

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Bunga Pukul Empat (*Mirabilis jalapa* L.)

1. Sistematika tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.)

Sistematika (taksonomi) tumbuhan bunga pukul empat atau *Mirabilis jalapa* menurut (Nidavani dan Mahalakshmi, 2014), dapat diklasifikasikan sebagai berikut :



Gambar 1. Tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.)
(Dokumen pribadi)

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
<i>Sub kingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
<i>Seb devision</i>	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
<i>Clas</i>	: <i>Magnoliopsida</i> (Berkeping dua/ dikotil)
<i>Subclass</i>	: <i>Caryophyllidae</i>
<i>Order</i>	: <i>Caryophyllales</i>
<i>Family</i>	: <i>Nyctaginaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Mirabilis</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Mirabilis jalapa</i> L.

2. Nama daerah tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.)

Di Indonesia berdasarkan daerahnya tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) memiliki beberapa istilah nama antara lain yaitu Indonesia (kembang pukul empat), Sumatra (kempang pagi sore, kembang pukul empat, bunga waktu kecil), Jawa (kederat, segerat, tegera), Nusa tenggara (noja, koderat, bunga ledonosok, loro laka), Sulawesi (pukul ampa, turaga, bodoko sina, bunga teteapa, bunga-bunga

paranggi, bunga-bunga parengki), Maluku (kupa, oras, cako, raha), (Hanani, 2017). Tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) berasal dari Amerika Selatan dimana tanaman ini dapat tumbuh di daerah yang mendapat cukup sinar matahari, mulai dataran rendah sampai ketinggian 1200 mdpl. Tanaman ini termasuk kedalam suku Nyctaginaceae atau suku kambah-kampahan, Di seluruh dunia terdapat kuranglebih 60 spesies anggota genus *Mirabilis*, namun di Jawa hanya ada satu yaitu *Mirabilis jalapa* L. (Lawrence, 1951).

3. Morfologi tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.)

Mirabilis jalapa L. merupakan nama lain dari tanaman bunga pukul empat karena keunikan bunganya yang hanya mekar pada saat sore hari yaitu sekitar pukul empat sore, oleh karena itu masyarakat menggunakannya sebagai tanda datangnya waktu Ashar. keunikan lainnya yaitu tanaman ini dapat merubah warna bunganya dalam satu pohon yang sama. Tanaman ini tergolong sebagai tanaman musiman atau herba perrenial yang dapat tumbuh hingga setinggi 1,5 meter. Menurut Hanani (2017) morfologi tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) yaitu:

3.1. Habitat. *Mirabilis jalapa* L. (bunga pukul empat) merupakan tanaman hias atau tanaman liar yang mudah tumbuh di halaman rumah tanpa banyak perawatan. Tanaman ini mudah tumbuh di tanah yang lembab dengan kandungan nutrisi yang cukup serta terlindung dari sinar matahari. Meskipun begitu tanaman ini juga pernah dijumpai tumbuh dilahan kering dan terkena sinar matahari langsung. Tanaman ini dapat dibudidayakan karena keindahannya warna dan dekorasi bunga. Tanaman ini juga memiliki khasiat obat, meski tetap saja jarang digunakan (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991; Widjajakusuma, 1990).

3.2. Buah dan biji. Buah atau biji tanaman bunga pukul empat atau *Mirabilis jalapa* L. termasuk kedalam buah kurung yang berarti berbiji 1 utuh dan tidak pecah, ber dinding tipis, kulitnya tidak lengket dan berbiji melekat pada cangkang kulit. 26 biji dengan butiran serbuk sari berbentuk bulat berukuran 125 sampai 140 μm dan tebal spinulosa setinggi 0,5-1 μm (Debasmita D, 2015). Biji berwarna hitam ketika masak dan dibungkus seludang keras. Bijinya berbentuk bulat berkerut, ketika muda biji berwarna hijau muda, setelah tua menjadi hitam. Biji yang dipecah berisi tepung berwarna putih yang dibalut oleh selaput berwarna kekuningan. Buahnya yang keras berwarna hitam dan berwujud bulat bisa menjadi bedak (Wijayakusuma, 2000).

3.3. Bunga. Bunga pukul empat atau *Mirabilis jalapa* L. mempunyai banyak warna, diantaranya yaitu merah, kuning, putih, merah muda dan variasi warna bergaris. Perbedaan warna tersebut dilatar belakangi oleh gen, misalnya (R=gen) untuk bunga dengan warna merah dan (r=gen) untuk bunga dengan warna putih, bila keduanya disilangkan maka akan menghasilkan bunga berwarna merah muda. Bunga pukul empat diklasifikasikan sebagai bunga tunggal yang terletak di ujung batang atau flos terminalis dan mempunyai lembaran daun pelindung yang saling menyatu. Bunganya termasuk ke dalam golongan bunga banci aktinomorf atau sedikit zigomorf dengan bentuk segitiga memanjang hampir seperti terompet dengan bagian ujung meruncing 4 sampai 5 serta urat daunnya menjari dan mempunyai benang sari dengan jumlah sekitar 1-10 yang tersusun secara melingkar (Gembong, 2010).

3.4. Daun / Folium. Tanaman bunga pukul empat atau *Mirabilis jalapa* L. memiliki daun berwarna hijau, bertulang daun menyirip serta memiliki bentuk seperti jantung, pangkal daun membulat di mana ujungnya meruncing serta bertepi rata. Adapun tangkai daunnya ada panjang 6 mm - 6 cm (Wijayakusuma, 2000). Ukuran daun bunga pukul empat mencapai 5 - 11 cm dan lebar 4 - 7 cm (Endang, 2017).

3.5. Batang. Tanaman bunga pukul empat atau *Mirabilis jalapa* L. mempunyai batang yang termasuk dalam golongan batang basah (*herbaceous*). Batangnya membentuk vertikal serta bulat bercabang dengan permukaan luar yang licin, tingginya sekitar 20-80 cm.

3.6. Akar. Bunga pukul empat atau *Mirabilis jalapa* L. termasuk jenis tanaman yang memiliki bentuk akar tunggang, berwarna putih dan memiliki rasa manis. Setelah berusia dewasa, akar akan berkembang menjadi umbi. Umbi berwarna coklat kehitaman dan memanjang. Umbi tersebut berukuran 7 - 9 cm dengan diameter 2 - 5 cm.

4. Manfaat

Tanaman bunga pukul empat atau *Mirabilis jalapa* memiliki manfaat sebagai tanaman hias juga sebagai sumber pengobatan. Selain sebagai tanaman hias dan sumber pengobatan tanaman ini juga berfungsi sebagai pembatas pagar, tanaman bunga pukul empat memiliki manfaat sebagai antioksidan dan aktivitas sitotoksitas, antiarthritis, antispasmodik, antinociceptive, antiinflamasi, efek hipoglikemia dan hipolipidemik, antibakteri. Ekstrak dari berbagai bagian tanaman ini memiliki aktivitas farmakologi seperti antidiabetes, antioksidan, antimikroba, antifungal, antiviral, dan penyakit urinan (Wijayakusuma dan Hembing, 2000).

Selain keindahan, tanaman bunga pukul empat atau *Mirabilis jalapa* L juga banyak mengandung manfaat bagi manusia. Kandungannya yang berupa *betaxanthin*, zat asam lemak serta zat asam lemak dapat digunakan sebagai obat pelancar sirkulasi darah dan peluruh air seni (diuretik). Selain itu, bunga yang mempunyai nama binomial "*mirabilis jalapa*" ini juga bisa meredakan radang amandel, radang tenggorokan, batuk berdarah, kanker, batu ginjal, batu empedu, dan kencing manis. Biji tanaman ini bermanfaat dalam pengobatan bisul dan jerawat karena didalamnya mengandung zat tepung yang memiliki aktivitas anti jerawat terhadap bakteri penyebab jerawat (*Propionibacterium acnes*). Tanaman ini juga dapat digunakan sebagai insektisida karena mengandung alkaloid, saponin dan flavonoid yang memiliki kemampuan menghambat metamorfosis serangga (Wijayakusuma dan Hembing, 2000). Daunnya bisa digunakan sebagai pengobatan untuk luka bakar karena mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin (Menkes RI, 2019). Manfaat lainnya yang sangat penting bagi wanita adalah dapat mengatasi keputihan, meskipun banyak manfaatnya, akan tetapi pada wanita hamil tidak dianjurkan untuk mengkonsumsinya (Wijayakusuma, 2000).

B. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri merupakan proses mengeluarkan bakteri dari habitat aslinya dan menumbuhkannya pada media buatan untuk mendapatkan satu isolat. Isolasi bakteri endofit merupakan proses awal dimana bakteri endofit menghasilkan senyawa bioaktif (metabolit sekunder) (Handayani, 2016).

Untuk menghindari kontaminasi, perpindahan bakteri dari media lama ke media baru membutuhkan ketelitian dan sterilisasi alat yang akan digunakan. Pemindahan bakteri ke dalam cawan petri harus dibalik, mencegah tetesan air menempel pada dinding penutup cawan petri (Amriana, 2012).

Teknik isolasi bakteri endofit yaitu dilakukan dengan metode pour-plate method (cara tuang) dari media NA, kemudian diinkubasikan selama 24 jam (1 hari) untuk memperoleh biakan bakteri. Prinsip isolasi mikroba endofit adalah memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya di alam dan menumbuhkannya pada media buatan sehingga diperoleh koloni murni atau biakan murni (Nurzakiyah, 2016).

C. Mikroorganisme Endofit

Mikroba endofit didefinisikan sebagai mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman selama beberapa waktu tertentu dari siklus hidupnya dengan membentuk koloni dalam jaringan tanpa menyebabkan timbulnya penyakit atau kematian pada inangnya. Menurut sistem taksonomi, mikroba endofit merupakan mikroorganisme hidup yang terletak pada sistem terendah sehingga tidak dapat diamati secara langsung, untuk melihat mikroba tersebut peneliti perlu menggunakan bantuan alat mikroskop (Rodewald, 2009). Sifat mikroba endofit yang tidak berdampak negatif pada jaringan tumbuhan menunjukkan kemungkinan adanya hubungan simbiosis mutualisme antara mikroba endofit dan inangnya (Simarmata, 2007).

Sebagai salah satu sumber dari senyawa bioaktif yang berasal dari mikroba yaitu bakteri endofit. Mikroba endofit memiliki kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif untuk dikembangkan menjadi obat. Mikroba endofit berpotensi besar dalam penelitian sumber obat baru, hal ini dikarenakan mikroorganisme yang mudah dibudidayakan, memiliki siklus hidup yang pendek, dan dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam jumlah besar melalui fermentasi (Riadi, 2014). Mikroorganisme endofit dapat ditemukan dengan cara mengisolasi tanaman yang permukaannya steril, atau dengan mengekstraksi bakteri yang hidup pada jaringan tanaman (Antriana, 2017).

1. Metabolit Sekunder dan Manfaat

Sturz A. (2000) menyatakan bahwa sebagian besar komponen kimia berasal dari tanaman yang digunakan sebagai obat atau sebagai bahan dasar obat merupakan metabolit sekunder. Menurut Strobel & Daisy (2003), metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jaringan tanaman yang tumbuh di hutan tropis memiliki aktivitas biologis yang tinggi.

Kemampuan aktifitas mikroba endofit untuk menghasilkan senyawa sekunder sesuai dengan tanaman inangnya, merupakan kemungkinan yang sangat tinggi dan dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder dari hasil mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inang tersebut. Kelebihan ini sangat menguntungkan terutama untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder dengan jumlah yang sangat besar, dan tidak harus memangkas banyak tanaman aslinya untuk pengambilan simplisia yang mungkin membutuhkan waktu puluhan tahun untuk dapat dipanen kembali (Radji, 2005).

Bakteri endofit yang terdapat didalam tanaman *Mirabilis Jalapa L.* dapat memberikan banyak keuntungan, misalnya memacu tumbuhnya tanaman, dan meningkatkan resistensi tanaman dari patogennya (Kaga, 2009). Selain itu juga dapat memudahkan dalam penyerapan nutrisi, atau mensintesis hormon tanaman (Dubois, 2006).

2. Mekanisme Kerja Bakteri Endofit

Bakteri endofit berasal dari lingkungan luar dan masuk ke dalam tanaman melalui stomata, lentisel, luka (seperti adanya trikoma yang rusak), akar lateral dan akar bertunas. Namun, bagian tanaman yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang, daun (melalui stomata), dan kotiledon juga dapat menjadi jalan masuk bagi bakteri endofit. Bakteri endofit yang telah masuk ke dalam tanaman dapat tumbuh hanya di satu titik tertentu atau menyebar ke seluruh tanaman (Kaga, 2009).

3. Patogenesis Mikroba Endofit

Mikroorganisme endofit terdapat pada berbagai jaringan tanaman, termasuk biji, bakal biji, buah, batang, akar, umbi, dan daun (Barac, 2004). Kolonisasi mikroba endofit pada lapisan luar sel (*exodermis*, *sclerenchyma*) dan korteks akar terjadi secara interseluler dan intraseluler dalam jangka waktu kurang lebih 2-3 minggu, menyebabkan bagian *aerenchyma* (korteks) menjadi encer atau berair, hal ini merupakan tempat terbesar pembentukan mikrokoloni. Sebagai besar kolonisasi secara interseluler berdampak pada pengambilan nutrient, terutama karbon oleh bakteri. Biasanya bakteri endofit juga terdapat pada jaringan parenkim dan xilem (Prakamhang 2007).

D. Fermentasi

Fermentasi adalah proses dimana mikroorganisme memecah senyawa organik menjadi senyawa yang lebih sederhana (Pamungkas, 2011). Fermentasi merupakan suatu proses dimana senyawa organik mengalami perubahan kimiawi di bawah pengaruh enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam kondisi anaerobik dan aerob (Gandjar, 1983).

Fermentasi dapat dilakukan menggunakan dua medium yang berbeda, yaitu fermentasi dalam media cair dan media padat. Fermentasi media cair dilakukan dengan substrat tersuspensi dalam fase cair, sedangkan fermentasi dalam media padat dilakukan dengan substrat yang tidak mengandung air bebas tetapi mengandung air yang cukup untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme (Kumala, 2014).

E. Antioksidan

Dalam pengertian kimia, antioksidan merupakan senyawa yang mentransfer elektron (electron donor) atau reduktan. Selain itu senyawa ini bisamencegah pertumbuhan reaksi oksidatif dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas (Kuncahyo dan Sunardi 2007). Kemampuan aktivitas antioksidan yaitu memutus gugus radikal bebas dalam suatu senyawa antioksidan, sehinggalaju pembentukan radikal bebas terhambat (Nurhaen & Farisya, *et al.*, 2014).

1. Manfaat Antioksidan

Fungsi utama antioksidan adalah meminimalkan proses oksidasi lemak dan minyak, memperkecil pembentukan proses pembusukan makanan, memperpanjang masa simpan dalam industri makanan, dan meningkatkan stabilitas lemak dalam makanan. Antioksidan tidak hanya digunakan dalam industri farmasi tetapi juga digunakan dalam industri makanan, industri perminyakan, industri karet dan lainnya. (Tahir, *et al.*, 2003).

2. Prinsip Kerja Antioksidan

Prinsip kerja antioksidan adalah struktur molekulnya mampu memberikan elektron kepada molekul radikal bebas yang dimana reaksi tersebut mampu memutus reaksi berantai radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya (Devasagayam, 2004).

3. Kandungan Senyawa Kimia Dalam Antioksidan

Senyawa yang terkandung didalam antioksidan pada umumnya meliputi fenol, polifenol dan yang paling umum adalah flavonoid (flavonol, isoflavon, flavon, katekin, flavonon), turunan asam sinamat, tokoferol, dan asam organik polifungsi (Pratt dan Hudson, 1990). Senyawa antioksidan sintetis umumnya menggunakan *butylated hydroxytoluen* (BHT), *butylated hydroxyanisole* (BHA), *tertbutylhydroxyquinone* (TBHQ), asam galat dan propil galat. Antioksidan alami dapat diambil dari beberapa tumbuhan seperti sayur-sayuran, buah-buahan, tanaman bunga dan lainnya yang mengandung vitamin A, C, E, asam-asam fenolat seperti asamferulat, asam klorogerat, asam elagat, dan asam kafeat, dan juga senyawa flavonoid seperti kuersetin, mirisetin, apigenin, luteolin, dan kaemferol (Pokorny, *et al.*, 2001; Rohdiana, 2001).

4. Mekanisme Kerja Antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu:

4.1. Antioksidan Primer. Antioksidan primer adalah antioksidan yang bekerja dengan upaya mencegah pembentukan radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak berbahaya. Contohnya adalah *butilhidroksi Toluena* (BHT), *Butilhidrokuinon Tersier* (TBHQ), *Propil Gallat*, Tokoferol alami atau sintetis dan galat alkil.

4.2. Antioksidan Sekunder. Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang dapat mencegah mekanisme kerja prooksidan. Prooksidan adalah senyawa yang dapat mengkatalisis terjadinya oksidasi seperti Cu, Fe Pb dan Mn. Antioksidan sekunder berfungsi untuk menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai untuk menghindari kerusakan lebih besar. Contohnya adalah Vitamin E, C dan betakaroten yang bisa didapatkan dari buah-buahan.

4.3. Antioksidan Tersier. Antioksidan tersier adalah senyawa yang memperbaiki sel dan jaringan yang rusak akibat serangan radikal bebas. yang termasuk kedalam golongan Kelompok ini antara lain jenis enzim misalnya seperti metionin sulfoksidan Reduktase, yang dapat memperbaiki DNA di dalam inti sel. enzim tersebut berguna untuk perbaikan DNA pada pasien kanker (Chen, 1996).

F. Metode Pengujian DPPH Antioksidan

Pada umumnya aktifitas antioksidan dapat dilakukan beberapa metode pengujian, antara lain yaitu secara in-vitro dan in vivo. Pengukuran aktifitas antioksidan secara in-vitro dapat menggunakan metode DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*) sedangkan metode in-vivo sendiri dapat menggunakan metode ELISA dan Imunohistokimia (Zou, Y., 2004). Dalam penelitian ini metode yang digunakan untuk mengetahui adanya antioksidan didalam endofit yaitu metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

1. Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Metode DPPH merupakan metode dengan sistem kerja cepat, sederhana, dan murah dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai radikal bebas (*radical scavengers*) atau donor hidrogen dan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta menentukan jumlah kompleks antioksidan radikal bebas yang terbentuk (Apak *et al.*, 2013; Malik *et al.*, 2013). Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang berupa padat maupun cair (Prakash, *et al.*, 2011). Namun metode ini

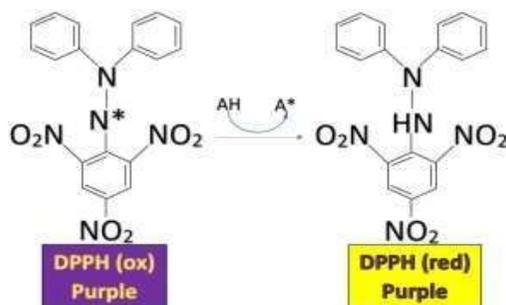
sangat mudah terpengaruh oleh berbagai faktor, selain itu pelarut DPPH juga harus selalu dibuat baru (Ácsová *et al.*, 2020).

2. Mekanisme kerja DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) adalah radikal bebas yang stabil dalam suhu kamar dengan bentuk kristal berwarna ungu tua, serta banyak digunakan untuk mengevaluasi nilai % inhibisi, IC50, AAI pada beberapa senyawa dari ekstrak alami yang dihasilkan (Prakash, *et al.*, 2011). Senyawa antioksidan akan menangkap radikal bebas DPPH melalui reaksi dimana radikal bebas menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan, sehingga membentuk sepasang elektron dan mengubahnya menjadi diphenylpicrylhydrazine (DPPH). Radikal ini memiliki reaktivitas yang rendah, sehingga mampu mereduksi radikal bebas dengan sifat toksik (Antolovich *et al.*, 2001). DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen untuk membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH mentransfer elektron maupun radikal hidrogen DPPH akan menetralkan sifat radikal DPPH (Kedare dan Singh, 2011). Aktivitas antioksidan dapat dikatakan sebagai persentase penghambatan. Nilai ini dapat dihitung dengan rumus berikut (Molyneux, 2004).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Gugus kromofor dan auksokrom dalam radikal bebas DPPH memberikan absorbansi tertinggi pada 517 nm sehingga menghasilkan warna ungu. Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning dengan penambahan antioksidan. Hasil kerusakan warna (*dekolorasi*) disebabkan oleh antioksidan dan jumlah elektron yang ditangkap. Prinsip kerja dari metode DPPH yaitu dengan reaksi oksidasi-reduksi (Purwanti, 2019), dengan mekanisme kerjanya penangkapan radikal bebas ditunjukkan pada reaksi di bawah ini.



Gambar 2. Reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan
(AH = Antioksidan, ox = Oksidasi, red = reduksi)
(dehpour, Ebrahimzadeh, Fazel, dan Mohammad, 2009)

G. Landasan Teori

Tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) adalah tanaman yang dapat tumbuh di daerah dataran rendah dan perbukitan yang memiliki iklim tropis serta banyak terkena sinar matahari (Dalimartha, 2006). Tanaman yang hidup di daerah tropis dan terkena sinar matahari umumnya memiliki aktivitas bakteri endofit yang dihasilkan melalui stomata, lentisel, serta bagian tanaman yang terpapar sinar matahari seperti bunga, batang dan daun (Kaga, 2009). Salahsatu tanaman yang memiliki aktivitas bakteri endofit adalah tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.), kemampuan bakteri endofit di dalam tanaman tersebut dapat menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai aktivitas antioksidan dengan melakukan isolasi bakteri endofit dari bagian daun, batang dan akar (Radji, 2005). Studi fitokimia pada tanaman bungapukul empat (*Mirabilis jalapa* L.) telah dilaporkan mengandung senyawa bioaktif berupa metabolit sekunder yang dimana senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan, senyawa bioaktif yang terkandung dihasilkan dari isolasi bakteri endofit yang terdapat pada tanaman tersebut (Brian, 1996).

Isolasi bakteri adalah proses mengeluarkan bakteri dari habitat aslinya dan menumbuhkannya pada media buatan untuk mendapatkan satu isolat. Isolasi bakteri endofit merupakan proses pertama dimana bakteri endofit menghasilkan senyawa bioaktif (metabolit sekunder) yang identik dengan yang terdapat pada tanaman inang (Handayani, 2016). Senyawa bioaktif (metabolit sekunder) yang terkandung di dalam daun bunga pukul empat diketahui bahwa memiliki kaitan yang erat dengan keberadaan bakteri endofit. Bakteri endofit memiliki karakteristik berada dalam jaringan tumbuhan (akar, batang, daun, dan bunga) tanpa menyebabkan gangguan pada tumbuhan, sehingga dapat diidentifikasi dengan melakukan uji morfologi, uji pewarnaan Gram dan untuk melakukan uji aktivitas antioksidan yaitu dengan metode DPPH (Nursulistyarini, 2014).

Aktivitas antioksidan dapat dihasilkan dari bakteri endofit yang bersimbiosis pada tumbuhan yang juga memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan mempunyai peran penting untuk mengatasi kerusakan oksidatif dengan cara menstabilkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (Shalaby, 2019). Radikal bebas adalah molekul atau senyawa dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan yang dapat merusak biomolekul (Halliwell, 1989). Antioksidan dapat menghambat jalannya

reaksi oksidasi dengan beberapa cara, yaitu sebagai donor proton, radikal bebas, pemulung oksigen, penghambat enzim dan sinergis (Gordon, 1990). Antioksidan alami terdapat pada setiap bagian tanaman seperti kulit batang, batang, daun, bunga, buah dan akar (Pratt, 1992). Dalam penelitian ini metode yang digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan didalam bakteri endofit yaitu mengujisampul isolat bakteri endofit dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). DPPH merupakan suatu radikal bebas sintetik yang dapat larut dalam senyawa polar seperti etanol dan metanol (Malik, 2013; Susilo *et al.*, 2012).

Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH adalah intensitas warna ungu DPPH berubah sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH. Radikal bebas DPPH dengan elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu. Warna berubah menjadi kuning ketika elektron membentuk pasangan. Perubahan intensitas warna ungu ini disebabkan oleh penguraian radikal bebas yang terbentuk akibat reaksi molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan dari molekul senyawa sampel membentuk senyawa *difenilpikrilhidrazin* sehingga menyebabkan penurunan warna DPPH berubah dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna ini menghasilkan nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum 517 nm menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis, memberikan nilai *scavenging activity* yang dinyatakan sebagai penentuan nilai konsentrasi persen inhibisi, IC50 dan AAI (Molyneux, 2004).

Beberapa penelitian telah melakukan pengujian isolasi bakteri yang diketahui memiliki potensi antioksidan pada tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.), diantaranya yaitu bakteri endofit pada rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* L.) penghasil senyawa antioksidan (Okky, 2017), potensi senyawa antioksidan yang dihasilkan bakteri endofit pada daun jambu biji (*sidium guajava* L.) (Riska, 2021), aktivitas antioksidan metabolit sekunder bakteri endofit akar tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) (Zeta, 2017), potensi bakteri endofitik dari tanaman keladi tikus sebagai penghasil zat antimikroba dan antioksidan (Harmastini, 2016), bioproduksi senyawa kimia antioksidan dari bakteri endofit tanaman sirih merah (*Piper cf. fragile*. BENTH) (Rumella, 2022), potensi pigmen karotenoid bakterium endofit lamun (*Thalassia hemprichii*) sebagai sumber senyawa alami penangkal radikal bebas DPPH (*2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil*) (Citra, 2014). Hasil penelitian

tersebut menunjukkan bahwa hasil isolasi bakteri endofit memiliki kemampuan untuk menghasilkan aktivitas antioksidan. Uraian tersebut merupakan alasan penulis untuk melakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan metabolit sekunder bakteri endofit yang diisolasi dari bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.).

H. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada maka dapat disusun beberapahipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, teridentifikasi adanya bakteri endofit pada bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.).

Kedua, hasil isolat bakteri endofit dari bunga pukul empat (*Mirabilisjalapa* L.) memiliki ciri morfologi bakteri.

Ketiga, teridentifikasi adanya kemampuan aktivitas antioksidan dari isolatendofit.