

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA MINYAK ATSIRI TANAMAN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb)

Jasmansyah, Pipit Fitriyani, Hernandi Sujono, Lilis Siti Aisyah

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Informatika, Universitas Jenderal Achmad Yani

Jl. Terusan Jenderal Sudirman, PO BOX 148, Cimahi, Jawa Barat

E – mail: jasmansyah@unjani.ac.id

Abstrak: Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) merupakan salah satu tanaman obat yang memiliki khasiat seperti mengatasi demam, antialergi, anti inflamasi, dan stimulan sistem syaraf pusat. Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam minyak atsiri tanaman pegagan (*C. asiatica*) diketahui berperan sebagai antibakteri. Penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari minyak atsiri tanaman pegagan (*C. asiatica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan jamur *Candida albicans*. Metode yang digunakan metode destilasi uap-air, hasil destilat dilakukan uji *Gas Chromatography – Mass Spectrometry* dan aktivitas antimikroba dengan metode mikrodilusi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen minyak sebesar 0,01% dan dengan 37 komponen senyawa, 5 komponen senyawa utama dengan konsentrasi tertinggi yaitu (E)- β -farnesen (17,85%), Kariofilen (13,55%), Germacrene-D (9,61%), α -Humulene (9,54%), β -Elemen (7,80%). Hasil uji aktivitas antimikroba minyak atsiri tanaman pegagan terhadap bakteri *S.epidermidis* dengan KHM dan KBM $\leq 0,2$ %, bakteri *P.aeruginosa* dengan nilai KHM dan KBM berturut-turut sebesar 50 % dan 100% dan jamur *C.albicans* dengan nilai KHM dan KBM 100 %. Hasil menunjukkan bahwa minyak atsiri tanaman pegagan lebih berpengaruh dan berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dibandingkan dengan penghambatan terhadap bakteri Gram negatif dan jamur.

Kata Kunci : *Centella asiatica* (L.) Urb, Minyak Atsiri, Antimikroba

Abstract: (*Centella asiatica* (L.) Urb) is one of the medicinal plants that has properties such as overcoming fever, anti-allergic, anti-inflammation, and central nervous system stimulants. The chemical compounds contained in the essential oil of *C. asiatica* are known to act as antibacterial. This study was to determine the antimicrobial activity of *C. asiatica* essential oil on the growth of *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. The method used by the steam-water distillation method, the distillate results were carried out by *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* and antimicrobial activity by microdilution method. The results showed that oil yield was 0,01% and with 37 compound components, 5 components of the main compounds with the highest concentration were (E)- β -farnesene (17,85%), Caryophyllene (13,55%), Germacrene-D (9,61%), α -Humulene (9,54%), β -Elemene (7,80%). The antimicrobial test results of *C. asiatica* essential oil on *S. epidermidis* bacteria with MIC and MBC $\leq 0,2\%$, *P. aeruginosa* bacteria with MIC and MBC values respectively 50% and 100%, and *C. albicans* fungi with MIC and MBC 100%. The results showed that essential oils of *C. asiatica* were more influential and had the potential to inhibit the growth of Gram positive bacteria compared to the inhibition of Gram negative bacteria and fungi.

Keywords : *Centella asiatica* (L.) Urb , Essential Oils, Antimicrobials

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu masalah penyakit kesehatan masyarakat yang penting, khususnya negara berkembang. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau jamur yaitu suatu penyakit dengan prevalensi tinggi di dunia, termasuk di Indonesia (Jawetz *et al*, 2005). Beberapa jenis bakteri dan jamur patogen mampu bereproduksi untuk meninfeksi manusia.

Penggunaan antibiotik berlebihan akan menyebabkan bakteri menjadi resisten (Fisheri dkk, 2017). Oleh karena itu, kita memerlukan alternatif lain untuk mengatasi masalah penggunaan antibiotik yang berlebihan, salah satunya adalah dengan menggunakan obat tradisional yang berasal dari bahan alam yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur yang memiliki efek samping lebih kecil dan harga yang lebih terjangkau (Kusuma, 1993).

Tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb). Pegagan memiliki banyak khasiat seperti mengatasi demam, antialergi, anti inflamasi, dan stimulan sistem syaraf pusat. Pegagan mengandung komponen kimia minyak atsiri, flavonoid, dan triterpenoid saponin yang berfungsi sebagai antibakteri yang dapat merusak dinding sel bakteri sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Lawrence dan Block, 1968).

METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental untuk mengetahui adanya aktivitas antimikroba minyak atsiri tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb).

Tahap Penelitian

Determinasi Tanaman dan Pembuatan Minyak Atsiri Tanaman Pegagan

Pada penelitian ini sampel tanaman pegagan diperoleh dari Perkebunan Percobaan Manoko Lembang, Kab. Bandung Barat. Determinasi tanaman dilakuakn di Laboratorium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, ITB. Sampel tanaman pegagan yang telah dibersihkan dan dipotong kecil-kecil kemudian dilakukan destilasi menggunakan metode destilasi uap-air. Minyak atsiri yang dihasilkan kemudian ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat untuk didapatkan minyak atsiri murni.

Uji GC-MS

Penentuan minyak atsiri tanaman pegagan dilakukan di Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan, Bandung dengan menggunakan alat GC-MS. Kondisi analisis adalah sebagai berikut: Minyak atsiri tanaman pegagan dilarutkan dalam *n*-heksana dan dimasukkan kedalam vial 1 mL. 1µL di injeksikan pada teknik injeksi split ratio 25:1 dengan suhu injektor 250°C. Gas pembawa menggunakan Helium dengan kecepatan aliran 1 mL/menit. Suhu oven di program 50°C selama 2 menit, 10°C/menit untuk suhu 150°C selama 5 menit dan 10°C menit sampai 250°C selama 2 menit dengan waktu injeksi 29 menit.

Uji Aktivitas Antimikroba

Pembuatan Biakan Mikroba Uji

Inokulasikan 1 ose biakan murni bakteri ke dalam media NA dan biakan murni jamur ke dalam media SDA secara aseptis. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri dan pada suhu 25°C selama 48 jam untuk jamur di dalam inkubator.

Pembuatan Suspensi Mikroba dan Larutan Pembanding Mc Farland

Pembuatan suspensi tersebut distandarisasi dengan menggunakan metode Mc Farland 0,5 yang terdiri dari 9,95 mL larutan H₂SO₄ 1% dan 0,05 mL larutan BaCl₂ 1% yaitu setara dengan kepadatan bakteri 10⁸CFU/mL (Sutton, 2011). Satu tabung berisi larutan standar Mc Farland 0,5 terlebih dahulu disiapkan. Suspensi mikroba uji dibuat dengan cara mengambil koloni biakan mikroba kedalam tabung yang berisi NaCl 0,9% steril sampai tercapai larutan homogen. Suspensi mikroba uji tersebut dibandingkan kekeruhannya dengan larutan standar Mc Farland 0,5.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Disiapkan mikroplate 96 lubang. Pada kolom 1 dimasukkan kontrol positif sebanyak 50 µL antibiotik dan 50 µL mikroba, sedangkan pada kolom no. 2 dimasukkan kontrol negatif sebanyak 50 µL media cair dan 50 µL mikroba. Pada kolom no. 3-12 diisi dengan 50 µL campuran media cair dan 50 µL mikroba. Pada kolom no. 3 diisi dengan 100 µL minyak atsiri tanaman pegagan kemudian dihomogenkan. Dari kolom no. 3 diambil 100 µL dimasukkan ke kolom no. 4 kemudian dihomogenkan, dan seterusnya sampai kolom no. 12, dari kolom no. 12 diambil 100 µL kemudian dibuang. Pengujian dilakukan sebanyak 2 perlakuan. Mikroplate diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam untuk bakteri dan pada suhu 25°C selama 48 jam untuk jamur. Dilihat apakah terdapat endapan/tidak atau dilihat kekeruhan pada setiap sumur. Bening pertama pada tiap baris menunjukkan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM).

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Dilakukan pemindahan pengenceran dari masing-masing kolom sampel uji yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan mikroba pada uji KHM sebanyak 1 ose, kemudian diinokulasikan ke cawan petri yang sudah berisi media. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri dan suhu 25°C selama 48 jam untuk jamur. Dilihat apakah terjadi pertumbuhan atau tidak. Tidak adanya pertumbuhan mikroba menunjukkan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman

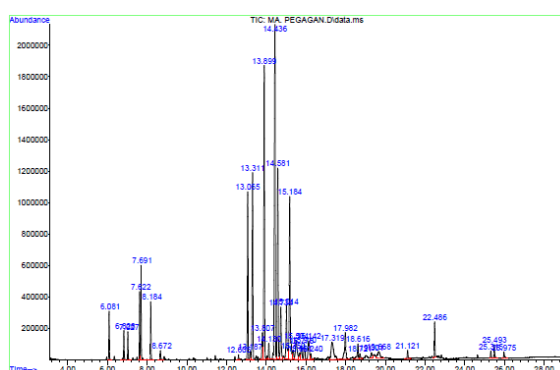
Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb).

Hasil Destilasi

Dari hasil destilasi uap-air tanaman pegagan sebanyak 15 kg diperoleh minyak atsiri murni sebanyak 1,7 mL dengan nilai rendemen sebesar 0,01%.

Hasil GC-MS

Hasil analisis minyak atsiri tanaman pegagan ditunjukkan pada data kromatogram seperti Gambar 1. Dari data hasil analisis diperoleh 37 puncak yang menunjukkan adanya 37 komponen penyusun minyak atsiri tanaman pegagan, 5 komponen penyusun yang memiliki persentase tertinggi diantaranya : (E)- β -farnesen (17,85%), Kariofilen (13,55%), *Germacrene-D* (9,61%), α -Humulen (9,54%), dan β -Elemen (7,80%).



Gambar 1. Kromatogram Minyak Atsiri Tanaman Pegagan (*C.asiatica(L.) Urb*)

Hasil Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba untuk konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari minyak atsiri tanaman pegagan terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* dan jamur *C. albicans* dilihat dari Tabel 1

Tabel 1. Hasil Pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum Minyak Atsiri Tanaman Pegagan

Mikroba Uji	Pengenceran Minyak Atsiri Tanaman Pegagan (%)											
	K		Pegagan (%)									
	(+)	(-)	10	5	2	12,	6,	3,1	1,	0,8	0,	0,2
			0	0	5	5	3	3,1	5	0,8	4	0,2
<i>S. epidermidis</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : (+) tidak terbentuk endapan/tidak ada pertumbuhan mikroba
 (-) terbentuk endapan/ada pertumbuhan mikroba

Tabel 2. Hasil Pengamatan Konsentrasi Bunuh Minimum Minyak Atsiri Tanaman Pegagan

Mikroba Uji	K (+)	K (-)	Pengenceran Minyak Atsiri Tanaman Pegagan (%)									
			10	5	2	12,	6,	3,1	1,	0,8	0,	0,2
			0	0	5	5	3	3,1	5	0,8	4	0,2
<i>S. epidermidis</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : (+) membunuh mikroba (-) tidak membunuh mikroba

Proses isolasi minyak atsiri tanaman pegagan menggunakan metode destilasi uap-air. Metode ini dipilih karena cocok untuk bahan yang mudah rusak apabila dipanaskan pada suhu tinggi, memiliki waktu yang relatif lebih singkat dan menghasilkan mutu yang lebih baik (Guenther, 1987). Minyak atsiri yang dihasilkan kemudian ditampung di dalam wadah setelah itu dipisahkan antara minyak dan air dengan cara ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat, hal ini bertujuan untuk menarik molekul air yang terdapat pada minyak atsiri agar didapat minyak atsiri murninya.

Pada pengujian analisis kandungan minyak atsiri tanaman pegagan menggunakan GC-MS diketahui mengandung senyawa (E)- β -farnesen (17,85%), Kariofilen (13,55%), *Germacrene-D* (9,61%), α -Humulen (9,54%), dan β -Elemen (7,80%). Hasil penelitian sebelumnya oleh Oyedeji dan Afolayan (2005) menunjukkan bahwa di dalam minyak atsiri tanaman pegagan terdapat komponen kimia α -Humulen (21,06%), β -Kariofilen (19,08%), *bicyclogermacrene* (11,22%), *germacrene B* (6,29%), dan *germacrene D* (4,01%). Hasil penelitian Paudel, P dkk (2017) menunjukkan bahwa di dalam minyak atsiri tanaman pegagan terdapat (E)- β -farnesen (26,5%), α -Humulen (20,9%), dan (E)-kariofilen (13,3%). Perbedaan komposisi minyak atsiri ini dapat disebabkan karena berbagai faktor diantaranya kondisi iklim, kondisi tanah tempat tanaman tumbuh, umur panen, metode yang digunakan serta penanganan dan cara penyimpanan sangat berpengaruh terhadap komposisi minyak atsiri (Devkota dkk, 2013).

Pada pengujian aktivitas antimikroba minyak atsiri tanaman pegagan dilakukan terhadap bakteri *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* dan jamur *C. albicans*. Sebelum digunakan uji, semua mikroba uji diidentifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa mikroba uji yang akan digunakan telah sesuai. Pada bakteri dilakukan uji penegasan menggunakan pewarnaan Gram dan media selektif. Pada pewarnaan Gram, koloni bakteri Gram positif akan berwarna ungu dan koloni Gram negatif akan berwarna merah. Perbedaan warna ini dikarekan perbedaan struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang tebal pada dinding selnya sehingga saat diwarnai sel akan berwarna ungu.

Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lipid yang tebal pada dinding selnya sehingga ketika diwarnai dengan kristal violet lalu dibilas dengan alkohol, lipid akan larut dan ikut terbilas sehingga bakteri Gram negatif akan menyerap pewarnaan yang kedua yaitu merah (James *et al*,2002). Pada uji penegasan menggunakan media selektif, menggunakan media MSA untuk bakteri *S. epidermidis* menunjukkan bahwa bakteri tersebut memang benar bakteri *S. epidermidis* dilihat dari koloni yang terbentuk yaitu berwarna merah dan tidak ada perubahan warna pada media (Sari, 2003). Pada media CETA untuk bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan bahwa koloni yang terbentuk memang benar bakteri tersebut ditunjukkan dari koloni yang terbentuk yaitu berwarna *flourescens* kehijauan (Todar,2004). Pada jamur dilakukan uji penegasan menggunakan media kultur yaitu media SDA menunjukkan koloni berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung berwarna putih kekuningan serta berbau asam seperti tape yang menunjukkan bahwa koloni tersebut merupakan jamur *C. albicans* (Sulaiman, 2017).

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode mikrodilusi yaitu dengan cara mengencerkan minyak atsiri tanaman pegagan hingga konsentrasi terkecil kemudian dicampurkan dengan media cair dan mengamati konsentrasi minyak atsiri tanaman pegagan dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji dilihat dari kekeruhannya. Pada penentuan nilai KHM minyak atsiri tanaman pegagan memiliki potensi menghambat pertumbuhan pada bakteri *S.epidermidis* pada konsentrasi $\leq 0,2\%$, *P.aeruginosa* pada konsentrasi 50% dan jamur *C.albicans* pada konsetrasi 100%. Nilai KBM minyak atsiri tanaman pegagan memiliki potensi membunuh pertumbuhan pada bakteri *S.epidermidis* pada konsentrasi $\leq 0,2\%$, *P.aeruginosa* pada konsentrasi 50% dan jamur *C. albicans* pada konsentrasi 100%.

Bakteri *S.epidermidis* menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan bakteri *P.aeruginosa* dan jamur *C.albicans*. Pada umumnya, minyak atsiri terdiri dari banyak penyusun yang berupa komponen aktif. Aktivitas antimikroba dapat disebabkan karena peran dari komponen kimia penyusun minyak atsiri. Senyawa kimia minyak atsiri tanaman pegagan (*C. asiatica* (L.) Urb) yang dihasilkan dari penelitian ini memiliki komponen utama yang terdiri dari senyawa seskuiterpen yang merupakan golongan terpenoid, senyawa terpen ini diketahui dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri yaitu dengan merusak dinding sel bakteri dan mengubah komponen penyusun sel bakteri. Golongan terpenoid dapat berikatan dengan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel dan bahkan dapat menimbulkan lisis pada sel, rusaknya membran sel bakteri akan mengakibatkan kekurangan nutrisi yang dibutuhkan dalam proses pertumbuhan (Nursal dkk, 2006). Senyawa monoterpen berperan aktif sebagai antijamur, yatu dapat menghambat proses metabolisme dan mengganggu pertumbuhan jamur (Nurmansyah, 2010).

Berdasarkan jenis bakterinya *S.epidermidis* merupakan bakteri Gram positif dan *P.eruginosa* merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif efektif menghambat pertumbuhan minyak atsiri tanaman pegagan dibandingkan dengan bakteri Gram negatif, karena bakteri Gram negatif memiliki ketahanan dinding sel yang lebih baik dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif mempunyai struktur dinding sel yang kompleks tersusun dari tiga lapisan yaitu lapisan luar lipoprotein, bagian tengah

lipopolisakarida yang mampu menyeleksi zat-zat asing dan bagian dalam peptidoglikan. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang sederhana dibandingkan bakteri Gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri masuk.

KESIMPULAN

Hasil analisis GC-MS terhadap minyak pegagan mempunyai 37 senyawa penyusun minyak atsiri, dengan 5 komponen senyawa utama yaitu (E)- β -farnesen (17,85%), Kariofilen (13,55%), *Germacrene-D* (9,61%), α -Humulen (9,54%), dan β -Elemen (7,80%). Minyak atsiri tanaman pegagan (*C. asiatica* (L.) Urb) memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. epidermidis* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) $\leq 0,2$ %. Minyak atsiri tanaman pegagan (*C. asiatica* (L.) Urb) memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *P. aeruginosa* dengan nilai KHM dan KBM berturut-turut sebesar 50 % dan 100 %. Minyak atsiri tanaman pegagan (*C. asiatica* (L.) Urb) memiliki aktivitas antimikroba terhadap jamur *C. albicans* dengan nilai KHM dan KBM 100 %. Uji bioaktivitas antimikroba, menunjukkan minyak atsiri dari tanaman pegagan berpotensi sebagai antimikroba.

DAFTAR RUJUKAN

- Devkota. A., Dall. S., Comai. S., Innocenti. G & Jha. P.K. 2013. Chemical Composition of Essential Oils of *Centella asiatica* (L.) Urban from Different Habitats of Nepal. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 2013; 4(2): 300-304.
- Fisher. N. K, Nuryanti. A. G, dan Aziz. N. 2017. Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Ekstrak Etanol Akar, Bunga, dan Daun Turi (*Sesbania grandiflora*.Poir) . *Jurnal Acta Pharmaceutica Indonesia*. Vol. 42. No.1
- Guenther, E., 1987, *Minyak Atsiri I*, diterjemahkan S. Ketaren, Jilid I, Penerbit UI Press, Jakarta.
- James J, Baker C & Swain H. 2002. *Principles of Science for Nurses*. Jakarta (ID): Erlangga.
- Jawetz, E.J, L. Melnick & E. A. Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi kedokteran*. Edisi 22. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kusuma, W.H. 1993. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia Jilid IV*. Pustaka Kartini, Jakarta.
- Lawrence CA, Block SS. 1986. *Desinfection, Sterilization and Preservation*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Nurmansyah. 2010. Efektivitas Minyak Serai Wangi dan Fraksi Sitronellal Terhadap Pertumbuhan Jamur *Phytophthora palmivora* Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao. *Bul. Litro*. 21 (1): 43-52
- Nursal, W., Sri & Wilda S. 2006. Bioaktivitas ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biogenesis*. 2(2):64-66.

Prosiding

Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya (SNKP) 2019

Malang, 03 November 2019

- Oyedeji. O.A dan Afolayan. A.J .2005. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Centella asiatica*. Growing in South Africa, *Journal Pharmaceutical Biology*.Vol.43 No.3.
- Paudel. P., Satya. P., Dosoky.N.S & Setzer.W.N. 2017. Chemical Composition and Biological Activity of *Centella asiatica* Essential Oil from Nepal. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. 5(4):05-08.
- Sari. R. W. 2003. Pengaruh Pemberian Gerusan Daun Sirih Hitam, Gerusan Daun Sirih Jawa dan Oksitetrasiklin Secara Topikal terhadap Lama dan Waktu Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Tikus Putih. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sulaiman, S.I.N. 2017. Uji AntiJamur Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.
- Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*. 17: 46-49.
- Todar, K., 2004. *Textbook of Bacteriology: Pseudomonas aeruginosa*. University of Winconsin-Madison Department of Bacteriology.