

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT DARI BATANG TUMBUHAN KAMBOJA PUTIH (*Plumeria acuminata* Ait)

Mila Nurul Hidayati, Nunung Yulia*, Nur Aji

Poltekkes Kemenkes Tasikmalaya, Jl. Cilolohan No 35 Kota Tasikmalaya

Email: nungyulia86@gmail.com

Received: 12 March 2019; Revised: April 2019; Accepted: April 2019; Available online: May 2019

ABSTRACT

*Endophytic bacteria is a bacteria found in the tissue's plant that does not provide an infection or a negative effect on its host plant. Endophytic bacteria can be found in various types of plants, especially plants that are often used as medicinal plants. One of them is Kamboja Putih (*Plumeria acuminata* Ait.) which has secondary metabolite such as alkaloids, flavonoids, tannins, and terpenoids. Endophytic bacteria can produce the same bioactive components as their host plants, so it can potentially be developed in the world of health. The purpose of this research was to determine the presence of endophytic bacteria and characteristic isolated from *P.acuminata* stem. This is an explorative research, using an isolation method to get endophytic bacteria. *P.acuminata* stem is sterilized and inoculated on Nutrient Agar, and then it is incubated until the isolate is obtained. To know the characteristic of endophytic bacteria, macroscopic characteristics were observed such as shape, color, edges and surface of colony and microscopic characteristics from endophytic bacteria was observed by Gram stain. Moreover, to know the characteristics of secondary metabolites that exist in endophytic bacteria it has to be done phytochemical screening to the obtained isolate, include test of flavonoids, tannins, triterpenoids, alkaloids and saponins. The results of the research showed that Kamboja has endophytic bacteria, that are endophytic bacterial isolates E1 and E2. The characteristics of both endophytic bacterial isolates are round, whitish, intact edges and flat surfaces of the colonies. The types of both bacterial isolates E1 and E2 are Gram positive and coccus-shaped bacteria. Phytochemical screening tests show that endophytic bacterial isolates can produce alkaloids both on ordinary fermentation medium and those already given precursors of acetic acid*

Keywords: *Plumeria acuminata* Ait, endophytic bacteria, isolation and characterization endophytic bacteria.

ABSTRAK

Bakteri endofit merupakan bakteri yang terdapat pada jaringan tumbuhan yang tidak memberikan infeksi atau efek negatif pada tumbuhan inangnya. Bakteri endofit dapat ditemukan di berbagai jenis tumbuhan, terutama tumbuhan yang sering dijadikan tanaman obat. Salah satunya adalah kamboja putih (*Plumeria acuminata* Ait) yang memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid. Bakteri endofit dapat menghasilkan komponen bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan dalam dunia kesehatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya bakteri endofit dan karakteristiknya dari hasil isolasi batang tumbuhan kamboja putih. Penelitian ini bersifat eksploratif dengan metode isolasi untuk mendapatkan bakteri endofit. Batang kamboja putih disterilisasi kemudian diinokulasi pada media *Nutrient Agar* dan diinkubasi hingga didapatkan isolat. Untuk mengetahui karakteristik bakteri endofit maka dilakukan pengamatan karakteristik secara makroskopik berupa bentuk, warna, tepi dan permukaan koloni serta karakteristik secara mikroskopik berupa pewarnaan Gram. Selain itu dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui metabolit sekunder yang ada pada bakteri endofit melalui uji flavonoid, tanin, triterpenoid, alkaloid dan saponin.

Hasil: Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada batang kamboja terdapat bakteri endofit yaitu isolat bakteri endofit E1 dan E2. Karakteristik dari kedua isolat bakteri endofit tersebut yaitu bentuk koloni bulat, warna koloni keputihan, tepi koloni utuh dan permukaannya rata, termasuk bakteri Gram positif yang berbentuk kokus. Penapisan fitokimia menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri endofit dapat menghasilkan alkaloid baik pada media fermentasi biasa maupun yang telah diberi prekursor berupa asam asetat.

Kata kunci: *Plumeria acuminata* Ait, bakteri endofit, isolasi dan karakterisasi bakteri endofit.

PENDAHULUAN

Kamboja Putih (*Plumeria acuminata* Ait) merupakan tanaman yang biasa digunakan sebagai obat, tumbuhan ini banyak mengandung zat kimia yang tersebar diseluruh bagian tumbuhan terutama bagian batang. Batang kamboja mengandung getah yang mengandung alkaloid, tanin, flavonoid dan triterpenoid (Heyne, 1987). Kamboja memiliki banyak manfaat untuk kesehatan, Wahyudi dan Sukarjati (2013) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat getah kamboja putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 25%. Penelitian yang dilakukan Gupta *et al.*, (2006) melaporkan bahwa ekstrak kamboja juga memiliki aktivitas antiinflamasi.

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup didalam jaringan tanaman dan berkoloni pada daerah ruang interseluler dan sistem vaskular. Menurut Strobel dan Daisy (2003) dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang terdiri dari bakteri dan jamur.

Bakteri endofit dapat berasosiasi dengan tanaman, membantu metabolisme tanaman inang dan menghasilkan metabolit sekunder yang mirip dengan senyawa tanaman inangnya. Bakteri endofit dapat menghasilkan sejumlah senyawa yang berkhasiat sebagai antitumor atau antikanker, antidiabet dan antiinflamasi (Kumala, 2014), antibiotika, antivirus, antimalaria, antioksidan dan immunosupresif (Radji, 2005).

Berdasarkan pertimbangan tersebut endofit dapat menjadi sumber berbagai metabolit sekunder baru yang berpotensi untuk dikembangkan dalam bidang medis, pertanian dan industri (Prasetyoputri dan Atmosukarto, 2006). Sampai sekarang, pemanfaatan mikroba endofit masih sedikit, sehingga perlu dikembangkan terutama pada tumbuhan kamboja. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya bakteri endofit dan karakteristiknya dari hasil isolasi batang tumbuhan kamboja putih.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan November 2017 sampai dengan bulan Juni 2018, bertempat di Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Tasikmalaya.

a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan autoklaf, cawan petri, jarum ose, timbangan analitik, pisau, bisturi steril, pinset, inkubator, bunsen, mikroskop, jangka sorong, penggaris, kaca objek, *cover glass*, *hotplate*, evaporator, plat tetes, kaca arloji batang pengaduk dan alat-alat gelas yang ada di laboratorium.

Bahan yang digunakan yaitu, batang tumbuhan kamboja putih, alkohol desinfektan, alkohol 96 %, *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth*, FeCl_3 , pereaksi Mayer's, Dragendorff, HCl, amil alkohol, gelatin, kloroform, asam sulfat, amoniak, aquadest, Natrium Hipoklorit 5,25%, aquadest steril, kristal violet, safranin, larutan iodin, asam asetat, asam amino (*aminofluid*), tali, kertas pembungkus, kertas saring, kain kasa, plastik tahan panas, plastik wrap, dan lisol.

b. Isolasi Bakteri Endofit

Potong batang kamboja putih, kemudian cuci dengan air mengalir lalu kupas kulit batang tersebut. Setelah itu dilakukan sterilisasi dengan merendam secara berturut-turut di dalam alkohol 70% selama 1 menit, Natrium Hipoklorit (NaOCl) 5,25% selama 5 menit, dan alkohol 70% selama 30 detik. Lalu bilas dengan air steril selama 1 menit, bilasan dengan air steril diulang sebanyak dua kali. Batang yang telah steril di potong secara melintang dan membujur dengan pisau steril secara aseptis lalu diletakan di atas *Nutrient Agar* kemudian diinkubasi selama 2-5 hari pada suhu 37°C. Koloni bakteri yang didapat diisolasikan ke dalam *Nutrient Agar* dan diinkubasi 24 jam dengan suhu 37°C.

c. Karakterisasi Bakteri Endofit

Karakteristik bakteri endofit secara makroskopik dilakukan dengan cara mengamati bentuk koloni, warna koloni, permukaan koloni dan tepi koloni dari masing-masing isolat bakteri endofit. Pengamatan karakteristik bakteri endofit secara makroskopik dilakukan dengan cara perwarnaan Gram, isolat bakteri endofit diambil dengan jarum ose secara aseptis dan disuspensikan dengan aquades yang ada di atas gelas objek. Preparat difiksasi di atas api bunsen sampai kering. Preparat ditetesi dengan kristal ungu, didiamkan selama 1 menit dan dicuci dengan air lalu keringkan. Preparat ditetesi dengan iodine, diamkan selama 1 menit, dan dicuci dengan air lalu keringkan. Preparat ditetesi dengan alkohol 96% sampai warna hilang. Preparat ditetesi dengan safranin dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air lalu dikeringkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop uji Gram positif jika berwarna ungu, uji Gram negatif jika berwarna merah (Hadioetomo, 1985).

d. Fermentasi Bakteri Endofit

Isolat yang telah dimurnikan diambil lalu masukan ke dalam tabung reaksi yang berisi *Nutrient Broth* kurang lebih 10 mL kemudian diinkubasi selama lima hari dengan suhu 37°C. Fermentasi bakteri endofit dengan senyawa prekursor asam asetat yaitu asam asetat 6 mL ditambahkan dalam 300 mL media *Nutrien Broth* kemudian media dituangkan ke tabung reaksi lalu disterilisasi dengan menggunakan autoklaf. Fermentasi asam amino dilakukan dengan cara mengambil *aminofluid* sebanyak 3 mL dengan spuit steril kemudian dicampurkan dengan 3 mL *Nutrient Broth* yang telah disterilkan. Setelah media siap lalu dilakukan inokulasi isolat bakteri ke masing-masing media kemudian diinkubasi selama lima hari pada suhu 37°C.

e. Penapisan Fitokimia Hasil Fermentasi Bakteri Endofit

1) Uji Alkaloid

Sampel ditambahkan amonia encer, tambahkan kloroform dan disaring. Filtrat ditambahkan H₂SO₄ dan dihomogenkan. Pisahkan antara lapisan asam (atas) dan kloroform (bawah). Lapisan asam dibagi menjadi dua bagian, masing-masing diberikan pereaksi Mayer's dan pereaksi Dragendorff. Hasil positif terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer's dan hasil positif untuk Dragendorff jika terbentuk endapan jingga coklat (Depkes, 1995).

2) Uji Saponin

Sampel ditambahkan dengan 10 mL air panas kemudian didinginkan. Larutan uji dikocok vertikal selama 10 detik, kemudian diamkan selama 10 menit. Terbentuk buih setinggi 1 hingga 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang (Depkes, 1995).

3) Uji Tanin

Sampel ditambahkan dengan air. Kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Filtrat disaring lalu tambahkan gelatin 10% jika terbentuk endapan putih maka ekstrak mengandung tanin (Farnsworth, 1966).

4) Uji Polifenol

Sampel dilarutkan dalam aquades dan dipanaskan. Larutan didinginkan dan disaring. Filtrat direaksikan dengan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan larutan berwarna biru tua atau hijau kehitaman.

5) Uji Terpenoid dan Steroid

Sampel dilarutkan dalam kloroform kemudian keringkan di atas penangas air. Residu yang didapat ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard. Hasil positif terpenoid larutan akan berwarna merah, dan warna hijau-biru adalah steroid.

6) Uji Flavonoid

Sampel dilarutkan dalam alkohol lalu panaskan di atas penangas air. Setelah itu tambahkan serbuk magnesium dan asam klorida pekat. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Depkes, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penapisan fitokimia terhadap batang kamboja bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa batang kamboja mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, tanin, triterpenoid, flavonoid, dan

polifenol (Tabel 1). Hal ini sesuai dengan pernyataan Heyne (1987) bahwa pada batang kamboja terdapat getah yang mengandung alkaloid, tanin, flavonoid dan triterpenoid.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia batang kamboja

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil Skrining
Alkaloid	Dragendorff	+
	Mayer	-
Saponin	Air	-
Tanin	Gelatin	+
Triterpenoid	Lieberman-Burchard	+
Steroid	Lieberman-Burchard	-
Flavonoid	Mg+HCl pekat	+
Polifenol	FeCl ₃	+

Hasil isolasi bakteri endofit dari batang tumbuhan kamboja putih didapat dua isolat bakteri endofit yaitu isolat bakteri E1 dan E2. Bakteri E1 adalah isolat bakteri dari batang melintang sedangkan E2 adalah isolat bakteri dari batang membujur.

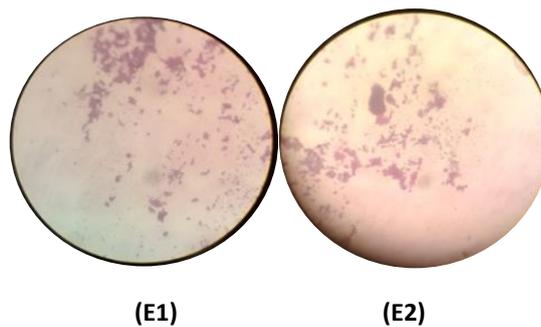
Proses awal untuk mendapatkan isolat bakteri endofit yaitu sterilisasi terhadap batang tumbuhan kamboja putih dengan menggunakan alkohol desinfektan, natrium hipoklorit 5,25% dan air steril. Penggunaan alkohol desinfektan dan natrium hipoklorit bertujuan untuk dekontaminasi permukaan batang kamboja. Batang kamboja yang telah ditanam pada media diinkubasi selama 2-5 hari pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi selama tiga hari, bakteri endofit mulai terlihat tumbuh disekitar batang kamboja putih yang ditanam pada media.

Batang kamboja yang telah ditanam pada media memperlihatkan adanya bakteri endofit yang tumbuh disekitar batang. Masing-masing isolat bakteri endofit kemudian ditanam kembali sampai memperoleh koloni tunggal.

Karakterisasi yang diamati pada isolat bakteri endofit meliputi karakteristik secara mikroskopik dan makroskopik. Karakteristik secara makroskopik pada kedua isolat bakteri endofit terlihat mirip. Bentuk koloni keduanya bulat, warna koloni keputih-putihan, tepi koloni utuh serta permukaan koloninya rata (Gambar 1).



Karakteristik secara mikroskopik dapat dilakukan dengan cara pewarnaan Gram. Adapun hasil yang didapat bahwa kedua isolat bakteri endofit E1 dan E2 merupakan bakteri berbentuk kokus dan termasuk bakteri Gram positif karena isolat bakteri endofit tersebut mempertahankan warna ungu setelah ditetesi safranin (Gambar 2).. Hal ini sesuai dengan Pratiwi (2008) yang menyatakan bahwa bakteri yang tetap berwarna ungu digolongkan ke dalam Gram positif, sedangkan bakteri yang berwarna merah digolongkan ke dalam Gram negatif.



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram perbesaran 400x

Isolat bakteri endofit difermentasi dengan menggunakan media cair yaitu *Nutrien Broth*. Produk metabolit sekunder mikroba endofit dapat diperoleh dari hasil fermentasi. Metode fermentasi yang digunakan yaitu fermentasi metode diam. Penapisan fitokimia dilakukan setiap hari mulai dari hari pertama hingga hari kelima. Hasil penapisan fitokimia pada fermentasi hari pertama hingga hari keempat tidak memberikan hasil positif terhadap semua pengujian. Pembentukan metabolit sekunder pada isolat bakteri endofit batang kamboja dimulai pada hari kelima inkubasi. Pada hari kelima inkubasi isolat bakteri endofit E1 memberikan hasil positif terhadap pengujian alkaloid dengan pereaksi Dragendorff yang ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga. Hal ini sesuai dengan Harborne (1987) yang menyatakan bahwa hasil positif pemeriksaan alkaloid terdapat endapan berwarna jingga. Sedangkan untuk pengujian senyawa metabolit sekunder lainnya tidak memberikan hasil positif (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia tanpa prekursor pada hari kelima

Metabolit sekunder	Pereaksi	E1	E2
Alkaloid	Dragendorff	+	-
	Mayer	-	-
Saponin	Air	-	-
Tanin	Gelatin	-	-
Triterpenoid	Lieberman-Burchard	-	-
Steroid	Lieberman-Burchard	-	-
flavonoid	Mg+HCl pekat	-	-
Polifenol	FeCl ₃	-	-

Keterangan:

E1: Isolat bakteri dari batang melintang

E2: Isolat bakteri dari batang membujur

Sintesis metabolit sekunder dimulai saat beberapa zat gizi dalam medium pertumbuhan mikroorganisme telah habis. Keterbatasan zat gizi tersebut menyebabkan terakumulasinya inducer enzim metabolit sekunder dan gen-gen untuk sintesis metabolit sekunder (Kumala, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian, beberapa senyawa metabolit sekunder masih belum teridentifikasi dengan jelas sehingga diperlukan suatu senyawa prekursor. Menurut Pratiwi (2008) senyawa prekursor diduga dapat meningkatkan dan mengatur produksi metabolit sekunder. Senyawa prekursor yang digunakan dalam penelitian ini yaitu asam asetat dan asam amino. Penapisan fitokimia dilakukan pada hari kelima berdasarkan hasil penapisan fitokimia sebelumnya.

Berdasarkan data yang didapat pada media fermentasi yang diberi asam asetat positif mengandung alkaloid, hal ini ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga pada masing-masing isolat baik E1 maupun E2. Terbentuknya alkaloid pada media fermentasi yang diinduksi dengan asam asetat terjadi karena asam asetat dapat menghasilkan asam amino alifatik yang membentuk alkaloid, hal ini sesuai dengan Hanani (2014) yang menyatakan bahwa asam amino alifatik (dari asam asetat) dan atau asam amino aromatik (dari asam sikimat) menjadi prekursor berbagai senyawa yang mengandung unsur nitrogen.

Senyawa metabolit sekunder lainnya yaitu terpenoid, steroid dan fenol memberikan hasil negatif pada penapisan fitokimia media fermentasi yang telah ditambahkan prekursor asam asetat. Prekursor lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu asam amino. Asam amino merupakan prekursor untuk alkaloid. Asam amino yang digunakan yaitu aminofluid yang mengandung diantaranya L-lisin, L-triptofan, L-fenilalanin, L-histidin, L-tirosin dan kandungan asam amino lainnya.

Setelah media fermentasi dinkubasi selama lima hari maka dilakukan penapisan fitokimia meliputi alkaloid dan polifenol. Adapun hasilnya pada masing-masing sampel isolat bakteri endofit dan blanko yang berisi media fermentasi membentuk endapan berwarna jingga setelah direaksikan dengan pereaksi Dragendorff.

Pembentukan endapan pada blanko media fermentasi dikarenakan pereaksi Dragendorff dapat bereaksi dengan beberapa nonalkaloid meskipun kepekaan terhadap alkaloid sekitar sepuluh kalinya (Robinson, 1995). Media fermentasi yang mengandung protein akan bereaksi dengan adanya logam dan membentuk endapan, hal sesuai dengan Aisjah (1990) yang menyatakan bahwa protein dapat mengendap dalam garam berkonsentrasi tinggi, logam-logam berat dan alkohol. Sehingga kemungkinan senyawa yang mengendap tersebut adalah protein. Sedangkan untuk polifenol, isolat bakteri endofit yang telah diberi pereaksi FeCl₃ memberikan hasil negatif (Tabel 3).

Hasil karakterisasi isolat bakteri endofit E1 dan E2, kedua isolat bakteri endofit tersebut memiliki karakteristik yang hampir sama baik karakteristik secara mikroskopik, makroskopik maupun metabolit sekunder yang dihasilkannya. sehingga kemungkinan kedua isolat bakteri endofit tersebut merupakan bakteri endofit yang sama.

Tabel 3. Hasil penapisan fitokimia dengan prekursor

Metabolit sekunder	Prekursor asam asetat			Prekursor asam amino		
	E1	E2	Blanko	E1	E2	Blanko
Alkaloid	+	+	-	+	+	+
Polifenol	-	-	-	-	-	-
Terpenoid	-	-	-	-	-	-
Steroid	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

E1: Isolat bakteri dari batang melintang

E2: Isolat bakteri dari batang membujur

KESIMPULAN

Batang kamboja (*Plumeria acuminata* Ait) yang telah diisolasi terdapat isolat bakteri endofit. Karakterisasi isolat bakteri endofit tersebut yaitu bentuk koloni bulat, warna koloni keputih-putihan, tepi koloni utuh serta permukaan koloninya rata, jenis bakteri Gram positif dengan bentuk kokus dan menghasilkan metabolit sekunder berupa alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisjah, Girinda., 1990, *Biokimia I*, Gramedia, Jakarta.
- Depkes R.I., 1995, *Materia medika Indonesia VI*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Farnsworth, N. R., 1966, *Biological and phytochemical screening of plants*, American Pharmaceutical Association, USA. 225-276.
- Gupta, M., Mazumder, U.K., Gomathi, P., and Selvan, V.T, 2006, Antiinflammatory Evaluation of Leaves of *Plumeria acuminata*, *BMC Complementary and Alternative Medicine* **6(36)**: 1-6.
- Hadioetomo, R.S., 1985, *Mikrobiologi Pangan dalam Praktek, Teknik dan Prosedur dengan Laboratorium*, Gramedia, Jakarta.
- Hanani, E., 2014, *Analisis Fitokimia*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, Jakarta.

- Kumala, Shirly., 2014, *Mikroba Endofit, Pemanfaatan Mikroba Endofit dalam Bidang Farmasi*, PT. ISFI Penerbitan, Jakarta, hal 11, 15, 23, 29, 41, 62, 87.
- Pratiwi, B.E., 2015, Isolasi dan Skrining Fitokimia Bakteri Endofit dari Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum.L*) yang Berpotensi Sebagai Antibakteri, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta.
- Putri, A.P., dan Atmosukarto, Ines., 2006, Mikroba Endofit : Sumber Molekul Acuan yang Berpotensi, *BioTrends*, Vol.1 No.2, 13-15.
- Radji, M., 2005, Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II No. 3, 113-124.
- Robinson, Trevor., 1995, Kandungan Organik Tumbuhan tinggi, diterjemahkan oleh kosasih padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Strobel, G., and Daisy, B., 2003, Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and molecular biology reviews*, Vol. 67 No. 4, 491–502.
- Wahyudi, R.T., dan Sukarjati., 2013, Pengaruh Ekstrak Etil Asetat Getah Kamboja (*Plumeria acuminata.W.T. Ait*) Terhadap Pertumbuhan dan Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Stigma*, Vol. 06 No. 02. 27-30.