

- hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

OPTIMASI PROSEDUR UNTUK MENDUGA DAN MEMUTUS KONTAMINASI MIKROBA ENDOFIT PULE PANDAK (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz.) SECARA *IN VITRO*

HANNETY DEA AGHNY SHYFA



DEPARTEMEN KONSERVASI SUMBERDAYA HUTAN DAN EKOWISATA
FAKULTAS KEHUTANAN DAN LINGKUNGAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Optimasi Prosedur untuk Menduga dan Memutus Kontaminasi Mikroba Endofit Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz.) secara *In Vitro*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari skripsi saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juni 2026

Hannety Dea Aghny Shyfa
E3401221106



ABSTRAK

HANNETY DEA AGHNY SHYFA. Optimasi Prosedur untuk Menduga dan Memutus Kontaminasi Mikroba Endofit Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz.) secara *In Vitro*. Dibimbing oleh EDHI SANDRA.

Pule pandak (*Rauvolfia serpentina*) merupakan tanaman obat yang perbanyakannya melalui kultur jaringan terkendala kontaminasi mikroba endofit laten. Penelitian ini mengevaluasi efektivitas subkultur seleksi steril bertahap dan antibiotik dalam menekan kontaminasi eksplan pule pandak secara *in vitro* menggunakan 50 botol induk yang menghasilkan 422 botol turunan melalui tiga tahap subkultur, dianalisis dengan uji *chi-square* dan *fisher exact test*. Hasil dari 422 botol subkultur, sebanyak 66,82% diduga terkontaminasi mikroba endofit berdasarkan kemunculan >7 hari setelah tanam dengan dominasi kontaminasi campuran bakteri dan jamur. Subkultur seleksi steril bertahap terbukti efektif meningkatkan persentase steril dari 13% menjadi 96,67% ($\chi^2 = 103,648$; $p < 0,05$), namun 53,33% eksplan yang tampak steril secara visual kembali terkontaminasi pada subkultur uji, mengonfirmasi bahwa sterilitas visual tidak identik dengan sterilitas internal. Penggunaan antibiotik hanya menghasilkan tingkat sterilitas sebesar 10%, diduga akibat reaktivasi yang dipicu stres dan resistensi beta-laktamase pada bakteri gram-negatif endofit.

Kata kunci: antibiotik, mikroba endofit, subkultur seleksi steril bertahap

ABSTRACT

HANNETY DEA AGHNY SHYFA. Optimization of Procedures to Detect and Eliminate Endophytic Microbial Contamination of Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz.) *In Vitro*. Supervised by EDHI SANDRA.

Pule pandak (*Rauvolfia serpentina*) is a medicinal plant whose propagation via tissue culture is constrained by latent endophytic microbial contamination. This study evaluated the effectiveness of stepwise sterile subculture selection and antibiotic treatment in suppressing explant contamination of pule pandak *in vitro*, using 50 mother bottles that yielded 422 derivative bottles across three subculture stages, analyzed using *chi-square* and *fisher exact tests*. Of the 422 subculture bottles, 66.82% were suspected to harbor endophytic microbial contamination based on emergence occurring more than seven days after planting, with mixed bacterial and fungal contamination being predominant. Stepwise sterile subculture selection proved effective in increasing the sterility percentage from 13% to 96.67% ($\chi^2 = 103.648$; $p < 0.05$); however, 53.33% of visually sterile explants became re-contaminated during confirmatory subculture, confirming that visual sterility is not equivalent to internal sterility. Antibiotic treatment yielded a sterility rate of only 10%, likely attributable to stress-induced reactivation and beta-lactamase resistance in gram-negative endophytic bacteria.

Keywords: antibiotic, endophytic microbe, stepwise sterile selection subculture



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

OPTIMASI PROSEDUR UNTUK MENDUGA DAN MEMUTUS KONTAMINASI MIKROBA ENDOFIT PULE PANDAK (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz.) SECARA *IN VITRO*

HANNETY DEA AGHNY SHYFA

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kehutanan pada
Departemen Studi Konservasi Sumberdaya Hutan dan Ekowisata

**DEPARTEMEN KONSERVASI SUMBERDAYA HUTAN DAN EKOWISATA
FAKULTAS KEHUTANAN DAN LINGKUNGAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

Perpustakaan IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

1. Prof. Dr. Ir. Trisna Priadi, M.Eng.Sc
2. Ir. Lin Nuriah Ginoga, M.Si

Judul Skripsi : Optimasi Prosedur untuk Menduga dan Memutus Kontaminasi
Mikroba Endofit Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth.
Ex Kurz.) secara *In Vitro*
Nama : Hannety Dea Aghny Shyfa
NIM : E3401221106

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Ir. Edhi Sandra, M.Si
NIP 196610191993031002



Diketahui oleh

Ketua Departemen Konservasi Sumberdaya Hutan
dan Ekowisata:
Dr. Ir. Nyoto Santoso, M.S
NIP 196203151986031002



Tanggal Ujian: 08 Juni 2026

Tanggal Lulus: 25 JUN 2026

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Skripsi yang berjudul “Optimasi Prosedur untuk Menduga dan Memutus Kontaminasi Mikroba Endofit Pule Pandak (*Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. Ex Kurz.) secara *In Vitro*” ini diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan teknik kultur jaringan dalam upaya konservasi serta budidaya ex situ tanaman pule pandak sebagai tanaman obat bernilai tinggi. Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Ir. Edhi Sandra, M.Si, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, inspirasi, ilmu, motivasi, serta dukungan rohani dan mental yang berlimpah selama proses penelitian penulis hingga penyelesaian skripsi.
3. Prof. Dr. Ir. Burhannudin Masyud, M.S., selaku dosen moderator pada pemaparan kolokium, Ir. Agus Priyono, M.S., selaku dosen moderator pada pemaparan seminar hasil, Prof. Dr. Ir. Trisna Priadi, M.Eng.Sc selaku dosen penguji, dan Ir. Lin Nuriah Ginoga, M.Si. selaku ketua sidang yang telah memberikan arahan, masukan, serta saran yang membangun dalam penyempurnaan skripsi ini.
2. Seluruh pihak di Perusahaan Esha Flora, Ir. Hapsiati selaku Direktur Esha Flora dan Rifda Afifah, S.Hut., selaku Manager R&D yang telah memberikan kesempatan, bantuan, dan fasilitas penelitian. Stanislaus Aditya Agung, S.Si, M.Si, Ari, dan Sandi selaku asisten laboratorium sekaligus guru lapang yang dengan penuh kesabaran memberikan bimbingan teknis, ilmu, dan pendampingan selama kegiatan penelitian berlangsung.
3. Pak Duddy selaku staf akademik yang membantu kelancaran administrasi selama masa studi hingga penyelesaian skripsi. Bu Midah dan Pak Santa selaku laboran Divisi BPLHL yang membantu dalam proses sidang komprehensif.
4. Orang tua tercinta, Bapak Firdaus Efendi, S.P., Ibu Fajar Anggraeni, S.P., M.Ling., kakak tersayang Devi Ayu Rahma Syifa, S.Hum., dan seluruh keluarga besar atas doa, kasih sayang, serta semangat yang tidak ternilai.
5. Teman seperjuangan sedari masa sekolah menengah pertama, Ratu, Aisyah, Febi, Novi, atas semangat yang diberikan dan motivasi tiada hentinya.
6. Sahabat terkasih Kiya, Disty, Lala, Jihan, Zara, Amanda, Gina, Neni, Mutiara, Nadia, seluruh teman-teman KSHE angkatan 59 “*Rhyticeros everetti*”, teman-teman sekawunung, teman-teman Biro Infokom Himakova, teman-teman PLKA “Bodogoks” dan seluruh teman-teman yang penulis temui semasa kuliah atas masa-masa indah selama perkuliahan.
7. Naufal Harist Dzaky yang sudah menemani dan membantu penulis dalam setiap proses senang maupun sulit pada penyelesaian skripsi penulis.

Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang pelestarian sumber daya hayati, khususnya di bidang kultur jaringan.

Bogor, Juni 2026

Hannety Dea Aghny Shyfa



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xi
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Pule Pandak (<i>Rauvolfia serpentina</i> (L.) Benth. ex Kurz.)	4
2.2 Kultur Jaringan	4
2.3 Subkultur	5
2.4 Kontaminasi pada Kultur	5
2.5 Mikroba Endofit	6
2.6 Prosedur Sterilisasi	6
2.7 Antibiotik	7
III METODE	8
3.1 Waktu dan Tempat	8
3.2 Alat dan Bahan	8
3.3 Jenis Data yang Dikumpulkan	8
3.4 Prosedur Kerja	8
3.5 Metode Pengumpulan Data	14
3.6 Analisis Data	14
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Hasil Kategori Kondisi Kultur Keseluruhan	16
4.2 Subkultur Seleksi Steril Bertahap	17
4.3 Subkultur Uji Mikroba Endofit	21
4.4 Pola Kemunculan Kontaminasi Subkultur Seleksi Steril Bertahap	22
4.5 Hasil Sterilisasi	24
V SIMPULAN DAN SARAN	29
5.1 Simpulan	29
5.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	34
RIWAYAT HIDUP	41



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR TABEL

1	Jenis data yang dikumpulkan	8
2	Komposisi larutan stok media	9
3	Analisa dan penanganan sterilisasi	13
4	Analisa kontaminasi	13
5	Kondisi kultur keseluruhan	16

DAFTAR GAMBAR

1	Diagram alur penelitian	11
2	Persentase kondisi kultur keseluruhan	16
3	Hasil subkultur seleksi steril bertahap	17
4	Persentase kontaminasi dan steril subkultur seleksi steril bertahap	18
5	Jenis kontaminasi pada subkultur seleksi steril bertahap	19
6	Dinamika pertumbuhan eksplan tahap subkultur seleksi steril bertahap	20
7	Jenis kontaminasi pada subkultur uji mikroba endofit	21
8	Hasil subkultur uji mikroba endofit	22
9	Pola kemunculan kontaminasi eksternal subkultur seleksi steril bertahap	22
10	Pola kemunculan kontaminasi internal subkultur seleksi steril bertahap	23
11	Kontaminasi mikroba endofit	25

DAFTAR LAMPIRAN

1	Uji <i>fisher exact test</i>	35
2	Uji <i>chi-square</i> perlakuan dengan subkultur seleksi steril bertahap	35
3	Dokumentasi kondisi eksplan	35
4	Dokumentasi kegiatan penelitian	36
5	Total kondisi eksplan keseluruhan	38
6	Pola kemunculan kontaminasi eksternal	38
7	Pola kemunculan kontaminasi internal	39
8	Pola kemunculan kontaminasi setelah sterilisasi ringan	39
9	Pola kemunculan kontaminasi setelah sterilisasi mikroba endofit	40