

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI SELAPUT BIJI PALA (*Myristica fragrans* Houtt.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* DAN
*Pseudomonas aeruginosa***

Laporan Tugas Akhir

**Jajang Wiguna
11161089**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

AKTIVITAS ANTIBAKTERI SELAPUT BIJI PALA (*Myristica fragrans* Houtt.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* DAN
Pseudomonas aeruginosa

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

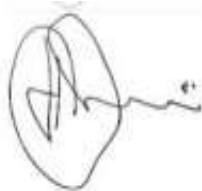
Jajang Wiguna
11161089

Bandung, Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(apt. Ika Kurnia Sukmawati, M.Si.)



(Idar, M.Si.)

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIBAKTERI SELAPUT BIJI PALA (*Myristica fragrans* Houtt.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh :

**Jajang Wiguna
11161089**

Penyakit infeksi merupakan permasalahan yang sering dihadapi dan terus berkembang dalam kehidupan manusia. Penyakit infeksi dapat diobati dengan memanfaatkan bahan alam karena dianggap dapat menjadi agen alternatif sebagai pengobatan antibakteri. Tanaman pala merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi selaput biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap beberapa Bakteri Patogen. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan Metode Broth Microdilution untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum. Aktivitas antibakteri dilakukan terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 dan 512 ppm. Nilai KHM terbaik pada pengujian ini terdapat pada fraksi Etil asetat terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 128 ppm. Sedangkan nilai KBM terdapat pada konsentrasi >512 ppm. Hasil uji bioatografi menunjukkan adanya senyawa yang diduga bertanggung jawab sebagai antibakteri pada nilai Rf 0,49 yaitu flavonoid, kuinon dan steroid/triterpenoid.

Kata kunci : Antibakteri, *Broth Microdilution*, *Myristica fragrans* Houtt

ABSTRACT

AKTIVITAS ANTIBAKTERI SELAPUT BIJI PALA (*Myristica fragrans* Houtt.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

By :

**Jajang Wiguna
11161089**

*Infectious diseases are frequently encountered and constantly evolving problems in human life. Infectious diseases can be treated by utilizing natural ingredients because it is considered to be an alternative agent as an antibacterial treatment. Nutmeg Plant is one of the potentially antibacterial plants. The aim of this study were to determine the antibacterial activity of extract and fractions of *Myristica fragrans* against some pathogenic bacteria. The antibacterial activity test was performed by Broth Microdilution method to determine Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration. The test is conducted against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa* at concentrations of 1, 2, 4, 8.16, 32, 64, 128, 256 and 512 ppm. The best MIC value obtained in fraction of Ethyl acetate against *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa* at a concentration of 128 ppm. While the KBM value is at concentrations > 512 ppm. The result of bioatographic test showed the compound suspected to be responsible as an antibacterial agent at an Rf 0,49 , namely flavonoid, quinone and Triterpenoid.*

*Keyword : Antibacterial, Broth Microdilution, *Myristica fragrans* Houtt*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kita panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia nikmat serta hidayahnya sehingga saya dapat menyusun Laporan Tugas Akhir yang berjudul “**AKTIVITAS ANTIBAKTERI SELAPUT BIJI PALA (*Myristica fragrans* Houtt.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*” dengan lancar dan tepat waktu. Oleh sebab itu penyusun ingin sampaikan terima kasih kepada:**

1. Ibu apt. Ika Kurnia Sukmawati M.Si dan Ibu Idar M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan banyak arahan dalam membimbing penulis untuk dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini dengan baik.
2. Segenap dosen Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana atas segala ilmu dan bimbingannya.
3. Kedua orang tua serta saudara-saudaraku yang telah memberikan nasihat dan dukungan moril maupun materil untuk penulis
4. Teman-teman angkatan 2016 yang telah saling memotivasi dan membantu terselesainya laporan tugas akhir ini.

Meski demikian, penyusun merasa masih banyak kesalahan dalam penyusunan Laporan penelitian ini. Oleh sebab ini penyusun sangat terbuka menerima kritik dan saran yang membangun untuk dijadikan sebagai bahan evaluasi.

Bandung, Juni 2020

Penyusun

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	11
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	12
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Tabel V. 1 Klasifikasi Respon Hambat Pertumbuhan Bakteri	19
Tabel VI. 1 Hasil karakterisasi simplisia <i>Myristica fragrans</i> Houtt.....	22
Tabel VI. 2 Skrining fitokimia Simplisia dan Ekstrak Selaput biji pala	23
Tabel VI. 3 Hasil Fraksi selaput biji pala	24
Tabel VI. 4 KHM dan KBM pengujian sampel dan Antibiotik pembanding	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar II. 1 <i>Myristica fragrans</i> Houtt	4
Gambar II. 2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
Gambar II. 3 <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Gambar II. 4 <i>Escherichia coli</i>	9
Gambar II. 5 <i>Bacillus cereus</i>	10
Gambar VI. 1 Grafik Absorbansi pengujian antibakteri terhadap <i>Bacillus cereus</i>	27
Gambar VI. 2 Grafik Absorbansi pengujian antibakteri terhadap <i>Escherichia coli</i>	27
Gambar VI. 3 Grafik Absorbansi pengujian antibakteri terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
Gambar VI. 4 Grafik Absorbansi pengujian antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	29
Gambar VI. 5 Hasil pemantauan KLT pada (A) UV 254 (B) UV 366 nm	30
Gambar VI. 6 Bioautografi kontak	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram alir prosedur kerja	36
Lampiran 2 Surat penegasan bakteri	37
Lampiran 3 Surat Determinasi Tanaman	39
Lampiran 4 Hasil pengujian aktivitas antibakteri	40

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
RF	<i>Retention Factor</i>
MHA	Mueller Hilton Agar
MHB	Mueller Hilton Broth
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
ECC	Ekstraksi Cair Cair
PPM	<i>Part Per Million</i>

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Penyakit infeksi adalah masuknya mikroorganisme ke dalam jaringan tubuh, kemudian memperbanyak diri sehingga menyebabkan peradangan (Dorland, 2012). Penyakit infeksi sering menyerang masyarakat terutama di Negara berkembang, salah satunya yaitu Indonesia. Penyakit infeksi semakin sering dilaporkan terjadi di Indonesia dikarenakan memiliki iklim tropis sehingga memiliki prevalensi infeksi yang cukup tinggi. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh empat kelompok besar hama penyakit, yaitu bakteri, jamur, virus, dan parasit (Brooks, dkk., 2014). Penyebab dari infeksi bermacam macam, Salah satunya yaitu bakteri. Ketika tubuh terkena infeksi maka akan terbentuk Pus sebagai salah satu respon tubuh terhadap serangan. Pus merupakan cairan yang terdapat banyak protein hasil proses inflamasi yang terbentuk dari sel (leukosit), cairan jaringan dan debris selular (Newman, 2011).

Penyakit Pneumonia dan diare merupakan contoh penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Menurut data World Health Organization (WHO) tahun 2017, Pneumonia dan diare secara bersama-sama menyumbang 29% dari semua kematian anak secara global, yang mengakibatkan kematian lebih dari dua juta anak setiap tahun. Diare dapat berlangsung selama beberapa hari, dan dapat mengakibatkan tubuh kehilangan air dan garam yang diperlukan untuk bertahan hidup. Anak-anak yang tinggal di daerah terpencil dan tidak berkecukupan paling berisiko mengalami penyakit ini. Sedangkan menurut data Riskesdas pada tahun 2018, didapatkan hasil beberapa penyakit infeksi seperti diare sebesar 6,8 %, Pneumonia 2% dan ISPA sebesar 4,4%. Data ini diperoleh berdasarkan Diagnosis Nakes dan gejala di Indonesia.

Penyakit Infeksi dapat diobati dengan pemakaian antibiotik. Dimana antibiotik tersebut dapat dihasilkan oleh suatu mikroorganisme terutama fungi ataupun dihasilkan secara sintetik yang dapat menghambat atau membunuh suatu mikroorganisme (Utami, 2011). Dalam menentukan aktivitas suatu antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri dapat dilihat berdasarkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) maupun Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Semakin rendah nilai KHM dan KBM dari suatu Antibiotika, sensitivitas dari bakteri akan semakin besar. Secara umum mekanisme kerja antibiotik dapat mengakibatkan rusaknya dinding sel, berubahnya permeabilitas membran, mengganggu proses sintesis protein, dan dapat menghambat kerja enzim (Pelczar & Chan, 2008). Hal tersebut dapat mengakibatkan perubahan morfologi bakteri yang ditandai

dengan adanya kerusakan pada dinding sel bakteri. Perubahan morfologi ini dapat dilihat menggunakan metode Scanning Electron Microscope (SEM).

Berbagai mikroorganisme telah meningkatkan kemampuan adaptasinya terhadap antibiotik melalui mutasi spontan atau transfer DNA. Proses ini memungkinkan sejumlah bakteri resisten terhadap antibiotik tertentu, sehingga antibiotik menjadi tidak efektif (Bennet, 2008). Penggunaan antibiotika yang berlebihan dan dalam jangka waktu lama merupakan penyebab terjadinya resistensi bakteri. Antibiotik digunakan secara tidak tepat untuk penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik sekitar 40%-62%. Pada penelitian yang dilakukan di berbagai Rumah Sakit ditemukan sebanyak 30%-80% penggunaan antibiotik tidak berdasarkan indikasi (Kementerian Kesehatan RI, 2011).

Obat yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri dapat berasal dari tanaman, salah satunya yaitu Pala (*Myristica fragans* Houtt). Buah pala terdiri dari daging, biji (nuts) dan fuli (mace). Buah pala dapat dimanfaatkan menjadi lemak pala, minyak pala dan ekstrak (volatile) (Maya, dkk., 2004). Tanaman ini terdistribusi di india, asia tenggara, Australia utara dan kepulauan pasifik. Tanaman Pala mengandung senyawa *miristisin*, hidrokarbon terpen, dan turunan fenilpropan. Selain itu pala juga memiliki kandungan senyawa flavonoid yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Praptosuwirya, 2005).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol yang mampu mengikat protein sehingga mengganggu proses metabolisme. Mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri Antara lain bahwa flavonoid dapat menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Poeloengan, 2010). Selain itu terdapat pula minyak atsiri seperti Myristicin Pada tanaman pala yang memiliki aktivitas antibakteri. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ansory dkk, pada tahun 2015 Kandungan miristisin pada Selaput biji pala jauh lebih besar daripada kandungan miristisin pada biji dan daging buahnya. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Zahra kiarsi pada tahun 2019 melalui percobaan antimikroba secara in vitro dari minyak atsiri buah pala (*Myristica fragans*) terhadap beberapa bakteri pathogen seperti *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode broth microdilution dengan konsentrasi yang digunakan adalah 1, 2 ,4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 dan 512 ppm menghasilkan efek antimikroba dengan nilai KHM dan KBM secara berturut turut adalah 512 dan >512 . Penelitian Joachim K. D Zotam dkk, (2018) tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol biji pala (*Myristica fragans*) terhadap beberapa bakteri pathogen seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dalam menentukan Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi

bunuh minimum (KBM) sampel terhadap bakteri uji dilakukan dengan metode microplate dilution menggunakan uji kolorimetri INT assay dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 2, 4, 6, 32, 64, 128, 256, 512, dan 1024 ppm. Didapatkan hasil KHM pada penelitian tersebut adalah 32 ppm sedangkan KBM memiliki nilai 512 ppm pada bakteri *Escherichia coli* sedangkan pada *Pseudomonas aeruginosa* memiliki nilai KHM sebesar 64 ppm dan KBM tidak terdeteksi pada konsentrasi yang diujikan.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi selaput biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. Yang dapat menjadi alternatif pengobatan penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri.

1.2 . Rumusan masalah

Berdasarkan uraian di atas didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak dan fraksi Selaput biji pala (*Myristica fragrans*) memiliki aktivitas antibakteri ?
2. Berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari Selaput biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap bakteri uji ?

1.3. Tujuan dan manfaat penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi Selaput biji pala terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*
2. Mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari Selaput biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap bakteri uji.

1.4. Hipotesis penelitian

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, diduga selaput biji pala (*Myristica fragrans*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*..

1.5. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari- Maret 2020 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Bhakti Kencana

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Myristica fragrans* Houtt

Tanaman pala merupakan tanaman rakyat dan tumbuh di iklim tropik yang tidak jelas batas antara musim hujan dan musim kemaraunya. Suhu yang cocok dalam pertumbuhan tanaman ini berada direntang 25oC sampai 30oC atau di daerah yang memiliki curah hujan yang tinggi. Hal ini disebabkan tanaman ini memiliki akar yang mengambang atau dekat dengan permukaan tanah sehingga memerlukan curah hujan yang tinggi. Kepulauan banda hampir setiap bulan turun hujan dan memiliki curah hujan rata-rata 2.659 mm dalam setahun. Hal ini mengakibatkan perkebunan di daerah ini jarang mengalami kekeringan, Sehingga memenuhi persyaratan dalam pertumbuhan tanaman Pala ini. Garis tengah tajuk pohon tergantung pada kesuburan tanah. Perkecambahan biji membutuhkan waktu 1 sampai 3 bulan, dan setelah berumur 1 tahun tanaman siap di tanam di tanah lapang. Tanaman pala mulai berbuah pada umur 3 tahun setelah penanaman, namun pada umumnya tanaman pala mulai berbuah pada umur 5–7 tahun. Umur produktif dapat mencapai lebih dari 100 tahun (Kementrian pertanian, 2015)

II.1.1 Taksonomi *Myristica fragrans* Houtt

Pala merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang kini penyebarannya telah meluas ke berbagai daerah. Kepulauan banda merupakan tempat terbaik dalam pertumbuhan pala sehingga menghasilkan pala yang bermutu tinggi. Pertumbuhan Tanaman Pala dapat menyesuaikan dengan berbagai macam tanah. Akan tetapi tanah yang kaya Humus dan gembur merupakan tempat pertumbuhan terbaik.



Gambar II. 1 *Myristica fragrans* Houtt
(sumber : ilmubudidaya.com)

Klasifikasi menurut United States Departement Agricultural (USDA).

Kerajaan :Plantae
Filum :Tracheophyta
Divisi :Magnoliophyta

Kelas :Magnoliopsida
Ordo :Magnoliales
Keluarga :Myristicaceae
Genus :Myristica
Spesies :*Myristica fragrans* Houtt

II.1.2 Nama Daerah

Myristica fragrans Houtt mempunyai sebutan yang beragam pada tiap daerah, disebut Pala untuk daerah sunda, minagkabau dan melayu, falo untuk daerah Nias, di Makassar tanaman ini disebut palangan, Parang sebutan untuk daerah Minahasa, sedangkan palo sebutan untuk daerah Timor, dan gosora di Halmahera, Ternate dan Tidore (Made, 2009).

II.1.3 Morfologi *Myristica fragrans* Houtt

Tanaman pala memiliki tinggi sampai 15 meter, bertajuk rimbun dan memiliki kulit kayu yang kasar berwarna coklat kehitaman. Cabang tanaman ini tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial berwarna putih agak kotor. Daunnya berbentuk tunggal, elip lonjong, ujung dan pangkalnya lancip sampai runcing dan bertepi rata. Memiliki pertulangan yang menyirip, mengkilap dan hijau. Panjang daunnya berkisar 8 cm sampai 10 cm, sedangkan lebar 3 cm sampai 5 cm. Perbungaannya berupa majemuk, bentuk malai dan keluar di ketiak daun, bunga jantan berbentuk dengan warna kuning terang. Bila masih muda berbulu halus dan akan gundul. Perbungaan Antara jantan dan betina terpisah. Bunga betina biasanya terdiri atas 1 sampai 2 bunga , daun pelindung bulat, mahkota bertaju dan berwarna. Benih pala termasuk kedalam rekalsitran (tidak tahan lama disimpan), namun lambat berkecambah (1–2 bulan). Oleh karena itu, agar biji kecambah tinggi harus segera disemai/dikecambahkan (kementrian pertanian, 2015)

II.1.4 Penggunaan Secara Empiris

Buah pala termasuk Fuli memiliki beberapa manfaat Secara empiris yaitu pada waktu lampau telah digunakan sebagai pengobatan berbagai penyakit. Diantaranya untuk mengobati masalah pencernaan, antibakteri, antioksidan, mengurangi peradangan dan iritasi pada kulit. (Kurniawati, 2010). Selaput biji pala ini dapat digunakan untuk menambah cita rasa pada berbagai produk seperti daging, piket, saus dan sup, serta dapat menghilangkan aroma yang kurang menyenangkan dari rebusan kubis (Librianto, 2004).

II.1.5 Kandungan *Myristica fragrans* Houtt

Menurut penelitian Thomas dan Krishnakumari, (2015) bahwa Analisis kualitatif dari ekstrak biji *Myristica fragrans* mengkonfirmasi terdapat metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol dan terpenoid. Senyawa yang memiliki efek penghambat terhadap pertumbuhan bakteri yaitu terdapat pada Flavonoid. Kemudian penelitian Gupta, dkk.,(2013) melaporkan bahwa ekstrak aseton *Myristica fragrans* Houtt. mengandung beberapa senyawa seperti, Sabinene (28,61%), β -Pinene (10,26), α -pinene (9,72), miristisin (4,30%), isoeugenol (2,72%), p-cymene (1,81%), carvacrol (1,54%), eugenol (0,89%) dan β -caryophellene (0,82%). Pala mengandung minyak esensial sekitar 10%, yang terdiri dari kampen, peptida, pelandren terpinen, limonen, mirsen dengan kandungan berkisar 60 sampai 80%, turunan terpen (linalool, geraniol, terpineol) dengan kandungan 5% sampai 15% dan turunan fenilpropanoid (miristisin, elemisin, safrol, dan eugenol) 15% sampai 20%) (Jaiswal, 2009).

II.1.6 Efek Farmakologi *Myristica fragrans* Houtt

Selain kegunaan secara empiris, didapatkan beberapa manfaat lain berdasarkan hasil penelitian. Penelitian Rukayadi, yaya., dkk (2009) dilakukan isolasi senyawa bioaktif dari *Myristica fragrans* yaitu Macelignan. Senyawa tersebut Kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Bacillus cereus* dengan menggunakan metode microdilution dengan larutan stok 1000 $\mu\text{g/ml}$ dan dibuat seri pengenceran konsentrasi dengan rentang Antara 0,25-512 $\mu\text{g/ml}$. kemudian digunakan Glutaraldehyde sebagai kontrol pembanding. Didapatkan hasil bahwa Macelignan memiliki daya hambat yang signifikan terhadap bakteri uji, yaitu memiliki KHM sebesar 4 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan KBM memiliki nilai 8 $\mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan Penelitian Penelitian Joachim K. Dzotam dkk, (2018) menjabarkan tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak methanol biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) terhadap beberapa bakteri pathogen seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dalam menentukan Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi bunuh minimum (KBM) sampel terhadap bakteri uji dilakukan dengan metode microplate dilution menggunakan uji kolorimetri INT assay dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 2, 4, 6, 32, 64, 128, 256, 512, dan 1024 ppm. Didapatkan hasil KHM pada penelitian tersebut adalah 32 ppm sedangkan KBM memiliki nilai 512 ppm pada bakteri *Escherichia coli* sedangkan pada *Pseudomonas aeruginosa* memiliki nilai KHM sebesar 64 ppm dan KBM tidak terdeteksi pada konsentrasi yang diujikan. Berdasarkan

Penelitian Shaida Fariza Sulaiman tahun 2011 dalam aktivitas antimikroba ekstrak buah dan daun pala dengan metode mikrodilusi. Penelitian tersebut diujikan terhadap tiga strain bakteri Gram-positif yaitu *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* dan *Staphylococcus aureus* dan tiga strain Gram-negatif yaitu *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Hasilnya bahwa efek antimikroba terbaik terdapat di ekstrak Fuli dan biji dengan MIC sebesar 50 mg/ml terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* dengan standar yang digunakan yaitu tetrasiklin.

II.2 Infeksi Bakteri

Penyakit infeksi dapat disebabkan karena adanya mikroba patogen yang menyerang tubuh (Darmadi , 2008). Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, virus, dan parasit. Beberapa infeksi oleh bakteri dapat menyerang saluran pernafasan, saluran pencernaan, saluran kemih, dan sistem organ lainnya. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi contohnya *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* (Brooks, dkk., 2014).

II.3 Metode Uji Antimikroba

Metode pengujian aktivitas antimikroba yang dilakukan adalah metode difusi agar dan dilusi (NCCLS, 2012)

- Metode Difusi

II.3.1. Metode Perforasi

Merupakan metode yang dilakukan dengan cara melubangi agar yang masih cair pada suhu 45-54oC, kemudian dicampurkan dengan suspensi mikroba pada cawan petri, dan dibiarkan membeku kemudian dibuat lubang lubang menggunakan perforator yang berdiameter 6-8 mm. zat yang akan diuji dimasukkan kedalam lubang lalu diinkubasi pada suhu kamar 37oC selama 18-29 jam untuk bakteri. Diameter hambat diukur dengan jangka sorong.

II.3.2. Metode Silinder

Menggunakan silinder gelas steril dengan diameter 4,4 mm. silinder steril diletakan di atas permukaan yang telah membeku, yang berisikan agar dan mikroba. Kemudian zat uji dimasukkan ke dalam silinder, lalu diinkubasi pada suhu 37oC selama 18-24 jam. Diameter hambat diukur disekitar silinder.

- Metode dilusi

II.3.3 Broth Microdilution Tests

Mikrodilusi dapat digunakan untuk menentukan KHM, yaitu konsentrasi terkecil suatu antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Mahoon dan Manuselis, 1995). Metode ini cocok untuk skrining aktivitas antimikroba karena metode ini lebih sensitif dan waktu pengujian yang cukup singkat (Zgoda dan porter, 2001). Pengujian ini dapat memberikan hasil yang kuantitatif jumlah antimikroba yang digunakan untuk mematikan bakteri (Jawetz dkk., 2005).

Pengujian Mikrodilusi berisi antara 80 dan 100 (biasanya 96) sumur diisi dengan volume kecil (biasanya 0,1 mL). Karena banyaknya sumuran, sebanyak 12 hingga 15 agen antimikroba dapat terkandung dalam satu plate yang kemudian akan diinokulasi dengan satu isolat bacterial. Faktor pengenceran yang tergantung pada volume inokulum yang dikirimkan ke masing-masing sumur oleh alat inokulasi.

II.4 Mikroba Uji

II.4.1 *Pseudomonas aeruginosa*

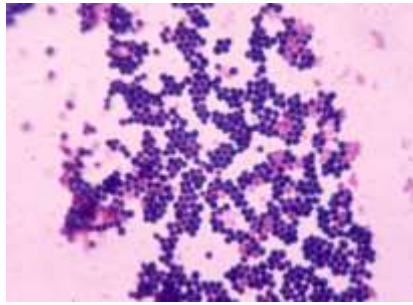
Pseudomonas aeruginosa termasuk kedalam bakteri gram negatif yang paling sering diisolasi dari pasien yang dirawat di ruang Intensive Care Unit (ICU) (Anandita, 2009). Bakteri ini dapat membentuk koloni yang bersifat safrofit pada manusia yang sehat namun dapat menyebabkan penyakit pada manusia yang memiliki system pertahanan tubuh yang tidak kuat. Bakteri ini memiliki bentuk batang dan motil, berukuran sekitar $0.6 \times 2 \mu\text{m}$, dalam bentuk tunggal, berpasangan, dan rantai pendek .(Jawetz, dkk., 2014). Bakteri ini terdapat di tanah, air, dan vegetasi yang umum. Bakteri ini ditemukan pada kulit beberapa orang sehat dan telah diisolasi dari tenggorokan (5 persen) dan tinja (3 persen) dari pasien yang tidak dirawat di rumah sakit. Dalam beberapa penelitian, tingkat penyakit gastrointestinal meningkat pada pasien yang dirawat di rumah sakit hingga 20 persen (Todar, 2012).



Gambar II. 2 *Pseudomonas aeruginosa*
(Sumber : Todar's Online Textbook of Bacteriology)

II.4.2 *Staphylococcus aureus*

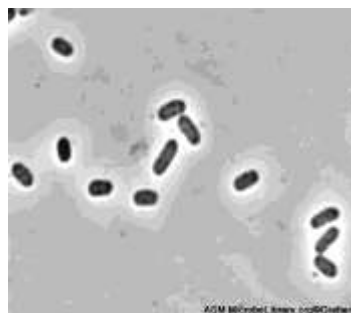
Staphylococcus aureus termasuk bakteri Gram-Positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , memiliki bentuk koloni yang tidak teratur seperti buah anggur (Syahrurahman, dkk., 2010). Bakteri ini merupakan patogen manusia yang menyebabkan berbagai manifestasi klinis. Bakteri ini ditemukan di lingkungan dan flora normal manusia, yang terletak di kulit dan selaput lendir (paling sering area hidung). (Mai, 2017)



Gambar II. 3 *Staphylococcus aureus*
(Sumber : Wistreich Collection)

II.4.3 *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri gram negatif yang memiliki lapisan luar lipopolisakarida yang terdiri atas membran dan lapisan peptidoglikan yang tipis dan terdapat pada periplasma. *Escherichia coli* merupakan flora normal saluran pencernaan manusia ataupun hewan. Berdasarkan sifat patogeniknya bakteri ini termasuk grup II terdiri dari strain yang memproduksi enterotoksin dan menyebabkan gejala enterotoksigenik, dan merupakan bakteri penyebab diare (Azizah, 2008).

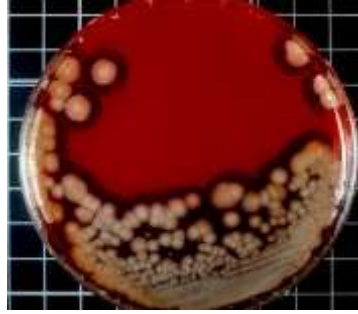


Gambar II. 4 *Escherichia coli*
(Sumber : ASM Microbe Library <http://www.microbelibrary.org>)

II.4.4 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus Merupakan bakteri gram positif yang termasuk ke dalam genus *Bacillus*. Bakteri ini memiliki bentuk batang yang berspora, memiliki sel yang berukuran besar jika dibandingkan dengan bakteri batang lainnya serta tumbuh secara aerob fakultatif. Untuk

membedakan bakteri ini dengan bakteri *Bacillus* lainnya dapat dilakukan dengan melihat ciri morfologi dan biokimia. Bakteri ini sering ditemukan pada makanan sehingga dapat menyebabkan sakit pada manusia sehingga termasuk ke dalam bakteri pathogen. Kasus yang terjadi sering dikaitkan pada makanan olahan dari tepung nabati seperti pasta, nasi, kentang, roti dan mie.(Nurwidiani, 2010).



Gambar II. 5 *Bacillus cereus*
(Sumber : Todar's Online Textbook of Bacteriology)