; Gambar 3 dan 4). Isolat A memberikan nilai 3,80; 1,04; dan 1,00 mm (rerata 1,95 ± 1,61 mm); isolat B 1,07; 1,85; dan 2,50 mm (1,81 ± 0,72 mm); sedangkan isolat C 2,50; 3,08; dan 3,00 mm (2,86 ± 0,31 mm). Nilai isolat C mengelompok pada rentang 2,50–3,08 mm, sedangkan pembacaan tertinggi tunggal terdapat pada isolat A di ulangan pertama (3,80 mm). Pola ini bersifat deskriptif dan tidak dapat digunakan untuk mengurutkan potensi antibakteri secara teruji.

Pada ulangan pertama, hasil isolat A (3,80 mm) melampaui isolat C (2,50 mm); sebaliknya, pada ulangan kedua dan ketiga, hasil C lebih tinggi daripada A dan B. Perbedaan ekstrem pada A dapat berkaitan dengan variasi kepadatan kultur, keseragaman permukaan agar, distribusi cairan pada cakram, pembacaan batas pertumbuhan, atau faktor biologis yang belum diuji. Tidak tersedia catatan laboratorium yang memungkinkan salah satu faktor tersebut ditetapkan sebagai penyebab, sehingga kontaminasi maupun

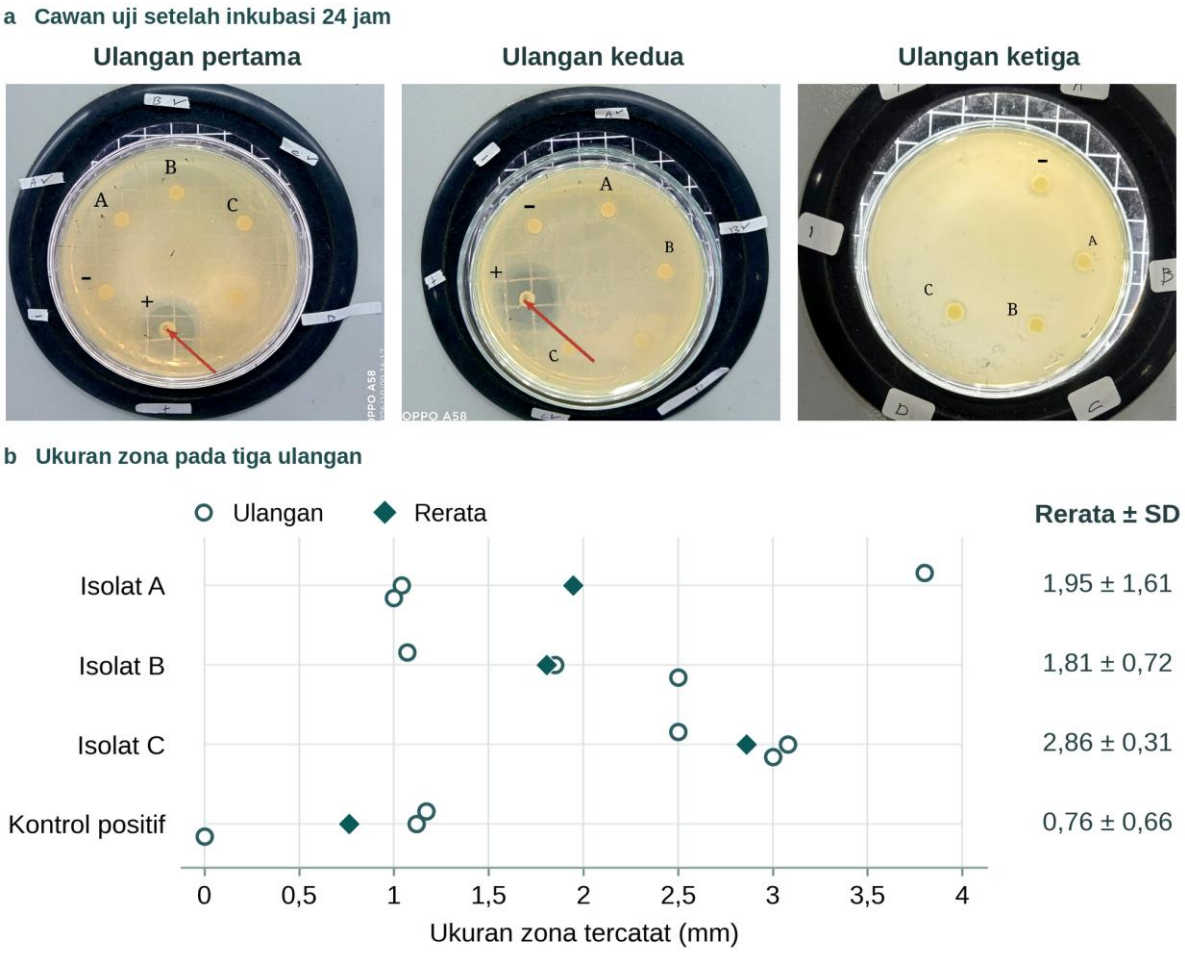
Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

kesalahan teknis tidak boleh dinyatakan telah terjadi. Nilai simpangan baku isolat C yang lebih kecil hanya menunjukkan sebaran tiga pembacaan lebih sempit, bukan bukti stabilitas biologis pada populasi yang lebih luas.

Tabel 2. Ukuran zona bening yang tercatat pada penapisan difusi cakram terhadap *Staphylococcus aureus* (mm).

Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rerata ± SD
Isolat A	3,80	1,04	1,00	1,95 ± 1,61
Isolat B	1,07	1,85	2,50	1,81 ± 0,72
Isolat C	2,50	3,08	3,00	2,86 ± 0,31
Kloramfenikol	1,17	1,12	0,00	0,76 ± 0,66

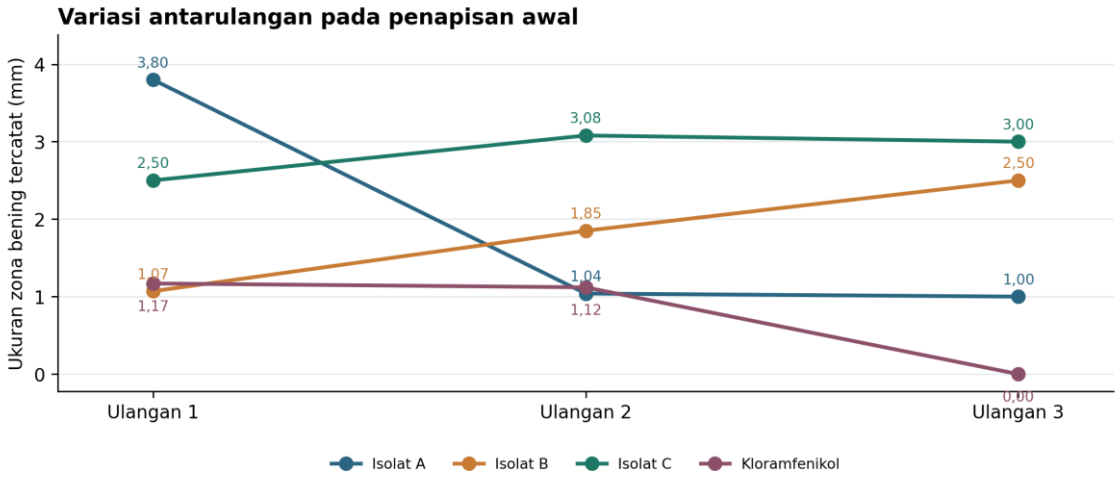
SD = simpangan baku sampel; n = 3 pembacaan per perlakuan.



Gambar 3. Penapisan terhadap *Staphylococcus aureus*: (a) cawan tiga ulangan setelah inkubasi 24 jam; panah menunjukkan posisi cakram kontrol positif dan tidak dimaksudkan untuk mendefinisikan tepi zona hambat; (b) titik hasil tiap ulangan dan rerata dari perlakuan A, B, C, serta kontrol kloramfenikol. SD = simpangan baku sampel.

Pada kontrol kloramfenikol, pembacaan zona tercatat adalah 1,17; 1,12; dan 0,00 mm (rerata 0,76 ± 0,66 mm). Ketidakmampuan kontrol positif menunjukkan penghambatan yang dapat diandalkan, terutama pada ulangan ketiga, merupakan kegagalan kendali mutu yang membatasi interpretasi seluruh penapisan. Media yang digunakan adalah NA, bukan agar Mueller–Hinton yang diperlukan pada uji kepekaan difusi cakram terstandar; kekeruhan inokulum dan konvensi pembacaan diameter juga tidak dapat diverifikasi [27]. Berbeda dari pengujian formulasi antibiotik dengan kadar bahan aktif yang terdefinisi [28], pemberian volume kultur utuh sebanyak 20 µL tidak menyatakan massa atau kadar senyawa penghambat. Oleh karena itu, data ini tidak digunakan untuk menentukan status peka atau resisten *S. aureus*, menetapkan kategori kuat–sedang–lemah, ataupun menyimpulkan bahwa isolat endofit lebih aktif daripada kloramfenikol.

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com



Gambar 4. Perubahan ukuran zona bening tercatat pada tiga ulangan. Garis menghubungkan pembacaan berurutan untuk setiap perlakuan dan tidak menunjukkan tren biologis maupun perbedaan statistik yang teruji. Panjang garis antarulangan merupakan ilustrasi deskriptif.

Bentuk sediaan uji turut menentukan interpretasi. Pengujian supernatan kultur endofit bangle terhadap *S. aureus* mengevaluasi fraksi cair hasil pertumbuhan kultur [29], sedangkan penelitian pada isolat *Bacillus velezensis* dan Paenibacillus lactis menggunakan ekstrak metabolit pada rancangan dan kadar berbeda [13,30]. Pada penelitian ini, cakram menerima kultur utuh, sehingga kontribusi sel hidup, komponen NB, dan senyawa terlarut tidak dapat dipisahkan. Kesamaan volume tetesan antarperlakuan tidak menjamin kesetaraan jumlah sel maupun konsentrasi metabolit yang dapat berdifusi.

Penelitian pada *Paenibacillus polymyxa* Y4 menunjukkan bahwa kondisi fermentasi dapat memengaruhi aktivitas hasil metabolit terhadap *S. aureus* [31]. Kajian antibiofilm oleh bakteri endofit buah renggak menilai keluaran yang berbeda, yaitu penghambatan pembentukan biofilm oleh supernatan bebas sel [32]. Kedua pendekatan tersebut memperlihatkan pentingnya menetapkan endpoint yang sesuai. Data zona bening pada percobaan ini belum mengukur konsentrasi hambat minimum, aktivitas terhadap biofilm, maupun mekanisme kerja senyawa.

Besarnya zona bening tidak boleh dibandingkan secara langsung antarpublikasi hanya karena menggunakan bakteri indikator yang sama [12,29]. Perbedaan media, metode preparasi sampel, dosis, pertumbuhan strain uji, dan kriteria pengukuran dapat mengubah hasil. Ketidaktersediaan catatan diameter total dan posisi batas zona pada setiap cakram merupakan hambatan mendasar untuk merekonstruksi data. Dengan demikian, setiap klaim efektivitas kuantitatif dan penetapan kategori aktivitas dari data yang ada ditangguhkan sampai prosedur divalidasi.

Keterbatasan dan arah verifikasi

Verifikasi memerlukan pengulangan percobaan independen menggunakan agar Mueller–Hinton, inokulum bakteri indikator yang disesuaikan dan diverifikasi terhadap standar 0,5 McFarland, serta kontrol antibiotik dan kontrol negatif yang memenuhi kriteria keberterimaan. Diameter total zona, termasuk cakram, perlu diukur konsisten pada dua sumbu dan direkam bersama diameter cakram, kode ulangan, serta foto dengan skala yang sama. Pembacaan tanpa halo harus menggunakan konvensi yang telah ditetapkan sebelum analisis. Jika kendali mutu dan ketertelusuran data terpenuhi, rancangan replikasi biologis dan teknis dapat diperluas untuk mendukung analisis inferensial yang sesuai.

Berdasarkan distribusi pembacaan dan profil fenotipe, isolat C dapat ditetapkan sebagai kandidat prioritas untuk karakterisasi lanjutan, tanpa menyatakan keunggulan potensi antibakterinya. Pengujian berikutnya perlu membandingkan suspensi sel hidup, supernatan bebas sel, serta media pembawa steril pada kondisi identik, kemudian memeriksa respons terhadap beberapa strain indikator. Apabila hasil yang dapat direproduksi telah diperoleh, pengujian mikrodilusi dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum dan membantu menilai aktivitas fraksi yang terlarut [33].

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

Sumber perbedaan antara studi dapat dikaji mulai dari tahap pengambilan dan disinfeksi jaringan. Optimasi prosedur sterilisasi pada tanaman lain memperlihatkan bahwa metode pemrosesan dapat mengubah keberhasilan pemulihan bakteri endofit [34]. Penelitian endofit daun betadine yang diterbitkan pada 2025 menggunakan supernatan kultur sebagai sediaan uji [35]; hasilnya tidak dapat dipertukarkan dengan pengukuran pada cakram yang menerima kultur utuh. Pada daun mengkudu sendiri, pengujian ekstrak kaya alkaloid yang dilaporkan pada 2026 mempelajari senyawa asal jaringan daun, bukan bakteri endofitnya [36].

Secara biologis, beberapa bakteri endofit diketahui mampu menghasilkan metabolit penghambat melalui berbagai mekanisme. Bakteriosin dari *Bacillus velezensis* telah dikarakterisasi dan memperlihatkan aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* resisten metisilin dalam sistem uji tertentu [37]. Analisis genom *Bacillus velezensis* dari akar mangrove juga mengidentifikasi klaster gen yang berkaitan dengan biosintesis senyawa antimikroba [38]. Namun, tidak terdapat data identitas molekuler atau pengujian metabolit pada isolat A, B, dan C, sehingga produksi bakteriosin, enzim litik, maupun persaingan nutrisi tetap berupa hipotesis yang harus diuji dan bukan penjelasan pasti atas data yang diperoleh. Aktivitas minyak atsiri buah mengkudu terhadap *S. aureus* yang telah dijelaskan melalui perubahan membran sel dalam penelitian terpisah [39] juga tidak dapat digunakan untuk menyimpulkan mekanisme kerja isolat endofit daun. Pemisahan kultur sel, filtrat bebas sel, dan fraksi metabolit serta identifikasi komponen aktif diperlukan untuk menguji hipotesis mekanisme secara bertahap. Panduan mutakhir *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) menempatkan media Mueller–Hinton, standardisasi inokulum, pemeriksaan kendali mutu, dan pembacaan diameter zona secara konsisten sebagai unsur pokok uji difusi cakram [40].

Kesimpulan

Hasil kultur dari jaringan daun *Morinda citrifolia* L. diperoleh tiga isolat bakteri yang dapat dibedakan berdasarkan morfologi koloni dan profil fenotipik. Seluruh isolat berbentuk batang, Gram-negatif, motil, dan katalase-negatif; isolat A dan B menunjukkan reaksi sitrat serta metil merah positif, sedangkan isolat C negatif pada kedua uji tersebut. Pada tiga ulangan penapisan, isolat C memiliki rerata pembacaan zona bening tertinggi (2,86 ± 0,31 mm) dan sebaran paling sempit di antara isolat, tetapi kontrol kloramfenikol yang tidak konsisten serta ketiadaan data diameter mentah menghalangi penetapan aktivitas antibakteri secara valid. Karena identitas molekuler maupun zat penghambat belum diketahui, isolat C merupakan kandidat prioritas untuk identifikasi molekuler dan pengujian aktivitas ulang menggunakan metode, kontrol, dan sediaan yang terstandar.

Konflik kepentingan

Para penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan yang berkaitan dengan pelaksanaan, analisis, maupun publikasi penelitian ini.

Persetujuan etik

Eksperimen tidak melibatkan partisipan manusia maupun hewan percobaan. Kajian etik untuk penelitian manusia atau hewan tidak diterapkan pada rancangan pengujian kultur bakteri dan sampel daun ini; ketentuan izin pengambilan tanaman tetap mengikuti kebijakan lokasi dan institusi yang berlaku.

Ucapan terima kasih

Penulis berterima kepada Laboratorium Mikrobiologi Universitas Adiwangsa Jambi atas dukungan pelaksanaan percobaan.

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

Referensi

[1] Suhendriyo, Maulindah Y, Yulianto S. Studi literatur manfaat buah mengkudu (Morinda citrifolia) sebagai antimikroba. Jurnal Jamu Kusuma 2023;3:15–21. https://doi.org/10.37341/jurnaljamukusuma.v3i1.56

[2] Obeng-Boateng F, Kpordze SW, Addy F. In vitro antibacterial activity of Morinda citrifolia extracts against eight pathogenic bacteria species. PLoS One 2024;19:e0313003. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0313003

[3] Zhang WM, Wang W, Zhang JJ, Wang ZR, Wang Y, Hao WJ, et al. Antibacterial constituents of Hainan Morinda citrifolia (Noni) leaves. J Food Sci 2016;81:M1192–M1196. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13302

[4] Hardani R, Krisna IKA, Hamzah B, Hardani MF. Uji anti jamur ekstrak buah mengkudu (Morinda citrifolia L.). Jurnal IPA & Pembelajaran IPA 2020;4:92–102. https://doi.org/10.24815/jipi.v4i1.16579

[5] Kumala S, Siswanto EB. Isolation and screening of endophytic microbes from Morinda citrifolia and their ability to produce anti-microbial substances. Microbiol Indones 2007;1:145–148. https://doi.org/10.5454/mi.1.3.9

[6] Sun B, Jing R, Wang Z, Tian L, Mao F, Liu Y. Diversity and community structure of endophytic Bacillus with antagonistic and antioxidant activity in the fruits of Xisha Wild Noni (Morinda citrifolia L.). Microb Pathog 2021;158:105065. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105065

[7] Yu Y, Chen Z, Xie H, Feng X, Wang Y, Xu P. Overhauling the effect of surface sterilization on analysis of endophytes in tea plants. Front Plant Sci 2022;13:849658. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.849658

[8] Annisa RN, Sakaria FS, Umar A, Ibrahim NF, Rahmat MA. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit penghasil antimikroba asal daun mangrove Rhizopora apiculata asal Kota Palopo. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia 2024;10:582–588. https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.629

[9] Astari SM, Rialita A, Mahyarudin. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit tanaman kunyit (Curcuma longa L.) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus. Jurnal Fitofarmaka Indonesia 2021;8:9–16. https://doi.org/10.33096/jffi.v8i2.644

[10] Rustini, Ismed F, Nabila GS. Uji aktivitas antibakteri ekstrak bakteri endofit dan identifikasi bakteri yang diisolasi dari kulit jeruk nipis (Citrus aurantifolia Swingle). Jurnal Sains Farmasi & Klinis 2022;9:42–49. https://doi.org/10.25077/jsfk.9.1.42-49.2022

[11] Rusli NA, Wahyuningsih S, Irwan, Farid N. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri dari bakteri endofit daun matoa (Pometia pinnata J.R. & G. Forst.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia 2024;10:562–572. https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.590

[12] Arfiandi, Setiawan B, Pratiwi CMD. Endophytic bacteria from Hippobroma longiflora leaves: a promising source of antibacterial compounds against Staphylococcus aureus. Journal of Pharmaceutical and Sciences 2026;9:1811–1817. https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i2.1521

[13] Deepa S, Sivamaruthi BS, Vaishali S, Fareeth SMR, Prabakaran R, Fukngoen P, et al. Endophytic Paenibacillus lactis PEL6 from Mitrephora heyneana as a source of anti-Staphylococcus aureus metabolites: in vitro and in silico evaluation. Appl Microbiol 2026;6:92. https://doi.org/10.3390/applmicrobiol6080092

[14] Nugraheni IA, Setianah H, Wibowo DS. Aktivitas antibakteri dari bakteri endofit asal akar ciplukan (Physalis angulata L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. Biomedika 2021;13:48–55. https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11009

[15] Tasew T, Birri DJ, Tigu F, Beyene D, Gelana T, Tolossa K, et al. Antibacterial activity of metabolites of endophytic Bacillus subtilis isolated from selected Ethiopian medicinal plants. Int J Microbiol 2025;2025:7403296. https://doi.org/10.1155/ijm/7403296

[16] Fallo G, Pardosi L, da Cruz AM. Karakterisasi bakteri endofit tanaman sirih Timor (Piper betle L.) penghasil antibakteri. Jurnal Biologi Papua 2022;14:102–108. https://doi.org/10.31957/jbp.2366

[17] Havizah IN, Zulkifli L, Rasmi DAC, Sedijani P. Isolation and identification of endophytic bacteria producing IAA and phosphate solubilizers from mangrove roots in the Bagek Kembar Sekotong area and in vitro testing on the germination of Vigna radiata L. Jurnal Biologi Tropis 2025;25:619–631. https://doi.org/10.29303/jbt.v25i4b.10069

[18] Fachrial E, Harmileni, Anggraini S. Pengantar teknik laboratorium mikrobiologi dan pengenalan bakteri asam laktat. Medan: UNPRI Press; 2022.

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

[19] Fani EF, Rahmawati, Kurniatuhadi R. Identifikasi dan deteksi aktivitas proteolitik bakteri endofit yang diisolasi dari daun Avicennia marina di Mempawah Mangrove Center. LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi 2022;11:293–299. https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n2.p293-299

[20] Hamtini, Anliza S, Nuraeni I. Eksplorasi bakteri endofit dari daun namnam (Cynometra cauliflora L.). Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan) 2021;8:137–144. https://doi.org/10.36743/medikes.v8i1.209

[21] Sharma M, Mallubhotla S. Diversity, antimicrobial activity, and antibiotic susceptibility pattern of endophytic bacteria sourced from Cordia dichotoma L. Front Microbiol 2022;13:879386. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.879386

[22] Pohan SR, Manalu K, Nasution RA. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit penghasil hormon IAA (Indole Acetic Acid) dari akar tanaman mangrove Avicennia marina. BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains 2024;7:294–308. https://doi.org/10.31539/bioedusains.v7i1.9968

[23] Ananda D, Rasyidah, Mayasari U. Isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik dari lumpur mangrove Pantai Pandaratan Kecamatan Sarudik Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara. Bioma: Berkala Ilmiah Biologi 2023;25:20–27. https://doi.org/10.14710/bioma.25.1.20-27

[24] Febriani H, Mashitah U, Tambunan EPS. Penapisan bakteri penghasil antimikroba dari pasir Pantai Sialang Buah Kecamatan Teluk Mengkudu Kabupaten Serdang Bedagai. Journal of Marine Research 2021;10:560–564. https://doi.org/10.14710/jmr.v10i4.31719

[25] Lingga R, Afriyansyah B, Septiani R, Miranti I. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal sumber air panas non-vulkanik. BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains 2021;4:175–184. https://doi.org/10.31539/bioedusains.v4i2.2423

[26] Janda JM, Abbott SL. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. J Clin Microbiol 2007;45:2761–2764. https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07

[27] Matuschek E, Brown DFJ, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. Clin Microbiol Infect 2014;20:O255–O266. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12373

[28] Herawati M, Indrati O, Romadonsyah F, Purbaningtias TE, Dini SK, Rahmadani Y, et al. Physical stability and antibacterial effectiveness of erythromycin pulveres against Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria. Jurnal Ilmiah Farmasi 2024;20:80–89. https://doi.org/10.20885/jif.vol20.iss1.art6

[29] Aqlinia M, Pujiyanto S, Wijanarka. Isolasi bakteri endofit bangle (Zingiber cassumunar Roxb.) dan uji antibakteri supernatan crude metabolit sekunder isolat potensial terhadap Staphylococcus aureus. Jurnal Akademika Biologi 2020;9:23–31. https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/27742

[30] Priyanto JA, Prastya ME, Hening ENW, Suryanti E, Kristiana R. Two strains of endophytic Bacillus velezensis carrying antibiotic-biosynthetic genes show antibacterial and antibiofilm activities against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Indian J Microbiol 2024;64:1884–1893. https://doi.org/10.1007/s12088-024-01262-1

[31] Hu YY, Chen SQ, Tang ZX, Jiang ZB, Xia WQ, Shen HY, et al. Production of the metabolites with antibacterial activity and its mechanism of endophyte Paenibacillus polymyxa Y4 against Staphylococcus aureus. Food Biosci 2026;82:109410. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2026.109410

[32] Hijriani BI, Atfal B, Kamila NC. Exploitation of antibiofilm substances by endophytic bacteria of renggak fruit (Amomum dealbatum) against Staphylococcus aureus, the cause of nosocomial infections. J Sain Vet 2026;44:94–102. https://doi.org/10.22146/jsv.113070

[33] Wiegand I, Hilpert K, Hancock REW. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nat Protoc 2008;3:163–175. https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521

[34] Srivastava P, Tiwari SP, Srivastava AK, Sharma R. Optimization of Sterilization Parameters for Isolation of Endophytes from *Allium sativum* and Exploring its Antibacterial Activity. Journal of Pure and Applied Microbiology 2024;18:961–979. https://doi.org/10.22207/JPAM.18.2.11

[35] Arfiandi A, Fadjria N, Nofita D, Rahmadini M. Exploration of the Antimicrobial Activity of Endophytic Bacteria from Betadine Leaves (*Jatropha multifida* L.) against the Pathogen *Staphylococcus aureus*. Journal of Pharmaceutical and Sciences 2025;8:1588–1593. https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i3.899

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com

[36] Josafat Alexander I, Surbakti M, Sirait G, Silaban R. Antimicrobial Activity Test of Alkaloid Rich Extract from *Morinda citrifolia* Leaves Against the Growth of Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and Escherichia coli. EduMatSains: Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains 2026;10:222–234. https://doi.org/10.33541/edumatsains.v10i4.8043

[37] Pan R, Ding Y, Peng J, Long Y, Zhao Y, Lin Q, et al. Identification and characterization of a novel bacteriocin PFB252 from *Bacillus velezensis* with anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and anti-biofilm activity for dairy food preservation. Journal of Dairy Science 2026;109:110–126. https://doi.org/10.3168/jds.2025-27286

[38] Li Y, Ma H, Pan R, Long Y, Zhao Y, Peng J, et al. Whole genome sequencing and analysis of the bacteriocin-producing gene in *Bacillus velezensis* G7. Annals of Microbiology 2026;76:35. https://doi.org/10.1186/s13213-026-01860-y

[39] Liu Z, Su C, Yang M, Wang F, Zhang L, Liu L, et al. Antibacterial mechanism of noni fruit (*Morinda citrifolia* L.) essential oil against *Staphylococcus aureus* and its application in beef. Food Control 2025;176:111370. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111370

[40] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Disk diffusion and quality control. EUCAST; 2026. https://www.eucast.org/bacteria/methodology-and-instructions/disk-diffusion-and-quality-control/ (diakses 11 November 2026).

Electronic ISSN : 2656-3088
Homepage: https://www.journal-jps.com