

Potensi antioksidan bakteri endofit kulit batang *Rhizophora stylosa* sebagai penangkal radikal bebas

Antioxidant potential of endophytic bacteria on the bark of *Rhizophora stylosa* as a free radical scavenger

Received: 19 April 2025, Revised: 22 November 2025, Accepted: 22 November 2025
DOI: 10.29103/aa.v12i3.21438

Resa Gumbirasari^{a*}, Eri Bachtiar^b, dan Emma Rochima^c

^aProgram Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran

^bDepartemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran

^cDepartemen Ilmu Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran

Abstrak

Mangrove *Rhizophora stylosa* mengandung senyawa metabolit sekunder berpotensi antioksidan, termasuk yang dihasilkan oleh bakteri endofit pada jaringan kulit batangnya. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antioksidan dan kandungan metabolit sekunder dari bakteri endofit. Metode yang digunakan meliputi eksplorasi dan eksperimen, dengan data kualitatif (isolasi, identifikasi, kultur masal, uji fitokimia) dan kuantitatif (total fenolik dan aktivitas antioksidan). Bakteri endofit diisolasi dari kulit batang *R. stylosa*, dikultur secara masal, dan diekstraksi dengan metode cair-cair menggunakan etil asetat. Uji fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder, sementara kandungan total fenolik ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu menggunakan spektrofotometer pada 765 nm. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH pada 500 nm dan dianalisis menggunakan regresi linear untuk memperoleh nilai IC50. Tiga isolat diperoleh, yakni RS1 (Gram positif, kokus), RS2 dan RS3 (Gram negatif, basil). Hasil fitokimia menunjukkan semua isolat mengandung triterpenoid, flavonoid, dan fenol, sedangkan tannin hanya ditemukan pada RS1 dan RS2. Kandungan fenolik tertinggi pada RS3 (193.8431 mgGAE/g). Nilai IC50 RS1 (111.86 ppm) tergolong sedang, RS2 (82.01 ppm) dan RS3 (90.68 ppm) tergolong kuat.

Kata kunci: Aktivitas Antioksidan; Bakteri Endofit; *Rhizophora stylosa*

Abstract

Rhizophora stylosa mangrove contains secondary metabolite compounds with antioxidant potential, including those produced by endophytic bacteria within its bark tissue. This study aims to determine the antioxidant activity and secondary metabolite content of endophytic bacteria. The methods used include exploration and experimentation, with qualitative data (isolation, identification, mass culture, phytochemical tests) and quantitative data (total phenolic content and antioxidant activity). Endophytic bacteria were isolated from the bark of *R. stylosa*, cultured in bulk, and extracted using liquid-liquid extraction with ethyl acetate. Phytochemical tests were conducted to detect secondary metabolites, while total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu method and measured with a spectrophotometer at 765 nm. Antioxidant activity was tested using the DPPH method at 500 nm and analyzed through linear regression to determine the IC50 value. Three isolates were obtained: RS1 (Gram-positive, cocci), and RS2 and RS3 (Gram-negative, bacilli). Phytochemical tests showed that all isolates contained triterpenoids, flavonoids, and phenols, while tannins were only present in RS1 and RS2. The highest phenolic content was found in RS3 (193.8431 mgGAE/g). IC50 values were 111.86 ppm (RS1, moderate), 82.01 ppm (RS2, strong), and 90.68 ppm (RS3, strong).

Keywords: Antioxidant Activity; Endophytic Bacteria; *Rhizophora stylosa*

1. Introduction

1.1. Latar belakang

Radikal bebas merupakan agen oksidatif yang dapat merusak struktur sel dan memicu berbagai penyakit degeneratif

seperti kanker, penuaan dini, stroke, dan hipertensi. Senyawa antioksidan berperan penting dalam menangkal radikal bebas dan menjaga keseimbangan redoks dalam tubuh (Mohsen and Ammar 2009). Namun, penggunaan antioksidan sintetis kini mulai dibatasi karena efek samping seperti hepatotoksitas dan potensi karsinogenik (Wulansari 2018). Oleh karena itu, pencarian sumber antioksidan alami terus berkembang, salah satunya melalui eksplorasi mikroorganisme endofit.

* Korespondensi: Program studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran. Jatinangor. 45363. Indonesia.
Tel: +62-81222768284
e-mail: gumbirasari18@gmail.com

Tanaman mangrove *Rhizophora stylosa* diketahui mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid, tanin, katekin, dan polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan (Abdurahman et al. 2016). Menariknya, beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit yang hidup dalam jaringan tanaman ini juga mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang serupa (Tiwari and Bae 2020). Salah satu mekanisme yang memungkinkan kemampuan ini adalah *Horizontal Gene Transfer* (HGT). HGT ini merupakan suatu proses di mana gen atau jalur biosintetik berpindah secara lateral antar spesies yang berbeda, termasuk dari tanaman ke mikroorganisme atau antar mikroorganisme itu sendiri (Nongkhlaw and Joshi 2016).

Dalam konteks ini, HGT memungkinkan bakteri endofit memperoleh gen-gen penting dari tanaman inangnya, termasuk gen yang terkait dengan biosintesis senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid. Adaptasi metabolik ini dapat terjadi sebagai bentuk koevolusi, mengingat interaksi jangka panjang antara endofit dan tanaman inangnya dalam lingkungan internal yang stabil (Wang et al. 2023). Oleh karena itu, isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari *Rhizophora stylosa* menjadi langkah strategis dalam menemukan sumber antioksidan alami baru yang tidak hanya ramah lingkungan, tetapi juga potensial untuk dikembangkan secara bioteknologi (Zhou et al. 2018).

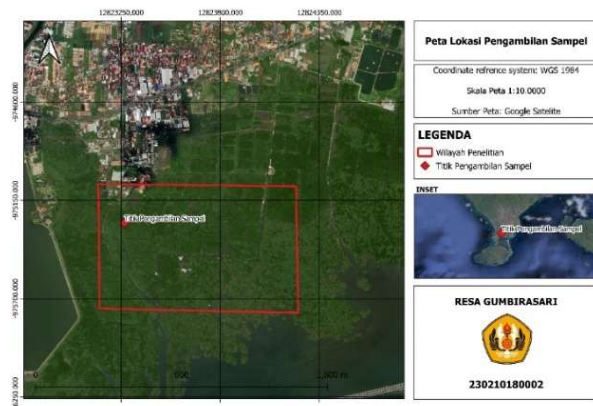
1.2. Tujuan dan manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi aktivitas antioksidan dari bakteri endofit yang diisolasi dari kulit batang mangrove *Rhizophora stylosa*, khususnya dalam perannya sebagai agen penangkal radikal bebas alami. Selain itu, studi ini juga berupaya mengidentifikasi karakteristik morfologi makroskopis dan mikroskopis dari bakteri endofit yang bersimbiosis dengan tanaman tersebut. Hasil riset ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi yang bermanfaat, baik bagi masyarakat umum maupun kalangan akademisi dan peneliti, mengenai pemanfaatan bakteri endofit mangrove sebagai sumber antioksidan ramah lingkungan. Dengan demikian, penelitian ini juga mendukung upaya pelestarian dan keberlanjutan ekosistem mangrove di Indonesia.

2. Materials and Methods

2.1. Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2021 – Juli 2022. Pengambilan sampel dilaksanakan di Kawasan Taman Hutan Raya Ngurah Rai, Denpasar Selatan, Kota Denpasar, Bali. Sedangkan untuk analisis laboratorium dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Mikrobiologi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran. Peta penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Peta lokasi penelitian,

2.2. Bahan dan alat penelitian

Adapun bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kulit batang mangrove *R. stylosa*, Air tawar, Gliserol, Alkohol, Serbuk Nutrient Agar (NA), Serbuk Nutrient Broth (NB), Aquades steril, Kapas, Aluminium foil, Kassa gulung, Kloroform 1%, Larutan kristal violet, Larutan lugol, Larutan safranin, Alkohol 96%, Etil asetat, Plastic wrap, Kloroform, NH₄OH, H₂SO₄ 2 M, Pereaksi Mayer, Pereaksi Wagner, Eter, Pereaksi Lieberman-Burchard, H₂SO₄ Pekat, Serbuk Mg, HCl, Alkohol, NaCl 10%, Gelatin 1%, FeCl₃ 5%, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), Asam askorbat, dan Asam galat. Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol falcon, ice gel, coolbox, pisau, GPS, spatula, neraca analitik Mettler toledo, Erlenmeyer, pipet ukur, ball filler, hot plate magnetic stirrer Biosan MSH-300, cawan petri, autoclave all American, jarum ose, beaker glass, gelas ukur, pinset steril, spirtus, kaca objek, pipet tetes, mikroskop zeiss, tabung reaksi, incubator ShellLab, centrifuge Sigma 2-16PK, corong pisah, vacum rotary evaporator, plat tetes, penjepit kayu, rak tabung, Spektrofotometer UV-Vis, computer, laminar air flow, corong kaca, pipet micro, L-glass, incubator shaker.

2.3. Preparasi dan isolasi bakteri endofit

Sampel kulit batang dibersihkan dengan air mengalir selama 5 menit. Diambil sampel sebanyak 1 gram kemudian disterilisasikan permukaannya dengan drendam dalam kloroform 1% selama 1 menit dan aquades steril selama 30 detik dengan 3 kali pengulangan lalu keringkan (Khamna et al. 2009).

Kulit batang digerus kemudian sampel dimasukan kedalam 10 ml aquades steril. Dilakukan pengenceran sampai 10-6. Pengenceran 10-4 sampai 10-6 ditanam pada media Nutrient Agar (NA) dengan metode spread plate dan dinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Kemudian dibuat bakteri stok dalam media agar miring.

2.4. Identifikasi bakteri endofit

Koloni bakteri yang muncul pada cawan petri diamati warna, margin, elevasi, bentuk, ukuran dan tekstur untuk pengamatan makroskopis dan pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Bakteri dari media Nutrient Agar (NA) diambil menggunakan jarum ose dan diletakkan pada kaca objek kemudian difiksasi di atas api. Diteteskan 2-3 tetes larutan kristal violet, biarkan selama 3 menit, dibuang larutan kristal violet ditetaskan larutan lugol satu tetes dan dibiarkan selama 1 menit. Preparat dibilas dengan alkohol 96% sampai jernih, dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Terakhir ditetesi dengan safranin dan dibiarkan selama 2 menit lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan (Damayanti, Komala, and Effendi 2020).

2.5. Ekstraksi dan uji fitokimia

Isolat bakteri endofit dikulturkan pada 1000 ml medium cair NB, kemudian diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C dengan kecepatan 120 rpm. Suspensi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan supernatan dan biomassa (Sulistiyani, Tri Ardyati 2016). Supernatan kemudian diekstraksi dengan etil asetat (1/1: v/v) dengan menggunakan corong pisah. Ekstraksi dilakukan dengan 2 kali pengulangan. Ekstrak etil asetat dipisahkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 35°C (Putri and Herdyastuti 2021).

Uji alkaloid, diambil ekstrak etil asetat ditambah 2 mL kloroform dan 3 tetes NH₄OH dalam tabung reaksi. Ekstrak kloroform dipisah dan diberi 10 tetes H₂SO₄ 2 M, kemudian dikocok secara teratur dan dibiarkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam (atas) yang diperoleh kemudian dipisah ke dalam 2 tabung reaksi kemudian tabung 1

ditetesi pereaksi Mayer dan tabung 2 ditetesi dengan pereaksi wagner. Terdapatnya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih oleh pereaksi mayer dan endapan coklat oleh pereaksi wagner. Untuk uji steroid dan triterpenoid, diambil ekstrak etil asetat ditambahkan dengan 2 mL eter selama 10 menit. Lapisan eter dipisah lalu ditambah 3 tetes pereaksi Lieberman-Burchard (3 tetes anhidridat asetat dan 3 tetes kloroform) dan 1 tetes H₂SO₄ Pekat. Terbentuknya warna merah atau ungu menunjukkan kandungan triterpenoid sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan kandungan steroid. Untuk uji flavonoid diambil ekstrak etil asetat dimasukkan ke dalam air mendidih selama 5 menit. Ditambah serbuk Mg, 1 mL HCl pekat dan 20 tetes alkohol lalu dikocok kuat. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan terdapatnya senyawa flavonoid. Untuk uji saponin sebanyak 2 ml ekstrak etil asetat dikocok selama 15 detik. Timbulnya busa hingga selang waktu 10 menit menunjukkan adanya saponin. Untuk uji tanin diambil ekstrak etil asetat ditambahkan FeCl₃ 5%. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan terdapat tannin. Untuk uji fenol Sebanyak 1 mL ekstrak etil asetat ditambah 10 tetes FeCl₃. Terbentuknya warna biru tua atau ungu menunjukkan terdapatnya fenol (Yati, Sumpono, and Candra 2018).

2.6. Pengujian total fenolik

2.6.1. Pembuatan kurva kalibrasi asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu

Ditimbang 50 mg asam galat, ditambahkan 1 mL etanol 96 %, lalu ditambahkan aquades sampai volume akhir 50 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/mL. Dari larutan induk asam galat konsentrasi 1 mg/mL dipipet 1 mL, 1,25 mL, 1,5 mL, 1,75 mL dan 2 mL, secara berturut turut lalu diencerkan dengan aquades sampai volume akhir 10 mL sehingga dihasilkan konsentrasi 100, 125, 150, 175, 200 µg/ml asam galat, secara berturut-turut. Dari masing-masing konsentrasi larutan asam galat dipipet 0,2 mL lalu ditambah 15,8 mL aquades dan 1 mL Reagen Folin-Ciocalteu dan dikocok sampai homogen serta dibiarkan selama 8 menit. Ditambahkan 3 mL larutan Na₂CO₃ 10% lalu dikocok homogen, dan selanjutnya dibiarkan selama 2 jam pada suhu kamar. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm, lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/ml) dengan serapan (Waterhouse, 1999).

2.6.2. Penetapan kandungan fenol total dengan metoda Folin-Ciocalteu

Ditimbang 100 mg ekstrak kemudian dilarutkan sampai 10 mL dengan aquades sehingga diperoleh konsentrasi 10 mg/mL. Dari konsentrasi 10 mg/mL dipipet 1 mL dan diencerkan dengan aquades hingga 10 mL dan diperoleh konsentrasi ekstrak 1 mg/mL. Dipipet 0,2 mL ekstrak, ditambahkan 15,8 mL aquades dan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu lalu dikocok. Didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 3 mL Na₂CO₃ 10% ke dalam campuran. Didiamkan larutan selama 2 jam pada suhu kamar. Diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm. Dilakukan 3 (tiga) kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/g sampel segar (Orak 2007).

2.7. Pengujian antioksidan

2.7.1. Penetapan serapan kontrol

Dipipet larutan DPPH 50 µM sebanyak 3,8 mL dan ditambahkan aquades 0,2 mL. Diukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis.

2.7.2. Pemeriksaan aktivitas antioksidan

Ditimbang ekstrak sebanyak 100 mg, kemudian dilarutkan dengan aquades sampai 100 mL dalam labu ukur maka didapatkan konsentrasi 1 mg/mL. Dari larutan induk, dilakukan pengenceran dengan menambahkan aquades dengan perbandingan yang telah ditetapkan, sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (100, 150, 200, 250, 300 µg/mL). Untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,2 mL larutan sampel dengan pipet mikro dan masukan ke dalam vial, kemudian ditambahkan 3,8 mL larutan DPPH 50 µM. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap, absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Okawa et al. 2001).

2.8. Analisis data

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Okawa et al. 2001):

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

Keterangan:

Serapan kontrol: Serapan radikal DPPH 50 µM pada panjang gelombang 500 nm.

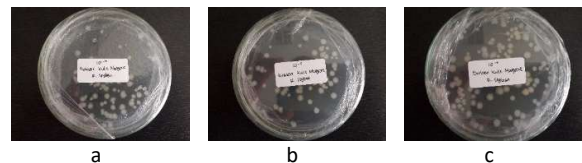
Serapan sampel: Serapan dalam radikal DPPH 50 µM pada panjang gelombang 500 nm

Nilai IC₅₀ masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier

3. Results and Discussion

3.1. Result

Hasil inkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri yang bervariasi pada masing-masing tingkat pengenceran (Gambar 2). Morfologi koloni pada pengenceran 10⁻⁶ terbentuk lebih menyebar, sedangkan untuk pengenceran 10⁻⁵ isolat bakteri terpusat di Tengah media, dan pengenceran 10⁻⁴ isolat bakteri mendominasi terbentuk pada bagian bawah media. Morfologi koloni pada pengenceran 10⁻⁶ tampak lebih terpisah dan mudah dibedakan. Hal ini memudahkan dalam proses pemilahan isolat untuk tahapan identifikasi lebih lanjut.



Gambar 2. Isolat bakteri (a) Pengenceran 10⁻⁴, (b) Pengenceran 10⁻⁵, (c) Pengenceran 10⁻⁶.

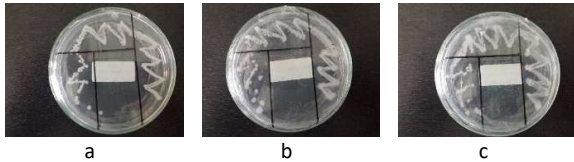
Jumlah mikroba dihitung menggunakan metode Total Plate Count (TPC), yang umum digunakan untuk memperkirakan jumlah mikroorganisme dalam sampel. Metode ini hanya menghitung bakteri hidup dan mengandalkan faktor pengenceran untuk hasil yang akurat. Hasil dinyatakan dalam Colony Forming Unit (CFU), yaitu jumlah koloni per gram atau mililiter sampel. Perhitungan mengikuti standar Standard Plate Count (SPC), dengan batas koloni yang dapat dihitung yaitu 30–300 CFU/ml.

Table 1
Hasil Perhitungan Total Plate Count (TPC).

Sumber koloni	Kode koloni	Larutan pengencer	Inkubasi		Jumlah koloni terhitung (CFU)
			Suhu (°C)	Waktu (jam)	

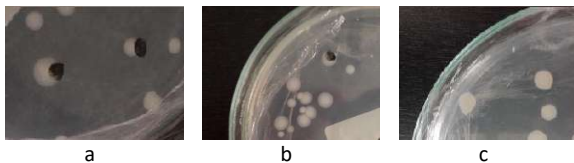
Mangrove <i>R. stylosa</i>	RS1				7.8 x 10 ⁵
	RS2	Aquades	30	24	8.1 x 10 ⁶
	RS3				1.7 x 10 ⁸

Pemurnian dilakukan pasca isolasi untuk memperoleh biakan murni tanpa kontaminan, berdasarkan perbedaan morfologi koloni seperti warna, elevasi, dan tekstur. Proses dilakukan dengan teknik goresan kuadran pada media NA. Isolat murni kemudian ditumbuhkan pada media agar miring untuk stok, karena permukaannya mendukung pertumbuhan bakteri endofit.



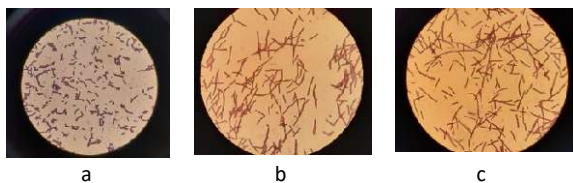
Gambar 3. Hasil Pemurnian (a) RS1, (b) RS2, (c) RS3.

Identifikasi makroskopis menunjukkan tiga isolat dengan karakteristik berbeda. RS1 berwarna putih susu, bulat, tekstur kasar, dan elevasi umbonat. RS2 berbentuk club rod, tekstur halus, margin keriting, elevasi raised. RS3 berbentuk enlarged rod, dengan tekstur dan margin serupa RS2.



Gambar 4. Identifikasi bakteri secara makroskopis (a) RS1, (b) RS2, (c) RS3.

Pewarnaan Gram menunjukkan dua isolat Gram negatif dan satu Gram positif. Gram positif memiliki dinding sel lebih sederhana namun efektif dalam perlindungan, sedangkan Gram negatif memiliki struktur dinding lebih kompleks (Smith and Hussey 2016).



Gambar 5. Identifikasi bakteri secara mikroskopis (a) RS1, (b) RS2, (c) RS3.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan corong pisah, menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi-polar karena mampu mengekstrak senyawa polar dan non-polar (Faham Partogi Siregar, Misran, and Tri Cahyadi 2019). Ekstraksi dilakukan dua kali (1:1, v/v) dan didiamkan selama 2 jam. Etil asetat sebanyak 2 liter digunakan per sampel, lalu dievaporasi pada suhu 35°C (Putri and Herdyastuti 2021). Hasil ekstrak masing-masing isolat adalah 200 mg (RS1), 2110 mg (RS2), dan 455 mg (RS3), tergantung pada jenis dan kepolaran senyawa antioksidan yang dihasilkan.



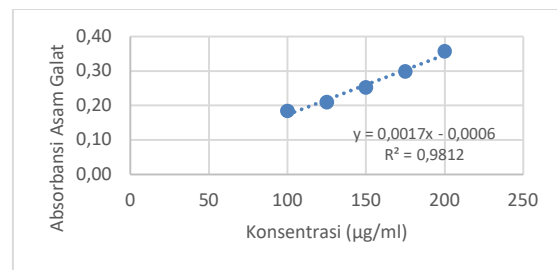
Gambar 6. Ekstrak pekat etil asetat.

Uji fitokimia dilakukan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder secara kualitatif melalui perubahan warna atau pembentukan endapan (Usman 2018). Mikroba endofit seperti yang ditemukan pada mangrove *R. stylosa* mampu menghasilkan senyawa aktif seperti flavonoid, triterpenoid, tannin, dan fenol (Cadamuro et al. 2021), yang berperan sebagai antioksidan.

Table 2
Hasil pengujian fitokimia.

Nama Senyawa	Hasil Pengamatan		
	RS1	RS2	RS3
Alkaloid	-	-	-
Steroid	-	-	-
Triterpenoid	+	+++	++
Flavonoid	+	+	+
Saponin	-	-	-
Tanin	+	+	-
Fenol	+	+	+

Kandungan fenolik total ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu menggunakan asam galat sebagai standar (Molole, Gure, and Abdissa 2022). Kurva kalibrasi dibuat dengan konsentrasi 100–200 µg/mL dan menghasilkan persamaan regresi $\hat{Y} = 0,0017x - 0,0006$ ($r = 0,9812$), menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi dan absorbansi seperti yang terlihat pada gambar 7.



Gambar 7. Kurva standar asam galat.

Kandungan fenolik total pada sampel RS1, RS2, dan RS3 berturut-turut adalah $149,10 \pm 1,36$ mg GAE/g, $154,04 \pm 0,07$ mg GAE/g, dan $193,84 \pm 0,07$ mg GAE/g. Pelarut etil asetat efektif untuk mengekstraksi senyawa fenolik seperti tanin dan flavanol, sehingga berkontribusi pada hasil ekstraksi tinggi.

Table 3
Hasil perhitungan kandungan total fenolik.

Sampel	Abs. Sampel	KTFe (mgGAE/g)	KTFe \pm SD (mgGAE/g)
RS1	0.0875	149.098	149.10 \pm 1.36
RS2	0.0917	154.0392	154.04 \pm 0.07
RS3	0.3458	193.8431	193.84 \pm 0.07

Metode DPPH digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat bakteri *R. stylosa*, dengan serapan maksimum pada 500 nm. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan persen inhibisi dan IC₅₀, yang menunjukkan konsentrasi yang menghambat 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC₅₀, semakin kuat aktivitas antioksidan (Malik et al. 2017). Hasilnya, RS1 memiliki IC₅₀ 111,86 ppm (sedang), RS2 82,01 ppm (kuat), dan RS3 90,68 ppm (kuat). Senyawa fenol, seperti flavonoid dan asam fenolat, berperan dalam efek antioksidan.

Table 4
Data Hasil Pengujian Antioksidan.

Konsent rasi (ppm)	Absorbansi			%Inhibisi			IC ₅₀ (ppm)		
	RS 1	RS 2	RS 3	RS1	RS2	RS3	RS1	RS2	RS3

100	0.0	0.0	0.0	42.	55.	51.	111.	82.	90.
	3	2	3	64	76	92	86	01	68
150	0.0	0.0	0.0	66.	64.	66.		R ²	
	2	2	2	77	66	26			
200	0.0	0.0	0.0	78.	73.	78.	RS1	RS2	RS3
	1	1	1	49	43	17			
250	0.0	0.0	0.0	90.	90.	80.			
	1	1	1	27	20	47	0.99	0.8	0.9
300	0.0	0.0	0.0	95.	79.	86.		1	8
	1	1	1	65	83	88			

3.2. Discussion

Koloni yang dihasilkan umumnya berwarna putih krem hingga kekuningan, dengan margin halus dan elevasi cembung. Hasil ini mendukung temuan sebelumnya bahwa jaringan dalam tanaman mangrove, khususnya bagian kulit batang, merupakan habitat yang kaya akan mikroba endofit (Boonman et al. 2023). Isolasi bakteri dari jaringan steril menunjukkan keberhasilan prosedur dekontaminasi permukaan dan mengindikasikan bahwa koloni yang tumbuh merupakan bakteri endofit sejati.

Ekstrak etil asetat menunjukkan hasil positif untuk flavonoid dan tannin. Warna kuning, merah, dan jingga pada uji flavonoid (RS1, RS2, RS3) menandakan pembentukan garam flavilium (Adhayanti, Abdullah, and Romantika 2018). Uji tannin dengan FeCl₃ menghasilkan warna kehijauan hingga kebiruan, menandakan keberadaan gugus fenol (Manongko, Sangi, and Momuat 2020). Senyawa fenol dalam flavonoid dan tannin bekerja sebagai antioksidan dengan menyumbangkan atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Dhurhanian and Novianto 2019).

Triterpenoid dan flavonoid dikenal sebagai senyawa bioaktif yang memiliki potensi antioksidan tinggi melalui mekanisme penangkapan radikal bebas (Pietta 2000). Kandungan fenol pada seluruh isolat mendukung kemampuan antioksidan karena senyawa ini mampu mendonorkan elektron dan menstabilkan radikal bebas (Waterhouse, 2002).

Tidak terdeteksinya alkaloid, steroid, dan saponin dapat disebabkan oleh perbedaan spesies endofit dan kondisi lingkungan yang mempengaruhi biosintesis metabolit sekunder. Hasil ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa bakteri endofit mangrove memiliki profil metabolit spesifik tergantung jaringan dan habitat asalnya (Oktafiyanto, Munif, and Mutaqin 2018).

Pelarut etil asetat sangat cocok untuk mengekstraksi senyawa fenolik (Sayakti and Hidayatullah 2023). Kandungan total polifenol yang tinggi pada fraksi etil asetat diduga berkaitan dengan kemampuan pelarut ini dalam mengekstraksi senyawa polifenol dengan berat molekul menengah hingga tinggi, seperti tanin dan flavanol. Etil asetat, yang memiliki polaritas sedang, diketahui efektif melarutkan senyawa fenolik kompleks yang tidak larut sempurna dalam pelarut polar atau nonpolar ekstrem. Hal ini sejalan dengan temuan El Felhi et al. (2020), yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat menghasilkan kadar tanin dan flavonoid tertinggi dibandingkan fraksi lainnya (Hayat et al. 2020).

Penggunaan antioksidan harus hati-hati, karena konsentrasi tinggi bisa menjadi prooksidan. Bakteri endofit pada mangrove membantu melindungi tanaman dari tekanan biotik dan abiotik, dan menghasilkan antioksidan alami sebagai respons terhadap kondisi lingkungan.

4. Conclusion

Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri endofit dari kulit batang mangrove *Rhizophora stylosa* mengandung senyawa metabolit sekunder seperti triterpenoid, flavonoid, tannin, dan fenol. Kandungan total fenolik tertinggi ditemukan pada ekstrak RS3 (193,84 mg GAE/g). Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa RS2 dan RS3 memiliki

aktivitas kuat (IC50 masing-masing 82,01 ppm dan 90,68 ppm), sedangkan RS1 tergolong sedang (IC50 111,86 ppm). Hasil ini membuktikan potensi bakteri endofit sebagai sumber antioksidan alami.

Bibliography

- Abdurahman, N.H., Nitthiya, J., Manal., and Omer, S. 2016. The potential of *Rhizophora mucronata* in extracting the chemical composition and biological activities as mangrove plants : A review. *Australian J. Basic App. Science*, 10(4): 114–39.
- Adhayanti, I., Tajuddin, A., and Rika, R. 2018. Uji kandungan total polifenol dan flavonoid ekstrak etil asetat kulit pisang raja (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*). *Media Farmasi* 14(1): 39. doi:10.32382/mf.v14i1.84.
- Boonman, N., Jaruwat, C., Chanate, W., Siriphan, B., and Supatra, C. 2023. Antimicrobial activities of endophytic bacteria isolated from *Ageratum conyzoides* Linn. *Biodiversitas* 24(4): 1971–79. doi:10.13057/biodiv/d240405.
- Cadamuro, R.D., Isabela, M.A., da Silveira, B., Izabella Thais da Silva, Ariadne Cristine Cabral da Cruz, Diogo Robl, Louis Pergaud Sandjo, Sergio Alves. 2021. Bioactive compounds from mangrove endophytic fungus and their uses for microorganism control. *Journal of Fungi* 7(6). doi:10.3390/jof7060455.
- Damayanti, S.S., Oom, K., and Mulyati, E. 2020. Identifikasi bakteri dari pupuk organik cair isi rumen sapi. *Ekologia* 18(2): 63–71. doi:10.33751/ekol.v18i2.1627.
- Dhurhanian, C.E., and Agil, N. 2019. Uji Kandungan fenolik total dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan dari berbagai bentuk sediaan sarang semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia* 5(2): 62. doi:10.20473/jfiki.v5i22018.62-68.
- Faham Partogi Siregar, Rory, Erni Misran, and Iman Tri Cahyadi. 2019. Proses ekstraksi asam asetat dari distilat asap cair tempurung kelapa menggunakan pelarut etil asetat. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 8(2): 90–98. doi:10.32734/jtk.v8i2.1964.
- Hayat, J., Mustapha, A., Abdelmajid, M., Mourad, B., Ali, S., Said, E., and Saadia, B. 2020. Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*, 6(11): e05609. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05609.
- Khamna, S., Akira, Y., John, F.P., and Saisamorn, L.Y. 2009. Antifungal activity of *Streptomyces* spp. isolated from rhizosphere of Thai Medicinal Plants. *International Journal of Integrative Biology*, 6(3): 143–47.
- Malik, N.H., Zamzahaila, M.Z., Shamsul, B.A.R., Kasawani, I., and Mohamad, K.Z. 2017. Antioxidative activities and flavonoids contents in leaves of selected mangrove species in Setiu Wetlands extracted using different solvents. *Journal of Sustainability Science and Management* 2017, (Special Issue 3): 14–22.

- Manongko, P.S., Meiske, S.S., and Lidya, I.M. 2020. Uji senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal MIPA*, 9(2): 64. doi:10.35799/jmuo.9.2.2020.28725.
- Mohsen, S.M., and Abdalla, S.M.A. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 112(3): 595–98. doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.014.
- Molole, G.J., Abera, G., and Negera, A. 2022. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. *BMC Chemistry*, 16(1): 1–11. doi:10.1186/s13065-022-00841-x.
- Nongkhlaw, F.M.W., and Joshi, S.R. 2016. Horizontal gene transfer of the non-ribosomal peptide synthetase gene among endophytic and epiphytic bacteria associated with ethnomedicinal plants. *Current Microbiology*, 72(1): 1–11. doi:10.1007/s00284-015-0910-y.
- Okawa, M., Junei, K., Toshihiro, N., and Masateru, O. 2001. Atividade de eliminação do radical DPPH (1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil) de flavonóides obtidos de algumas plantas medicinais. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(10): 1202–5.
- Oktafiyanto., Firdaus, M., Munif, A., and Mutaqin, K.H. 2018. Aktivitas antagonis bakteri endofit asal mangrove terhadap *Ralstonia solanacearum* dan *Meloidogyne spp.* *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 14(1): 23. doi:10.14692/jfi.14.1.23.
- Orak, H.H. 2007. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae*, 111(3): 235–41. doi:10.1016/j.scienta.2006.10.019.
- Pietta, P.G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7): 1035–42. doi:10.1021/np9904509.
- Putri, R.D.W., and Nuniek, H. 2021. Potensi senyawa antioksidan yang dihasilkan bakteri endofit pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). *Journal of Chemistry*, 10(1): 55–63.
- Sayakti, P.I., and Hidayatullah, M. 2023. Penetapan kadar fenolik total ekstrak etil asetat buah okra hijau (*Abelmoschus esculentus* L.). *Journal of Islamic Pharmacy*, 8(2): 56–61. doi:10.18860/jip.v8i2.21066.
- Smith, A., and Marise, H. 2016. Gram stain protocols. *American Society for Microbiology*, (September 2020): 1–9. <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://asm.org/getattachment/5c95a063-326b-4b2f-98ce-001de9a5ece3/gram-stain-protocol-2886.pdf&ved=2ahUKEwiO5pPn6omFAXUM2DgGHUvM-BiwQFnoECCoQAQ&usq=AOvVaw1-NVEcOxHCNBqEerbZUHJO>.
- Sulistiyani, T.A., Sri, W. 2016. Antimicrobial and antioxidant activity of endophyte bacteria associated with *Curcuma longa* Rhizome. *The Journal of Experimental Life Sciences*, 6(1): 45–51. doi:10.21776/ub.jels.2016.006.01.11.
- Tiwari, P., and Hanhong, B. 2020. Horizontal gene transfer and endophytes: An implication for the acquisition of novel traits. *Plants*, 9(3). doi:10.3390/plants9030305.
- Usman. 2018. Uji fitokimia dan uji antibakteri dari akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. 2(3): 169–77.
- Wang, H., Yuanhao, L., Zhenhua, Z., and Bojian, Z. 2023. Horizontal gene transfer: driving the evolution and adaptation of plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 65(3): 613–16. doi:10.1111/jipb.13407.
- Wulansari, A.N. 2018. Alternatif cantigi ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) sebagai antioksidan alami: Review. *Farmaka*, 16(2): 419–29.
- Yati, S.J., Sumpono, S., and Candra, I.N. 2018. Potensi aktivitas antioksidan metabolit sekunder dari bakteri endofit pada daun *Moringa oleifera* L. *Alotrop*, 2(1): 82–87. doi:10.33369/atp.v2i1.4744.
- Zhou, J., Xiaoping, D., Tao, W., Guangying, C., Qiang, L., Xiaobo, Y., and Jing, X. 2018. Phylogenetic diversity and antioxidant activities of culturable fungal endophytes associated with the mangrove species *Rhizophora stylosa* and *R. mucronata* in the South China Sea. *PLoS ONE*, 13(6). doi:10.1371/journal.pone.0197359.