

**AKTIVITAS SUPERNATAN BEBAS SEL BAKTERI ENDOFIT
DAUN KEMANGI (*Ocimum basillicum* L.) DALAM
MENGHAMBAT *Streptococcus mutans* DAN
*Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

**Diajukan oleh :
RIZKINA ZURRIANI ZN
NIM. 170703008
Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
BANDA ACEH
2022 M / 1442 H**

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

AKTIVITAS SUPERNATAN BEBAS SEL BAKTERI ENDOFIT DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DALAM MENGHAMBAT *Streptococcus mutans* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

SKRIPSI

Diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Sebagai Salah Satu Beban Studi Memperoleh Gelar Sarjana (S1)
dalam Ilmu Biologi

Oleh:

RIZKINA ZURRIANI ZN
NIM 170703008
Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi

Disetujui Untuk Dimunaqasyahkan Oleh:

Pembimbing I



Diannita Harahap, M.Si

NIDN.2022038701

Pembimbing II



Syafrina Sari Lubis, M.Si

NIDN.2025048003

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Arif Sardi M, Si.
NIDN. 2019068601

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

AKTIVITAS SUPERNATAN BEBAS SEL BAKTERI ENDOFIT DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DALAM MENGHAMBAT *Streptococcus* *mutans* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

SKRIPSI

Telah Diuji Oleh Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dan Dinyatakan Lulus
Serta diterima sebagai Salah Satu Beban Studi Program Sarjana (S-1)
Dalam Ilmu Biologi

Pada Hari/Tanggal: Selasa, 19 Juli 2022
20 Dzulhijjah 1443
di Darusalam, Banda Aceh

Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi

Ketua,



Diannita Harahap, M.SI
NIDN.2022038701

Sekretaris,



Ayu Nirmala Sari, M.Si
NIDN. 2027028901

Penguji I,



Syafrina Sari Lubis, M.Si
NIDN. 2025048003

Penguji II,



Arif Sardi, M.Si
NIDN. 2019068601

Mengetahui:

Dekan Fakultas dan Teknologi
UIN Ar-Raniry Banda Aceh



 Dr. Azhar Amsal, M.Pd
NIDN. 2001066802

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH/SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizkina Zurriani ZN
NIM : 170703008
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun
Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dalam Menghambat
Streptococcus mutans dan *Pseudomonas aeruginosa*

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penelitian skripsi ini, saya:

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggung jawabkan
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah karya orang lain
3. Tidak menggunakan karya orang lain yang menyebutkan sumber asli atau tanpa izin pemilik karya
4. Tidak memanipulasi dan memalsukan data
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggung jawab atas karya ini.

Bila di kemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya, dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggungjawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi berdasarkan aturan yang berlaku di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh,
Yang menyatakan,



(Rizkina Zurriani ZN)

ABSTRAK

Nama : Rizkina Zurriani ZN
NIM : 170703008
Program Studi : Biologi Fakultas Sains dan Teknologi (FST)
Judul : Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun
Kemangi (*Ocimum basillicum* L.) dalam Menghambat
Streptococcus mutans dan *Pseudomonas aeruginosa*
Tanggal Sidang : 19 - Juli - 2022
Jumlah Halaman : 79
Pembimbing I : Diannita Harahap, M.Si
Pembimbing II : Syafrina Sari Lubis, M.Si
Kata Kunci : Kemangi, Bakteri Endofit, *Streptococcus mutans* ATCC
25175, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,
Supernatan Bebas Sel

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman dan memiliki hubungan simbiosis yang saling menguntungkan dengan tanaman inang. Daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) adalah salah satu tanaman obat yang dapat menghasilkan metabolit sekunder sebagai antibakteri yang berasal dari bakteri endofit pada tanaman inangnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) dan uji aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Metode yang dilakukan ialah dengan mengisolasi bakteri endofit dari daun kemangi dan produksi supernatan bebas sel didapatkan dengan cara sentrifugasi dan difiltrasi menggunakan filter membran 0,22 µm untuk memisahkan antara supernatan dan pelet. Supernatan bebas sel yang didapat dilakukan uji aktivitas dengan menggunakan metode Kirby Bauer. Hasil penelitian berdasarkan dari identifikasi secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia didapatkan karakteristik bakteri endofit sebanyak 6 isolat bakteri endofit dan memperoleh satu genus yang diduga mengarah ke genus *Bacillus* sp. Hasil uji aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi dari 6 isolat memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan kriteria sedang pada isolat EO5 dan EO6 sebesar 5.68 mm dan 5.49 mm sedangkan hasil uji aktivitas supernatan bebas sel pada *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menghasilkan zona hambat sebesar 3.41 mm dengan kriteria lemah.

Kata Kunci : Kemangi, Bakteri Endofit, *Streptococcus mutans* ATCC
25175, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,
Supernatan Bebas Sel.

ABSTRACT

Name : Rizkina Zurriani ZN
NIM : 170703008
Study Program : Biology Faculty of Science and Technology (FST)
Title : Leaf Endophytic Bacterial Cell-Free Supernatant Activity
Basil (*Ocimum basillicum* L.) in Inhibiting *Streptococcus*
mutans and *Pseudomonas aeruginosa*
Court Date : 19 - July - 2022
Number of Pages : 79
Advisor I : Diannita Harahap, M.Si
Advisor II : Syafrina Sari Lubis, M.Si
Key Words : Basil, Endophytic bacteria, *Streptococcus mutans* ATCC
25175, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,
Cell-free supernatant

Endophytic bacteria are microorganisms that live in plant tissues and have a mutually beneficial symbiotic relationship with the host plant. Basil leaf (*Ocimum basillicum* L.) is one of the medicinal plants that can produce secondary metabolites as antibacterial derived from endophytic bacteria on the host plant. The purpose of this study was to determine the characteristics of the endophytic bacteria in basil leaves (*Ocimum basillicum* L.) and to test the activity of the cell-free supernatant of endophytic bacteria against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bacteria. The methods used included isolating endophytic bacteria from basil leaves and the production of cell-free supernatant obtained by centrifugation and filtration using a 0.22 μ m membrane filter to separate the supernatant and pellet. The supernatant obtained was tested for activity using the Kirby Bauer method. The results of the study based on the results of macroscopic bacteriology, microscopy and biochemical tests obtained endophytes as many as 6 isolates of endophytic bacteria and obtained one genus which was suspected to lead to the genus *Bacillus* sp. The test results of the activity of the endophytic bacterial cell-free supernatant of basil leaves from 6 isolates had the ability to inhibit *Streptococcus mutans* ATCC 27853 bacteria with the criteria for isolates EO 5 and EO 6 of 5.68 mm and 5.49 mm while the test results of the activity of cell-free supernatant on *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 produces an inhibition zone of 3.41 mm with weak criteria.

Key Words : Basil, Endophytic bacteria, *Streptococcus mutans* ATCC
25175, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,
Cell-free supernatant.

KATA PENGANTAR



Puji berserta syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L.) dalam Menghambat *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*”**. Tidak lupa pula shalawat beriring salam penulis sanjungkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW.

Terima kasih yang setulus-tulusnya penulis ucapkan kepada Ayahanda tercinta Drs. Zainuddin Muhammad dan Ibunda tercinta Nurlina, S.Pd berkat do'a dan keridhaan serta kasih sayang keduanya. Abang tercinta Ilham Fahmi ZN, S.T dan istri serta kedua kakak tercinta Fadhlia Zurriati ZN, SST dan Faiza Zuliani ZN, S.Pd terima kasih atas do'a, dukungan dan motivasi yang tiada henti untuk penulis. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, kesehatan, karunia dan keberkahan di dunia dan di akhirat atas budi baik yang telah diberikan kepada penulis.

Selama penyusunan skripsi penelitian ini, banyak hambatan dan rintangan yang penulis hadapi namun pada akhirnya dapat dilalui berkat adanya bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Dr. Azhar Amsal, M. Pd, selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
2. Arif Sardi, M.Si., selaku ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
3. Kamaliah, M.Si., selaku Sekretaris Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh yang telah membantu dalam segala keperluan.
4. Diannita Harahap, M.Si., selaku dosen Pembimbing I yang memberikan arahan, nasihat serta bimbingan dalam menulis.

5. Syafrina Sari Lubis, M.Si., selaku dosen Pembimbing II yang telah memberikan arahan, nasihat serta bimbingan dalam menulis.
6. Ilham Zulfahmi, M.Si., Muslich Hidayat, M.Si., Feizia Huslina, M.Sc., Ayu Nirmala Sari, M.Si., Raudhah Hayatillah, M.Sc dan Lina Rahmawati, M.Si selaku dosen Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi.
7. Staf Prodi Biologi yang telah membantu segala keperluan mahasiswa.
8. Sahabat-sahabat terbaik yaitu Putri Rahil Marissa, Ismi Mauliasari, Ridha Maulidia Arif, Uce Karlina, Amalia Maysarah, Tuti Aulia, Lisda Ariyanti, Nabilla Munawarah, Judith Racmayanti, Kak Zumara, Zuraida, Nur Amalia, Masyitah Azmi, Naupal Alfariysi, M. Khairul Ramadhan dan Miftahul Muttaqin, yang telah membantu, memberikan semangat dan motivasi kepada penulis.
9. Seluruh teman-teman seperjuangan angkatan 2017 dan mahasiswa Program Studi Biologi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dikarenakan terbatasnya pengetahuan dan pengalaman yang dimiliki penulis. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat khususnya di bidang pendidikan dan semoga Allah SWT memberi perlindungan bagi kita semua.

Banda Aceh, 06 Juli 2022

Penulis,



Rizkina Zurriani ZN

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH/SKRIPSI....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xiii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
I.4 Manfaat Penelitian.....	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 6
II.1 Kemangi (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	6
II.2 Morfologi	6
II.3 Klasifikasi Ilmiah Daun Kemangi	8
II.4 Manfaat dan Kandungan Daun Kemangi (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	8
II.5 Bakteri Endofit.....	10
II.1 <i>Streptococcus mutans</i>	11
II.7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
II.8 Supernatan Bebas Sel.....	13
 BAB III METODE PENELITIAN	 16
III.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	16
III.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian	16
III.3 Objek Penelitian	16
III.4 Bakteri Uji	17
III.5 Alat dan Bahan	17
III.6 Metode Peneliti	17
III.7 Prosedur Kerja	18
III.7.1 Pengambilan Sampel Daun Kemangi	18
III.7.2 Isolasi Bakteri Endofit.....	18

III.7.3 Pemurnian Bakteri Endofit	19
III.7.4 Identifikasi Bakteri Endofit	19
III.7.6 Produksi Supernatan Bebas Sel Bakteri dari Bakteri Endofit	22
III.7.7 Penyiapan Bakteri Uji.....	23
III.7.8 Peremajaan Bakteri Uji.....	23
III.7.9 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	23
III.7.10 Kontrol Positif dan Negatif.....	23
III.7.11 Uji Aktivitas Antibakteri	23
III.7.12 Pengukuran Zona Hambat	24
III.7.13 Analisis Data	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
IV.1 Hasil Penelitian	26
IV.1.1 Karakterisasi Bakteri Endofit Daun Kemangi (Ocimum basillicum L.)	26
IV.2.1 Hasil Uji Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (Ocimum basillicum L.)	31
IV.2 Pembahasan	33
IV.2.1 Karakterisasi Bakteri Endofit Daun Kemangi (Ocimum basillicum L.).....	33
IV.2.2 Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (Ocimum basillicum L.) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans ATCC 25175 dan Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	37
BAB V PENUTUP	41
V.1 Kesimpulan.....	41
V.2 Saran	41
DAFTAR KEPUSTAKAAN	42
LAMPIRAN.....	55
RIWAYAT HIDUP PENULIS	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 : Morfologi Kemangi (<i>Ocimum basillicum</i> L.)	7
Gambar II.2 : Daun Kemangi (<i>Ocimum basillicum</i> L.).....	8
Gambar II.3 : Pertumbuhan Bakteri Endofit	10
Gambar II.4 : Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	11
Gambar II.5 : Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
Gambar II.6 : Proses Sentrifugasi Suspensi Bakteri Uji	14
Gambar II.7 : Aktivitas Penghambatan Supernatan Bebas Sel	14
Gambar III.1 : Pengukuran Diameter Zona Hambat	24
Gambar IV.1 : Morfologi Koloni Bkateri Endofit Daun Kemangi	25
Gambar IV.2 : Hasil Pewarnaan Gram.....	29
Gambar IV.3 : Hasil Uji Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit....	32



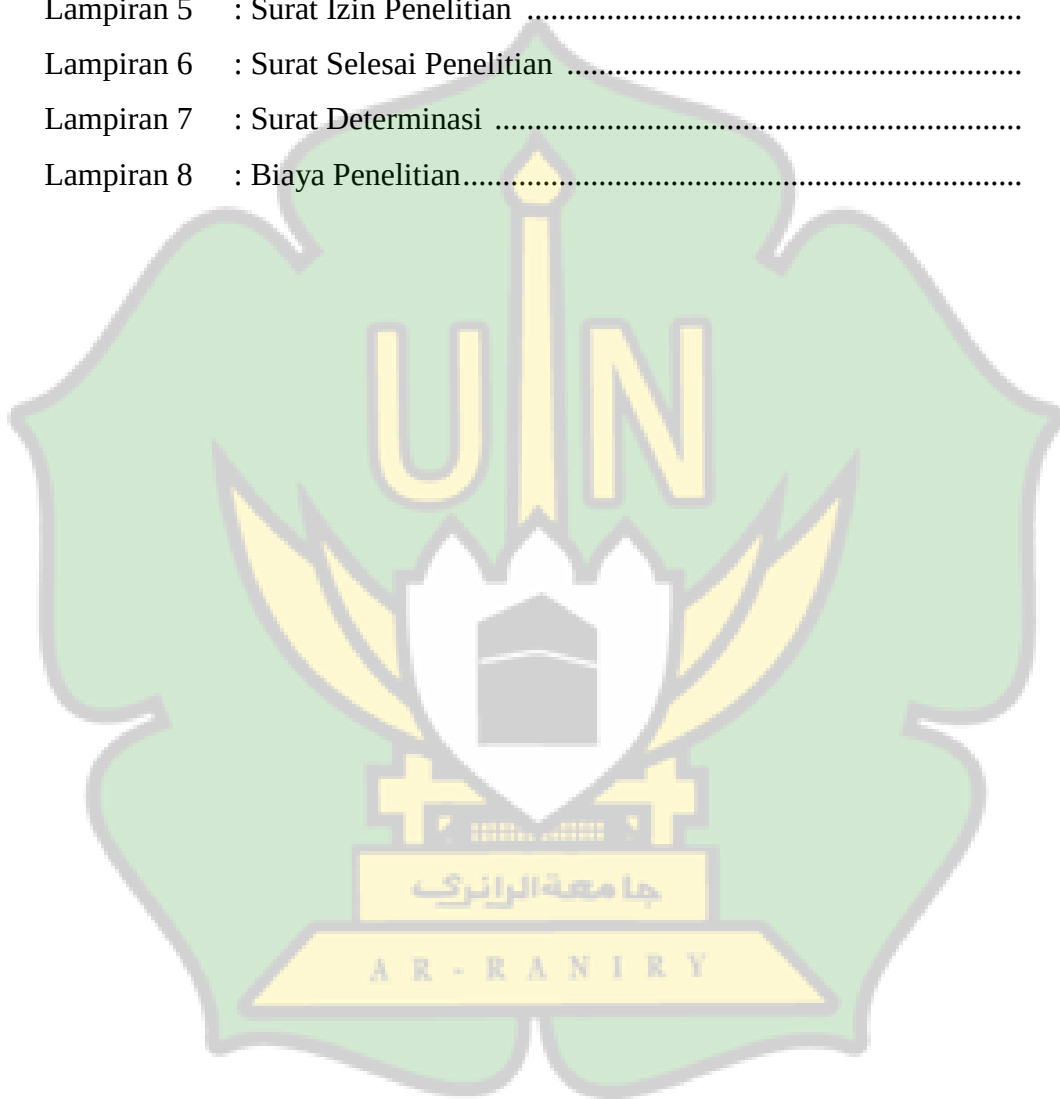
DAFTAR TABEL

Tabel III.1	: Jadwal Pelaksanaan Penelitian.	16
Tabel III.2	: Klasifikasi Zona Hambatan Pertumbuhan	25
Tabel IV.1	: Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit	26
Tabel IV.2	: Uji Mikroskopis Bakteri Endofit	28
Tabel IV.3	: Karakterisasi Genus <i>Bacillus</i> sp.	30
Tabel IV.4	: Hasil Uji Aktivitas Supernatan <i>Streptococcus mutans</i>	31
Tabel IV.5	: Hasil Uji Aktivitas Supernatan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Alur Penelitian	55
Lampiran 2	: Dokumentasi Kegiatan Penelitian	56
Lampiran 3	: Rumus Pengulangan	59
Lampiran 4	: Surat Keterangan Pembimbing	60
Lampiran 5	: Surat Izin Penelitian	61
Lampiran 6	: Surat Selesai Penelitian	62
Lampiran 7	: Surat Determinasi	63
Lampiran 8	: Biaya Penelitian.....	65



DAFTAR SINGKATAN

TSIA	: <i>Triple Sugar Iron Agar</i>	17
SIM	: <i>Sulfide Indole Motility</i>	17
NA	: <i>Nutrient Agar</i>	17
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>	17
SCA	: <i>Simon Citrate Agar</i>	17



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tanaman herbal telah dikenal oleh masyarakat Indonesia dan banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat dalam menangani permasalahan kesehatan (Syukur dan Asnawati, 2021). Diantara tanaman yang biasa dijadikan sebagai obat tradisional adalah jahe, kunyit, serai, daun sirih, daun salam dan kemangi (Novianti, 2017). Kemangi merupakan tanaman berupa semak aromatik yaitu memiliki aroma pada daunnya (Harsha *et al.*, 2020). Tanaman ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, sayuran atau makanan lalab (Wijaraya *et al.*, 2019).

Dalam dunia kesehatan, daun kemangi dapat dijadikan sebagai antibakteri, antifungi, analgesik, antiseptik, antipiretik, hepatoprotektor, imunomodulator, antirepellent dan antiekspetoran (Kumalasari & Andiarna, 2020). Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) memiliki kandungan senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu berupa senyawa tannin, saponin, alkaloid dan flavonoid (Klau *et al.*, 2021). Selain senyawa bioaktif tersebut, daun kemangi memiliki kandungan minyak atsiri yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Syahrul dan Syahriel, 2021).

Menurut penelitian Hidayanto *et al.*, (2017) kandungan minyak atsiri yang terdapat pada ekstrak daun kemangi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan zona hambat sebesar 2,17 mm dan terbukti berperan mengurangi pertumbuhan bakteri di dalam rongga mulut penyebab bau mulut. Berdasarkan kandungan senyawa bioaktif tersebut, daun kemangi sering dimanfaatkan untuk mengatasi dan mengurangi masalah bau badan, panas dalam, sakit kepala, gangguan lambung, pilek dan penyakit jantung (Bessie *et al.*, 2018 dan Kulkarni & Adavirao, 2018).

Bau mulut disebabkan oleh adanya pertumbuhan bakteri yang berlebih pada bagian bawah lidah dan pada bagian ini sering tidak dibersihkan saat menggosok gigi. Bakteri akan berkembangbiak di dalam mulut dan akan membentuk plak atau karang gigi. Kemudian bakteri tersebut memproduksi toksin dengan cara

menguraikan sisa-sisa makanan dan sel-sel mati yang terdapat di dalam mulut sehingga toksin inilah yang menyebabkan bau mulut. Hal tersebut terjadi karena adanya hasil metabolisme bakteri secara anaerob dari penguraian sisa makanan yang menghasilkan senyawa sulfida dan amonia (Robbihi, 2020).

Bakteri *S. mutans*, *S. viridans*, *S. salivarius*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri flora normal yang terdapat di dalam rongga mulut. Bakteri ini dalam suatu waktu dapat berubah menjadi patogen jika kebersihan pada rongga mulut tidak terjaga (Jawetz *et al.*, 2012). *S. mutans* merupakan bakteri Gram positif yang terdapat di dalam rongga mulut manusia khususnya yang menyebabkan plak pada gigi (Lemos *et al.*, 2019). Sedangkan *P. aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat patogen dan dapat menjadi resisten pada sebagian antibiotik. Kedua bakteri ini bersifat patogen (Sanjaya *et al.*, 2019).

Pertumbuhan bakteri patogen dapat dihambat dengan penggunaan antibiotik. Tetapi penggunaan antibiotik dalam jangka panjang atau secara terus menerus dan terlalu sering tidak baik dilakukan karena dapat mengakibatkan bakteri menjadi kebal atau resisten (Utami, 2012). Selain itu penghambatan pertumbuhan bakteri juga dapat dilakukan dengan cara memanfaatkan ekstrak pada tanaman herbal seperti pada tanaman sereh wangi, sirih hijau dan jahe merah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 20% dengan masing-masing daya hambat sebesar 7,90 mm, 4,90 mm dan 4,85 mm (Rizkita, 2017).

Seiring perkembangan waktu, media pengobatan bisa dilakukan dengan memanfaatkan sumber potensial produk alami dari tanaman yaitu menggunakan antibakteri yang dihasilkan dari bakteri endofit (Basit *et al.*, 2021). Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa mengganggu tanaman inangnya. Bakteri ini hidup secara berdampingan dan memberikan perlindungan terhadap tanaman dari cekaman abiotik, biotik maupun hama. Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri (Maheshwari *et al.*, 2017). Senyawa bioaktif yang dihasilkan bakteri endofit sama dengan yang dihasilkan oleh tanamannya (Aqlinia *et al.*, 2020).

Rori *et al.*, (2020) telah berhasil melakukan penelitian tentang antibakteri dari bakteri endofit pada daun mangrove (*Avicenna marina*). Hasil dari penelitiannya memperoleh 7 isolat bakteri endofit dan diuji aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil dari pengujian tersebut hanya 2 isolat yang berhasil menghasilkan zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 12,3 mm dan 7,2 mm yang dikategorikan kuat sedang. Sedangkan isolat lain tidak berhasil menghambat bakteri *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus*. Ini menunjukkan bahwa penggunaan antibakteri dari bakteri endofit saja menunjukkan hasil yang kurang maksimal.

Berdasarkan penelitian di atas, uji antibakteri dapat dilakukan dengan menggunakan supernatan bebas sel. Berdasarkan hasil penelitian Utami (2017) penggunaan antibakteri dari supernatan bebas sel bakteri endofit dari daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas zona hambatnya memperoleh 30 isolat dari 40 isolat yang kemudian setelah dilakukannya skrining bakteri endofit menghasilkan zona hambat yang kuat dari isolat nomor 11, 22 dan 23 dan isolat 23 menghasilkan zona hambat sebesar 30 mm. Hasil dari isolasi bakteri endofit pada daun kemangi ini menghasilkan 3 genus bakteri yaitu genus *Acetobacter*, *Enterococcus* dan *Gluconobacter*. Penelitian serupa juga telah dilakukan oleh Ramadhanty *et al.*, (2021) penggunaan supernatan bebas sel bakteri endofit pada daun mangrove sebagai antibakteri lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Kategori zona hambat yang diperoleh ialah sedang dan kuat hal ini karena pada supernatan bebas sel bakteri endofit daun mangrove mengandung bakteriosin yang berasal dari genus *Pseudomonas* sp. Bakteriosin merupakan kelompok peptida heterogen yang bersifat antimikrobia. Kemudian dikuatkan oleh penelitian Wulansari *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa penggunaan supernatan bebas sel bakteri endofit pada tanaman bangle sebagai antibakteri mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan kategori zona hambat kuat dan sangat kuat.

Ma *et al.*, (2020) menyatakan supernatan bebas sel mengandung antimikroba yang dapat dijadikan sebagai agen antimikroba. Pada supernatan terdapat senyawa

metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Metabolit sekunder merupakan suatu senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan, hewan dan mikroorganisme sebagai bentuk pertahanan diri (Saifudin, 2014). Supernatan bebas sel diperoleh dari hasil sentrifugasi dan filtrasi. Sentrifugasi merupakan proses pemisahan antara partikel padat dan cairan dengan menggunakan prinsip gaya sentrifugal yaitu dengan memutarinya objek secara horizontal pada jarak dan kecepatan tertentu dan menuju kesatu titik rotasi. Dengan adanya gaya sentrifugal, objek yang terus berputar akan menempel kedinding tabung dan membentuk endapan (pelet) sedangkan partikel yang lebih rendah berada diatas (supernatan) (Istianah *et al.*, 2018; Nurhadianty *et al.*, 2018).

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin melakukan penelitian dengan judul **“Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L.) dalam Menghambat *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*”**.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah penulis kemukakan di atas, maka permasalahan yang dikaji dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah karakteristik bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) ?
2. Bagaimanakah aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa* ?

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui karakteristik bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.).
2. Untuk mengetahui bagaimana hasil uji aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai manfaat dari daun kemangi yang dijadikan sebagai bahan obat-obatan. Menambah wawasan mengenai penggunaan bakteri endofit yang terdapat di dalam daun kemangi sebagai antibakteri serta memberikan informasi mengenai supernatan bebas sel.



BAB II

LANDASAN TEORITIS

II.1 Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

II.2 Morfologi

Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) merupakan tanaman aromatik yang berasal dari daerah Tropis Asia dan Afrika, tanaman ini termasuk tanaman obat dari famili *Lamiaceae*. Famili *lamiaceae* salah satu famili yang banyak dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Selain itu, tanaman kemangi juga dimanfaatkan sebagai bumbu dan penyedap produk makanan (Mittal *et al.*, 2018).

Di Indonesia tanaman ini banyak dijumpai di daerah Sumatera, Jawa dan Maluku (Soedarso, 2012). Menurut Surahmida dan Umarudin (2019) kemangi (*Ocimum sanctum*) merupakan hasil dari persilangan antara dua (2) spesies selasih yaitu *Ocimum basilicum* dan *Ocimum americanum*. *Ocimum sanctum* dikenal juga dengan nama *Ocimum basilicum* var. *anisatum* Benth. Umumnya daun kemangi (*Ocimum sanctum*) di Indonesia biasanya dikenal dengan daun selasih dan serawung. Beberapa daerah lainnya dikenal dengan daun kecarum, carum, atau ruku-ruku (Bali), klampes (Madura), lupe-lupe (Ternate) dan balakama (Manado).

Menurut Rukmana dan Yudirachman (2016) morfologi tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sebagai berikut:

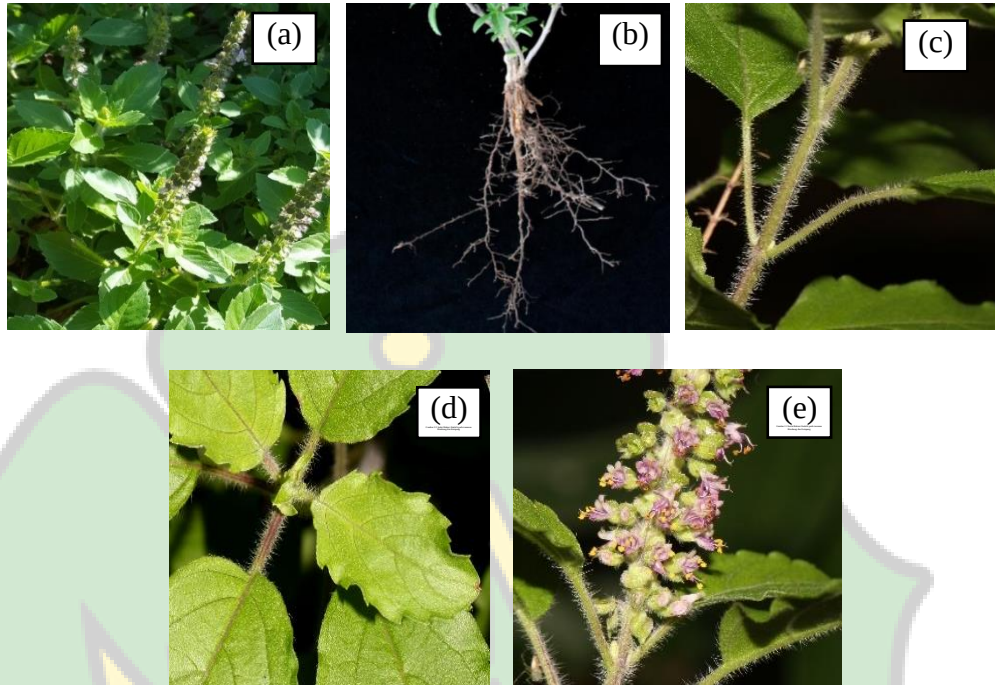
a. Akar

Kemangi memiliki jenis akar tunggang dan memiliki bulu-bulu pada akarnya. Akar kemangi dapat menyebar ke segala arah pada kedalaman 30-60 cm.

b. Batang

Tanaman kemangi berbatang kayu, bercabang banyak di bagian atas, batangnya berbulu dan berbuku-buku. Di setiap buku-buku dan cabang batang melekatnya daun secara berhadapan. Batangnya berwarna hijau tua maupun hijau keungu-unguan. Pada saat masih muda batang kemangi

berwarna hijau tua atau keungu-unguan tetapi setelah batangnya tua berubah menjadi warna kecoklatan. Tinggi batang kemangi sekitar 30-150 cm.



Gambar II.1. Morfologi Tanaman Kemangi (a) Tanaman Utuh Kemangi, (b) Akar Kemangi, (c) Batang Kemangi, (d) Daun Kemangi dan (e) Bunga kemangi.
(Sumber: Plants Of The World Online, 2021).

c. Daun

Daun kemangi memiliki ragam bentuk daun yaitu memanjang, bulat telur dan keriting. Permukaan daunnya datar dan warna daun bervariasi yaitu warna hijau, merah keungu-unguan dan hijau gelap. Daunnya memiliki tepi yang sedikit bergerigi dan ujung lancip. Panjang daun sekitar 4-5 cm dan lebar 6-30 mm.

d. Bunga

Bunga kemangi tumbuh dari ujung batang dan cabang. Ukuran bunganya kecil dan berwarna putih, tersusun dalam karangan bunga. Setiap karangan bunga terdiri dari 1-6 cabang tandan. Bunga kemangi termasuk bunga semu yang mempunyai struktur terdiri dari daun pelindung bunga, kelopak bunga, mahkota bunga, putik dan benang sari.

e. Biji

Biji kemangi berukuran kecil, bertekstur keras dan berbentuk bulat telur atau bulat panjang. Pada saat masih muda bijinya berwarna putih dan ketika sudah tua berwarna hitam dan apabila biji dimasukan ke dalam air akan mengembang.

II.3 Klasifikasi Ilmiah Daun Kemangi



Gambar II.2. Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)
(Sumber: dokumentasi pribadi).

Menurut It is.gov (2022) klasifikasi dari daun kemangi yaitu:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Genus	: <i>Ocimum</i> L.
Spesies	: <i>Ocimum basilicum</i> L.

II.4 Manfaat dan Kandungan Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa biokimia yang bermanfaat sebagai bahan obat herbal. Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) bermanfaat menghilangkan bau pada daerahewanitaan, mengobati panu, mengurangi pembengkakan jantung, menyembuhkan sakit pinggang, bau mulut dan sebagainya (Soedarso, 2012). Bau mulut merupakan permasalahan yang sering terjadi

dan sangat mengganggu terutama ketika berbicara. Permasalahan bau mulut dapat dihilangkan dengan mengkonsumsi daun kemangi sebagai lalapan atau dapat meminum air perasan daun kemangi yang telah dihaluskan (Hendarto, 2019).

Daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri dan kandungan senyawa biokimia yang meliputi tanin, flavonoid dan minyak atsiri (Kindangen *et al.*, 2018). Minyak atsiri merupakan minyak yang memiliki sifat mudah menguap dan memiliki aroma yang sedap yang biasanya berasal dari tanamannya. Minyak atsiri juga memiliki aktivitas terhadap antibakteri (Yuliani & Satuhu, 2012). Kandungan minyak atsiri kemangi seperti eugenol, methyl chavicol, linalool, camphor dan sitral memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Willianti *et al.*, 2020). Kandungan minyak atsiri paling banyak ditemukan pada genus *Ocimum*, diantaranya ada pada spesies *Ocimum basilicum* L, *Ocimum citriodorum*, *Ocimum basilicum canum* Sims. dan spesies lainnya (Walewangko *et al.*, 2019).

Turunan dari kandungan minyak atsiri terdapat banyak senyawa biokimia seperti flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid (Kumalasari & Andiarna, 2020). Menurut Surahmaida dan Umarudin (2019) daun kemangi banyak mengandung senyawa biokimia yang menjadi aktivitas dalam mengatasi penyakit. Senyawa biokimia daun ini berupa flavonoid, terpenoid, steroid, alkaloid, dan saponin.

Adapun golongan utama senyawa biokimia daun kemangi yang berpotensi sebagai antibakteri adalah flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa flavonoid dapat mendenaturasi protein dari sel bakteri dan merusak membran selnya. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan yang mengakibatkan permeabilitas naik sehingga mengakibatkan bakteri akan pecah atau lisis sedangkan senyawa tanin bekerja menghambat protein pada dinding sel dan bersifat astringen yaitu dapat merusak dinding sel sehingga permeabilitas dinding sel terganggu. Kemampuan yang dimiliki oleh tanin juga dapat menjadi antiseptik yang bisa membunuh pertumbuhan

mikroorganisme yang timbul karena luka atau infeksi (Kusumastuti *et al.*, 2021).

II.5 Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup didalam jaringan tanaman dan memiliki hubungan simbiosis yang saling menguntungkan dengan tanaman inang. Tanaman inang akan menyediakan tempat bagi bakteri endofit dan bakteri endofit akan menghasilkan senyawa metabolit yang dapat meningkatkan penyerapan nutrisi untuk mempengaruhi pertumbuhan (Santos *et al.*, 2018). Bakteri endofit dapat menyebar diseluruh organ tanaman dan telah diisolasi dari organ akar, batang, daun, biji dan buah pada berbagai tanaman. Kepadatan jumlah koloni bakteri endofit lebih banyak berada diakar yaitu berkisar 10^5 - 10^7 CFU/g, akan tetapi kepadatan bakteri endofit menurun ketika sudah menjauh dari akar yaitu pada batang dan daun kepadatan bakteri berkisar 10^3 - 10^4 CFU/g (Ullah *et al.*, 2019).

Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa aktif yang diperoleh melalui ekstraksi tanaman terutama pada tanaman obat dan dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder sebagai penghambatan bakteri patogen (Sepriana *et al.*, 2017). Metabolit sekunder dan senyawa bioaktif yang dimiliki oleh bakteri endofit umumnya sama dengan yang dihasilkan oleh tanaman inangnya. Senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang dihasilkan yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, poliketone, lakton, asam organik, seskuiterpen dan siklopeptida. Kandungan tersebut yang terdapat pada bakteri endofit memiliki manfaat sebagai antibakteri, antikanker, antioksidan, antidiabetik, insektisida dan lain sebagainya (Pratiwi, 2021; Wu *et al.*, 2021).



Gambar II.3. Pertumbuhan Bakteri Endofit Pada Daun Tanaman Kenari (Sumber: Tuan *et al.*, 2017).

II.1 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri penyebab utama karies pada gigi yang dapat membentuk biofilm dan biofilm ini dapat meningkat jika lingkungan mulut banyak terdapat sukrosa (Vijayakumar *et al.*, 2021). *S. mutans* hidup pada lingkungan yang bersifat anaerobik. Bakteri ini dapat melepaskan berbagai asam organik terutama asam laktat selama proses metabolisme karbohidrat yang mengakibatkan demineralisasi email gigi (Lemos *et al.*, 2019).

S. mutans dapat menginfeksi gigi dengan mengubah gula bebas seperti gula yang terkandung pada makanan dan minuman akan menjadi asam sehingga menimbulkan kerusakan pada gigi. Mengonsumsi terlalu banyak gula secara terus menerus dan kurangnya pembersihan plak dengan menggosok gigi dapat menyebabkan nyeri dan infeksi (WHO, 2022). Bakteri ini adalah bakteri paling kariogenik di dalam rongga mulut, hal ini karena memiliki kemampuan asidurik dan asidogenik yang tinggi (Yasir *et al.*, 2020).



Gambar II.4. Bakteri *Streptococcus mutans*
(Sumber: Public Health Image
Library (PHIL), 2022).

Menurut Itis.gov (2021) klasifikasi *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Posibacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Lactobacillales
Family	: Streptococcaceae

Genus : *Streptococcus*
Spesies : *Streptococcus mutans*

II.7 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram negatif yang berbentuk batang, bersifat aerob obligat, motil dan dapat tumbuh pada suhu 37 °C sampai 42 °C. *P. aeruginosa* dapat menghasilkan pigmen pioverdin yang berfluoresensi sehingga memberikan warna kehijauan pada media. Dapat juga menghasilkan piosianin yaitu pigmen kebiru-biruan yang tidak berfluoresensi yang berdifusi ke dalam media (Jawetz *et al.*, 2012). *P. aeruginosa* termasuk ke dalam bakteri flora normal di rongga mulut dan sewaktu-waktu dapat menjadi patogen ketika kebersihan rongga mulut tidak terjaga (Manarisip *et al.*, 2020).

P. aeruginosa dapat menginfeksi penyakit pada manusia yaitu pneumonia nosocomial, infeksi kulit dan jaringan lunak mulai dari yang jinak seperti selulitis, infeksi pasca bedah dan menjadi bakteri yang patogen (Bassetti *et al.*, 2018). Selain itu, *P. aeruginosa* juga dapat menginfeksi rongga mulut yaitu terjadinya periodontitis. Periodontitis adalah peradangan pada gingiva, ligament periodontal dan tulang alveolar. Peradangan tersebut terjadi karena adanya aktivitas bakteri *P. aeruginosa*. Bakteri ini juga menghasilkan biofilm sehingga resisten terhadap antibiotik (Suparno *et al.*, 2020).



Gambar II.5. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
(Sumber: Microbiology In Picture, 2022)

Menurut Itis.gov (2021) klasifikasi ilmiah dari bakteri *P. aeruginosa* adalah:

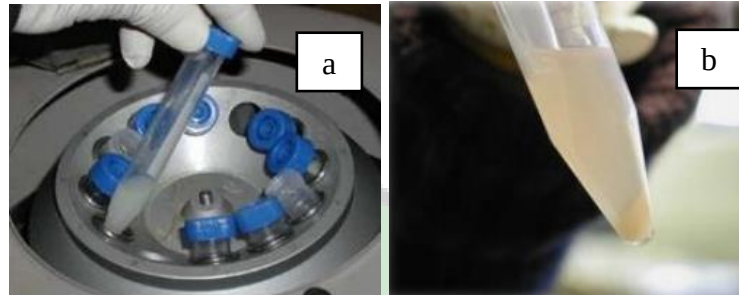
Kingdom	: Bacteria
Sub Kingdom	: Negibacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

II.8 Supernatan Bebas Sel

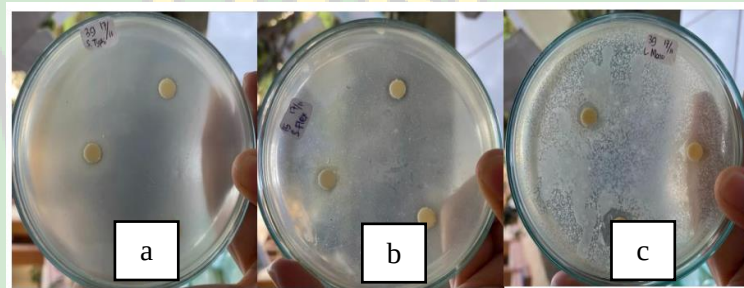
Supernatan bebas sel merupakan hasil dari sentrifugasi yang menghasilkan bobot jenis yang rendah dari pada pelet. Hasil dari sentrifugasi ini terbagi menjadi dua bagian yaitu supernatan dan pelet (sel bakteri) (Naufal *et al.*, 2017). Supernatan berada di atas tabung sedangkan pelet (sel bakteri) akan mengendap dan menempel di bawah tabung sentrifus (Sari & Moulina, 2020). Sentifugasi bekerja dengan menggunakan beberapa tabung sentrifus yang berisikan suatu larutan dan diletakkan secara berhadapan untuk dilakukannya pemisahan. Prinsip kerja dari sentrifugasi menggunakan gaya sentrifugal yaitu perputaran objek secara horizontal dengan adanya jarak dan kecepatan tertentu. Selama perputaran berlangsung objek akan menuju kesatu titik rotasi, tetapi karena ada gaya sentifugal objek tidak akan berada di pusat rotasi tetapi akan menempel pada dinding tabung dan membentuk suatu endapan (Nurhadianty *et al.*, 2018).

Adanya kandungan metabolit sekunder bakteri, supernatan bebas sel banyak digunakan sebagai antibakteri dan berperan sebagai agen antibakteri (Bauza *et al.*, 2016). Menurut Wulansari *et al.*, (2019) antibakteri supernatan bebas sel mengandung senyawa antibakteri yang dapat bekerja menghentikan pertumbuhan bakteri patogen dengan merusak langsung dinding sel bakteri. Senyawa antibakteri supernatan kemungkinan menyebabkan hilangnya permeabilitas dinding sel sehingga menyebabkan sel mati. Perbedaan struktur

dinding sel bakteri antara bakteri Gram positif dan Gram negatif juga mempengaruhi antibakteri supernatan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.



Gambar II.6. Proses Sentrifugasi Suspensi Bakteri (a) Suspensi Bakteri yang Akan di Sentrifugasi (b) Hasil dari Sentrifugasi yang Sudah Terpisah Supernatan dan Pelet (Sumber: Doc Player Info, 2021).



Gambar II.7. Aktivitas Penghambatan Supernatan Bebas Sel Terhadap Bakteri (a) *Salmonella typhi* (b) *Shigella flexneri* (c) *Listeria monocytogenes*. (Sumber: Kusharyati *et al.*, 2020).

Produksi supernatan bebas sel dapat dilakukan dengan menggunakan metode *salting out* dan *salting in*. Metode *salting out* adalah metode pengendapan konsentrat protein yang dilakukan dengan menambahkan ammonium sulfat untuk mendapatkan ekstrak protein (Kusharyati *et al.*, 2019). Metode *salting in* adalah metode untuk melarutkan protein dengan menambahkan larutan *buffer* untuk menjaga struktur protein pada saat proses pemisahan/purifikasi dan penghancuran sehingga memudahkan dalam mencegah adanya aktivitas enzim pendegradasi protein serta mencegah terjadinya perubahan pada molekul protein (Sari *et al.*, 2020). Selain itu penggunaan *shaker* pada produksi supernatan bebas sel juga dapat digunakan.

Fungsi dari *shaker* ialah untuk menghomogenkan antara media dengan bakteri dan mempermudah difusi oksigen ke dalam medium. *Shaker* penting dilakukan untuk menjaga kondisi suatu bakteri tetap dalam keadaan aerob (Pangesti *et al.*, 2012).



BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Multifungsi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh di ruangan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi dan Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh pada bulan Desember hingga bulan Maret tahun 2022.

III.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Jadwal pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1 berikut ini:

No	Kegiatan	Desember				Januari				Februari				Maret	
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
1	Penyiapan alat dan bahan														
2	Pengambilan sampel														
3	Isolasi bakteri endofit dan pemurnian														
4	Identifikasi bakteri endofit														
5	Uji aktivitas antibakteri														
6	Analisis data														

III.3 Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) yang diperoleh dari Dinas Pertanian dan Perkebunan Aceh, Kota Banda Aceh.

III.4 Bakteri Uji

Isolat bakteri uji yang akan digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang diperoleh dari Laboratorium Fundament Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.

III.5 Alat dan Bahan

III.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, batang pengaduk, pipet volume, erlenmeyer, *sentrifuge*, ose, bunsen, *vortex mixer*, kaca objek, penjepit objek, label, spidol, jangka sorong, pinset, korek api, *Laminar Air Flow* (LAF), *rotary shaker*, autoklaf, inkubator, neraca analitik, mikroskop cahaya, gelas *beaker*, lemari pendingin, gelas ukur, gunting, mikropipet, *tube* sentrifugasi 1,5 ml, *tube* sentrifugasi 10 ml, saringan filter membran bakteri 0,22 μm , suntik 5 ml dan rak tabung reaksi.

III.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi (*Ocimum sanctum*), media *Nutrient Agar* (NA) media *Nutrient Broth* (NB), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), larutan Natrium Hipoklorit, aquades steril, alkohol 70%, larutan standar Mc Farland 0,5, media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfida Indol Motility* (SIM) media *Simons Citrat Agar* miring, H_2O_2 30%, *Reagen Kovac's*, safranin, iodin, kristal violet, alkohol, kloramfenikol 30 μg , tisu, sarung tangan, spiritus dan kertas cakram 6 mm.

III.6 Metode Penelitian

Metode yang dilakukan pada penelitian ini adalah metode kualitatif untuk melihat bakteri endofit yang terdapat pada daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) dan metode kuantitatif digunakan untuk menghitung zona hambat yang terbentuk dari aktivitas bakteri endofit terhadap bakteri patogen.

III.7 Prosedur Kerja

III.7.1 Pengambilan Sampel Daun Kemangi

Sampel daun kemangi diperoleh dari Dinas Pertanian dan Perkebunan Aceh, Kota Banda Aceh. Untuk jenis daun yang diambil ialah jenis daun muda karena pada daun muda belum terjadinya penurunan kandungan senyawa bioaktif dibandingkan daun tua (Febriyanti, 2020). Setelah itu sampel yang telah terkumpul dimasukkan ke dalam kantong plastik dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Multifungsi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

III.7.2 Isolasi Bakteri Endofit

Daun kemangi yang telah diambil sebanyak 10 gram dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan air mengalir. Setelah itu dilakukan sterilisasi permukaan, daun kemangi direndam menggunakan alkohol 70% selama 1 menit, lalu dicuci dengan aquades steril dan NaOCl 5% selama 5 menit. Setelah itu dicuci kembali dengan menggunakan alkohol selama 30 detik dan terakhir dicuci dengan aquades steril (Irdawati *et al.*, 2017). Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan pengenceran berseri. Daun yang telah disterilisasi kemudian digerus atau dihaluskan menggunakan lumpang dan mortal yang steril. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam botol falkon/botol sampel yang telah berisikan 9 ml NaCl 0,9 % (Fithriyah, 2015). Selanjutnya dilakukan pengenceran 10^{-1} dengan diambil 1 ml sampel daun yang telah dihaluskan lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan 9 ml NaCl 0,9% lalu dihomogenkan dengan vortex (Sepriana *et al.*, 2020). Kemudian diambil lagi 1 ml suspensi dari pengenceran 10^{-1} dan dilakukannya pengenceran 10^{-2} sampai ke pengenceran 10^{-4} . Diinokulasikan suspensi bakteri ke media NA dari pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-4} dengan menggunakan metode *spread plate*. Sebanyak 0,1 ml suspensi pengenceran bakteri disebarkan pada media NA kemudian diratakan dengan menggunakan batang L lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam sampai terlihat pertumbuhan koloni (Munif *et al.*, 2012 dan Aqlinia *et al.*, 2020). Pengulangan dilakukan sebanyak 3x (Sari *et al.*, 2020).

III.7.3 Pemurnian Bakteri Endofit

Isolat bakteri bakteri endofit dimurnikan dengan menggunakan cawan gores (*streak plate*) untuk mendapatkan koloni yang terpisah dari koloni yang lain. Selanjutnya isolat bakteri endofit yang tumbuh diinokulasikan menggunakan jarum ose dengan cara digores pada media NA. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Pratiwi, 2015).

III.7.4 Identifikasi Bakteri Endofit

III.7.4.1 Identifikasi Secara Makroskopis

Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan mengamati koloni bakteri seperti bentuk, warna, margin dan elevasi pada permukaan media agar (Aqlinia *et al.*, 2020).

III.7.4.2 Identifikasi Secara Mikroskopis

a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui sifat bakteri yang termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif dan Gram negatif. Diambil kaca objek lalu disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%. Sebanyak satu isolat bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose lalu diletakkan di atas kaca objek, setelah itu difiksasi di atas api bunsen. Isolat bakteri kemudian ditetesi larutan kristal violet sebanyak 2 tetes dan didiamkan selama satu menit. Lalu isolat dibilas dengan menggunakan aquades dan dikeringkan. Selanjutnya isolat bakteri ditetesi alkohol 95% secara perlahan selama 30 detik, kemudian dibilas kembali dengan menggunakan aquades dan dikeringkan. Setelah itu isolat bakteri ditetesi larutan safranin secara perlahan selama 30 detik lalu dibilas kembali dengan menggunakan aquades dan dikeringkan. Isolat bakteri yang telah dilakukan pewarnaan Gram lalu diamati perubahan warna bakteri dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 100x (Ismail *et al.*, 2017).

b. Pewarnaan Endospora

Uji pewarnaan endospora dilakukan dengan cara menyiapkan kaca benda, kemudian ditetesi dengan aquades. Setelah itu diambil satu ose bakteri dan disebarkan pada kaca benda dan difiksasi dengan api kecil. Kemudian ditetesi malachite green dan dibiarkan diatas pemanas selama 2-3 menit, setelah itu dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Kemudian ditetesi larutan safranin dan didiamkan selama 30 detik setelah itu dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Kemudian diamati dibawah mikroskop (Cappucino & Sherman, 2014).

III.7.5 Uji Biokimia

a. Uji TSIA (*Triple Sugar-Iron Agar*)

Uji TSIA dilakukan untuk membedakan antara kelompok yang berbeda atau genus *Enterobacteriaceae* yang dapat memfermentasi glukosa dengan produksi asam. Uji TSIA dilakukan dengan menginokulasi isolat bakteri pada media *Triple Sugar Iron Agar* dengan cara menggores pada media miring dan menusuk bagian tegaknya kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam kemudian diamati perubahan warna media. Apabila pada bagian media miringnya berubah warna menjadi warna merah dan bagian bawah medianya berwarna kuning maka bakteri mampu memfermentasikan glukosa. Apabila pada kedua bagian media tersebut berwarna kuning, maka bakteri tersebut mampu memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa (Cappuccino & Sherman, 2014).

b. Uji Indol

Pengujian indol dilakukan dengan cara menginokulasi isolat bakteri ke dalam media *Sulfida Indole Motility* (SIM) kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Selanjutnya pengamatan hasil uji indol dilakukan dengan ditambahkan 10 tetes *Reagen Kovac's*. Uji positif ditandai dengan terbentuknya lapisan berwarna merah pada bagian atas biakan (Cappuccino & Sherman, 2014).

c. Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan pada media *Sulfida Indole Motility* (SIM) kemudian diambil sebanyak satu ose isolat lalu ditusuk pada media SIM. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Hasil positif dari uji motilitas

terdapat adanya pertumbuhan di sekitar bekas tusukan jarum ose pada media dan jika tidak terdapat adanya pertumbuhan disekitar bekas tusukan maka hasilnya negatif (Sardiani *et al.*, 2015).

d. Uji Urease

Uji urease dilakukan pada media Urea Agar dengan cara menginokulasikan satu isolat bakteri uji dengan menggunakan jarum ose, kemudian digoreskan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam. Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna menjadi merah muda dan hasil negatif tidak adanya perubahan yang terjadi (Cappuccino & Sherman, 2014).

e. Uji Simon Sitrat

Uji simon sitrat dilakukan pada media Simon sitrat dengan menginokulasikan satu isolat bakteri uji dengan menggunakan jarum ose kemudian digoreskan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Jika hasilnya positif ditandainya dengan adanya pertumbuhan pada agar miring dan berwarna biru. Jika hasilnya negatif maka tidak adanya perubahan yang terjadi dan tetap berwarna hijau (Cappuccino & Sherman, 2014).

f. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk membedakan antara genus *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan *Enterobacteriaceae*. Diambil satu isolat bakteri uji dengan menggunakan jarum ose yang diletakkan pada kaca benda, kemudian ditetesi larutan H₂O₂ 3%. Jika menghasilkan gelembung O₂ maka bakteri tersebut dapat menghasilkan enzim katalase (Cappuccino & Welsh, 2018).

g. Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim katalase pada bakteri. Pengujian oksidase dilakukan dengan diambil satu isolat bakteri uji ke *oxidase strip*. Hasil positif jika terjadi perubahan warna biru pada kertas *oxidase strip* (Antriana, 2014).

h. Uji Kebutuhan Oksigen

Uji kebutuhan oksigen dilakukan dengan cara diambil satu isolat bakteri dengan jarum ose kemudian diinokulasi pada tabung reaksi 9 ml yang telah berisikan media NA semi solid lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Panjaitan *et al.*, 2020). Jika bakteri tumbuh di permukaan media maka dikategorikan aerob obligat. Jika bakteri tumbuh sepanjang kolom tabung dan terpekat di permukaan maka dikategorikan aerob fakultatif. Jika bakteri tumbuh di sepanjang kolom tabung maka aerob aerotolerant. Jika bakteri tumbuh hanya di permukaan bawah dan tidak sampai sepanjang kolom tabung maka mikroaerofilik dan jika hanya tumbuh di dasar tabung maka anaerob obligat (Kurniasari & Putra, 2011).

III.7.6 Produksi Supernatan Bebas Sel Bakteri dari Bakteri Endofit

Produksi supernatan bebas sel dilakukan dengan cara menginokulasi isolat bakteri endofit daun kemangi sebanyak satu ose ke dalam 30 ml media NB kemudian di *shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah di *shaker* selama 24 jam, lalu diencerkan dengan menggunakan larutan NaCl 0.9% steril agar memperoleh jumlah sel 10^8 CFU/ml. Suspensi tersebut diinokulasikan sebanyak 30 ml ke dalam 270 ml media NB dan kemudian di *shaker* kembali dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 48 jam (Kartikasari dan Purwestri, 2021). Isolat bakteri endofit yang telah di *shaker* selama 48 jam kemudian dipindahkan ke dalam *tube* sentrifus berukuran 1.5 ml, setelah itu dilakukannya sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm (*rotary per minute*) pada suhu 4 °C selama 15 menit. Setelah sentrifugasi selesai, supernatan yang diperoleh disaring dengan menggunakan saringan mikro berdiameter 0,22 µm untuk memisahkan antara supernatan dengan pelet. Supernatan yang didapat kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri (Kursia *et al.*, 2020; Ramadhanty *et al.*, 2021).

III.7.7 Penyiapan Bakteri Uji

Isolat bakteri uji *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh dari laboratorium Fundament Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. Sebanyak 1 isolat bakteri uji diambil dengan menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasikan ke dalam media NA miring dengan cara digores. Setelah itu bakteri uji tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Afni *et al.*, 2015).

III.7.8 Peremajaan Bakteri Uji

Peremajaan bakteri uji dilakukan dengan menggunakan metode cawan gores (*streak plate*). Bakteri uji *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diambil masing-masing satu koloni dengan menggunakan jarum ose kemudian digoreskan pada media NA. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Yanti & Mitika, 2017).

III.7.9 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji peremajaan yang telah berumur 24 jam diambil dengan menggunakan jarum ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl 0,9%. Kemudian kekeruhan yang diperoleh disetarakan dengan standar McFarland 0,5 atau $1,5 \times 10^8$ (Adityawarman *et al.*, 2019).

III.7.10 Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol karena antibiotik ini efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif serta memiliki aktivitas bakteristatik dan bakterisidal. Sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades untuk membuktikan bahwa aquades tidak memiliki sifat bakterisidal pada bakteri uji (Dian *et al.*, 2015 dan Dwicahyani *et al.*, 2018).

III.7.11 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode uji *Kirby-Bauer* yang menggunakan *paper disc* pada media MHA. Media MHA dituang ke dalam cawan petri lalu ditunggu hingga memadat, setelah itu suspensi bakteri uji ditumbuhkan

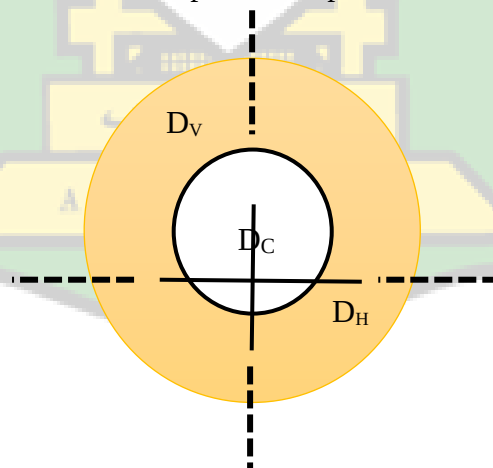
pada media MHA dengan cara diswab menggunakan *cotton swab* steril. Kemudian diambil kertas cakram 6 mm dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas media MHA (Fitriyah, 2015). Selanjutnya sebanyak 20 µL supernatan bakteri endofit ditetaskan di atas *paper disk* yang diletakkan di atas medium MHA pada cawan petri yang telah disebar suspensi bakteri uji yaitu *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali, setelah itu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong (Kursia *et al.*, 2020) dan (Aqlinia *et al.*, 2020).

III.7.12 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat bertujuan untuk mengukur zona hambat yang terbentuk, pada pengukuran ini menggunakan prosedur dari Toy *et al.*, (2015). Zona hambat yang terbentuk diukur diameter vertikal dan diameter horizontal menggunakan jangka sorong dengan satuan mm. Diameter zona hambat dapat diukur dengan menggunakan rumus:

$$\frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Pengukuran zona hambat dapat dilihat pada Gambar 3.1:



Gambar III.1 Pengukuran Diameter Zona Hambat

Keterangan:

D_V : Diameter vertical

D_H : Diameter horizontal

D_C : Diameter cakram

Tabel III.2 Kriteria Zona Hambatan Pertumbuhan (Erlyn, 2016).

Respon Hambatan Pertumbuhan	Diameter Zona Hambat
Lemah	≤ 5 mm
Sedang	5-10 mm
Kuat	10-20 mm
Sangat kuat	≥ 20 mm

III. 13 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini secara kualitatif yang dilakukan secara deskriptif berdasarkan jumlah isolat dan karakteristik morfologi bakteri endofit secara mikroskopis dan makroskopis yang disajikan dalam bentuk gambar sedangkan data kuantitatif dianalisis berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat dan disajikan dalam bentuk tabel dari hasil uji aktivitas supernatan bakteri endofit terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

IV.1.1 Karakterisasi Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L.).

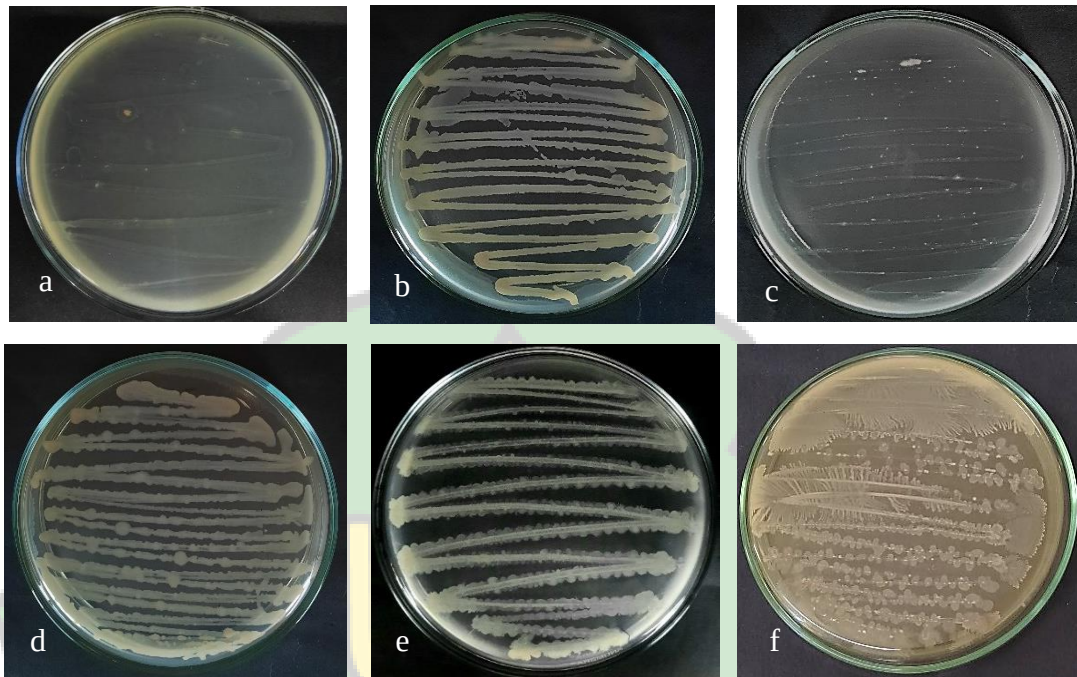
Berdasarkan hasil penelitian, isolasi bakteri endofit dari daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) yang telah dilakukan menghasilkan 6 isolat bakteri dengan nama isolat EO (Endofit Ocimum). Kemudian dilakukan terhadap 6 isolat tersebut identifikasi secara makroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan melihat bentuk dan koloni yang terbentuk seperti pada isolat EO1 dan EO6 memiliki bentuk koloni berbenang-benang, pada EO2 dan EO4 memiliki bentuk koloni bulat, pada EO 3 memiliki bentuk koloni bulat titik dan pada EO5 memiliki bentuk koloni seperti akar. Karakterisasi bakteri endofit dari 6 isolat ini dapat dilihat pada Tabel IV.1.

Tabel IV.1. Karakterisasi Morfologi Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L.)

NO	Isolat	Bentuk	Margin	Elevasi	Warna
1.	EO 1	Benang-benang	Benang-benang	Datar	Krem
2.	EO 2	Bulat	Rata	Datar	Krem transparan
3.	EO 3	Bulat titik	Tidak beraturan	Cembung	Putih
4.	EO 4	Bulat	Rata	Datar	Krem
5.	EO 5	Seperti akar	Benang-benang	Datar	Krem
6.	EO 6	Benang-benang	Benang-benang	Datar	Putih krem

Keterangan EO: Endofit Ocimum

Adapun gambar morfologi koloni bakteri endofit kemangi dapat dilihat pada Gambar IV.1 di bawah ini:



Gambar IV.1.Morfologi koloni bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) a. Isolat EO 1, b. Isolat EO 2, c. Isolat EO 3, c. Isolat EO 3, d. Isolat EO 4, e. Isolat EO 5, f. Isolat EO 6.

Setelah dilakukan identifikasi secara makroskopis terhadap 6 isolat tersebut kemudian dilanjutkan dengan identifikasi secara mikroskopis yang berupa uji pewarnaan Gram, uji pewarnaan endospora dan uji biokimia. Uji biokimia yang dilakukan berupa uji indol, motilitas, urease, simon sitrat, kebutuhan oksigen dan TSIA. Hasil uji pewarnaan Gram, uji endospora dan uji biokimia dapat dilihat pada Tabel IV.2:

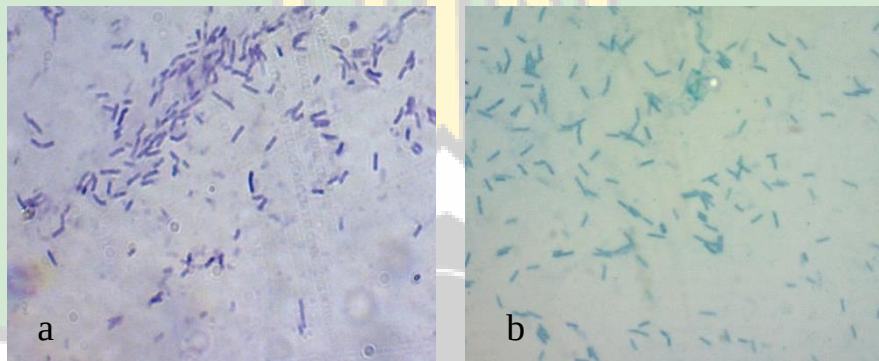
Tabel IV.2. Uji Mikroskopis Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L.)

NO	Nama Isolat	Bentuk Gram	Indol	Motilitas	Katalase	Urease	Oksidase	Simon Sitrat	Kebutuhan Oksigen	TSIA	Endospora	Genus
1.	EO 1	+	-	-	+	+	+	-	AF	K/A	+	<i>Bacillus</i> sp. 1
2.	EO 2	+	-	+	+	+	+	-	AF	K/A	+	<i>Bacillus</i> sp. 2
3.	EO 3	+	-	+	+	+	+	-	AF	K/A	+	<i>Bacillus</i> sp. 2
4.	EO 4	+	-	-	+	+	+	-	AF	K/A	+	<i>Bacillus</i> sp. 3
5.	EO 5	+	-	+	+	+	+	+	AF	K/A	+	<i>Bacillus</i> sp. 4
6.	EO 6	+	-	+	+	+	+	-	AF	K/A	+	<i>Bacillus</i> sp. 5

Keterangan:

EO : Endofit Ocimum
 AF : Anaerob fakultatif
 K/A : Kalis/Acid
 (-) : Negatif
 (+) : Positif

Berdasarkan tabel di atas, uji pewarnaan Gram didapatkan semua isolat bakteri berbentuk basil positif. Uji indol didapatkan hasil negatif pada semua isolat. Uji motilitas didapatkan dua isolat negatif motilitas dan sebagian isolat lainnya positif. Uji katalase dan uji urease menunjukkan hasil positif pada semua isolat. Uji simon sitrat didapatkan satu isolat positif sedangkan isolat yang lainnya negatif. Uji oksidase menunjukkan hasil positif pada semua isolat, uji kebutuhan oksigen yang menunjukkan semua isolat anaerob fakultatif dan pada uji TSIA didapatkan semua isolat dapat mengfermentasikan glukosa. Untuk uji pewarnaan endospora, hasil dari uji endospora pada semua isolat adalah positif memiliki endospora. Untuk gambar hasil pewarnaan Gram dan uji endospora dapat dilihat pada Gambar IV.2.



Gambar IV.2. (a) Hasil pewarnaan gram dan (b) uji endospora pada isolat bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.)

Hasil dari identifikasi secara biokimia, 6 isolat bakteri endofit daun kemangi memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus* sp. Identifikasi bakteri merujuk pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan beberapa literatur. Adapun karakterisasinya dapat dilihat pada Tabel IV.3 di bawah ini:

Tabel IV.3. Karakterisasi Genus *Bacillus* sp.

Genus	Karakteristik
<i>Bacillus</i> sp.	Bentuk basil positif Endospora (+) Katalase (+/-) Motilitas (+/-) Indol (-) Oksidase (+/-) Urease (+/-) Simon sitrat (+/-) Glukosa (+/-) Laktosa (+/-) Sukrosa (+/-) Anaerob/anaerob fakultatif (Bergey's, 1957) (Isnayanti, 2020) (Silalahi <i>et al.</i> , 2020) (Iramadhan, 2018) (Baraga et al., 2020) (Aji dan Lestari, 2020)

IV.2.1 Hasil Uji Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

Hasil dari uji aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan hasil yang berbeda-beda. Aktivitas supernatan endofit kemangi terhadap *Streptococcus mutans* dikategorikan lemah dan sedang. Isolat EO 1, EO 2, EO 3, dan EO 4 dikategorikan lemah sedangkan pada isolat EO 5 dan EO 6 dikategorikan sedang. Untuk uji aktivitas supernatan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan zona hambat dengan rata-rata rendah pada semua isolat. Data hasil zona hambatnya dapat dilihat pada Tabel IV.4 dan Tabel IV.5.

Tabel IV.4. Hasil Uji Aktivitas Supernatan Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat				Rata-Rata (mm)	Kriteria Zona Hambat
	Pengulangan					
	1	2	3	4		
EO1	4.81	3.84	4.935	2.8	4.09	Lemah
EO2	1.065	1.78	1.405	2.53	1.695	Lemah
EO3	4.18	5.375	4.555	1.555	3.91	Lemah
EO4	2.045	3.15	3.91	3.095	3.14	Lemah
EO5	5.365	4.665	6.25	6.46	5.685	Sedang
EO6	5.075	6.31	5.24	5.545	5.49	Sedang
Kontrol	21.24	21,14	20.32	20,65	20,83	Sangat Kuat

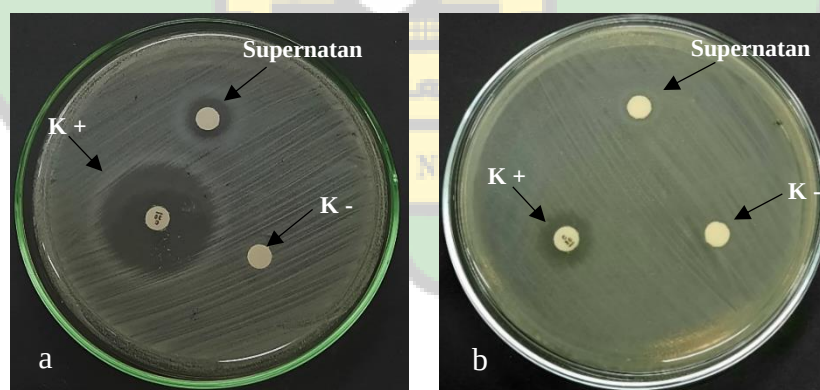
Keterangan: EO: Endofit *Ocimum*

Tabel IV.5. Hasil Uji Aktivitas Supernatan Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat				Rata-Rata (mm)	Kriteria Zona Hambat
	Pengulangan					
	1	2	3	4		
EO1	2.675	3.905	3.81	2.955	3.33	Lemah
EO2	5.675	4.31	2.045	1.645	3.41	Lemah
EO3	4.19	2.035	1.93	2.68	2.708	Lemah
EO4	3.065	2.935	2.59	3.555	3.036	Lemah
EO5	2.095	3.165	2.34	1.885	2.37	Lemah
EO6	3.45	2.89	2.29	2.685	2.82	Lemah
Kontrol	8,13	8.00	7,826	6,057	7,503	Sedang

Keterangan: EO: Endofit *Ocimum*

Hasil uji aktivitas supernatan bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar IV.3.



Gambar IV.3. Hasil Uji Aktivitas Supernatan Pada Bakteri Uji a. *Streptococcus mutans* pada isolat EO 5 dan b. *Pseudomonas aeruginosa* pada isolat EO 1

IV.2 Pembahasan

IV.2.1 Karakterisasi Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

Berdasarkan hasil penelitian sampel daun kemangi yang diambil adalah jenis daun yang muda. Karena pada daun yang muda belum terjadi penurunan kandungan senyawa bioaktif dibandingkan dengan daun tua (Febriyanti, 2020). Pada saat isolasi bakteri endofit adanya penambahan nistatin sebagai antijamur pada media nutrisi agar. Hal ini bertujuan untuk menghindari adanya pertumbuhan jamur kontaminan pada media (Sagita *et al.*, 2017). Hasil dari isolasi bakteri endofit daun kemangi diperoleh enam isolat yang berbeda.

Karakteristik bakteri endofit daun kemangi yang didapat memiliki morfologi koloni bakteri yaitu bulat, berbenang-benang dan akar-akar. Elevasinya berbentuk datar dan cembung, memiliki tepian yang tidak beraturan, berbenang-benang dan rata serta memiliki warna yang berbeda yaitu putih, putih krem, krem dan krem transparan. Penelitian sebelumnya telah berhasil dilakukan oleh Pulungan dan Tumanggar (2018) memperoleh 5 isolat dari isolasi bakteri endofit pada daun buah-buahan. Sedangkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kurniasih (2021) yang mengisolasi bakteri endofit dari daun tanaman nampu (*Homalomena javanica* V.A.V.R) didapatkan 10 isolat yang berbeda.

Hasil dari karakterisasi morfologi dan pewarnaan Gram dilanjutkan dengan identifikasi uji biokimia. Uji biokimia yang diperoleh pada uji motilitas terdapat dua isolat yang negatif motilitas yaitu isolat EO 1 dan EO 4 ditandai dengan tidak adanya pergerakan bakteri pada media sedangkan isolat EO 2, EO 3, EO 5 dan EO 6 positif motilitas yang ditandai adanya pergerakan bakteri pada media. Menurut Panjitan *et al.*, (2020) bakteri yang positif motilitas ditandai dengan adanya pergerakan bakteri dengan alat gerak berupa flagella. Sedangkan bakteri yang negatif motilitas tidak adanya pergerakan bakteri pada bekas tusukan (Detha *et al.*, 2019).

Uji indol yang telah dilakukan pada penelitian ini adalah semua isolat hasilnya negatif yaitu tidak terbentuk cincin merah setelah ditetesi larutan reagen *kovac's*. Tujuan dilakukannya uji indol untuk mengetahui bakteri dalam membentuk enzim triptopanase (Banna dan Arifuddin, 2021). Penelitian dari Ihsan *et al.*, (2021) menyatakan bahwa indol yang negatif ditandai dengan tidak

terbentuknya lapisan berwarna merah karena bakteri tidak bisa menggunakan indol sebagai sumber karbon. Sedangkan jika indol positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah setelah ditetesi reagen kovac's. Adanya cincin merah yang terbentuk dikarenakan indol bereaksi dengan aldehida (Gunawan *et al.*, 2022).

Uji katalase dan uji urease pada penelitian ini semua isolat hasilnya positif. Uji katalase positif ditandai dengan adanya gelembung udara setelah ditetesi larutan H₂O₂ (hidrogen peroksida). Seperti penelitian Hala dan Arifin (2021) yang mendapatkan hasil uji katalase positif pada semua isolat. Menurut penelitian Mailoa *et al.*, (2020) adanya gelembung gas karena dari pembentukan gas oksigen (O₂) dari pemecahan H₂O₂ oleh aktivitas enzim katalase yang dihasilkan oleh bakteri. Pada uji urease hasil yang didapat pada penelitian ini adalah semua isolat hasilnya positif yang ditandai dengan berubahnya media menjadi warna merah muda. Uji urease bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam mendegradasi urea dengan menghasilkan enzim urease. Berubahnya media menjadi merah muda karena bakteri memiliki enzim yang dapat menghidrolisis urea menjadi karbondioksida dan ammonia (Azizah, 2020).

Hasil uji oksidase pada penelitian ini adalah positif pada semua isolat. Pada penelitian Mahyaruddin *et al.*, (2021) telah melakukan uji oksidase pada isolat potensial menghasilkan positif oksidase pada semua isolat. Penelitian Serdani *et al.*, (2018) juga melakukan uji oksidase dan memperoleh hasil positif. Kemudian hasil uji simon sitrat pada penelitian ini menghasilkan satu isolat yang positif sitrat yaitu EO 5 sedangkan lima isolat yang lain yaitu EO1, EO 2, EO 3, EO 4 dan EO 6 negatif sitrat. Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna media dari warna hijau menjadi berwarna biru hal ini karena bakteri dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi (Prihanto *et al.*, 2017).

Uji kebutuhan oksigen pada penelitian ini memperoleh hasil uji yaitu anaerob fakultatif pada semua isolat. Bakteri anaerob fakultatif adalah bakteri yang dapat hidup dalam kondisi yang baik tanpa adanya oksigen tetapi dapat hidup dalam kondisi yang membutuhkan oksigen (aerob). Hal ini karena bakteri tersebut dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi oksigen saat proses metabolisme yang disebabkan oleh enzim katalase pada bakteri (Sari *et al.*, 2018). Uji TSIA pada

penelitian ini memperoleh hasil yaitu semua isolat dapat memfermentasi glukosa. Hasil uji positif fermentasi glukosa ditandai dengan berubahnya warna media pada bagian *slank* yaitu berwarna kuning dan *butt* berwarna merah. Hal ini seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Hartanti (2020) memperoleh hasil uji TSIA yang dapat memfermentasi glukosa pada semua isolat. Hasil uji pewarnaan endospora yang telah dilakukan pada enam isolat bakteri endofit daun kemangi adalah positif memiliki endospora. Menurut penelitian Baraga *et al.*, (2020) pengujian endospora dilakukan untuk memastikan bakteri yang didapat adalah genus dari *Bacillus* dan hasil penelitiannya terhadap uji endospora pada isolat bakteri endofit tanaman kunyit adalah positif endospora. Pewarnaan endospora bertujuan untuk mengetahui bakteri yang dapat menghasilkan endospora. Bakteri yang menghasilkan endospora akan berwarna hijau karena spora akan mengikat *malachite green* dan tidak akan luntur ketika ditetesi larutan safranin (Fitria, 2021).

Berdasarkan identifikasi karakterisasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis serta uji biokimia, enam isolat bakteri endofit daun kemangi diduga memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus* sp. Hal ini seperti penelitian Silalahi *et al.*, (2020) yang berhasil mengisolasi bakteri endofit dari daun dan batang tanaman jeruk siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) memperoleh karakteristik genus *Bacillus* sp. Iramadhan (2018) juga melaporkan bahwa hasil dari isolasi bakteri endofit dari akar tanaman pletekan (*Ruellia tuberosa* L) memperoleh karakteristik genus yaitu genus *Bacillus* sp, *Corynebacterium* spp. dan *Lactobacillus* spp. Wu *et al.*, (2021) menyatakan bahwa genus *Bacillus* sp. merupakan genus yang banyak diperoleh dari hasil isolasi tanaman obat yaitu sekitar 86 jenis tanaman dari 40 famili. Genus tersebut dapat mempengaruhi pertumbuhan, ketahanan terhadap stres dan metabolisme tanaman.

Karakterisasi genus *Bacillus* menurut buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1957) ialah memiliki bentuk sel basil/batang, Gram positif, katalase positif dan berendospora. Endospora merupakan ciri khas genus *Bacillus* yang membedakan dari genus yang lain. Endospora dapat membentuk spora dan akan bekerja sebagai pertahanan diri pada saat kondisi buruk (Zulkifli *et al.*, 2018). Menurut Isnayanti (2020) ciri-ciri karakteristik bakteri yang mengarah

ke genus *Bacillus* sp. adalah bakteri basil positif, memiliki endospora, katalase positif, urease positif, motilitas positif, indol negatif, simon sitrat positif dan dapat memproduksi glukosa. Secara morfologi salah satu karakterisasi genus *Bacillus* yaitu memiliki koloni dengan permukaan cembung dan datar (Puspita *et al.*, 2017).

Bakteri endofit awalnya berasal dari adanya asosiasi mikroba tanah atau rhizosfer pada tanaman dan tidak menyebabkan bahaya bagi tanaman. Bakteri rhizosfer dapat masuk ke dalam jaringan tanaman melalui stomata, lentisel, akar ataupun rambut akar. Kemudian bakteri yang masuk berkolonisasi di dalam sel-sel tanaman dan juga pada pembuluh vaskular. Pertumbuhan koloni bakteri endofit paling banyak terdapat pada bagian akar dan semakin berkurang dari batang hingga ke daun (Tangapo, 2020). Pada daun bakteri endofit dapat berkolonisasi di sel epidermis atas, sel mesofil palisade, pembuluh xilem serta ruang antar sel lapisan mesofil. Jumlah koloni pada bakteri endofit akan semakin berkurang jika sudah berada pada organ reproduksi seperti bunga, buah dan biji (Liu *et al.*, 2017).

Bakteri endofit memiliki peran yang menguntungkan bagi tanaman yaitu dapat memproduksi fitohormon berupa hormon AIA (Asam Indol Asetat) yang berperan dalam pertumbuhan (Aji dan Lestari, 2020). Selain itu bakteri endofit dapat dijadikan sebagai pengendalian hayati pada tanaman, salah satu genus bakteri endofit yang dapat dijadikan sebagai agen pengendalian hayati adalah *Bacillus* sp. Hasil riset dari Saputra *et al.*, (2015) menyatakan bahwa penggunaan genus *Bacillus* spp. dapat dijadikan sebagai agen pengendalian hayati terhadap bakteri penyebab layu pada tanaman dan dari hasil penelitiannya bahwa genus *Bacillus* spp. dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab layu pada tanaman dengan baik. Flori *et al.*, 2020 juga menambahkan bahwa bakteri yang berasal dari genus *Bacillus* dikenal sebagai bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan antibakteri dari metabolit sekundernya.

IV.2.2 Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basillicum* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup didalam jaringan tanaman dan memiliki hubungan simbiosis yang saling menguntungkan dengan tanaman inang (Santos *et al.*, 2018). Bakteri endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan berat molekul yang lebih rendah, dihasilkan secara ekstraseluler dan dapat diekskresikan oleh sel mikroba (Sigh *et al.*, 2017; Pinu dan Boas, 2017). Metabolit sekunder dapat diperoleh dengan cara disentrifugasi dan menghasilkan supernatan bebas sel. Supernatan bebas sel adalah hasil dari proses sentrifugasi yang menghasilkan bobot jenis yang rendah dari pada pelet (sel bakteri) (Naufal *et al.*, 2017). Supernatan bebas sel memiliki senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu dengan menyerang langsung pada dinding sel bakteri (Wulansari *et al.*, (2019).

Hasil dari pengujian aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 27853 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan ditandai adanya zona hambat yang terbentuk setelah masa inkubasi selama 24 jam. Dari hasil pengujian yang dilakukan pada enam isolat supernatan bebas sel terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 27853 diketahui bahwa isolat EO5 dan EO6 menghasilkan zona hambat paling baik dengan rata-rata sedang. Sedangkan pada isolat EO1, EO2, EO3 dan EO4 menghambat dengan kriteria lemah. Hal ini seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Susanti (2021) menyatakan aktivitas supernatan bebas sel dari bakteri endofit tanaman lidah buaya (*Aloe vera*) menghasilkan zona hambat dengan kriteria sedang dan lemah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Ramadhanty *et al.*, (2021) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dari supernatan bebas sel bakteri endofit dari tumbuhan mangrove (*Avecennia marina*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *Salmonella typhi* dengan kategori sedang dan kuat.

Hasil aktivitas supernatan bebas sel terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853, semua isolat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan zona hambat yang rata-rata lemah. Penelitian dari Aqlinia *et al.*, (2020) memperoleh aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit dari tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) dengan zona hambat lemah. Hal ini dikarenakan kemampuan setiap bakteri endofit dalam memproduksi metabolit sekunder sebagai antibakteri berbeda-beda. Menurut Aryani *et al.*, (2020) zona hambat yang dikategorikan lemah dari hasil aktivitas metabolit sekunder bakteri endofit kemungkinan mampu menghasilkan senyawa antibakteri tetapi dalam jumlah yang sedikit. Untuk hasil kontrol positif menghasilkan zona hambat dengan rata-rata sedang, kuat dan sangat kuat. Kriteria zona hambat yang didapat merujuk pada respon hambatan oleh Erlyn (2016) yang membagi menjadi empat kategori yaitu, pada penghambatan lemah berkisar (≤ 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm) dan sangat kuat (≥ 20 mm).

Berdasarkan hasil uji aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi didapatkan hasil isolat potensial yaitu EO5 dan EO6 dengan kategori zona hambat sedang, terhadap *S. mutans*. Dari hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Oktavia dan Pujiyanto, (2018) tentang isolasi dan uji antagonis bakteri endofit tapak dara (*Catharanthus roseus*, L) menghasilkan zona hambat dengan kategori lemah pada semua isolat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian yang serupa juga telah dilakukan oleh Setianah *et al.*, (2021) tentang aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit asal daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) menghasilkan zona hambat yang lemah pada semua isolat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Dari hasil tersebut bahwa penggunaan supernatan bebas sel sebagai antibakteri lebih baik dibandingkan hanya menggunakan aktibakteri endofit saja.

Dari hasil uji aktivitas supernatan bebas bakteri endofit dan kemangi, dua isolat potensial EO5 dan EO6 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. mutans*. Bakteri endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya (Aqlinia, 2020). Senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh bakteri endofit daun kemangi yaitu flavonoid, alkaloid, saponin,

tanin dan steroid (Kusumastuti *et al.*, 2021). Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan merusak dinding sel dan menyebabkan sel bakteri mati (Purnamaningsih dan Supadmi, 2020). Alkaloid memiliki sifat toksisitas yaitu dapat merusak membran sel bakteri. Sifat antibakteri senyawa saponin akan meningkatkan permeabilitas sel sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis atau pecah, sedangkan senyawa steroid memiliki antibakteri dengan menghambat sintesis protein pada bakteri (Manurung *et al.*, 2021 dan Oktavia *et al.*, 2018). Senyawa tanin memiliki sifat antibakteri dengan menyebabkan denaturasi protein sehingga metabolisme bakteri akan terganggu (Ballo *et al.*, 2021).

Perbedaan zona hambat isolat EO5 dan EO6 yang dihasilkan oleh aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi terhadap bakteri *S. mutans* lebih baik dibandingkan dengan aktivitas supernatan bebas sel pada bakteri *P. aeruginosa*. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan antara struktur penyusun dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif (Wulansari *et al.*, 2019). Bakteri Gram positif memiliki dinding sel membran plasma tunggal yang dilapisi dinding sel berupa peptidoglikan sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lapisan dinding yang tebal yaitu terdapat membran plasma yang dilapisi oleh membran luar permeabel. Diantara dua lapisan membran tersebut terdapat dinding sel yang tebal yaitu peptidoglikan, hal ini lah yang membuat bakteri Gram positif lebih mudah dihambat (Ulfah, 2020).

Aktivitas antibakteri yang berasal dari supernatan bebas sel dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dan Gram positif dengan signifikan. Dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, antibakteri supernatan bebas sel dapat menyebabkan bakteri lisis dengan merusak membran sel pada bakteri patogen (Kim *et al.*, 2020). Hasil riset Kim *et al.*, 2022 menyatakan bahwa antibakteri supernatan bebas sel probiotik *Lactobacillus brevis* dapat mengobati adanya plak pada gigi. Zat antibakteri yang dihasilkan oleh supernatan bebas sel tersebut dapat membunuh pertumbuhan bakteri Gram positif dengan cara mengganggu membran sel dan menghambat pertumbuhannya dengan menurunkan pH serta menghambat sintesis DNA. Dengan demikian supernatan

bebas sel dapat dijadikan sebagai agen antibakteri yang memiliki sifat antibakteri yang baik dalam menghambat bakteri patogen.

Aktivitas supernatan bebas sel yang memperoleh hasil lemah diakibatkan oleh beberapa hal yaitu, pemberian suspensi larutan supernatan sebanyak 20 μ L yang tidak seimbang dengan penggunaan kloramfenikol sebesar 30 μ g. Sehingga supernatan bebas sel bakteri endofit kemangi tidak terserap semua oleh *paper disk* dan sedikit berdifusi ke dalam media. Selain itu pemilihan jenis daun dapat mempengaruhi jumlah metabolit yang akan dihasilkan, sebaiknya memilih jenis daun yang sudah optimum dalam memperoleh metabolit sekunder.

Kemudian aktivitas lemah juga dapat dipengaruhi pada saat sentrifugasi untuk memperoleh supernatan bebas sel tidak menggunakan suatu senyawa kimia untuk menghancurkan sel-sel bakteri. Sel bakteri biasanya dihancurkan dengan menggunakan senyawa kimia seperti EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetic*), lisozim, SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*) dan ACK (*Ammonium Chloride Pottasium*). Penggunaan senyawa kimia tersebut bertujuan untuk memperoleh supernatan murni yang terbebas dari sel-sel bakteri. Selain itu supernatan bebas sel mengandung protein yang sebagian besar protein ini akan rusak jika tidak sesuai dengan lingkungannya sehingga untuk menjaga fungsi dan struktur dari protein tersebut dilakukannya sentrifugasi dengan menggunakan suhu rendah yaitu 4 °C (Nurhayati dan Darmawati, 2017). Pada penelitian ini, kandungan supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi tidak lakukan skrining fitokimia sehingga belum diketahui kandungan senyawa apa saja yang terdapat.

Antibiotik pada penelitian ini menggunakan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif. Kloramfenikol adalah salah satu antibiotik yang mekanisme kerjanya menggunakan protein sebagai sumber energi dan mensintesis DNA. Bakteri akan terus menggunakan sumber daya yang tersedia dilingkungannya untuk menghasilkan bakteri baru, seperti protein yang baru akan diproduksi dengan melibatkan sintesis mRNA dari gen DNA dan protein selanjutnya dari tempat mRNA. Proses ini sangat penting untuk pertumbuhan dan multiplikasi bakteri. kloramfenikol memiliki spektrum yang luas terhadap berbagai jenis bakteri (Anggita *et al.*, 2022).

BAB V

PENUTUP

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Karakteristik bakteri endofit daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) didapatkan enam isolat yang memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus* sp. (EO1, EO2, EO3, EO4, EO5 dan EO6).
2. Hasil uji aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dikategorikan sedang pada isolat potensial EO5 dan EO6 sebesar 5,69 mm dan 5.50 mm sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dikategorikan lemah pada semua isolat.

V.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian penulis menyarankan:

1. Menggunakan jenis daun yang memiliki metabolit sekunder yang lebih banyak.
2. Menggunakan suspensi larutan (μL) supernatan bebas sel yang seimbang dengan antibiotik yang digunakan untuk ditetaskan pada *paper disk* sehingga memperoleh hasil uji aktivitas yang baik.
3. Menggunakan larutan untuk penghancur sel-sel bakteri pada saat disentrifugasi sehingga memperoleh supernatan bebas sel yang murni.
4. Melakukan uji skrining fitokimia supernatan bebas sel pada bakteri endofit daun kemangi.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Antibakteri Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Terhadap *Escherichia coli*. *Cerebellum*, 5(4), 1-14. ISSN: 1569-1582. <http://dx.doi.org/10.26418/jc.v5i4B.44821>.
- Afni, N., Said, N., & Yuliet, Y. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 1(1), 48-58. ISSN: 2442-7284. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2015.v1.i1.7900>.
- Antriana, N. (2014). Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap (*Macrotermes* spp.). *Saintifika*. 16(1): 18 – 28. E-ISSN: 2501-2768.
- Anggita, D., Nurisyah, S., & Wiriansya, E. P. (2022). Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal*, 7(1), 46-57. p-ISSN: 2548-4079/e-ISSN: 2685-7561.
- Aqlinia, M., Pujiyanto, S., & Wijanarka. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Uji Antibakteri Supernatan Crude Metabolit Sekunder Isolat Potensial Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Akademika Biologi*. 9(9): 23-31. ISSN: 2621-9824.
- 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. P-ISSN: 1978-3736, E-ISSN: 2502-6720. <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v13i2.13044>.
- Ali, S., Duan, J., Charles, T. C., & Glick, B. R. (2017). A Bioinformatics Approach To The Determination Of Genes Involved In Endophytic Behavior In *Burkholderia* spp. *Journal of Theoretical Biology*, 343, 193-198. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2013.10.007>.
- Aryani, P., Kusdiyantini, E., & Supriyadi, A. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Daun Alang-alang (*Imperata cylindrica*) dan Metabolit Sekundernya yang Berpotensi sebagai Antibakteri. *Jurnal Akademika Biologi*, 9(2), 20-28. ISSN: 2621-9824.
- Azizah, N. (2020). Uji biodegradasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE Dengan Metode Profil Matching Berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. <http://etheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/24354>. Diakses pada tanggal 15 Juni, 2022.
- Abdulloh, S. H., Moehady, B. I., & Hidayatulloh, I. (2020). Aktivitas *Bacillus subtilis* pada Media Tulang Ayam dalam Pembentukan Gelatin. *Fluida*, 13(1), 38-45. ISSN: 1412-8543. <https://doi.org/10.35313/fluida.v13i1.2221>.
- Banna, M. Z., & Arifuddin, W. (2021). Potensi Bakteri Asal Bambu dalam Memproduksi Asam Indol Asetat (IAA). *AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu dan*

Teknologi Pertanian, 5(1), 72-80. P-ISSN : 2615-2207, E-ISSN : 2579-843X.
<https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v5i1.233>.

Bauza, B., S. C., -López, M., E., Palou, E., & Malo, L., A. (2016). Antimicrobial Activity and Physical Properties Of Protein Films Added With Cell-Free Supernatant of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Control*, 62(16): 44–51. ISSN: 0956-7135. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.007>.

Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. (2018). How To Manage *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Drugs in context*. 7. ISSN: 1740-4398. DOI: 10.7573/dic.212527 2 of 18.

Basit, A., Shah, S. T., Ullah, I., Ullah, I., & Mohamed, H. I. (2021). Microbial Bioactive Compounds Produced By Endophytes (Bacteria and Fungi) and Their Uses In Plant Health. In *Plant Growth-Promoting Microbes for Sustainable Biotic and Abiotic Stress Management* (pp. 285-318). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66587-6_11.

Baraga, P. V., Mahyarudin, M., & Rialita, A. (2022). Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Isolat Bakteri Endofit Kunyit (*Curcuma longa* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 103-120. Doi: <https://doi.org/10.26877/bioma.v11i1.10558>.

Ballo, N. D. S., Indriarini, D., & Amat, A. L. S. S. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 9(1), 83-93. ISSN: 2302-3007.

Bessie, J., Lutsina, N. W., Giovani, K., & Leki, B. (2018). Formulasi Sediaan Setengah Padat Salep dan Krim Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.). *Jurnal Farmasi*. 4(1): 16–24. E-ISSN: 2580-8303.

Breed., S., R., Murray., D. G. E., Smith., R. N. (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology: Seventh Edition*. America: The Williams & Wilkins Company.

Cappuccino, G. J., & Sherman, N. (2014). *Microbiology A Laboratory Manual Tenth Edition*. United States of America: Pearson Education. ISBN: 0-321-84022-4.

Cappuccino, J. G., & Welsh, C. (2018). *Microbiology A Laboratory Manual*. In A. Williams (Ed.) United States of America: Pearson Education. ISBN: 978-0-134-09863-0.

Detha, A. (2019). Karakteristik Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi Dari Susu Kuda Sumba. *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), 85-92. ISSN : 2356-4113, E-ISSN : 2528-6021. DOI: 10.35508/jkv.v7i1.08.

Dian, R., . F., & Budiarmo, F. (2015). Uji Resistensi Bakteri *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Plak Gigi Terhadap Merkuri dan Antibiotik Kloramfenikol. *Jurnal E-Biomedik*. 3(1). E-ISSN: 2337-330X

<https://doi.org/10.35790/ebm.3.1.2015.6607>.

Dita, S., A., Qurata A., L., & Latief A., A. (2019). Isolasi dan identifikasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Padi (*Oryza sativa*) Sebagai Pengendali Penyakit Hawar Daun Bakteri Akibat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Viabel*, 12(1). P-ISSN: 1978-5259 e-ISSN: 2527-3345.

Doc Player Info. (2021). Sentrifugasi Untuk Pemanenan Sel Bakteri. <https://docplayer.info/71870659-Sentrifugasi-untuk-pemanenan-sel-bakteri.html>. Diakses pada tanggal 5 November 2021.

Dwicaahyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria Atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J.Peng. & Biotek. Hasil Pi*. 7(1), 10–17. ISSN: 2442-4145.

Erlyn, P. (2016). Efektivitas Antibakteri Fraksi Aktif Serai (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Syifa' Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 6(2): 111. ISSN: 2580-6971. <https://doi.org/10.32502/sm.v6i2.1387>.

Febriyanti, A. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Muda, Daun Tua dan Daun Campuran Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Budidaya Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara. <http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/28144> . Diakses pada tanggal 19 November 2021.

Hendarto., D. (2019). *Dahsyatnya Daun Kemangi, Bawang Putih, Bawang Merah dan Bengkuang Bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Laksana. ISBN: 978-602-407-669-6.

Hidayanto., A., Manikam, A. S., Pertiwi, W. S., & Harismah, K. (2017). Formulasi Obat Kumur Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Pemanis Alami Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *University Research Colloquium. URECOL*. 189–194. ISSN: 2407-9189.

Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Bioleuser*. 1(2): 45–53. E-ISSN: 2597-6753.

Internasional Treasury Service. (ITS.GOV) (2021). Taksonomi *Streptococcus mutans*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=966483#null. Diakses pada tanggal 17 Juni 2021.

Internasional Treasury Service. (ITS.GOV) (2021). Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_ttopic=TSN&search_value=965278#null. Diakses pada tanggal 17 Juni 2021.

Internasional Treasury Service. (ITS.GOV) (2022). Klasifikasi Tanaman Kemangi. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=32627#null Diakses pada tanggal 03 Juli, 2022.

- Iramadhan, Z. A. (2018). *Isolasi Bakteri Endofit Dari Akar Tanaman Pletekan (Ruellia tuberosa L) dan Uji Aktivitas Antibakteri*. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. <http://etheses.uin-malang.ac.id/13657/>. Diakses pada tanggal 26 Februari, 2022.
- Isnayanti, I. (2020). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Daun dan Kulit Batang Tanaman Lelak (Uvaria rufa blume) Sebagai Zat Antibakteri*. Skripsi. Surabaya: UIN Sunan Ampel. <http://digilib.uinsby.ac.id/id/eprint/42950>. Diakses pada tanggal 2 Februari, 2022.
- Istianah., N., Wardani, K., A., & Sriherfyna, H., F. (2018). *Teknologi Bioproses*. Malang: Universitas Brawijaya Press. ISBN: 9786024324438. https://www.google.co.id/books/edition/Teknologi_Bioproses/s91qDwAAQB AJ?hl=id&gbpv=1&dq=sentrifugasi+adalah&pg=PA96&printsec=frontcover. Diakses pada tanggal 4 Juli 2022.
- Irdawati., Advinda. L., dan Angraini. F. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Endofit dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum Wight*) . *Bio Science*. Vol. 1, No. 2. <https://doi.org/10.24036/bsc.v1i2.8074>.
- Ihsan, B. (2021). Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* spp. dan *Salmonella* spp.) yang Mengontaminasi Ikan Layang dan Bandeng di Pasar Tradisional. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 89-96. Online ISSN : 2354-886X, P-ISSN : 2303-2111.
- Jawetz, Melnick, & Adelberg (2012). *Mikrobiologi Kedokteran. Penerjemah Aryandhito. Edisi 25*. Jakarta: EGC. ISBN: 978-979-044-250-4. https://www.academia.edu/36494075/Jawetz_Melnick_and_Adelberg_Mikrobiologi_Kedokteran. Diakses pada tanggal 25 Juni, 2022.
- Kartikasari, N & Purwestri. Y. A. (2021). Kemampuan Antibakteri Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng terhadap *Escherechia coli*. *Jurnal Ilmu Hayat*. 5(1), 17-24. ISSN: 2549-4686.
- Kindangen, O. C., Yamlean, P. V. Y., & Wewengkang, D. S. (2018). Formulasi Gel Antijerawat Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan Uji Aktivitasnya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Pharmacon*. 7(3): ISSN: 1411-4283. 283–293. <https://doi.org/10.35799/pha.7.2018.20505>
- Komariah, Wulansari, N., & Wahyu Harmayanti. (2013). Efektivitas Kitosan Dengan Derajat Deasetilasi dan Konsentrasi Berbeda dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Gram Negatif (*Pseudomonas aeruginosa*) dan Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) Rongga Mulut. *Jurnal Biologi, Sains, Lingkungan dan Pembelajarannya*, 10(02): 1–8. ISSN: 2528-5742.
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L). *Indonesian Journal for Health Sciences*. 1(2): 129-141. ISSN: 2549-2748. <https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i1.2279>.
- Kurniasari, T. M., & Putra, S. R. (2011). Karakterisasi Berdasarkan Uji Aspek

Morfologi dan Biokimia Serta Pengaruh Aerasi Terhadap Pertumbuhan *Zymomonas mobilis* Galur Liar (ZM JPG). *MJoCE*. 1(2): 129–141. ISSN: 2087-9024.

Kursia, S., Imrawati, I., Ismail, I., Halim, A., Ramadani, N., Ramadhani, F., Priska, F., & Hanifah, F. (2020). Identifikasi Biokimia dan Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Limbah Sayur Sawi (*Brassica juncea* L.). *Kesehatan*, 16(1): 27. ISSN: 2622-7363. <https://doi.org/10.24252/kesehatan.v0i0.11626>.

Kurniasih, N. (2021). Keanekaragaman Koloni Bakteri Endofit Pada Daun dan Batang Tanaman Nampu (*Homalomena javanica* VAVR). Skripsi: Universitas Islam Negeri Sumatera Utara. <http://repository.uinsu.ac.id/13192/>. Diakses pada tanggal 25 Februari, 2022.

Kusumastuti, M. Y., Meilani, D., & Tawarnate, S. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi Kloroform dan Fraksi n-Heksan Daun Kemangi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Indah Sains dan Klinis*. 2(1): 17–22. E-ISSN: 2447-1942. <https://doi.org/10.52622/jisk.v2i1.11>

Kusharyati, F.D., Ryandini, D., & Hendrati, M. P. (2019). Produksi Bakteriosin *Bifidobacterium* Bb2E dengan Metode Amonium Sulphate Precipitation dan Uji Penghambatannya Terhadap Bakteri Multi Drugs Resistant (MDR). *Prosiding*. 9(1). <http://jurnal.lppm.unsoed.ac.id/ojs/index.php/Prosiding/article/view/1145>. Diakses pada tanggal 18 November 2021.

Kulkarni, K. V., & Adavirao, B. V. (2018). A review on: Indian Traditional Shrub Tulsi (*Ocimum sanctum*): The Unique Medicinal Plant. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(2), 106-110. ISSN (E): 2320-3862, ISSN (P): 2394-0530.

Klau, M. L. C., Indriarini, D., & Nurina, R. L. (2021). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 9(1), 102-111. ISSN: 2302-3007.

Kim, J. H., Jang, H. J., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2022). Antibacterial and Antibiofilm Effect of Cell-Free Supernatant of *Lactobacillus brevis* KCCM 202399 Isolated from Korean Fermented Food against *Streptococcus mutans* KCTC 5458. *Microbiol Biotechnol*. 32(1): 56–63 <https://doi.org/10.4014/jmb.2109.09045>.

Kim, S. W., Kang, S. I., Shin, D. H., Oh, S. Y., Lee, C. W., Yang, Y., & Bang, W. Y. (2020). Potential Of Cell-Free Supernatant From *Lactobacillus plantarum* Nibr97, Including Novel Bacteriocins, As A Natural Alternative To Chemical Disinfectants. *Pharmaceuticals*, 13(10). DOI:10.3390/ph13100266.

- Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., & Brady, L. J. (2019). The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology Spectrum*, 7(1), 7-1. doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018.
- Liu, H., Carvalhais, L. C., Crawford, M., Singh, E., Dennis, P. G., Pieterse, C. M., & Schenk, P. M. (2017). Inner Plant Values: Diversity, Colonization and Benefits From Endophytic Bacteria. *Frontiers In Microbiology*, 8, 2552. doi: 10.3389/fmicb.2017.02552.
- Ma, D., Jiang, Y., Ahmed, S., Qin, W., & Liu, Y. (2020). Antilisterial and Physical Properties of Polysaccharide-Collagen Films Embedded With Cell-Free Supernatant of *Lactococcus lactis*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 145. ISSN: 18790003. 1031–1038. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.195>.
- Mailoa, M. N., Sormin, R. B. D., & Lewaherilla, J. (2020). Kualitas Mikrobiologi Cacing Laor (Polychaeta) dari Perairan Pantai Lawena, Desa Hutumury Kota Ambon. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(2), 352-358. ISSN: 2303-2111.
- Mahyarudin, M., Verdian, A. S., & Zakiah, M. (2021). Pemanfaatan Bakteri Endofit Daun Cengkodok (*Melastoma malabathricum* L.) Sebagai Anti Shigella Flexneri. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 10(2), 202-207. E-ISSN: 2407-1536, P-ISSN: 2089-2802. DOI: 10.31571/saintek.v10i2.3380.
- Manarisip, G. E., Fatimawali, & Rotinsulu, H. (2020). Standarisasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Uji Antibakteri Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmacon*. 9(4): 533–541. ISSN: 1411-4283.
- Manurung, K., Marpaung, J. K., & Mardianis, M. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmanesia*, 8(1), 39-45. ISSN: 2528-2484. doi: <https://doi.org/10.51544/jf.v8i1>.
- Maheshwari, D. K., Maheshwari, R., & Rinaudo. (2017). Endophytes: Biology and Biotechnology. New York, USA: Springer. ISBN 978-3-319-66540-5.
- Munif, A., & Wiyono, S. (2012). Isolasi Bakteri Endofit Asal Padi Gogo dan Potensinya Sebagai Agens Biokontrol dan Pemacu Pertumbuhan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 8(3), 57-57. ISSN: 0215-7950.
- Mittal, R., Kumar, R., & Chahal, H. S. (2018). Antimicrobial Activity of *Ocimum sanctum* Leaves Extracts And Oil. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8(6), 201-204. ISSN: 2250-1177. <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v8i6.2166>.
- Microbiology In picture. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*. <https://www.microbiologyinpictures.com/pseudomonas-aeruginosa.html>. Diakses pada tanggal 03 Juli 2022.
- Naufal, A., Kusdiyantini, E., & Raharjo, B. (2017). Identifikasi Jenis Pigmen dan

- Uji Potensi Antioksidan Ekstrak Pigmen Bakteri *Serratia marcescens* Hasil Isolasi dari Sedimen Sumber Air Panas Gedong Songo. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*. 19(2): 95. ISSN: 1410-8801.
<https://doi.org/10.14710/bioma.19.2.95-103>.
- Novianti, D. (2017). Potensi dan Pengembangan Jenis Tanaman Obat di Desa Meranjat Kecamatan Indralaya Selatan. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53(9): 1689–1699. ISSN: 1829-586X.
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(2), 216-225. ISSN : 2527-8010.
- Nurhadianty, V., Cahyani, C., Nirwana, C., O., W., & Dewi, K., L. (2018). Pengantar Teknologi Fermentasi Skala Industri. Malang: UB Press. ISBN: 978-602-432-591-6.
https://www.google.co.id/books/edition/Pengantar_Teknologi_Fermentasi_Skala_Ind/p8KFDwAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=sentrifugasi+adalah&pg=PA56&printsec=frontcover Diakses pada tanggal, 4 Juli 2022.
- Nurhayati, B., & Darmawati, S. (2017). *Biologi Sel dan Molekuler*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. ISBN: 978-623-5847-19-1.
- Oktavia, M. H. R., Suliati, S., & Krihariyani, D. (2018). Uji Efektivitas Rebusan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella* sp. Metode Dilusi Cair. *Analisis Kesehatan Sains*, 7(2). ISSN: 2320 - 3635.
- Oktavia, N., & Pujiyanto, S. (2018). Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapak Dara (*Catharanthus roseus*, L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi*. 1(1): 1-7.
https://scholar.google.com/scholar?hl=id&as_sdt=0%2C5&q=Isolasi+dan+Uji+Antagonisme+Bakteri+Endofit+Tapak+Dara+%28Catharanthus+Roseus%2C+L.%29+terhadap+Bakteri+Escherichia+coli+dan+Staphylococcus+aureus+Nurriqi+Oktavia1%29+dan+Sri+Pujiyanto1&btnG=. Diakses pada tanggal 03 Juli, 2022.
- Pinu, F. R., & Villas-Boas, S. G. (2017). Extracellular Microbial Metabolomics: The State of The Art. *Metabolites*, 7(3), 43. doi:10.3390/metabo7030043.
- Panjaitan, F. J., Bachtar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., & Indriyani, W. (2020). Karakterisasi Mikroskopis dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (Bpf) dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Jurnal Kajian Masalah Pertanian*. 1(1): 9–17. <https://stikessantupaulus.ejournal.id/ciwal/article/view/93>.
- Pangesti, N. W. I., Pangastuti, A., & Retnaningtyas. E. (2017) Pengaruh Penambahan Molase Pada Produksi Enzim Xilnase oleh Fungi *Aspergillus niger* dengan Substrat Jerami Padi. *Asian Journal of Tropical Biotechnology*. 9(2): 41-48. ISSN: 0216-6887, EISSN: 2301-8658,

<https://10.13057/biotek/c090202>.

- Pratiwi, B. E. (2015). Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit dari Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang Berpotensi Sebagai Antibakteri. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Hidayatullah.
<https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/29141>. Diakses pada tanggal 13 Juli 2021.
- Pramushinta, I. A. K. (2016). Pembuatan Minyak Biji Bunga Matahari Menggunakan Metode Sentrifugasi. *Stigma: Jurnal Matematika dan Ilmu Alam Unipa*. 9(2): 8-11. ISSN: 1412-1840.
<https://doi.org/10.36456/stigma.vol9.no2.a1595>.
- Prihanto, A. A. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove (*Sonneratia alba*) Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesia Journal of Halal*, 1(1), 31-42. ISSN: 2623-162X.
- Plant Of The World Online. *Ocimum tenuiflorum* L. (2021).
<http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:453130-1>. Diakses pada tanggal 27 Oktober 2021.
- Purwanto, S., Fachriyan, P., & Bintang, M. (2014). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry*. 1(1): 51–57. E-ISSN: 2355-7877. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.51-57>.
- Purnamaningsih, A., Supadmi., R., F. (2020). Potensi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Ilmiah PANNMED (Pharmacist, Analyst, Nurse, Nutrition, Midwifery, Environment, Dentist)*, 15(3), 522-525. p-ISSN : 2623-0046. e-ISSN : 2685-2764.
- Puspita, F., Ali, M., & Pratama, R. (2017). Isolasi Dan Karakterisasi Morfologi Dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* sp. Endofitik Dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Agroteknologi Tropika*, 6(2), 44-49.
- Pulungan, A. S. S., & Tumangger, D. E. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase dari Daun Buas-buas (*Premna pubescens* Blume). *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 5(1), 71-80. p-ISSN: 2356- 458X. e-ISSN: 2550-1305. DOI:
<http://dx.doi.org/10.31289/biolink.v5i1.1665>.
- Public Health Image Library (PHIL). (2022). *The Gram-Staining Photomicrograph Revealed The Presence Of A Number Of Round, Gram-Positive, Streptococcus mutans* Bacteria.
<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=1070>. Diakses pada tanggal 03 Juli, 2022.
- Pham, N. T., Meier-Dinkel, A., Höltnen, A. M., Quambusch, M., Mahnkopp, F., & Winkelmann, T. (2017). Endophytic Bacterial Communities In In Vitro

- Shoot Cultures Derived From Embryonic Tissue Of Hybrid Walnut (*Juglans* × *Intermedia*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 130(1), 153-165. DOI:10.1007/s11240-017-1211-x.
- Rahmaningsih, S., Wilis, S., & Achmad, M. (2012). Bakteri Patogen di Perairan Pantai dan Kawasan Tambak di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. *Ekologia*. 12(1): 1–5. <https://doi.org/10.33751/ekol.v12i1.248>.
- Ramadhanty, M. A., Lunggani, A. T., & Nurhayati. (2021). Isolasi Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina* dan Kemampuannya Sebagai Antimikroba Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* Secara In Vitro. *NICHE Journal of Tropical Biology*. 4(1): 16–22. E-ISSN: 2614-83-7.
- Ristianti, N., Kusnanta, J. W., & Marsono. (2015). Perbedaan Efektifitas Obat Kumur Herbal dan Non Herbal Terhadap Akumulasi Plak di Dalam Rongga Mulut. *Medali Jurnal*. 2(1): 31–36. <http://jurnal.unissula.ac.id/index.php/medali/article/view/447>. Diakses pada tanggal 19 November, 2021.
- Rizkita, D. A. (2017). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sereh Wangi, Sirih Hijau, dan Jahe Merah Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Prosiding Semnastek*. ISSN: 2407-1846.
- Robbihi, H. I. (2020). Kajian Manfaat Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Halitosis. *Jurnal Ilmiah Keperawatan Gigi*. 1(1): 51–58. ISSN: 2548-3986. <https://doi.org/10.37160/jikg.v1i1.509>.
- Rori, C. A., Kandou, F. E. F., & Tangapo, A. M. (2020). Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Bios Logos*. 11(2): 48. ISSN: 2088-9569. <https://doi.org/10.35799/jbl.11.2.2020.28338>.
- Rukmana. R., dan Yudirachman. H. (2016). *Budidaya Kemangi dan Selasih*. Yogyakarta: Lily Publisher. ISBN: 9789792959185.
- Ramadhanty, M. A., Lunggani, A. T., & Nurhayati. (2021). Isolasi Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina* dan Kemampuannya Sebagai Antimikroba Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* Secara In Vitro. *NICHE Journal of Tropical Biology*. 4(1): 16–22. E-ISSN: 2614-83-7.
- Sanjaya, P. A. N. A.G. I., Fatmawati, N. N. D., & Hendrayana, M. A. (2019). Prevalensi Isolat Klinis *Pseudomonas aeruginosa* yang Memiliki Gen *lasI* dan *lasR* di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Tahun 2013-2016. *E-Jurnal Medika*. 8(6): 1–6. ISSN: 2597-80122.
- Sagita, D., Suharti, N., & Azizah, N. (2017). Isolasi Bakteri Endofit dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J. Ipteks Terapan*, 11(1), 65-74. ISSN: 1979-9292.

- Santos, M. L. D., Berlitz, D. L., Wiest, S. L. F., Schünemann, R., Knaak, N., & Fiuza, L. M. (2018). Benefits Associated With The Interaction Of Endophytic Bacteria and Plants. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 61. ISSN: 1678-4324. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2018160431>. I
- Sari, M., & Moulina, M. A. (2020). Pengaruh Variasi Waktu Perendaman Sampel dan Jumlah Pelarut Homogenasi Terhadap Persentase Ekstrak Protein Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *AGRITEPA*. VII(1): 51–56. P-ISSN: 2407-1315, E-ISSN: 2722-1881.
- Sari, E. W. E., Darmawi, D., Wianda, M., Erina, E., Zamzami, R. S., Hambal, M., & Lubis, T. M. (2020). Antimicrobial Activity of Balakacida (*Chromolaena odorata*) Endophytic Bacteria Isolated from Aceh Besar Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Medika Veterinaria*. 14(2): 125-131. ISSN: 0853-1943. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet..v14i2.19415>.
- Sari, E., Flatian, A. N., Sari, Z. I., & Sulaeman, E. (2018). Isolasi dan Karakterisasi *Rhizobium* dari *Glycine Max* L. dan *Mimosa Pudica* Linn. Ekotonia: *Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, 3(2), 55-62. ISSN: 2443-2393.
- Sardiani, N., Litaay, M., Budji, R. G., Priosambodo, D., & Dwyana, Z. (2015). Potensi *Tunikata rhopalaea* sp. Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri; 1. Karakterisasi Isolat. *Jurnal Alam dan Lingkungan*. 6(11): 1-10. ISSN: 2549-8819.
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: Deepublish. ISBN: 978-602-280-472-7. https://www.google.co.id/books/edition/Senyawa_Alam_Metabolit_Sekunde_r_Teori_Ko/H8HDwAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=metabolit+sekunder&printsec=frontcover. Diakses pada tanggal 01 Juli, 2022.
- Soedarso. (2012). *Kemangi Daun Sakti Penjaga Perut*. Surabaya: Stomata. ISBN: 978-602-98956-6-7.
- Sepriana, C., Jekti, D. S. D., & Zulkifli, L. (2017). Bakteri Endofit Kulit Batang Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan Kemampuannya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 3(2). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v3i2.92>.
- Sepriana, C., Sumiati, E., Jekti, D. S. D., & Zulkifli, L. (2020). Identifikasi dan Uji Daya Hambat Isolat Bakteri Endofit Bunga Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 6(1): 101. ISSN: 2460-2582. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v6i1.340>.
- Setianah, H., Nugraheni, I. A., & Wibowo, D. S. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Asal Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Health of Studies*. 5(1), 50-61. ISSN, 2549, 3353.

- Sigh, M., Kumar, A., Singh, R., & Pandey, K. D. (2017). Endophytic Bacteria: A New Source Of Bioactive Compounds. 3 *Biotech*, 7(5), 1-14. DOI 10.1007/s13205-017-0942-z.
- Suparno, R. N., Putri, S. C., & Camalin, S. M. C. (2020). Pasta Gigi Ekstrak Etanol Daun Sirih, Biji Pinang, Gambir Terhadap Hambatan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*. 3(2): 1–8. ISSN: 2580-0523.
- Surahmaida & Umarudin. (2019). *Aplikasi Miana, Kemangi dan Kumis Kucing Sebagai Pestisida Nabati*. Gresik: Penerbit Graniti. ISBN: 978-602-5811-40-1.
- Surahmaida, S., & Umarudin, U. (2019). Studi Fitokimia Ekstrak Daun Kemangi dan Daun Kumis Kucing Menggunakan Pelarut Metanol. *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 3(1), 1-6. ISSN : 2549-2314.
- Susanti, A. R. E. H. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman *Aloe Vera* Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. <http://etheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/31585>. Diakses pada tanggal 25 Februari, 2022.
- Saputra, R., Arwiyanto, T., & Wibowo, A. R. I. F. (2015). Uji Aktivitas Antagonistik Beberapa Isolat *Bacillus* spp. Terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada Beberapa Varietas Tomat dan Identifikasinya. *Prosiding Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(5), 1116-1122. ISSN: 2407-8050. DOI: 10.13057/psnmbi/m010525.
- Silalahi, L. F., Mukarlina, M., & Rahmawati, R. Karakterisasi dan Identifikasi Genus Bakteri Endofit Dari Daun dan Batang Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. Microcarpa) Sehat di Desa Anjungan Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont*, 9(1). ISSN: 2338-7874.
- Syukur, S. B., & Asnawati, R. (2021). Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Masyarakat dalam Pemanfaatan Herbal di Desa Pilohayanga Barat Kecamatan Telaga Kabupaten Gorontalo. *Zaitun (Jurnal Ilmu Kesehatan)*, 3(1). ISSN: 2301-5691.
- Syahrul, D., & Syahriel, D. (2021). Konsentrasi Optimal Dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* In Vitro. *Interdental: Jurnal Kedokteran Gigi*, 17(2), 97-102. ISSN: 1979-9144.
- Toy, T. S. S., Lampus, B. S., & Hutagalung, B. S. P. (2015). Uji Daya Hambat Ekstrak Rumpun Laut *Gracilaria* sp. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal e-GiGi*. 3(1): 153–159. ISSN: 2338-199X. <https://doi.org/10.35790/eg.3.1.2015.6600>
- Tangapo, A. M. (2020). *Bakteri Endofit Pemicu Pertumbuhan Tanaman dan Penghasil Enzim*. Bandung: Grafindo. ISBN: 978-623-6626-17-7.

- Tuan, N., P., Quambusch, M., Holtken, M. A., & Dirks, M., F. (2017). Endophytic Bacterial Communities In In Vitro Shoot Cultures Derived From Embryonic Tissue Of Hybrid Walnut (*Juglans x intermedia*). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 130(2). DOI:[10.1007/s11240-017-1211-x](https://doi.org/10.1007/s11240-017-1211-x).
- Ulfah, M., U. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal FARMAKU (Farmasi Muhammadiyah Kuningan)*, 5(1), 25-31. E-ISSN : 2657-0408.
- Ullah, A., Nisar, M., Ali, H., Hazrat, A., Hayat, K., Keerio, A. A., & Yang, X. (2019). Drought Tolerance Improvement In Plants: An Endophytic Bacterial Approach. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(18). ISSN: 7385-7397. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10045-4>.
- Utami, D. (2017). Isolasi, Identifikasi dan Aktifitas Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Pontianak: Universitas Tanjungpura.
<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/download/25672/75676576756>
Diakses pada tanggal 09 Juni 2021.
- Utami, P. (2012). *Antibiotik Alami Untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia. ISBN: 979-006-397-0.
<https://books.google.com/books?hl=id&lr=&id=UYDpAgAAQBAJ&oi=fn&pg=PT13&dq=+antibiotik+&ots=rFPQe7s66&sig=tJbW9RqnLLCZl9MGZ6xTDwEkmXc>. *Diakses pada tanggal 30 November 2021*.
- Vijayakumar, A., Sarveswari, H. B., Vasudevan, S., Shanmugam, K., Solomon, A. P., & Neelakantan, P. (2021). Baicalein Inhibits *Streptococcus mutans* Biofilms And Dental Caries-Related Virulence Phenotypes. *Antibiotics*, 10(2), 215. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020215>.
- Walewangko, M. S., Posangi, J., & Yamlean, P. V. Y. (2019). Uji Efek Antibakteri Jamur Endofit Pada Tumbuhan Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Pada Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacon*. 8(3): 705. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29395>.
- Wijaraya, H., Caronge, M. W., & Rais, M. (2019). Pengaruh Penambahan Bubur Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap Kandungan Gizi Kerupuk Sagu. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*. 5(1): 30-40. ISSN: 2476-8995. <https://doi.org/10.26858/jptp.v5i1.8192>.
- Willianti, E., Theodora, & Parmasari, W. D. (2020). Analisa Aktivitas Antibakteri Rebusan Daun Sirih Dengan Rebusan Daun Kemangi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Hang Tuah Medical Journal*, 18(1), 38-48. ISSN: 2598-4861.
- Wulansari, A., Aqlinia, M., Wijanarka, & Raharjo, B. (2019). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Uji Aktivitas Antibakterinya Terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Kulit

Staphylococcus epidermidis dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Berkala Bioteknologi*. 2(2): 25-36. ISSN: 0853-8654.

Wu, W., Chen, W., Liu, S., Wu, J., Zhu, Y., Qin, L., & Zhu, B. (2021). Beneficial Relationships Between Endophytic Bacteria And Medicinal Plants. *Frontiers in plant science*. 12, 646-146. doi: 10.3389/fpls.2021.646146.

WHO. 2022. *Oral Health*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>. Diakses pada tanggal 03 Juli, 2022.

Yanti, Y. N., & Mitika, S. (2017). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*. 2(1): 158–168. P-ISSN: 2502-647X, E-ISSN: 2503-1902.

Yasir, A. S., Saputri, G. A. R., & Chandra, Y. (2020). Formulasi Sediaan Kumur Ekstrak Etanol 96% Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Sebagai Antibakteri *Streptococcus mutans* Penyebab Bau Mulut. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 3(1): 1–11. ISSN: 2599-1868.

Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., Sun, P., & Qin, L. (2010). Recent Developments And Future Prospects Of Antimicrobial Metabolites Produced By Endophytes. *Microbiological Research*. 165(6): 437–449. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.11.009>.

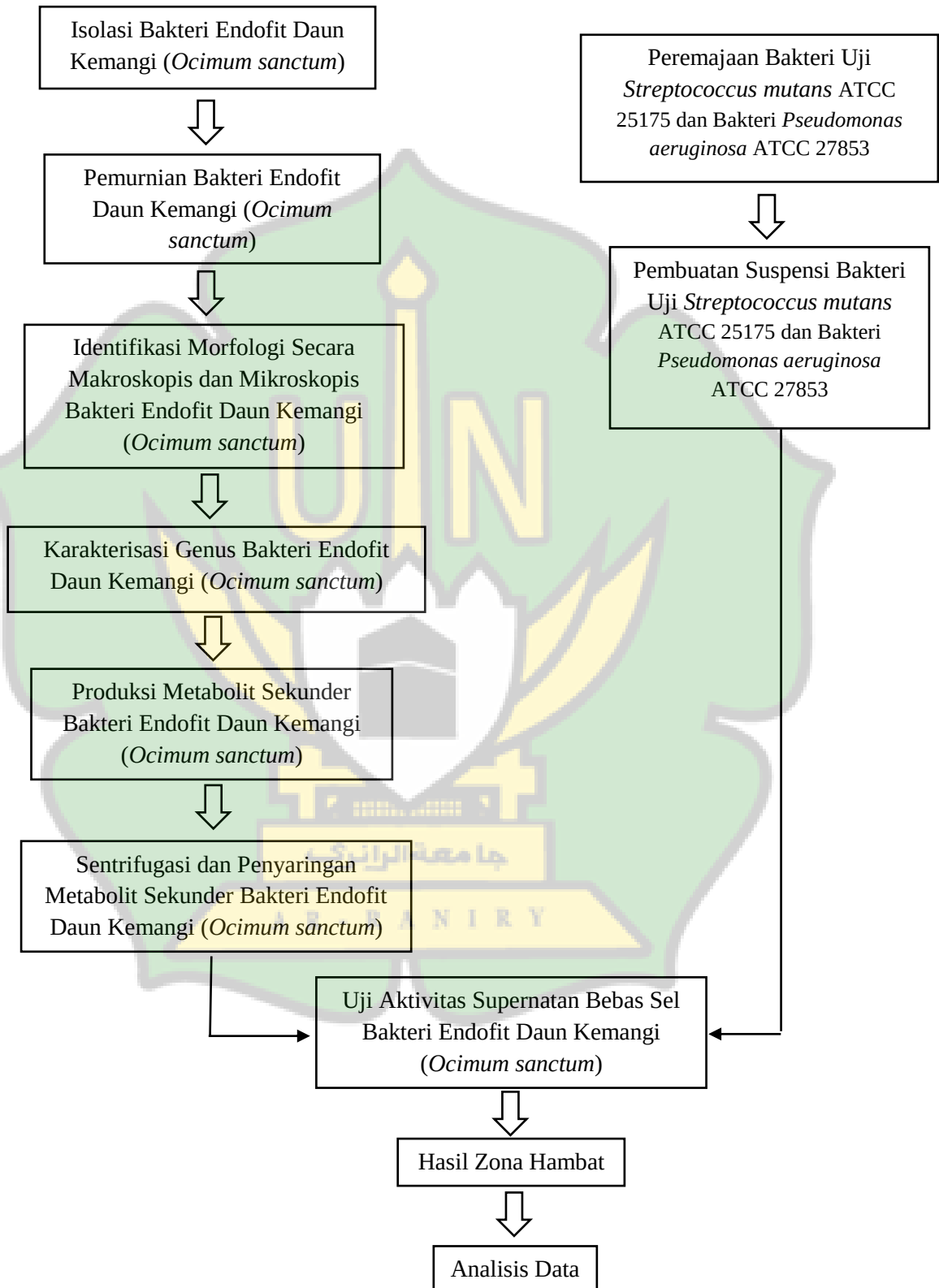
Yuanita, M. M., Putri, E. A., Mahyarudin, M., Mardhia, M., & Rialita, A. (2019). Eksplorasi Bakteri Gram Negatif Endofit Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) Yang Memiliki Kemampuan Quorum Quenching. *Majalah Kedokteran Andalas*, 42(2), 80-90. p-ISSN: 0126-2092, e-ISSN: 2442-5230. doi: 10.25077/mka.v42.i2.p80-90.2019.

Yuliani, S., Satuhu, S. (2012). *Minyak Asiri*. Bogor: Penebar Swadaya. ISBN: 979-002-543-2. [https://www.google.co.id/books/edition/Panduan_Lengkap_Minyak_Asiri/5xFQCgAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=Yuliani,+S.,+Satuhu,S.+\(2012\).+Minyak+Asiri.+Bogor](https://www.google.co.id/books/edition/Panduan_Lengkap_Minyak_Asiri/5xFQCgAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=Yuliani,+S.,+Satuhu,S.+(2012).+Minyak+Asiri.+Bogor). Diakses pada tanggal 25 Juni, 2022.

Zulkifli, L., Jekti, D. S. D., & Bahri, S. (2018). Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Kulit Batang Srikaya (*Annona squamosa*) dan Potensinya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 4(1). ISSN : 2460-2582.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian



Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian



Sampel Segar Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)



Proses Sterilisasi Permukaan Daun Kemangi



Hasil Gerusan Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)



Proses Isolasi Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Secara Spread Plate



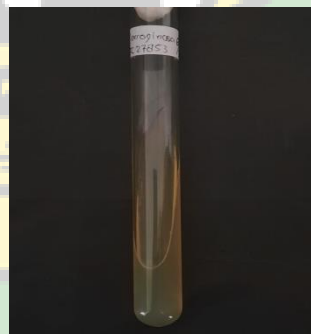
Penuangan Media NA



Proses Peremajaan Isolat Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)



Isolat Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Isolat Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



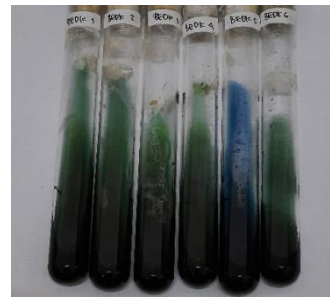
Hasil Peremajaan Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Hasil Peremajaan Bakteri
Pseudomonas aeruginosa
ATCC 27853



Hasil Uji TSIA



Hasil Uji Simons Sitrat



Hasil Uji Motilitas



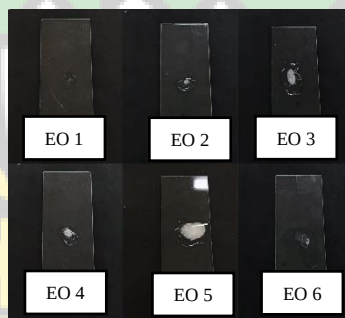
Hasil Uji Indol



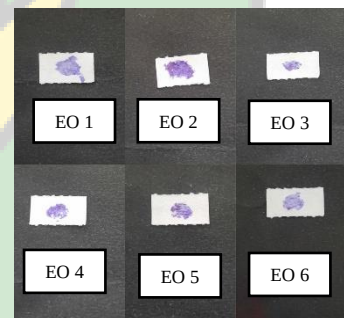
Hasil Uji Kebutuhan
Oksigen



Hasil Uji Urease



Hasil Uji Katalase



Hasil Uji Oksidase



Pembuatan Metabolit
Sekunder Bakteri Endofit
Daun Kemangi (*Ocimum
basillicum* L.)



Shaker Metabolit Sekunder
Endofit Daun Kemangi
(*Ocimum basillicum* L.)



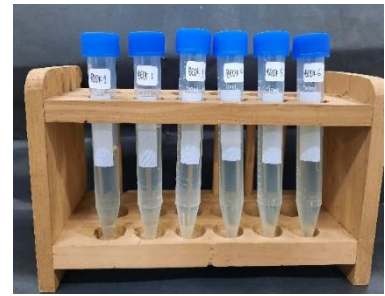
Sentrifugasi Metabolit
Sekunder Bakteri Endofit
Daun Kemangi (*Ocimum
basillicum* L.)



Hasil Sentrifugasi
Bakteri Endofit Daun
Kemangi (*Ocimum
basillicum L.*)



Pemisahan Antara
Supernatan dan Pelet Dengan
Menggunakan Filter
Membran



Supernatan Bebas Sel Bakteri
Endofit Daun Kemangi
(*Ocimum basillicum L.*)



Uji Aktivitas Supernatan
Bebas Sel Bakteri Endofit
Daun Kemangi (*Ocimum
basillicum L.*)



Pengukuran Hasil Uji Aktivitas
Supernatan Bebas Sel Bakteri
Endofit Daun Kemangi
(*Ocimum basillicum L.*)

Lampiran 3 Rumus Pengulangan Uji Aktivitas

(Rumus Pengulangan)

Pengulangan menggunakan rumus Federer, sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

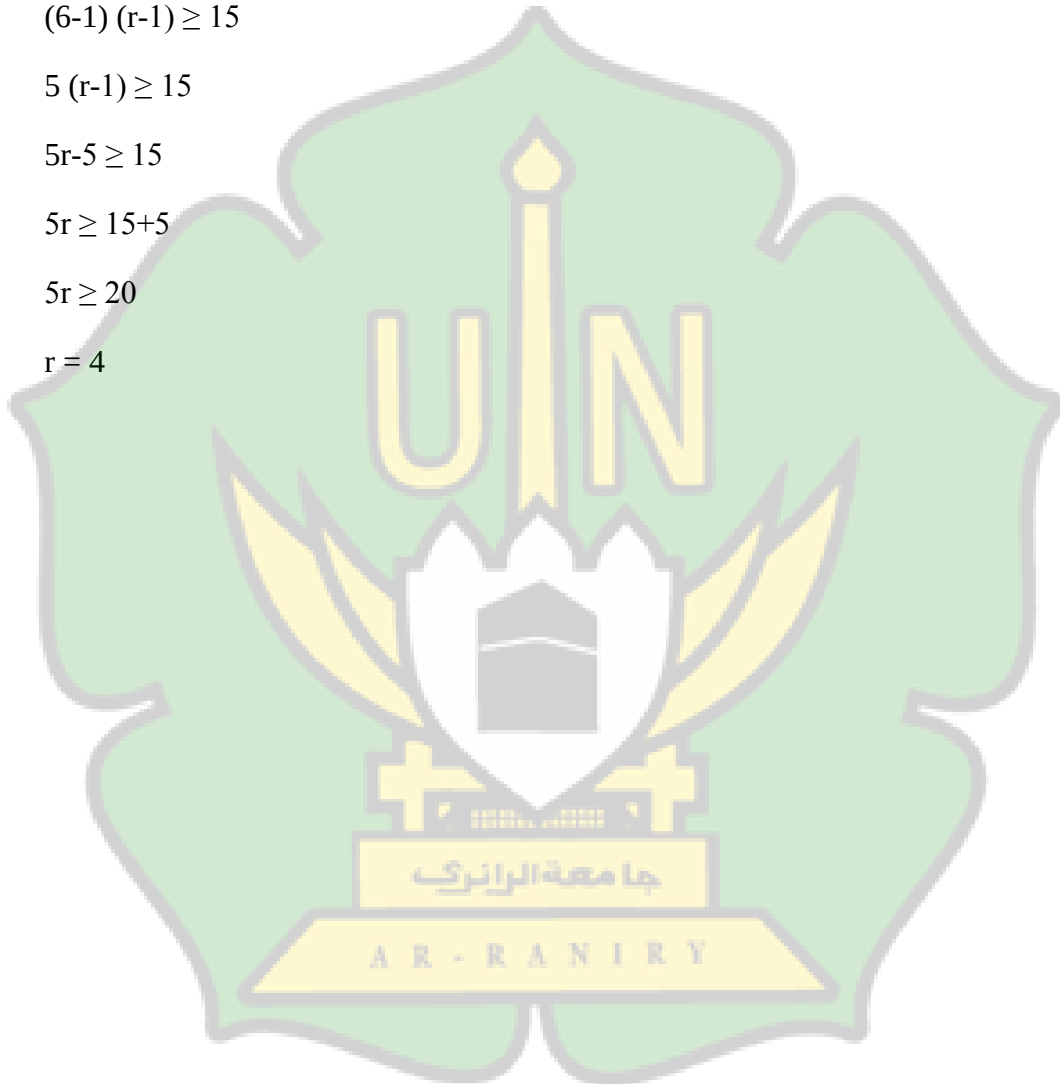
$$5(r-1) \geq 15$$

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 15+5$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 4$$



lampiran 4 Surat Keterangan Pembimbing Skripsi



SURAT KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH
Nomor: B-537/Un.08/FST/KP.07.6/11/2021

TENTANG

**PENETAPAN PEMBIMBING SKRIPSI MAHASISWA PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH**

DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH

- Menimbang : a. bahwa untuk kelancaran bimbingan skripsi mahasiswa Prodi Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry, maka dipandang perlu menunjuk pembimbing dimaksud;
b. bahwa yang namanya tersebut dalam Surat Keputusan ini dianggap cakap dan mampu untuk ditetapkan sebagai pembimbing skripsi mahasiswa.
- Mengingat : 1. Undang-undang Nomor 20 Tahun 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional;
2. Undang-undang Nomor 12 Tahun 2012, tentang Pendidikan Tinggi;
3. Peraturan Pemerintah Nomor 19 Tahun 2005 tentang Standar Nasional Pendidikan;
4. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
5. Peraturan Presiden RI Nomor 64 Tahun 2013 Tentang Perubahan Institut Agama Islam Negeri Ar- Raniry Banda Aceh menjadi Universitas Islam Negeri Ar- Raniry Banda Aceh;
6. Peraturan Menteri Agama RI Nomor 12 Tahun 2014, tentang Organisasi dan Tata Kerja UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
7. Keputusan Menteri Agama Nomor 12 Tahun 2020 Tentang Statuta UIN Ar- Raniry Banda Aceh;
8. Keputusan Rektor UIN Ar- Raniry Nomor 01 Tahun 2015 Tentang Pemberian Kuasa dan Pendelegasian Wewenang Kepada Para Dekan dan Direktur Program Pascasarjana dalam Lingkungan UIN Ar- Raniry Banda Aceh;
9. Surat Keputusan Rektor UIN Ar- Raniry Banda Aceh Nomor 80 Tahun 2020 Tentang Satuan Biaya Khusus Tahun Anggaran 2021 di Lingkungan UIN Ar- Raniry Banda Aceh;

Memperhatikan : Keputusan Sidang/Seminar Proposal/ Skripsi Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh tanggal 30 September 2021.

MEMUTUSKAN

Menetapkan
Kesatu

: Menunjuk Saudara:

1. Diannita Harahap, M.Si
2. Syafrina Sari Lubis, M.Si

Sebagai Pembimbing I
Sebagai Pembimbing II

Untuk membimbing Skripsi:

Nama : Rizkina Zurriani ZN
NIM : 170703008
Prodi : Biologi
Judul Skripsi : Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dalam Menghambat *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Kedua : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan akhir Semester Genap Tahun Akademik 2021/2022 dengan ketentuan bahwa segala sesuatu akan diubah dan diperbaiki kembali sebagaimana mestinya, apabila kemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini.

Ditetapkan di Banda Aceh
Pada Tanggal 04 November 2021
Dekan,

Tembusan:

1. Rektor UIN Ar-Raniry di Banda Aceh;
2. Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry;
3. Pembimbing yang bersangkutan untuk dimaklumi dan dilaksanakan;
4. Yang bersangkutan.

Scanned by TapScanner

Lampiran 5 Surat Penelitian



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Syekh Abdur Rauf Kopelma Darussalam Banda Aceh
Telepon : 0651- 7557321, Email : uin@ar-raniry.ac.id

Nomor : B-3570/Un.08/FST-I/PP.00.9/12/2021
Lamp : -
Hal : **Penelitian Ilmiah Mahasiswa**

Kepada Yth,

1. Kepada Laboratorium Multifungsi UIN Ar-Raniry
2. Laboratorium Riset FKH Unsyiah
3. Laboratorium FMIPA Unsyiah

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Pimpinan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dengan ini menerangkan bahwa:

Nama/NIM : **RIZKINA ZURRIANI ZN / 170703008**
Semester/Jurusan : IX / Biologi
Alamat sekarang : Cot Mesjid, Kecamatan Luengbata, Kota Banda Aceh

Saudara yang tersebut namanya diatas benar mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi bermaksud melakukan penelitian ilmiah di lembaga yang Bapak pimpin dalam rangka penulisan Skripsi dengan judul **Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Dalam Menghambat *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa***

Demikian surat ini kami sampaikan atas perhatian dan kerjasama yang baik, kami mengucapkan terimakasih.

Banda Aceh, 07 Desember 2021
an. Dekan
Wakil Dekan Bidang Akademik dan
Kelembagaan,



Berlaku sampai : 11 Februari
2022

Dr. Mizaj, Lc., LL.M.

Lampiran 6 Surat Keterangan Bebas Laboratorium



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
Jl. Syekh Abdul Rauf Kopelma Darussalam, Banda Aceh
Web: www.biologi.fst.ar-raniry.ac.id, Email: biolab.ar-raniry@gmail.com



SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM
No: B-46/Un.08/Lab.Bio-FST/PP.00.9/06/2022

Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh dengan ini menerangkan bahwa:

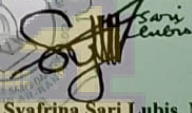
Nama	: Rizkina Zurriani ZN
NIM	: 170703008
Program Studi	: S1-Biologi
Fakultas	: Fakultas Sains dan Teknologi
Perguruan Tinggi	: Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Alamat	: Lr. Lhok Pintah, Desa Cot Masjid, Kec. Lueng Bata Kota Banda Aceh

Benar yang namanya tersebut diatas adalah mahasiswa biologi yang melakukan penelitian dan menggunakan fasilitas alat dan bahan Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh sehingga tidak ada tanggungan biaya alat laboratorium (kecuali bahan & jasa), dan telah menyelesaikan biaya pemakaian bahan laboratorium dalam rangka melaksanakan penelitian skripsi dengan topik:

“Aktivitas Supernatant Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dalam Menghambat *Streptococcus mutans* dan *Pseudomonas aeruginosa*”

Demikian surat keterangan ini dibuat, agar dapat digunakan semestinya.

Banda Aceh, 21 Juni 2022
Ketua Laboratorium Biologi


Syafrina Sari Lubis, M.Si



Scanned by TapScanner

Lampiran 7 Surat Determinasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS SYIAH KUALA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN BIOLOGI
Jalan Syech Abdurrauf Nomor 3, Darussalam, Banda Aceh 23111, Gedung F Lt. 2
Laman: biologi.unsyiah.ac.id, Surel: Biologi@unsyiah.ac.id

Nomor : 492/UN11.1.28.1/DT/2017
Hal : *Identifikasi Sampel Herbarium*

8 Agustus 2022

Yth. Sdr. **Rizkina Zurriani ZN**
Mahasiswa Universitas Islam Negeri Ar-Raniry
Fakultas Sains & Teknologi
Program Studi Biologi
Darussalam - Banda Aceh

Bersama ini kami sampaikan bahwa telah dilakukan identifikasi tumbuhan **kemangi** dengan klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

Regnum/Kingdom	: Plantae
Sub Regnum/Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super Divisio/Super Division	: Spermatophyta
Divisio/Division	: Magnoliophyta
Classis/Class	: Magnoliopsida
Sub Classis/Sub Class	: Asteridae
Ordo/Order	: Lamiales
Familia/Family	: Lamiaceae
Genus/Genus	: <i>Ocimum</i> L.
Species/Species	: <i>Ocimum basillicum</i> L.

Staf Pengajar yang mengidentifikasi: **Dr. Saida Rasnovi, M.Si**
(NIP 197111131997022002)

Demikian hasil identifikasi ini dibuat untuk dapat digunakan sesuai keperluan.



Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi,

Dr. Ir. Dahlan, S.Hut., M.Si., IPU
NIP 197610062006041003

Laboratorium Biosistemika
Kepala,

Prof. Dr. Syaukani, S.Si., M.Sc
NIP 197307271997021001

Lampiran 8 Biaya Penelitian

Pemakaian Alat dan Bahan Selama Penelitian

No	Alat dan Bahan	Harga
1.	Media NA (39,44 gr)	199.700
2.	Media TSIA (8,6 gr)	43.000
3.	Media SIM (6,03 gr)	30.150
4.	Media SCA (2,43 gr)	13.365
5.	Media MHA (64,6 gr)	355.300
6.	Media TSA (4,8 gr)	28.800
7.	Media NB (13 gr)	65.000
8.	Kristal Violet (2 ml)	4.000
9.	Safranin (4 ml)	8.000
10.	Reagen Kovack (2 ml)	26.000
11.	Alkohol 96% (3 ml)	1.500
12.	H ₂ O ₂ (2 ml)	6.000
13.	Malachite Green	6.000
14.	Kloramfenikol (100 disc)	300.000
15.	Oxidase <i>Strip</i> (2 lembar)	116.000
16.	Shaker	15.000
17.	Tube <i>Sentrifuge</i> 10 ml	50.000
18.	<i>Sentrifuge</i>	150.000
19.	<i>Cotton Swab</i> Steril	10.000
	Total	1.433.815

RIWAYAT HIDUP PENULIS

1. Nama : Rizkina Zurriani ZN
2. Tempat/Tanggal Lahir : Idi Rayeuk, 09 September 1999
3. Nomor Induk Mahasiswa : 1707030008
4. Agama : Islam
5. Kebangsaan/Suku : Indonesia
6. Alamat : Lr. Lhok Pintah, Desa Cot Mesjid, Kec.
Lueng Bata, Kota Banda Aceh.
7. Nama Orang Tua
 - a. Ayah : Drs. Zainuddin Muhammad
 - b. Ibu : Nurlina, S.Pd
8. Alamat Orang Tua : Desa Kp.jalan, Kec. Idi Rayeuk, Kab. Aceh
Timur
9. Riwayat Pendidikan :

Jenjang	Nama Sekolah	Bidang Studi	Tempat	Tahun Ijazah
SD	SDN Gp. Jalan	-	Aceh Timur	2011
SLTP	SMP Negeri 2	-	Aceh Timur	2014
SLTA	SMA Negeri 1	IPA	Aceh Timur	2017

Band Aceh, 7 Juli 2022



Rizkina Zurriani ZN
NIM. 170703008