

**KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA
DARI FUNGI ENDOFIT AKAR TANAMAN PEGAGAN
(*CENTELLA ASIATICA* (L.) URBAN.) TERHADAP
ESCHERICHIA COLI DAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***



APRILLIA KAROLIN LULASTO

2443012169

**PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA**

2015

**KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI
FUNGSI ENDOFIT AKAR TANAMAN PEGAGAN (*CENTELLA
ASIATICA* (L.) URBAN.) TERHADAP
ESCHERICHIA COLI DAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya

OLEH :

APRILLIA KAROLIN LULASTO
2443012169

Telah disetujui pada tanggal 21 Desember 2015 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing



Lisa Soegianto, S.Si, M.Sc, Apt.
NIK. 241.07.0609

Mengetahui
Ketua Penguji,



Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt.
NIK. 241.98.0351

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul **Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba dari Fungi Endofit Akar Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L.)Urb.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas dengan Undang-undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 21 Desember 2015



Aprillia Karolin Lulasto
2443012169

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
Adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri
Apabila dikemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
Merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
Menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
Dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh

Surabaya, 21 Desember 2015



Aprillia Karolin Lulasto
2443012169

ABSTRAK

KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI FUNGI ENDOFIT AKAR TANAMAN PEGAGAN (*CENTELLA ASIATICA* (L.) URBAN.) TERHADAP *ESCHERICHIA COLI* DAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Aprillia Karolin Lulasto
2443012169

Sumber baru bahan antimikroba yang banyak dieksplorasi adalah fungi endofit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik fungi endofit yang diisolasi dari akar tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) serta menguji aktivitas antimikroba terhadap *Escherchia coli* ATCC 8739 (*E coli*) dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (*Staph aureus*). Isolasi fungi endofit dilakukan dengan cara penanaman langsung bagian akar segar pegagan yang telah dilukai pada media MEA (*Malt Extract Agar*) selama ± 7 hari. Isolat fungi endofit dikarakterisasi dan skrining terhadap *E coli* dan *Staph aureus*. Kemudian fungi endofit difermentasi dalam media PDY (*Potatoes Dextrose Yeast*). Supernatan dan biomassa yang telah dipisahkan dengan cara disentrifugasi kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Fraksi etil asetat dari supernatan endofit akar pegagan F (F-S-EA) diuji aktivitas antimikrobanya dengan metode difusi cakram (10.000 $\mu\text{g/ml}$) dan diukur diameter daerah hambat pertumbuhan rata-rata, yaitu 12,88 mm terhadap *E coli* dan 14,03 mm terhadap *Staph aureus*. Analisa kualitatif dari fraksi bioaktif ditentukan dengan KLT [fase gerak *n*-hexana : etanol 96% (3:7)] dan penampak noda. Hasil menunjukkan positif golongan senyawa alkaloid (*Rf* 0,76) dan flavonoid (*Rf* 0,81). Fungi endofit yang memiliki senyawa bioaktif sebagai antimikroba memiliki koloni berfilamen, berwarna hijau dengan tipe permukaan seperti serbuk, pengamatan mikroskopis fungi endofit memiliki spora, sporangiofor, fialid dan vesikel. Hasil uji biokimia menunjukkan fungi endofit ini memiliki enzim amilase yang diduga merupakan genus *Aspergillus sp.*

Kata kunci: fungi endofit, akar pegagan, fermentasi, fraksinasi, daerah hambat pertumbuhan.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY ASSAY OF ENDOPHYTIC FUNGI OF GOTU KOLA (*Centella asiatica* (L.) Urban.) ROOT AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus*

Aprillia Karolin Lulasto
2443012169

Endophytic fungal as a new sources of antimicrobial agents is widely explored. The aims of the study was to determine the characteristics of endophytic fungal isolated from the roots of plants gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urb.) and assay the antimicrobial activity against *Escherichia coli* ATCC 8739 (*E coli*) and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (*Staph aureus*). Isolation of endophytic fungal was done by direct planting the roots of fresh gotu kola which has been cut in MEA medium (Malt Extract Agar) for ± 7 days. Endophytic fungal isolates were characterized and screened an antimicrobial activity againts *E coli* and *Staph aureus*. Then the endophytic fungal fermented in a PDY medium (Potatoes Dextrose Yeast). The supernatant and biomass which has been separated by centrifugation then fractionated with *n*-hexane and ethyl acetate. Ethyl acetate supernatant fraction of gotu kola root endophyte F (F-S-EA) was tested of its antimicrobial activity by disc diffusion method (10.000 ug/mL) and obtained an average growth inhibition zone diameters were 12.88 mm againts *E coli* and 14.03 mm againts *Staph aureus*. Qualitative analysis of bioactive fraction was determined by TLC method [mobile phase *n*-hexane: ethanol 96% (3: 7)] and spray reagent. The results was showed the compound content was alkaloids ($R_f = 0,76$) and flavonoids ($R_f = 0,81$). Bioactive antimicrobial endophytic fungal has characteristics a filamentous colonies, green colour with powdery surface types, while microscopic observation it has spores, sporangiofor, phialides and vesicles. As a results of biochemical tests showed these endophytic fungi have amylase enzyme it was supposed to be the genus *Aspergillus sp.*

Keywords: endophytic fungal, gotu kola root, fermentation, fractionation, growth inhibition zone.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala limpahan berkat dan kasih-Nya, sehingga skripsi dengan judul “Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba dari Fungi Endofit Akar Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*” dapat terselesaikan, penyusunan skripsi ini untuk memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Sepanjang proses pelaksanaan dan penulisan skripsi ini, penulis mendapat banyak motivasi, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Dengan penuh ucapan syukur, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Orang tua (Agus Lulasto & Rita Mawarni) dan keluarga (Kedua nenek, Paman, Bibi, dan saudara-saudara: Adrian Lulasto, Aditya Rio, dll) yang telah memberikan doa dan motivasi.
2. Lisa Soegianto, S.Si, M.Sc, Apt selaku Penasihat Akademik dan Pembimbing tunggal atas ilmu, arahan, waktu, tenaga, dan pikiran yang diluangkan untuk penulis menyelesaikan penelitian.
3. Martha Ervina, S.Si, M.Si, Apt dan Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si selaku penguji I dan II yang telah memberikan saran dalam penelitian.
4. Martha Ervina, S.Si, M.Si, Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi, seluruh staff, dan seluruh dosen yang mengajar selama penulis mengikuti perkuliahan.
5. Kepala Laboratorium beserta para laboran Laboratorium Mikrobiologi Farmasi (Mas Rinanto) dan Formulasi dan Teknologi Bahan Alam (Mas Tri).

6. Tan Wee Chang, S.Farm., Apt yang telah memberikan dukungan, doa, semangat, waktu, dan tempat berbagi cerita.
7. Monika Putri, Mia Dwi Retno, Theresia Rosari, Inggrid Valentina, Ivana Valeria, Eva dan Evi Merdekawati selaku sahabat terbaik.
8. Devi Margaretha, S.Farm., Apt, Widya Paramita, S.Farm, Apt, Tirza, S.Farm, Apt, Aan, Nancy dan Raindy selaku keluarga rohani *Connect Group* P56, P21, P28 dan P12 Gereja Mawar Sharon Surabaya.
9. Teman-teman *Programme Alumni Menthorship* 2015.
10. Teman-teman *Endofiters*; Angela Violita, Kevin Widjaja, dan Anastasia Yessy.
11. Teman-teman angkatan 2012 yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Hipotesa Penelitian	6
1.5. Manfaat Penelitian	7
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 8
2.1. Tinjauan tentang Tanaman Pegagan.....	8
2.2. Tinjauan tentang Fungi Endofit	12
2.3. Tinjauan tentang Karakterisasi Fungi.....	16
2.4. Tinjauan tentang Fermentasi	17
2.5. Tinjauan tentang Pemisahan dan Fraksinasi.....	18
2.6. Tinjauan tentang Mikroba Uji	19
2.7. Tinjauan tentang Uji Aktivitas Antimikroba	30
2.8. Tinjauan tentang Antimikroba.....	33
2.9. Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	 37

BAB 3	METODE PENELITIAN	38
3.1.	Bahan Penelitian.....	38
3.2.	Variabel Penelitian	43
3.3.	Metode Penelitian.....	44
3.4.	Skema Kerja	50
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN	54
4.1.	Hasil Pemeriksaan Tanaman Pegagan.....	54
4.2.	Hasil Penanaman Akar Pegagan.....	56
4.3.	Hasil Isolasi Fungi Endofit.....	57
4.4.	Skrining Antimikroba dari Fungi Endofit.....	58
4.5.	Karakterisasi	60
4.6.	Fermentasi	63
4.7.	Pemisahan dan Fraksinasi.....	64
4.8.	Uji Aktivitas Antimiroba Metode Difusi Cakram	65
4.9.	Profil KLT	71
4.10.	Interpretasi Data	72
BAB 5	KESIMPULAN DAN SARAN	80
5.1.	Kesimpulan.....	80
5.2.	Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA.....		82
LAMPIRAN		88

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Surat Determinasi	86
B. Profil KLT Fraksi.....	87
C. Perhitungan Konsentrasi Fraksi	91
D. Tabel Perbandingan Fungi	92
E. Sertifikat <i>Escherichia coli</i>	96
F. Sertifikat <i>Staphylococcus aureus</i>	98

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Perbedaan beberapa sifat biokimia dari <i>Staphylococcus</i>	20
4.1. Hasil skrining aktivitas antimikroba dari fungi endofit	58
4.2. Hasil pemeriksaan makroskopis dan uji biokimia fungi endofit	60
4.3. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba dari Hasil Fraksinasi	69
4.4. Daerah Hambatan fraksi etil asetat dari supernatant AP-F ...	70
4.5. Hasil profil KLT setelah penyemprotan noda	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Tanaman pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	8
2.2. Struktur asiatikosida	11
2.3. Struktur madekakosida	12
2.4. Struktru Asam Asiatik (AA).....	12
2.5. Pembentukan metabolit primer dan sekunder	16
3.1. Kerangka Penelitian	50
3.2. Skema sterilisasi akar tanaman pegagan.....	51
3.3. Skema skrining fungi endofit yang potensi sbg antimikroba.....	52
3.4. Skema uji aktivitas antimikroba difusi cakram.....	53
4.1. Tanaman Pegagan dan akar tanaman Pegagan	54
4.2. Pengamatan mikroskopis akar pegagan.....	55
4.3. Sampling akar pegagan	56
4.4a. Inokulasi fungi endofit dari tanaman A	56
4.4b. Inokulasi fungi endofit dari tanaman B	56
4.4c. Kontrol air bilasan terakhir pada proses sterilisasi.....	57
4.5. Isolasi fungi endofit dari akar tanaman pegagan	57
4.6. Skrining fungi endofit terhadap <i>E.coli</i> dan <i>Staph aureus</i> ...	59
4.7. Hasil pengamatan uji biokimia fungi endofit	61
4.8. Hasil pengamatan mikroskopis fungi endofit	62
4.9. Fermentasi fungi endofit dalam PDY	63
4.10. Fermentasi pada <i>Rotator</i>	64
4.11. Hasil fraksinasi fungi endofit.....	65
4.12. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi AP-D	66
4.13. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi AP-E	67

4.14.	Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi AP-F	68
4.15.	Hasil Profil KLT dari Fraksi AP-F	72

