

**POTENSI SENYAWA ANTIOKSIDAN YANG DIHASILKAN BAKTERI  
ENDOFIT PADA DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.)**

**THE POTENCY OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS PRODUCED BY  
ENDHOPHYTES BACTERIA ON GUAJAVA LEAVE (*Psidium guajava* L.)**

**Rizka Dwi Widya Putri and Nuniek Herdyastuti\***

*Departement of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences  
Universitas Negeri Surabaya*

*Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761*

*\*Corresponding author, email: nuniekherdyastuti@unesa.ac.id*

**Abstrak.** Bakteri endofit memiliki kemampuan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam bakteri endofit. Beberapa senyawa metabolit yang dihasilkan bakteri endofit berfungsi sebagai agen biokontrol tanaman, antibakteri, antijamur, antidiabetes, antiinflamasi, dan antioksidan. Telah dilakukan isolasi bakteri endofit dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang diduga dapat menghasilkan antioksidan. Isolasi bakteri menggunakan metode sterilisasi permukaan (surface sterilization) dengan perendaman menggunakan NaOCl dan alkohol. Isolat bakteri endofit diperoleh sebanyak dua, yaitu isolat bakteri endofit A dan B yang memiliki morfologi koloni yang berbeda, yaitu morfologi koloni isolat bakteri endofit A berbentuk tidak teratur, tepian utuh, permukaan rata, dan berwarna putih hampir bening, sedangkan isolat bakteri endofit B berbentuk tidak teratur, tepian keriting, permukaan rata, dan berwarna keputih-putihan. Hasil uji metabolit sekunder menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit A dan B memiliki kandungan flavanoid dan fenolik. Uji antioksidan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda$  516 nm menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif. Berdasarkan hasil uji diperoleh nilai ( $IC_{50}$ ) isolat bakteri endofit A pada fraksi metanol yaitu 201,8010 ppm dan pada fraksi etil asetat 232,9740 ppm. Nilai ( $IC_{50}$ ) isolat bakteri endofit B pada fraksi metanol yaitu 146,9645 ppm dan pada fraksi etil asetat 189,8048 ppm. Aktivitas antioksidan tertinggi dimiliki oleh isolat bakteri endofit B pada fraksi metanol dan diklasifikasikan sebagai antioksidan sedang.

**Kata Kunci:** Bakteri endofit, antioksidan, daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

**Abstract.** Endophytic bacteria have the ability to produce secondary metabolites which are thought to be a result of genetic transfer from host plant into endophytic bacteria. Several secondary metabolites that can be produced by endophytic bacteria used to biocontrol agent, antibacterial, antifungal, antidiabetic, anti-inflammatory, and antioxidant. This research has been done about isolation of Endophytic Bacteria on Guajava Leaf (*Psidium guajava* L) which are thought to produce antioxidant. Bacteria isolation using the surface sterilization method by siaking using NaOCl and alcohol. Two bacteria were obtained, namely endophytic bacterial isolates A and endophytic bacterial isolates B which had different colony morphology, morphology of bacterial isolate A is irregular shaped, entire edge, flat surface, and almost translucent white, whereas bacterial endophytic bacterial isolates B is irregular shaped, undulate edge, flat surface, and whitish. Secondary metabolites test results showed that endophytic bacterial isolates A and B contained flavonoids and phenolics. Antioxidant test using using DPPH radical scavenging method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) using Spectrophotometer UV-Vis at  $\lambda$  516 nm used ascorbat acid as positive control. Based on the test results obtained ( $IC_{50}$ ) value of endophytic bacterial isolates A in the methanol fraction is 201,8010 ppm and in the ethyl acetate fraction 232,9740 ppm. The value ( $IC_{50}$ ) of endophytic bacteria isolates B in the methanol fraction was 146,9645 ppm and in the ethyl acetate fraction 189,8048 ppm. The highest antioxidant activity is possessed by endophytic bacterial isolates B in the methanol fraction and is classified as a moderate antioxidant.

**Key words:** Endophytic bacteria, antioxidants, leaves of guajava (*Psidium guajava* L.)

## PENDAHULUAN

Saat ini sedang berkembang usaha memanfaatkan bakteri endofit sebagai penghasil senyawa bioaktif. Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup berkoloni di dalam jaringan tanaman (akar, batang, daun, buah, bunga, dan biji) dengan memanfaatkan nutrisi hasil metabolisme tanaman inang. Lebih dari satu jenis bakteri endofit dapat diisolasi dari satu tanaman inang, dan berpotensi memproduksi satu atau lebih senyawa bioaktif, bahkan lebih besar aktivitasnya dibandingkan dengan tanaman inang [17]. Bakteri endofit dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder yang serupa dengan tanaman inang diduga akibat koevolusi dan transfer genetik dari tanaman inang ke dalam bakteri [20].

Antioksidan dapat dihasilkan dari bakteri endofit yang bersimbiosis pada tumbuhan yang juga memiliki aktivitas antioksidan. Peneliti sebelumnya telah berhasil mengisolasi bakteri endofit dari tanaman inangnya. Bakteri endofit daun sirsak (*Annona muricata*) telah diisolasi dan hasil produksi dari bakteri endofit memiliki kandungan alkaloid dan terpenoid, serta memiliki aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) 278,2700 ppm [15]. Hasil produksi isolate bakteri endofit yang bersimbiosis dengan tanaman akar kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) 315,3960 ppm [10].

Manfaat penggunaan bakteri endofit sebagai sumber senyawa bioaktif, yaitu lebih efisien karena dapat mengurangi pengambilan metabolit sekunder secara langsung pada tanaman yang membutuhkan biomassa jumlah yang sangat banyak, pembiakan bakteri endofit dapat dilakukan dalam jumlah besar tanpa memerlukan lahan yang luas, siklus hidup bakteri lebih singkat daripada tumbuhan inangnya.

Daun jambu biji mengandung metabolit sekunder saponin, fenol, tanin, terpenoid dan glikosida [2]. Kandungan kuersetin yang tinggi yaitu sebesar 61,71% berpotensi sebagai antioksidan [9]. Aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) daun jambu biji dalam menangkal radikal bebas dalam beberapa pelarut tergolong kuat, pada ekstrak etanol memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 42,06  $\mu\text{g/mL}$  [1], ekstrak metanol memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 42,33 (mg/g) [22].

Kemampuan aktivitas antioksidan yang kuat pada tumbuhan inang diharapkan dapat terjadi juga pada bakteri endofit yang bersimbiosis dengannya.

Pada penelitian ini, dilakukan isolasi bakteri endofit pada daun jambu biji, pengamatan morfologi isolat bakteri, penapisan kandungan metabolit sekunder hasil produksi isolat bakteri, serta pengukuran aktivitas antioksidan hasil produksi isolat bakteri.

## METODE PENELITIAN

### Alat

*Laminar air flow*, *Autoclav*, *incubator*, corong kaca (pyrex), spatula, tabung vial, pipet *micro*, pro pipet, sentrifus (Appendorf 5810R), mikroskop (Olympus CH20BIMF 200), *vacum rotary evaporator* (Buchi R-210/215), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800).

### Bahan

Daun jambu biji dari kebun jambu di Desa Kebaron, Kecamatan Tulangan, Kabupaten Sidoarjo, NA (*Merck*), NB (*Merck*), etanol 96 %, natrium hipoklorit 5,25%, pewarna kristal ungu, larutan lugol, larutan safranin, kertas saring steril, metanol p.a (*Merck*) dan metanol (80%), pita Magnesium, HCl pekat, larutan  $\text{FeCl}_3$  1%, 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) (Aldrich), asam askorbat, dan etil asetat.

## PROSEDUR PENELITIAN

### Isolasi Bakteri Endofit

Sampel daun dibersihkan dengan air mengalir selama 10 menit, dan dibilas dengan aquades steril dan dikeringkan. Sampel disterilisasi permukaannya dengan direndam dalam alkohol 75% selama 1 menit, Natrium Hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ) 5,25% selama 5 menit dan alkohol 75% selama 30 detik [11]. Daun dibilas 2 kali dengan aquades steril dan bilasan terakhir digunakan sebagai kontrol. Sampel dipotong  $\pm 1$  cm dan diberi goresan atau luka dan ditumbuhkan dalam media cair NB pada suhu ruang selama 2 hari, kemudian dilakukan pengenceran hingga  $10^{-6}$  pada pengenceran  $10^{-4}$ - $10^{-6}$  ditanam pada media NA dengan metode *spread plate* dan dinkubasi selama 2-4 hari pada suhu ruang. Biakan

campuran disubkultur pada media NA *plate* baru pada suhu ruang selama 24-48 jam, sampai diperoleh koloni murni. Karakterisasi bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan gram.

### Kultivasi Bakteri Endofit

Sebanyak 1 ose isolat bakteri diinokulasikan dalam 100 mL medium cair NB dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 120 rpm [14]. Suspensi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C [19]. Supernatan dimaserasi dalam metanol (1:2) selama 24 jam. Ekstrak metanol disaring dan dipekatkan, kemudian difraksinasi dengan etil asetat dan dipekatkan kembali menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C.

### Uji Fitokimia

Pengujian flavonoid direaksikan dengan pita Mg dan HCl pekat sedangkan uji fenolik direaksikan dengan FeCl<sub>3</sub> 1% [8].

### Penentuan Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 300 µL larutan uji dengan berbagai konsentrasi masing-masing direaksikan dengan 3 mL larutan DPPH 0,004% kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang (di ruang gelap) selama 30 menit. Sampel ditentukan absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Persen inhibisi ditentukan dengan persamaan: Kemampuan meredam radikal DPPH (% Inhibisi) =

$$\frac{(\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel})}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Kurva regresi linear dibuat antara konsentrasi (ppm) vs %inhibisi untuk memperoleh persamaan regresinya yang selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Jambu Biji

Daun jambu biji diperoleh dari kebun jambu di desa Kebaron, kecamatan Tulangan, kabupaten Sidoarjo seperti pada Gambar 1.

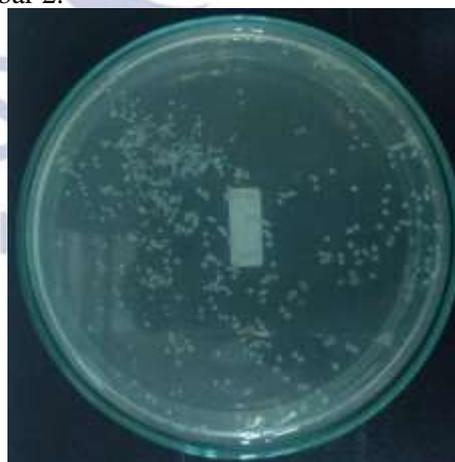


**Gambar 1.** Daun Jambu Biji (dokumentasi pribadi)

Tahap awal dilakukan sterilisasi permukaan daun dengan menggunakan natrium hipoklorit dan alkohol untuk menghilangkan mikroorganisme epifit yang berada di permukaan tumbuhan. Natrium hipoklorit dapat mematikan spora yang ber dinding tebal seperti pada beberapa kapang kontaminan. Konsentrasi kecil NaOCl sudah cukup untuk mengurangi sporulasi mikroba secara bermakna.

Pertumbuhan bakteri berjalan lebih cepat pada medium cair dibandingkan pada media padat. Medium cair lebih homogen sehingga bakteri dapat menyerap dan melakukan kontak langsung dengan [5].

Bakteri selanjutnya ditumbuhkan pada NA padat menggunakan metode *spread plate*. Koloni bakteri yang tumbuh pada medium NA tersebut masih merupakan biakan campuran Gambar 2.



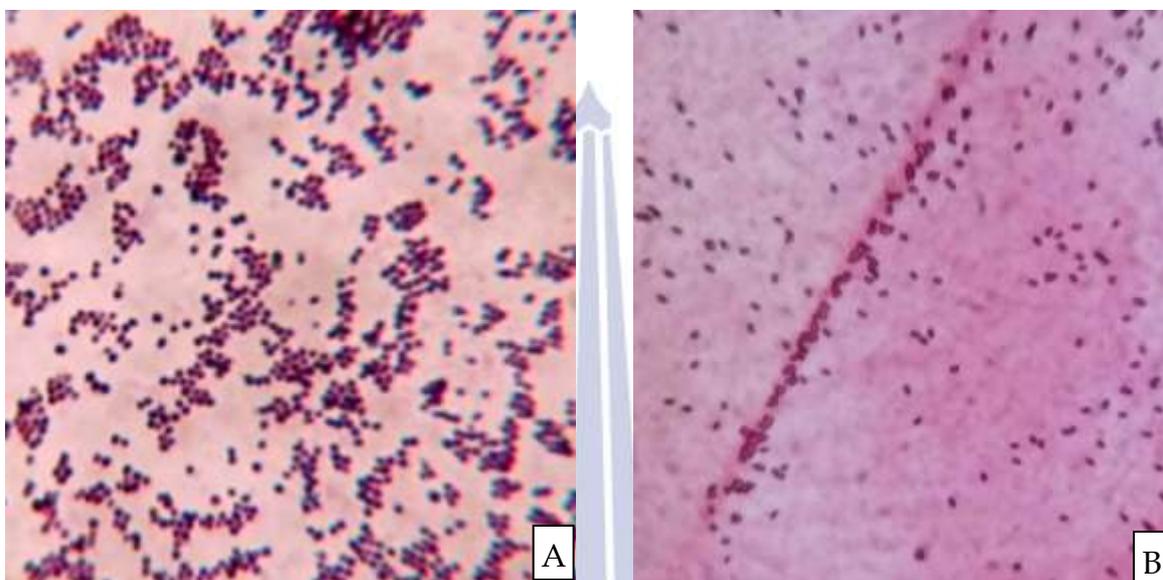
**Gambar 2.** Biakan Campuran pada Pengenceran 10<sup>-6</sup>.

### Identifikasi Bakteri Endofit

Biakan campuran (Gambar 2) dimurnikan pada media NA baru untuk mendapatkan

koloni yang terpisah. Pada isolat campuran tersebut diperoleh 2 jenis koloni bakteri endofit yang berbeda yang selanjutnya disebut sebagai isolat A dan B. Berdasarkan morfologi koloni isolat bakteri yang diamati menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit A tersebut berbentuk tidak teratur (*irregular*) dengan tepian utuh (*entire*), memiliki permukaan yang rata (*flat*), dan berwarna

putih hampir bening, sedangkan isolat bakteri B berbentuk tidak teratur (*irregular*) dengan tepian keriting (*undulate*), memiliki permukaan yang rata (*flat*), dan berwarna keputih-putihan. Hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa isolat bakteri A dan B merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk *monococcus* yang ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** (a) Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri A; (b) Hasil Pewarnaan Gram Isolat B (perbesaran 100x)

### Produksi Metabolit Sekunder

Produksi metabolit sekunder oleh bakteri dilakukan saat bakteri berada pada fase stasionernya yaitu ketika jumlah sel bakteri yang mati sama dengan jumlah bakteri yang tumbuh. Pada kondisi tersebut nutrisi bakteri sudah sangat berkurang sehingga terjadi kompetisi antar bakteri untuk mendapatkan nutrisi yang tersisa sehingga bakteri melakukan proses metabolisme untuk menghasilkan metabolit sekunder untuk mempertahankan diri [17]. Ketika komponen utama nutrisi pada media pertumbuhan mulai habis dapat menstimulasi enzim metabolit sekunder untuk melepaskan gen-gen sintesis metabolit sekunder [4]. Perubahan warna

pada media NB menunjukkan bahwa terdapat aktivitas sel bakteri endofit yang memanfaatkan nutrisi pada medium untuk proses metabolisme bakteri dan disekresikan ke dalam media cair yang menyebabkan perubahan substrat dalam media [7].

Hasil produksi metabolit sekunder bakteri endofit khususnya senyawa flavonoid dan fenolik yang berperan sebagai antioksidan diekstraksi menggunakan metanol yang bersifat polar. Hal ini dikarenakan metabolit sekunder yang dituju merupakan golongan senyawa fenolik yang juga bersifat polar. Hasil fraksinasi dengan etil asetat dipekatkan sehingga diperoleh rendemen dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rendemen Hasil Fraksinasi

Sampel	Fraksi Metanol		Fraksi Etil asetat	
	rendemen (gram)	Warna	rendemen (gram)	Warna
Isolat A	0,3440	coklat tua	0,0259	kuning kecoklatan
Isolat B	0,3468	coklat tua	0,0488	kuning kecoklatan

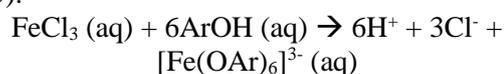
Perbedaan pelarut dapat mempengaruhi hasil rendemen yang dihasilkan. Tingginya rendemen yang terdapat pada fraksi metanol diduga karena komponen hasil produksi bakteri endofit mengandung senyawa yang bersifat polar dengan jumlah lebih banyak dibandingkan dengan yang bersifat semipolar sehingga akan terekstrak dalam pelarut metanol (polar).

### Uji Metabolit Sekunder Hasil Produksi Isolate Bakteri Endofit

Berdasarkan uji fenolik dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , diketahui bahwa isolat bakteri A dan B positif

mengandung fenolik ditunjukkan oleh perubahan warna yang dapat dilihat pada Tabel 2

Uji positif fenolik menghasilkan warna hijau, kuning, oranye, dan merah [8]. Perubahan warna menjadi merah kecoklatan disebabkan oleh reaksi pengompleksan antara  $\text{Fe}^{3+}$  dengan gugus hidroksil dari senyawa fenolik yang membentuk besi(III) heksafenolat. Perkiraan reaksi senyawa fenolik dengan  $\text{FeCl}_3$  adalah sebagai berikut (Tukiran, 2015).



**Tabel 2.** Uji Fenolik Hasil Produksi Isolat Bakteri Endofit

Kontrol (Media kultivasi steril)	Isolat Bakteri A	Isolat Bakteri B
 <p><b>Negatif (-)</b> Tidak terjadi perubahan warna</p>	 <p><b>Positif (+)</b> Terjadi perubahan berwarna merah kecoklatan (+)</p>	 <p><b>Positif (+)</b> Terjadi perubahan berwarna merah kecoklatan (++)</p>

Berdasarkan uji flavonoid dengan pereaksi  $\text{Mg} + \text{HCl}$ , diketahui bahwa isolat bakteri A dan B

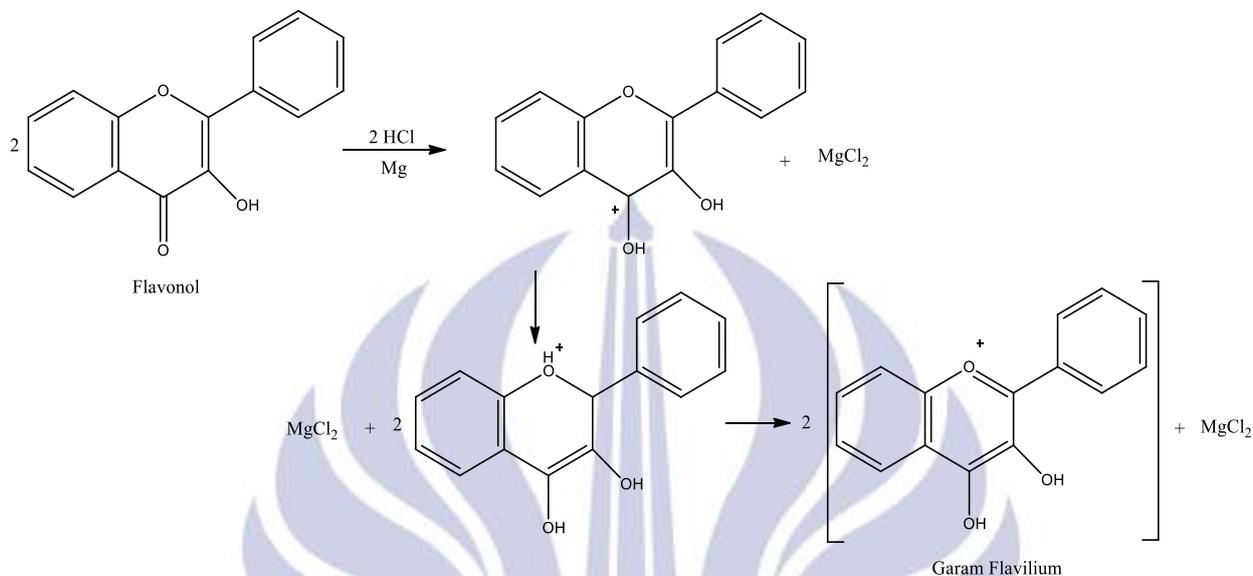
positif mengandung flavonoid ditunjukkan oleh perubahan warna yang dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Uji Flavonoid Hasil Produksi Isolat Bakteri Endofit

Kontrol (Media kultivasi steril)	Isolat Bakteri A	Isolat Bakteri B
 <p><b>Negatif (-)</b> Tidak terjadi perubahan warna</p>	 <p><b>Positif (+)</b> Terjadi perubahan berwarna oranye (+)</p>	 <p><b>Positif (+)</b> Terjadi perubahan berwarna oranye (++)</p>

Uji positif flavonoid dapat menghasilkan warna kuning, oranye, dan merah [8]. Perubahan warna saat pengujian dengan pita Mg dan HCl dikarenakan oleh inti  $\alpha$ -benzopyron yang dimiliki oleh suatu senyawa flavonoid. Inti  $\alpha$ -benzopyron yang

direduksi dengan penambahan HCl dan logam Mg sehingga terbentuk garam flavilium. Perkiraan reaksi senyawa flavonoid dengan Mg dan HCl dapat dilihat pada Gambar 4.

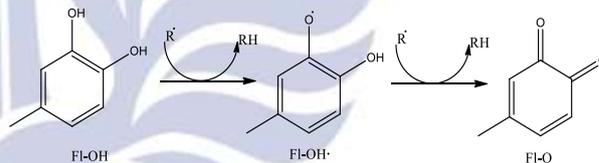


**Gambar 4.** Reaksi Flavonoid dengan Mg dan HCl [16].

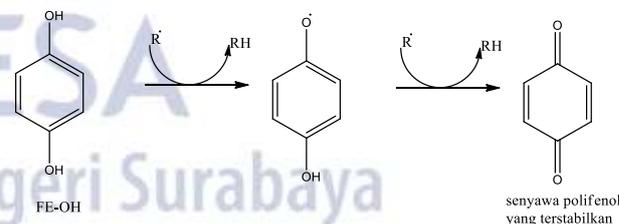
Telah diketahui bahwa daun jambu biji yang merupakan tumbuhan inang bakteri endofit mengandung metabolit sekunder flavonoid dan fenolik [2] dan berdasarkan pengujian hasil produksi isolat bakteri endofit yang telah didapatkan juga mengandung flavonoid dan fenolik. Hal tersebut memperkuat peneliti sebelumnya bahwa setiap tanaman tingkat tinggi terkandung bakteri endofit yang mampu menghasilkan metabolit sekunder sama dengan inangnya diduga akibat koevolusi dan transfer gen dari tanaman inang ke bakteri tersebut [20].

Kandungan senyawa flavonoid dan fenolik hasil produksi isolat bakteri endofit A dan B berpotensi memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa fenolik berpotensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi membentuk radikal fenoksi yang stabil dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas.

Perkiraan reaksi peredaman radikal bebas oleh senyawa flavonoid dan senyawa fenolik dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6.



**Gambar 5.** Reaksi Peredaman Radikal Bebas oleh Flavonoid [24].



**Gambar 6.** Reaksi Peredaman Radikal Bebas oleh Fenolik [3].

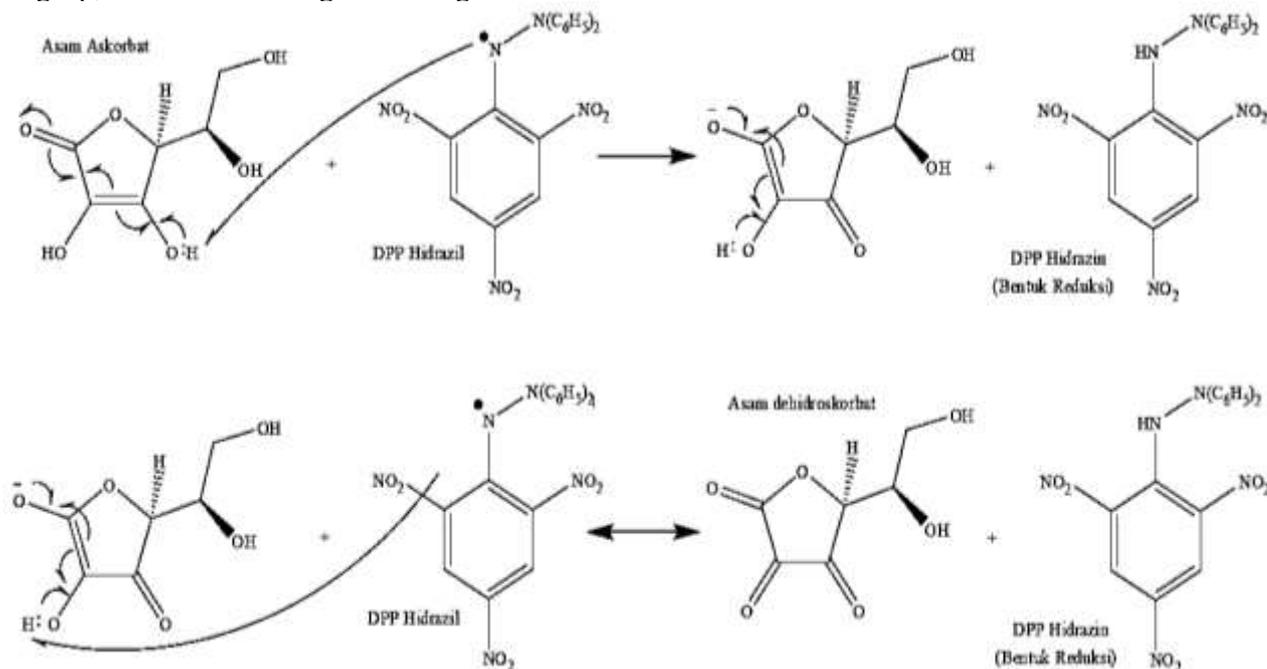
### Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode DPPH. Pada metode ini terjadi transfer elektron oleh suatu larutan yang bersifat antioksidan dengan DPPH yang menyebabkan DPPH akan tereduksi menjadi DPPH-H ditandai dengan perubahan intensitas warna ungu menjadi kuning.



Asam askorbat dijadikan sebagai kontrol pembandingan karena asam askorbat dapat dioksidasi menjadi radikal askorbil dan segera berubah menjadi dehidroaskorbat (stabil). Asam askorbat memiliki 2 gugus hidroksil yang terikat pada ikatan rangkap, ketika atom hidrogen diserang oleh radikal

bebas DPPH dan menyebabkan atom oksigen bermuatan negatif asam askorbat dapat melakukan delokalisasi melalui resonansi [3]. Reaksi antara radikal bebas DPPH dan asam askorbat ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Reaksi Peredaman DPPH oleh Asam askorbat [13].

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh 2 isolat bakteri dari daun jambu biji, yaitu isolat A dan B dengan morfologi koloni yang berbeda. Kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada isolat A dan B adalah flavonoid dan fenolik. Aktivitas antioksidan isolat B fraksi metanol menunjukkan nilai  $IC_{50}$  tertinggi, yaitu 146,9645 ppm dan digolongkan sebagai antioksidan sedang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bintarti, Tri. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Kemampuan Sebagai Antioksidan Dari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*. L). *Jurnal Ilmiah PANNMED*, 9(1), 40-44.
- Biswas B., et al. 2013. Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International Journal of Microbiology*, 1-7.
- Cholisoh, Z dan Utami, W. 2008. Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Etanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). *PHARMACON*, 9(1), 33-40
- Elita, Saryono dan Christine, J. 2013. Penentuan Waktu Optimum Produksi Antimikroba dan Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Fermentasi Bakteri Endofit *Pseudomonas* sp. dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). *Journal Indonesia Chemical*, 3 (2), 56-62.
- Fathir, dkk. 2009. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Erlangga.
- Fukumoto, LR dan Mazza, G. 2000. Assesing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J agric food*, 48(8), 3597-3604.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Belajar
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan Padmawinata, K dan I. Sudiro. Bandung: ITB Press.
- Karyani, D.E. 2005. Perbandingan Kadar Kuercetin dan Pola Generik 35 Varietas Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Skripsi*. Jakarta: PPs UHAMKA.
- Kuntari, Zeta, dkk. 2017. Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Akar

- Tanaman *Moringa oleifera* L (Kelor). *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 1(2), 80-84.
11. Lumyong, S. *et al.* F. 2001. Isolation, Optimization and Characterization of xylanase from Endophytic Fungi. *Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resource. The Tropic*, 15.
  12. Mikamo, E., *et al.* 2000. Studies on Structural Correlationship with Antioxidant Activity of Flavonoids. *Journal Japan. Soc. Food Sci. Technology*, 7, 97-101.
  13. Muharni, Fitriya, Ruliza, M., Susanti, D. dan Elfita. 2014. Antioxidant Activity Di-(2-Ethylexyl) Phthalate from Endophytic Fungi *Penicillium sp Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe. *Indonesian Journal Chemistry*, 5, 559-565.
  14. Nongkhlaw, F.M.W., dan Joshi, S.R. 2015. L-asparaginase and antioxidant activity of endophytic bacteria associated with ethnomedicinal plants. *Indian Journal Biotechnology*, 14, 59-64.
  15. Rahman, Idi Auliya, Purbowaningrum, dan Mulyani, Nies Suci. 2016. "Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Produksi bakteri Endofit dari daun Sirsak". *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Enterpreneurship III*, Semarang, 20 Agustus 2016, 336-343.
  16. Septyaningsih, D. 2010. Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus lamk*). *Skripsi*. Surakarta: PPs Universitas Sebelas Maret
  17. Strobel, G. And Daisy, B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 491-502.
  18. Sukiman, Harmastini dan Nuriyanah. 2016. Potensi Bakteri Endofitik dari Tanaman Keladi Tikus Penghasil Zat Antimikroba dan Antioksidan. *Biopropal Industri*, 7(1), 27-34.
  19. Sulistiyani, Ardyati, Tri dan Winarsih, Sri . 2016. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Endophyte Bacteria Associated with *Curcuma longa* Rhizome. *J.Exp. Life Sci*, 6(1), 45-51.
  20. Tan, R.X and Zou, W.X. 2001. Endophyte: A rich source of fungsional metabolite. *Nat. Prod. Rep*, 1(18), 448-459.
  21. Tukiran, Suyatno, Hidayati, N. 2015. "Uji awal fitokimia ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.)". *Prosiding Seminar Nasional Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Surabaya*, Surabaya, 3-4 Oktober, .81-89.
  22. Venkatachalam, Ravi Narayan, Kanchanlata Singh, dan Marar, Thankamani. 2012. Phytochemical screening and *in vitro* antioxidant activity of *Psidium guajava*. *Free Radicals and Antioxidants*, 2(1), 31-36.
  23. Yamaguchi, T. *et al.* 1998. HPLC Method for Evaluation of the Free Radicals scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(6), 1201-1204.
  24. Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Makara Sains*, 15 (1), 48-52.