

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diare

2.2.1. Definisi

Diare berasal dari Bahasa Yunani “*Diarroi*” yang memiliki arti mengalir terus (Girma *et al.*, 2018). Menurut *World Health Organisation* diare merupakan kejadian buang air besar (defekasi) dengan konsistensi tinja lebih cair dari biasanya, serta frekuensi tiga kali atau lebih dalam periode 24 jam (WHO, 2017). Menurut Kemenkes diare merupakan kondisi dimana seseorang buang air besar dengan konsistensi terjadi lebih sering (biasanya tiga kali atau lebih) dalam sehari (Kemenkes RI, 2020). Diare adalah kumpulan beberapa gejala yang ditandai dengan tinja yang konsistensinya lebih lunak dan frekuensi defekasi yang meningkat dari biasanya (Analinta, 2019).

2.2.2. Etiologi

Diare merupakan penyakit berbasis lingkungan yang disebabkan oleh infeksi mikroorganisme meliputi:

1. Bakteri

Bakteri adalah kumpulan makhluk hidup prokariotik yang biasanya bersel tunggal dan tidak memiliki struktur terikat lapisan di sitoplasma. Bakteri dapat dipisahkan berdasarkan ukuran, cara kerja, dan reaksi terhadap agen antiinfeksi. Bentuk sel bakteri antara lain kokus (bulat), basil (batang), dan spirillum (spiral). Keadaan sel dapat menunjukkan ciri-ciri spesies bakteri, namun berfluktuasi tergantung pada kondisi pertumbuhan. Ukuran mikroorganisme berkisar antara 0,5 hingga 5µm (Hidayah, 2020).

a. Bakteri *Bacillus cereus*

Bacillus cereus termasuk bakteri gram positif yang berbentuk batang. Bakteri ini dapat bertahan hidup dalam berbagai suhu yaitu 10-50°C dan untuk suhu pertumbuhan optimal yaitu 28-35°C. Bakteri Ini menghasilkan dua jenis racun, yaitu racun emetik dan diare. Racun ini dapat menimbulkan

berbagai efek samping kontaminasi makanan. *Bacillus cereus* biasanya terdapat dalam susu, daging, dan gandum. Bahan pokok yang mengandung pati adalah tempat yang ideal untuk pengembangan *Bacillus cereus* (Rose Simanungkalit *et al.*, 2020).



Gambar 1. Morfologi Bakteri *Bacillus cereus*
(Rose Simanungkalit *et al.*, 2020)

b. Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli atau biasa disingkat *E. coli* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang. Bakteri *E. coli* biasanya hidup di sistem pencernaan manusia atau hewan. Secara fisiologis, *E. coli* dapat bertahan dalam keadaan alam yang keras, *E. coli* hidup dengan baik di air tawar, air laut atau tanah. (Sadomo and Siwiendrayanti, 2023).

Escherichia coli merupakan mikroorganisme yang hidup disaluran cerna dan merupakan individu dari mikrobiota pencernaan yang khas. Bakteri ini umumnya tidak bersifat patogen dan berperan dalam fungsi normal dan nutrisi saluran pencernaan. Bakteri menjadi patogen ketika mereka berada di luar sistem pencernaan (Lestari *et al.*, 2020). Bakteri ini menjadi patogen jika jumlahnya bertambah di sistem pencernaan atau sebaliknya jika mikroba berada di luar sistem usus. (Hutasoit *et al.*, 2020).



Gambar 2. Morfologi Bakteri *Escherichia coli* (Anggraeni, 2015).

c. Bakteri *Shigella sonnei*

Shigella sonnei memiliki keunggulan kompetitif atas *Shigella flexneri* dan berpotensi menyebabkan peningkatan prevalensi global. Karena bakteri ini mampu bertahan dalam asam lambung dan memiliki keunggulan kompetitif di usus, diperkirakan memiliki prevalensi kemampuan menular yang tinggi. *Shigella sonnei* adalah bakteri yang memiliki endospore, berbentuk batang, gram negatif, non-motil yang terkait dengan *Salmonella* dan *Escherichia coli* (Biosilampari *et al.*, 2022).

Shigella sonnei mempunyai kemampuan untuk bertahan hidup selama tujuh minggu pada linen kotor, 5 hari pada lingkungan air tawar, sedangkan 12-30 jam pada air garam dan media pembawa dapat mengeluarkan kotoran hingga 2 minggu setelah infeksi atau kadang-kadang lebih lama. Faktor musim juga mempengaruhi tingkat infeksi *Shigella sonnei*, karena kemungkinan besar terjadi pada musim panas dan hujan, sedangkan di daerah beriklim tropis, infeksi ini terjadi sepanjang tahun (Shad and Shad, 2021).



Gambar 3. Morfologi Bakteri *Shigella sonnei* (Zakwan *et al.*, 2018).

2. Virus

Virus merupakan penyebab utama diare akut pada manusia, diantaranya: *Rotavirus*, *norovirus*, *adenovirus*, *enterovirus*, *astrovirus*.

3. Parasit

Berbagai spesies protozoa dan cacing dapat menimbulkan diare akut diantaranya: cacing (*Ascori*, *Trichoris*, *Oxyuris*, *Histolitika*, *Gardia lambia*, *Tricomonas hominis*), jamur (*Candida albicans*).

Beberapa organisme tersebut biasanya menginfeksi saluran pencernaan manusia melalui makanan yang telah tercemar oleh organisme tersebut (*food brorne disease*) (UNICEF, 2022). Menurut Kemenkes diare dapat dibagi menjadi empat macam, yaitu: (Kemenkes RI, 2020).

1. Diare akut

Diare yang berlangsung kurang dari 2 minggu atau 14 hari (umumnya di bawah 7 hari). Akibat dari diare adalah dehidrasi, yang merupakan penyebab utama kematian bagi penderita diare pada balita.

2. Disentri

Kejadian diare yang disertai dengan darah yang terdapat dalam tinja. Akibat disentri diketahui yaitu: anoreksia, penurunan berat badan dengan cepat, kemungkinan terjadi komplikasi pada mukosa.

3. Diare Persisten

Kejadian diare yang berlangsung lebih dari 14 hari secara terus menerus. Akibat diare persisten diketahui, yaitu: penurunan berat badan dan gangguan metabolisme.

4. Diare dengan Masalah Lain

Pada orang yang menderita diare (diare akut dan diare persisten), mungkin juga disertai dengan penyakit lain seperti: demam, gangguan gizi atau penyakit lainnya.

2.2.3. Patofisiologi

Patofisiologi diare akan terbagi menjadi tiga tahapan yaitu gangguan osmotik, gangguan motilitas usus dan gangguan sekresi (Kelly *et al.*, 2018).

1. Gangguan osmotik

Makanan yang tidak diserap oleh tubuh dengan baik dapat mengakibatkan tekanan osmotik di usus meningkat dan air serta senyawa elektronik akan berpindah ke rongga usus. Isi usus yang berlebih kemudian akan mendorong usus untuk mengeluarkan isinya, sehingga mengakibatkan diare (Kelly *et al.*, 2018).

2. Gangguan motilitas usus

Peningkatan motilitas usus dapat menyebabkan berkurangnya fungsi usus dalam penyerapan makanan, sehingga akan timbul diare. Sebaliknya jika terjadi penurunan motilitas usus maka akan terjadi penumpukan bakteri yang kemudian akan menimbulkan diare (Kelly *et al.*, 2018).

3. Gangguan sekresi

Gangguan sekresi terjadi apabila terdapat rangsangan tertentu misalnya yang disebabkan oleh adanya toksin yang terdapat pada usus akan mengakibatkan terjadinya peningkatan sekresi cairan dan zat elektrolit ke dalam usus yang akan menyebabkan terjadi peningkatan isi dari usus dan akan terjadi diare (Kelly *et al.*, 2018).

2.2.4. Penatalaksanaan

Berdasarkan penatalaksanaan diare terdapat terapi nonfarmakologi dan farmakologi sebagai berikut:

1. Nonfarmakologi

Pengelolaan pola makan merupakan prioritas pertama dalam pengobatan diare. Air dan elektrolit adalah tujuan pengobatan utama sampai diare berakhir. Rute parenteral dan enteral dapat digunakan untuk memasok air dan elektrolit. Jika muntah dan dehidrasi tidak parah, pemberian makanan enteral adalah metode yang lebih murah dan lebih disukai (DiPiro, 2020).

Tabel 1. Cairan Rehidrasi Oral (*Oral Rehydration Solution*)

	WHO- ORSYT ^a	Pedialyte ^b (Ross)	CeraLyte (Cera Products)	Enfalyte (Mead Johnson)
Osmolality (mmol/kg)	245	250	220	167
Carbohydrates ^b (g/L)	13.5	25	40	30
Calories (cal/L [J/L])	65 (272)	1100 (418)	160 (670)	126 (527)
Electrolytes (mEq/L;mmol/L) ⁷⁵				
Sodium	75	45	50-90	50
Potassium	20	20	20	25
Chloride	65	35	40-80	45
Citrate	-	30	30	34
Bicarbonate	30	-	-	-

2. Farmakologi

Berbagai obat telah digunakan untuk mengobati serangan diare, termasuk agen antimotilitas, adsorben, senyawa antisekresi, antibiotik, enzim, dan mikroflora usus. Biasanya obat ini tidak bersifat kuratif melainkan paliatif (DiPiro, 2020).

a. Obat Antidiare

Beberapa agen untuk mengobati serangan diare dibawah ini merupakan obat antidiare sebagai berikut:

Tabel 2. Pilihan Sediaan Antidiare

Bentuk Dosis		Dosis Dewasa
Antimotility		
Diphenoxylate	2.5 mg/ tablet 2.5 mg/5 mL	5 mg 4 kali sehari; jangan melebihi 20 mg/hari
Loperamide	2 mg/kapsul	Awalnya 4 mg, dan kemudian 2mg setelah buang air besar;jangan melebihi 16 mg/hari
Paregoric	2 mg/5 mL (morphine)	5-10 mL 1-4 kali sehari
Opium tincture	10 mg/mL (morphine)	0,6 mL 4 kali sehari
Difenoxin	1 mg/tablet	2 tablet, dan kemudian 1 tablet setiap setelah buang air besar;hingga 8 tablet/hari
Adsorbents		
Kaolin-pectin mixture	5.7 g kaolin + 130.2 mg pectin/30mL	30-120 mL setiap setelah buang air besar
Polycarbophil	500 mg/tablet	Kunyah 2 tablet 4 kali sehari / setelah buang air besar; janganmelebihi 12 tablet/hari
Attapulgate	750 mg/15 mL	1.200-1.500 mg setiap setelahbuang air besar / 2 jam; hingga 9.000 mg/hari
	300 mg/7.5 mL	
	750 mg/tablet	
	600 mg/tablet	
	300 mg/tablet	
Antisecretory		
Bismuth subsalicylate	1,050 mg/30 mL	2 tablet / 30 mL stiap 30 menit – 1 jam sesuai kebutuhan hingga 8dosis/hari
	262 mg/15 mL	
	524 mg/15 mL	
	262 mg/tablet	
Enzymes (lactase)	1,250 neutral lactase untits/4drops	3-4 tetes diminum dengan susuatau produk susu
	3,300 FCC lactase units per tablet	
Bacterial replacement		
(Lactobacillus acidophilus,Lactobacillus bulgaricus)		2 tablet/ satu paket butiran 3-4kali sehari; berikan dengan susu, jus atau air
Octreotide	0.05 mg/mL	Awal: 50 mcg subkutan 1-2 kali sehari dan titrasi dosis berdasarkan indikasi hingga 600mcg/hari dalam 2-4 dosis terbagi
	0.1 mg/mL	
	0.5 mg/mL	

b. Obat Antibiotik: Ciprofloxacin



Gambar 4 Antibiotik Ciprofloxacin (Dokumentasi Pribadi)

Ciprofloxacin termasuk dalam antibiotik spektrum luas, yang bermanfaat dalam pengobatan infeksi berat dan dapat digunakan dengan aman dalam dosis rendah dengan waktu yang singkat. Ciprofloxacin adalah golongan kuinolon yang paling efektif dalam melawan bakteri gram positif maupun gram negatif. Mekanisme kerja ciprofloxacin, dengan menghambat pada DNA gyrase dalam organisme, sehingga terjadi penghambatan DNA superkoil dan merusak double-stranded DNA (Faujiah *et al.*, 2023).

2.2. Tinjauan Botani Kawista

Tinjauan botani dari kulit dan daging buah kawista (*Limonia acidissima* Groff) meliputi klasifikasi tanaman, sinonim, nama daerah, morfologi tumbuhan, ekologi, penyebaran, khasiat, kegunaan, dan kandungan kimia.



Gambar 5. Tanaman Kawista (Dokumentasi Pribadi)

2.2.1. Klasifikasi Tanaman

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subklas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Limonia
Spesies	: <i>Limonia acidissima</i> Groff (Vijayvargia and Vijayvergia, 2014)

2.2.2. Sinonim

Nama lain dari *Limonia acidissima* Groff adalah *Feroniaele phantom* Correa, *Feronia limonia* (L) Swingle, *Schinus limonia* L. (Vijayvargia and Vijayvergia, 2014)

2.2.3. Nama daerah

Pada beberapa daerah *Limonia acidissima* Groff dikenal dengan nama yang berlainan, antara lain : Kawis, Kawista, Kinca (Jawa Tengah), Bila, Kabista, Karabista (Madura) Kawista (Sunda), *Wood-apple* (Inggris), *Olifantsappel* (Belanda), *Belingai* (Malaysia).

2.2.4. Morfologi Kawista

Pohon kawista bisa tumbuh setinggi 9 meter. Pohon ini hidup di daerah kering dengan permukaan tanah 450 meter di atas permukaan laut. Pohon itu memiliki kulit kayu yang kasar, berkayu, dan berduri. Durinya pendek, lurus, panjang 2-5 cm. Daunnya berwarna hijau kusam, kasar, panjang 3-5 inci. Bunganya kecil-kecil berwarna merah kusam atau kehijauan. Buahnya berbentuk bulat, besar dan lebarnya 2-5 meter, sedangkan kulit kulit buah keras, berkayu, dan berwarna putih keabu-abuan. Pulp kawista mempunyai warna yang coklat, lengket, wangi dan harum (Shah *et al.*, 2020).



Gambar 6. Buah Kawista (Dokumentasi Pribadi)

2.2.5. Ekologi dan Penyebaran

Kawista atau (*Limonia acidissima* Groff) pertama kali dipublikasikan oleh Linnaeus pada tahun 1763. Kawista merupakan sejenis tumbuhan yang termasuk dalam famili jeruk (Rutaceae). Tanaman ini berkerabat langsung dengan maja, yaitu sejenis jeruk yang berasal dari Asia tropis dan subtropis. Tanaman kawista dahulunya berasal dari india terutama di daerah-daerah kering. Selain tumbuh subur di daerah kering india, tanaman ini diperkirakan pula tumbuh subur di daerah-daerah kering Srilanka, Myanmar dan Indo-China. Kemudian menyebar ke Malaysia dan Indonesia. Tanaman ini biasanya tumbuh di daerah tropis muson yang sewaktu-waktu mengalami musim kering, mempunyai adaptasi yang baik pada daerah yang kering dan tanah yang berpasir (Muna, 2014).

2.2.6. Habitat Kawista

Salah satu tempat yang banyak ditemukan tanaman kawista adalah di kabupaten Subang. Kabupaten Subang terletak di bagian utara Provinsi Jawa Barat meliputi wilayah seluas 205.176,95 ha atau dari luas Provinsi Jawa Barat. Wilayah ini terletak diantara $107^{\circ} 31' - 107^{\circ} 54'$ Bujur Timur dan $6^{\circ} 11' - 6^{\circ} 49'$ Lintang Selatan (Ady and Utami, 2015). Pohon ini banyak tumbuh di daerah tepi pantai dan daerah kering dan telah beradaptasi dengan baik pada tanah yang kurang subur.

2.2.7. Manfaat Tumbuhan Kawista (*Limonia acidissima* Groff)

Seluruh potongan kawista dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional karena memiliki aktivitas antimikroba, antifungi, antiinflamasi dan untuk mengobati atau memperbaiki berbagai penyakit. Buah Kawista digunakan sebagai penambah stimulant, batuk, cegukan, asma, kanker, oftalmia dan keputihan. Buah

kecil atau bijinya digunakan untuk penyakit jantung koroner (Vijayvargia and Vijayvergia, 2014).

1. Empiris

Buah Kawista dapat diminum murni atau dicampur ke dalam berbagai minuman dan camilan atau diolah menjadi selai. Serta dapat diminum mentah-mentah tanpa gula, dicampur dengan santan dan sirup gula aren dan dibekukan seperti yogurt beku. Buah kawista di Indonesia dapat dijadikan menu santap pagi dengan memadukan kawista dengan madu. Daun kawista dimakan seperti sajian salad di Thailand (Vijayvargia and Vijayvergia, 2014). Salah satu contoh pemanfaatan tanaman kawista dalam pengobatan yang menjadi kebiasaan masyarakat adalah mengkonsumsi buah kawista mentah untuk mengobati penyakit diare (Ridwanuloh and Mursal, 2018). Dan lembaran daun kawista dapat dimanfaatkan sebagai obat batuk dengan cara diseduh menggunakan air hangat (Nurdiana *et al.*, 2016).

2. Ilmiah

Beberapa penelitian yang telah dilakukan diantaranya sebagai berikut:

Tabel 3. Penelitian Ilmiah Kulit dan daging buah Kawista (*Limonia acidissima* Groff)

Penelitian	Judul Artikel	Konsentra si (%)	Zona Hambat (mm)	Keteranga n
(Pandey <i>et al.</i> , 2014)	Evaluation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of exotic fruit " <i>Limonia acidissima</i> "	50	<i>Staphylococcus aureus</i> (12 & 18.3) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (16.6& 25.3)	Kuat-Sangat Kuat
(Supriatno and Aulia, 2018)	Uji Fitokimia dan antibakteri Ekstrak etanol Buah Kawista (<i>Limonia acidissima</i> L.) pada Bakteri <i>Escherichia coli</i>	30	11,692	Kuat
		40	14,358	
		50	16.141	
(Jamil <i>et al.</i> , 2020)	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista (<i>Limonia acidissima</i>) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	25	15,49	Kuat
		50	17,37	Kuat
		75	22,49	Sangat kuat
(Veryanti <i>et al.</i> , 2021)	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Buah Kawista (<i>Limonia acidissima</i>) terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> dan <i>Salmonella typhi</i>	10	11,19 & 11,3	Kuat
		20	14,68 & 13,53	Kuat
		40	17,25 & 15,51	Kuat
		80	21,42 & 20,93	Sangat Kuat

2.2.8. Kandungan Kimia

Nutrisi dalam 100 gram buah kawista mengandung 140 kcal, diantaranya mengandung karbohidrat protein, kaya akan beta karoten vitamin B, vitamin C, vitamin B1 dan vitamin B2 (Vijayvargia and Vijayvergia, 2014). Selain itu, dilaporkan memiliki kandungan lemak yang rendah 4,38%, kalsium, magnesium, zat besi, dan seng dalam jumlah tinggi. Fosfor dan kalsium dalam jumlah yang tinggi juga ditemukan berperan penting dalam pembentukan tulang, pembekuan darah, dan proses metabolisme lainnya. Kehadiran zat besi dalam buah menunjukkan efektivitas melawan anemia, tuberculosis dan gangguan lainnya (Parvez and Sarker, 2021). Buah kawista juga mengandung senyawa kimia kumarin yang diperoleh dari akar kawista, zat antitumor pektat polisakarida, sebagai anitimikroba yang berasal dari bagian kulit kayunya dan sebagai larvasida. Berdasarkan penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa kandungan fitokimia terdiri dari senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid (Pandey *et al.*, 2014).



Gambar 7. Kulit dan Daging Buah Kawista (Dokumen Pribadi)

Buah yang mentah mengandung stigmasterol. Daging buahnya mengandung sejumlah besar asam sitrat dan asam buah lainnya. Alkaloid, kumarin, asam lemak, dan sterol telah terdeteksi mengandung umbeliferone, dictamine, xantotoxol, scoparone, xanthotoxin, isopimpinellin, isoimperatorin dan marmin (Vijayvargia and Vijayvergia, 2014).

Tabel 4. Kandungan Buah Kawista (Hiwale, 2015).

Component	Fruit pulp	Seeds
Moisture (%)	64.20	4.00
Protein (%)	7.10	26.18
Fat (%)	3.70	27.10
Carbohydrates (%)	18.10	35.49
Ash (%)	5.00	5.03
Calcium (%)	13.00	1.58
Phosphorus (%)	110.00	1.43
Iron (%)	0.60	0.03
Tannins (%)	1.03	0.08
Ether extract (%)	0.60	-
Mineral matter (g)	1.90	-
Fiber (g)	5.00	-
Riboflavin ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	0.17	-
Vitamin C ($\text{mg}/100\text{g}$)	3.00	-
Carotene (μg)	6.10	-
Thiamin (μg)	0.04	-
Niacin (μg)	0.80	-
Energy (k/cal)	134.00	-

2.3. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan yaitu metode difusi agar dan dilusi (CLSI, 2009).

1. Metode Difusi agar

Difusi agar memiliki tiga metode yaitu metode kertas cakram, metode perforasi, dan metode silinder.

a. Metode kertas cakram

Metode ini dilakukan dengan cara menggunakan kertas cakram saring (*paper disk*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas cakram diletakkan diatas agar yang telah mengering dan berisi suspensi mikroba uji, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam untuk bakteri dan suhu 25°C selama 24-72 jam untuk jamur. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk disekitar cakram kertas.

Tabel 5. *Breakpoint* dan Definisi Kategori Interpretif (CLSI, 2020).

Interpretive Category	Breakpoints	
	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	Zone Diameter (mm)
Susceptible	≤ 4	≥ 20
Susceptible-Dose Dependent	8-16	15-19
Intermediate	8-16	15-19
Resistant	≥ 32	≤ 14
Nonsusceptible	>4	< 20

b. Metode perforasi

Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan suspensi mikroba pada cawan petri yang telah berisi media dan biarkan mengering. Selanjutnya dibuat beberapa lubang menggunakan perforator dengan diameter 6-8 mm, lalu zat uji dimasukkan ke dalam lubang dan inkubasi menggunakan incubator. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

c. Metode silinder

Metode ini dilakukan dengan menggunakan silinder gelas steril dengan diameter 4,4 mm. Silinder steril diletakkan diatas permukaan media yang sudah mengering yang berisi agar dan suspensi mikroba. Selanjutnya, zat uji dimasukkan ke dalam silinder, kemudian diinkubasi. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur disekitar silinder.

2. Metode Dilusi

a. Metode mikrodilusi

Metode ini menggunakan sejumlah volume kecil broth pada microplate yang memiliki well berbentuk bulat. Setiap well dapat diisi sebanyak 100 μL . pengujian ini menggunakan standar dari CLSI. Pengujian dilakukan dengan menyiapkan larutan uji dan suspensi mikroba dicampur dan diinkubasi (CLSI, 2009).

b. Metode pengenceran tabung

Metode ini dilakukan dengan cara zat uji disuspensikan ke dalam media yang cocok dengan menggunakan tabung steril. Pembentukan cair

dimasukkan ke dalam tabung, tabung pertama ditambahkan zat uji, lalu dikocok dan dipindahkan 1 mL ke dalam tabung yang kedua dan seterusnya sampai tabung yang terakhir. Selanjutnya dimasukkan 0,1 mL suspensi mikroba uji yang telah diinkubasi ke dalam setiap tabung. Satu tabung digunakan untuk kontrol pembenihan dan satu tabung yang lain digunakan untuk mikroba uji selanjutnya diinkubasi.

c. Metode pengenceran agar

Metode ini dilakukan dengan cara zat uji dicampurkan dengan agar steril yang masih cair pada suhu 45-50°C sampai homogen dalam cawan petri steril kemudian biarkan sampai mengering. Selanjutnya mikroba dioleskan pada permukaan agar dengan menggunakan jarum ose secara merata. Konsentrasi hambat minimum ditandai dengan tidak tumbuhnya mikroba pada permukaan agar.

2.4. Uji Bioautografi

Bioautografi berasal dari kata bio yang berarti makhluk hidup dan autografi berarti menyelesaikan aktivitas sendiri. Bioautografi merupakan suatu teknik pendeteksian untuk menemukan senyawa antimikroba yang belum dapat dibedakan dengan membatasi pergerakan antimikroba dalam suatu kromatogram. Teknik ini menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Bioautografi ini didasarkan pada dampak alami seperti antibakteri, antiprotozoa, antitumor, dan lain sebagainya dari zat yang dimaksud. Ciri dari strategi bioautografi adalah bergantung pada teknik difusi agar, dimana senyawa antimikroba dipindahkan dari lapisan KLT ke media agar yang telah diinokulasikan secara merata dengan mikroorganisme uji yang peka. Dari hasil inkubasi pada suhu dan waktu tertentu, akan terlihat zona hambat di sekitar titik KLT yang telah dihubungkan dengan media agar. Zona hambat ditemukan oleh aktivitas senyawa aktif yang terkandung dalam bahan yang dianalisis terhadap perkembangan mikroorganisme uji (Lukman, 2016).