

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL  
BUAH MENKUDU (*MORINDA CITRIFOLIA*, LINNAEUS)  
TERHADAP BAKTERI PEMBUSUK DAGING SEGAR**

**Skripsi**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh :  
Fajar Kusuma Dewi  
M.0406026

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2010**

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Makanan berperan penting dalam kehidupan makhluk hidup, sebagai sumber tenaga, pembangun, pengatur bahkan penyembuh sakit. Bahkan makanan harus terjamin mutunya, paling tidak diproses secara alami, tanpa tambahan zat kimia, sehingga baik untuk tubuh. Saat ini banyak ditemukan makanan yang mengandung zat kimia, yang berpotensi toksik pada tubuh. Bahan Tambahan Pangan (BTP) adalah zat yang ditambahkan pada makanan untuk memperbaiki tampilan makanan, misalnya menjadi lebih awet, tampil lebih menarik dan berasa lebih mantap (Nurmaini, 2001).

Salah satu jenis BTP yang menjadi kontroversi adalah penggunaan formalin sebagai bahan pengawet makanan. Formalin umumnya digunakan untuk mengawetkan mayat, namun kenyataannya banyak ditemukan kandungan formalin untuk mengawetkan makanan seperti tahu, mie basah, ikan asin bahkan dalam berbagai jenis daging (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2004).

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.1168/MENKES/PER/X Tahun 1999, disebutkan larangan penggunaan formalin sebagai bahan tambahan makanan dalam makanan. Formalin merupakan zat kimia racun bila tertelan akan menyebabkan iritasi lambung, mual muntah, mulas, mimisan, kerusakan ginjal, radang paru-paru, gangguan jantung, kerusakan hati, kerusakan saraf, iritasi kulit, kebutaan, kerusakan organ reproduksi, bahkan kematian (Hasyim dkk., 2006).

Bahan pengawet diperlukan agar makanan tahan lama, tanpa menurunkan kualitas makanan, misalnya produk daging. Daging segar mengandung bakteri yang berasal dari peralatan, proses pengolahan, pekerja dan air. Purwani dkk. (2008), berhasil mengisolasi beberapa bakteri yang terdapat pada daging segar, yaitu *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus alvei*, *Bacillus cereus* ATCC 1178, *Bacillus licheniformis*, *Klebsiella oxytoca* ATCC 49131, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 11229. Bakteri tersebut berpotensi menyebabkan pembusukan karena aktivitasnya dalam mendegradasi protein, sebab daging mempunyai kandungan protein yang tinggi. Protein digunakan bakteri untuk metabolismenya.

Menurut Harsojo dkk. (2005), daging segar yang tidak langsung diolah dapat cepat mengalami pembusukan akibat aktivitas bakteri. Daging yang tercemar bakteri patogen akan berbahaya bila dikonsumsi karena akan menimbulkan penyakit, untuk itu perlu dilakukan adanya proses pengawetan pada saat proses distribusinya. Proses pengawetan harus dilakukan secara aman tanpa menurunkan kualitas daging, mengingat tingginya nilai nutrisi dalam daging yang penting bagi manusia.

Penelitian untuk mendapatkan pengawet alami, perlu dilakukan karena sebagian besar bahan pengawet yang beredar merupakan zat kimia dan sifatnya yang tidak aman bagi tubuh. Pengawet alami adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh bahan alam, yang dapat menekan pertumbuhan dan perkembangan bakteri. Salah satu bahan alam yang berpotensi mempunyai aktivitas sebagai

pengawet alami adalah mengkudu (*Morinda citrifolia*, L.), karena buahnya mengandung *alizarin*, *glikosida*, *scopoletin*, *acubin*, *L. asperuloside*, dan flavonoid yang diketahui bersifat antibakteri (Winarti, 2005; Erfi dan Prasetyo, 2005; Peter, 2005).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) terhadap bakteri pembusuk daging segar, antara lain, *Bacillus cereus* ATCC 1178, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, dan *Escherichia coli* ATCC 11229, sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengawet alami.

### **B. Perumusan Masalah**

1. Bagaimana aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) terhadap bakteri *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229?
2. Berapa konsentrasi minimum ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) yang mampu menghambat bakteri *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229?
3. Berapa konsentrasi minimum ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) yang mampu membunuh bakteri *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229?

### C. Tujuan Penelitian

1. Dapat mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) terhadap bakteri *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229.
2. Dapat menentukan konsentrasi minimum ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) yang mampu menghambat bakteri *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* (ATCC 11229).
3. Dapat menentukan konsentrasi minimum ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) yang mampu membunuh bakteri *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229.

### D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk memberitahu masyarakat bahwa buah mengkudu mempunyai kandungan senyawa kimia yang penting bagi tubuh, memberikan keterangan akan bahaya bahan pengawet makanan yang berupa bahan kimia banyak beredar di masyarakat seperti formalin, memberitahukan bahwa daging segar dengan mudah terkontaminasi bakteri yang menyebabkan pembusukan, memberikan informasi mengenai penggunaan ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) dapat menghambat ataupun membunuh bakteri pembusuk daging segar seperti *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229.

## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Mengkudu (*M. citrifolia*, L.)

###### a. Klasifikasi



Filum : Angiospermae

Sub filum : Dicotyledoneae

Divisio : Lignosae

Family : Rubiaceae

Genus : *Morinda*

Spesies : *M. citrifolia*, L.

(Djauhariya, 2003)

Gambar 1. Buah Mengkudu (*M. citrifolia*, L.) (Redriguez, 2008).

###### b. Nama daerah

Pace (Jawa), Cangkudu (Pasundan), Kodhuk (Madura), Bakudu (Sumatra), Wangkudu (Kalimantan), Bakulu (Nusa Tenggara) (Suryowinoto, 1997).

###### c. Deskripsi

Mengkudu termasuk jenis tanaman pohon dan berbatang bengkok, ketinggian dapat mencapai 3-8 m. Daun tunggal dengan ujung dan pangkal kebanyakan runcing. Buahnya termasuk buah bongkol, benjol-benjol tidak teratur, berdaging, jika masak daging buah berair. Buah masak berwarna kuning kotor atau putih kekuning-kuningan dengan panjang 5-10 cm, lebar 3-6 cm (Suryowinoto, 1997).

Tanaman mengkudu berbuah sepanjang tahun. Mudah tumbuh pada berbagai tipe lahan, dengan daerah penyebaran dari dataran rendah hingga ketinggian 1500 dpl. Ukuran dan bentuk buahnya bervariasi, pada umumnya mengandung banyak biji, dalam satu buah terdapat  $\geq 300$  biji, namun ada juga tipe buah mengkudu yang memiliki sedikit biji. Bijinya dibungkus oleh suatu lapisan atau kantong biji, sehingga daya simpannya lama dan daya tumbuhnya tinggi. Dengan demikian, perbanyakan mengkudu dengan biji sangat mudah dilakukan (Djauhariya dkk., 2006).

**d. Kandungan Kimia dan Manfaat**

Buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) mengandung *scopoletin*, sebagai analgesik, antiradang, antibakteri. Glikosida, sebagai antibakteri, antikanker, imunostimulan. *Alizarin*, *Acubin*, *L. Asperuloside*, dan flavonoid sebagai antibakteri. Vitamin C, sebagai antioksidan (Peter, 2005; Waha, 2000; Winarti, 2005).

## 2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain. Metode ekstraksi yang tepat ditemukan oleh tekstur kandungan air bahan-bahan yang akan diekstrak dan senyawa-senyawa yang akan diisolasi (Harborne, 1996).

Proses pemisahan senyawa dalam simplisia, menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan pelarut berdasarkan kaidah '*like dissolved like*' artinya suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar. Ekstraksi dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode, tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi (Noerono dalam Pratiwi, 2009).

Maserasi adalah perendaman bahan alam yang dikeringkan (simplisia) dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Rusdi dalam Pratiwi, 2009).

## 3. Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat

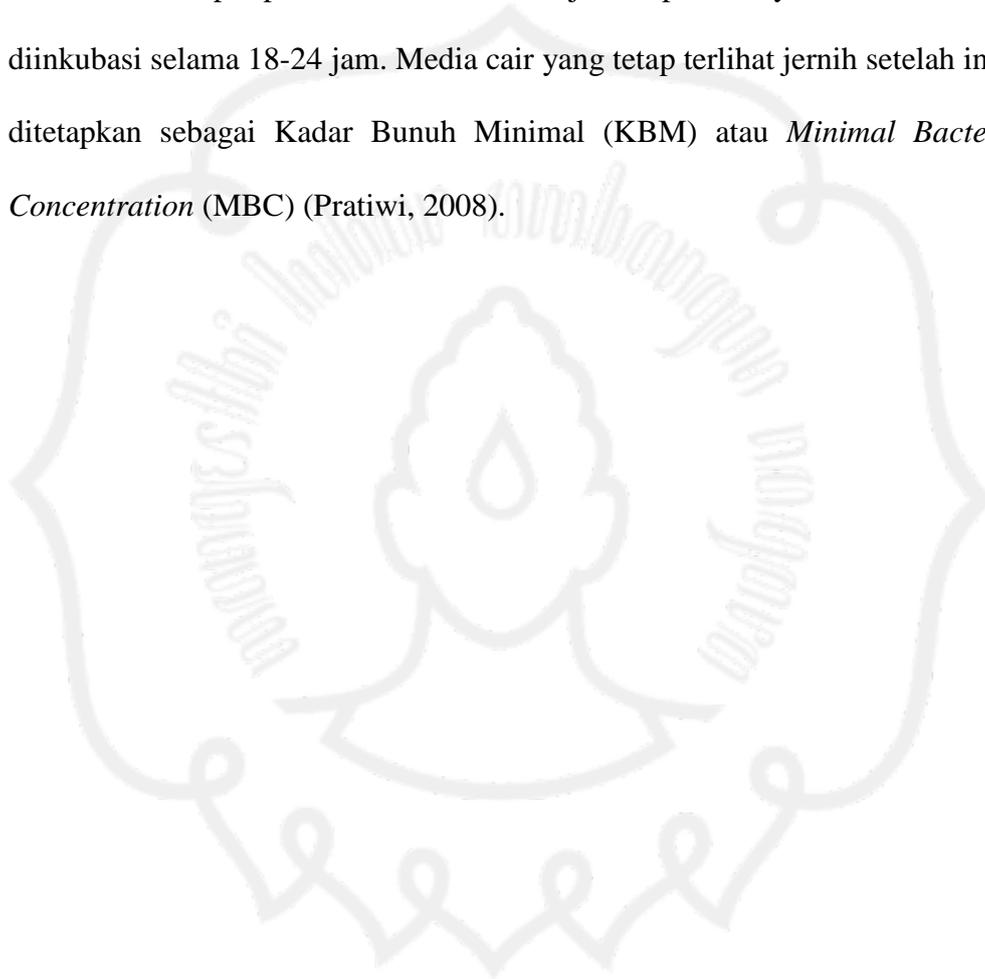
pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks dkk., 2005).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu  $10^5$ - $10^8$  CFU/mL (Hermawan dkk., 2007).

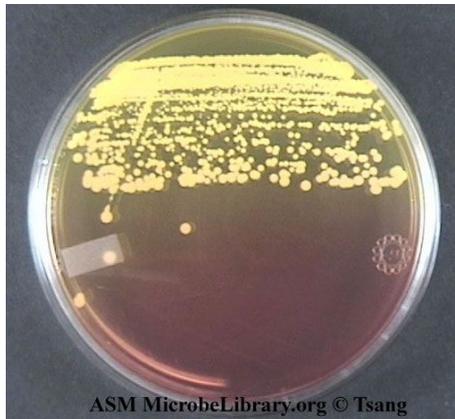
Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai

dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) (Pratiwi, 2008).



#### 4. *Staphylococcus saprophyticus*



Kingdom : Prokaryota  
Divisio : Firmicutes  
Class : Bacilli  
Ordo : Bacillales  
Family : Staphylococcaceae  
Genus : *Staphylococcus*  
Spesies : *S. saprophyticus*  
(Brooks dkk., 2005)

Gambar 2. *S. saprophyticus* pada media *Mannitol Salt Agar* (Tsang, 2006).

*S. saprophyticus* merupakan bakteri gram positif, bentuk bulat, berdiameter 1  $\mu\text{m}$ , biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Bersifat aerob, nonmotil, dan tidak membentuk spora, tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C. *S. saprophyticus* mampu memfermentasi karbohidrat, seperti fermentasi mannitol dalam media *Mannitol Salt Agar* yang ditunjukkan dengan warna kuning (Gambar 2), serta menghasilkan asam laktat. Bakteri ini menyebabkan infeksi traktus urinarius pada wanita muda. *S. saprophyticus* khas tidak berpigmen, resisten terhadap novobiosin dan nonhemolitik (Brooks dkk., 2005).

## 5. *Bacillus cereus*



Kingdom	: Prokaryota
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>B. cereus</i>

(Todar, 2008)

Gambar 3. *B. cereus* pada media *Luria Agar* (LA), inkubasi suhu kamar selama 24 jam (Hedetniemi dan Liao, 2006).

*B. cereus* merupakan bakteri gram positif, bersifat aerob fakultatif, dan motil. Beberapa bakteri gram positif seperti genus *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*, dan *Thermoactinomyces* merupakan bakteri yang mampu membentuk endospora. Pembentukan endospora bagi bakteri sangat penting, karena struktur endospora yang tebal dapat berfungsi sebagai pelindung panas (Atlas dan Richard, 1987).

*B. cereus* motil, berkemampuan untuk menghancurkan sel darah merah (*hemolytic*). Bakteri ini dapat menyebabkan keracunan makanan, ada dua tipe penyakit yang diakibatkannya, yaitu tipe emetik dan tipe diare. Tipe emetik ditandai dengan mual dan muntah, muncul gejala setelah masa inkubasi sekitar 1-6 jam. Tipe diare ditandai dengan rasa sakit perut dan buang air besar, muncul gejala setelah masa inkubasi sekitar 6-24 jam (Todar, 2008).

## 6. *Enterobacter aerogenes*



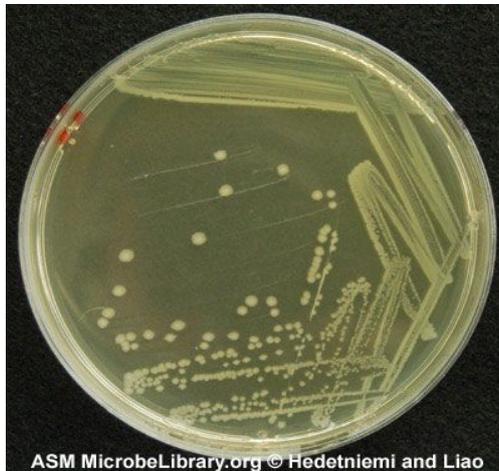
Kingdom	: Prokaryota
Divisio	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Enterobacter</i>
Spesies	: <i>E. aerogenes</i>

(Brooks dkk., 2005)

Gambar 4. *E. aerogenes* pada media *Luria Agar* (LA), inkubasi 37°C, selama 24 jam (Hedetniemi dan Liao, 2006).

*E. aerogenes* adalah bakteri gram negatif, berukuran 0,5  $\mu\text{m}$  x 3,0  $\mu\text{m}$ , berbentuk batang, tidak membentuk spora. *E. aerogenes* bersifat fakultatif anaerob, dan merupakan bakteri patogen yang menyebabkan infeksi oportunistik. Pada umumnya tidak menimbulkan penyakit pada individu sehat, tetapi bila kondisi individu lemah dapat menjadi patogen. Beberapa jenis pengobatan menjadi resisten, akibat dari keberadaan bakteri tersebut di dalam lingkungan rumah sakit (Brooks dkk., 2005).

## 7. *Escherichia coli*



Kingdom	: Prokaryota
Divisio	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>E. coli</i>

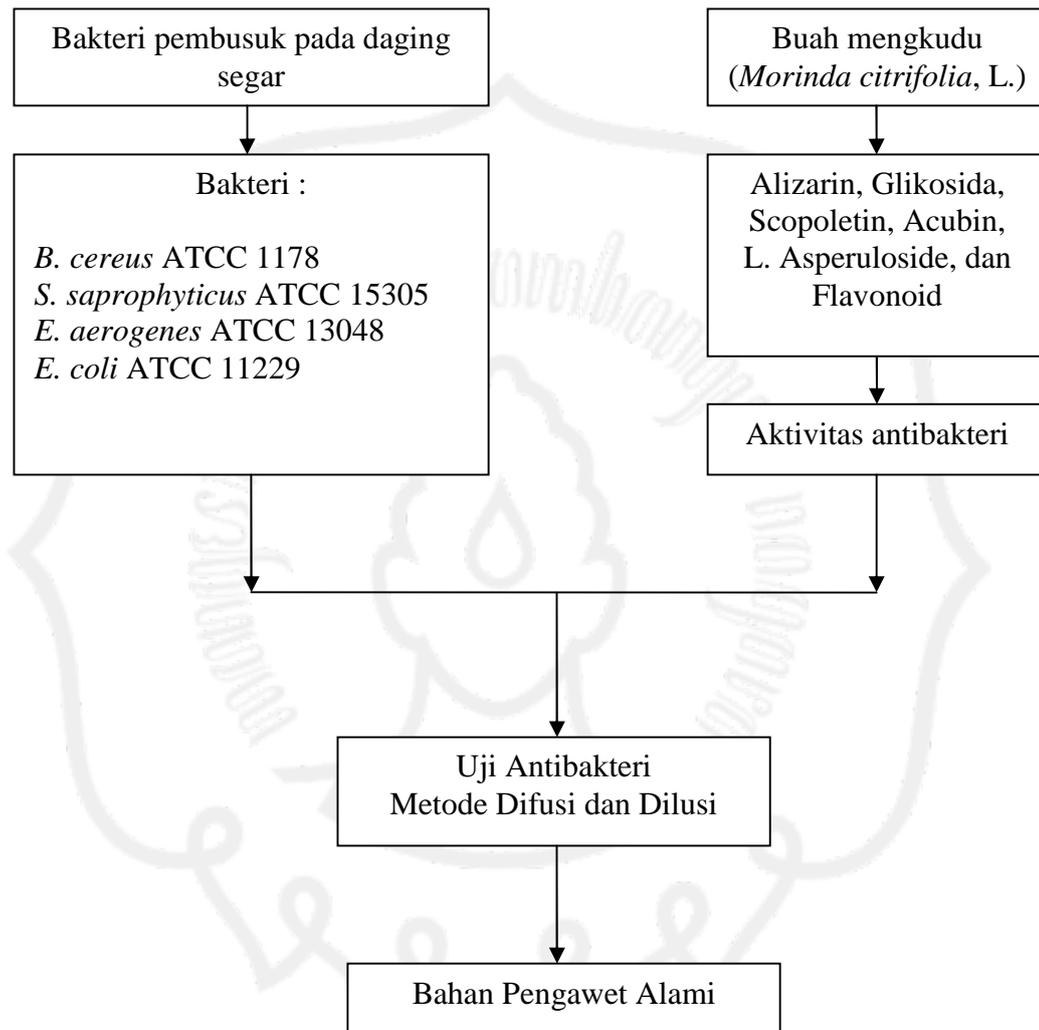
(Juliantina dkk., 2008).

Gambar 5. *E. coli* pada media LA, inkubasi 37°C selama 24 jam (Hedetniemi dan Liao, 2006).

*E. coli* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, motil aktif dan tidak membentuk spora. Pibiakkan *E. coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C. *E. coli* mempunyai beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak di kapsul (Juliantina dkk., 2008).

## B. Kerangka Pemikiran

Berdasarkan latar belakang dapat disusun suatu kerangka pemikiran yang disajikan dalam bentuk bagan pada gambar berikut :



Gambar 6. Kerangka Pemikiran Penelitian

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2009 hingga bulan Januari 2010 di Laboratorium Pusat Sub Lab Biologi di Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

#### B. Alat dan Bahan

##### 1. Alat yang digunakan untuk kultur bakteri

Erlenmeyer 50 mL, tabung reaksi, *shaker*, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, cawan petri, bunsen burner, jarum ose, mikropipet 100  $\mu$ L-1000  $\mu$ L dan mikropipet 20  $\mu$ L-200  $\mu$ L.

##### 2. Alat yang digunakan untuk ekstraksi

Blender, toples maserasi, oven, corong pisah, erlenmeyer, dan rotary evaporator.

##### 3. Alat yang digunakan untuk uji zona bening

Besi pelubang, jangka sorong, cawan petri, mikropipet 100  $\mu$ L-1000  $\mu$ L dan mikropipet 20  $\mu$ L-200  $\mu$ L.

##### 4. Alat yang diperlukan untuk penentuan MIC dan MBC

Seperangkat alat spektrofotometer, tabung reaksi dan rak tabung reaksi.

##### 5. Bahan yang digunakan

Ekstrak etanol buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.), kertas saring, formalin 1%, antibiotik *amoxicillin* 250 mg, larutan *Carboxyl Methyl Celulose* (CMC), media *Nutrient Broth* (NB), media *Nutrient Agar* (NA), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Mueller Hinton Broth* (MHB), kultur murni bakteri *B. cereus*

ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229, didapatkan dari Balai Laboratorium Kesehatan (BLK) Yogyakarta yang berasal dari isolasi daging segar, berdasarkan Purwani (2008) bakteri tersebut merupakan bakteri pembusuk daging segar.

### C. Cara Kerja

#### 1. Ekstraksi Buah Mengkudu (*M. citrifolia*, L.)

Buah mengkudu pascapanen, berwarna putih kekuningan merata, dan daging buah masih keras, sebanyak 20 kg dicuci bersih. Buah ditiriskan dan dipotong-potong tipis. Potongan buah selanjutnya dijemur dibawah sinar matahari, dengan naungan kain hitam. Penjemuran dilakukan beberapa hari, sampai potongan buah benar-benar kering, mudah dipatahkan dengan tangan. Potongan buah yang sudah kering, berbentuk kepingan, dipisahkan antara daging buah dengan bijinya. Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah daging buah yang kering, sedang bijinya disisihkan. Daging buah yang kering selanjutnya dibuat serbuk (simplisia) dengan cara dihancurkan dengan alat *blender*. Simplisia yang dihasilkan sebanyak 1,3 kg, dan siap untuk dimaserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia kedalam pelarut etanol 96%, sampai terendam seluruhnya selama  $\pm$  24 jam, kemudian disaring dengan kertas penyaring. Residu kembali dimaserasi lagi dengan cara yang sama, sampai 3x. Ekstrak hasil maserasi atau filtrat yang dihasilkan, ditampung menjadi satu dan diuapkan, untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat *Rotary evaporator* pada suhu 45-50°C, sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.).

## 2. Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak Buah Mengkudu (*M. citrifolia*, L.)

Ekstrak kental buah mengkudu, dibuat 10 seri konsentrasi (10%-100%) dengan menggunakan larutan CMC 0,1 %. Larutan CMC 0,1% dibuat dengan melarutkan 0,1 gram serbuk CMC ke dalam 100 mL aquades steril. Setiap seri konsentrasi dibuat dengan menambahkan larutan CMC 0,1%, kedalam beberapa gram ekstrak kental buah mengkudu, sampai volumenya 3 mL. Jumlah ekstrak yang digunakan untuk penelitian dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah ekstrak yang digunakan untuk pembuatan stok konsentrasi ekstrak.

Konsentrasi (%)	Ekstrak etanol buah mengkudu (gram)
10	0,3
20	0,6
30	0,9
40	1,2
50	1,5
60	1,8
70	2,1
80	2,4
90	2,7
100	3,0

## 3. Penyiapan Inokulum Bakteri

Biakan murni bakteri *Bacillus cereus* ATCC 1178, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, dan *Eschericia coli* ATCC 11229 pada NA miring, masing-masing digores 1 ose dan ditumbuhkan dalam erlenmeyer berisi 10 mL media NB.

Media NB dibuat dengan cara melarutkan 8 gram bubuk media NB dalam aquades, sampai volume 1 Liter. Larutan media dipanaskan sampai bubuk media

NB benar-benar larut, dan dimasukkan dalam erlenmeyer, kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm, suhu 121°C.

Kultur bakteri dalam media NB selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar dengan cara digoyang-goyang menggunakan *shaker* kecepatan putaran 120 rpm selama 12-18 jam. Kultur bakteri yang semula jernih akan berubah menjadi keruh, yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri setelah masa inkubasi. Kultur bakteri kemudian dibuat stok bakteri, dengan menumbuhkan bakteri pada media NA miring. Setiap kultur bakteri diambil 1 ose dan digoreskan pada tabung reaksi berisi 5 mL media NA miring.

Media NA dibuat dengan cara melarutkan 20 gram bubuk media NA dalam aquades, sampai volume 1 Liter. Larutan media dipanaskan sampai bubuk media NA benar-benar larut, dan dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 5 mL. Kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm, suhu 121°C. Tabung reaksi selanjutnya dimiringkan agar media NA didalamnya membeku berbentuk miring.

Bakteri-bakteri dalam media NA miring kemudian diinkubasi selama 12-18 jam dalam inkubator suhu 37°C. Koloni yang terbentuk, menunjukkan pertumbuhan bakteri. Stok bakteri dapat langsung digunakan untuk uji atau bila tidak digunakan, dapat disimpan dalam lemari pendingin. Bakteri diregenerasi setiap dua minggu sekali dengan cara yang sama.

#### 4. Uji Antibakteri

Pembuatan Kurva Standar :

Biakan murni *Bacillus cereus* ATCC 1178, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, dan *Escherichia coli* ATCC 11229 masing-masing diregenerasi dalam erlenmeyer berisi MHB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Sebanyak 1 mL kultur murni diambil dan dimasukkan ke dalam 9 mL MHB dan dihitung sebagai pengenceran pertama ( $10^{-1}$ ). Pengenceran pertama dihomogenisasi dengan *vortex* kemudian diambil 1 mL kultur dan dimasukkan ke dalam 9 mL MHB. Pengenceran ini dihitung sebagai pengenceran kedua ( $10^{-2}$ ), begitu seterusnya hingga pengenceran keenam. Masing-masing pengenceran diambil 40  $\mu$ L kultur bakteri dan dituang ke dalam 10 mL media MHA dengan metode sebar, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dan dihitung jumlah selnya. Masing-masing kultur pada seri pengenceran diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 480 nm. Panjang gelombang tersebut digunakan karena berdasarkan percobaan dapat menunjukkan nilai absorbansi terhadap seri pengenceran kultur bakteri dengan ketelitian tertinggi dibanding panjang gelombang lainnya. Nilai absorbansi dapat menunjukkan jumlah sel bakteri, dengan cara memasukan ke dalam persamaan garis kurva standar  $y = bx + a$ , dimana  $y$  = jumlah sel, dan  $x$  = besarnya nilai absorbansi.

Pengujian aktivitas antibakteri, kali pertama dilakukan dengan melakukan uji pendahuluan untuk mengetahui penghambatan ekstrak etanol buah mengkudu terhadap bakteri uji, dengan metode difusi/sumuran. Metode sumuran dilakukan

dengan menggunakan media MHA yang bercampur dengan bakteri uji didalamnya.

Media MHA dibuat dengan cara melarutkan 38 gram bubuk media MHA dalam aquades, sampai volume 1 Liter. Larutan dipanaskan sampai bubuk benar-benar larut, selanjutnya dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm, 121°C. Media MHA yang sudah steril, didiamkan sampai kisaran suhu 50-60°C, kemudian secara aseptis dicampurkan kultur bakteri uji dengan perbandingan 1:3 (bakteri : media). Media yang sudah bercampur bakteri uji dituang kedalam cawan petri steril masing-masing 10 mL, dan dibiarkan memadat. Media padat yang bercampur bakteri uji, dibuat sumuran dengan menggunakan besi pelubang berdiameter 6 mm. Pada sumuran tersebut dilakukan berbagai uji, untuk mengetahui aktivitas penghambatan larutan uji terhadap bakteri uji. Larutan uji yang digunakan adalah larutan CMC 0,1%, etanol 96%, *amoxicillin* 250 mg, formalin 1%, dan 10 seri konsentrasi ekstrak etanol buah mengkudu. Masing-masing larutan uji diinjeksikan sebanyak 25 µL ke dalam cawan petri yang berisi 10 mL media MHA bercampur bakteri, dan dilakukan inkubasi selama 12-18 jam suhu 37°C dalam inkubator. Hasil inkubasi akan menunjukkan adanya koloni bakteri uji dan zona bening disekitar sumuran, yang menandakan adanya efek penghambatan larutan uji terhadap bakteri uji. Zona bening yang ada merupakan zona hambat, dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Penentuan MIC dan MBC dilakukan dengan metode dilusi/pengenceran, media yang digunakan adalah MHB. Penentuan MIC dan MBC untuk 1 bakteri uji digunakan 20 tabung reaksi, yang masing-masing berisi 5 mL media MHB.

Media MHB dibuat dengan cara melarutkan 21 gram bubuk media MHB dalam aquades, sampai volume 1 Liter. Larutan dipanaskan sampai bubuk benar-benar larut, selanjutnya dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm, 115°C.

Setiap tabung reaksi yang berisi 5 mL media MHB steril, ditambahkan 200  $\mu$ L dari 10 seri konsentrasi ekstrak etanol buah Mengkudu dan ditambahkan 200  $\mu$ L kultur bakteri dari hasil pengenceran. Pengenceran kultur bakteri dilakukan dengan cara menambahkan 200  $\mu$ L kultur bakteri dari 10 mL media MHB yang telah diinkubasi selama 12-18 jam ke dalam tabung reaksi berisi 4800  $\mu$ L media MHB steril (total volume 5 mL).

Sepuluh tabung reaksi berisi 5 mL media MHB yang telah ditambahkan dengan 10 seri konsentrasi ekstrak etanol buah Mengkudu dan kultur bakteri, kemudian diukur *Optical Density* (OD) bakteri dengan menggunakan spektrofotometer ( $\lambda$  480 nm) sebagai pembanding sebelum perlakuan atau kontrol. Sepuluh tabung reaksi lainnya, diinkubasi selama 12-18 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Hasil inkubasi diukur *Optical Density* (OD) bakteri dengan menggunakan spektrofotometer ( $\lambda$  480 nm), sebagai pembanding sesudah perlakuan inkubasi.

MIC ditentukan dengan membandingkan OD setelah perlakuan inkubasi dikurangi OD sebelum perlakuan. Apabila terdapat konsentrasi terendah yang

menghambat pertumbuhan bakteri, ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan (OD bakteri adalah  $\leq 0$ ), maka didapatkan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Sedangkan untuk menentukan MBC, dilakukan uji lanjutan dengan cara mengambil 200  $\mu\text{L}$  dari konsentrasi yang menunjukkan MIC, ditambahkan kedalam tabung reaksi berisi 5 mL media MHB steril. Tabung reaksi diinkubasi selama 12-18 jam pada suhu 37°C dalam inkubator, selanjutnya dilakukan pengukuran OD kembali dengan spektrofotometer ( $\lambda$  480 nm). Apabila hasil pengukuran menunjukkan konsentrasi terendah ekstrak etanol buah mengkudu mempunyai OD adalah 0 (tidak adanya kekeruhan), maka didapatkan Konsentrasi Bakterisidal Minimum (KBM) atau *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC).

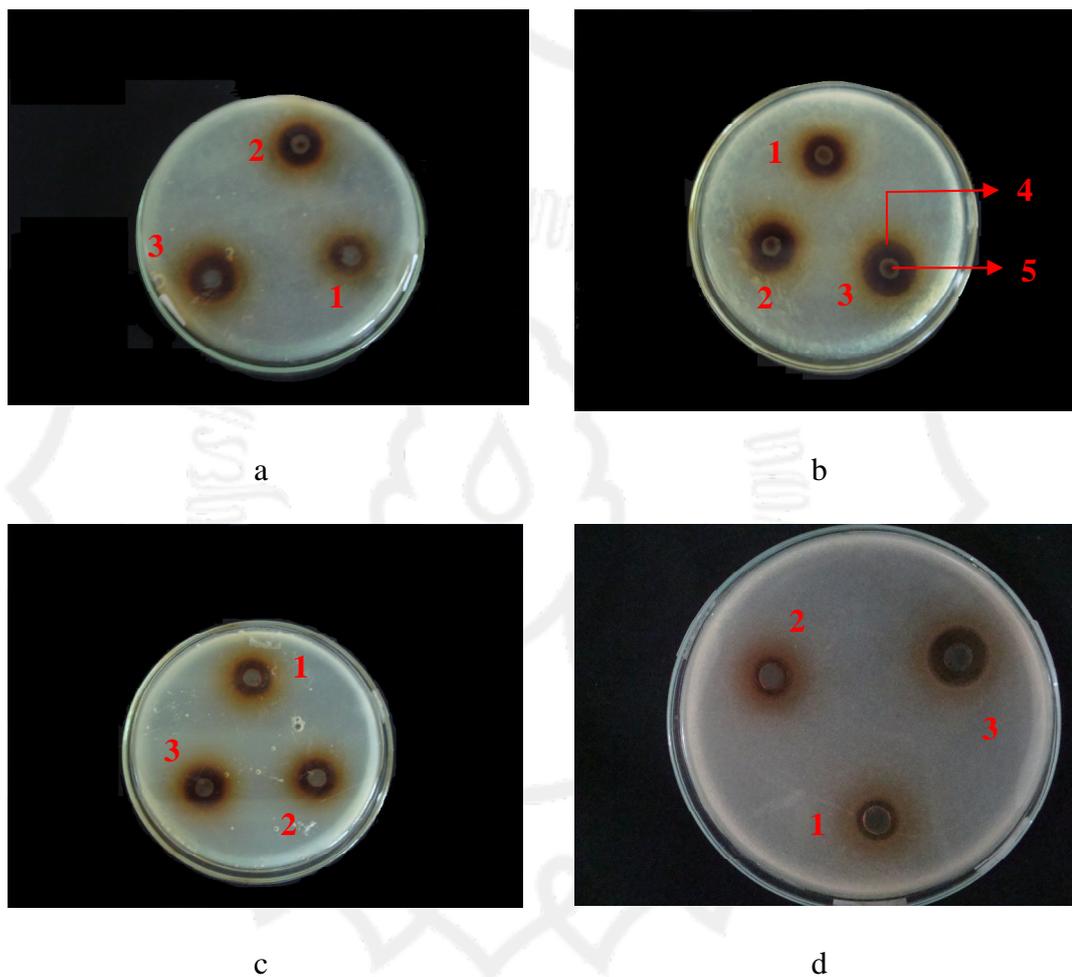
## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Mengkudu merupakan tanaman yang berkhasiat karena mempunyai beberapa kandungan senyawa yang penting bagi kesehatan tubuh. Mengkudu banyak digunakan sebagai obat diabetes, kanker, tumor, radang ginjal, liver, tekanan darah tinggi, radang empedu, sakit perut, masuk angin dan antibakteri. Komponen yang bersifat antibakteri dalam buah mengkudu antara lain adalah *alizarin* (modifikasi atau hidrolisa glikosida fenol), *glikosida*, *scopoletin* (hidroksi-metoksi-kumarin), *acubin*, *L. Asperuloside*, dan *flavonoid* (Peter, 2005; Waha, 2000; Winarti, 2005).

Penelitian dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu terhadap bakteri yang menyebabkan pembusukan pada daging segar. Apabila aktivitasnya dapat menghambat atau membunuh bakteri, kemungkinan dapat diaplikasikan sebagai bahan pengawet makanan. Buah mengkudu digunakan karena mudah didapat, murah, dan berdasarkan Jayaraman dkk. (2008), kandungan senyawa antibakterinya telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio chlorae*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumonia* dan *Aeromonas hydrophila*. Jayaraman dkk., menggunakan pelarut metanol karena senyawa antibakteri buah mengkudu bersifat polar, dan aktivitas antibakteri yang dihasilkan lebih besar dari pada pelarut *ethyl acetat* dan *heksane*. Namun penggunaan ekstrak metanol untuk aplikasi bahan pengawet makanan dapat beresiko karena metanol bersifat toksik, sehingga dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol.

Hasil uji antibakteri dan hasil pengukuran zona hambat pengaruh ekstrak etanol buah mengkudu pada *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229 dapat dilihat pada Gambar 7 dan Tabel 2.



Gambar 7. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu:

- |  |                    |
|--|--------------------|
| (a) <i>B. cereus</i> ATCC 1178         | (1) 7,5 mg         |
| (b) <i>S. saprophyticus</i> ATCC 15305 | (2) 12,5 mg        |
| (c) <i>E. aerogenes</i> ATCC 13048     | (3) 17,5 mg        |
| (d) <i>E. coli</i> ATCC 11229          | (4) zona hambat    |
|  | (5) sumuran/lubang |

Tabel 2. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu terhadap bakteri *B. cereus* ATCC 1178, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. aerogenes* ATCC 13048, dan *E. coli* ATCC 11229.

Ekstrak etanol buah mengkudu (mg) dalam 25 $\mu$ L	Diameter (mm)			
	<i>E. aerogenes</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>
2,5	4,65	1,30	1,00	6,00
5,0	2,15	6,80	4,65	6,60
7,5	2,65	8,10	2,15	9,50
10	4,30	9,80	4,30	11,80
12,5	5,80	9,80	2,95	12,45
15,0	4,65	11,00	3,45	11,30
17,5	6,45	10,80	4,95	12,80
20,0	6,30	11,30	3,65	12,65
22,5	5,60	13,00	3,45	12,50
25,0	6,10	12,30	3,80	13,45
Formalin (1%)	30,30	50,60	40,60	40,70
Amoxicillin (0,0625)	13,60	15,34	10,23	15,50
Kontrol CMC (0,025)	0	0	0	0
Kontrol etanol	0	0	0	0

Keterangan :  : diameter zona hambat terbesar

Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu memiliki daya hambat lemah hingga sedang terhadap bakteri gram negatif *E. coli* ATCC 11229 dan *E. aerogenes* ATCC 13048 serta memiliki daya hambat kuat terhadap bakteri gram positif yaitu *B. cereus* ATCC 1178 dan *S. saprophyticus* ATCC 15305. Penentuan kriteria ini berdasarkan Davis dan Stout (1971) yang melaporkan bahwa ketentuan kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm kategori sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang termasuk kategori lemah.

Hasil pengujian menunjukkan diameter zona penghambatan pada bakteri gram positif secara umum cenderung lebih besar daripada bakteri gram negatif. Diameter zona hambat terbesar pada *E. coli* ATCC 11229 terdapat pada konsentrasi 17,5 mg (4,95 mm), *E. aerogenes* ATCC 13048 pada konsentrasi 17,5 mg (6,45 mm) sedangkan pada *B. cereus* ATCC 1178 terdapat pada konsentrasi 25,0 mg (13,45 mm) dan *S. saprophyticus* ATCC 15305 pada konsentrasi 22,5 mg (13,00 mm). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri gram positif lebih rentan oleh senyawa antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu daripada bakteri gram negatif.

Perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri, karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri gram positif. Sesuai hasil penelitian yang dilakukan oleh Kusmayati dan Agustini (2007), ekstrak etanol *P. cruentum* yang mengandung senyawa antibakteri flavonoid, mampu menghambat lebih besar bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif. Proses ekstraksi senyawa antibakteri juga berpengaruh terhadap aktivitasnya. Hasil penelitian menyebutkan, ekstrak kasar *P. cruentum* tidak menunjukkan proses penghambatan pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun negatif pada uji sensitivitas difusi agar, dikarenakan pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan hampir sebagian besar komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Hal ini menyebabkan aktivitas antibakteri senyawa

flavonoid kurang maksimal bekerja, kemudian ekstrak kasar tersebut dilakukan pemisahan senyawa lanjut, dan dihasilkan senyawa antibakteri murni yang mempunyai aktivitas penghambatan lebih besar.

Pada umumnya, diameter zona hambat cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Tetapi ada penurunan luas zona hambat pada beberapa konsentrasi yang lebih besar, seperti pada bakteri gram negatif saat konsentrasi 20,0 mg. Hal serupa dialami juga oleh Elifah (2010), dimana diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, kemungkinan ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu.

Kontrol terhadap pelarut etanol serta kontrol CMC tidak menunjukkan adanya zona hambat. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antibakteri. Kontrol *amoxicillin* berpengaruh terhadap kedua jenis bakteri baik gram positif maupun negatif, aktifitas penghambatannya dalam kategori kuat. *Amoxicillin* merupakan turunan penicillin yang mempunyai spektrum luas (dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif), mekanisme kerjanya menghambat sintesis dinding sel bakteri (Mycek dkk.,1997).

Kontrol formalin mempunyai diameter hambat yang terbesar, baik pada jenis bakteri gram negatif maupun positif. Aktifitas penghambatannya tergolong kategori sangat kuat. Formalin adalah larutan formaldehida dalam air.

Formaldehid membunuh bakteri, dengan membuat jaringan dalam bakteri dehidrasi (kekurangan air). Unsur aldehida didalamnya bersifat mudah bereaksi dengan protein, karena ketika disiramkan ke makanan, formalin akan mengikat unsur protein mulai dari bagian permukaan hingga terus meresap ke bagian dalam. Protein yang telah rusak, tidak akan digunakan bakteri pembusuk untuk menghasilkan senyawa asam (penyebab pembusukan makanan), sehingga tidak terjadi proses pembusukan dan makanan menjadi awet. Formalin tidak saja membunuh bakteri, tetapi juga membentuk lapisan pelindung pada makanan yang akan meresap melindungi bagian dalamnya, sehingga tahan terhadap serangan bakteri lain. Hal ini yang membahayakan kesehatan manusia, karena tentu saja protein dalam tubuh manusia dapat menjadi rusak dan berakibat kematian (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2004).

Perbedaan struktur dinding sel menentukan penetrasi, ikatan dan aktivitas senyawa antibakteri (Jawetz dkk., 2005). Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Sedangkan senyawa flavonoid dalam buah mengkudu merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang nonpolar. Sehingga menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif lebih banyak mengandung

lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam), dan lipopolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipid A, yang bersifat nonpolar. Hal ini yang menyebabkan senyawa antibakteri pada buah mengkudu lebih sulit untuk masuk ke dalam sel sehingga aktivitas antibakterinya lebih lemah dibandingkan pada bakteri gram positif.

Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi pada uji MIC dan MBC ekstrak etanol buah mengkudu.

Bakteri	Ekstrak etanol buah mengkudu (mg) dalam 200 $\mu$ L	Nilai absorbansi		$\Delta$ OD	Uji lanjut (OD)	Aktivitas
		Sebelum inkubasi	Setelah inkubasi			
<i>S. saprophyticus</i>	20	1,0460	2,2054	1,1594	-	-
	40	2,7668	2,8341	0,0673	-	-
	60	2,8721	3,6123	0,7402	-	-
	80	2,8341	2,4982	-0,3318	0,5413	bakteriostatik
	100	2,5914	1,5807	-1,0093	0,3525	bakteriostatik
	120	2,2507	2,0626	-0,1874	0,4146	bakteriostatik
	140	2,8721	2,5331	-0,3369	0,5450	bakteriostatik
	160	2,2802	2,4082	0,1280	-	-
	180	2,5914	2,9138	0,3224	-	-
	200	2,5518	3,9133	1,3615	-	-
<i>E. aerogenes</i>	20	1,0460	1,6143	0,5683	-	-
	40	2,7668	2,7992	0,0324	-	-
	60	2,8721	2,7992	-0,0729	0,6946	bakteriostatik
	80	2,8341	2,4507	-0,3834	0,6257	bakteriostatik
	100	2,5914	2,5914	0	0,6470	bakteriostatik
	120	2,2507	2,3577	0,1070	-	-
	140	2,8721	2,7092	-0,1629	0,3912	bakteriostatik
	160	2,2802	2,8341	0,5539	-	-
	180	2,5914	2,9597	0,3683	-	-
	200	2,5518	2,6587	0,1069	-	-

Bakteri	Ekstrak etanol buah mengkudu (mg) dalam 200 $\mu$ L	Nilai Absorbansi		$\Delta$ OD	Uji lanjut (OD)	aktivitas
		Sebelum inkubasi	Setelah inkubasi			
<i>B. cereus</i>	20	1,0460	1,6233	0,5833	-	-
	40	2,7668	2,8341	0,0841	-	-
	60	2,8721	1,1124	-1,7576	0,2126	bakteriostatik
	80	2,8341	3,9133	1,0833	-	-
	100	2,5914	2,7992	0,2092	-	-
	120	2,2507	2,4658	0,2158	-	-
	140	2,8721	2,7668	-0,1032	0,3376	bakteriostatik
	160	2,2802	2,5710	0,2916	-	-
	180	2,5914	2,7992	0,2092	-	-
	200	2,5518	2,9138	0,3638	-	-
<i>E. coli</i>	20	1,0460	2,3577	1,3177	-	-
	40	2,7668	3,3113	0,5613	-	-
	60	2,8721	2,9597	0,0897	-	-
	80	2,8341	1,6233	-1,2067	0,5811	bakteriostatik
	100	2,5914	1,6165	-0,9735	0,6428	bakteriostatik
	120	2,2507	1,8561	-0,3939	0,7124	bakteriostatik
	140	2,8721	2,1807	-0,6893	0,7272	bakteriostatik
	160	2,2802	2,6351	0,3551	-	-
	180	2,5914	2,8721	0,2821	-	-
	200	2,5518	2,8721	0,3221	-	-

Pertumbuhan bakteri dapat diketahui dengan mengukur selisih antara absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi. Jumlah sel bakteri dapat diukur dengan cara mengetahui kekeruhan (turbiditas) kultur. Semakin keruh suatu kultur, semakin banyak jumlah selnya. Cahaya yang dipancarkan pada spektrofotometer akan mengenai sel sehingga sebagian cahaya akan diserap dan sebagian diteruskan. Banyaknya cahaya yang diabsorpsi sebanding dengan banyaknya sel bakteri pada batas-batas tertentu (Purwoko, 2007).

Nilai MIC ditentukan dari konsentrasi terendah dimana terdapat nilai  $\Delta$ OD yang negatif. Nilai  $\Delta$ OD yang negatif menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi yang berarti terjadi penurunan jumlah sel setelah inkubasi. Nilai  $\Delta$ OD

yang positif menunjukkan adanya peningkatan nilai absorbansi yang berarti masih terdapat pertumbuhan bakteri. Masih adanya pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa pada konsentrasi ekstrak tersebut belum dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil uji MIC dan MBC menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu memiliki aktivitas bakteristatik namun tidak memiliki aktivitas bakterisidal, karena pada saat dilakukan uji lanjut diketahui muncul kekeruhan yang merupakan pertumbuhan bakteri. Aktivitas bakteristatik ekstrak etanol buah mengkudu dinyatakan sebagai nilai MIC, yaitu konsentrasi minimal yang menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri. Data hasil penelitian menunjukkan aktivitas penghambatan ekstrak etanol buah mengkudu terdapat pada konsentrasi yang beragam, sehingga nilai MIC dapat diketahui menggunakan persamaan garis dengan  $y = \text{selisih absorbansi } (\Delta \text{ OD})$  dan  $x = \text{konsentrasi ekstrak}$ . Persamaan garis yang digunakan adalah regresi non-linier (logaritmik), karena pertumbuhan tidak selalu mengalami peningkatan. Hasil perhitungan nilai MIC untuk bakteri *E. aerogenes* ATCC 13048 berdasarkan persamaan garis  $y = -0,29 \ln(x) + 1,243$  adalah 72 mg, nilai MIC bakteri *E. coli* ATCC 11229 persamaan garis  $y = -1,14 \ln(x) + 4,640$  adalah 58 mg, nilai MIC bakteri *S. saprophyticus* ATCC 15305 persamaan garis  $y = -0,83 \ln(x) + 3,517$  adalah 69 mg, nilai MIC bakteri *B. cereus* ATCC 1178 persamaan garis  $y = -0,15 \ln(x) + 0,527$  adalah 33 mg.

Hasil uji MIC dan MBC pada selisih nilai absorbansi ekstrak etanol buah mengkudu 160 mg sampai 200 mg, dari semua jenis bakteri menunjukkan nilai selisih positif (atau lebih dari 0), yang dapat diartikan bahwa pada kondisi tersebut tidak terjadi proses penghambatan pertumbuhan bakteri. Nilai absorbansi menunjukkan besarnya cahaya dalam spektrofotometer yang diserap oleh sel dalam kuvet, yang berbanding lurus dengan jumlah sel tersebut. Seharusnya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin besar aktivitas penghambatannya. Namun, dalam penelitian ini tidak menunjukkan hal tersebut, kemungkinan ini disebabkan karena nilai positif yang diindikasikan sebagai pertumbuhan bakteri, bukanlah sejumlah cahaya yang diserap sel bakteri sepenuhnya, melainkan karena konsentrasi ekstrak yang semakin besar, didominasi oleh senyawa ekstrak yang menyerap cahaya dan juga mungkin dikarenakan sel mati ikut terpapar cahaya dan kemudian menyerap cahaya tersebut. Menurut Purwoko (2007), metode perhitungan bakteri secara langsung (metode turbidimetri) mempunyai kelemahan yaitu tidak dapat membedakan sel mati dan sel hidup.

Ekstrak etanol buah mengkudu bekerja tidak stabil dalam penghambatan, ditunjukkan dengan konsentrasi yang semakin besar tidak memberikan efek penghambatan yang lebih besar. Kemungkinan ini disebabkan karena ekstrak yang digunakan merupakan ekstrak kasar yang kelarutan senyawa antibakterinya belum maksimal, sehingga aktivitasnya tidak maksimal pula. Menurut Jayaraman dkk.(2008), penelitiannya menunjukkan konsentrasi ekstrak metanol buah mengkudu yang efektif menghambat bakteri mulai bekerja pada konsentrasi

100 mg/mL. Buah mengkudu yang diekstrak dengan pelarut polar (metanol) menunjukkan efek penghambatan terhadap dua jenis gram bakteri. Jenis ekstrak yang digunakan sangat berpengaruh dengan aktivitas antibakteri yang dihasilkan, ekstrak metanol buah mengkudu menghasilkan aktivitas penghambatan bakteri yang lebih besar daripada pelarut *ethyl acetate* dan *hexane*.

Pelarut yang digunakan (etanol) juga merupakan pelarut yang universal (Kusmayati dan Agustini, 2007), sehingga senyawa-senyawa yang bersifat polar banyak yang ikut tertarik dari ekstrak. Hal ini menyebabkan aktivitas senyawa antibakteri yang diinginkan tidak optimal, karena bercampur dengan aktivitas senyawa-senyawa polar lain yang terkandung dalam ekstrak etanol buah mengkudu. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan aktivitas antibakteri dan untuk mengetahui senyawa antibakteri yang spesifik berperan dalam penghambatan bakteri uji.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*, L.) mempunyai aktivitas penghambatan, pada uji zona hambat menunjukkan aktivitasnya cenderung lebih aktif terhadap bakteri gram positif, daripada gram negatif.
2. Nilai MIC ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*, L.) untuk *E. coli* ATCC 11229 adalah 58 mg, *E. aerogenes* ATCC 13048 adalah 72 mg dan *B. cereus* ATCC 1178 adalah 33 mg, *S. saprophyticus* ATCC 15305 adalah 69 mg.
3. Nilai MBC tidak ditemukan karena aktivitas senyawa antibakteri hanya bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri).

#### B. Saran

1. Perlu dilakukan kalibrasi terhadap alat-alat yang digunakan dalam penelitian, sehingga data hasil penelitian yang didapat benar-benar akurat.
2. Perlu dilakukan partisi, isolasi dan purifikasi terhadap ekstrak etanol buah mengkudu untuk mengetahui golongan senyawa dan aktivitasnya.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme penghambatan senyawa antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu terhadap bakteri uji secara pasti.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Atlas, R. M., dan Richard, B. 1987. *Microbial Ecology : Fundamentals and Applications (Second Edition)*. The Benjamin Cummings Publishing Company, California.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2004. Bahan Tambahan Ilegal Boraks, Formalin dan Rhodamin B. *Food Watch Sistem Pengamanan Pangan Terpadu*.
- Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill, New York.
- Davis, W.W. dan T.R. Stout. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology* 22: 659-665.
- Djauhariya, Endjo. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Tanaman Obat Potensial. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. *Pengembangan Teknologi TRO*. 15(1) : 1-16.
- Djauhariya, E., Raharjo, M., dan Ma'un. 2006. Karakterisasi Morfologi dan Mutu Buah Mengkudu. *Buletin Plasma Nutfah*. 12(1) : 1-8.
- Elifah, Esty. 2010. Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum*, D.Don) Terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Skripsi*. FMIPA UNS, Surakarta.
- Erfi dan Prasetyo, J. 2005. Efek Penghambatan Ekstrak Mengkudu Terhadap Pertumbuhan Patogen dan Perkembangan Penyakit Antraknosa (*Colletotrichum capsici*) pada Tanaman Cabe. *Program Penelitian Dosen Mu Universitas Lampung*.
- Harsojo, Andini, L. S., dan Trimey, R. S. 2005. Dekontaminasi Bakteri Patogen pada Daging dan Jeroan Kambing dengan Iridiasi Gamma. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan* Diterjemahkan oleh : K. Padmawinata dan I. Soediro. Penerbit ITB, Bandung.
- Hasyim, M., M. Hamam dan Syahrir, A. 2006. Formalin Bukan Formalitas. *Buletin CP*. Edisi Januari (83) VII.
- Hedetniemi, Kevin dan Liao, Min-Ken. 2006. *Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses : Bacillus cereus*. [www.microbelibrary.org](http://www.microbelibrary.org) [22 November 2009].

- Hedetniemi, Kevin dan Liao, Min-Ken. 2006. *Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses : Escherichia coli*. [www.microbelibrary.org](http://www.microbelibrary.org) [22 November 2009].
- Hedetniemi, Kevin dan Liao, Min-Ken. 2006. *Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses : Enterobacter aerogenes*. [www.microbelibrary.org](http://www.microbelibrary.org) [22 November 2009].
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. *Universitas Erlangga*.
- Jayaraman, S. K., dan Muthu, S. M. 2008. Antibacterial, Antifungal and Tumor Cell Suppression Potensial of *Morinda citrifolia* Fruits Extracts. *International Journal of Integrative Biology*. 3(1) : 44-49.
- Jawetz. E., J. Melnick, L. Adelberg, E.A. 2005. *Microbiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Terjemahan Huriati dan Hartanto. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Juliantina, F. R., Ayu, D. C. M, dan Nirwani, B. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Kusmayati dan Agustini, N. W. R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1) : 48-53.
- Nurmaini. 2001. Pencemaran Makanan Secara Kimia dan Biologis. *Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara*.
- Mycek, M. J., Richard, A. H., dan Pamela, C. 1997. *Farmakologi : Ulasan Bergambar*. Terjemahan Azwar Agoes dan Huriawati Hartanto. Penerbit Widya Medika, Jakarta.
- Pratiwi, Sylvia. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Peter. 2005. Chemical Constituents and Noni's Function. *Noni News Indian Magazine*. Edisi Oktober (2) X.
- Pratiwi, I. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha indica* terhadap Bakteri *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta.
- Purwani, E., Retnaningtyas, Dyah Widowati. 2008. Pengembangan Pengawet Alami dari Ekstrak Lengkuas, Kunyit, dan Jahe pada Daging dan Ikan Segar. *Laporan penelitian Fakultas Ilmu Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta*.

- Purwoko, Tjahjadi. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara, Jakarta.
- Redriguez, W. 2008. *Noni Fruit (Morinda citrifolia)*. [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com) [5 Juli 2010].
- Suryowinoto, S. M. 1997. *Flora Eksotika, Tanaman Peneduh*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Todar. K. 2008. *Bacillus cereus Keracunan Makanan*. [www.textbookofbacteriology.net](http://www.textbookofbacteriology.net) [22 Oktober 2009].
- Tsang, Anne. 2006. *Mannitol Salt Agar Inoculated with Staphylococcus saprophyticus*. [www.microbelibrary.org](http://www.microbelibrary.org) [22 November 2009].
- Waha, M. G. 2000. *Sehat dengan Mengkudu*. Jakarta: MSF Group: 1-16.
- Winarti, C. 2005. Peluang Pengembangan Minuman Fungsional dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Litbang Pertanian*. 24 (4) : 149-155.