

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Daun Mindi Kecil

Mindi kecil kerap kali ditanam di sisi jalan sebagai pohon pelindung. Kadang tumbuh liar di daerah-daerah dekat pantai. Pohon yang tumbuhnya cepat dan berasal dari Cina ini dapat ditemukan dari dataran rendah sampai pegunungan.



Gambar 2.1 Penampilan Daun Mindi Kecil (Dokumen Pribadi, 2019)

2.1.1 Morfologi

Tanaman daun mindi kecil ini memiliki pohon yang bercabang banyak, mempunyai kulit batang yang berwarna coklat tua dengan tinggi sampai 4 m. Daunnya majemuk, menyirip ganda, tumbuh berseling dengan panjang 20-80 cm. Anak daun bentuknya bulat telur sampai lanset, tepi bergerigi, ujung runcing, pangkal membulat atau tumpul, permukaan atas daun berwarna hijau tua, bagian bawah hijau muda, panjang 3-7 cm, lebar 1,5-3 cm. Bunga majemuk dalam malai yang panjangnya 10-20 cm, keluar dari ketiak daun. Daun mahkota berjumlah 5, panjangnya sekitar 1 cm, warnanya ungu pucat dan berbau harum. Buahnya buah

batu, bulat, diameter sekitar 1,5 cm. Jika masak warnanya coklat kekuningan dan berbiji satu. Perbanyakkan dengan biji (Dalimartha, 2008).

2.1.2 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales
Family	: Meliaceae
Genus	: Melia
Spesies	: <i>Melia azedarach</i> L (Determinasi LIPI,2019)

2.2 Tinjauan tentang Kandungan Zat Aktif Daun mindi kecil

Dari hasil kromatogram diketahui daun mindi kecil mengandung toosendanin dan komponen yang larut. Selain itu, juga terdapat alkaloid *azaridine* (margosina), kempferol, resin, tanin. Kulit akar kurang toksik dibanding kulit kayu.

Biji mengandung resin yang sangat beracun, 60% minyak lemak terdiri dari asam stearat, palmitat, oleat, linoleat, laurat, valerianat, butirat, dan sejumlah kecil minyak esensial sulfur.

Buah mengandung sterol, katekol, asam valinat, dan asam bakayanat. Daun mengandung alkaloid paraisina, flavonoid, zat pahit, saponin, tanin, steroida, dan kaemferol (Dalimartha, 2008).

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidrokalisasi, alkalisasi, atau glikolisasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya.

Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur proses fotosintesis sebagai zat antimikroba, antivirus dan antiinsektisida. Menurut (Sulastrianah, dkk 2014) flavonoid memiliki aktivitas mengganggu sintesis membran sel melalui penghambatan yang mengakibatkan penggabungan rantai glikan tidak terhubung silang ke dalam peptidoglikan membran sel sehingga menuju suatu struktur yang lemah dan menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi penyerangnya.

Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1,-diarilpropan atau neoflavonoid (Sulastrianah dkk, 2016).

2.2.2 Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida triterpenoida ataupun glikosida steroida yang merupakan senyawa aktif, permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisa sel darah merah. Pola glikosida saponin kadang-kadang rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponennya yang umum ialah asam glukuronat. Glikosida saponin adalah glikosida yang aglikonya berupa saponin, saponin terbesar luas diantara tanaman tinggi, keberadaan saponin sangat mudah ditandai dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila dikocok menimbulkan buih yang stabil, saponin merupakan senyawa berasa pahit menusuk dan dapat menyebabkan bersin, senyawa saponin dapat pula diidentifikasi dari warna yang dihasilkan dengan pereaksi. Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak membran sel bakteri akibatnya terjadi peningkatan permeabilitas membran karena saponin yang berinteraksi dengan dinding sel bakteri, rusaknya membran sel bakteri menyebabkan bocornya membran sel bakteri dan akhirnya komponen penting dari dalam sel bakteri akan keluar (Sulastrianah, 2014).

2.2.3 Tanin

Tanin merupakan zat organik yang sangat kompleks dan dapat terurai pada suhu 98,8°C terdiri dari senyawa fenolik yang banyak terdapat pada bermacam-macam tumbuhan, umumnya tanin tersebar pada bagian kulit kayu, batang, daun dan buah (Sajaratud, 2013). Tanin biasanya disebut juga asam tanat atau galatонат, tanin memiliki sifat kelarutan sangat mudah larut dalam air, tidak larut

dalam kloroform (secara kimia tanin dibagi menjadi empat golongan yaitu tanin terhidrolisis, tanin terkondensasi, tanin kompleks pseudotanin). Istilah tanin pertama kali diaplikasikan pada tahun 1796 oleh Seguin. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat di antara antibakteri. Menurut (Sulastrianah, dkk 2014) tanin merupakan salah satu senyawa yang dapat mengendapkan protein, tanin dapat berperan sebagai antibakteri karena sifatnya yang dapat menginaktivasi enzim, bereaksi dengan membran sel, inaktivasi fungsi materi genetik yang berada pada sel bakteri. Selain itu pada bakteri gram negatif terdapat sisi hidrofilik yaitu gugus karboksil, amino, fosfat dan hidroksil yang peka terhadap senyawa polar sehingga tanin yang lebih bersifat polar dapat lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram negatif.

2.3 Tinjauan tentang Bakteri

2.3.1 Definisi Bakteri

Bakteri adalah organisme tingkat rendah yang amat kecil, berbentuk peluru, batang atau sekrup dan lazim di golongkan dalam jamur belah. (Prawihartono, 1991:70) Bakteri adalah suatu organism prokariot yang tidak mempunyai inti sejati dan komponen keturunannya terdapat didalam molekul DNA tunggal kromosom yang letaknya bebas didalam sitoplasma (Fadiaz, 1992:90) Berdasarkan definisinya tersebut dapat disimpulkan bahwa bakteri adalah suatu makhluk hidup bersel tunggal dengan berbagai bentuk dan hidup bebas di alam.

Sebagian besar bakteri bersifat merugikan bagi kehidupan, namun ada pula yang menguntungkan, bakteri yang menguntungkan dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi dan pembuatan makanan. Sedangkan bakteri yang merugikan

dapat menjadi agen infeksi pada makhluk hidup, khususnya pada manusia dengan daya tahan tubuh yang rendah. Selain itu bakteri merugikan dapat menjadi patogen infeksi nosokomial di Rumah Sakit, seperti *Escherichia coli*.

2.3.2 Klasifikasi bakteri *Escherichia coli*.

Bakteri *Escherichia coli* termasuk dalam :

Divisi : Protopyta

Kelas : *Shizomyces*

Bangsa : *Eunbacteria*

Suku : *Enterobacteriaceae*

Marga : *Escherriachia*

Jenis : *Esherrichia coli* (Adipoetra, 1986: 06)

2.3.3 Morfologi Bakteri



Gambar 2.2 Gambar mikroskopis bakteri *Escherichia coli* (Mahon C dkk, 2015)

E.coli merupakan bakteri fakultatif anaerob, kemoorganotropik, mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi. Pertumbuhan yang baik pada suhu optimal 37⁰ C

Pada media yang mengandung 1% pepton sebagai sumber karbon dan nitrogen. *E coli* memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang

digunakan pada makanan dan air. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negative yang bentuknya seperti batang, pendek dan yang memiliki panjang sekitar 2 μm , lebar 0,4-0,7 μm , diameter 0,7 μm dan bersifat anaerob fakulatatif (Anggraeni, 2012).

E. coli membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata *Escherria coli* merupakan bakteri gram negative yang bentuknya seperti batang, pendek dan yang memiliki panjang sekitar 2 μm , lebar 0,4-0,7 μm , diameter 0,7 μm dan bersifat anaerob fakulatatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata *E. coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *E. coli* berasosiasi dengan enteropatogenetik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Brooks, et al.2001)

E. coli memiliki sejumlah toksin yang serotip tertentu. Serotip-serotip ini memiliki beberapa adaptasi tespesialisasi dan menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda (Irianto, 2014). *E. coli* pada media differential dan selektif (Soemarno 2009) Mac Conkey : koloni sedang, merah bata atau merah tua, metallic, smooth, keeping atau sedikit cembung. Pada EMB agar : koloni sedang, smooth, keeping kehijau-hijauan metallic.

2.3.4 Pembiakan

Bakteri ini dapat tumbuh dengan cepat selama 24 jam, tumbuh dengan baik pada suhu 20-24 °C. *Escherichia coli* dapat tumbuh pada garam-garam ammoniom glukosa. Pada lempeng agar selama 12-24 jam sudah memperlihatkan

pembukaan koloni yang khas (Bonang, 1982 :71)

2.3.5 Sifat-sifat Pertumbuhan

Bakteri *Escherichia coli* mampu mengadakan fermentasi dan memecahkan karbohidrat dengan membentuk asam, gas seperti H_2SO_4 dan H_2 yang kira-kira sama jumlahnya dengan dextrose .Sebagian besar gram negative mempunyai kompleks lipo- polisakarida pada dinding selnya seperti halnya pada *Escherichia coli* (Cruschak, 1973 : 544-546)

2.3.6 Manfaat dan Patogenesis

Bakteri *Escherichia coli* adalah anggota floral nomor usus. *Escherichia coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri organik yaitu CO_2 , H_2O_4 dan mineral. Di dalam lingkungan bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswara, 1995)

Bakteri *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *Escherichia coli* berasosiasi dengan enterotoksin pada sel epitel (Jatwetz, 1995)

Manifestasi klinik oleh *Escherichia coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain

(Jatwetz, 1995) penyakit yang disebabkan *Escherichia coli* yaitu infeksi saluran kemih, diare, sepsis dan meningitis.

2.4 Senyawa Antibakteri

2.4.1 Pengertian Antibakteri

Antibakteri adalah suatu komponen kimia yang berkemampuan dalam mematikan bakteri (Volk dan Wheeler, 1998:2004) bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang) mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri (Plezer dan Chan, 1998:2004) berdasarkan definisi diatas dapat diartikan bahwa antibakteri adalah suatu bahan yang merugikan (merupakan racun) bagi bakteri dan berkemampuan dalam menghambat dan mematikan bakteri.

Penggunaan antibakteri bertujuan sebagai usaha pengendalian terhadap bakteri yaitu untuk menghambat, membasmi atau membunuh bakteri. Usaha pengendalian tersebut meliputi beberapa hal yaitu, mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi bakteri pada inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan dan perusakan bakteri.

2.4.2 Jenis Senyawa Antibakteri

Senyawa Antibakteri dapat berasal dari tumbuhan atau bahan- bahan kimia. Antibakteri dapat berupa zat padat, cair dan gas yang dicirikan oleh komposisi molekuler yang pasti dapat menyebabkan terjadi reaksi (Pelezer dan Chan 1998 : 504) menyatakan bahwa terdapat beberapa kelompok kimia yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri, antara lain persenyawaan alkohol, unsur halogen dan logam berat.

Menurut Dijoseputro (1994 : 99) suatu bahan dikatakan memiliki daya antibakteri yang baik jika bahan tersebut memiliki sifat antara lain tidak meracuni jaringan tubuh, tidak menyebabkan rasa sakit, dapat diminum, warna mudah dihilangkan jika mengenai pakaian. Selain itu (Pelezer dan Chan 1998 : 453) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi senyawa antibakteri maka semakin besar daya antibakterinya. Meskipun demikian tidak ada satupun senyawa antibakteri yang terbaik bagi semua tujuan karena beragam kondisi, perbedaan cara kerja serta begitu banyaknya macam sel mikroba yang harus dimusnahkan.

2.4.3 Mekanisme Kerja Antibakteri

Menurut Volk dan Wheeler (1998 ; 219) antibakteri dalam melakukan efeknya harus mampu mempengaruhi bagian sel yang vital seperti membrane, sitoplasma, enzim dan protein. (Pelezar dan Chan (1998 : 457) menyatakan bahwa cara kerja senyawa antibakteri dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut:

1. Merusak Dinding Sel

Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku yaitu dinding sel yang mengelilingi secara lengkap sitoplasma membran sel. Dinding sel berisi polimer mucopeptida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang tinggi, polisakarida ini berisi gula amino N-acetylglucosamine dan asam acetylmuramic (hanya ditemui pada bakteri) (Jawetz et al., 1995). Dinding ini mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri dari perbedaan tekanan osmotik di dalam dan di luar sel yang tinggi. Dinding sel bakteri terdiri dari

peptidoglikan dan komponen yang lain. Sel yang aktif secara kontinyu mensintesis peptidoglikan yang baru dan menempatkannya pada posisi yang tepat pada amplop sel. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga menyebabkan pembentukan dinding sel yang lemah dan menyebabkan pemecahan osmotik (Talaro, 2008)

2. Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif, memiliki fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian (Jawetz et al., 1995). Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif dan mengontrol komposisi internal sel. Antibakteri (polymyxins) berikatan dengan membran fosfolipid yang menyebabkan pemecahan protein dan basa nitrogen sehingga membran bakteri pecah yang menyebabkan kematian bakteri (Talaro, 2008).

3. Penghambatan terhadap sintesis protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat

mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar et al., 2008). Kebanyakan obat menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom RNA. Mekanisme kerjanya antara lain dengan menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan rantai peptida (Pelczar et al., 2008). Ribosom eukariotik berbeda dalam ukuran dan struktur dari prokariotik, sehingga menyebabkan aksi yang selektif terhadap bakteri. Bakteri mempunyai 70S ribosom, sedangkan sel mamalia mempunyai 80S ribosom. Subunit masing-masing tipe ribosom, komposisi kimia dan spesifikasi fungsinya berbeda. Perbedaan tersebut dapat untuk menerangkan mengapa antibakteri dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia (Talaro, 2008; Jawetz et al., 1995)

4. Penghambat Sintesa Asam Nukleat

Pembentukan DNA dan RNA bakteri merupakan perjalanan yang panjang dan membutuhkan enzim di beberapa proses. Pembentukan DNA dan RNA sangat penting dan berefek dalam metabolisme protein. Antibakteri menginterferensi sintesis asam nukleat dengan menghambat sintesis nukleotida, menghambat replikasi, atau menghentikan transkripsi. Obat berikatan sangat kuat pada enzim DNA Dependent RNA Polymerase bakteri, sehingga menghambat sintesis RNA bakteri. Resistensi pada obat-obat ini terjadi akibat perubahan pada RNA polymerase akibat mutasi kromosom yang sangat sering terjadi (Jawetz et al., 1995)

2.4.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Antibakteri

Faktor yang mempengaruhi kerja antibakteri ada beberapa faktor yaitu :

1. Konsentrasi senyawa antibakteri, menurut Volk dan Wheeler (1998 ; 221) bahwa semakin tinggi konsentrasi senyawa antibakteri semakin tinggi daya antibakterinya
2. Jumlah mikroorganisme, perusak mikroorganisme oleh suatu antibakteri merupakan suatu proses yang teratur dan tidak mungkin semua bakteri akan mati dalam waktu yang bersamaan. Menurut Pelezer dan Chan (1988) semakin lama suatu bakteri berada dibawah pengaruh senyawa antibakteri semakin besar kemungkinan matinya bakteri tersebut.
3. Suhu, Pelezer dan Chan (1988) menyatakan bahwa kenaikan suhu dibawah suhu maksimal secara terus menerus dapat meningkatkan efektifitas senyawa antibakteri. Hal ini disebabkan zat kimia merusak bakteri melalui reaksi kimia laju, reaksi kimia dipercepat dengan kenaikan suhu.
4. Adanya bahan organik asing dapat menurunkan efektifitas suatu antibakteri. Hal tersebut disebabkan adanya penggabungan antibakteri dengan bahan organik membentuk produk yang tidak bersifat antibakteri, menghasilkan suatu endapan yang mempengaruhi daya antibakteri dan akumulasi bahan organik pada permukaan bakteri menjadi suatu pelindung yang dapat mengganggu kontak bakteri dan sel.

2.5 Cara Pengujian Bakteri

Ada tiga metode yang dapat digunakan untuk menguji daya kerja suatu senyawa antibakteri. Pertama metode penyebaran (*Diffusion Method*) yang meliputi metode kertas cakram kertas (*Paper Disk Method*) Metode cairan dalam cincin (*Ring Diffusion Method*) Metode lubang (*Hole Plate Method*) kedua metode pengenceran yang meliputi (*Dilution Method*), Metode Pengenceran Tabung (*Tube Dilution Method*) ketiga Metode Bioautografi (*Bioautography Method*) yang meliputi metode bioautografi langsung (*Direct Bioautography Method*) Metode Bioautografi pencelupan (*Immersion Bioautography Method*) (Recio, 1998 : 127)

Menurut Djatmiko (1988 : 35) ada tiga kondisi yang harus dipenuhi oleh aktivitas antibakteri suatu tanaman supaya dapat dideteksi pertama ekstrak tanaman harus kontak langsung dengan dinding sel bakteri, kedua kondisi diatur sedemikian rupa supaya bakteri dapat tumbuh di media, ketiga penggunaan antibakteri yang diujikan memberikan hasil, yang berarti selama waktu yang diujikan.

2.5.1 Metode Penyebaran (*Diffusion Method*)

1. Metode silinder atau cairan dalam cincin (ring diffusion method)

Penelitian Sabir (2005) menggunakan metode silinder dengan proses sebagai berikut, medium agar dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dibuat menjadi 2 lapisan dengan ketebalan yang hampir sama ($\pm 0,5$ cm). Lapisan pertama dibiarkan memadat, setelah itu dibuat lapisan kedua yang telah dicampurkan dengan biakan bakteri sebanyak 1 ml dan

dimasukkan dalam cawan petri. Sebelum lapisan kedua memadat, ditempatkan silinder stainless steel (diameter luar 8 mm dan diameter dalam 6 mm) pada cawan petri. Pada silinder tersebut kemudian diisi dengan larutan sampel. Pengukuran diameter dari setiap zone inhibisi pertumbuhan bakteri setelah masa inkubasi 24 jam. Zone inhibisi adalah jarak terdekat (mm) dari tepi luar silinder hingga mulai terjadinya pertumbuhan bakteri.

2. Metode lubang (well diffusion method)

Penelitian Yuliani (2001); Pambayun dkk. (2007); Yuharmen dkk. (2002) menggunakan metode lubang dengan cara kerja sebagai berikut : Bakteri uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45°C. Media agar yang telah tersuspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm. Lubang tersebut dimasukkan larutan zat yang diuji aktivitasnya, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang.

Pengukuran adanya kekuatan antibiotik dan antibakteri menurut Suryawiria (1978) dipergunakan metode Davis Stout dengan ketentuan :

Tabel 2.1 Frekuensi Diameter Zona Bening

Diameter zona bening	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

(Moerfiah, 2011)

2.5.2 Metode Pengenceran (*Dilution Method*)

1. Metode pengenceran tabung (tube dilution method)

Antibakteri disuspensikan dalam agar kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan beberapa tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri uji, setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-29 jam. Tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang jernih menunjukkan zat antibakteri yang bekerja. Metode pengenceran tabung telah dilakukan pada penelitian Shanab et al. (2006)

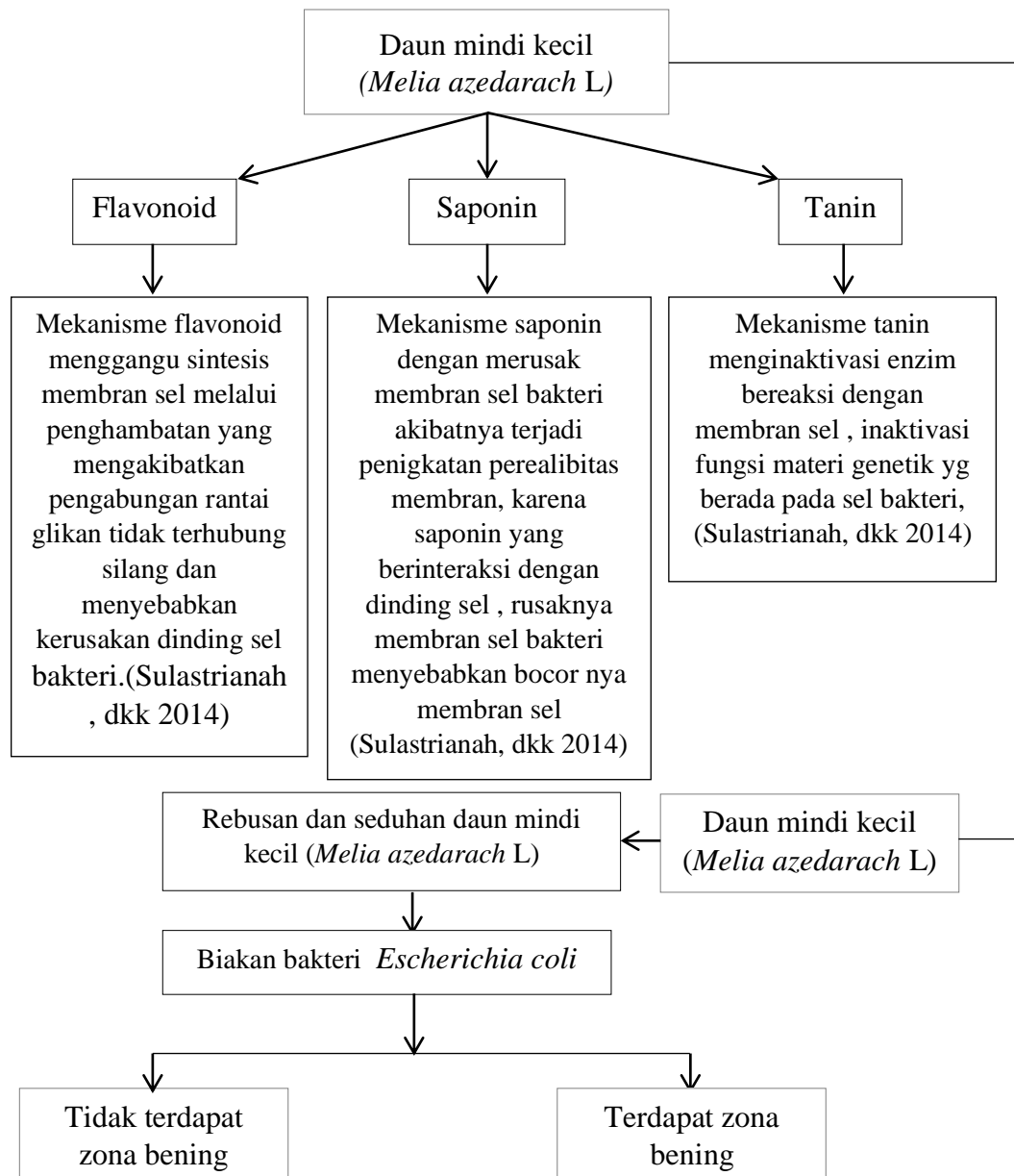
2. Metode pengenceran agar (agar dilution method)

Zat anti bakteri dicampur sampai homogen pada agar steril yang masih cair dengan suhu serendah mungkin dengan menggunakan berbagai konsentrasi zat aktif. Larutan tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian setelah memadat dioleskan bakteri uji pada permukaannya. Penentuan penghambatan dilihat dengan tidak adanya bakteri yang tumbuh pada permukaan (Collins, 1976 dalam Yuliani, 2001).

3. Metode Bioautografi(*Bioautography Method*)

Metode ini sangat berguna untuk mengetahui senyawa baru atau yang belum diketahui aktivitas antibakterinya bahan uji dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi agar dan inokulum bakteri melalui proses difusi. Bioautography kontak menggunakan prinsip difusi senyawa yang terpisah dengan kromatografi lapis tipis. Lempeng kromat diletakkan pada permukaan agar yang telah diinkubasi bakteri setelah kurang lebih 30 menit lempeng dipindahkan, diinkubasi dan diamati. Senyawa antibakteri akan berdifusi pada lapisan agar dan menghambat pertumbuhan bakteri. Pada bioautography langsung zona hambatan diamati secara langsung pada lempeng kromat ke dalam media yang sudah diinokulasi bakteri, setelah media yang menempel pada lempeng kromat mengeras lalu diinkubasi dan dilakukan pengamatan daerah hambat (Recio, 1988 :135).

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Bagan Kerangka konsep