

# Uji Aktivitas Daya Hambat terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif Menggunakan Metode Sumur Difusi

Anak Agung Ketut Eli Dana Sari

*jungellids15@gmail.com*

*Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana*

## ABSTRAK

Antibiotika yang beredar dipasaran semakin meluas serta penggunaannya yang semakin irasional dapat menyebabkan resistensi bakteri. Resistensi merupakan bentuk pertahanan bakteri terhadap antibiotik. Hal tersebut dapat diminimalisir dengan cara mengarah ke penggunaan antimikroba yang alami yaitu memanfaatkan tanaman obat yang berkhasiat. Untuk mengetahui potensi atau aktivitas daya hambat suatu antibiotik terhadap pertumbuhan dan perkembangan bakteri maka dapat dilakukan assei mikrobiologi dengan metode sumur difusi (kertas saring (*Kirby and Bauer*)). Media NA (*Nutrient Agar*) yang sudah memadat dan mengandung *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif) pada cawan Petri dibuat sebanyak tujuh sumur. Masing-masing sampel disortasi hingga mendapatkan ekstrak cair yang cukup. Dipipet ekstrak dari masing-masing sampel dengan mikropipet sebanyak 20 µl dengan konsentrasi 1 mg/ml pada sumur difusi yang tersedia, diberikan label. Sumur difusi kemudian diinokulasi di dalam inkubator menggunakan suhu 37°C selama 48 jam. Kontrol negatif (air steril), kontrol positif (antibiotik Amoxicillin). Aktivitas daya hambat ekstrak rimpang jahe pada bakteri Gram positif 36,75%, bakteri Gram negatif 42,29%. Aktivitas daya hambat ekstrak daun sirih pada bakteri Gram positif 18,97%, bakteri Gram negatif 16,6%. Aktivitas daya hambat ekstrak rimpang kunyit pada bakteri Gram positif 17,39%, bakteri Gram negatif 20,94%. Aktivitas daya hambat ekstrak daun juwet memiliki persentase daya hambat terbesar pada Gram positif dan Gram negatif sebesar 73,12%. Sedangkan aktivitas daya hambat ekstrak daun mint dengan presentase hambat terkecil pada Gram positif dan Gram negatif sebesar 0%.

Kata Kunci: antibiotik, *Nutrient Agar*, bakteri gram positif, bakteri gram negatif, metode sumur difusi

## ABSTRACT

*Antibiotics circulating in the market are increasingly widespread and their increasingly irrational use can lead to bacterial resistance. Resistance is a form of bacterial defense against antibiotics. This can be minimized by leading to the use of natural antimicrobials, namely utilizing nutritious medicinal plants. To determine the potential or inhibitory activity of an antibiotic against the growth and development of bacteria, a microbiological assessment can be carried out using the disk diffusion method (filter paper (*Kirby and Bauer*)). The NA (*Nutrient Agar*) media which had solidified and contained *Staphylococcus aureus* (Gram positive bacteria) and *Escherichia coli* (Gram negative bacteria) in the Petri dishes were made of seven disks. Each sample was sorted to obtain sufficient liquid extract. The extract pipettes from each sample with a micropipette of 20 µl with a concentration of 1 mg / ml in the diffusion disk provided, were labeled. The diffusion disk was then inoculated in an incubator using a temperature of 37°C for 48 hours. Negative control (sterile water), positive control (antibiotic Amoxicillin). Inhibition activity of ginger rhizome extract on Gram-positive bacteria was 36.75%, and Gram-negative bacteria was 42.29%. The inhibitory activity of betel leaf extract on Gram positive bacteria was 18.97%, and Gram negative bacteria was 16.6%. Inhibition activity of turmeric rhizome extract on Gram positive bacteria 17.39%, Gram negative bacteria 20.94%. The inhibitory activity of juwet leaf extract had the largest percentage of Gram-positive and Gram-negative as much as 73.12%. While the inhibitory activity of mint leaf extract with the smallest inhibition percentage was Gram positive and Gram negative was 0%.*

*Keywords: antibiotics, Nutrient Agar, gram positive bacteria, gram negative bacteria, disk diffusion method*

## I. PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan suatu senyawa kimia yang dapat diproduksi oleh mikroorganisme tertentu dan bersifat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain (Rukmana, 2007). Antibiotika yang beredar dipasaran semakin meluas serta penggunaannya yang semakin irasional dapat menyebabkan resistensi bakteri. Resistensi merupakan bentuk pertahanan bakteri terhadap antibiotik. Hal tersebut dapat diminimalisir dengan cara mengarah ke penggunaan antimikroba yang alami yaitu memanfaatkan tanaman obat yang berkhasiat. Antibiotik juga dapat diproduksi oleh sel tumbuhan yang dihasilkan dari senyawa metabolit sekunder tumbuhan. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri maupun membunuh bakteri lainnya (Rukmana, 2007).

Beberapa tanaman yang berkhasiat dan dimanfaatkan sebagai menghambat perkembangan bakteri yaitu daun juwet, daun mint, daun sirih, rimpang jahe dan rimpang kunyit. Penelitian Sudarmi dkk (2017), menyatakan juwet memiliki senyawa metabolit sekunder yang mampu menghambat aktivitas bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Penelitian Hermawan (2007), menyatakan daun sirih memiliki senyawa yang efektif dapat menghambat aktivitas bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Penelitian Tabari *et.al* (2012), menyatakan kandungan minyak pada daun mint mampu menghambat aktivitas bakteri *S.aureus* yang termasuk bakteri Gram negatif. Penelitian Azkiyah (2020), menyatakan

rimpang jahe dapat memberikan aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Penelitian Lestari (2007), menyatakan rimpang kunyit mampu untuk menghambat aktivitas bakteri *S.aureus*.

Untuk mengetahui potensi atau aktivitas daya hambat suatu antibiotik terhadap pertumbuhan dan perkembangan bakteri maka dapat dilakukan assei mikrobiologi. Assei mikrobiologi merupakan suatu analisis pengukuran pada bahan untuk mengukur daya hambat dan kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba, dimana jasad penguji yang digunakan adalah mikroba (Pelczar dan Chan, 2007). Hasil data yang akan diperoleh pada assei mikrobiologi ini berupa zona bening. Cara memperoleh data yaitu dengan mengukur diameter zona bening dan dihitung persentase daya hambat dari bahan yang diujikan (Nurainy dan Yudiantoro 2008). Metode umum yang digunakan pada pengujian assei mikrobiologi yaitu metode sumur difusi (*disk diffusion*) dan metode d' Aubert (Kawuri *et al.*, 2016).

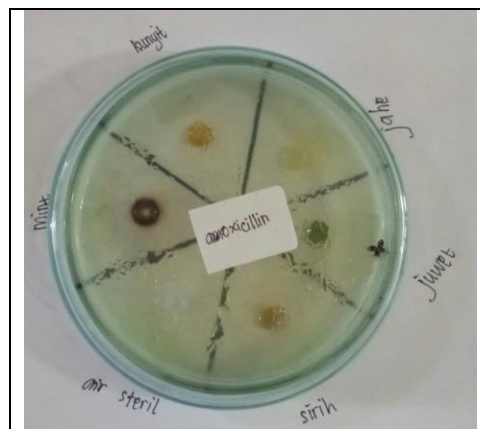
Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan aktivitas daya hambat pada bakteri Gram positif dan Gram negatif terhadap tanaman yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Sampel yang digunakan yaitu daun juwet, daun mint, daun sirih, rimpang jahe dan rimpang kunyit, kontrol negatif (air steril), kontrol positif (antibiotik Amoxicillin) dengan metode sumur difusi.

## II. METODELOGI PENELITIAN

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Virologi Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana. Penelitian ini menggunakan media NA (*Nutrient Agar*) dengan sampel daun juwet, daun mint, daun sirih, rimpang jahe dan rimpang kunyit. Kontrol positif yang digunakan berupa antibiotik Amoxicillin dan kontrol negatif air steril untuk mengetahui daya hambat bakteri Gram positif dan Gram negatif pada masing-masing sampel. Bakteri yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif). Sedangkan alat yang digunakan yaitu cawan petri, bunsen, pinset, gunting, mortir, stamper, kertas saring, mikropipet, dan inkubator.

Siapkan media NA yang sudah memadat dan mengandung *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif) pada cawan Petri yang telah berisi tujuh sumur. Masing - masing sampel dilakukan sortasi, dicuci hingga bersih dan dipotong untuk memperkecil ukuran sampel, kemudian masing-masing sampel ditimbang sebanyak 10 gram. Lalu, dimasukkan ke dalam mortir dan dihaluskan dengan menambahkan sedikit demi sedikit air steril hingga 10 ml. Selanjutnya, disaring sampel dengan kertas saring hingga mendapatkan ekstrak cair yang cukup. Dipipet ekstrak dari masing-masing sampel dengan mikropipet pada sumur difusi yang tersedia sebanyak 20 µl dengan konsentrasi 1 mg/ml dan diberikan label, kontrol negatif (air steril), kontrol positif (antibiotik Amoxicillin).

Sumur difusi yang telah terisi dengan masing-masing sampel selanjutnya diinokulasi dalam inkubator dengan menggunakan suhu 37°C selama 48 jam.



**Gambar 1.** Cawan Petri dengan medium NA yang telah terisi sampel pada masing - masing sumur sebelum diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Hasil yang akan diperoleh yaitu zona bening yang terbentuk disekitar sumur difusi, kemudian diamati dan dihitung diameter zona yang terbentuk dengan membagi daya hambat pada perlakuan dengan daya hambat pada kontrol dan dikalikan 100%. Semua Kegiatan dilakukan di dekat nyala api Bunsen. Rumus hitung daya hambat yang digunakan:

$$\text{Daya Hambat} = \frac{\text{diameter zona bening sampel}}{\text{diameter zona bening kontrol}} \times 100\%$$

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

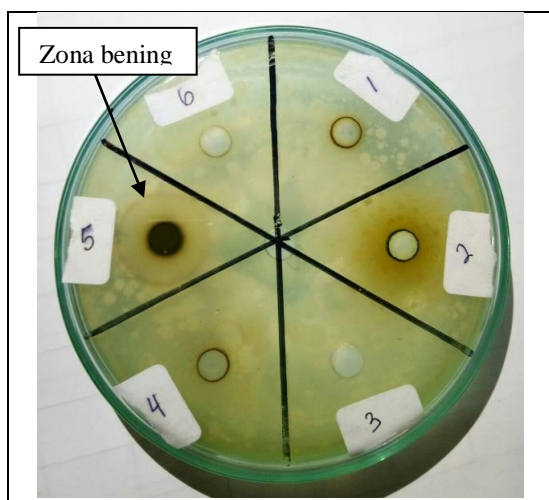
Berikut merupakan tabel hasil presentase hambatan bakteri Gram negatif dan Gram positif pada masing-masing sampel uji.

Tabel 1. Hasil presentase uji aktivitas daya hambat bakteri Gram positif dan Gram negatif

Sampel	(%) Aktivitas Daya Hambat Bakteri Gram
--------	----------------------------------------------

	(+)	(-)
Daun juwet	73,12	73,12
Daun mint	0	0
Daun sirih	18,97	16,6
Rimpang jahe	36,75	42,29
Rimpang kunyit	17,39	20,94

Berikut merupakan hasil uji aktivitas daya hambat bakteri Gram positif dan Gram negatif pada masing-masing sampel uji.



**Gambar 2.** Cawan Petri dengan medium NA yang telah terisi sampel pada masing-masing sumur sesudah diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. (1)Rimpang Kunyit, (2)Daun Mint, (3)Kontrol negatif, (4)Daun Sirih, (5)Daun Juwet, (6)Rimpang Jahe, (7)Kontrol Positif.

Perbedaan efektivitas antara bakteri Gram positif dan negatif pada masing-masing sampel uji yaitu pada daun juwet memiliki efektifitas yang sama terhadap daya hambat bakteri Gram positif dan negatif. Sedangkan pada sampel uji lainnya yaitu daun sirih, rimpang jahe dan rimpang kunyit memiliki efektivitas yang signifikan terhadap bakteri Gram positif dan negatif.

Hasil pengujian pada daun juwet menunjukkan persentase hambatan pada bakteri Gram negatif dan Gram positif

sebesar 73,12% yang menandakan ekstrak daun juwet mampu menghambat aktivitas bakteri. Senyawa fenol yang terkandung pada daun juwet bersifat bakterisidal dan memiliki aktivitas antimikroba dengan spektrum luas. Senyawa fenol pada daun juwet memiliki mekanisme kerja dengan meningkatnya permeabilitas pada membran sitoplasma, hal tersebut akan menyebabkan terjadinya kebocoran pada komponen intraseluler dan koagulasi sitoplasma sehingga terjadi lisis sel pada bakteri. Kandungan senyawa lainnya yang terdapat pada daun juwet yaitu senyawa steroid, saponin dan alkaloid (Sudarmi dkk., 2017).

Hasil pengujian pada daun mint menunjukkan persentase hambatan pada bakteri Gram negatif dan Gram positif sebesar 0% yang menandakan ekstrak daun mint tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil tersebut tidak sesuai dengan pustaka yang menyebutkan daun mint mengandung minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Lutony dan Rahmawati, 2000). Hal tersebut dapat terjadi karena minyak mint yang telah menguap akibat penyimpanan yang lama dan mengakibatkan konsentrasinya rendah (Viviek dkk., 2009).

Hasil pengujian pada daun sirih menunjukkan persentase hambatan pada bakteri Gram negatif 16,6% dan Gram positif 18,97% yang menandakan ekstrak daun sirih dinyatakan dapat menghambat aktivitas bakteri. Senyawa kavikol dan kavibetol adalah turunan fenol pada daun sirih yang mempunyai aktivitas daya hambat bakteri 5 kali lipat dari fenol biasa terhadap bakteri Gram positif. Minyak atsiri dengan *betle phenol* dan turunannya yang terdapat pada daun sirih memiliki

aktivitas sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja yaitu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri (Ali Shahab, 2016).

Hasil pengujian pada rimpang jahe menunjukkan persentase hambatan pada bakteri Gram negatif 42,29% dan Gram positif 36,75% yang menandakan ekstrak rimpang jahe dapat menghambat aktivitas bakteri. Hal ini disebabkan karena rimpang jahe mengandung antibakteri gingerol, shogaol, paradol and gingeron (Giriraju dan Yunus, 2013). Pertumbuhan bakteri akan dihambat pada stabilitas membran sel lipid bilayer dan mengakibatkan kebocoran membran sel bakteri (Maekawa *et al.*, 2015).

Hasil pengujian pada rimpang kunyit menunjukkan persentase hambatan pada bakteri Gram negatif 17,39% dan Gram positif 20,94% yang menandakan ekstrak rimpang kunyit dapat menghambat aktivitas bakteri. Hal ini disebabkan karena kunyit mengandung flavanoid, fenol, alkaloid dan minyak atsiri (Retno dan Romas, 2010). Struktur tiga dimensi protein akan terbuka dan berubah menjadi struktur acak pada senyawa fenol yang terkandung pada rimpang kunyit sehingga menyebabkan metabolisme pada bakteri terganggu (Lau, 2013).

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, aktivitas antibiotik yang diperoleh dari masing-masing ekstrak tanaman yang digunakan memberikan persentase daya hambat yang bervariasi pada pertumbuhan bakteri. Ekstrak yang memberikan daya hambat terbesar adalah ekstrak daun juwet dengan persentase

daya hambat pada bakteri Gram positif dan negatif sebesar 73,12%. Sedangkan ekstrak yang memberikan daya hambat terkecil adalah ekstrak daun mint dengan presentase hambat pada bakteri Gram positif dan negatif sebesar 0%.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ali Shahab, M., Ardiyansah. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri Patogen dari Susu Segar. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Azkiyah, Siti Zamilatul. 2020. Pengaruh Uji Antibakteri Ekstrak Rimpang Jahe Terhadap Pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli* Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi Tinctura*. Vol. 1(2): 71-30.
- Giriraju, A., dan Yunus, G.Y. 2013. Assessment of Antimicrobial Potential of 10% Ginger Extract Against *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and *Enterococcus faecalis*: An in Vitro Study. *Indian Journal of Dental Research*. Vol. 24(4): 397-400.
- Hermawan, Anang. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli* dengan Metode Difusi Disk. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kawuri, R., I.B.G. Darmayasa dan Y. Ramona. 2016. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi dan Virologi Farmasi*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Udayana. Bali.
- Lau, S.H.A. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* Resisten

- Antibiotik. *Skripsi*. Universitas Hassanudin. Makassar.
- Lestari, S. 2007. Uji Antibakteri Serbuk Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val) Terhadap Bakteri *E.coli*, <http://etd.library.ums.ac.id/index.php>. dikutip tgl 05.05.2009.
- Lutony, T. L., dan Y. Rahmawati. *Minyak Atsiri*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Maekawa, L.E., Rossoni, R.D., Barbosa, J.O., Jorge, A.O.C., Junqueira, J.C., Valera, M.C. 2014. Different Extracts of *Zingiber officinale* Decrease *Enterococcus faecalis* Infection in *Galleria mellonella*. *Brazilian Dental Journal*. Vol. 26(2): 105-109.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L.D., Coppola, R., Vincenzo, D.F. 2013. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. Vol. 6(12): 1451-1474.
- Nurainy, F., S. Rizal dan Yudiantoro. 2008. Pengaruh Konsentrasi Kitosan Terhadap Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Agar (Sumur). *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. Vol. 13(2): 232 - 236.
- Pelczar, M. J., dan E. C. S. Chan. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta.
- Retno, F.D.M., dan A.M. Romas. 2010. Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 Secara in Vitro. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Rukmana, R. 2007. Bertanam Petsai dan Sawi. *Kanisius*. Yogyakarta. Hal:11-35.
- Sudarmi, K., I.B.G. Darmayasa dan K. Muksin. 2017. Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal Simbiosis*. Vol. 2: 47 - 51.
- Sulistijowati, R., J. Nurhajati dan I. Awom. 2015. The Effectiveness Inhibition Filtrate Bacteriocins *Lactobacillus acidophilus* Toward Contaminants Bacteria from Swordfish (*Auxis rochei*) Stew. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*. Vol. 7 (3): 163-174.
- Toma, A., dan Deyno, S. 2014. Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Moringa oleifera*. *International Journal of Pharmacognosy*. 1(1): 222 - 231.
- Viviek, S. N. Sharma., H. Singh, Srivastava., K.D Phatania., V. Singh., B.C.R. Gupta. 2009. Comparative Account on GC-MS Analysis of *Mentha arvensis* L. "Commit" from Three Different Location of North India. *International Journal of Drug Development and Research*. Vol. 1(1):1-9.