

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METABOLIT SEKUNDER BAKTERI
ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI BUNGA PUKUL EMPAT
(*Mirabilis jalapa* L.)**



Oleh:
Dwi Triska Olifiyana
25195689A

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2024**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METABOLIT SEKUNDER BAKTERI
ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI BUNGA PUKUL EMPAT
(*Mirabilis jalapa* L.)**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi Pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Dwi Triska Olifiyana
25195689A**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2024**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul :
**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METABOLIT SEKUNDER
BAKTERI ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI BUNGA
PUKUL EMPAT (*Mirabilis jalapa* L.)**

Oleh :
**Dwi Triska Olifiyana
25195689A**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 16 Januari 2024

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Dr. apt. Iswandi, M. Farm

Pembimbing Utama

Dr. apt. Iswandi, M. Farm.

Pembimbing Pendamping :

Desi Purwaningsih, M. Si.

Penguji :

1. Dian Marlina, S.Farm., M.Sc. M.Si., Ph.D 1.....
2. Dr. Ana Indrayati, M.Si. 2.....
3. Apt. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc. 3.....
4. Dr. apt. Iswandi, M.Farm. 4.....

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

Kedua orang tua saya tercinta, Bapak Imam Suyono Supardi dan Ibu Maryati, Serta Kakakku tercinta Eko Supriyono

Kedua dosen pembimbing saya, Dr. apt. Iswandi, M. Farm., dan Desi Purwaningsih, M.Si

Teruntuk dosen pembimbing akademik saya, apt. Anita Nilawati, S.Farm., M. Farm.

Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta

Keluarga besar, sahabat, dosen, dan semua pihak yang mendukung, membantu, dan mendorong saya untuk menuntut ilmu.

Masyarakat, sebagai bentuk kontribusi nyata dalam menjalankan amanah sebagai ahli kesehatan yang professional khususnya dalam bidang farmasi.

Seseorang yang spesial yang selalu menemani dan mendukung dalam proses pengerjaan skripsi ini, pasangan tercinta mas Rio.

Serta semua pihak yang menanyakan “kapan saya wisuda dan kapan saya lulus”

Kalian adalah semangat saya untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah dituliskan atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu oleh naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 16 Januari 2024

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dwi Triska Olifiyana', with stylized loops and flourishes.

Dwi Triska Olifiyana

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT. Yang telah melimpahkan rahmatnya dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan dan menyusun skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai derajat sarjana S-1 Ilmu Farmasi di Fakultas Universitas Setia Budi Surakarta. Skripsi berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN METABOLIT SEKUNDER BAKTERI ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI BUNGA PUKUL EMPAT (*Mirabilis jalapa* L.)”**. Penulis berharap dapat bermanfaat bagi pembaca dan memberikan pengetahuan di bidang farmasiterutama dalam formulasi.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan ini, banyak mendapat dorongan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh, karena itu, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Dr. apt. Iswandi, M. Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas SetiaBudi Surakarta.
3. Dr. apt. Iswandi, M. Farm. selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan dorongan semangat selama penulisan skripsi ini.
4. Desi Purwaningsih, M. Si. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan dorongan semangat selama penulisan skripsi ini.
5. Dian Marlina, S.Farm., M.Sc., M.Si., Ph.D. selaku penguji 1 yang telah memberikan masukan sebagai tambahan ilmu serta perbaikan dalam skripsi ini dan telah meluangkan waktu sehingga skripsi ini dapat terlaksana.
6. Dr. Ana Indrayati, M.Si. selaku penguji 2 yang telah memberikan masukan sebagai tambahan ilmu serta perbaikan dalam skripsi ini dan telah meluangkan waktu sehingga skripsi ini dapat terlaksana.
7. apt. Fransiska Leviana, S.Farm., M.sc. selaku penguji 3 yang telah memberikan masukan sebagai tambahan ilmu serta perbaikan dalam skripsi ini dan telah meluangkan waktu sehingga skripsi ini dapat terlaksana.
8. apt. Anita Nilawati, S. Farm., M. Farm. selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa menjadi penyemangat saya selama perkuliahan sehingga saya bisa menjalankan perkuliahan sampai selesai.

9. Dosen dan karyawan di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis. Bapak, Ibudi perpustakaan dan Bapak/Ibu di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Instrumen yang telah banyak membantu dalam memperlancar pengerjaan penelitian skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya dan bermanfaat untuk masyarakat.

Surakarta, 16 Januari 2024

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Dwi Triska Olifiyana', written in a cursive style.

Dwi Triska Olifiyana

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Bunga Pukul Empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.)	5
1. Sistematika tanaman bunga pukul empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.)	5
2. Nama daerah tanaman bunga pukul empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.)	5
3. Morfologi tanaman bunga pukul empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.)	6
3.1. Habitat	6
3.2. Buah dan biji	6
3.3. Bunga.....	7
3.4. Daun / Folium.....	7
3.5. Batang.....	7
3.6. Akar	7
4. Manfaat	7
B. Isolasi Bakteri	8
C. Mikroorganisme Endofit.....	9
1. Metabolit Sekunder dan Manfaat	9
2. Mekanisme Kerja Bakteri Endofit	10

3.	Patogenesis Mikroba Endofit.....	10
D.	Fermentasi.....	10
E.	Antioksidan.....	11
1.	Manfaat Antioksidan.....	11
2.	Prinsip Kerja Antioksidan.....	11
3.	Kandungan Senyawa Kimia Dalam Antioksidan ..	11
4.	Mekanisme Kerja Antioksidan	11
4.1.	Antioksidan Primer.....	12
4.2.	Antioksidan Sekunder	12
4.3.	Antioksidan Tersier	12
F.	Metode Pengujian DPPH Antioksidan.....	12
1.	Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).....	12
2.	Mekanisme kerja DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	13
G.	Landasan Teori.....	14
H.	Hipotesis	16
BAB III	METODE PENELITIAN.....	17
A.	Waktu dan Tempat Penelitian	17
B.	Populasi dan Sampel	17
1.	Populasi.....	17
2.	Sampel	17
C.	Variabel Penelitian.....	17
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	17
2.	Klasifikasi Variabel Utama.....	17
3.	Definisi Operasional Variabel Utama.....	18
D.	Alat dan Bahan.....	18
1.	Alat.....	18
2.	Bahan	19
E.	Jalannya Penelitian.....	19
1.	Determinasi Tanaman Bunga Pukul Empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.)	19
2.	Pengambilan Tanaman Bunga Pukul Empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.)	19
3.	Sterilisasi Alat Dan Bahan	20
4.	Sterilisasi Sampel Bunga Pukul Empat (<i>Mirabilis jalapa</i>).....	20
5.	Pembuatan Media	20
5.1.	Pembuatan Media NA (<i>Nutrient agar</i>)	20

5.2. Pembuatan Media BHI (<i>Brain-heart infusion</i>)	21
6. Peremajaan Isolat murni Bakteri Endofit.....	21
7. Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	21
8. Identifikasi Bakteri Endofit	22
8.1. Uji Morfologi.	22
8.2. Pewarnaan Gram	22
8.3. Uji Biokimia	22
8.3.1. Katalase	22
8.3.2. Uji Koagulase	23
9. Ekstraksi Isolat Endofit.....	23
10. Uji Pemurnian	23
11. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH .	23
11.1. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM.....	24
11.2. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Larutan DPPH	24
11.3. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C.....	24
11.4. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Sampel ..	24
11.5. Mengukur <i>Operating Time</i> Larutan Pembanding dan Ektrak Uji	24
11.6. Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Induk Vitamin C 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm.....	24
11.7. Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm.....	24
11.8. Penentuan Persen Inhibisi	25
F. Analisis Data.....	25
G. Skema Jalannya Penelitian.....	26
H. Isolasi Bakteri Enofit	27
I. Pewarnaan Gram.....	28
J. Uji Biokimia.....	29
K. Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	30
L. Uji Antioksidan dengan Metode DPPH	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
A. Determinasi Tanaman Bunga Pukul Empat (<i>Mirabilis jalapa L.</i>).....	32
B. Sterilisasi Bunga Pukul Empat (<i>Mirabilis jalapa L.</i>) ...	32
C. Isolasi Bakteri Endofit Bunga Pukul Empat (<i>Mirabilis</i>	

<i>jalapa</i> L.).....	33
D. Uji Identifikasi Bakteri Endofit	36
1. Pengamatan Morfologi Secara Makroskopis	36
2. Pengamatan Morfologi Secara Mikroskopis.....	37
3. Uji Biokimia pada Isolat Bunga Pukul Empat.....	39
4. Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit.....	41
5. Hasil Ekstraksi Isolat Bakteri Endofit	42
E. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Larutan DPPH	43
1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Larutan DPPH	43
2. Penetapan <i>Operating Time</i> Sampel Uji	43
3. Pembuatan Kurva Kalibrasi	44
3.1. Hasil Tabel Larutan Stok dan Kurva Baku Vitamin C	44
3.2. Hasil Tabel Larutan Stok dan Kurva Baku Sampel Uji MJ.1.....	45
3.3. Hasil Tabel Larutan Stok dan Kurva Baku Sampel Uji MJ.4.....	46
3.4. Hasil Tabel Larutan Stok dan Kurva Baku Sampel Uji MJ.6.....	47
4. Penentuan % Inhibisi, IC50, AAI	48
BAB V PENUTUP.....	53
A. Kesimpulan	53
B. Saran	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil Data Pengukuran Aktivitas Bakteri Endofit.....	34
2. Hasil Data Metode Gores Kuadran.....	35
3. Hasil Morfologi Koloni Secara Makroskopis	36
4. Hasil Pengamatan Morfologi Secara Mikroskopis.....	38
5. Hasil Uji Katalase pada Isolat Bunga Pukul Empat	39
6. Hasil Uji Koagulase pada Isolat Bunga Pukul Empat	41
7. Hasil Fermentasi Isolat Endofit pada Bunga Pukul Empat	41
8. Hasil Sentrifugasi Isolat Endofit pada Bunga Pukul Empat.....	42
9. Hasil pengukuran absorbansi larutan Vitamin C	44
10. Hasil pengukuran absorbansi larutan Sampel Uji MJ.1	45
11. Hasil pengukuran absorbansi larutan Sampel Uji MJ.4	46
12. Hasil pengukuran absorbansi larutan Sampel Uji MJ.6	47
13. Hasil perhitungan Nilai % Inhibisi	49
14. Klasifikasi Antioksidan pada Nilai IC ₅₀ (Molyneux, 2004).....	49
15. Hasil perhitungan Nilai IC ₅₀	51
16. Klasifikasi Antioksidan pada Nilai AAI (Vasic, 2012).....	51
17. Hasil perhitungan Nilai AAI	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman bunga pukul empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.)	5
2. Reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan (AH = Antioksidan, ox = Oksidasi, red = reduksi)	13
3. Skema kerja (I). Jalannya penelitian	26
4. Skema Kerja (II). Isolasi Bakteri Endofit.....	27
5. Skema kerja (III). Pewarnaan Gram.....	28
6. Skema kerja (IV). Uji Biokimia Isolat Endofit	29
7. Skema kerja (V). Fermentasi Isolat Bakteri Endofit	30
8. Skema kerja (VI). Uji Aktivitas Antioksidan	31
9. Bilasan Akuades Steril pada Media NA.....	32
10. Pertumbuhan Bakteri Endofit pada Media NA	33
11. Pertumbuhan Bakteri Endofit pada Media SMA <i>skim milk agar</i> ..	33
12. Kurva Regresi Linier Vitamin C	44
13. Kurva Regresi Linier MJ.1	45
14. Kurva Regresi Linier MJ.4.....	46
15. Kurva Regresi Linier MJ.6.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Komposisi Bahan	65
2. Komposisi Medium	65
3. Hasil Determinasi	66
4. Mendeskripsikan Morfologi Koloni Bakteri	68
5. Hasil Uji ktivitas Antioksidan	69
6. Hasil Perhitungan Uji ktivitas Antioksidan	74
7. Analisis Hasil SPSS Terhadap Aktivitas Antioksidan	75
8. Data Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan.....	77

DAFTAR SINGKATAN

UV-Vis	: Ultraviolet-Visible
p.a	: Pro Analisis
SPSS	: <i>Statistical Product and Service Solutions</i>
Ppm	: <i>Part Per M</i>
MJ	: <i>Mirabilis jalapa</i>

ABSTRAK

DWI TRISKA OLIFIYANA, 2024, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDANMETABOLIT SEKUNDER BAKTERI ENDOFIT YANG DIISOLASI DARI BUNGA PUKUL EMPAT (*Mirabilis jalapa* L.), PROGRAM STUDI S1 FARMASI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA, dibimbing oleh dr. Iswandi, M.Farm., Apt. dan Desi Purwaningsih, M.Si

Bakteri endofit yang hidup didalam jaringan tanaman mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya. Pemanfaatan bakteri endofit sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder sangat menguntungkan dalam pengujian antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dalam memproduksi senyawa aktif antioksidan dilihat dari nilai % Inhibisi, IC₅₀ dan AAI.

Metode isolasi endofit dilakukan pemilihan koloni tunggal menggunakanmetode gores. Karakteristik bakteri hasil fermentasi media NA miring dan BHI cair diamati secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia, kemudian pengujian antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 516 nm.

Penelitian ini diambil 3 isolat endofit murni. Identifikasi semua bakteri secara mikroskopis menunjukkan Gram + yang tergolong *basillus* s.p. Hasil uji DPPH didapatkan nilai rata-rata IC₅₀ kontrol + 16,73ppm tergolong sangat kuat, MJ.1 yaitu 80,99ppm tergolong kuat, MJ.4 yaitu 105,68ppm dan MJ.6 yaitu 108,99ppm tergolong sedang. Maka dapat disimpulkan bahwa MJ.1 memiliki potensi aktifitas antioksidan yang kuat dan mendekati kontrol + dibandingkan dengan MJ.4 dan MJ.6.

Kata kunci : *Mirabilis jalapa* L., Antioksidan, DPPH, Endofit.

ABSTRACT

DWI TRISKA OLIFIYANA, 2024, TEST OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SECONDARY METABOLITES OF ENDOPHYTE BACTERIA ISOLATED FROM FOUR O'CLOCK FLOWERS (*Mirabilis jalapa* L.), UNDERGRADUATE STUDY PROGRAM OF PHARMACY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA, supervised by Dr. Iswandi, M. Farm., Apt. and Desi Purwaningsih, M.Sc

Endophytic bacteria that live in plant tissue are able to produce the same secondary metabolite compounds as their host plants. The use of endophytic bacteria as producers of secondary metabolite compounds is very beneficial in antioxidant testing. This research aims to isolate endophytic bacteria in producing active antioxidant compounds seen from the % Inhibition, IC₅₀ and AAI values.

The endophyte isolation method is carried out by selecting single colonies using the scratch method. The characteristics of the bacteria resulting from fermentation in slanted NA media and liquid BHI were observed macroscopically, microscopically and in biochemical tests, then antioxidant testing was carried out using the DPPH method using a UV-Vis spectrophotometer with a wavelength of 516 nm.

This research took 3 pure endophyte isolates. Identification of all bacteria microscopically showed Gram + which was classified as *Bacillus* s.p. The DPPH test results showed that the average control IC₅₀ value was + 16.73 ppm which was classified as very strong, MJ.1 which was 80.99 ppm which was classified as strong, MJ.4 which was 105.68 ppm and MJ.6 which was 108.99 ppm which was classified as moderate. So it can be concluded that MJ.1 has the potential for strong antioxidant activity and is close to control + compared to MJ.4 and MJ.6.

Key words : *Mirabilis jalapa* L., Antioxidants, DPPH, Endophytes.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki berbagai kekayaan alam yang melimpah, selain itu juga memiliki area hutan hujan tropis yang luas. Hutan hujan tropis adalah sumber senyawa bioaktif potensial yang tumbuh di dalam jaringan tanaman (Strobel, 2003). Salah satu kekayaan alamnya yaitu bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) yang banyak di jumpai terutama padadaerah dataran rendah dan perbukitan yang banyak mendapat sinar matahari, kemungkinan besar kalau tanaman tersebut tumbuh didaerah tropis dan terkena sinar matahari maka dapat dipastikan kalau tanaman tersebut memiliki aktivitas antioksidan (Dalimartha, 2006). Tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) yaitu golongan tanaman hias yang sangat banyak dilestarikan dari genus *Mirabilis* dan tersedia dalam beberapa warna berbeda. Dalam bahasa latin *Mirabilis* artinya indah dan *Jalapa* adalah nama ibu kota negara bagian Veracruz di Meksiko. Suku Aztec melestarikan tanaman ini sebagai tanaman obat dan juga sebagai tanaman hias dalam pekarangan rumahatau sebagai pagar pembatas rumah (Utami, 2006).

Tanaman *Mirabilis jalapa* L. mengandung banyak manfaat bagi manusia. Kandungan yang berupa Betaxanthin, asam lemak dan asam minyak dapat digunakan untuk pengobat peredaran darah dan sebagai peluruh kencing (diuretik). Bunga pukul empat dengan nama binomial "*Mirabilis jalapa*" ini dapat meredakan radang amandel, sakit tenggorokan, batuk darah, kanker, batuginjal, batu empedu dan diabetes. Salah satu khasiat yang sangat penting bagi wanita adalah dapat mengatasi keputihan cukup dengan meminum rebusan bunga pukul empat. Meskipun banyak manfaatnya, akan tetapi wanita hamil tidak diperbolehkan untuk mengkonsumsi dan untuk perebusannya tidak diperbolehkan memakai alat masak berbahan dari besi (Wijayakusuma, 2000).

Antioksidan merupakan senyawa yang bermanfaat dalam mengatasi kerusakan oksidatif dengan menstabilkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (Shalaby, 2019). Menurut penelitian Halliwell dan Gutteridge (1989), radikal bebas merupakan molekul atau senyawa dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan yang dapat merusak biomolekul. Antioksidan dapat mencegah jalannya reaksi oksidasi dengan berbagai cara, yaitu mekanisme donor proton, penangkap radikal

bebas, peredam oksigen, enzim penghambat dan sinergis (Gordon, 1990). Antioksidan alami ditemukan pada setiap bagian dari tumbuhan antara lain, pada kulit kayu, akar, batang, daun, bunga dan buah (Pratt, 1992).

Berdasarkan studi fitokimia, tanaman *Mirabilis jalapa* L. telah dilaporkan mengandung senyawa bioaktif metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, Tanin dan polifenol (Suparni dan Wulandari, 2012). Menurut penelitian Ivanišová, *et al.*, 2013. Tanaman yang mengandung banyak senyawa fenolik seperti flavonoid, tanin, polifenol dan senyawa metabolit sekunder seperti saponin berpotensi sebagai antioksidan, hal ini dapat disimpulkan bahwa kemungkinan besar tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) juga memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa saponin, flavonoid, dan tanin juga diketahui memiliki senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba. Pada tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) mengandung bakteri endofit dimana bakteri endofit tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Briandan Christian, 1996).

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang hidup dalam jangka waktu tertentu dan mengkolonisasi jaringan tanaman tanpa merusak inangnya (Dompeipen & Simanjuntak, 2015). Beberapa mikroba endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antimikroba, antimalaria, antikanker dan antioksidan. Hal ini juga dapat berperan penting dalam pengobatan dan juga berperan penting dalam industri dan pertanian (Strobel dan Daisy, 2003).

Bakteri endofit dapat ditemukan dalam setiap tumbuhan yang hidup di permukaan bumi dan juga merupakan mikroba yang hidup atau tumbuh di dalam jaringan, salah satunya yaitu tanaman bunga pukul empat. Bakteri endofit dapat diisolasi dari bunga, batang, daun dan akar (Strobel, 2003). Bakteri endofit berasal dari luar, lalu masuk ke dalam tanaman melalui stomata, lentisel, luka (seperti adanya kerusakan trikoma), akar lateral, akar bertunas dan bagian lain yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang, daun kotiledon. Mikroba endofit juga dapat tumbuh di dalam jaringan tumbuhan dari satu titik tertentu sampai menyebar keseluruh tanaman (Kaga, 2009).

Mikroorganisme endofit dinilai lebih efektif digunakan untuk menghasilkan senyawa bioaktif tertentu dengan alasan waktu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri relatif singkat, cepat, mudah dan tidak memerlukan banyak sampel tumbuhan agar populasi tumbuhan tetap terjaga. Hal ini lebih efektif digunakan dibandingkan dengan

pengambilan senyawa aktif dari tanaman (Fadhilah, 2012). Keuntungan pengambilan mikroba endofit yaitu mampu menghasilkan senyawa baru karena dapat menghasilkan senyawa yang mirip dengan tanaman inangnya. Mikroba endofit dapat juga dapat mengeluarkan senyawa protein untuk memudahkan proses kolonisasi (Rosenblueth dan Martínez, 2008).

Diketahui beberapa mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antioksidan. Kemampuan mikroba endofit dalam menghasilkan senyawa aktif merupakan suatu potensi yang dapat dikembangkan dengan mengingat senyawa aktif biasanya diperoleh dengan cara mengekstrak tanaman, khususnya tanaman obat. Untuk memperoleh senyawa aktif daritanaman dibutuhkan waktu dan proses yang lebih rumit dibandingkan jika mengekstraksi senyawa dari bakteri (Castillo, 2003).

Dari latar belakang tersebut, peneliti akan melakukan Uji Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Bakteri Endofit yang diisolasi dari Bunga Pukul Empat (*Mirabilis jalapa* L.) yang diduga potensial dalam menghasilkan senyawa antioksidan. Sejauh ini belum dilaporkan adanya isolasi bakteri endofit dari sampel bunga pada tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) serta pengujian terhadap senyawa aktivitas antioksidan yang diproduksi oleh bakteri endofit dari bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan screening awal terhadap isolat bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan senyawa antioksidan. Pengujian aktivitas bakteri endofit dilakukan secara kualitatif dengan metode difusi isolat sedangkan pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) mengandung bakteri endofit?

Kedua, Apakah ciri morfologi isolat endofit dari bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.)?

Ketiga, bagaimana hasil uji aktivitas antioksidan dari isolat endofit?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan penjelasan pada latar belakang dan rumusan masalah.

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

Pertama, mengetahui adanya bakteri endofit dari bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.).

Kedua, mengetahui ciri morfologi dari isolat endofit pada bunga pukulempat (*Mirabilis jalapa* L.).

Ketiga, mengetahui adanya kemampuan aktivitas antioksidan dari isolatendofit.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan acuan dalam penelitian dimasa mendatang dan memberikan wawasan, manfaat dan informasi kepada industri, mahasiswa dan peneliti khususnya di bidang mikrobiologi farmasi dan farmasi klinis. Penelitian ini juga diharapkan mampu memberikan informasi kepada masyarakat untuk memperluas wawasan mengenai pengujian antioksidan dari hasil isolasi bakteri endofit pada bunga pukul empat (*Mirabilisjalapa* L.).