

---

## **AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ENDOFIT DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**Sembodho Edi Kurniawan<sup>1</sup>, Mahyarudin<sup>2\*</sup>, Ambar Rialita<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura  
Jl. Prof. Dr. Hadari Nawawi, Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat

<sup>2</sup>Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura  
Jl. Prof. Dr. Hadari Nawawi, Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat

<sup>3</sup>Departemen Dermatologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura  
Jl. Prof. Dr. Hadari Nawawi, Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat

\*Corresponding author: [mahyarudin@medical.untan.ac.id](mailto:mahyarudin@medical.untan.ac.id)

---

Naskah diterima: 8 November 2020; Direvisi: 23 Januari 2021; Disetujui: 9 Februari 2021

---

### **ABSTRAK**

Ancaman global pada kasus *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) membutuhkan alternatif penanganan dengan tanaman obat tradisional. Bakteri endofit pada tanaman pegagan (*Centella asiatica*) memiliki kemampuan menghasilkan senyawa metabolit sekunder bersifat antibakteri yang serupa dengan tanaman inangnya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap *S. aureus*. Penelitian ini bersifat deskriptif yaitu isolat bakteri endofit daun pegagan (*C. asiatica*) diujikan dengan metode difusi cakram terhadap *S. aureus*. Isolat yang paling berpotensi memiliki aktivitas antibakteri dilakukan uji metabolit untuk mengetahui senyawa antibakteri yang dihasilkan. Identifikasi bakteri endofit berdasarkan morfologi koloni, morfologi sel, dan uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan 2 dari 37 isolat memiliki aktivitas terhadap *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 9,02 mm dan 15,9 mm. Isolat yang paling berpotensi memiliki aktivitas tertinggi yaitu isolat I2 dengan zona hambat sebesar 15,9 mm. Isolat I2 memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus* dan kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri seperti alkaloid, saponin dan terpenoid.

**Kata kunci:** antibakteri; bakteri endofit; *Centella asiatica*; *Staphylococcus aureus*

### **ABSTRACT**

***Antibacterial activity of endophytic bacteria isolate from pegagan leaves (Centella asiatica) against Staphylococcus aureus***

*The global threat in the case of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) requires alternative treatment using traditional medicinal plants. Endophytic bacteria found in Pegagan plants (Centella asiatica) have ability to produce secondary metabolites with antibacterial capabilities similar to their host plants. The purpose of this study is to determine the antibacterial activity of endophytic bacterial isolates of Pegagan (C. asiatica) against S. aureus. This study is a descriptive research where endophytic bacterial isolates of Pegagan leaves (C. asiatica) were tested with disk diffusion method against S. aureus. The most*

---

### **Kurniawan *et al.*, Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit...**

*potential isolates with antibacterial activity were performed metabolites test to determine the antibacterial compounds produced. Endophytic bacteria identification based on colony morphology, cell morphology and biochemical tests. The results showed that 2 out of 37 isolates had activity against S. aureus with inhibition zone of 9,02 mm and 15.9 mm. The most potential isolate that has highest activity was I2 isolate with inhibition zone of 15.9 mm. Isolate I2 has similarities with the genus Bacillus and the ability to produce antibacterial compounds such as alkaloids, saponins and terpenoids.*

**Key words:** *antibacterial; Centella asiatica; endophytic bacteria; Staphylococcus aureus*

---

## **PENDAHULUAN**

Pada tubuh manusia dapat ditemukan banyak flora normal yang berpotensi menjadi patogen diantaranya yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2004). Pertumbuhan *S. aureus* yang berlebihan dapat menimbulkan infeksi yang serius pada manusia maupun hewan (Staf Pengajar FK UI, 2010). Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada tubuh manusia seperti bakteremia, impetigo, meningitis, pneumonia dan endokarditis (Tong *et al.*, 2015).

*Staphylococcus aureus* menghasilkan banyak toksin seperti *Panton-Valentine leukocidin*, *alfa-hemolysis*, *phenol-soluble modulins*, dan *arginine catabolic mobile element* yang berperan dalam patogenitas bakteri yang dapat merusak jaringan (Tortora *et al.*, 2010; Tong *et al.*, 2015). Sebagian besar kasus infeksi yang disebabkan bakteri *S. aureus* secara efektif dapat diobati dengan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik dengan intensitas yang tinggi dapat menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik seperti *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Permenkes, 2011).

Tanaman pegagan (*C. asiatica*) mengandung senyawa antibakteri sehingga banyak digunakan sebagai tanaman obat. Tanaman pegagan (*C. asiatica*) mengandung metabolit sekunder seperti saponin, triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid (Bermawie *et al.*, 2008). Flavonoid memiliki bioaktivitas sebagai antibiotik, antiinflamasi, antialergi, antivirus dan anti kanker (Sundaryono, 2011). Tanaman ini juga dapat digunakan sebagai obat analgesik, antidepresan, obat penenang, dan antimikrob (Brinkhaus *et al.*, 2000). Beberapa penelitian

### **Kurniawan *et al.*, Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit...**

sebelumnya menunjukkan bahwa tanaman pegagan (*C. asiatica*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *Mycobacterium leprae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* (Delbò & Calapai, 2010).

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di jaringan tanaman inang tanpa menimbulkan gejala-gejala penyakit pada tanaman tersebut (Bhore & Sathisha, 2010). Simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif serupa dengan yang terkandung dalam tumbuhan inangnya (Schulz & Boyle, 2006). Bakteri endofit ditemukan pada biji, buah, batang, akar, umbi akar dan daun tanaman (Abdulla, 2009; Vega *et al.*, 2005). Bakteri endofit daun kemangi dengan genus *Acetobacter* diketahui memiliki kemampuan untuk melawan *S. aureus*. *Acetobacter* menghasilkan asam asetat kuat yang dapat mengubah pH lingkungan dan menekan bakteri tersebut (Utami, 2018). Penggunaan bakteri endofit diharapkan mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya tanpa harus ekstraksi (Prihatiningtias *et al.*, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari bakteri endofit pada tanaman pegagan (*C. asiatica*) terhadap bakteri patogen *S. aureus*.

## **MATERIAL DAN METODE**

### ***Subjek Penelitian***

Penelitian menggunakan subjek berupa bakteri endofit yang diisolasi dari daun pegagan (*C. asiatica*) dan biakan murni bakteri *S. aureus*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikroskopis, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.

### ***Alat dan Bahan***

Alat yang digunakan adalah cawan petri, jarum ose, *cotton swab* steril, inkubator, mikropipet, sentrifus, mikroskop cahaya, jangka sorong, *paper disk*, tabung reaksi, kaca obyek, tabung reaksi, gelas ukur, dan *handscoon* steril. Bahan yang digunakan meliputi biakan murni bakteri *S. aureus*, isolat bakteri endofit daun pegagan (*C. asiatica*), media pertumbuhan *nutrient agar* (NA), media pertumbuhan *nutrient broth* (NB), media *Mannitol salt agar* (MSA), media *Mueller hinton agar* (MHA), larutan standar Mc Farland 0,5, larutan NaCl steril, zat warna kristal violet, alkohol 96%, safranin, dan lugol.

**Prosedur Penelitian**

**Peremajaan bakteri endofit daun pegagan (*C. asiatica*)**

Bakteri endofit daun pegagan (*C. asiatica*) diremajakan dalam media lempeng NA. Satu koloni bakteri endofit diambil dengan jarum ose steril, lalu diinokulasi pada media lempeng NA dengan metode cawan gores dan diinkubasi pada 37°C selama 24-48 jam (Anjum & Chandra, 2015).

**Produksi metabolit antibakteri dari bakteri endofit**

Isolat bakteri endofit pada media NA ditumbuhkan pada media NB untuk memproduksi metabolit antimikroba, kemudian diinkubasi pada 37°C selama 48-72 jam. Isolat disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4 °C hingga didapatkan supernatan. Supernatan dipindahkan dan disentrifugasi kembali agar metabolit antibakteri terpisah dengan bakteri endofit. Isolat diuji dengan metode difusi cakram terhadap bakteri uji (Adityawarman, 2019; Utami, 2018).

**Peremajaan bakteri uji *S. aureus***

*Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Peremajaan dilakukan untuk mendapatkan bakteri segar yang berusia 24 jam. Koloni yang tumbuh dari hasil peremajaan tersebut digunakan sebagai sampel penelitian (Waluyo, 2008).

**Pembuatan suspensi bakteri uji**

Koloni bakteri uji pada media peremajaan berumur 24 jam diambil dan disuspensi dalam 5 ml NaCl steril 0,9%. Kekeruhan yang diperoleh disetarakan dengan standar Mc Farland 0,5 (Ayyagari & Sushma, 2009).

**Kontrol positif dan negatif**

Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin yang merupakan antibiotik dan kontrol negatif *nutrient broth*. Siprofloksasin diketahui memiliki daya hambat terhadap mikroba (**Tabel 1**).

**Tabel 1.** Zona hambat antibiotik (Vendepitte *et al.*, 2010)

Jenis Antibiotik	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)		
	Cakram Antibiotik	Sensitif	Intermediet	Resisten
Siprofloksasin	5 µg	≥20 mm	15-19 mm	≤14 mm

### ***Skrining bakteri endofit dengan metode difusi cakram***

Kultur isolat bakteri endofit diuji potensi antibakteri dengan metode kertas cakram (*disc diffusion Kirby Bauer*). Suspensi bakteri uji disebar pada permukaan media MHA dengan metode *swab*. Supernatan hasil sentrifugasi bakteri endofit diserapkan pada kertas cakram dengan diameter 6 mm. Cakram diletakkan pada permukaan MHA yang telah diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Muharni *et al.*, 2014).

### ***Pengukuran zona hambat***

Pengamatan dilakukan selama 24 jam masa inkubasi. Zona hambat yang terbentuk diukur diameternya dari satu tepi ke tepi lain dengan melewati bagian tengah kertas cakram menggunakan jangka sorong dengan satuan mm (Hudzicki, 2009) untuk mengetahui respon hambatan pertumbuhan bakteri (**Tabel 2**).

**Tabel 2.** Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Tchaou, 1996)

<b>Diameter Zona Hambat (mm)</b>	<b>Interpretasi</b>
0 mm	Tidak memiliki efek antibakteri
1,4-6,2 mm	Lemah
6,3-10,3 mm	Sedang
10,4-26,8 mm	Kuat
≥26,8 mm	Sangat kuat

### ***Identifikasi bakteri endofit***

Bakteri murni yang memiliki efek aktivitas antibakteri tertinggi dikarakterisasi dan diidentifikasi dengan uji biokimia mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Karakterisasi yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni, morfologi sel, dan biokimia bakteri.

Pengamatan morfologi koloni dilihat dari bentuk, permukaan, tepi, dan warna koloni. (Holt *et al.*, 2000). Karakterisasi mikroskopis dilakukan dengan metode pewarnaan Gram. Bakteri gram positif akan ditunjukkan dengan sel warna ungu, sedangkan bakteri gram negatif akan ditandai dengan sel yang bewarna merah atau merah muda (Cappuccino & Sherman, 2014). Selain itu, juga dilakukan pewarnaan endospora dan uji biokimia, meliputi uji kebutuhan oksigen, uji oksidasi, uji

### **Kurniawan *et al.*, Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit...**

motilitas, uji katalase, uji fermentasi karbohidrat, uji dekarboksilasi, uji urease, uji indol, uji oksidase-fermentasi, uji penggunaan sitrat dan uji TSIA.

#### ***Uji metabolit sekunder bakteri yang potensial***

Bakteri endofit yang potensial dilakukan fermentasi cair agar supernatan terpisah dengan bakteri endofit. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji metabolit sekunder bakteri endofit yang potensial (Adityawarman, 2019; Utami, 2018), berupa uji terpenoid/steroid, uji alkaloid, uji flavonoid, dan uji saponin.

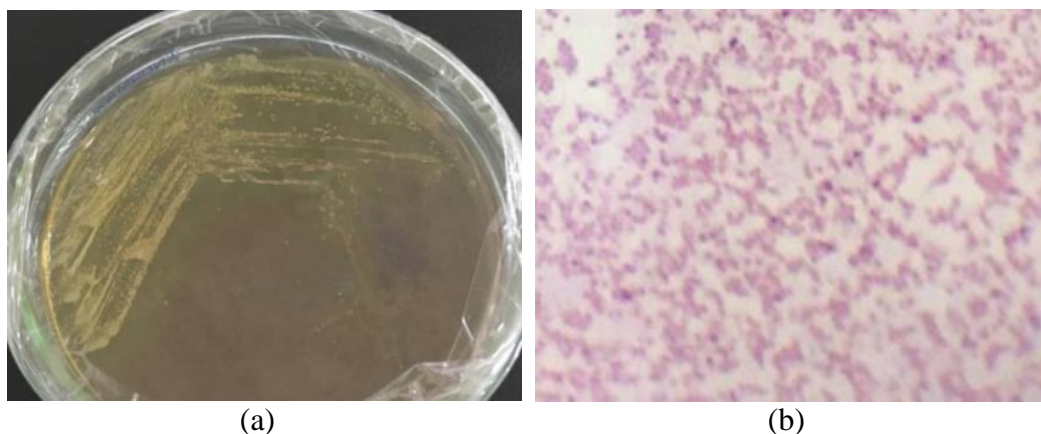
#### ***Analisis dan Interpretasi Data***

Data dianalisis dengan mengumpulkan semua hasil pengamatan isolat dari pengujian antibakteri, diameter zona hambat yang terbentuk, identifikasi karakteristik bakteri endofit, serta uji metabolit sekunder bakteri endofit yang potensial sebagai antibakteri terhadap *S. aureus*.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### ***Peremajaan bakteri endofit***

Sebanyak 37 dari 42 isolat bakteri endofit berhasil dilakukan peremajaan pada media NA, terdiri dari 20 isolat bakteri Gram negatif dan 17 isolat bakteri Gram positif. Lima isolat bakteri endofit lainnya yang terdiri dari 3 bakteri Gram negatif dan 2 bakteri Gram positif tidak berhasil dilakukan peremajaan karena kontaminasi (**Tabel 3**).



**Gambar 1.** Morfologi koloni *S. aureus* (a) usia 24 jam pada media MSA dan (b) perbesaran 1000x

**Tabel 3.** Hasil peremajaan bakteri endofit

No	Nama Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel
		Bentuk	Permukaan	Tepi	Warna	
1.	I1	Iregular	Datar	Bergelombang	Kuning	Basil, Positif
2.	I2	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih	Basil, Positif
3.	I3	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Positif
4.	I4	Bulat	Datar	Bergerigi	Putih	Basil, Positif
5.	I5	Iregular	Datar	Bergelombang	Kuning	Basil, Positif
6.	I6	Iregular	Cembung	Bergerigi	Putih Kekuningan	Basil, Positif
7.	I7	Bulat	Datar	Bergerigi	Putih	Basil, Positif
8.	I8	Titik	Datar	Utuh	Putih	Basil, Positif
9.	I10	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Positif
10.	I11	Iregular	Cembung	Bergerigi	Putih	Basil, Negatif
11.	I12	Bulat	Datar	Bergerigi	Putih Kekuningan	Basil, Positif
12.	I13	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
13.	I14	Iregular	Cembung	Bergerigi	Putih	Basil, Positif
14.	I15	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
15.	I17	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
16.	I18	Bulat	Datar	Bergelombang	Putih	Basil, Positif
17.	I19	Iregular	Datar	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Positif
18.	I20	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih	Basil, Negatif
19.	I21	Iregular	Datar	Bergerigi	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
20.	I22	Titik	Cembung	Utuh	Putih	Basil, Negatif
21.	I23	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih	Basil, Positif
22.	I24	Iregular	Datar	Bergerigi	Putih Kekuningan	Basil, Positif
23.	I25	Iregular	Datar	Bergerigi	Putih Kekuningan	Basil, Positif
24.	I26	Iregular	Datar	Bergelombang	Kuning	Basil, Positif
25.	I27	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
26.	N1	Iregular	Cembung	Bergerigi	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
27.	N2	Iregular	Datar	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
28.	N4	Bulat	Datar	Bergerigi	Putih	Basil, Negatif
29.	N5	Iregular	Cembung	Utuh	Putih	Basil, Negatif
30.	N6	Iregular	Cembung	Utuh	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
31.	N7	Iregular	Cembung	Bergelombang	Putih Kekuningan	Basil, Negatif
32.	N8	Iregular	Cembung	Utuh	Putih kekuningan	Basil, Negatif
33.	N9	Iregular	Datar	Bergelombang	Putih kekuningan	Basil, Negatif
34.	N10	Bulat	Cembung	Utuh	Putih	Basil, Negatif
35.	N11	Iregular	Cembung	Bergelombang	Kuning	Basil, Negatif

### Kurniawan *et al.*, Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit...

---

36.	N14	Titik	Cembung	Utuh	Putih	Kokus, Negatif
37.	N15	Ireguler	Cembung	Bergerigi	Putih Kekuningan	Kokus, Negatif

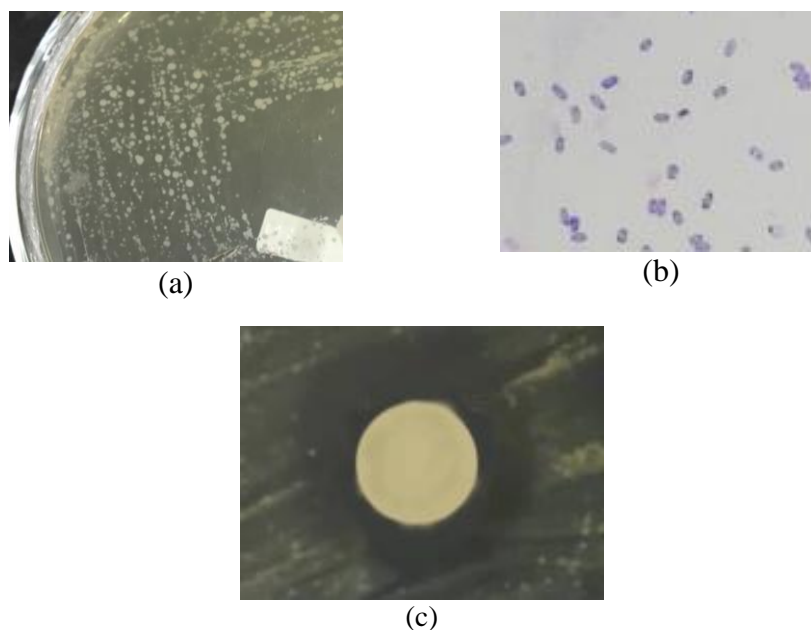
---

#### *Peremajaan Staphylococcus aureus*

Hasil peremajaan bakteri ini pada media MSA menunjukkan pertumbuhan koloni berbentuk bundar, halus, dan berwarna putih kekuningan. Morfologi sel bakteri uji menunjukkan bakteri Gram positif yang berbentuk kokus, bergerombol membentuk seperti buah anggur (**Gambar 1**). Peremajaan dilakukan pada media selektif diferensial MSA (*mannitol salt agar*) yang spesifik untuk pertumbuhan *S. aureus* yang memiliki kemampuan memfermentasi *mannitol* sehingga merubah indikator fenol merah pada MSA menjadi berwarna kuning (Dewi, 2013; Brooks *et al.*, 2004; Pumipuntu *et al.*, 2017) .

#### *Skrining bakteri endofit yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap S. aureus*

Hasil pengujian bakteri endofit sebagai antibakteri dengan metode difusi cakram menunjukkan hanya dua isolat yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* (**Tabel 4**). Beberapa isolat bakteri tumbuh, namun tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.



**Gambar 2.** (a) Morfologi koloni isolat I2, (b) morfologi sel isolat I2, dan (c) zona hambat yang dibentuk oleh isolat I2



**Tabel 4.** Hasil uji aktivitas antibakteri bakteri endofit

No	Nama Isolat	Zona Hambat (mm)
1	Isolat I1	9,02
2	Isolat I2	15,9
3	Isolat I3	Tidak ada zona hambat
4	Isolat I4	Tidak ada zona hambat
5	Isolat I5	Tidak ada zona hambat
6	Isolat I6	Tidak ada zona hambat
7	Isolat I7	Tidak ada zona hambat
8	Isolat I8	Tidak ada zona hambat
9	Isolat I10	Tidak ada zona hambat
10	Isolat I11	Tidak ada zona hambat
11	Isolat I12	Tidak ada zona hambat
12	Isolat I13	Tidak ada zona hambat
13	Isolat I14	Tidak ada zona hambat
14	Isolat I15	Tidak ada zona hambat
15	Isolat I17	Tidak ada zona hambat
16	Isolat I18	Tidak ada zona hambat
17	Isolat I19	Tidak ada zona hambat
18	Isolat I20	Tidak ada zona hambat
19	Isolat I21	Tidak ada zona hambat
20	Isolat I22	Tidak ada zona hambat
21	Isolat I23	Tidak ada zona hambat
22	Isolat I24	Tidak ada zona hambat
23	Isolat I25	Tidak ada zona hambat
24	Isolat I26	Tidak ada zona hambat
25	Isolat I27	Tidak ada zona hambat
26	Isolat N1	Tidak ada zona hambat
27	Isolat N2	Tidak ada zona hambat
28	Isolat N4	Tidak ada zona hambat
29	Isolat N5	Tidak ada zona hambat
30	Isolat N6	Tidak ada zona hambat
31	Isolat N7	Tidak ada zona hambat
32	Isolat N8	Tidak ada zona hambat
33	Isolat N9	Tidak ada zona hambat
34	Isolat N10	Tidak ada zona hambat
35	Isolat N11	Tidak ada zona hambat
36	Isolat N14	Tidak ada zona hambat

**Hasil uji biokimia bakteri endofit yang potensial sebagai antibakteri**

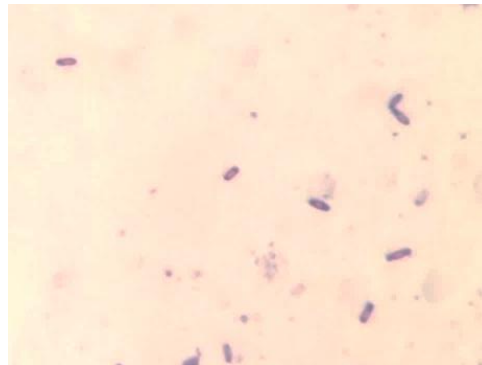
Pengujian biokimia yang dilakukan terhadap isolat I2 yaitu uji kebutuhan oksigen, uji motilitas, uji glukosa, uji laktosa, uji manitol, uji maltosa, uji sakarosa, uji indol, uji simon sitrat, uji oksidase dan uji katalase (**Tabel 5**). Isolat I2 memiliki karakteristik mirip dengan *Bacillus* yang berbentuk batang, dapat berupa gram positif ataupun negatif, ada yang bersifat motil atau nonmotil (Logan *et al.*, 2015). Genus ini mampu menghasilkan endospora ketika kondisi ekstrim seperti kekeringan, sinar UV, suhu, larutan asam dan basa kuat, zat oksidatif, dan tekanan hidrostatik yang ekstrim (Wolska *et al.*, 2007).

**Tabel 5.** Hasil uji biokimia bakteri endofit isolat I2

No	Uji Biokimia	Isolat I2
1.	Kebutuhan Oksigen	Aerob
2.	Motilitas	-
3.	Glukosa	+
4.	Laktosa	-
5.	Manitol	+
6.	Maltosa	-
7.	Sakarosa	+
8.	Indol	-
9.	Urea	+
10.	Simon Sitrat	+
11.	KIA (TSIA)	K/A
12.	Oksidase	+
13.	Katalase	+
14.	Glukosa OF	N/F

Uji pewarnaan endospora diperlukan untuk memastikan bahwa isolat I2 merupakan *Bacillus*. Penggunaan *carbol fuchsin* yang mengandung fenol membantu melarutkan dinding sel bakteri. Pemanasan dilakukan untuk melelehkan lilin yang melapisi endospora dan agar zat pewarna dapat masuk. Ketika suhu menurun lilin akan kembali membeku dan zat warna akan terperangkap dalam

lapisan tersebut sedangkan sel vegetatifnya akan terwarnai zat kedua yaitu *methylene blue* (**Gambar 3**).



**Gambar 3.** Pewarnaan spora isolat I2 perbesaran 1000x

*Bacillus* selain mampu menghasilkan endospora, juga menghasilkan enzim katalase. Genus ini bersifat oksidase positif maupun negatif. Biasanya ditemukan di tanah, lingkungan yang terkontaminasi oleh tanah baik secara langsung maupun tidak, serta juga dapat ditemukan pada air dan makanan (Logan *et al.*, 2015). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rafat *et al.* (2012) bahwa ditemukan bakteri *Bacillus gibsoni* yang diisolasi dari tanaman pegagan (*C. asiatica*).

#### ***Hasil uji metabolit sekunder bakteri endofit yang potensial sebagai antibakteri***

Uji metabolit sekunder dilakukan terhadap supernatan isolat I2 untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan. Isolat I2 menghasilkan senyawa metabolit alkaloid, saponin, dan terpenoid yang bersifat sebagai antibakteri (**Tabel 6**). Senyawa metabolit inilah yang berperan dalam membentuk zona hambat pada skrining isolat bakteri I2 terhadap *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit I2 mampu menghasilkan senyawa yang serupa dengan yang dihasilkan tanaman pegagan (*C. asiatica*) yaitu saponin, triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid (Schulz & Boyle, 2006; Bermawie *et al.*, 2008).

Bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang serupa dengan tanaman inangnya (Schulz & Boyle, 2006). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Julianti, 2008). Mekanisme terpenoid

### **Kurniawan *et al.*, Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit...**

sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membran sel bakteri. Kerusakan membran sel terjadi ketika senyawa aktif antibakteri bereaksi dengan sisi aktif dari membran atau dengan melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya.

**Tabel 6.** Hasil uji senyawa metabolit sekunder bakteri endofit isolat I2

No.	Golongan Senyawa Metabolit Sekunder	I2	Kontrol (-)
1.	Alkaloid	Positif (+)	Negatif (-)
2.	Flavonoid	Positif (-)	Negatif (-)
3.	Fenol	Negatif (-)	Negatif (-)
4.	Saponin	Positif (+)	Negatif (-)
5.	Terpenoid	Positif (+)	Negatif (-)
6.	Steroid	Negatif (-)	Negatif (-)

Senyawa saponin sebagai antibakteri dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri *et al.*, 2013). Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Julianti, 2008).

*Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, dan *B. licheniformis* yang diisolasi dari tanaman *Pinellia ternata* memiliki kemampuan menghasilkan alkaloid (guanosisin dan inosin) yang serupa dengan tanaman inangnya pada media *broth* fermentasi (Singh *et al.*, 2017). Sedangkan pada penelitian yang lainnya juga disebutkan bahwa *B. subtilis* memiliki peluang dan prospek yang bagus untuk biosintesis terpenoid dikarenakan bakteri ini banyak memproduksi isoprena secara alami. Isoprena yang dihasilkan *B. subtilis* melalui proses metabolik diubah menjadi senyawa metabolit terpenoid (Guan *et al.*, 2015).

Bakteri endofit yang diisolasi dari daun pegagan (*C. asiatica*) pada penelitian ini memiliki potensi aktivitas untuk menghambat *S. aureus* berdasarkan adanya senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, dan terpenoid. Kemampuan penghambatan tersebut ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar cakram.

**KESIMPULAN**

Isolat bakteri endofit dari daun pegagan (*C. asiatica*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat sebesar 9,02 pada I1 mm dan 15,9 mm pada I2. Isolat I2 yang memiliki kemiripan dengan *Bacillus* memiliki aktivitas antibakteri yang paling potensial untuk menghambat *S. aureus* berdasarkan karakter morfologi koloni, morfologi sel, dan aktivitas biokimia yang menghasilkan metabolik sekunder berupa alkaloid, saponin dan terpenoid.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdulla, D. (2009). Plasmids profiles, antibiotic and heavy metal resistance incidence of endophytic bacteria isolated from grapevine (*Vitis inifera* L.). *African Journal of Biotechnology*, 8(21), 5873–82. <https://doi.org/10.5897/AJB09.1391>
- Adityawarman. (2019). Isolasi, identifikasi dan aktivitas antibakteri bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Jurnal Cerebellum*, 5(4B), 1569-1582. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/JC/article/view/44821/75676588266>
- Anjum, N. & Chandra, R. (2015). Endophytic bacteria: Optimizaton of isolation procedure from various medicinal plants and their preliminary characterization. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(4), 233-238. <https://doi.org/6586-24211-1-PB>
- Ayyagari, A. & Sushma, G. (2009). Detection of antimicrobial resistance in common gram negative and gram positive bacteria encountered in infectious diseases – an update. *Indian Council of Medical Research Bulletin*, 39(1–3), 1–20. <https://doi.org/ISSN 0377-4910>
- Bermawie, N., Purwiyanti, S. & Mardiana. (2008). Keragaan sifat morfologi, hasil dan mutu plasma nutfah pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 19(1), 1-17. <http://dx.doi.org/10.21082/bullittro.v19n1.2008.%25p>
- Bhore, S. J., & Sathisha, G. (2010). Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds : crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(4), 345–52. [https://www.idosi.org/wjas/wjas6\(4\).htm](https://www.idosi.org/wjas/wjas6(4).htm)
- Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2004). Mikrobiologi kedokteran; Jawetz, Melnick & Adleberg's , Edisi 23. Jakarta: EGC.
- Cappuccino, J. G. & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A laboratory manual. 10th*

- Delbò, M. & Calapai, G. (2010). Assessment report on *Centella asiatica* (L.) urban herba. *European Medicines Agency Science Medicine Health*, 44, 1-44. <https://doi.org/10.1109/MWSYM.2007.380531>
- Guan, Z., Xue, D., Abdallah, I. I., Dijkshoorn L., Setroikromo, R., Lv, G., & Quax, W. J. (2015). Metabolic engineering of *Bacillus subtilis* for terpenoid production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 19(22), 9395–9406. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6950-1>
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (2000). *Bergey's manual of determinative microbiology*, 9th Edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology*, 1–23. <https://www.asmscience.org/docserver/fulltext/education/protocol/protocol.3189.pdf?expires=1614643573&id=id&accname=guest&checksum=670B88756452CA10BCBAD3B66714DBA8>
- Julianti, F. R. (2008). Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*. <https://journal.uii.ac.id/JKKI/article/view/543>
- Logan, N. A. & De Vos, P. (2015). *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria: Genus Bacillus*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00530>.
- Madduluri, S., Rao, K. B., & Sitaram, B. (2013). In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 679–84. <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol5Suppl4.htm>
- Muharni, F., Oktaruliza, M., & Elfita. (2014). Antibacterial and antioxidant activity testing of pyranon derivated compound from endophytic fungi *Penicillium* sp. of kunyit putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe). *Traditional Medicine Journal*, 19(3), 107–12. <https://doi.org/10.7717/peerj.5425>.
- Permenkes, Republik Indonesia. (2011). *Pedoman umum penggunaan antibiotik*. Kementerian Kesehatan RI. Indonesia.
- Prihatiningtias, Widyati, & Wahyuningsih, M. S. H. (2011). Prospek mikroba endofit sebagai sumber senyawa bioaktif (Skripsi, Universitas Gadjah Mada). Retrieved from <https://docplayer.info/33637397-Prospek-mikroba-endofit-sebagai-sumber-senyawa-bioaktif-prospect-of-endophyte-as-a-bioactive-compound-source.html>
- Pumipuntu, N., Kulpeanprasit, S., Santajit, S., Tunyong, W., & Kong-ngoen, T. (2017). Screening method for *Staphylococcus aureus* identification in

---

**Kurniawan *et al.*, Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit...**

subclinical bovine mastitis from dairy farms. *Veterinary World*, 10, 721–26.  
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.721-726>

- Rafat, A., Philip, K., & Muniandy, S. (2012). A novel source of bioactive compounds: endophytic bacteria isolated from *Centella asiatica*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 6(1): 11–20.  
[https://microbiologyjournal.org/archive\\_mg/jmabsread.php?snoid=741&month=&year=](https://microbiologyjournal.org/archive_mg/jmabsread.php?snoid=741&month=&year=)
- Schulz, B. J. E., & Boyle, C. J. C. (2006). *What are endophytes. In microbial root endophytes*, edited by Schulz, B. J. E., Boyle, C. J. C., and Sieber, T. N. Berlin: Springer-Verlag.
- Singh, M., Kumar, A., Singh, R., & Pandey, K. D. (2017). Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. *Biotech*, 7(5), 315.  
<https://doi.org/10.1007/s13205-017-0942-z>
- Staf Pengajar FK UI. (2010). *Buku ajar mikrobiologi kedokteran, Edisi Revisi*. Tangerang: Binapura Aksara Publisher.
- Sulistiyani, Ardyati, T. & Winarsih, S. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of endophyte bacteria associated with *Curcuma longa* rhizome. *The Journal of Experimental Life Science*, 6(1), 45–51.  
<https://doi.org/10.21776/ub.jels.2016.006.01.11>
- Sundaryono, A. (2011). Penggunaan batang tanaman betadin (*Jatropha multifida* L.) untuk meningkatkan jumlah trombosit pada *Mus musculus*. *Media Medika Indonesia*, 45(2), 1–5. <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/mmi/article/view/3017>
- Tchaou, W. S. (1996). Inhibiting of pure culture of oral bacteria by root canal filling materials. *Pediatric Dentistry*, 18(7), 444–49.  
[https://www.researchgate.net/publication/14238061\\_Inhibition\\_of\\_pure\\_cultures\\_of\\_oral\\_bacteria\\_by\\_root\\_canal\\_filling\\_materials](https://www.researchgate.net/publication/14238061_Inhibition_of_pure_cultures_of_oral_bacteria_by_root_canal_filling_materials)
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–61. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2010). *Microbiology: An introduction. 10th edition*. San Francisco: Benjamin Cummings.
- Utami, D. P. (2018). Isolasi, identifikasi dan aktivitas antibakteri bakteri endofit daun kemangi (*Ocinum basilicum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 4(1), 4-31.  
<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/view/25672/75676576756>
- Vega, F. E., Pava-Ripoll, M., Posada, F., & Buyer, J. S. (2005). Endophytic bacteria in *Coffea arabica* L. *Journal of Basic Microbiology*, 45(5), 371–80.  
<https://doi.org/10.1002/jobm.200410551>

**Kurniawan *et al.*, Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit...**

---

Vendepitte, J. J., Engbaek, K., Rohmer, P., Piot, P., & Heuck, C. C. (2010). *Prosedur laboratorium dasar untuk bakteriologis klinis. 2nd edition.* Jakarta: EGC.

Waluyo, L. 2008. *Teknik dan metode dasar dalam mikrobiologi.* Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.

Wolska, K. I., Grudniak, A. M., & Kraczkiewicz-dowjat, A. (2007). Genetic and physiological regulation of bacterial endospore development. *Polish Journal of Microbiology*, 56(1), 11-17. <http://www.pjmonline.org/pjm-2007-vol-56/>