

**AKTIVITAS SUPERNATAN BEBAS SEL BAKTERI ENDOFIT
DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb.) DALAM
MENGHAMBAT *Staphylococcus aureus* DAN
*Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

**Diajukan Oleh :
PUTRI RAHIL MARISSA
NIM. 170703022
Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
BANDA ACEH
2022 M / 1443 H**

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

**AKTIVITAS SUPERNATAN BEBAS SEL BAKTERI ENDOFIT
DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb.) DALAM
MENGHAMBAT *Staphylococcus aureus* 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:

PUTRI RAHIL MARISSA

NIM 170703022

**Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi**

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 PERSETUJUAN SKRIPSI

AKTIVITAS SUPERNATAN BEBAS SEL BAKTERI ENDOFIT DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb.) DALAM MENGHAMBAT *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

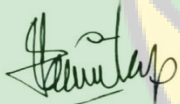
SKRIPSI

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: Senin, 18 Juli 2022
19 Dzulhijjah 1443 H
di Darusalam, Banda Aceh

Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi

Ketua,



Diannita Harahap, M.SI
NIDN. 2022038701

Sekretaris,



Ayu Nirnala Sari, M.Si
NIDN. 2027028901

Penguji I,



Syafrina Sari Lubis, M.Si
NIDN. 2025048003

Penguji II,



Raudhah Hayatillah, M.Sc
NIDN. 2025129302

Mengetahui:
Dekan Fakultas Sains 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 : Putri Rahil Marissa
NIM : 170703022
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* 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 dipertanggung jawabkan 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,



(Putri Rahil Marissa)
NIM.170703022

ABSTRAK

Nama : Putri Rahil Marissa
NIM : 170703022
Program Studi : Biologi Fakultas Sains dan Teknologi (FST)
Judul : Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*
Tanggal Sidang : 18 – Juli – 2022
Jumlah Halaman : 83
Pembimbing I : Diannita Harahap, M.Si
Pembimbing II : Syafrina Sari Lubis, M.Si
Kata kunci : Bakteri endofit, Supernatan, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit dan dapat menghasilkan senyawa antibakteri yang sama dengan inangnya. Pegagan merupakan tanaman yang memiliki senyawa metabolit sekunder yang berguna sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab infeksi kulit. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui karakteristik bakteriendofit dan kemampuan supernatan bebas sel bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Metode isolasi yang digunakan yaitu dengan metode *streak plate* dan produksi supernatan bebas sel dengan cara sentrifugasi serta disaring menggunakan saringan mikro 0,22 μm hingga didapattkansupernatan bebas sel. Pengujian aktivitas antibakteri supernatan bebas sel dilakukan menggunakan metode *Kirby Bauer*. Hasil yang didapatkan yaitu terdapat 9 isolat bakteri endofit menunjukkan karakteristik yang berbeda antara satu isolat dengan isolat yang lainnya. Kemampuan supernatan bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) sebagai antibakteri menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 25923 sebesar 6,94 mm menunjukkan aktivitas lemah. Zona hambat yang terbentuk terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 sebesar 4,61 mm menunjukkan aktivitas lemah.

Kata Kunci: Bakteri endofit, Supernatan, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

ABSTRACT

Name : Putri Rahil Marissa
NIM : 170703022
Study Program : Biology Faculty of Science and Technology (FST)
Title : Leaf Endophytic Bacterial Cell-Free Supernatant Activity
Gotu Kola (*Centella asiatica* (L.) Urb.) in Inhibiting
Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas*
aeruginosa
Date : 18 – July – 2022
Page : 83
Advisor I : Diannita Harahap, M.Si
Advisor I : Syafrina Sari Lubis, M.Si
Keywords : Endophytic bacteria, Supernatant, *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Endophytic bacteria are bacteria that live in plant tissues without causing disease symptoms and can produce the same antibacterial compounds as their host. Gotu kola is a plant that has secondary metabolites that are useful as antibacterial against bacteria that cause skin infections. The purpose of this study was to determine the characteristics of endophytic bacteria and the ability of the cell-free supernatant of endophytic bacteria of gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urb.) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. The isolation method used was streak plate method and the production of cell-free supernatant with centrifugation method and filtered using a 0.22 µm micro-sieve to obtain a cell-free supernatant. Testing the antibacterial activity of cell-free supernatants was carried out using the Kirby Bauer method. The results obtained were that there were 9 isolates of endophytic bacteria showing different characteristics from one isolate to another. The ability of the endophytic bacterial supernatant of gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urb.) as an antibacterial showed an inhibition zone against the bacterium *S. aureus* ATCC 25923 of 6.94 mm indicating weak activity. The inhibition zone formed against *P. aeruginosa* ATCC 27853 at 4.61 mm showed weak activity.

Keywords: Endophytic bacteria, Supernatant, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan petunjuk-Nya dalam menyelesaikan skripsi dengan judul **“Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*”**. Shalawat dan salam tidak lupa pula penulis sanjungkan kepadabaginda Nabi Muhammad SAW.

Terima kasih yang setulus-tulusnya penulis ucapkan kepada orang tua yang begitu luar biasa Ayahanda tercinta Syamsuar dan Ibu Sumirna Yanti. Berkat keridhaan, doa terbaik serta material dan dukungan yang tak henti-hentinya untuk kesuksesan selama perkuliahan, serta saudara Ryan Akmal Pasya yang telah memberikan motivasi terbaik dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis begitu banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak yang sangat membantu. maka dari itu, penulis menyampaikan begitu banyak rasa terima kasih yang sebesar-besarnya 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 Penasehat Akademik dan Sekretaris Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi yang telah memberikan arahan dan membantudalam segala keperluan.
4. Diannita Harahap, M.Si, selaku Pembimbing I yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama kuliah serta bimbingan dalam menulis.
5. Syafrina Sari Lubis, M.Si, selaku Pembimbing II telah memberikan arahandan bimbingan selama kuliah serta bimbingan dalam menulis.
6. Muslich Hidayat, M.Si, Ilham Zulfahmi, M.Si, Ayu Nirmala Sari, M.Si, Feizia Huslina, M.Sc, Lina Rahmawati, M. Si dan Raudhah Hayatillah, M.Sc selaku dosen Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi.

7. Staf Prodi Biologi yang telah membantu segala keperluan mahasiswa.
8. Rizkina Zurriani ZN, Ridha Maulidia Arif, Ismi Mauliasari, Uce Karlina, Tuti Aulia, Amalia Maysarah, Zelika Miyanda, Khairun Nisra, Judith Rachmayanti, Lisda Ariyanti, dan Nabilla Munawarah yang selalu memberikan dukungan dan motivasi terbaik.
9. Seluruh teman-teman seperjuangan angkatan 2017 dan abang-abang serta kakak-kakak, tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dan memberikan dukungannya.
10. Orang baik yang telah memberikan banyak semangat serta membantu segala kekurangan dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih banyak atas do'a, bantuan, dukungan dan motivasinya semoga segala do'a serta bantuan yang telah diberikan mendapatkan balasan terbaik dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu, penulis mengharapkan segala bentuk saran serta masukan bahkan kritik. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi orang lain terutama bagi penulis sendiri.

Banda Aceh, 09 Juli 2022

Penulis,



Putri Rahil Marissa

NIM. 170703022

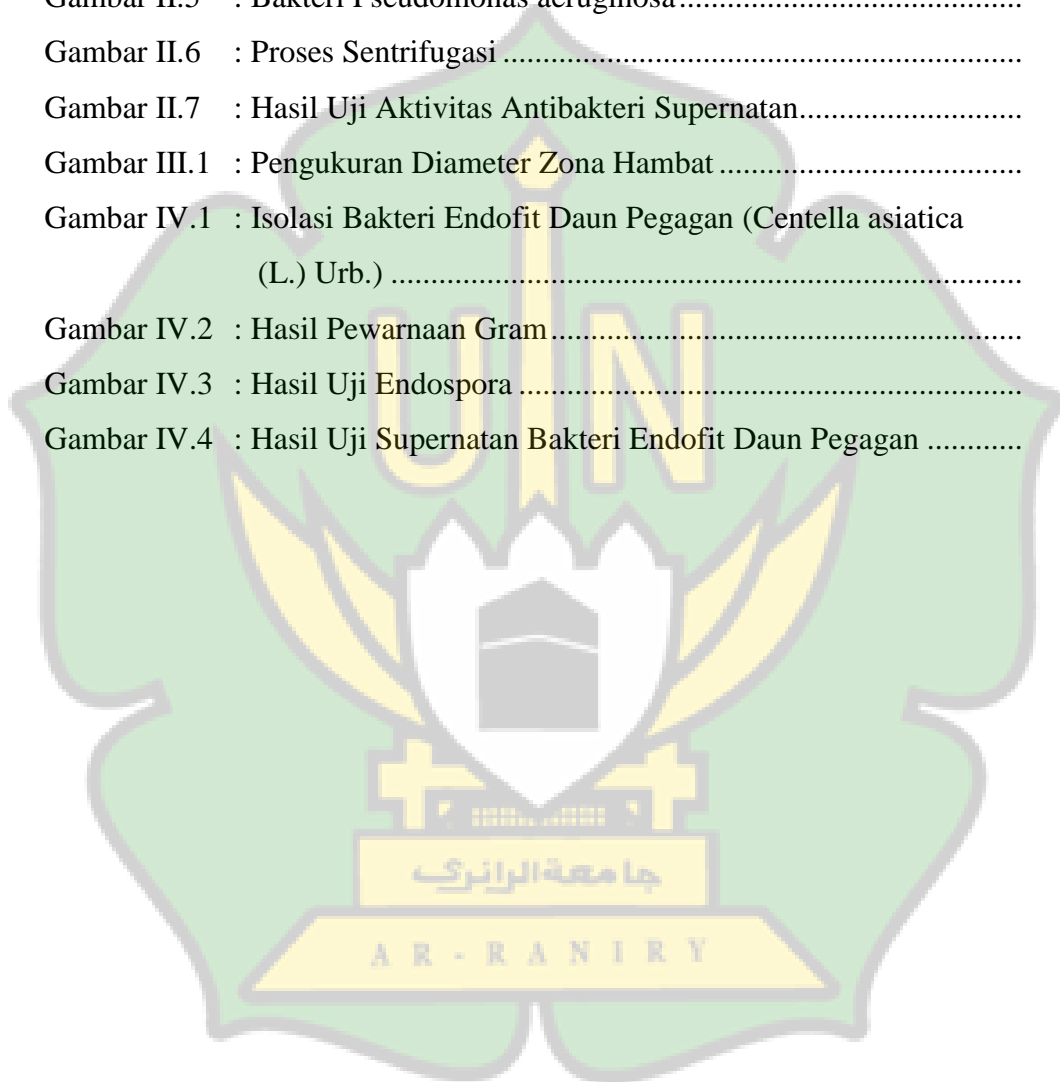
DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI	i
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iii
ABSTRAK	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah	5
I.3 Tujuan Penelitian.....	6
I.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1 Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.)	7
II.1.1 Klasifikasi Ilmiah Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb. ..	7
II.1.2 Morfologi Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.)	8
II.1.3 Kandungan Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.)	9
II.1.4 Manfaat Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.)	10
II.2 Bakteri Endofit.....	11
II.3 Bakteri Penyebab Infeksi Kulit.....	12
II.3.1 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	12
II.3.2 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
II.4 Supernatan Bebas Sel.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	18
III.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
III.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian	18
III.3 Objek Penelitian	18
III.4 Bakteri Uji	19
III.5 Alat dan Bahan Penelitian	19
III.5.1 Alat	19
III.5.2 Bahan	19
III.6 Metode Penelitian	19
III.7 Prosedur Kerja	20
III.7.1 Pengambilan Sampel Daun Pegagan	20
III.7.2 Sterilisasi Permukaan	20
III.7.3 Isolasi Bakteri Endofit	20

III.7.4 Pemurnian Bakteri Endofit	21
III.7.5 Identifikasi Isolat Bakteri Endofit	21
III.7.6 Produksi Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit	25
III.7.7 Penyiapan Bakteri Uji.....	25
III.7.8 Peremajaan Bakteri Uji.....	25
III.7.9 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	26
III.7.10 Kontrol Positif dan Negatif.....	26
III.7.11 Uji Aktivitas Supernatan Bebas Sel.....	26
III.7.12 Pengukuran Zona Hambat	27
III.7.13 Kriteria Zona Hambat	28
III.8 Analisis Data	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
IV.1 Hasil Penelitian	29
IV.1.1 Karakteristik Bakteri Endofit Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.).....	29
IV.2 Pembahasan	35
IV.2.1 Karakteristik Bakteri Endofit Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.).....	35
IV.2.2 Uji Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.) Dalam Menghambat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
BAB V PENUTUP	44
V.1 Kesimpulan	44
V.2 Saran	44
DAFTAR KEPUSTAKAAN	45
LAMPIRAN-LAMPIRAN	58
RIWAYAT HIDUP PENULIS.....	68

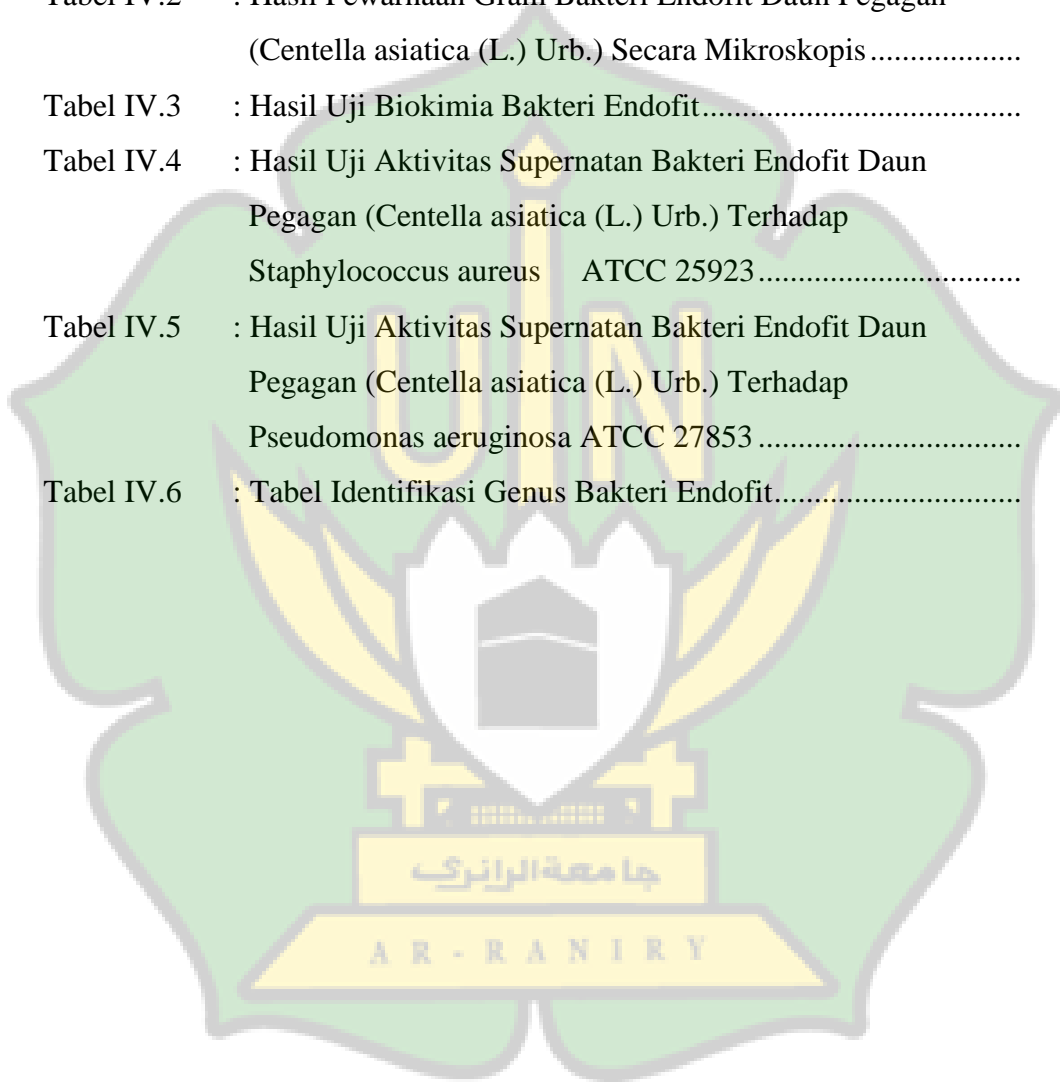
DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	: Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.)	7
Gambar II.2	: Morfologi Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.)....	9
Gambar II.3	: Isolasi Bakteri Endofit.....	11
Gambar II.4	: Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	13
Gambar II.5	: Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
Gambar II.6	: Proses Sentrifugasi	15
Gambar II.7	: Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Supernatan.....	16
Gambar III.1	: Pengukuran Diameter Zona Hambat	27
Gambar IV.1	: Isolasi Bakteri Endofit Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.)	30
Gambar IV.2	: Hasil Pewarnaan Gram.....	31
Gambar IV.3	: Hasil Uji Endospora	31
Gambar IV.4	: Hasil Uji Supernatan Bakteri Endofit Daun Pegagan	35



DAFTAR TABEL

Tabel III.1	: Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	18
Tabel III.2	: Klasifikasi Zona Hambatan Pertumbuhan.....	28
Tabel IV.1	: Hasil Identifikasi Bakteri Endofit Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.) Secara Makroskopis	29
Tabel IV.2	: Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.) Secara Mikroskopis	31
Tabel IV.3	: Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit.....	32
Tabel IV.4	: Hasil Uji Aktivitas Supernatan Bakteri Endofit Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.) Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	33
Tabel IV.5	: Hasil Uji Aktivitas Supernatan Bakteri Endofit Daun Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.) Terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	34
Tabel IV.6	: Tabel Identifikasi Genus Bakteri Endofit.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Alur Penelitian.....	59
Lampiran 2	: Dokumentasi Kegiatan Penelitian	60
Lampiran 3	: Rumus Pengulangan	63
Lampiran 4	: Surat Keterangan Pembimbing.....	64
Lampiran 5	: Surat Izin Penelitian	65
Lampiran 6	: Surat Selesai Penelitian	66
Lampiran 7	: Surat Determinasi	67
Lampiran 8	: Biaya Penelitian	68



DAFTAR SINGKATAN

AF	<i>Anaerob Fakultatif</i>	32
Aob	<i>Aerob Obligat</i>	32
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>	iv
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>	25
DC	<i>Diameter Cakram</i>	27
DH	<i>Diameter Horizontal</i>	27
DV	<i>Diameter Vertikal</i>	27
EC	<i>Endofit Centella</i>	29
LAFC	<i>Laminar Air Flow Cabinet</i>	19
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>	19
MSA	<i>Manitol Salt Agar</i>	13
NA	<i>Nutrient Agar</i>	14
NB	<i>Nutrient Broth</i>	19
pH	<i>Potencial of Hydrogen</i>	15
SCA	<i>Simmons Citrate Agar</i>	19
SIM	<i>Sulfide Indol Motility</i>	19
TBC	<i>Tuberkulosis</i>	12
TD	<i>Tidak Diuji</i>	32
TSIA	<i>Triple Sugar Iron Agar</i>	i
Urb	<i>Urban</i>	i

BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tanaman merupakan tumbuhan yang dapat hidup di lingkungan mana saja, seperti di lingkungan rumah, kebun dan hutan. Tanaman juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber sandang, pangan dan juga sebagai obat-obatan. Sejak dahulu, masyarakat telah memanfaatkan tanaman sebagai obat dalam menangani semua permasalahan kesehatan (Harefa, 2020). Masalah kesehatan merupakan masalah yang cukup serius, tidak hanya melibatkan persoalan medis dan teknis saja, namun juga melibatkan budaya dan tradisi. Penggunaan tanaman dari bahan alam yang berkhasiat sebagai obat dapat dijadikan sebagai penanganan kesehatan yang bersifat tradisional (Yamin *et al.*, 2018).

Dalam pengobatan tradisional manusia menggunakan tanaman herbal. Tanaman herbal merupakan tanaman yang dapat digunakan untuk mengatasi atau menyembuhkan beberapa penyakit dan dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan karena biaya yang dikeluarkan relatif lebih murah dibandingkan penggunaan obat sintesis, serta mudah didapat dan digunakan (Nurfiah *et al.*, 2019). Adapun beberapa jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional diantaranya akar tanaman alang-alang (*Imperata cylindrica*) yang berkhasiat dalam mengatasi hipertensi dan diare (Amtiran, 2019). Tanaman kunyit (*Curcuma longa* Linn.) digunakan sebagai pengobatan herbal dalam mengatasi permasalahan diabetes mellitus (Hamzah, 2019) dan ekstrak tanaman lidah buaya (*Aloe vera*) dapat digunakan untuk membantu proses penyembuhan luka pada kulit (Hindrawan *et al.*, 2021).

Kulit merupakan bagian terluar dari tubuh manusia yang sifatnya elastis dan halus. Kulit berfungsi sebagai penerima rangsangan seperti sentuhan, rasa sakit dan pertahanan pertama dari berbagai ancaman seperti kuman, virus dan bakteri (Riandri, 2017). Kurang terjaganya kesehatan pada kulit akan menimbulkan berbagai macam penyakit. Kurangnya kesadaran manusia terhadap penyakit kulit dikarenakan sifatnya yang tidak terlalu berbahaya dan umumnya tidak menyebabkan kematian, sehingga sering dibiarkan begitu saja. Hal tersebut sangat tidak dianjurkan karena jika kulit yang terserang penyakit

dibiarkan begitu saja, dapat menyebabkan terjadinya infeksi (Putri *et al.*, 2018).

Adapun beberapa penyakit infeksi yang menyerang bagian kulit yaitu jerawat, eksim, bisul dan impetigo (Retnaningsih *et al.*, 2019). Bakteri yang sering dijumpai pada penderita infeksi kulit diantaranya *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri yang dapat ditemukan pada penderita jerawat (Mulyani *et al.*, 2017). Bakteri lain seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Streptococcus* sp., dimana *S. aureus* merupakan bakteri dominan yang ditemukan pada penderita abses (Puspaningrum & Wibowo, 2020). Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* (Ivan *et al.*, 2019).

Staphylococcus aureus dapat ditemukan berkoloni pada bagian kulit dan selaput lendir. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri kelompok Gram positif bersifat patogen yang menginfeksi manusia. Bakteri patogen ini juga dianggap sebagai penyebab utama infeksi yang didapat dari rumah sakit (Papadopoulos *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2018). Selain bakteri *S. aureus* sebagai penyebab infeksi pada kulit juga terdapat bakteri Gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* yang sama-sama bersifat patogen bagi manusia dan dapat menyebabkan infeksi pada penderita abses, luka infeksi dan luka bakar (Nagoba *et al.*, 2017).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Raytekar *et al.*, (2017) bakteri *P. aeruginosa* ditemukan pada sampel pus dan luka radang yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi. Bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* merupakan bakteri patogen penting dan juga berbahaya diantara genus *Staphylococcus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Karena menjadi lebih resisten terhadap berbagai jenis obat, sehingga pemilihan antimikroba yang sesuai menjadi lebih sulit dan terbatas (Sulistiyarsi & Pribadi, 2018).

Penanganan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dapat memanfaatkan senyawa alami yang diperoleh dari tanaman. Tanaman pala (*Myristica fragrans*) menghasilkan minyak atsiri (*Citronella oil*) yang dapat digunakan sebagai senyawa alami dari tanaman pala sebagai antibakteri (Ansory *et al.*, 2018). Pemanfaatan senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, dan saponin juga dapat digunakan sebagai antibakteri (Nugraha *et al.*, 2017). Penggunaan antibakteri mampu me-

meningkatkan resistensi bakteri patogen apabila tidak sesuai. Cara yang lebih efisien yaitu dengan menggunakan senyawa aktif baru yang dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri adalah bakteri endofit (Iqlima *et al.*, 2017).

Bakteri endofit merupakan bakteri yang berada pada jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit pada tanaman inangnya (Afizar, 2017). Bakteri endofit mampu menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antibakteri (Suryati, 2017). Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri biasanya terdapat pada suatu makhluk hidup sebagai metabolit sekunder. Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dilakukan dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran sehingga senyawa antimikroba dapat masuk ke dalam sel menyebabkan sel menjaditerganggu dan rusak, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim. Senyawa yang berperan dalam merusak dinding sel antara lain fenol, flavonoid, dan alkaloid (Septiani, 2017; Pradana *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelitian terdahulu mengenai bakteri endofit yang telah dilakukan oleh Hanif & Susanti (2017) menyatakan bahwa bakteri endofit tanaman jagung (*Zea mays*) diketahui memiliki senyawa metabolit yang berguna sebagai anticendawan, yaitu *lauric acid*, *propenoic acid* dan *cyclohexanone*. Berdasarkan penelitian Oktavia & Pujiyanto (2018) bakteri endofit tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus*, L.) berpotensi sebagai penghasil senyawa antibakteri. Berdasarkan penelitian Sepriana *et al.*, (2017) menyatakan bahwa bakteri endofit tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) memiliki senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *S. aureus*. Adapun bakteri endofit kulit batang santigi (*Pemphis acidula* Forst) memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* (Untu, 2019). Selain dari tanaman di atas, bakteri endofit juga dapat diperoleh dari tanaman pegagan (Kurniawan *et al.*, 2021).

Pegagan termasuk dalam genus *Centella* dalam keluarga Apiaceae yang terdiri dari sekitar 50 spesies termasuk spesies yang paling melimpah diantaranya spesies *Centella asiatica* (L.). Tanaman ini merupakan salah satu tanaman yang biasa digunakan sebagai obat herbal oleh masyarakat tradisional di seluruh dunia karena manfaat kesehatannya yang terkenal sejak zaman

prasejarah (Sabaragamuwa *et al.*, 2018). Pegagan mengandung banyak kandungan seperti *asiatic acid*, *madeccasic acid*, *asiaticoside*, *madecassoside*, *etulinic acid*, *thankunic acid* dan *isothankunic acid*. Manfaat pegagan juga sebagai meningkatkan daya ingat, menurunkan inflamasi, meningkatkan aktivitas kognitif serta dapat membantu penyembuhan luka pada kulit (Lisiswanti & Fiskasari 2017). Berdasarkan penelitian Ramandey & Bunei, (2021) Suku Mee menggunakan daun pegagan (*Centella asiatica*) sebagai penyembuhan penyakit pada kulit yang membengkak dan berisi nanah atau sering disebut bisul. Daun pegagan mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid dan tanin yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Maulidia *et al.*, 2019).

Selain penggunaan antibakteri dari bakteri endofit daun pegagan, uji daya hambat dapat dilakukan menggunakan aktivitas supernatan bebas sel. Supernatan bebas sel merupakan hasil dari proses sentrifugasi yang memiliki masa jenis yang lebih ringan yang terpisah dengan endapan (pelet). Supernatan bebas sel bakteri endofit ini mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji (Fitrianingsih, 2019). Penggunaan supernatan bebas sel mampu menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan zona hambat yang lebih besar. Hal ini berdasar pada penelitian Astari *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwapenggunaan antibakteri dari supernatan bebas sel bakteri endofit dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap bakteri *S. aureus*. Sebanyak 17 isolat bakteriendofit memiliki potensi sebagai antibakteri dengan diameter zona hambat yang terbentuk berkisar 7,4–13,76 mm. Isolat yang memiliki zona hambat terbesar merupakan isolat M8 yang memiliki kemiripan dengan genus *Pseudomonas*.

Penelitian serupa juga telah dilakukan oleh Aqlinia *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa pengujian aktivitas antibakteri supernatan metabolit sekunder isolat bakteri endofit potensial dari tanaman bangle dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Isolat Ri1 menghambat bakteri uji dengan diameter zona hambat sebesar 6,98 mm, isolat Ri4 sebesar 8,12mm dan isolat Ak1 sebesar 9,25 mm. Kekuatan daya antibakteri uji berdasarkan besar zona hambat termasuk ke dalam kategori sedang. Berdasarkan penelitian yang telah

dilakukan oleh Kurniawan *et al.*, (2021) diketahui bahwa penggunaan antibakteri dari supernatan bebas sel bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap bakteri *S. aureus* membentuk zona hambat dengan kategori kuat, bakteri endofit daun pegagan dihasilkan sebanyak 37 isolat. Bakteri endofit daun pegagan ini memiliki potensi aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* berdasarkan adanya senyawa metabolit sekunder yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat sebesar 15,9 mm pada isolat I2 dan 9,02 pada I1 mm. Bakteri endofit yang diisolasi dari daun pegagan (*Centella asiatica*) merupakan dari genus *Bacillus*.

Sedangkan pada penelitian Adityawarman *et al.*, (2019) diketahui bahwa hasil identifikasi bakteri endofit pada daun pegagan menunjukkan adanya kemiripan dengan genus *Pseudomonas* pada isolat 16. Zona hambat yang terbentuk hanya dengan penggunaan bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica*) membentuk zona hambat dengan kategori sedang yaitu isolat 16 memiliki diameter zona hambat sebesar 6,5 mm, isolat 36 sebesar 4,5 mm, isolat 26 dan isolat 30 memiliki zona hambat sebesar 2 mm.

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin melakukan penelitian dengan judul “**Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*”.**

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, adapun yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik bakteri endofit pada daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) ?
2. Bagaimana aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* ?

I.3 Tujuan Penelitian

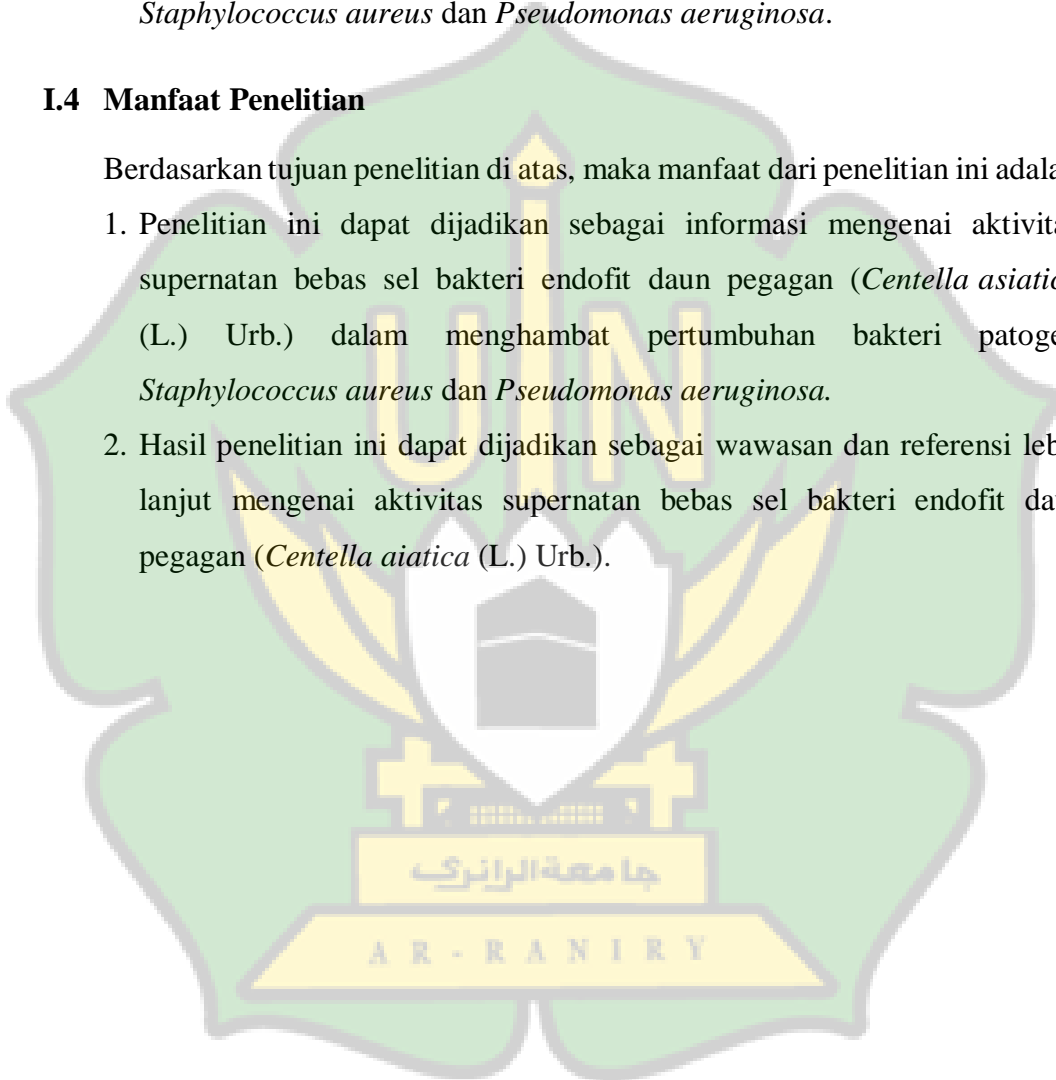
Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui bagaimana karakteristik bakteri endofit pada daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.)
2. Untuk mengetahui bagaimana aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

I.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian di atas, maka manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai informasi mengenai aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai wawasan dan referensi lebih lanjut mengenai aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.).



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.)

II.1.1 Klasifikasi Ilmiah Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.)

Pegagan adalah tanaman liar yang banyak ditemukan di perkebunan, ladang, tepi jalan, serta pematang sawah. Pegagan berasal dari daerah Asia tropik dan tersebar luas di berbagai negara seperti Filipina, Cina, India, Sri Lanka, Madagaskar dan Indonesia. Nama lain dari daun pegagan di negara Inggris dikenal dengan sebutan *pennyworth* dan sebutan gotu kola di benua Amerika (Susetyarini & Nurrohman, 2020). Daun pegagan juga disebut dengan daun antanan (Sunda), pacul goang (Jawa Tengah), regedeg (Yogya), gan-ganan (Madura), taidaah (Bali), wisu-wisu (Makasar), cipu balawo (Bugis), dogauke (Papua) dan sarowati (Halmahera). Daun pegagan juga disebut tapak kuda karena daunnya menyerupai tapal kaki kuda (Ulung & Studi, 2014).



Gambar II.1 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.).
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2021).

Menurut Itis.gov (2021) klasifikasi pegagan (*Centella asiatica*) adalah sebagai berikut:

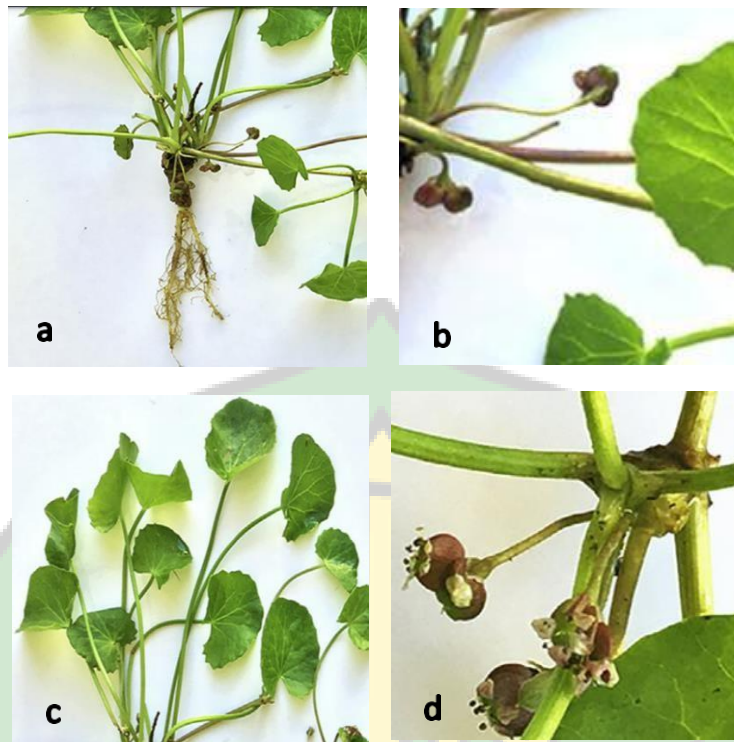
Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub-divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Umbellales
Famili : Umbelliferae
Genus : *Centella*
Spesies : *Centella asiatica* (L.) Urb.

II.1.2 Morfologi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.)

Pegagan merupakan tanaman tahunan daerah tropis yang berbunga di sepanjang tahunnya. Tanaman ini mudah sekali ditemukan karena dapat tumbuh di dataran rendah sampai dengan ketinggian 2.500 mdpl. Pegagan tumbuh di daerah yang lembab dan mendapatkan sinar matahari yang cukup (Vinolina, 2021). Habitat pegagan umumnya pada daerah tropis dan sub tropis. Berdasarkan letak geografisnya, dapat membedakan variasi dalam morfologi dan komposisi kimia. Pegagan adalah tanaman merambat dan menjalar hingga mencapai panjang rata-rata 15 cm (Sabaragamuwa *et al.*, 2020).

Sistem perakaran tanaman pegagan yaitu akar tunggang. Akar lembaga akan tumbuh terus menerus menjadi akar pokok yang memiliki percabangan menjadi akar-akar yang lebih kecil. Tangkai pegagan tidak keras dan memiliki tekstur berair dan lunak, umumnya berwarna kemerahan pada bagian pangkal dan berwarna hijau pada bagian ujung yang mendekati helaian daun. Panjang tangkai daun bisa mencapai 50 mm (Susetyarini & Nurrohman, 2020).

Daun pegagan umumnya berwarna hijau tua, pada bagian atas permukaan daun halus dan pada bagian bawahnya terdapat rambut-rambut halus berwarna putih. Bentuk helaian daun pegagan berbentuk ginjal, dengan pangkal daun yang membulat, tepi daun memiliki lekukan atau beringgit sampai bergerigi, terutama kearah pangkal daun. Bunga berwarna putih atau ada juga yang berwarna merah muda, tersusun dalam karangan berupa payung (Susetyarini & Nurrohman, 2020).



Gambar II.2 Morfologi Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) a) Akar Pegagan, b) Tangkai Pegagan, c) Daun Pegagan dan d) Bunga Pegagan.

(Sumber: Sabaragamuwa *et al.*, 2018).

II.1.3 Kandungan Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.)

Pegagan merupakan salah satu tanaman yang memiliki manfaat bagi kesehatan, seperti menjaga dan meningkatkan daya ingat, menurunkan tekanan darah, serta mencegah terjadinya keloid pada bekas luka. Hal ini dikarenakan pegagan mengandung berbagai senyawa aktif (Ramadhan, 2019). Kandungan pada pegagan terdiri dari 8,3 g air, 1,6 g protein, 0,6 g lemak, 6,9 g karbohidrat, 1,6 g abu, 170 mg kalsium, 30 mg fosfor, 3,1 mg zat besi, 414 mg kalsium, 6580 µg betakaroten, 0,15 mg tiamin, 0,14 mg riboflavin, 1,2 mg niasin, 4 mg askorbat dan 2,0 g serat dalam 100 g pegagan (Vinolina, 2021). Adapun senyawa aktif yang terkandung di dalam tanaman pegagan meliputi *asiaticoside*, *centelloside*, *madecassoside* dan *asiatic acid* (Waluyo, 2020).

Senyawa metabolit sekunder daun pegagan adalah flavonoid, alkaloid, tanin, saponin serta Vitamin C (Susetyarini & Nurrohman, 2022). Adapun

senyawa penting yang dapat dijadikan sebagai antioksidan dari tanaman pegagan adalah *polyphenols* dan *flavonoids* seperti *quercetin*, *quercitrin*, *kaempferol*, *luteolin*, *chlorogenicacid*, *castilliferol*, *apigenin* dan *rutin*. *Carotenoids* seperti *neoxanthin*, *violaxanthin*, *lutein* dan *beta carotene*. *Tannins* diantaranya *tannin* dan *phlobatannin* serta vitamin-c yaitu *ascorbic acid* (Jhansi & Kola, 2019).

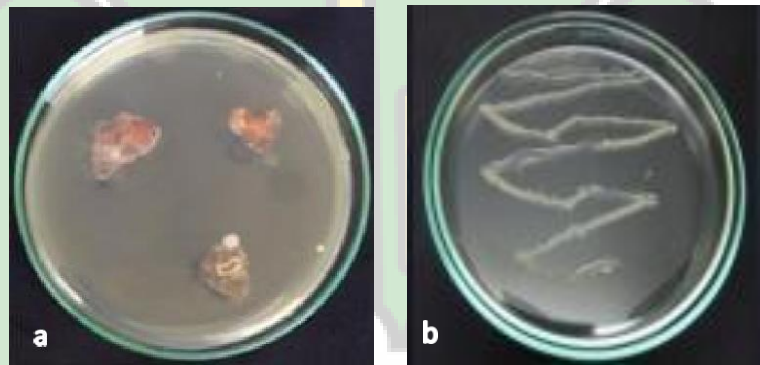
II.1.4 Manfaat Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.)

Tanaman pegagan (*Centella asiatica*) sebagai obat tradisional cukup banyak digunakan oleh masyarakat. Pegagan memiliki rasa yang sedikit manis dan memiliki efek mendinginkan. Pegagan bermanfaat untuk regenerasi sel dan pembuluh darah, anti infeksi, menurunkan panas dan demam, diuretik (peluruh kencing), pembengkakan hati, meningkatkan kesuburan wanita, mengurangi gejala asma, mengobati hipotensi, menghentikan pendarahan (hemoragi), anti bakteri, antiplasma, anti inflamasi, antialergi dan meningkatkan kekebalan tubuh (Vinolina, 2021). Minyak atsiri yang terkandung pada daun pegagan dapat digunakan sebagai penghambat bakteri dan jamur serta ekstrak pegagan juga dapat menurunkan jumlah glukosa dalam darah karena kandungan asam asiatik berperan dalam meningkatkan fibrosis islet pada pankreas (Prakash *et al.*, 2017).

Asiatikosida yang berasal dari pegagan dapat membantu penyembuhan luka. Esktrak pegagan telah banyak digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka, mengobati luka bakar dan mencegah keloid atau hipertrofik bekas luka, menstimulasi kolagen pada kulit dan merangsang sintesis kolagen serta peningkatan elastisitas kulit (Vinolina, 2021). Manfaat lainnya yaitu dapat digunakan untuk mengatasi *striae gravidarum* atau sering disebut dengan *stretch mark* dengan cara penggunaan krim ekstrak dari pegagan (*Centella asiatica*) (Abdullah *et al.*, 2022). Pemanfaatan tanaman pegagan sebagai pengobatan dapat dilakukan dengan cara merebus dan air rebusan diminum secara teratur (Waluyo, 2020).

II.2 Bakteri Endofit

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme pada jaringan interseluler atau intraseluler tumbuhan yang sehat tanpa menimbulkan gejala penyakit dan tidak berbahaya untuk tumbuhan inangnya (Sousa *et al.*, 2017). Bakteri endofit yang berada pada jaringan tumbuhan berasal dari lingkungan luar dan dapat masuk ke dalam jaringan tanaman melalui beberapa cara, yaitu melalui stomata, lentisel, celah atau luka pada tanaman, selanjutnya bakteri endofit berkoloni dan menyebar keseluruh bagian jaringan tanaman lainnya seperti daun, batang, bunga dan biji melalui pembuluh xilem (Putri, 2018).



Gambar II.3 a) Isolat Bakteri Endofit dan b) Bakteri Endofit Batang Karet (*Hevea brasiliensis*).
(Sumber: Linda *et al.*, 2018; Lestari, 2017).

Keberadaan bakteri endofit pada jaringan tanaman inangnya masuk melalui akar, stomata atau bagian luka pada tanaman dan membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan baik pada akar, batang, daun dan organ lainnya pada waktu tertentu (Isnayanti, 2020). Bakteri endofit mampu bersimbiosis saling menguntungkan dengan tanaman inangnya, yaitu dengan memanfaatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman untuk hidup. Selain itu bakteri endofit juga memberikan keuntungan terhadap tanaman inangnya dengan cara melindungi tanaman dari serangan makhluk lainnya seperti serangga (Sagita *et al.*, 2017).

Bakteri endofit memiliki kemampuan menghasilkan senyawa metabolit yang sama dengan inangnya. Senyawa metabolit ini berfungsi sebagai antibakteri. Metabolit sekunder pada bakteri endofit terdiri dari alkaloid,

flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin (Sarjono *et al.*, 2019). Senyawa metabolit pada bakteri endofit dapat antimalaria, antikanker, tuberculosis (TBC) dan antifungi (Anwar & Futra, 2019).

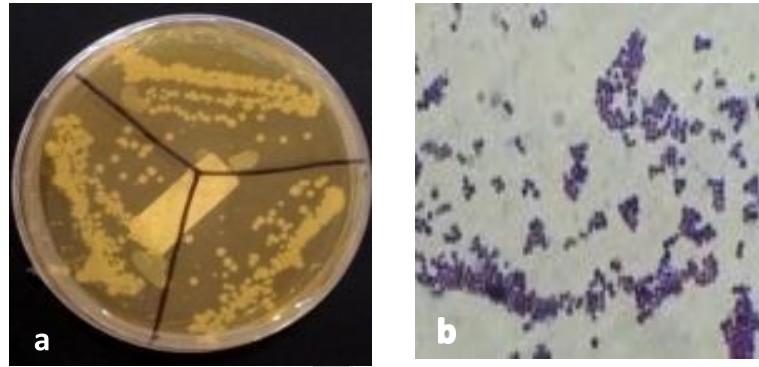
II.3 Bakteri Penyebab Infeksi Kulit

III.3.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu spesies dari genus *Staphylococcus* berbentuk bulat, bakteri Gram positif dan berdiameter 0,8-1 mikron(μm), tidak bergerak dan tidak berspora. Menurut bahasa Yunani *Staphyle* yang berarti menyerupai anggur dan berbentuk bulat atau bola (Febrianasari, 2018; Hayati *et al.*, 2019). Bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada manusia dan mudah ditemukan pada rongga hidung, serta dapat berpindah dan menyebar ke kulitmaupun bagian tubuh lainnya. *S. aureus* juga dapat ditemukan pada tenggorokan, usus serta area kewanitaan (Rahardjo *et al.*, 2017).

Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit apabila bakteri ini dapat masuk ke dalam organ tubuh manusia. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri genus *Staphylococcus* ini apabila lingkungan yang kurang sehat dan ketahanan tubuh yang lemah. Penyebaran bakteri *S. aureus* melalui tanah, air dan debu di udara. Selain itu bakteri dapat berpindah pada saat melakukan kontak fisik (Arfani, 2021). Umumnya penyakit yang disebabkan pada manusia yaitu infeksi piogenik, diare, sepsis luka bedah, abses payudara hingga lesi pada kulit (Abidin, 2018).

Infeksi akibat *S. aureus* juga dapat menyerang pada luka pasien penderita diabetes mellitus dengan persentase terbanyak sebesar 92,9 % (Nur & Marissa, 2017). Hal ini dikarenakan luka ulkus terbuka sehingga bakteri dengan mudahnya masuk dan menginfeksi luka tersebut. Selain itu, penderita diabetes mellitus memiliki kadar glukosa yang tinggi sehingga menjadikan nutrisi dan habitat bagi bakteri untuk dapat hidup dan berkembang biak (Gowa, 2020).



Gambar II.4 Bakteri *Staphylococcus aureus* a) Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media MSA dan b) Pewarnaan Gram Mikroskopis. (Sumber: Hayati *et al.*, 2019).

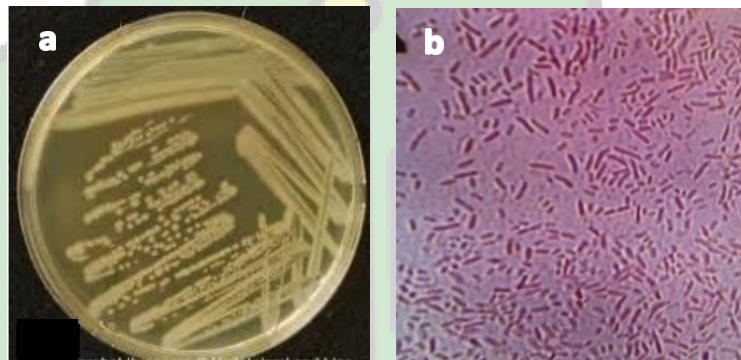
Menurut Itis.gov (2021) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom : Eubacteria
 Filum : Firmicetus
 Kelas : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Family : Staphylococcaceae
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus*

III.3.2 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat motil karena memiliki flagel untuk bergerak. *P. aeruginosa* memiliki bentuk tunggal dan tersusun dalam rantai pendek, berbentuk batang dengan ukuran sekitar $0,6 \times 2 \mu\text{m}$, mudah tumbuh pada berbagai media pembiakannya, hal ini dikarenakan kebutuhan nutrisinya yang sangat sederhana. *P. aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu $37\text{-}42 \text{ }^\circ\text{C}$ (Rahmadani, 2019). Warna koloni bakteri umumnya berwarna kuning, berdiameter $2.42 \text{ mikron } (\mu\text{m})$. Bakteri *P. aeruginosa* dapat dijumpai di tanah, air, tanaman dan hewan (Rahmaningsih *et al.*, 2017).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah salah satu bakteri patogen yang menginfeksi kulit manusia dan juga hewan karena *P. aeruginosa* dapat membentuk koloni serta menimbulkan infeksi apabila imun tubuh seseorang menurun. Bakteri ini dapat tumbuh pada manusia yang sehat dan akan bersifat saprofit di usus dan kulit manusia. Bakteri *P. aeruginosa* juga menginfeksi pasien rumah sakit yang mengidap penyakit luka bakar, fibrosis dan kanker. Infeksi yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* ditandai dengan terbentuknya nanah berwarna hijau hingga biru (Jaksono, 2020).



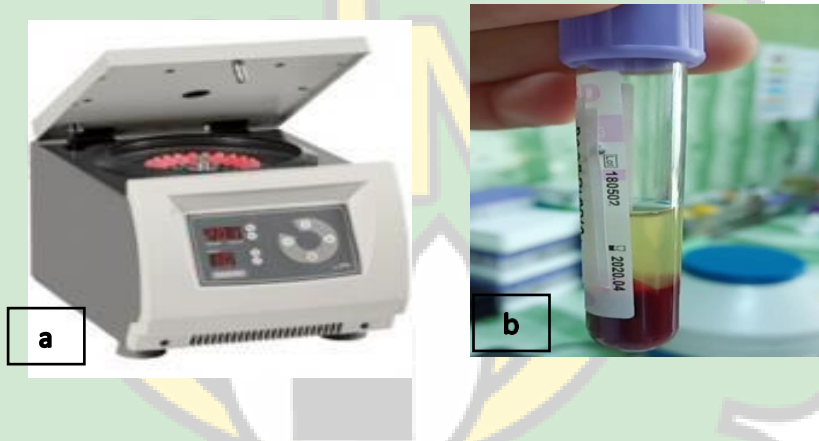
Gambar II.5 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* a) Isolat *Pseudomonas aeruginosa* pada Media NA dan b) Pewarnaan Gram Mikroskopis. (Sumber: Girsang *et al.*, 2019; Sulviana *et al.*, 2017).

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.4 Supernatan Bebas Sel

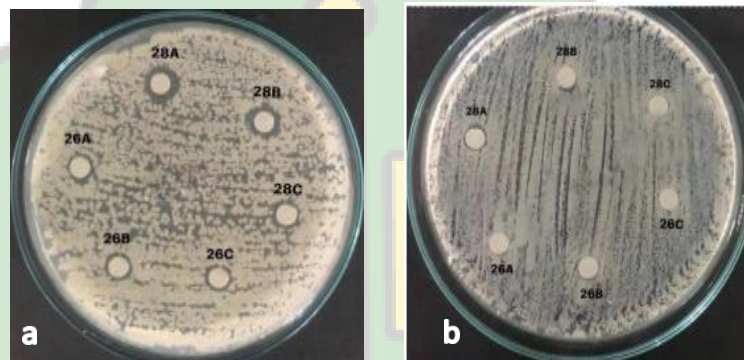
Supernatan merupakan hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis yang lebih rendah. Supernatan dapat dihasilkan melalui proses sentrifugasi yang memisahkan partikel yang densitasnya lebih tinggi dari pelarut turun (endapan) dan partikel yang lebih ringan akan berada pada bagian atas (Fitrianingsih, 2019). Letak supernatan berada pada lapisan atas dan warnanya lebih jernih. Sementara butir (pelet) adalah substansi hasil sentrifugasi yang memiliki bobot jenis yang lebih tinggi dan berupa endapan di bagian bawah tabung (Trisniawati, 2019). Supernatan bebas sel hasil sentrifugasi menunjukkan bahwa memiliki sifat asam dengan rentang nilai pH 5,65-5,84 (Erlindawati *et al.*, 2015).



Gambar II.6 Proses Sentrifugasi a) Alat Sentrifugasi dan b) Hasil Supernatan
(Sumber: *Andarupm.co.id*).

Prinsip kerja sentrifugasi menggunakan prinsip rotasi atau perputaran tabung dengan menggunakan kecepatan rotasi permenit (rpm). Partikel yang masih terlarut dalam cairan akan turun dan mengendap pada bagian bawah dari pusat putaran dan mengendap. Untuk mendapatkan hasil dari sentrifugasi dilakukan dengan cara menempatkan wadah yang berisi suspensi partikel pada bagian rotor yang kemudian akan berputar dengan kecepatan tertentu (Ingrat, 2018). Supernatan kemudian disaring menggunakan filter bakteri 0,22 μm yang bertujuan untuk memisahkan supernatan dari sel-sel bakteri yang tersisa (Prisilia, 2019).

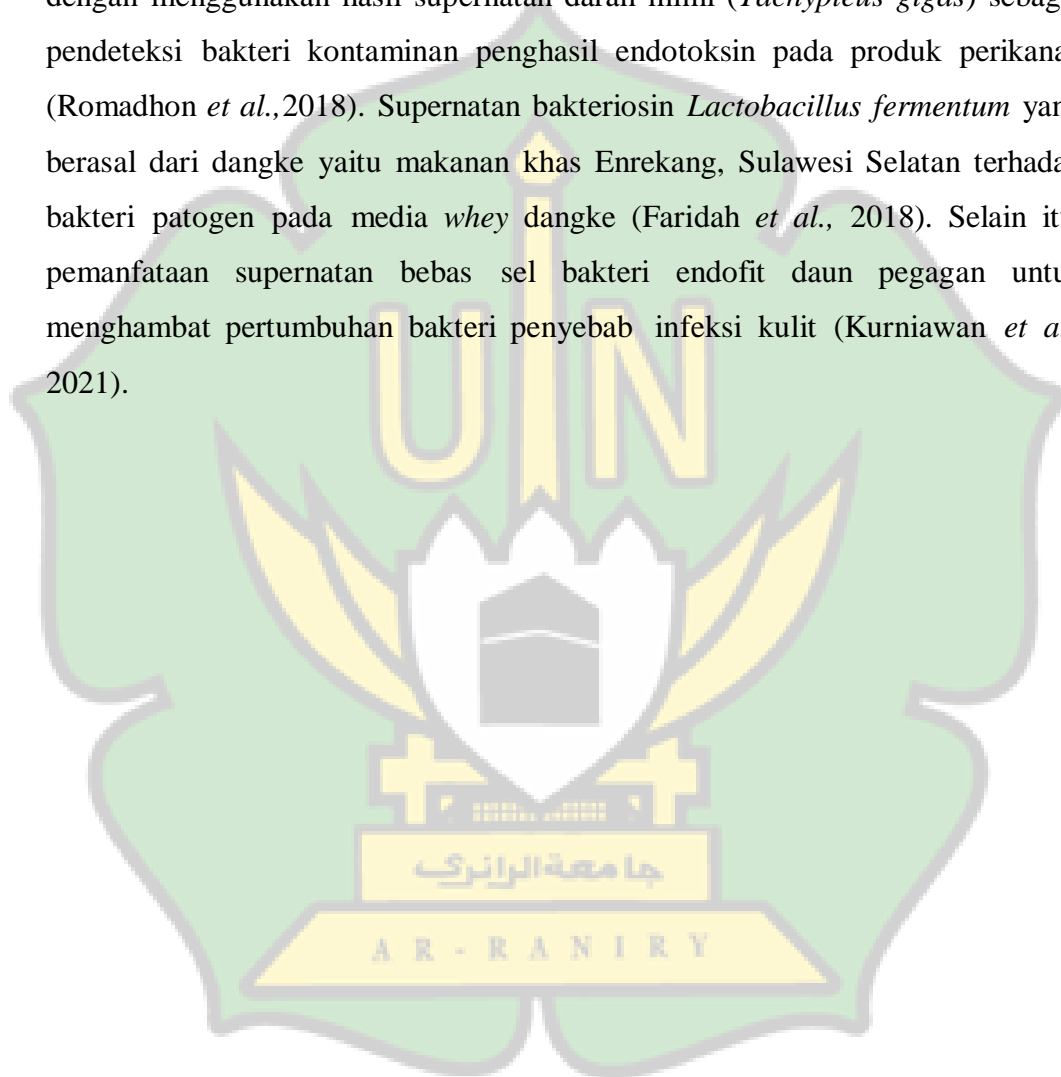
Proses sentrifugasi bertujuan untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder dari bakteri (Sarjono *et al.*, 2020). Supernatan yang dihasilkan setelah proses sentrifugasi memiliki senyawa metabolit sekunder (Kurniawan *et al.*, 2021). Metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa organik yang berasal dari sumber alami tumbuhan, yang dapat memberikan efek fisiologis terhadap makhluk hidup, pada umumnya merupakan senyawa bioaktif. Senyawa metabolik, sangat berperan dalam mempertahankan kehidupan organisme (Suteja, 2018; Kurniawan *et al.*, 2021).



Gambar II.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Supernatan a) Bakteriosin *L. plantarum* terhadap *Staphylococcus aureus* dan b) Bakteriosin *L. plantarum* terhadap *Escherichia coli*. (Sumber: Prisilia, 2019).

Senyawa metabolit yang terkandung dalam supernatan darah yaitu protein, fenol, flavonoid, alkaloid dan saponin. Sedangkan yang terkandung dalam pelet yaitu lemak dan lisin (Romadhon *et al.*, 2018). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada supernatan seperti flavonoid, alkaloid, fenol dan terpenoid dapat dijadikan sebagai antibakteri. Flavonoid, salah satu senyawa aktif yang merupakan senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri. Selain itu alkaloid berfungsi untuk menghambat proses sintesis dinding sel, sehingga sel menjadi lisis. Senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel dan menghentikan kerja enzim yang berperan dalam metabolisme seluler (Silvia, 2018). Apabila terjadi kerusakan pada membran sel, maka semipermeabilitas membran sel akan menurun, sehingga menyebabkan nutrisi dan enzim-enzim keluar dari sel (Hastuti *et al.*, 2020).

Pemanfaatan supernatan bebas sel dapat digunakan sebagai anticendawan yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen penyebab penyakit busuk yang disebabkan oleh *Ganoderma boninense* terhadap tanaman kelapa sawit (Widiantiniet al., 2018). Supernatan bakteri endofit tanaman *Vitex pubescens* Vahl. Memiliki kemampuan sitotoksiknya terhadap sel kanker *HeLa* (Anwar & Futra, 2019). Pemanfaatan supernatan bebas sel juga dapat sebagai antibakteri dengan menggunakan hasil supernatan darah mimi (*Tachypleus gigas*) sebagai pendeteksi bakteri kontaminan penghasil endotoksin pada produk perikanan (Romadhon et al., 2018). Supernatan bakteriosin *Lactobacillus fermentum* yang berasal dari dangke yaitu makanan khas Enrekang, Sulawesi Selatan terhadap bakteri patogen pada media *whey* dangke (Faridah et al., 2018). Selain itu, pemanfaatan supernatan bebas sel bakteri endofit daun pegagan untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi kulit (Kurniawan et al., 2021).



BAB III METODE PENELITIAN

III.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2021 hingga Maret 2022 pada Laboratorium Mikrobiologi Gedung Multifungsi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry, Banda Aceh. Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syah Kuala dan Laboratorium FMIPA Universitas Syah Kuala.

III.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Jadwal pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Tabel berikut ini:

Tabel III.1 Tabel Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No.	Kegiatan	Desember				Januari				Februari				Maret			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
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 penelitian ini adalah daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) 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 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang diperoleh dari Laboratorium Fundament Kedokteran Hewan Universitas Syah Kuala, Banda Aceh.

III.5 Alat dan Bahan Penelitian

III.5.1 Alat

Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *sentrifuge*, *rotary shaker*, *vortex mixer*, *waterbath*, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, inkubator, autoklaf, neraca analitik, mikroskop, gunting bedah steril, pinset, cawan petri, bunsen, jarum ose, mikropipet, kaca benda, penjepit kaca benda, tabung reaksi, rakrabung reaksi, erlenmayer, gelas beker, gelas ukur, pipet tetes, jangka sorong, pematik, saringan mikro 0,22 μm , *microtube*, suntik, spidol dan kamera HP.

III.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan meliputi daun pegagan (*Centella asiatica*) segar, media *Nutrient Agar* (NA), *Media Nutrient Broth* (NB), *Media Mueller Hinton Agar* (MHA), *Media TSIA*, *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Media Simon Citrat Agar* (SCA), nistasin 30 μg , larutan standar Mc Farland 0,5, larutan NaCl steril, larutan hipoklorit, *hydrogen peroxide*, *reagen kovacs*, *oxidase strip*, aquades steril, alkohol 70%, alkohol 96%, *blank disk*, tisu, sarung tangan, spritus, *cutton swab* steril, *plastic wrap*, plastik sampel, aluminium foil, kloramfenikol 30 μg , safarin, iodine, kristal violet, *malachite green*.

III.6 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode kualitatif yaitu dengan melihat keberadaan bakteri endofit pada daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan menghitung zona hambat yang terbentuk dari aktivitas supernatan bakteri endofit terhadap bakteri patogen.

III.7 Prosedur Kerja

III.7.1 Pengambilan Sampel Daun Pegagan

Sampel daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) diperoleh dari Dinas Pertanian dan Perkebunan Aceh, Kota Banda Aceh. Sampel yang diambil berupa tanaman pegagan utuh sebanyak 20 gr, kemudian dimasukkan ke dalam plastik sampel untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium (Susilowati *et al.*, 2018).

III.7.2 Sterilisasi Permukaan

Daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) yang masih segar dicuci di bawah air mengalir dan kemudian disterilisasi permukaannya di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) (Yati *et al.*, 2018). Sterilisasi dilakukan dengan cara direndam menggunakan alkohol 70% selama 1 menit. Kemudian direndam ke dalam larutan Larutan hipoklorit (NaOCl) selama 5 menit. Kemudian direndam kembali menggunakan alkohol 70% selama 1 menit. Setelah perendaman daun dibilas menggunakan aquades steril sebanyak 3 kali, kemudian sampel dikeringkan menggunakan tisu steril (Primanita *et al.*, 2015).

III.7.3 Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit yang digunakan dari bagian tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) adalah bagian daun muda (Marsoali *et al.*, 2019). Metode yang digunakan adalah metode *direct culture* (penanaman langsung). Daun pegagan yang telah dikeringkan menggunakan tisu kemudian dipotong menjadi ukuran 1 x 1 cm di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dengan menggunakan gunting bedah steril. Daun selanjutnya diinokulasikan pada media NA yang sudah ditambahkan dengan agen antijamur nistatin sebanyak 30 µg/ml. Setiap cawan petri berisikan 3 potong daun dengan posisi bagian permukaan daun diletakkan di atas media NA (Pratiwi, 2015; Huda *et al.*, 2020).

III.7.4 Pemurnian Bakteri Endofit

Media yang digunakan untuk pemurnian bakteri endofit yaitu media NA (Nutrien Agar) pemurnian isolat bakteri menggunakan metode cawan gores (*streak plate*) untuk mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni yang lain. Selanjutnya diambil sebanyak 1 ose bakteri endofit yang telah tumbuh pada daun pegagan (*Centella asiatica*) dan diinokulasikan ke media NA (Putri *et al.*, 2018). Media yang berisikan bakteri endofit selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Anjum *et al.*, 2015).

III.7.5 Identifikasi Isolat Bakteri Endofit

Karakterisasi morfologi bakteri endofit dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis sebagai berikut:

III.7.5.1 Identifikasi Bakteri Endofit Secara Makroskopis

Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni yang tumbuh setelah menggunakan metode *streak plate*. Identifikasi dilakukan dengan cara mengamati bentuk koloni yang tumbuh di atas permukaan media agar seperti bentuk, ukuran, warna dan tepi koloni (Pratiwi, 2015).

III.7.5.2 Identifikasi Bakteri Endofit Secara Mikroskopis

a. Pewarnaan Gram

Identifikasi bakteri endofit secara mikroskopis yaitu dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan meletakkan 1 ose isolat bakteri endofit di atas kaca benda. Kemudian ditetaskan larutan kristal violet sebanyak 3 tetes selama 1 menit, setelah itu dicuci kaca benda menggunakan aquades. Selanjutnya ditetesi iodin dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan aquades. Setelah itu ditetesi dengan larutan alkohol 96% dan dibiarkanselama 15-30 detik. Kemudian dicuci dengan aquades dan dikeringkan dengantisu. Selanjutnya ditetesi larutan safranin dan didiamkan selama 1 menit lalu dibilas kembali dengan aquades, dikeringkan dengan tisu. Selanjutnya diamatidi bawah mikroskop dengan

pembesaran 100x (Hayati & Putri, 2015).

b. Uji Endospora

Uji endospora dilakukan dengan sterilisasi kaca benda menggunakan alkohol 70%. Setelah itu ditetaskan aquades dan diletakkan 1 ose isolat bakteri secara merata, difiksasi di atas api bunsen. Selanjutnya ditetesi dengan pewarna *melachit green* di atas uap air mendidih selama 5 menit dan bilas menggunakan air mengalir dan dibiarkan sampai mengering. Selanjutnya ditetesi larutan safranin selama 1 menit, dicuci kembali dan dikeringkan, kemudian diamati di bawah mikroskop (Isnayanti, 2020).

III.7.5.3 Uji Biokimia

a. Uji Kebutuhan Oksigen

Uji kebutuhan oksigen bertujuan untuk melihat bakteri tersebut termasuk kedalam bakteri aerob atau anaerob. Pertama diambil satu isolat bakteri dengan jarum ose kemudian diinokulasi pada tabung reaksi 9 mL yang telah berisikan media Nutrien Agar semi solid lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Panjaitan *et al.*, 2020). Jika bakteri tumbuh di permukaan media maka bakteri tersebut adalah bakteri aerob obligat. Jika bakteri tumbuh di sekitar 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, 2020).

b. Uji Oksidase

Uji oksidase bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya enzim katalase pada bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan cara diambil 1 isolat bakteri uji ke *oxidase strip*. Hasil positif jika adanya perubahan warna biru pada kertas *oxidase strip* (Antriana, 2014).

c. Uji Motilitas

Uji motilitas bertujuan untuk mendeteksi motilitas (pergerakan) bakteri pada media *Sulfida Indole Motility* (SIM) yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil uji motilitas dapat diketahui negatif (-) dengan

menunjukkan warna merah di sepanjang bekas tusukan saja sedangkan pada hasil positif (+) ditandai dengan di sekitar inokulasi terdapat bentukan warna merah yang menyebar. Hal ini dapat diartikan bahwa bakteri yang diinokulasikan memiliki flagel sehingga dapat melakukan pergerakan (Leboffe & Pierce, 2011).

d. Uji Katalase

Uji ini dilakukan untuk mengetahui sifat bakteri dalam menghasilkan enzim katalase. Uji ini dilakukan dengan meletakkan isolat bakteri pada gelas objek menggunakan jarum ose sebanyak 1 ose, lalu ditetesi 1-2 tetes larutan *hydrogen peroxide* 3% (Sasmita *et al.*, 2018). Isolat bakteri disuspensikan dengan jarum ose pada kaca benda kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil yang positif menunjukkan adanya gelembung udara yang terbentuk (Cappucino & Sherman, 2014).

e. Uji Urease

Uji urease bertujuan untuk mengetahui bakteri yang dapat menghasilkan eksoenzim (enzim urease). Uji urease dilakukan dengan menggunakan media *Cristensen's Urea Agar*. Isolat digoreskan pada media bagian lereng miring, ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil pada tabung. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Apabila media berubah warna menjadi merah magenta maka hasilnya positif (+) sedangkan apabila tidak terjadi perubahan warna pada media maka hasilnya negatif (-) (Wati, 2020).

f. Uji Indol

Uji indol bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat enzim tryptophanase pada bakteri tersebut sehingga mampu mengoksidasi asam amino tryptophan membentuk indol. Satu ose biakan bakteri diinokulasikan ke dalam media SIM agar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian ditambahkan 0,2-0,3 mL pereaksi indol ke dalam masing-masing tabung reaksi, dikocok dan didiamkan selama beberapa menit. Warna merah pada permukaan dengan bentuk cincin menandakan reaksi indol

positif, reaksi indol negatif apabila terbentuknya warna jingga (Cappuccino & Sharman, 2014).

g. Uji Simon Sitrat

Uji simon sitrat bertujuan untuk mengetahui sumber karbon pada bakteri menggunakan media *Simmons Citrate Agar* (SCA) dengan cara menginokulasikan isolat bakteri uji dengan menggunakan jarum ose. Selanjutnya bakteri digoreskan pada media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil uji dapat diketahui apabila negatif (-) maka bakteri tidak mengalami perubahan atau pertumbuhan apapun dan media tetap akan berwarna hijau. Apabila positif (+) maka bakteri tersebut mengalami pertumbuhan dan perubahan pada permukaan media dan media akan berubah warna hijau menjadi biru. Dengan begitu dapat diartikan salah satu sumber karbon bakteri menggunakan sitrat (Cappuccino & Sherman, 2014).

h. Uji TSIA

Uji Triple Sugar Ion Agar (TSIA) merupakan metode yang digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan gula. Media TSIA mengandung 3 macam gugus gula yaitu glukosa, laktosa, dan sukrosa. Konsentrasi glukosa adalah 0,1%, konsentrasi laktosa dan sukrosa adalah 1%. Medium TSIA diinokulasikan dengan menusukkan ose sedalam $\frac{3}{4}$ medium lalu diangkat dan digores secara zig-zag pada permukaan. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Fermentasi karbohidrat ditunjukkan dengan perubahan warna media yang semula berwarna *orange* kemerahan menjadi kuning dengan sedikit asam. Terdapat juga indikator fenol merah, serta FeSO_4 untuk memperlihatkan pembentukan H_2S yang ditunjukkan dengan adanya endapan hitam (Cappuccino & Sherman, 2014).

III.7.6 Produksi Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica*) pada media NA diinokulasikan 1 ose ke dalam 30 ml media NB dan dishaker dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam untuk dijadikan sebagai stok inokulum. Stok inokulum tersebut diencerkan dengan menggunakan NaCl 0,9% untuk disetarakan kekeruhan dengan standar Mc Farland 0,5% yaitu setara dengan pertumbuhan sel 10^8 CFU/ml. Kemudian diinokulasikan ke dalam 270 ml media NB dishaker kembali selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C (Kartikasari & Purwestri, 2021). Selanjutnya setelah di *shaker*, sebanyak 10 ml bakteri endofit dipindahkan ke dalam tabung *microtube* untuk selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C sampai mendapatkan supernatan (Kurniawan *et al.*, 2021). Supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi selanjutnya disaring menggunakan saringan mikro berdiameter 0,22 µm untuk memisahkan sel bakteri yang masih tertinggal pada supernatan. Supernatan yang diperoleh kemudian digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Purwaningsih & Wulandari, 2021).

III.7.7 Penyiapan Bakteri Uji

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diperoleh yang di peroleh dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala dikultur kembali yang bertujuan untuk memperbanyak populasi bakteri yang diujikan. Bakteri uji digoreskan secara zig- zag pada media miring menggunakan ose steril. Kultur bakteri hasil perbanyak diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C (Allo, 2016).

III.7.8 Peremajaan Bakteri Uji

Peremajaan bakteri uji dilakukan dengan memindahkan bakteri uji *S. aureus* dan *P. aeruginosa* ke media NA steril. Isolat bakteri digoreskan pada media NA dan dilakukan dalam LAF (*Laminar Air Flow*) untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Hasil peremajaan bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Oktavia dan Pujiyanto, 2018).

III.7.9 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan secara aseptis dengan cara diambil menggunakan jarum ose 1 koloni bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853 pada media peremajaan dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl steril 0,9%. Kekeruhan yang telah diperoleh kemudian disetarakan dengan standar Mc Farland 0,5% yaitu setara dengan pertumbuhan 1.5×10^8 CFU/mL (Kurniawan *et al.*, 2019).

III.7.10 Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol positif (+) yang digunakan pada penelitian ini adalah antibiotik berspektrum luas yaitu kloramfenikol 30 µg sedangkan kontrol negatif (-) berupa aquades steril (Oktavia dan Pujiyanto, 2018).

III.7.11 Uji Aktivitas Supernatan Bebas Sel

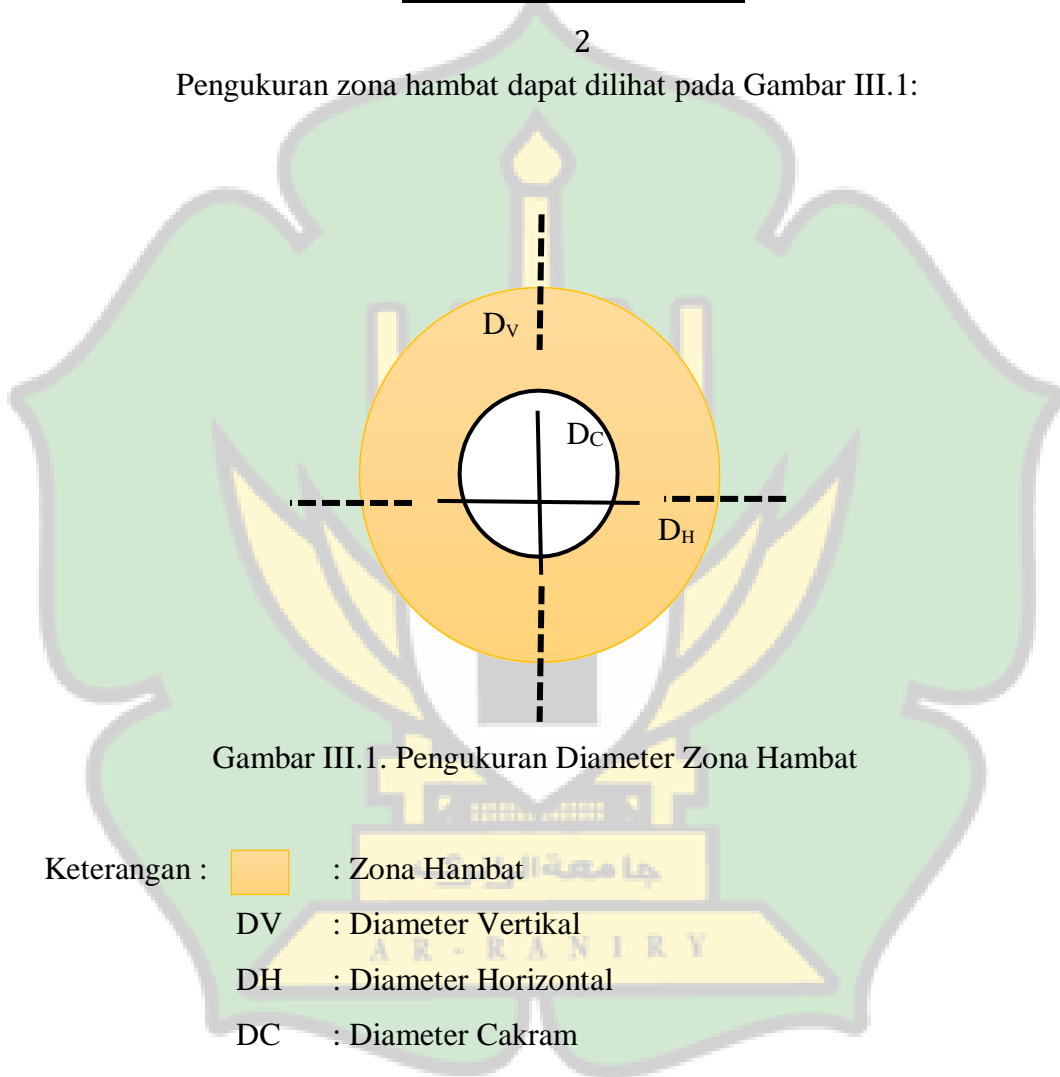
Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode *Kirby-Bauer*, sebanyak 20 µL supernatan diinokulasikan menggunakan mikropipet dan tip diteteskan di atas *paper disk* steril berdiameter 6 mm. Kemudian kertas cakram diletakkan menggunakan penjepit untuk menghindari kontaminasi langsung ke atas media MHA. Selanjutnya diletakkan antibiotik kloramfenikol yang digunakan sebagai kontrol positif (+) dan cakram yang berisi aquades steril sebagai kontrol negatif (-). Yang telah ditumbuhi stok bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan dibiarkan hingga mengeras. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Purwaningsih & Wulandari, 2021; Pratiwi, 2015). Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Diameter zona hambat yang muncul di sekitar cakram uji diukur menggunakan jangka sorong (Wulansari *et al.*, 2019).

III.7.12 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat bertujuan untuk mengukur zona bening yang terbentuk. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya secara horizontal dan vertikal menggunakan jangka sorong dengan satuan mm. Diameter zona hambat dapat diukur menggunakan rumus:

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

Pengukuran zona hambat dapat dilihat pada Gambar III.1:



Gambar III.1. Pengukuran Diameter Zona Hambat

- Keterangan :
- : Zona Hambat
 - DV : Diameter Vertikal
 - DH : Diameter Horizontal
 - DC : Diameter Cakram

III.7.13 Kriteria Zona Hambat

Kriteria zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.2 sebagai berikut:

Tabel III.2 Klasifikasi Zona Hambatan Pertumbuhan (A'lana *et al.*, 2017).

Kekuatan Hambat	Diameter Zona Hambat
Lemah	≤ 5 mm
Sedang	5-10 mm
Kuat	10-20 mm
Sangat Kuat	≥ 20 mm

III.8 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan metode deskriptif dan metode ekperimental. Data yang diperoleh merupakan data kualitatif dan kuantitatif. Untuk data kualitatif dilakukan secara deskriptif berdasarkan jumlah isolat dan karakteristik morfologi bakteri endofit, data kualitatif dianalisis berdasarkan hasil pengukuran zona hambat dari hasil uji aktivitas supernatan bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

IV.1.1 Karakteristik Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.)

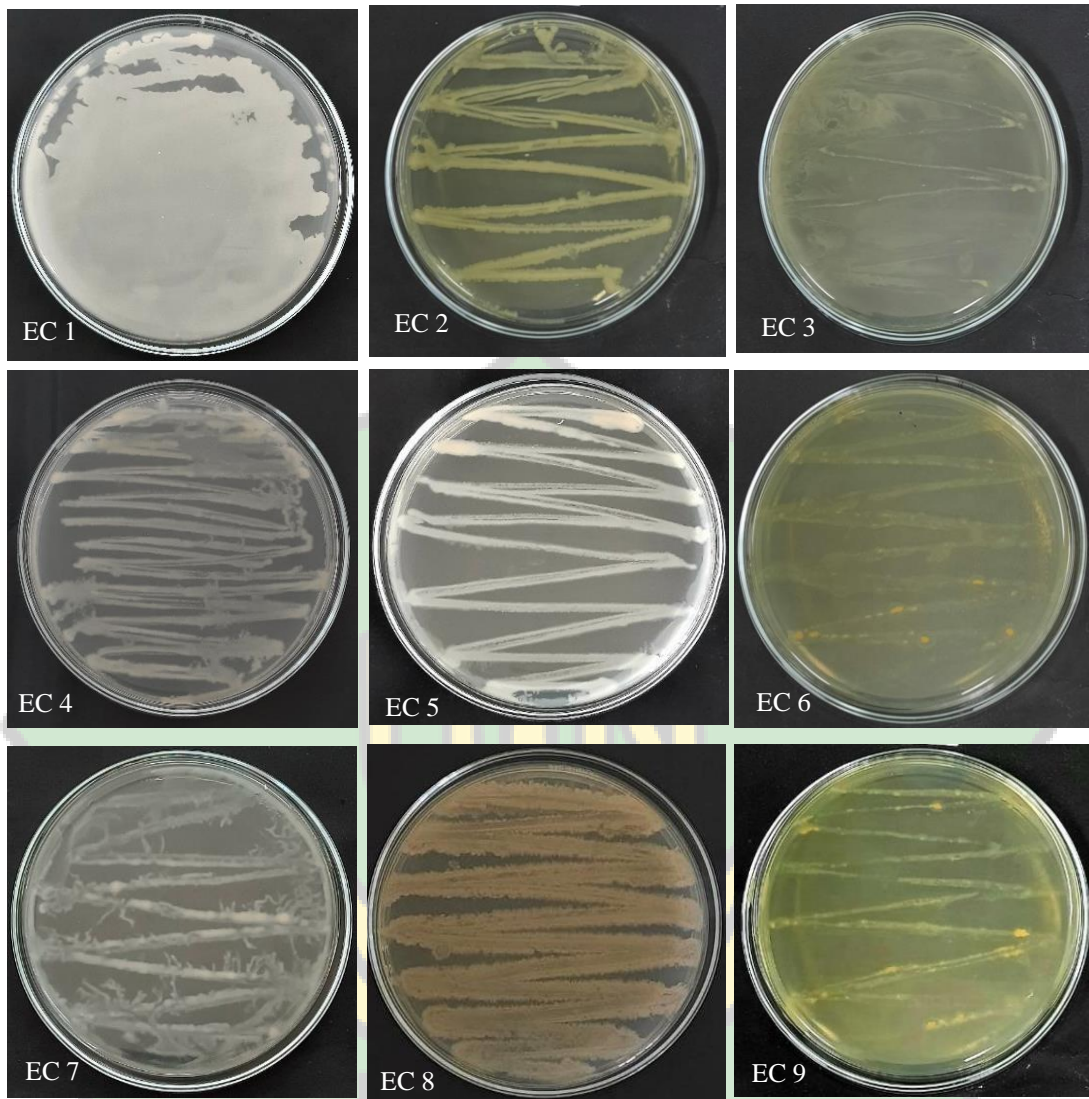
Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) yang diperoleh dari Dinas Pertanian dan Perkebunan Aceh, Kota Banda Aceh didapatkan 9 isolat. Berdasarkan ciri morfologi ke 9 isolat tersebut menunjukkan karakter yang berbeda antara satu isolat dengan isolat yang lainnya.

Tabel IV.1 Hasil Identifikasi Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) secara Makroskopis

Hasil identifikasi bakteri endofit dapat dilihat pada Tabel berikut:

No.	Kode Isolat	Morfologi Koloni			
		Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
1	EC 1	Tidak beraturan	Bergelombang	Rata	Krem
2	EC 2	Bulat	Rata	Cembung	Krem
3	EC 3	Seperti akar	Berbenang-Benang	Rata	Krem
4	EC 4	Bulat	Rata	Cembung	Krem
5	EC 5	Bulat	Rata	Rata	Putih transparan
6	EC 6	Tidak beraturan	Rata	Rata	Krem
7	EC 7	Berbenang-benang	Berbenang-Benang	Cembung	Krem
8	EC 8	Bulat	Rata	Cembung	Putih transparan
9	EC 9	Bulat	Rata	Cembung	Krem

Keterangan EC: Endofit *Centella*



Keterangan EC: Endofit *Centella*

Gambar IV.1 Isolasi Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica*).

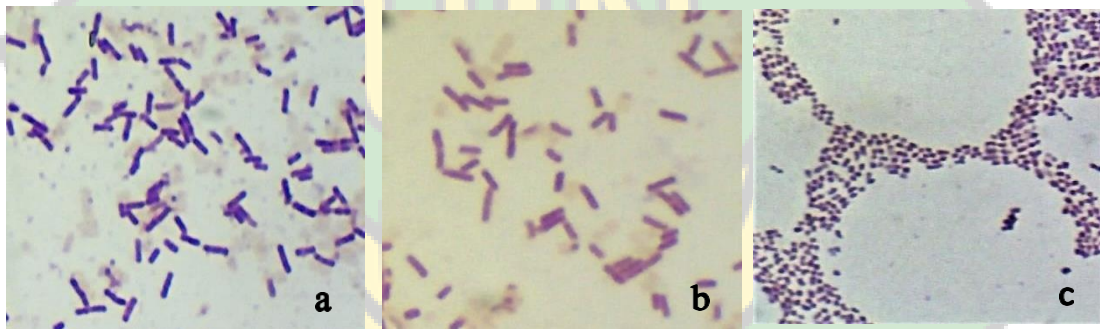
AR-RANIRY

**Tabel IV.2 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit Daun Pegagan
(*Centella asiatica* (L.) Urb.) secara Mikroskopis**

Hasil uji pewarnaan Gram dilihat pada Tabel berikut:

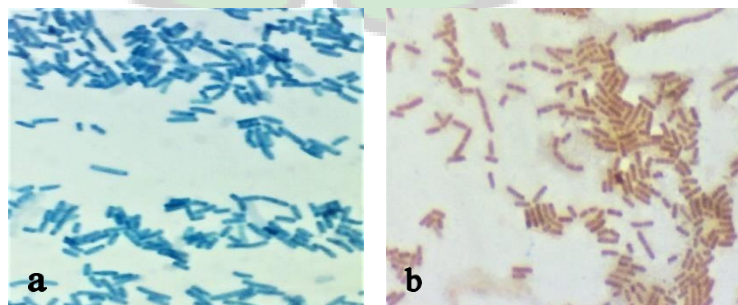
No.	Kode Isolat	Pewarnaan Gram	
		Bentuk	Gram
1	EC 1	Basil	Positif
2	EC 2	Basil	Positif
3	EC 3	Basil	Positif
4	EC 4	Basil	Positif
5	EC 5	Basil	Negatif
6	EC 6	Basil	Positif
7	EC 7	Basil	Positif
8	EC 8	Kokus	Positif
9	EC 9	Basil	Positif

Keterangan EC: Endofit *Centella*



Gambar IV.2 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Endofit. a) Gram Positif Basil, b) Gram Negatif Basil dan c) Gram Positif Kokus

Berdasarkan uji endospora dapat diketahui bahwa isolat yang telah dilakukan pewarnaan endospora menunjukkan isolat positif endospora yang ditandai dengan perubahan warna pada bakteri menjadi warna biru, sedangkan bakteri negatif endospora yang ditandai dengan perubahan pada bakteri menjadi warna merah.



Gambar IV.3 Hasil Uji Endospora a) Endospora Positif dan b) Endospora Negatif

Tabel IV.3 Hasil Uji Biokimia Bakteri Endofit

Uji biokimia yang dilakukan yaitu uji TSIA, uji urease, uji motilitas, uji indol, uji simon sitrat, uji katalase, uji kebutuhan oksigen, uji oxidase serta uji endospora. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada Tabel berikut:

No	Kode Isolat	TSIA	Urease	Motilitas	Indol	SCA	Katalase	Kebutuhan Oksigen	Oxidase	Genus	Endospora
1	EC 1	K/A	+	+	-	+	+	Aob	+	<i>Bacillus</i> sp. 1	+
2	EC 2	K/K	+	+	-	+	+	AF	+	<i>Bacillus</i> sp. 2	+
3	EC 3	A/A	+	+	-	+	+	Aob	+	<i>Bacillus</i> sp. 3	+
4	EC 4	A/A	+	+	-	+	+	Aob	+	<i>Bacillus</i> sp. 1	+
5	EC 5	A/A	+	+	-	+	+	Aob	+	<i>Pseudomonas</i> sp.	-
6	EC 6	K/A	+	+	-	+	+	Aob	+	<i>Bacillus</i> sp. 1	+
7	EC 7	A/A	+	+	-	+	+	Aob	+	<i>Bacillus</i> sp. 1	+
8	EC 8	A/A	+	-	-	+	+	AF	+	<i>Staphylococcus</i> sp.	TD
9	EC 9	A/A	+	+	-	-	+	AF	+	<i>Bacillus</i> sp. 4	+

Keterangan EC : Endofit *Centella*
 (+) : Positif
 (-) : Negatif
 K/A : Kalis/Acid
 K/K : Kalis/Kalis
 A/K : Acid/Kalis
 AOb : Aerob obligat
 AF : Anaerob Fakultatif
 TD : Tidak Diuji

IV.1.2 Uji Aktivitas Supernatan Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pengujian aktivitas penghambatan bakteri endofit menggunakan supernatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada Tabel IV.4 dan Tabel IV.5.

Tabel IV.4 Aktivitas Zona Hambat Supernatan Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Uji aktivitas zona haambat supernatan bakteri endofit dapat dilihat pada Tabel berikut:

No.	Kode Isolat	Diameter Zona Hambat			Rata-Rata (mm)	Kriteria Zona Hambat
		Pengulangan				
		1	2	3		
1	EC 1	3,63	1,86	2,14	2,54	Lemah
2	EC 2	5,87	5,85	2,16	4,62	Lemah
3	EC 3	6,52	5,8	5,46	5,92	Sedang
4	EC 4	2,17	4,47	2,04	2,89	Lemah
5	EC 5	5,30	5,37	5	5,22	Sedang
6	EC 6	2,89	2,12	4,43	3,14	Lemah
7	EC 7	6,62	5,05	4,73	5,46	Sedang
8	EC 8	5,49	6,33	4,16	5,32	Sedang
9	EC 9	2,91	1,87	0,63	1,8	Lemah
10	Kontrol (+)	20,25	18,67	20,5	19,80	Kuat
11	Kontrol (-)	0	0	0	0	Tidak ada

Keterangan EC: Endofit *Centella*

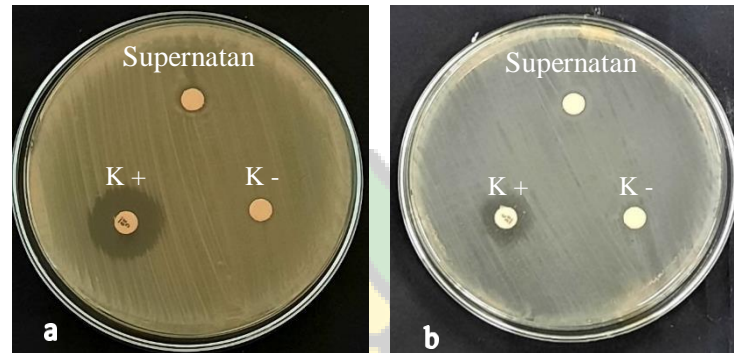
Tabel IV.5 Aktivitas Zona Hambat Supernatan Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853

Uji aktivitas zona hambat supernatan bakteri endofit dapat dilihat pada Tabel berikut:

No.	Kode Isolat	Diameter Zona Hambat			Rata-Rata (mm)	Kriteria Zona Hambat
		Pengulangan				
		1	2	3		
1	EC 1	2,00	3,45	2,51	2,65	Lemah
2	EC 2	4,98	4,91	2,04	3,97	Lemah
3	EC 3	5,3	4,26	2,04	4, 61	Lemah
4	EC 4	4,14	4,44	3,98	4,19	Lemah
5	EC 5	3,38	3,62	4,27	3,751	Lemah
6	EC 6	3,44	6,76	3,60	2,31	Lemah
7	EC 7	3,81	4,83	3,72	4,12	Lemah
8	EC 8	4,92	2,14	4,65	3,9	Lemah
9	EC 9	2,26	4,2	2,34	2,93	Lemah
10	Kontrol (+)	8, 57	7, 74	8, 3	8, 2	Sedang
11	Kontrol (-)	0	0	0	0	Tidak ada

Keterangan EC: Endofit *Centella*

Hasil uji aktivitas supernatan bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada Gambar IV.4



Gambar IV.4 Hasil Uji Aktivitas Supernatan Bakteri Endofit Daun Pegagan Pada Bakteri Uji a) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

IV.2 Pembahasan

IV.2.1 Karakteristik Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.)

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan sembilan isolat bakteri endofit yang diisolasi dari daun pegagan (*Centella asiatica*) memiliki karakteristik yang berbeda-beda, bentuk tidak beraturan, bulat, seperti akar dan berbenang-benang. Tepian bergelombang, rata dan berbenang-benang. Elevasi rata dan cembung. Warna krem dan putih transparan, dapat dilihat pada Tabel IV.1. Hasil uji karakteristik bakteri endofit dengan metode pewarnaan Gram, diperoleh sembilan isolat termasuk kedalam kelompok Gram positif dan Gram negatif, berbentuk basil dan kokus. Berdasarkan penelitian Astari *et al.*, (2021) didapatkan sebanyak 12 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan bakteri Gram negatif dan 5 isolat bakteri Gram positif berbentuk basil dan kokus. Sedangkan pada penelitian Huda (2020) berhasil menemukan 3 isolat bakteri Gram positif berbentuk basil.

Selanjutnya dilakukan uji biokimia yang terdiri dari uji TSIA, uji urease, uji motilitas, uji indol, uji kebutuhan oksigen, uji katalase dan uji oksidase yang dapat

dilihat pada Tabel IV.3. Berdasarkan uji TSIA didapatkan hanya beberapa isolat mampu memfermentasi glukosa, sebagian mampu menghasilkan glukosa, laktosa dan sukrosa, adapun isolat yang tidak mampu memfermentasikan apapun. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Wati (2018) menyatakan bahwa bakteri endofit yang berhasil diisolasi pada tangkai daun tanaman tojang (*Colocasia esculenta*) menunjukkan 3 isolat terjadi perubahan warna permukaan dasar menjadi kuning yang mampu memfermentasikan glukosa, sukrosa dan laktosa.

Uji urease bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengubah urea menjadi amoniak, hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari kuning menjadi merah muda (Prihanto *et al.*, 2018). Berdasarkan pengujian urease, di dapatkan hasil positif berupa semua isolat menunjukkan perubahan warna pada media. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Yanti *et al.*, (2021) menyatakan bahwa bakteri endofit yang berhasil diisolasi pada akar napas tumbuhan *A. mariana* diperoleh 7 isolat menunjukkan hasil positif pada uji urease.

Berdasarkan hasil pengujian motilitas pada isolat menunjukkan 8 isolat positif dan 1 isolat negatif. Pengujian motilitas bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri tersebut mampu melakukan pergerakan maupun tidak, hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Kurniasih (2021) menyatakan bahwa 10 isolat bakteri endofit pada bagian daun tanaman nampu (*Homalomena javanica* V.A.V.R.) menunjukkan uji motilitas positif, sedangkan 10 isolat bakteri endofit pada bagian batang tanaman nampu (*Homalomena javanica* V.A.V.R.) menunjukkan uji motilitas negatif. Menurut Tumangger (2018) hampir semua sel bakteri berbentuk spiral dan basil bersifat motil (bergerak), sedangkan sel bakteri yang berbentuk kokus bersifat non-motil (tidak bisa bergerak).

Uji indol digunakan untuk mengetahui adanya enzim triptofenase pada bakteri yang mampu menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol, asam piruvat dan amino (Rahayu dan Gumilar, 2017). Pengujian yang telah dilakukan terhadap sembilan isolat bakteri endofit daun pegagan menunjukkan hasil negatif. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Husai *et al.*, (2022) menyatakan bahwa 4 isolat bakteri endofit daungedi (*Abelmoschus manihot* L.) menunjukkan bahwa pada pengujian indol tidak terbentuk cincin merah pada permukaan atas sehingga di dapatkan uji indol negatif.

Berdasarkan hasil pengujian kebutuhan oksigen isolat bakteri endofit termasuk kedalam bakteri aerob obligat, sedangkan isolat lainnya termasuk kedalam bakteri anaerob fakultatif. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Mahyarudin *et al.*, (2021) menyatakan 4 isolat bakteri endofit daun cengkodok (*Melastoma malabathricum* L.) menunjukkan bakteri tersebut termasuk bakteri anaerob fakultatif. Sedangkan pada penelitian Astri *et al.*, (2021) isolat bakteri endofit pada tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) tersebut termasuk bakteri aerob obligat.

Uji katalase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan hidrogen peroksida dengan menghasilkan enzim katalase, hasil positif akan menunjukkan adanya gelembung udara (Rahayu dan Gumilar, 2017). Berdasarkan hasil pengamatan uji katalase pada isolat bakteri endofit daun pegagan diperoleh semua isolat setelah ditetesi larutan H₂O₂ (Hidrogen peroksida) terbentuk gelembung udara yang menandakan isolat bakteri bersifat positif yang mampu menghasilkan enzim katalase. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Tumangger (2018) menyatakan bahwa bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari 3 isolat pada batang dan 1 isolat pada daun tanaman buas- buas (*Premna pubescens* Blume) bersifat positif dan menghasilkan gelembung udara.

Pengujian biokimia simon sitrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Hala *et al.*, 2021). Hasil uji biokimia simon sitrat yang didapatkan berupa 8 isolat positif dan 1 isolat lainnya negatif. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Fani *et al.*, (2021) menyatakan 7 isolat bakteri endofit tanaman akar napas (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh) menunjukkan hasil simon sitrat positif, sedangkan pada penelitian Silalahi *et al.*, (2020) menyatakan bahwa uji simon sitrat terhadap 2 isolat bakteri endofit daun dan batang tanaman jeruk siam (*Citrusnobilis* var. *microcarpa*) menunjukkan negatif.

Uji oksidase terhadap isolat bakteri endofit daun pegagan menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan berubahnya kertas oksidase putih menjadi warna ungu. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri endofit tersebut mampu menghasilkan enzim oksidase (Panjaitan *et al.*, 2020). Penelitian ini juga telah

dilakukan oleh Baraga *et al.*, (2022) menyatakan bahwa isolat bakteri endofit tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap uji oksidase menunjukkan hasil positif.

Tabel identifikasi dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel IV.6 Tabel Identifikasi Genus Bakteri Endofit

Karakteristik	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Staphylococcus</i> sp.
Bentuk sel	Basil	Basil	Kokus
Gram	+	-	Positif
Pewarnaan Endospora	+	-	TD
Glukosa	+	+	+
Laktosa	-	-	+
Sukrosa	+	+	+
Urease	+/-	+/-	+
Motilitas	+/-	+	+/-
Indol	+/-	-	-
SCA	+/-	+	+/-
Katalase	+	+	+/-
Oksidase	+	-	-
Kebutuhan Oksigen	Aerob	Aerob	Anaerob fakultatif
	Baraga <i>et al.</i> , 2022 Silalahi <i>et al.</i> , 2020 Kurniawan, 2021 Aji dan Lestari, 2020 Bergey's, 1957	Astari <i>et al.</i> , 2021 Aji dan Lestari, 2020 Bergey's 1957	Fani <i>et al.</i> , 2022 Yanti <i>et al.</i> , 2021 Bergey's, 1957
Keterangan	(+) : Positif (-) : Negatif TD : Tidak Diuji		

Berdasarkan pengamatan morfologi dan uji biokimia yang telah dilakukan, selanjutnya dilakukan identifikasi dengan menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan beberapa literatur lainnya. Setelah dilakukan identifikasi diperoleh 3 genus bakteri endofit hasil isolasi dari daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) isolat bakteri endofit menunjukkan kemiripan dengan genus *Bacillus* sp. pada isolat EC 1, EC 2, EC 3, EC 4, EC 6 EC 7 dan EC 9. Genus

Staphylococcus sp. pada isolat EC 8 dan genus *Pseudomonas* sp. pada isolat EC 5.

Sama halnya dengan penelitian yang telah dilakukan Purwestri *et al.*, (2016) menyatakan bahwa bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molkend) yang berasal dari satu famili Apiaceae dengan tanaman pegagan (*Centella asiatica*) memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus* sp. Sedangkan pada penelitian Aji dan Lestari (2020) berhasil mengidentifikasi bakteri endofit tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berasal dari genus *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Bacillus* sp.

Berdasarkan hasil pengamatan, genus *Pseudomonas* sp. bentuk koloni bulat, tepian rata, elevasi rata dan berwarna putih transparan, sel bakteri berbentuk basil (batang) dan bersifat Gram negatif. Berdasarkan penelitian Astari *et al.*, (2021) menyatakan bahwa bakteri endofit tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) memiliki kesamaan dengan genus *Pseudomonas* sp. Adapun penelitian Adityawarman *et al.*, (2019) juga berhasil menemukan genus *Pseudomonas* yang berasal dari tanaman pegagan (*Centella asiatica*). Beberapa spesies *Pseudomonas* dapat menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri (Singh *et al.*, 2017).

Genus *Staphylococcus* sp. memiliki bentuk koloni bulat, tepian rata, elevasi cembung dan berwarna putih transparan. Sel bakteri berbentuk kokus (bulat) dan bersifat Gram positif. Berdasarkan penelitian Yanti *et al.*, (2021) menyatakan bahwa adanya kemiripan dengan genus *Staphylococcus* yang diisolasi dari tanaman akar napas (*Avicennia marina*). *Staphylococcus* lainnya juga dapat ditemukan pada beberapa tanaman sebagai berikut tanaman anggur, kedelai, keladi, tomat, bambu dan lain-lain (Aji *et al.*, 2020).

Sedangkan genus *Bacillus* sp. merupakan bakteri berbentuk batang (basil) dan tergolong ke dalam bakteri Gram positif dan membutuhkan oksigen pada media pertumbuhannya. Endospora hanya terdapat pada bakteri yang tubuhnya berdinding tebal dan sangat resisten, dihasilkan oleh semua spesies *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., dan *Sporosarcina* sp. (Fifendy *et al.*, 2017). Endospora berguna untuk menjadikan bakteri mampu bertahan pada suhu ekstrim, kekeringan, sinar UV dan larutan asam basa kuat. Endospora dapat rusak pada suhu 121°C, akan tetapi terdapat beberapa bakteri yang dapat menghasilkan endospora yang tahan

dengan pemanasan 150°C (Palombo, 2020).

Berdasarkan perbedaan morfologi tersebut dapat diketahui bahwa terdapat lebih dari satu macam bakteri yang berada pada satu jaringan tanaman. Keragaman bakteri endofit juga dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan jaringan tumbuhan (Radityo, 2019). Bakteri endofit yang berada pada jaringan tumbuhan berasal dari lingkungan luar dan dapat masuk ke dalam jaringan tanaman melalui beberapa cara, yaitu melalui stomata, lentisel, celah atau luka pada tanaman, selanjutnya bakteri endofit berkoloni dan menyebar keseluruh bagian jaringan tanaman lainnya seperti daun, batang, bunga dan biji melalui pembuluh xilem (Putri, 2018).

Bakteri endofit berperan penting dalam membantu membatasi jumlah serapan air oleh rambut akar didalam tanah untuk masuk ke organ lain pada tanaman sehingga mampu membatasi pemasukan air pada saat musim hujan terjadi sehingga tidak terjadinya penengangan air (Nuruwe *et al.*, 2020). Bagi tanaman, bakteri endofit berperan sangat penting dalam menjaga kesehatan tanaman. Keberadaan bakteri endofit didalam jaringan tanaman diketahui dapat memicu pertumbuhan tanaman yang berperan sebagai agen pengendali hayati dengan cara meningkatkan pertumbuhan tanaman, menyediakan nutrisi hormon dan menginduksi ketahanan tanaman tersebut (Sianipar, 2018).

IV.2.2 Uji Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) Dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian aktivitas antibakteri supernatan isolat bakteri tanaman pegagan (*Centella asiatica*) dilakukan untuk mengetahui kemampuan senyawa metabolit sekunder dari hasil bakteri endofit, senyawa inilah yang berperan dalam membentuk zona hambat (Kurniawan *et al.*, 2021). Pengujian antibakteri supernatan isolat bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan teknik difusi agar menggunakan disk cakram, bertujuan untuk mengetahui kekuatan penghambatan supernatan metabolit sekunder bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Aqlinia *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa supernatan isolat

bakteri dari tanaman pegagan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar disk cakram. Diameter zona hambat terbesar pada isolat EC 2 terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 sebesar 6,93 mm kategori sedang, dan zona hambat terbesar pada isolat EC 3 terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 sebesar 4,61 mm termasuk kategori yang lemah. Sedangkan diameter zona hambat antibiotik kloramfenikol 30 µg terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 isolat EC 2 memiliki zona hambat sebesar 26,47 mm dengan kategori sangat kuat dan diameter zona hambat antibiotik kloramfenikol 30 µg terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 isolat EC 6 memiliki zona hambat sebesar 8,20 mm kategori sedang.

Berdasarkan penelitian Farikhah (2021) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri supernatan isolat bakteri endofit tanaman yodium (*Jatropha multifida* L.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* terbesar dengan kategori sedang sebesar 8,87 mm terhadap bakteri *S. aureus* dan kategori sedang sebesar 5,52 mm terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Sedangkan pada penelitian Aryani *et al.*, (2020) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri supernatan isolat bakteri endofit tanaman alang-alang terhadap *S. aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat terbesar 5,8 mm terhadap bakteri *S. aureus* dengan kategori lemah dan zona hambat terbesar 4,8 mm dengan kategori lemah terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut sesuai dengan penelitian A'iana *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa kekuatan daya hambat bakteri dikategorikan atas besarnya zona hambat. Kategori lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (> 20 mm).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas supernatan bebas sel bakteri endofit didapatkan hasil dengan kategori sedang. Penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh Isnayanti (2020) mengenai aktivitas bakteri endofit tanaman lelak (*Uvaria rufa* Blume) menghasilkan kategori lemah dengan diameter zona hambat yang terbentuk <5 terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan pada penelitian Kandio (2021) mengenai aktivitas bakteri simbiosis endofit spons *Stylissa* sp. menunjukkan zona hambat terbesar terhadap bakteri patogen *E. coli* kategori sedang sebesar 7,26 mm dan terhadap bakteri *S. aureus* kategori sedang sebesar 10,26 mm. Hal ini membuktikan bahwa aktivitas supernatan bebas sel lebih efektif digunakan sebagai

antibakteri.

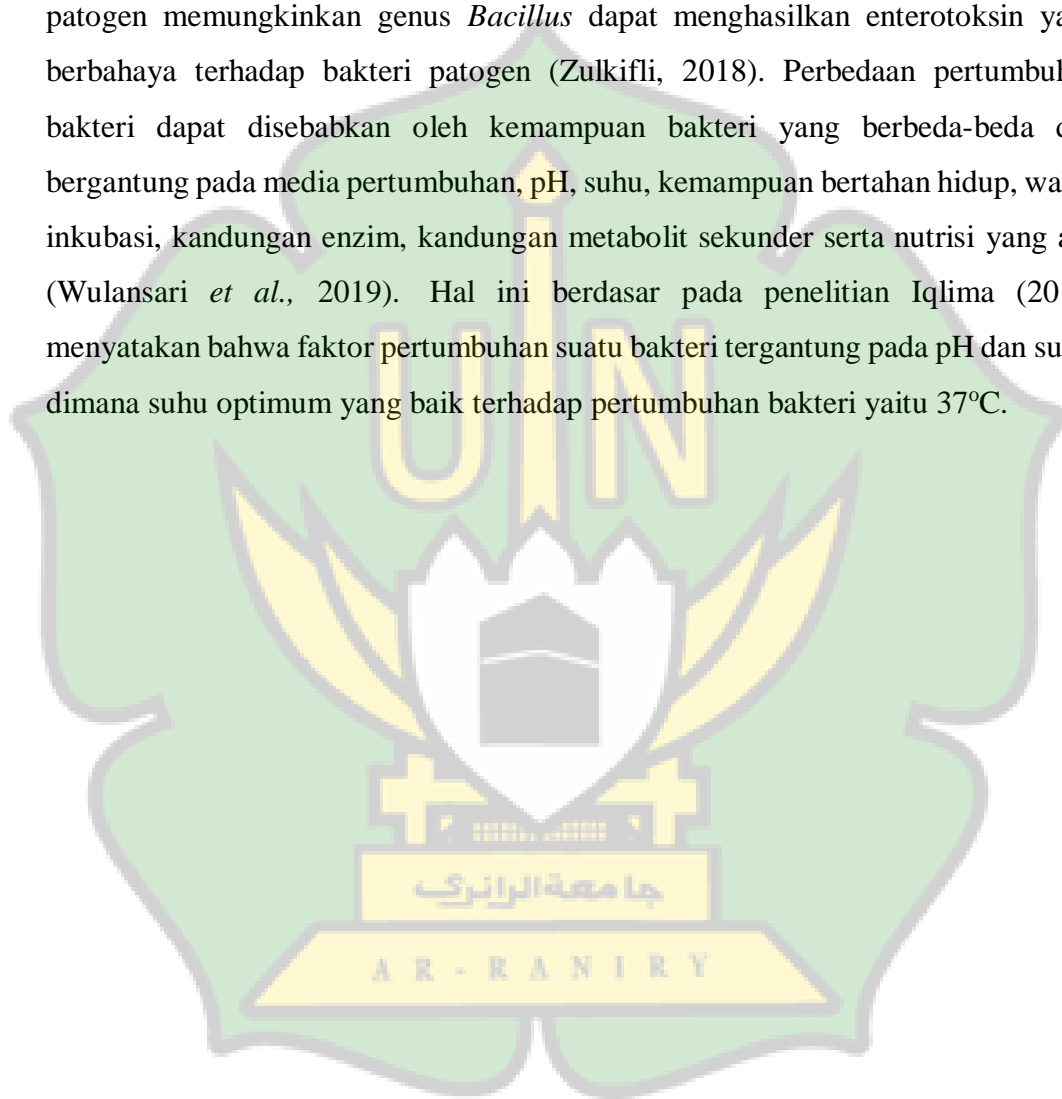
Penghambatan pertumbuhan bakteri patogen menggunakan bakteri endofit menghasilkan zona hambat dikarenakan adanya suatu senyawa yang bersifat sebagai antibakteri. Senyawa antibakteri dapat menghambat pertumbuhan hingga mampu menyebabkan kematian pada bakteri. Hal tersebut dapat terjadi karena senyawa tersebut mampu menghambat sintesis protein dan metabolisme sel (Oktavia & Pujiyanto, 2018). Terbentuknya zona hambat karena bakteri mampu menggunakan senyawa metabolit sekunder lebih banyak dan lebih optimal, metabolit sekunder dapat dihasilkan pada saat kondisi lingkungan kurang mendukung sebagai tempat pertumbuhan bakteri, sehingga bakteri mengeluarkan senyawa bioaktif berupa zat antibakteri untuk dapat bertahan hidup. Tinggi atau rendahnya zona hambat yang terbentuk tergantung pada kemampuan bakteri dalam menghasilkan senyawa antibakteri (Iqlima *et al.*, 2017).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun pegagan adalah flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin (Susetyarini & Nurrohman, 2022). Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang paling beragam dan tersebar luas. Flavonoid turunan senyawa fenol yang terdapat pada hampir semua tanaman (Romadhon *et al.*, 2018). Mekanisme penghambatan senyawa antibakteri yaitu dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, menghambat proses sintesis dinding sel, sehingga sel menjadi lisis, menyebabkan kerusakan pada membran sel dan menghentikan kerja enzim yang berperan dalam metabolisme seluler (Silvia, 2018). Apabila terjadi kerusakan pada membran sel, maka semipermeabilitas membran sel akan menurun, sehingga menyebabkan nutrisi dan enzim-enzim keluar dari sel (Hastuti *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Wulansari *et al.*, (2019) menyatakan bahwa sensitifitas bakteri uji dihambat oleh bakteri endofit lebih sensitif terhadap bakteri Gram positif dibandingkan dengan Gram negatif.

Hal ini dikarenakan adanya perbedaan struktur susunan dinding sel bakteri dalam mempertahankan diri dari senyawa antibakteri supernatan bakteri endofit. Senyawa antibakteri dari isolat bakteri endofit tanaman bangle adalah senyawa antibakteri yang mampu merusak dinding sel sehingga menghilangkan permeabilitas dinding sel pada bakteri *S. epidermidis* dibandingkan pada bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki membran luar lebih

kompleks (Chevalier, 2017). Lemahnya zona hambat supernatan bakteri endofit daun pegagan dikarenakan metabolit sekunder dari supernatan yang belum murni dan masih tercampur dari berbagai senyawa yang terdapat pada media produksi (Aqlinia *et al.*, 2020). Tidak menggunakan penambahan pelarut etil asetat untuk memisahkan supernatan dan biomassa sel bakteri endofit.

Keberadaan genus *Bacillus* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen memungkinkan genus *Bacillus* dapat menghasilkan enterotoksin yang berbahaya terhadap bakteri patogen (Zulkifli, 2018). Perbedaan pertumbuhan bakteri dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri yang berbeda-beda dan bergantung pada media pertumbuhan, pH, suhu, kemampuan bertahan hidup, waktu inkubasi, kandungan enzim, kandungan metabolit sekunder serta nutrisi yang ada (Wulansari *et al.*, 2019). Hal ini berdasar pada penelitian Iqlima (2017) menyatakan bahwa faktor pertumbuhan suatu bakteri tergantung pada pH dan suhu, dimana suhu optimum yang baik terhadap pertumbuhan bakteri yaitu 37°C.



BAB V PENUTUP

V.1 Kesimpulan

1. Karakteristik 9 isolat bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) memiliki kesamaan karakter dengan genus *Staphylococcus* sp. (EC 8), *Bacillus* sp. (EC1, EC2, EC 3, EC 4, EC 6, EC 7 dan EC 9), dan *Pseudomonas* sp. (EC 5).
2. Uji daya hambat supernatan bebas sel bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dalam menghambat bakteri uji *S.aureus* kategori sedang (5,92 mm), sedangkan dalam menghambat bakteri uji *P.aeruginosa* kategori lemah (4,61 mm).

V.2 Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai uji molekuler untuk mengetahui spesies yang didapat dari bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.).
2. Perlu dilakukannya optimasi pertumbuhan bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.).
3. Perlu dilakukannya penyetaraan volume suspensi bakteri endofit dan besarnya antibiotik yang digunakan.
4. Perlu dilakukannya uji skrining fitokimia bakteri endofit dan supernatan bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.).

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- A'lna, Lu'lu', Rafika Sari., & Pratiwi Apridamayanti. (2017). Penentuan Nilai FICI Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L) Burm.f) dan Gentamisin Sulfat terhadap Bakteri *Escherichia coli*: *Pharm Sci Res*: ISSN 2407-2354.
- Abdullah, V. I., Isir, M., & Fabanyo, R. A. (2022). Meningkatkan Imunitas dengan Ramuan Pegagan. Penerbit NEM. ISBN: 9786234232769, 6234232760.
- Abidin, R. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) dan Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Sebagai Alternatif Bahan Pengembangan Petunjuk Praktikum Pada Materi Bakteri Kelas X Semester 1). *Skripsi*. Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Raden Untan Lampung. <http://repository.radenintan.ac.id/4147/1/pdf.pdf>. Diakses Pada Tanggal 6 Juni 2022.
- Adityawarman, A., Mahyarudin, M., & Effiana, E. (2019). Isolasi, Identifikasi dan Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Cerebellum*, 5(4B), 1569-1582. ISSN: 2407- 4055. [10.26418/jc.v5i4B.4421](https://doi.org/10.26418/jc.v5i4B.4421).
- Afizar, A., & Parlina, P. (2017). Bakteri Endofit Asal Akar kopi dan Potensinya Sebagai Agen Pengendali Penyakit Akar Putih *Rigidorpus microporus*. *Jurnal Bioleuser*, 1(2), 54-62. ISSN: 2597-7653. <http://www.jurnal.unsyiah.ac.id/bioleuser/article/view/9073/7150>.
- Aji, O. R & Lestari I. D. (2020). Bakteri Endofit Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Penghasil Asam Indol Asetat (Aia). *Jurnal Biologi*, 13(2), 179- 191. ISSN: 2502-6720. [10.15408/kauniah.v13i2.13044.s](https://doi.org/10.15408/kauniah.v13i2.13044.s).
- Allo, M. B. R. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Air Kulit Buah Pisang Ambon Lumut (*Musa acuminata* Colla) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Yogyakarta: Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Sanata Dharma. <https://repositoy.usd.ac.id/6854/>. Diakses Pada Tanggal 10 November 2021.
- <https://andarupm.co.id/centrifuge-biocen-22/>. Diakses Pada Tanggal 7 Juli 2022.
- Amtiran, R. A. D. (2019). Inventarisasi Tanaman Obat Tradisional Oleh Masyarakat Kecamatan Kupang Barat. *Karya Tulis Ilmiah*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang. <http://repository.poltekeskupang.ac.id/2035/>. Diakses Pada Tanggal 8 Juni 2022.

- Anjum, N., & Chandra, R. (2015). Endophytic Bacteria Optimizatopn Of Isolation Procedure From Various Medicinal Plants And Their Preliminary Characterization. *Asian J of Pharm and Clin Res*, 8(4), 233-8. ISSN: 0974-2441.
- Ansory, H. M., Putri, P. K. K., Hidayah, N. A., & Nilawati, A. (2018). Analisis Senyawa Minyak atsiri Biji Pala Secara GC-MS dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Prosiding SNST Fakultas Teknik*, 1(1), 19-25.
<https://publikasiilmiah.unwahas.ac.id>. Diakses Pada Tanggal 12 Juni 2022.
- Antriana, N. (2014). Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap (*Macrotermes* spp.). *Saintifika*, 16(1), 18–28. E-ISSN: 2501-2768.
- Anwar, L., & Futra, D. (2019). Potensi Metabolit Sekunder Produksi Bakteri Endofit Dari Tumbuhan Laban (*Vitex pubescens* Vahl) Sebagai Antikanker. *Chempublish Journal*, 4(2), 71-80. ISSN: 25034588.
- 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(1), 23-31. ISSN: 2621-9824.
- Arfani, N. (2021). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Kulit. Penerbit KBM Indonesia. Jogjakarta. [https://www.google.co.id/books/edition/Identifikasi Bakteri Staphylococcus Aureus/jmpKEAAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=Arfani,+N.+\(2021\).+Identifikasi+Bakteri+Staphylococcus+Aureus+Pada+Kulit.+PENERBIT+KBM+INDONESIA.&pg=PA30&printsec=frontcover](https://www.google.co.id/books/edition/Identifikasi_Bakteri_Staphylococcus_Aureus/jmpKEAAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=Arfani,+N.+(2021).+Identifikasi+Bakteri+Staphylococcus+Aureus+Pada+Kulit.+PENERBIT+KBM+INDONESIA.&pg=PA30&printsec=frontcover). Diakses Pada Tanggal 12 Juni 2022.
- 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.
- Astari, S. M., Rialita, A., & Mahyarudin. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 8(2), 9-16. [10.33096/jffi.v8i2.644](https://doi.org/10.33096/jffi.v8i2.644).
- Azzahra, F., & Hayati, M. (2018). Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *B-Dent: Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 5(1), 9-19. e-ISSN: 2654-7643, p-ISSN: 2301-5454.
- 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. [10.26877/bioma.v11i1.10558](https://doi.org/10.26877/bioma.v11i1.10558).

- Cappuccino, J. G. and Sherman. N. (2014). *Manual Laboratorium Mikrobiology. Tenth Edition*. United States of America: Pearson Education. ISBN – 13: 978-0-321-84022-6.
- Cappuccino. J. G. and Welsh. C. (2018). *Microbiology A Laboratory Manual. Eleventh Edition*. United States of America: Pearson Education. ISBN: 978-0-134-09863-0.
- Dewantari, M. R. (2018). Uji Potensi Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum*) Sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm *P. aeruginosa* Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/167964/>. Diakses Pada Tanggal 7 Juli 2022.
- Dewi, K.A. (2017). Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal SainVeteriner*, 31(2), 140-141. ISSN: 0126– 0421.
- Erlindawati, P. A., Ardiningsih, A. J., & Jayuska, A. (2015). Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Tiga Isolat Bakteri Tanah Gambut Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(1), 13-17. ISSN: 2303-1077.
- Fani, E. F. (2022). Identification Identification and Detection Of Proteolytic Activity Of Endophyte Bacterial Isolated From *Avicennia marina* Leaves In Mempawah Mangrove Center. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), 293-299. p-ISSN:2252-3979 e-ISSN: 2685-7871.
- Farikhah, L. R. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Yodium (*Jatropha Multifida* L.) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. <http://etheses.uin-malang.ac.id/31586/>. Diakses Pada Tanggal 31 Juni 2022.
- Febrianasari, F. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma. https://repository.usd.ac.id/30997/2/141434020_full.pdf. Diakses Pada Tanggal 6 Juli 2022.
- Fitrianingsih, S. 2019. Perancangan Alat Centrifuge Tipe Continous Filtering Centrifuge Pada Pabrik Natrium Nitrat Dengan Proses Sintesis Kapasitas 40.000/Ton/Tahun. *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Negeri Semarang. <http://lib.unnes.ac.id/36592/1/5213415017Optimized.pdf>. Diakses Pada Tanggal 6 Juni 2022.

- Girsang, F. M., Armansyah, T., Abrar, M., Erina, E., Darniati, D., & Asmilia, N. (2019). 23. Effect of Temu Kunci's Root (*Boesenbergia pandurata*) Extract to *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Medika Veterinaria*, 13(2), 166-171. e- ISSN:2503-1600, p-ISSN: 0853-1943. [10.21157/j.med.vet.v13i2.3649](https://doi.org/10.21157/j.med.vet.v13i2.3649).
- Gopala, J. (2018). Pengaruh Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Pemeriksaan Sendimen Urin Pagi Metode Konvensional. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah. <http://repository.unimus.ac.id/126/1/split%20skripsi.pdf>. Diakses Pada Tanggal 14 November 2021.
- Hamzah, D. F. (2019). Analisis Penggunaan Obat Herbal Pasien Diabetes Mellitus Tipe II di Kota Langsa. *JUMANTIK (Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan)*, 4(2), 168- 177. [10.30829/jumantik.v4i2.5057](https://doi.org/10.30829/jumantik.v4i2.5057).
- Hanif, A., & Susanti, R. (2018). Analisis Senyawa Antifungal Bakteri Endofit Asal Tanaman Jagung (*Zea Mays L.*). *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan HasilPertanian*, 1(1). ISSN: 2614-1213. <http://dx.doi.org/10.>
- Harefa, D. (2020). Pemanfaatan Hasil Tanaman Sebagai Tanaman Obat Keluarga (TOGA). *Madani: Indonesian Journal of Civil Society*, 2(2), 28-36. p-ISSN: 2686-2301, e-ISSN: 2686-035X. [10.35970/madani.v1i1.233](https://doi.org/10.35970/madani.v1i1.233).
- Hastuti, U. S., Rahmawati, I., & Al Asna, P. M. (2020). Kajian Daya Antibakteri Beberapa Spesies Kapang Endofit yang Diisolasi dari Tanaman Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jag.) Gaertn). In *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning*, 13(1), 844 - 848. <https://jurnal.uns.ac.id/prosbi/article/view/5936>. Diakses Pada Tanggal 4 November 2020.
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P.A. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76-82. p-ISSN: 2615-7497; e-ISSN:2581-012X. [10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82](https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82).
- Hindrawan, Y., Susilowati, R. P., & Sari, M. P. (2021). Tinjauan Pustaka: Kajian in Vivodari Obat Luka Kulit Berbahan *Acalypha indica*, *Aloe vera*, dan *Centella asiatica*. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 27 (1), 74-80. e- ISSN: 2686, p-ISSN: 2686 1437. [10.36452/jkdoktmeditek.v27i1.1928](https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v27i1.1928).
- Huda, N. A., Handini, M., Rialita, A., Mardhia., & Mahyarudin. (2020). Potensi Bakteri Gram-Negatif Endofit Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) yang Memiliki Kemampuan Quorum-Quenching.

- Husain, R., Kandou, F. E. F., & Pelealu, J. J. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon*, 11(1), 1245-1254. P- ISSN 2302-2493, e- ISSN 2721-4923. <https://doi.org/10.35799/pha.11.2022.39130>.
- Ingrat, I. W. (2018). Pengaruh Kecepatan Pemusingan Terhadap Jumlah Leukosit Urin Metode Manual. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Semarang. <http://repository.unimus.ac.id/3174/>. Diakses Pada Tanggal 7 Juli 2022.
- Internasional Treasury Service. (ITIS.GOV). (2021). Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=965278#null. Diakses Pada Tanggal 6 Oktober 2021.
- Internasional Treasury Service. (ITIS.GOV). (2021). Taksonomi *Staphylococcus aureus*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=369#null. Diakses Pada Tanggal 6 Oktober 2021.
- Internasional Treasury Service. (ITIS.GOV). (2021). Taksonomi *Centella asiatica*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=29612#null. Diakses Pada Tanggal 15 November 2021.
- Iqlima, D., Ardiningsih, P., & Wibowo, M. A. (2017). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B2D Dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(1), 36-43. ISSN 2303-1077.
- Isnayanti, I. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Daun dan Kulit Batang Tanaman Lelak (*Uvaria rufa* Blume) Sebagai Zat Antibakteri. *Skripsi*. UIN Sunan Ampel Surabaya. <http://digilib.uinsby.ac.id/42950/>. Diakses Pada Tanggal 22 Juni 2022.
- Ivan, I., Sudigdoadi, S., & Kartamihardja, A. H. S. (2019). Antibacterial Effect of *Jatropha multifida* L. Leaf Infusion towards *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Althea Medical Journal*. 6(2), 95-99. ISSN: 2337 4330. [10.15850/amj.v6n2.1622](https://doi.org/10.15850/amj.v6n2.1622).
- Jaksono, T. A. D. S. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Dalam Sediaan Basis Gel Cmc-Na Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta

- arta. <http://ejournal.uajy.ac.id/2241/>. Diakses Pada Tanggal 23 Juli 2021.
- Jhansi, D., & Kola, M. (2019). The Antioxidant Potential of *Centella asiatica*: A Review. *J. Med. Plants Stud*, 7(2), 18-20. ISSN: 2320-3862. <https://www.plantsjournal.com/archives/2019/vol7issue2/PartA/7-1-31-301.pdf>. Diakses Pada Tanggal 6 Juli 2022.
- Kandio, E. F., Yudistira, A., & Runtuwene, J. M. (2021). Isolasi Bakteri Endofit Simbion Dari Spons *Stylissa* Sp. dan Uji Aktivitas Antibakteri Serta Identifikasi Secara Molekuler Menggunakan Gen 16S Rrna. *Pharmakon*, 10 (1), 649-654. ISSN: 2721-4923.
- Kartikasari, N & Purwestri, Y. A. (2021). Kemampuan Antibakteri Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng terhadap *Escherechia coli*. *Jurnal Ilmu Hayati*, 5(1), 17-24. ISSN: 2545-4686.
- Kurniasari. M. T. & Putra. R. S. (2020). 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. <https://doi.org/10.30598/MJoCEvol1iss2pp129-141>.
- 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 6 Juni 2022.
- Kurniawan, S. E., Mahyarudin, M., & Rialita, A. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10 (1), 14-29. p-ISSN: 2086-5481, e-ISSN: 2549-9890. [10.26877/bioma.v10i1.7140](https://doi.org/10.26877/bioma.v10i1.7140).
- Leboffe, M, J. & Pierce, B, E. (2011). *A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory 4th Edition*. Morton Publishing Company. Englewood, Colorado. ISBN – 978-089582-872-9.
- Lestari, W. (2017). Isolasi dan Uji Antifungal Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis*). *Simbiosis*, 6(1), 48-56. ISSN: 2301-9417.
- Linda, T. M., Pratiwi, B. P. S., Dona, W., Martina, A., Lestari, W., & Hapsoh, H. (2018). Isolasi Bakteri Endofit dari Batang Karet (*Hevea brasiliensis*) dan Potensinya dalam Menekan Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* dalam Medium Fermentasi. In *Prosiding Seminar Nasional Hayati*. 6(2018), 251-257. <https://proceeding.unpkediri.ac.id/index.php/hayati/article/view/639/566>. Diakses Pada Tanggal 18 Desember 2021.

- Lisiswanti, R., & Fiskasari, S. R. (2017). Manfaat Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Pengobatan Penyakit Alzheimer. *Jurnal Majority*, 6(2), 132- 136. ISSN: 2337-3776.
- Mahyarudin, M., Kurniawan, S. E., & Rialita, A. (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10 (1), 14-29. p-ISSN: 2086-5481, e- ISSN: 2549-9890. <https://doi.org/10.26877/bioma.v10i1.7140>.
- Marsaoli, F., Matinahoru, J. M., & Leiwakabessy, C. (2020). Isolasi, Seleksi, dan Uji Antagonis Bakteri Endofit Diisolasi dari Salawaku (*Falcataria mollucana*) dalam Menekan Pertumbuhan Cendawan Patogen *Cercospora* spp. *Jurnal Agrologia*, 8(2), 44-54. ISSN 2580-9636.
- Maulida, U., Jofrisha, J., & Mauliza, M. (2019). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol pada Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban). *KATALIS: Jurnal Penelitian Kimia dan Pendidikan Kimia*, 2(2), 1-8. ISSN: 2721-9038.
- Mulyani, Y. W. T., Hidayat, D., Isbiantoro, I., & Fatimah, Y. (2017). Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) Sebagai Antibakteri Terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *JFL: Jurnal Farmasi Lampung*, 6(2). 46-54. ISSN: 2598-4896.
- Nagoba, B., Davane, M., Gandhi, R., Wadher, B., Suryawanshi, N., & Selkar, S. (2017). Treatment of Skin and Soft Tissue Infections Caused by *Pseudomonas aeruginosa*—A review of Our Experiences With Citric Acid Over The Past 20 Years. *Wound Medicine*, 19(2017), 5-9. ISSN: 2213-9095. [10.1016/j.jhin.2017.11.008](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.11.008).
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2017). Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6(2), 91-96. p-ISSN 2252-6951 e- ISSN 2502-6844.
- Nurfiah, N., Tahir, T., & Yusuf, S. (2019). Aktifitas Zat Aktif Berbasis Tanaman Tradisional Indonesia Dalam Penyembuhan Luka. *Jurnal Keperawatan Muhammadiyah*, 4(2), 111-116. p-ISSN: 2541 2396, e ISSN: 2597- 7539. [10.30651/jkm.v4i2.2121](https://doi.org/10.30651/jkm.v4i2.2121).
- Nuruwe, C., Matinahoru, J. M., & Hadijah, M. H. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Beberapa Jenis Pohon Berhabitat Basah. *Jurnal Budidaya Pertanian*, 16(1), 65-70. ISSN: 1858-4322. [10.30598/jbdp.2020.16.1.65](https://doi.org/10.30598/jbdp.2020.16.1.65).
- Oktavia, N., & Pujiyanto, S. (2018). Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapakdara (*Catharanthus roseus*, L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi*. 1(1), 6-12.

<https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/bb/article/view/2209>. Diakses Pada Tanggal 9 Juni 2022

- Oliveira, W. F., Silva, P. M. S., Silva, R. C. S., Silva, G. M. M., Machado, G., Coelho, L.C. B. B., & Correia, M. T. S. (2018). *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* Infections on Implants. *Journal of Hospital Infection*, 98(2), 111-117. ISSN 0195-6701. [10.1016/j.jhin.2017.11.008](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.11.008).
- Palombo, E. A. (2020). Ethanol Treatment Does Not Inactivate Spore-Forming Bacteria –A Cautionary Note About The Safe Transport of Bacteria Prior To Identification By MALDI-TOF MS. *Journal of Microbiological Methods*, 172, 105893. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105893>. Diakses Pada Tanggal 9 Juni 2020.
- Panjaitan. J. F., Bachtiar. T., Arsyad. I., Lele. K. O., dan Indriyani. W. (2020). Karakterisasi Mikroskopis dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BFP) Dari *Rhizosfer* Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Jurnal ilmu pertanian dan lingkungan*. 1 (1), 9-17. ISSN: 2964-6936.
- Papadopoulos, P., Papadopoulos, T., Angelidis, A. S., Boukouvala, E., Zdragas, A., Papa, A., Hadjichristodoulou, C., & Sergelidis, D. (2018). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and of Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) Along the Production Chain of Dairy Products in Northwestern Greece. *Food microbiology*, 69(2018), 43-50. ISSN: 0740-0020. [10.1016/j.fm.2017.07.016](https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.016).
- Prakash, V., Jaiswal, N., & Srivastava, M. A. (2017). Review on Medicinal Properties of *Centella asiatica*." *Asian J of Pharmaceutical and Clin Res*, 10(10), 69-73. e-ISSN: 2455-3891, p-ISSN: 0974-2441.
- Pratiwi, B. E. (2015). Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit dari Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang Berpotensi Sebagai Antibakteri. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi: Universitas Islam Negeri Hidayatullah. <https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/29141>. Diakses pada tanggal 10 Juli 2021.
- Prihamdani, S. S., Poeloengan, M., Noor, S. M., & Andriani. (2018). Uji Daya Antibakteri Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Pseudomonas aeruginosa* dalam Meningkatkan Keamanan Pangan. *Informatika Pertanian*, 24(1), 53-58. ISSN: 2540-9875. <https://dx.doi.org/10.21082/ip.v24n1.2015.p53-58>.
- Primanita, M., Wahyuni, A. T., & Lestari, Y. (2015). 16S rRNA-Based Metagenomic Analysis of Endophytic *Actinomyces* Diversity from *Tinospora*

- crispa* L. Miers. *Microbiology Indonesia*, 9(1), 25-34. ISSN: 1978-3477.
- Prissilia, N. (2019). Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1), 1-22.
<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jmfarmasi/article/view/37710>.
Diakses Pada Tanggal 24 Juni 2022.
- Purwaningsih, D., & Wulandari, D. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Sains & Kesehatan*, 3(5), 750- 759. ISSN: 2407-6082.
- Purwestri, Y. A. (2021). Kemampuan Antibakteri Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Hayat*, 5(1), 17-24. ISSN: 2549-4686.
- Puspaningrum, Y., & Wibowo, W. A. (2020). Gambaran Pola Bakteri Pada Ulkus, Abses, dan Selulitis Di Rs Pku Muhammadiyah Surakarta. *Publikasi Ilmiah*, 472-482. ISSN: 2721-2882.
publikasiilmiah.ums.ac.id/handle/11617/12035. Diakses Pada Tanggal 12 Juli 2021.
- Puspitasari, F. D., Shovitri, M., & Kuswytasari, N. D. (2012). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik Dari Tangki Septik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 1(1), E1-E4. ISSN: 2301-928X.
- Putri, M. F., Fifendy, M & Putri, D. H. (2018). Diversitas Bakteri Endofit pada Daun Muda dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus macroraura* miq.). *Eksakta Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 19(1), 125-130. e-ISSN: 2549-7464 p-ISSN: 1411-3724. 2549-7464 p-ISSN: 1411-3724.
- Radityo, B. (2019). Eksplorasi Bakteri Endofit Isolat Daun Tanaman Karet (*Hevea Brassiliensis* Muell. Arg) Serta Potensi Antagonismenya Terhadap Penyakit Gugur Daun (*Pestalotiopsis* Sp) Secara In Vitro (Doctoral Dissertation). <http://repository.umsu.ac.id/handle/123456789/7080>.
Diakses Pada Tanggal 19 Juni 2022.
- Rahardjo, M., Koendhori, E. B., & Setiawati, Y. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 17(2), 65-70. ISSN: 1412-1026 e-ISSN: 2550-0112.
- Ramadhani, K. (2019). Pengaruh Konsentrasi Garam Berbeda Terhadap Keberadaan Mikroba Daging Ikan Lele (*Clarias* sp.) yang Terinfeksi. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/170484/>. Diakses Pada Tanggal 7 Juli 2022.

- Rahmaningsih, S., Wilis, S., & Mulyana, A. (2017). Bakteri Patogen dari Perairan Pantaidan Kawasan Tambak di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. *Ekologia. Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, 12(1), 1-5. ISSN: 1411-9447. <https://doi.org/10.33751/ekol.v12i1.248>.
- Ramadhan, R. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Potensi Obat Oral Senyawa Nanopartikel Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Tersulut Kitosan Berdasarkan Hasil Analisis LCMS. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. <http://etheses.uin-malang.ac.id/16725/>. Diakses Pada Tanggal 6 Juli 2021.
- Ramandey, J., & Bunei, P. (2021). Identifikasi Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Tanaman Obat Bagi Masyarakat Suku Mee di Distrik Tigi Timur Kabupaten Deiyai. *Jurnal Fapertanak: Jurnal Pertanian dan Peternakan*, 6(1), 23-31. ISSN: 2541-6154.
- Raytaker, N. A., Choudari, M. R., & Das, S. (2017). Antibiotic Profilling of *Pseudomonasaeruginosa* Isolates from Pus Sample of Rural Tertiary Care Hospital of Western Mahanashtra, Loni, India. *Int. Jour. Of Research in Medical Sciences*, 5(7): 3076-3081. ISSN 2320- 6012. [10.18203/23206012.ijrms20172990](https://doi.org/10.18203/23206012.ijrms20172990).
- Retnaningsih, A., Primadimanti, A., & Febrianti, A. (2019). Inhibitory Test Of Purple Leaf Ethanol Extract (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) On *Staphylococcus epidermidis* Bacteria And *Propionibacterium acnes* Bacteria Causes Of Acne With Discussion. *J Anal Farm*, 4(1), 1-9. ISSN: 2527-9238.
- Riandari, F. (2017). Sistem Pakar Mendiagnosa Penyakit Kulit Wajah Menggunakan Metode *Certainty Factor*. *Jurnal Mantik Penusa*, 1(2), 85-89. e-ISSN: 2580 9741, p: ISSN: 2088 3943.
- Sabaragamuwa, R., Perera, C. O., & Fedrizzi, B. (2018). *Centella asiatica* (Gotu kola) As A Neuroprotectant and Its Potential Role In Healthy Ageing. *Trends in Food Science & Technology*, 79(2018), 88-97. ISSN: 0924-2244.
- Sadikin, N. A. N., Bintari, S. H., Widiatningrum, T., & Dewi, P. (2021). Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Endofit Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Life Science*, 10(2), 109-119. ISSN: 2252-6277.
- Sagita, D, Suharti, N, & Azizah, N. (2017). Isolasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. ISSN: 1979-9292 E-ISSN: 2460-5611.
- Sianipar, G. W. S., Sartini, S., & Riyanto, R. (2020). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Endofit pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 2(2), 83-92.

<http://jurnalmahasiswa.Uma.acid/index.php/jibioma/article/view/312/pdf>. Diakses Pada Tanggal 9 Juni 2022.

- Sarjono, P., R, Putri, L., D, Budiarti, C., E, Mulyani, N.,S, Kusriani, D., & Prasetya, N., B., A. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Bakteri Endofit Metabolit Sekunder Dari Daun Pepaya (*Carica papaya* L.). Dalam *Seri Konferensi IOP: Ilmu dan Teknik Material*, 509 (1), 012-112. [10.1088/1757-899X/509/1/012112](https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012112).
- Sasmita, H. A., Sapriati, A.N. & Kursia S. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Liur Basa (Limbah Sayur Bayam dan Sawi). *As-syifaa*, 10(2), 85-98. ISSN: 2085-4714.
- 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), 52-59. p-ISSN: 2460-2582, e-ISSN: 2407-795X. [10.29303/jppipa.v3i2.92](https://doi.org/10.29303/jppipa.v3i2.92).
- Septiani, S., Dewi, E. N., & Wijayanti, I. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Saintek Perikanan: *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 13(1), 1-6. ISSN: 1858-4748. [10.14710/ijfst.13.1.1-6](https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6).
- Silalahi, L. F., Mukarlina, M., & Rahmawati, R. (2020). 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), 26-29. <http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v9i1.40064>. Diakses Pada Tanggal 6 Juni 2022.
- Silvia, D. (2018). Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Jamur *Candida albicans*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel, Surabaya. <http://digilib.uinsby.ac.id/26032/>. Diakses pada tanggal 23 Juni 2022.
- Sulviana, A. W., Puspawati, N., & Rukmana, R. M. (2017). Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Pus Infeksi Luka Operasi di RSUD Dr. Moewardi. *Biomedika*, 10(2), 18-24. ISSN: 2541-2582.
- Susilowati, D, N., Ginanjar, H., Yuniarti, E., Setyowati, M., & Roostika, I. (2018). Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng Sebagai Penghasil Senyawa Steroid dan Antipatogen. *Jurnal Littri*, 24(1), 1-10. ISSN 0853-8212, E-ISSN 2528-6870. <http://dx.doi.org/10.21082/littri.v24n1.2018.1-10>.
- Singh, M., kumar, A., Singh, R., & Pandey, K.D. (2017). Endophytic Bacteria: A

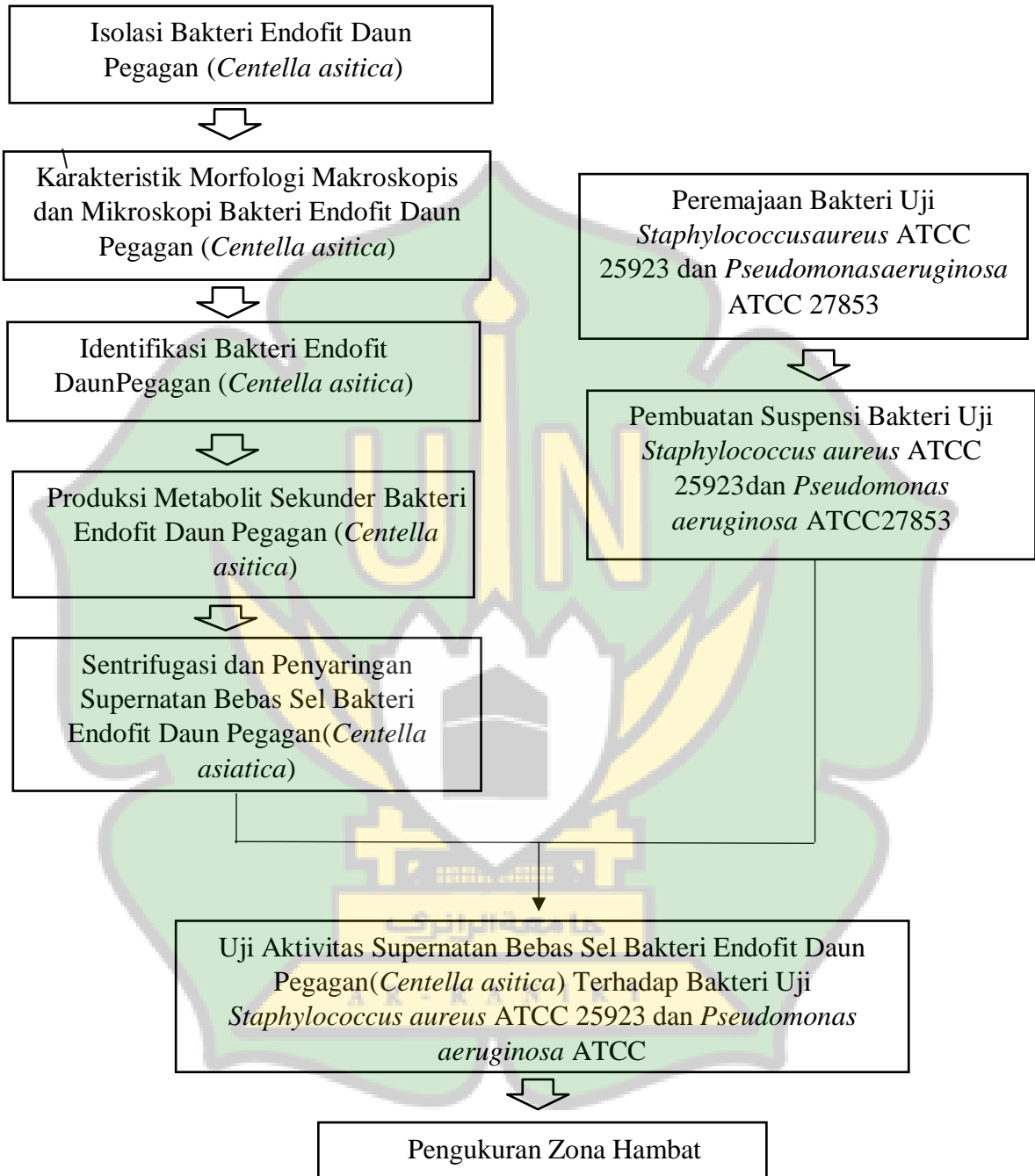
- New Source Of Bioactive Compounds. *Biotech.* 7(315), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0942-z>.
- Sousa, C.P., Serrano, N.F.G. & Lacava, P.T. (2017). Endophytic Microorganisms of the Tropical Savannah: A Promising Source of Bioactive Molecules. *In Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics*, 57-70. Springer, Cham. [10.1007/978-3-319-55804-2_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-55804-2_4).
- Sulistiyarsi, A., & Pribadi, N. W. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *Pharmed: Journal Of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 1(1), 26-36.p-ISSN 2614-4840, e-ISSN: 2614-6118. [10.25273/pharmed.v1i1.2271](https://doi.org/10.25273/pharmed.v1i1.2271).
- Susetyarini, E., & Nurrohman, E. (2022). Fitokimia Ekstrak dan Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.): Langkah Awal Mencari Senyawa Potensial Kandidat Immunomodulator. *Jurnal Sains Riset*, 12(1), 51-58. [10.47647/jsr.v10i12](https://doi.org/10.47647/jsr.v10i12).
- Susilowati, D, N., Ginanjar, H., Yuniarti, E., Setyowati, M., & Roostika, I. (2018). Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng Sebagai Penghasil Senyawa Steroid dan Antipatogen. *Jurnal Littri*, 24(1), 1-10. ISSN 0853- 8212, E-ISSN 2528-6870. [http://dx.doi.org/10.21082/littri.v24n1.2018.1 - 10](http://dx.doi.org/10.21082/littri.v24n1.2018.1-10).
- Sutardi, S. (2017). Kandungan Bahan Aktif dan Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya Untuk Meningkatkan Sistem Imun Tumbuhan. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 35(3), 121–130. ISSN: [021 6-4418](https://doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016), e-ISSN: [2541-0822](https://doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016). [10.2 1082 /jp3.v35n3. 2016](https://doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016).
- Suteja, A. (2018). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr). *Skripsi*. Fakultas Biologi Universitas Medan Area Medan. <http://repository.uma.ac.id/bitstream/123456789/9671/1/Aji%20Suteja%20-%20Fulltext.pdf>. Diakses pada tanggal 4 November 2021.
- Trisniawati, D. (2016). Pengaruh Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Pembacaan Mikroskopis BTA Pada Pasien Tuberculosis Dengan Hasil Scanty .*Skripsi*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. <http://repository.unimus.ac.id/118/1/SKRIPSI%20FULTEXTS.pdf>. Diakses pada tanggal 10 November 2021.
- Tumangger, D. E. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Dari Daun Dan Batang Pada Tanaman Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume). *Skripsi*. Universitas Negeri Medan. <http://digilib.unimed.ac.id/30455>

/. Diakses Pada Tanggal 6 Juni 2022.

- Ulung, G., & Studi, P. (2014.) *Sehat Alami Dengan Herbal: 250 Tanaman Berkhasiat Obat*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. ISBN: 9786020304601, 6020304604.
- Untu, S. (2019). Aktivitas Antibakteri Kulit Batang Santigi *Pemphis acidula* Forst Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *BiofarmasetikalTropis*, 2(2), 61-68. ISSN: 2685-3167.
- Vinolina, N. S. (2021). Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) dan Metabolit Sekunder Yayasan Kita Menulis. ISBN: 9786233422161, 6233422167. [google.co.id/books/edition/Pegagan_Centella_asiatica_L_Urban_dan_Me/FjZCEAAAQBAJ?hl=id&gbpv=0](https://www.google.co.id/books/edition/Pegagan_Centella_asiatica_L_Urban_dan_Me/FjZCEAAAQBAJ?hl=id&gbpv=0)
- Waluyo, B. B. (2020). Sehat dan Cantik dengan Cica, *Centella asiatica*. Penerbit GUEPEDIA. ISBN: 9786232943179,6232943171. https://www.google.co.id/books/edition/Sehat_dan_Cantik_dengan_Cica_Centella_As/MJtNEAAAQBAJ?hl=id&gbpv=0.
- Widiastuti, D., Karima, I. F.,& Setiyani, E. (2019). Efek Antibakteri Sodium Hypochlorite terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat: Media Komunikasi Komunitas Kesehatan Masyarakat*, 11(4), 302-307. ISSN: 2085-4366.
- Wulansari, A., Aqlinia, M., Wijanarka, W., & Raharja, 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.
- Yanti, D., Rahmawati, R., & Kurniatuhadi, R. (2021). Karakteristik Morfologis dan Fisiologis Bakteri Endofit dari Akar Napas Tumbuhan *Avicennia marina* (fork) vierh di Mempawah Mangrove Park. *Biologica Samudra*, 3(2), 166-183. ISSN: 2715-1174.
- Yati, S. J., Sumpono., & Candra, I. N. (2018). Potensi Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit pada Daun *Moringa Oleifera* L. *Jurnal Pendidikandan Ilmu Kimia*, 2(1): 82-87. ISSN 2252-8075.
- 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). 21-19. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v4i1.98>.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian



Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian



Daun Pegagan Segar
(*Centella asiatica*)



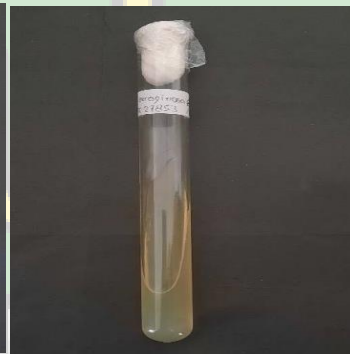
Pemurnian Bakteri
Endofit Daun Pegagan
(*Centella asiatica*)



Sterilisasi Permukaan
Daundan Isolasi Bakteri
Endofit Daun Pegagan
(*Centella asiatica*)



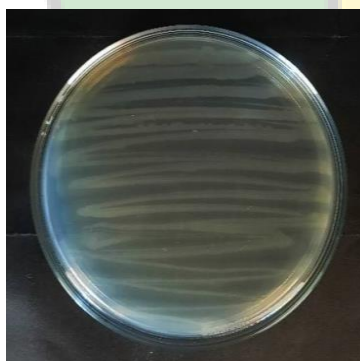
Isolat Bakteri
Staphylococcus aureus
ATCC 25923



Isolat Bakteri
Pseudomonas aeruginosa ATCC
27853/27853



Peremajaan Bakteri
Staphylococcus aureus
ATCC 25923



Peremajaan Bakteri
Pseudomonas aeruginosa ATCC
27853



Uji Kebutuhan Oksigen



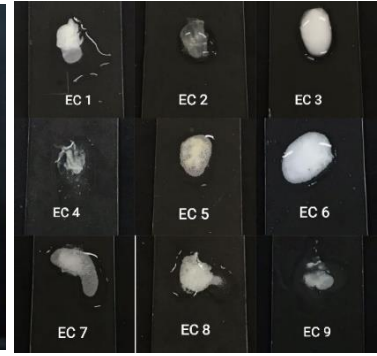
Uji TSIA



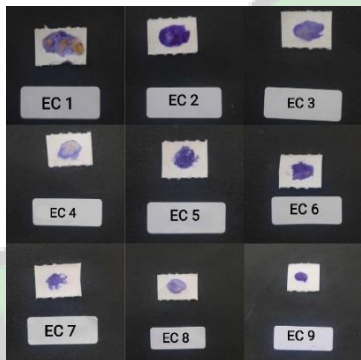
Uji Urease



Uji Indol dan Motilitas



Uji Katalase



Uji Oksidase



Produksi Metabolit Sekunder



Penyiapan Supernatan



Proses Sentrifugasi



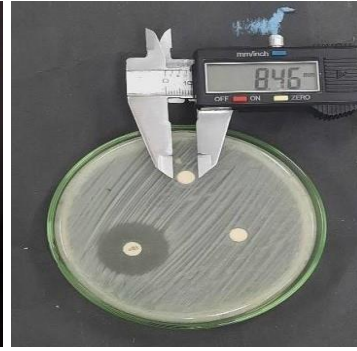
Supernatan Bebas Sel



Penyaringan Supernatan



Uji Aktivitas
Supernatan Bebas Sel



Pengukuran Zona
Hambat



Lampiran 3 Rumus Pengulangan Uji Aktivitas

Rumus Pengulangan Uji Aktivitas

Pengulangan menggunakan rumus Federer, sebagai berikut: $(t-1)(r-1) \geq 15$

$$(9-1)(r-1) \geq 15$$

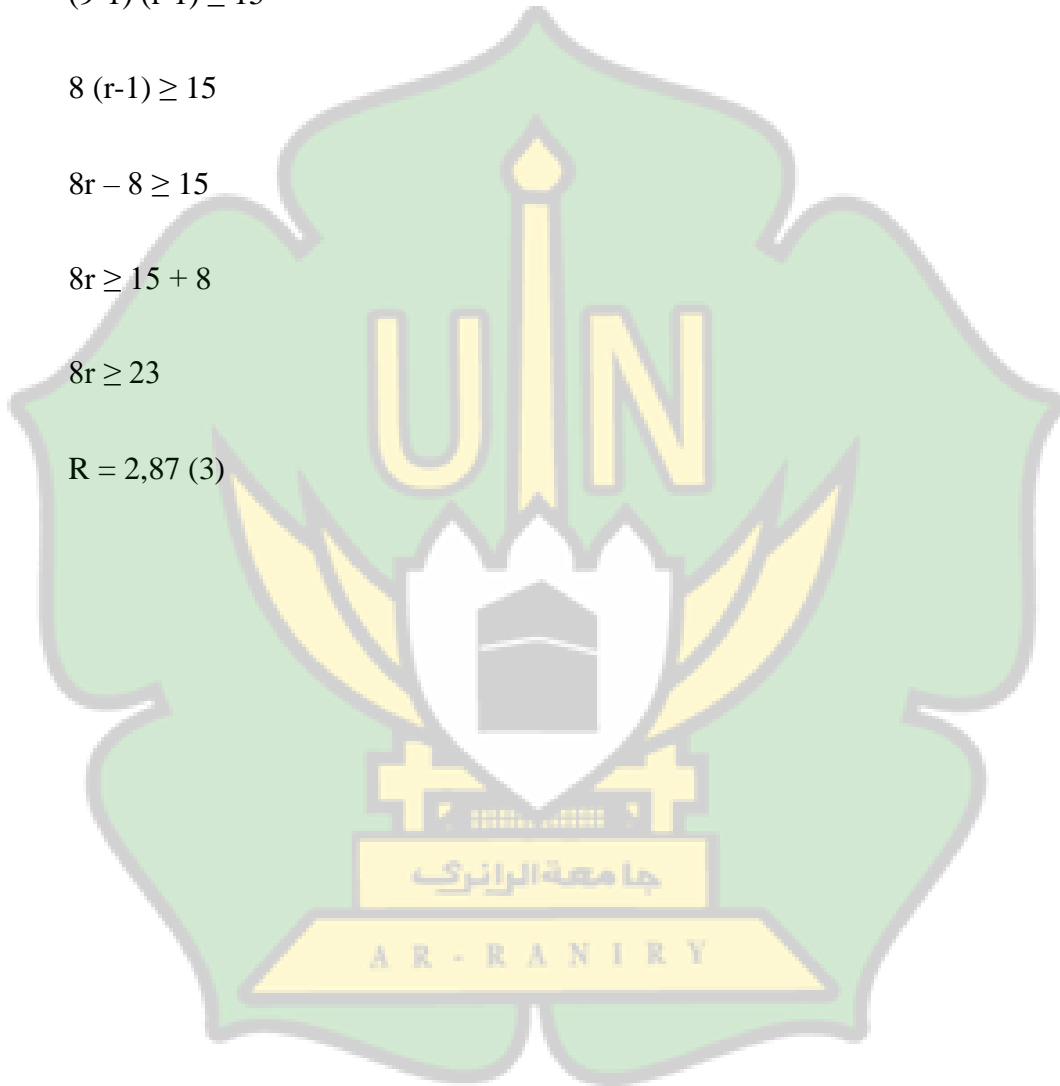
$$8(r-1) \geq 15$$

$$8r - 8 \geq 15$$

$$8r \geq 15 + 8$$

$$8r \geq 23$$

$$R = 2,87 (3)$$



Lampiran 4 Surat Keterangan Pembimbing Skripsi



SURAT KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH
Nomor: B-536/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** Sebagai Pembimbing I
2. **Syafrina Sari Lubis, M.Si** Sebagai Pembimbing II

Untuk membimbing Skripsi:

Nama : Putri Rahil Marissa
NIM : 170703022
Prodi : Biologi
Judul Skripsi : **Aktivitas Supernatan Bebas Sel Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica*) dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* 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,

Azhar Amsalij

- 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.

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-3569/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 : **PUTRI RAHIL MARISSA / 170703022**
Semester/Jurusan : IX / Biologi
Alamat sekarang : Ie Masen Kayee Adang, Kecamatan Syiah Kuala, 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 Pegagan (*Centella asiatica*) dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* 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. Syaikh 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-45/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 : Putri Rahil Marissa
NIM : 170703022
Program Studi : S1-Biologi
Fakultas : Fakultas Sains dan Teknologi
Perguruan Tinggi : Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Alamat : Jln. Kebun Raja Lorong III, Ie Masen Kayee Adang,
Kec. Syiah Kuala 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 Pegagan (*Centella asiatica*) dalam Menghambat *Staphylococcus aureus* 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

جامعة الرانيري
AR-RANIRY

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 : 495/UN11.1.8.4/TA.00.01//2022
Hal : Identifikasi Sampel Herbarium

8 Agustus 2022

Yth. Sdr. **Putri Rahil Marissa**
Mahasiswa Universitas Islam Negeri Ar-Raniry
Fakultas Sains & Teknologi
Program Studi Biologi
Darussalam - Banda Aceh

Bersama ini kami sampaikan bahwa telah dilakukan identifikasi tumbuhan daun pegagan 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	: Rosidae
Ordo/Order	: Apiales
Familia/Family	: Apiaceae
Genus/Genus	: <i>Centella</i> L.
Species/Species	: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urb

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

Demikian hasil identifikasi ini dibuat untuk dapat digunakan sesuai keperluan.

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi,

Laboratorium Biosistematika
Kepala,



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

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

جامعة الرانيري
AR-RANIRY

Lampiran 8 Biaya Penelitian

Pemakaian Alat dan Bahan Selama Penelitian

No.	Alat dan Bahan	Harga
1	Media NA (49,46 gr)	247.300
2	Media TSIA (8,6 gr)	43.000
3	Media SIM (6,03)	30.150
4	Media Urea Base Agar (2,94 gr)	17.640
5	Media SCA (2,43 gr)	13.365
6	Media MHA (45,6 gr)	250.000
7	Media NB (3,51 gr)	17.550
8	Media TSA (8 gr)	48.000
9	Kristal violet (3ml)	6.000
10	Safranin (6 ml)	12.000
11	Iodin (3 ml)	9.000
12	Malachite green (3ml)	9.000
13	Kloramfenikol (56 disc)	168.000
12	Blank disc (2 strip + 10 disc)	330.000
13	Reagen covack (2 ml)	26.000
14	Alkohol 96% (2ml)	1.000
15	H2O2 (2ml)	3000
16	Oxidase strip (3lembar)	174.000
17	Shaker	15.000
18	Tube sentrifuge	50.000
19	sentrifuge	150.000
20	Cutton swab steril	10.000
21	Isolat <i>S. aureus</i>	300.000
22	Isolat <i>P. aeruginosa</i>	400.000
	Total	2.330.005

RIWAYAT HIDUP PENULIS

1. Nama : Putri Rahil Marissa
2. Tempat/Tanggal Lahir : Lhokseumawe, 09 Mei 1999
3. Nomor Induk Mahasiswa : 170703022
4. Agama : Islam
5. Kebangsaan/Suku : Indonesia
6. Alamat : Jl. Kebun Raja, Ie Masen Kayee Adang, Banda Aceh.
7. Nama Orang Tua
 - a. Ayah : Syamsuar
 - b. Ibu : Sumirna Yanti
8. Alamat Orang Tua : Jl. Balohan Sabang, Cot Ba'u, Kota Sabang
9. Riwayat Pendidikan:

Jenjang	Nama Sekolah	Bidang Studi	Tempat	Tahun Ijazah
SD	SD Negeri 4	-	Sabang	2011
SLTP	SMP Negeri 1	-	Sabang	2014
SLTA	SMA Negeri 1	IPA	Sabang	2017

Banda Aceh, 09 Juli 2022



Putri Rahil Marissa
NIM. 170703022