

## Isolation, Identification and Antibacterial Testing, *Indigenous* Bacteria from *Apis Mellifera's* Honeycomb North Sumatra Origin

Esibrena Br Kemit<sup>1</sup>, Yermia S. Mokosuli<sup>1\*</sup>, Helen J Lawalata<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumian, Universitas Negeri Manado, Tondano, Indonesia

### Article History

Received : July 02<sup>th</sup>, 2022

Revised : August 20<sup>th</sup>, 2022

Accepted : September 27<sup>th</sup>, 2022

\*Corresponding Author:

**Yermia S Mokosuli,**

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumian, Universitas Negeri Manado, Tondano, Indonesia;

Email:

[yermiamokosuli@unima.ac.id](mailto:yermiamokosuli@unima.ac.id)

**Abstract:** Honeycomb can be used as a source of antibacterial, this is due to the content of secondary metabolites in the form of flavonoids in the honeycomb which serves as a protective determinant of honey quality. This study aims to isolate, identify and test antibacterial isolates of Indigenous bacteria from *Apis mellifera* nests against gram-positive bacteria *S. aureus* and gram-negative bacteria *E. coli*. This research used descriptive method and the research data were obtained through laboratory experiments. The results of the isolation stage of indigenous bacteria obtained seven (7) isolates AM1, AM2, AM3, AM4, AM5, AM6, AM7 Indigenous bacteria from *Apis mellifera* bee hives. AM1 and AM4 isolates were similar to the Enterobacter genus, AM2 isolates to Corynebacterium genus, AM3 and AM6 isolates to Paracoccus genus, and AM5 and AM7 isolates to Azotobacter Sp. The seven isolates of Indigenous bacteria have potential as antibacterial and the diameter of the inhibition zone against *E. coli* bacteria is AM1 (8.88 mm), AM2 (8.65 mm), AM3 (8.03 mm), AM4 (6.41 mm), AM5 (9.07 mm), AM6 (9.53 mm) and AM7 (9.44 mm) while against *S. aureus* AM1 (9.08 mm), AM2 (9.23 mm), AM3 (9.15 mm), AM4 (8.70 mm), AM5 (10.44 mm), AM6 (11.56 mm) and AM7 (9.0 mm).

**Keywords:** *Apis Mellifera*; *Indigenous* bacteria; honeycomb; secondary metabolites.

### Pendahuluan

*Apis mellifera* adalah jenis lebah madu ternak monoflora atau madu yang berasal dari satu jenis tanaman (Soares *et al.*, 2018). Sarang lebah adalah tempat perlindungan bagi koloni lebah dari serangan bakteri, jamur, virus maupun predator, serta sebagai tempat produksi madu, *bee pollen* tempat tumbuh kembang telur lebah (Semuel *et al* 2019). Sarang lebah dapat dijadikan sebagai sumber antibakteri, hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid pada sarang lebah. Flavonoid tersebut berfungsi sebagai pelindung penentu kualitas madu.

Senyawa yang terkandung dalam sarang lebah yang berpotensi sebagai antimikroba alami dapat digunakan sebagai bahan pengobatan alternatif alami. Kandungan senyawa flavonoid, asam fenolat tanin yang terdapat dalam sarang

lebah dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif Seperti *S. aureus* maupun bakteri gram negatif seperti *E. coli* (Yuliana *et al.*, 2015). Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat membunuh bakteri patogen (Paju *et al.* 2013).

Antibakteri dapat dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik yang menekan pertumbuhan bakteri dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri (Hidayat, 2016). Genus mikroba *Indigenous* sebagian ditemukan dapat memproduksi senyawa metabolite sekunder seperti senyawa antibakteri. Isolate dari limbah cair sagu yang memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *E.coli* dan *S.aureus* (Pauline, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi dari sarang lebah *Apis mellifera* dan menguji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia*

*coli*. Selain itu, untuk mengetahui apakah ada potensi antibakteri bakteri *Indigenous* dari sarang *Apis mellifera* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## Bahan dan Metode

### Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumian, Universitas Negeri Manado. Waktu penelitian berlangsung pada tanggal 17 Maret 2022 hingga 27 Agustus 2022.

### Alat dan bahan

Penelitian dilakukan dengan menggunakan alat yang terdiri dari pisau, mikroskop (euromex), autoklaf (gea), botol, lemari es, mikropipet (accubioptech), kaca objek, inkubator ahaker, timbangan analitik (fujitsu), gunting, bunsen, ose, gelas ukur, beaker glass botol pengenceran, cawan petri(pyrex), inkubator (memmert), labu erlenmeyer (pyrex), gelas kimia, gelas ukur(pyrex), pipet tetes (brand), jarum ose (mico), lampu spiritus, tabung reaksi (pyrex), rak tabung, batang 1 (drygalski), laminar air flow (b-one), korek api, oven(memmert), dan kamera untuk dokumentasi.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hidrogen peroksida 3%, NaCl 0,85%, bakteri uji dari kultur Murni bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*, media Nutrient Agar (NA), bacto agar, alkohol 70%, alkohol 96%, aquades, sarang lebah *Apis mellifera* dari Desa Silo Baru, Kecamatan Silau Laut, Kabupaten Asahan, Provinsi Sumatera Utara. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif untuk menguji aktivitas bakteri *Indigenous* yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Selanjutnya, data hasil penelitian diperoleh melalui eksperimen laboratorium.

### Isolasi bakteri indigenous

Isolat diperoleh dari sarang lebah *Apis mellifera* dari Desa Silo Baru, Kecamatan Silau Laut, Kabupaten Asahan, Provinsi Sumatera Utara, sebanyak 1 gram sarang lebah diambil. Kemudian ditambahkan ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis (NaCl 0.9 %). Isolat diinkubasi

selama 24 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya dibuat seri pengenceran 10-1 s.d 10-7 lalu diinokulasikan pada media Nutrient Brooth (NB), Media Nutrient Agar (NA), dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

### Identifikasi bentuk koloni isolat bakteri indigenous

Koloni bakteri indigenous satu-persatu diidentifikasi secara kasat mata. Kegiatan identifikasi ini dilakukan untuk melihat bentuk, warna, bentuk tepian, permukaan, elevansi, dan tekstur dari koloni bakteri indigenous (Siregar et al., 2008).

### Karakterisasi morfologi sel isolat bakteri indigenous

Bagian isolat bakteri diusapkan pada kaca objek, kemudian difiksasi di atas api bunsen. Selanjutnya, meneteskan larutan kristal violet selama 1 menit dan dicuci menggunakan air steril. Kemudian, meneteskan iodine dan mendiamkan selama 1 menit. Isolat dicuci menggunakan alkohol 96% selama 5 detik dan dicuci lagi menggunakan air steril. Selanjutnya, meneteskan safranin dan mendiamkan selama 1 menit, setelah itu mencuci dengan air steril. Kemudian, membersihkan sekeliling isolate bakteri dengan menggunakan tissue. Hasil isolat bakteri diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x untuk mengetahui bentuk sel, susunan sel, warna bakteri. Karakterisasi mikroskopis terdiri dari bentuk sel koloni dan pigmentasi koloni (Cowan, 2008). Sementara itu, melakukan uji biokima sel menggunakan uji katalase, uji sitrat, uji gelatin, uji pati dan uji hidrogen sulfida.

## Hasil dan Pembahasan

### Hasil penelitian

#### Hasil isolasi bakteri indigenous

Bakteri indigenous berhasil diisolasi dari sarang lebah *A.mellifera* yang masih segar disajikan pada gambar 1. Hasil isolasi sampel sarang lebah *A.mellifera* yang telah diecerkan dengan metode pengenceran menggunakan larutan garam fisiologis (NaCl 0.8 %) (Gambar 2). Kemudian, dibuat seri pengenceran 10-1 hingga 10-7 dan diinokulasikan pada media Nutrient Agar (NA) (Gambar 3). Selanjutnya, diinkubasi didalam inkubator dengan suhu 30°C

yang memakan waktu 1 hari. Koloni yang tumbuh selanjutnya dipisahkan berdasarkan morfologi koloninya.

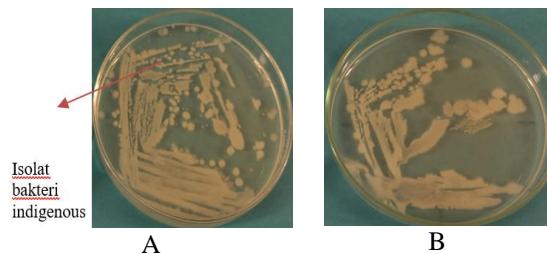


Gambar 1. Sarang lebah *Apis mellifera* dari Asahan Sumatera Utara (Dokumentasi Peneliti 18 April 2022)



Gambar 2. Koloni isolat bakteri indigenous pengenceran  $10^{-2}$  hingga pengenceran  $10^{-7}$

Bakteri indigenous yang telah diinokulasi tumbuh pada media NA (Gambar 3). Hasil inkoluasi diperoleh pada pengenceran ke  $10^{-6}$  terdapat 3 isolat bakteri indigenous dan pengenceran  $10^{-7}$  terdapat 4 isolat bakteri indigenous.



Gambar 3. Koloni isolat bakteri indigenous gambar

Tabel 1. Hasil morfologi koloni bakteri indigenous *Apis mellifera*

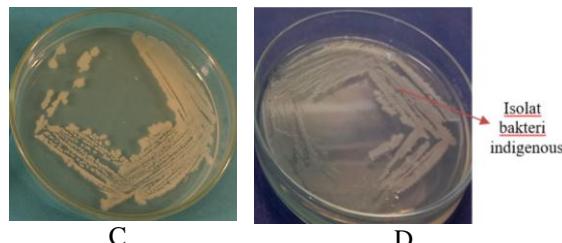
Kode koloni	Morfologi					
	Warna	Bentuk	Tepian	Permukaan	Tekstur	
AM 1	Putih Susu	Bulat	Utuh	Timbul	Glossy	
AM 2	Putih Susu	Bulat	Utuh	Timbul	Glossy	
AM 3	Putih	Bulat	Utuh	Timbul	Glossy	
AM 4	Putih	Bulat	Utuh	Timbul	Dull	
AM 5	Putih Susu	Bulat	Berombak	Rata	Glossy	
AM 6	Putih	Bulat	Utuh	Timbul	Dull	
AM 7	Putih Susu	Punctiform			Glossy	

Keterangan: AM : *Apis mellifera*, Punctiform : Titik, Glossy : Mengkilat, Dull : Kusam

#### Identifikasi fisiologi sel dan biokimia isolat bakteri indigenous

A pengenceran  $10^{-6}$  dan gambar B pengenceran  $10^{-7}$

Isolat bakteri indigenous juga dimurnikan dengan 2 kali pemurnian. Hasil pemurnian ditemukan bakteri indigenous pada pengenceran  $10^{-6}$  dan  $10^{-7}$ . Hasil isolat bakteri indigenous yang telah dimurnikan dengan 2 kali pemurnian disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Koloni isolat bakteri indigenous pada sarang lebah *Apis mellifera* gambar C pengenceran  $10^{-6}$  dan gambar D Pengenceran  $10^{-7}$

#### Identifikasi morfologi koloni bakteri indigenous

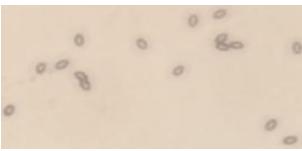
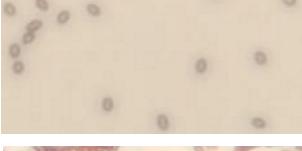
Koloni bakteri kemudian diidentifikasi untuk melihat bentuk dan elevansinya. Hasil identifikasi koloni bakteri indigenous disajikan pada tabel 1. Koloni yang sudah diinkubasi selama 1 hari pada cawan petri diperoleh dua warna yaitu putih susu dan putih. Rata-rata bentuk koloni bakteri indigenous yaitu bulat dan untuk AM 7 berbentuk *punctiform* (titik). Koloni bakteri rata-rata memiliki bentuk tepian yang utuh sedangkan AM 6 berombak. Selanjutnya, rata-rata permukaan koloni bakteri timbul sedangkan AM 6 memiliki permukaan yang rata. Sementara itu, untuk tekstur koloni bakteri yang ditemukan hanya dua yaitu *glossy* (mengkilat) dan *dull* (kusam).

Isolat bakteri indigenous yang sudah dikarakterisasi morfologinya selanjutnya

dikarakterisasi secara biokimia. Bakteri indigenous dilakukan pengujian potensinya dalam memfermentasikan katalase, pati, hydrogen sulfida, sitrat, hingga gelatin. Setelah itu, dilakukan karakterisasi pewarnaan gram isolat bakteri indigenous. Bakteri gram positif dapat diketahui jika bakteri dapat mempertahankan kristal violet setelah diberikan

safranin. Sementara itu, bakteri gram negatif dapat diketahui jika bakteri tidak mampu mempertahankan warna utamanya saat dicuci menggunakan alkohol dan menampakkan warna kemerahan setelah diberikan safranin. Hasil identifikasi bakteri indigenous diperoleh 6 bakteri gram negatif dan 1 bakteri gram positif (Tabel 2).

**Tabel 2.** Hasil identifikasi bakteri indigenous gram positif dan gram negatif

Kode koloni	Gambar Isolat	Hasil Pewarnaan Gram
AM 1		Negatif
AM 2		Positif
AM 3		Negatif
AM 4		Negatif
AM 5		Negatif
AM 6		Negatif
AM 7		Negatif

Hasil karakterisasi bakteri indigenous secara biokimia ditemukan empat spesies yaitu *Enterobacter*, *Corynebacterium*, *Paracoccus*, dan *Azotobacter* sp (Tabel 3). Hasil pengujian potensi menemukan bahwa bakteri *Enterobacter* mampu memproduksi enzim amilase. Kemudian,

bakteri *Paracoccus* mampu memproduksi enzim katalase dan *Azotobacter* sp mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya energi karbon. Sementara itu, bakteri *Corynebacterium* memperlihatkan adanya pengerakan motil.

**Tabel 3.** Dugaan genus bakteri indigenous

No	Dugaan Genus	Kode Isolat	Dugaan Genus Memperlihatkan	Referensi
1	<i>Enterobacter</i>	AM1 dan AM4	Mampu memproduksi enzim amilase	bakteri hasil isolasi dari tanaman jeruk nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) penghasil asam indol asetat (AIA) (Oktira, 2020).
2	<i>Corynebacterium</i>	AM2	Adanya pergerakan motil	Potensi antagonis bakteri toleran salin terhadap ralstonia solanacearum secara in vitro dan pengaruhnya terhadap perkembangan benih tomat dibawah cekaman salin (Arlita, 2012).
3	<i>Paracoccus</i>	AM3 dan AM6	Mampu memproduksi enzim katalase	Identifikasi pigmen karotenoid pada bakteri Simbion rumput laut <i>Caulerpa cupressoides</i> (Vahl) C. (Arlita, 2012)
4	<i>Azotobacter</i> sp.	AM5 dan AM7	Mampu menggunakan sitrat sebagai sumber energi dan karbon	Isolasi dan karakterisasi bakteri hasil isolasi dari batang dan akar tanaman mimba (Hala,2021).

**Pengujian bakteri indigenous yang berpotensi antibakteri**

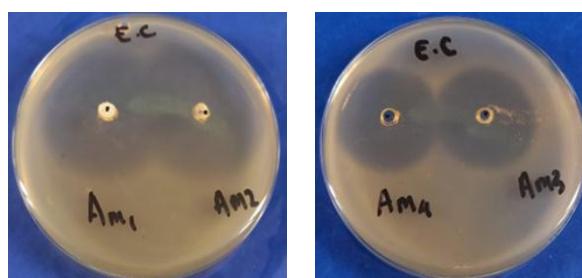
Pengujian bakteri indigenous yang memiliki potensi kandungan antibakteri memperlihatkan tujuh isolat bakteri indigenous yang memiliki antibakteri terhadap *S. aureus* dan

*E. Coli*. Isolat bakteri indigenous yang memiliki kandungan antibakteri tersebut terdiri dari isolat AM1, AM2, AM3, AM4, AM5, AM6, dan AM7. Hasil pengukuran zona hambat isolat bakteri disajikan pada tabel 4.

**Tabel 4.** Diameter zona hambat isolat bakteri indigenous terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (mm)

Isolat bakteri indigenous	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
AM 1	8, 88	9,08
AM 2	8,65	9,23
AM 3	8,03	9,15
AM 4	6,41	8,70
AM 5	9,07	11,56
AM 6	9,53	10,44
AM 7	9,44	9,0

Keterangan : AM = *Apis Mellifera*



**Gambar 5.** Diameter zona hambat bakteri indigenous terhadap *Escherichia coli*



Gambar 6. Zona hambat bakteri indigenous terhadap *Staphylococcus aureus*

## Pembahasan

Bakteri *indigenous* adalah bakteri yang dapat memproduksi senyawa metabolite yang berperan sebagai antibakteri. Aktivitas hambatan oleh zat antibakteri diperlihatkan dengan terdapatnya zona bening disekitar lubang sumuran. Sebagian faktor yang memengaruhi hasil pengujian aktivitas antibakteri yaitu volume suspense mikroba uji, volume isolate bakteri *indigenous* serta homogenisasi dan suspense bakteri uji ataupun isolate bakteri *indigenous*. Menurut Bhore dan Sathisha (2010), banyak ragamnya mikroba *indigenous* didalam sebuah sarang lebah dipengaruhikan dari perkembangan sarang lebahnya. Pada beberapa kasus sarang lebahnya dengan spesiesnya yang sejenis mempunyai mikroba *indigenous* berbeda.

Hasil observasi mikroskopisnya bila isolat AM1, AM2, AM4, AM5 dan AM7 memiliki sel yang berbentuk batang (basil) sedangkan isolate AM3 dan AM6 memiliki sel berbentuk bulat (kokus) (Gambar 2). Bila diobservasi disusunan selnya bila isolate AM1 dan AM2 selnya tersusun dengan Tunggal (tersusun sendiri-sendiri) sedangkan isolate AM3, AM6 dan AM7 selnya berpasangan. Pengamatan terhadap morfologi koloni tak cukup dalam melakukan identifikasi ketujuh isolate bakteri indigenous oleh karena itu diperlukan karakterisasi lanjutan bagi mengetahuinya aktifitas metabolisme yang dikarenakan cara kerjanya enzim daripada ketujuh isolate mikroba indigenous. Karakterisasinya biokimia dilaksanakan melakukan pengujian katalase, hidrolisis pati, hydrogen sulfida, sitrate, dan hidrolisa gelatin.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua isolate AM1, AM2, AM3, AM4, AM5, AM6 dan AM7 terdapat keaktifannya motile ditandaikan munculnya rambatannya disekitar bekas tusukannya jarum dimedium. Bila terindikasikan hasilnya positive ditandaikan adanya keaktifan motile daripada mikroba dengan

menjadikan medium SIM timbul bekas tusukan jarum ose (Cappuccino dan Sherman,2005).

Berdasarkan pada hasil pengamatan didapati bahwa isolate AM1 lemahnya didalam memakaikan sitrate menjadi sumbernya carbone yang tungal lantaran tidak adanya perubahan warna pada medium menjadi biru sedangkan pada isolate AM2, AM3, AM4, AM5, AM6 dan AM7 dapat didalam memanfaatkan sitrate menjadi sumbernya karbon yang tungal lantaran didapati adanya perubahan warna pada medium yang berawal dari warna hijau menjadi biru.

Uji gelatinase dilaksanakan untuk menentukan apakah isolate mikroba dapat memproduksikan enzimnya gelatinase bisa menghidrolisis proteinnya menjadikan asam amiino. Dari hasil tiap tahapan identifikasi selanjutnya ketujuh isolate kemudian dicocokan menurut buku Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology (2005) dimana hasil dari tahapan yaitu isolat AM1 dan AM4 memiliki kemiripan dengan genus *Enterobacter*, isolat AM2 mempunyai kesamaan *Corynebacterium*, sedangkan isolate AM3 dan AM6 mempunyai kesamaan dengan genus *Paracoccus* dan isolate AM5 dan AM7 ada kemiripan dengan genus *Azotobacter Sp*. Setelah tahapan identifikasi kemudian dilanjutkan dengan tahapan berikutnya yaitu pengujian antibakteri.

Adanya zona hambat memperlihatkan jika isolat hambat yang berbeda-beda (Tabel 4). Hasil penelitian menemukan tujuh isolate bakteri indigenous memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan juga *Staphylococcus aureus*. Isolate bakteri *indigenous* memiliki hasil zona hambat terhadap *E.coli* yaitu AM1(8,88 mm), AM2(8,65 mm), AM3 (8,03 mm), AM4 (6,41 mm), AM5 (9,07 mm), AM6 (9,53 mm), dan AM7 (9,44 mm) (Tabel 4). Kemudian, pada pengujian *S.aureus* didapatkan hasil zona hambat isolate AM1 (9,08 mm), AM2(9,23 mm), AM3 (9,15 mm), AM4 (08,70 mm), AM5 (11,56 mm), AM6 (10,44 mm), dan AM7 (9,0 mm).

Isolate bakteri *indigenous* bisa memperhambat perkembangan *S.aureus* terlebih besarnya dibanding dengan *E.coli*. Isolate bakteri *indigenous* mempunyai zona hambat yang lebih besar disbanding *E.coli* dikarenakan terdapatnya perbedan susunan peptidoglikan mikroba tersebut. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan (Yuliana, 2015) mengatakan bila didalam sarangnya lebah memiliki kandungannya zat kimia seperti asam fenollat, flavonoid serta taninnya.

Hasilnya pengujian isolate bakteri *indigenous* yang berpotensi sebagai antibakteri zona hambat yang telah diperoleh bahwa terdapat isolate yang memiliki zona hambat terbaik dibanding dari enam isolate bakteri *indigenous* lainnya yaitu isolate AM 6 yang memiliki zona hambat sebesar 9,53 mm terhadap *E.coli* sedangkan pada pengujian *S.aureus* terdapat isolate AM5 yang memiliki zona hambat terbesar dibanding isolate bakteri *indigenous* lainnya yaitu sebesar 11,56 mm. Terdapatnya proses hambat terjadi dikarenakan akumulasi metabolite primernya berbentuk karbodioksida dan juga etanol atau bisa terjadi karena metabolite sekundernya yang berbentuk zat hydrogen peroksida.

Terbentuknya zona hambat dikarenakan adanya aktivitas senyawa-senyawa antimikroba yang memiliki sifat bakterisidal berbentuk asam-asam organik (Rachmawati, 2009). Asam organic inilah yang mengakibatkan sitoplasma pada sel mikroba pathogen berubah jadi asam serta memperhambat potensi daripada transmembrane serta transport substratnya. Bila dilihat daripada besarnya zona hambat pada mikroba pathogen baik gram positif ataupun negatif kesebelas isolat bakteri *indigenous* memenuhi kriteria sebagai *indigenous*. Pada pengujian aktivitas antibakteri ini tiap-tiap cawan petri dilakukan dengan perlakuan yang sama. Namun bisa terjadi beberapa bagian yang tak teliti disaat mengambil suspensi mikroba uji dan isolate bakteri *indigenous* sehingga volume suspensi bakteri tersebut tak sesuai dengan takaran volume yang ditentukan. Selain itu juga disaat proses homogenisasi, kurang homogen sehingga bisa mempengaruhi hasil uji pengujian aktivitas antibakteri.

Adanya hal yang berbeda dengan penelitian ini dengan penelitian disebelumnya, contohnya penelitian yang telah dilaksanakan oleh Azizah (2013) Kami memperoleh 10 isolat bakteri alami potensial dengan beberapa isolat yang mengandung potensi proteolitik, hidrolitik

dan sitolitik dan kurang memiliki kemampuan menghidrolisis lemaknya serta alkoholnya. Dan penelitian Ruzanna (2011) memperoleh 1 isolat yang berpotensi memperhambat perkembangan *S.aureus* serta *E. coli* tetapi mikroba *L. monocytogenes* tak bisa dihambat.

## Kesimpulan

Penelitian tentang isolasi, identifikasi dan uji antibakteri bakteri *indigenous* dari sarang lebah *Apis mellifera* di Sumatera Utara menemukan 4 genus yang sesuai dengan isolat bakteri indogenus. Genus tersebut terdiri dari *Enterobacter* (AM1 dan AM4), *Corynebacterium* (AM2), *Paracoccus* (AM3 dan AM6), dan *Azotobacter* sp (AM5 dan AM7). Ketujuh isolat bakteri *indigenous* memiliki potensi sebagai antibakteri, dan diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli* yaitu isolat AM1 (8,88 mm), AM2 (8,65 mm), AM3 (8,03 mm), AM4 (6,41 mm), AM5 (9,07 mm), AM6 (9,53 mm) dan AM7 (9,44 mm). Sementara itu, bakteri *S. aureus* AM1 (9,08 mm), AM2 (9,23mm), AM3 (9,15 mm), AM4 (8,70 mm), AM5 (10,44 mm), AM6 (11,56 mm) dan AM7 (9,0 mm).

## Ucapan Terimakasih

Peneliti memberikan ucapan terimakasih kepada Dr. Yermia S. Mokosuli, dan Dr. Helen yang sudah banyak sekali membagikan saran dan bantuan disaat penelitian berjalan serta disaat prosesnya penulisan artikel ini.

## Referensi

- Aji, O. R., & Lestari, I. D. (2020). Bakteri Endofit Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Penghasil Asam Indol Asetat (AIA). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 13(2), 179-191. DOI: <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v13i2.13044>
- Arlita, N. R., Radjasa, O. K., & Santoso, A. (2013). Identifikasi Pigmen Karotenoid Pada Bakteri Simbion Rumput Laut *Caulerpa cupressoides* (Vahl) C. Agardh. *Journal of Marine Research*, 2(3), 68-77. DOI: <https://doi.org/10.14710/jmr.v2i3.3134>

- Bergey's. (2005). *Manual of Systematic Bacteriology*. Departement of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University
- Cappuccino, J. G. & Sherman, N. (2005). *Microbiology: A Laboratory Manual*. New York: The Benjamin Cummings Publishing Company. Inc.
- Cowan, S. T. (2008). *Cowan And Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University press.
- Hala, Y., & Arifin, A. N. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Batang dan Akar Tanaman Mimba. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 7(2), 67-76. DOI: <https://doi.org/10.26858/ijfs.v7i2.26152>
- Hidayat, M., Prahastuti, S., Chikita, V., Safitri, D., Rahmawati, S. F., & Soemardji, A. A. (2016). Subchronic Treatment of Combination Extract Detam 1 Soybean and Jati Belanda Leaves has No Toxic Effect on Function, Weight, and Histopathological of Wistar Rat Kidney. *Journal of Medicine & Health*, 1(4), 341-350. DOI: <https://doi.org/10.28932/jmh.v1i4.530>
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. (2004). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kasi, P. D., Ariandi, A., & Mutmainnah, H. (2017). Uji antibakteri isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah cair sagu terhadap bakteri patogen. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 5(3), 97-101. DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2017.005.03.7>
- Paju, N., Yamlean, P. V., & Kojong, N. (2013). Uji efektivitas salep ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) pada kelinci (Oryctolagus cuniculus) yang terinfeksi bakteri Staphylococcus aureus. *Pharmacon*, 2(1): 51-61. DOI: <https://doi.org/10.35799/pha.2.2013.885>
- Rachmawati, D. (2009). *Mikroba Endofit Solusi Bahan Baku Obat Yang Murah Dan Ramah Lingkungan*. Siaran pers. Deputi direktur kantor komunikasi UI.
- Semuel, M. Y., Kaunang, E. S. N., & Manopo, J. S. (2019). The bioactive contents and antioxidant activity of honey bee nest extract of Apis dorsata Binghami from the North Sulawesi. *Molekul*, 14(2), 92-102. DOI: <http://dx.doi.org/10.20884/1.jm.2019.14.2.502>
- Shore, S. J., & Sathisha, G. (2010). Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(4), 345-352. URL: [http://www.idosi.org/wjas/wjas6\(4\)/2.pdf](http://www.idosi.org/wjas/wjas6(4)/2.pdf)
- Siregar. (2008). Uji Antimikroba Ekstrak Segar Jahe-Jahean (Zingiberaceae) Terhadap S.aureus, E.coli dan Candida albicans. *Jurnal Biologi Universitas Andalas* ISSN : 2303-2162.
- Soares, S., Grazina, L., Mafra, I., Costa, J., Pinto, M. A., Duc, H. P., ... & Amaral, J. S. (2018). Novel diagnostic tools for Asian (Apis cerana) and European (Apis mellifera) honey authentication. *Food Research International*, 105(6), 686-693. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.081>
- Suhastyo, A. A., Anas, I., Santosa, D. A., & Lestari, Y. (2013). Studi mikrobiologi dan sifat kimia mikroorganisme lokal (MOL) yang digunakan pada budidaya padi metode SRI (System of Rice Intensification). *Sainteks*, 10(2), 29-39. DOI: 10.30595/sainteks.v10i2.148.
- Yuliana, R., SUTARININGSIH, E., SANTOSO, H. B., & RIENDRASARI, S. D. (2015). Daya Antimikroba Sarang Lebah Madu Trigona spp terhadap Mikrobia Patogen. *Bioedukasi: Jurnal Pendidikan Biologi*, 8(1), 67-72. DOI: <https://doi.org/10.20961/bioedukasiuns.v8i1.3546>