

**OPTIMASI ISOLASI PEPTIDA ANTIMIKROBA DAUN
PEGAGAN (*Centella asiatica* L.) SERTA AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus***

SULTHAN FIRDAUS AGUSTINO



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa laporan akhir dengan judul “Optimasi Isolasi Peptida Antimikroba Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*” 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 laporan akhir ini.

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

Bogor, November 2025

Sulthan Firdaus Agustino
G84190050

- 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 mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

SULTHAN FIRDAUS AGUSTINO. Optimasi Isolasi Peptida Antimikroba Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Dibimbing oleh POPI ASRI KURNIATIN dan WARAS NURCHOLIS.

Peptida antimikroba (AMP) menjadi solusi dari masalah serius resistensi antibiotik yang dihadapi dunia medis. Tanaman yang diuji adalah pegagan karena memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Penelitian ini bertujuan melakukan optimasi ekstraksi AMP pegagan dan menguji aktivitas antibakterinya. Perangkat Design Expert 13 digunakan untuk menentukan kondisi optimum ekstraksi. Kondisi optimum yang diperoleh diantaranya rasio pelarut:sampel 1:5, konsentrasi asam asetat 2%, dan waktu ekstraksi 2,5 jam dengan %RSE sebesar -1,39%. Ekstrak pegagan dilanjutkan fraksinasi ammonium sulfat, SDS-PAGE dan aktivitas antibakteri. Fraksinasi memekatkan konsentrasi protein dari 216,923 µg/mL hingga 248,245 µg/mL. Elektroforegram SDS-PAGE menunjukkan beberapa pita tipis pada rentang 10–15 kDa dan satu pita tebal 20–25 kDa yang mengindikasikan protein yang mengandung AMP memiliki konsentrasi kecil. Ekstrak protein fraksinasi diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak fraksinasi memiliki aktivitas pada *E. coli* sebesar 3,1–4,7 mm, namun tidak terdapat aktivitas terhadap *S. aureus*. Pegagan memiliki AMP potensial dalam konsentrasi yang kecil dan aktivitas antibakteri yang lemah.

Kata kunci: daun pegagan, elektroforesis, konsentrasi protein, peptida antimikroba

ABSTRACT

Optimization of Antimicrobial Peptide Isolation from Gotu Kola Leaves and Its Antibacterial Activity Against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Supervised by POPI ASRI KURNIATIN and WARAS NURCHOLIS.

Antimicrobial peptides (AMPs) offer a potential solution to the growing issue of antibiotic resistance in the medical field. This study focused on gotu kola (*Centella asiatica*), a plant known for its antibacterial properties. The research aimed to optimize AMP extraction from gotu kola and evaluate its antibacterial activity. Design Expert 13 was used to determine the optimal extraction conditions, which included a solvent-to-sample ratio of 1:5, 2% acetic acid concentration, and an extraction time of 2.5 hours, with an %RSE of -1,39%. The extract was further processed using ammonium sulfate fractionation, followed by SDS-PAGE and antibacterial activity testing. Fractionation increased the protein concentration from 216,923 µg/mL to 248,245 µg/mL. SDS-PAGE electropherogram revealed faint bands in the 10–15 kDa range and a width band in the 20–25 kDa, indicating low AMP-containing protein concentrations. Antibacterial tests showed inhibition zones of 3,1–4.7 mm against *Escherichia coli*, but no activity against *Staphylococcus aureus*. These findings suggest that gotu kola contains AMPs in small concentrations with weak antibacterial activity.

Keywords: gotu kola leaves, electrophoresis, protein levels, antimicrobial peptides



@Hak cipta milik IPB University

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.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025¹
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 ISOLASI PEPTIDA ANTIMIKROBA DAUN
PEGAGAN (*Centella asiatica L.*) SERTA AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *Escherichia coli*, *Staphylococcus
aureus***

SULTHAN FIRDAUS AGUSTINO

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik 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. Mega Safithri, S.Si., M.Si
- 2 Dr. Syamsul Falah, S.Hut., M.Si

Nama
NIM

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Judul Laporan : Optimasi Isolasi Peptida Antimikroba Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*,
Staphylococcus aureus
: Sulthan Firdaus Agustino
: G84190050

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si, Apt., M.Si

Pembimbing 2:

Prof. Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si
NIP 197709152005012002



Tanggal Ujian: 14 Agustus 2025

Tanggal Lulus:



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Juli 2023 sampai bulan Januari 2024 ini ialah peptida antimikroba, dengan judul “Optimasi Isolasi Peptida Antimikroba Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si, Apt., M.Si. dan Prof. Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada pembimbing akademik, moderator seminar, dan penguji luar komisi pembimbing. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si, Apt., M.Si. sebagai kepala Laboratorium Biokimia IPB, Martini Hidayanti, S.Si beserta staf Laboratorium Biokimia IPB dan teman-teman satu bimbingan yang telah membantu selama pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya. Ucapan terimakasih juga tidak luput kepada sahabat saya, Chelsy Narita S.Si, yang telah banyak membantu secara langsung.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Mei 2025

Sulthan Firdaus Agustino

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	viii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Hipotesis	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Peptida antimikroba tanaman (PAMP)	3
2.2 Pegagan	4
2.3 <i>Escherichia coli</i>	4
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.5 Box-Behnken Design	5
III METODE	6
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	6
3.2 Alat dan Bahan	6
3.3 Prosedur Kerja	6
IV HASIL	11
4.1 Optimasi Ekstraksi Daun Pegagan Terhadap Kadar Protein	11
4.2 Pemasangan Model	11
4.3 Model <i>3D Surface</i> pada hubungan antar variable	12
4.4 Verifikasi Solusi Optimasi	14
4.5 Penentuan Kadar Protein Hasil Dialisis	14
4.6 Elektroforesis SDS-PAGE	15
4.7 Aktivitas Antibakteri	15
V PEMBAHASAN	17
5.1 Pemilihan variabel dalam proses optimasi ekstraksi protein	17
5.2 Pengaruh antar variabel berdasarkan hasil optimasi dan 3D Surface RSM	17
5.3 Pemilihan model desain Box-Behnken	18
5.4 Verifikasi kadar konsentrasi protein	18
5.5 Perhitungan kadar protein hasil fraksinasi ammonium sulfat	18
5.6 Pengukuran bobot molekul protein	19
5.7 Aktivitas antibakteri peptida	20
VI SIMPULAN DAN SARAN	22
6.1 Simpulan	22
6.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN	28
RIWAYAT HIDUP	36

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Desain eksperimen <i>Box-Behnken Design</i> (BBD) ekstraksi daun pegagan	7
Tabel 3.2 Komposisi <i>separating gel</i> 16%, <i>spacer</i> 12%, <i>stacking gel</i>	9
Tabel 4.3 Konsentrasi protein ekstrak daun pegagan hasil optimasi menggunakan <i>Box-Behnken Design</i> (BBD)	11
Tabel 4.4 Pemilihan model desain oleh <i>software</i> Design Expert	12
Tabel 4.5 <i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) pada model linear	12
Tabel 4.6 Uji statistik model linear	12
Tabel 4.7 Solusi optimasi ekstraksi daun pegagan	14
Tabel 4.8 Verifikasi solusi optimasi daun pegagan	14
Tabel 4.9 Verifikasi solusi optimasi	14
Tabel 4.10 Aktivitas antibakteri ekstrak protein hasil dialisis	15

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Box Behnken Design</i> dilihat sebagai bentuk kubus (a) dan tiga desain faktorial 2^2 (b)	5
Gambar 4.2 <i>3D Surface plot</i> pengaruh rasio dan waktu (a), pengaruh rasio dan konsentrasi pelarut (b), pengaruh waktu dan konsentrasi pelarut (c).	13
Gambar 4.3 Elektrofogram pengukuran bobot molekul hasil isolasi ekstrak kasar protein (a) dan ekstrak dialisis protein (b)	15

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram alir penelitian	28
Lampiran 2 Desain eksperimen optimasi ekstrak daun pegagan	29
Lampiran 3 Pengukuran kurva standar Bradford	30
Lampiran 4 Pengukuran absorbansi tiap larutan standar Bradford	31
Lampiran 5 Pengukuran konsentrasi protein ekstrak pada tahap verifikasi	32
Lampiran 6 Solusi hasil optimasi menggunakan <i>Box-Behnken Design</i>	33
Lampiran 7 Perhitungan %RSE pada tahap verifikasi	34
Lampiran 8 Perhitungan massa amonium sulfat yang ditambahkan pada fraksinasi amonium sulfat	35