

17-161

DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN DAN KULIT BATANG SAWO KECIK (*Manilkara kauki* L. Dubard) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

Maya Firdausi Prayudhani¹⁾, Utami Sri Hastuti²⁾, Endang Suarsini³⁾

¹⁾SMK Negeri 1 Pasuruan,
^{2 dan 3)}Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang
E-mail: myfirdausi74@yahoo.com

ABSTRAK

Potensi Sawo kecil (*Manilkara kauki* L. Dubard) sebagai sumber obat alami untuk diare belum terbukti secara ilmiah. Sawo kecil mengandung flavonoid yakni senyawa yang bersifat sebagai antibakteri, sehingga sawo kecil diasumsikan dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare *Escherichia coli*. Tujuan dari penelitian ini ialah: 1) untuk menganalisis pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil terhadap penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*, 2) untuk menentukan kombinasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil dengan variasi konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*. Daya antibakteri ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil dalam konsentrasi 0%, 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, 95% dan 100% diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode difusi agar dengan cara Kirby Bauer Test. Antibiotik Levofloxacin digunakan sebagai kontrol positif. Data yang diperoleh dibandingkan dengan kontrol positif dan dianalisis menggunakan analisis varian ganda. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa: 1) perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*, 2) ekstrak etanol kulit batang sawo kecil pada konsentrasi 55% merupakan kombinasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan rerata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 12.3 mm (51% terhadap Levofloxacin).

Kata kunci: Daya antibakteri, Metode difusi agar, Ekstrak etanol, Sawo kecil (*Manilkara kauki* L. Dubard), *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Sawo kecil (*Manilkara kauki* Dubard L.) have a potency as a source of natural medicine for diarrhea but has not been proven scientifically. Sawo kecil contains flavonoids which acts as an antibacterial compound, so that the sawo kecil is assumed to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria that cause diarrhea. The purpose of this research is: 1) to analyze the effect of different concentrations of ethanol extract of the leaves and stem bark of sawo kecil toward the growth inhibition of *Escherichia coli* *in vitro* 2) to determine the combination of leaves and stem bark of sawo kecil ethanol extract that is the most effective to inhibit the growth of *Escherichia coli* *in vitro*. The antibacterial ability of ethanol extract of leaves and bark of sawo kecil in concentrations of 0%, 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, 95% and 100% were tested for *Escherichia coli* *in vitro* with agar diffusion method by Kirby Bauer Test. Antibiotic Levofloxacin is used as a positive control. The data were compared with the positive control and were analyzed using two way analysis of variance. The research results showed that: 1) there is effect of the different concentrations of the leaves and stem bark of sawo kecil ethanol extract against the growth inhibition of *Escherichia coli* *in vitro*, 2) the stem bark of sawo kecil ethanol extract at the concentration 55% is the most effective combination to inhibit the growth of *Escherichia coli* with the growth inhibition zone diameter mean 12.3 mm (51% of Levofloxacin).

Keywords: Antibacterial Ability, Agar Diffusion Method, Ethanol Extract, Sawo Kecil (*Manilkara kauki* Dubard L.), *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Resistensi terhadap antibiotik yang menjadi obat lapis pertama untuk diare mengakibatkan masyarakat harus menggunakan obat-obat lapis kedua dan ketiga yang harganya lebih mahal sehingga beban ekonomi yang harus ditanggung oleh masyarakat juga semakin besar. Pengobatan diare dengan produk alami diharapkan dapat menjadi alternatif untuk membantu mengatasi timbulnya masalah resistensi antibiotik dalam pengendalian mikroba penyebab diare. Sawo kecil (*Manilkara*



kauki L. Dubard) merupakan salah satu jenis tumbuhan yang berpo-tensi sebagai obat alami diare. Berdasarkan informasi dalam *Indian Medicinal Plants* (2009), akar dan kulit pohon sawo kecil mengandung zat aktif yang bersifat antibakteri yang dapat diberikan pada bayi penderita diare. Sistem Informasi Tanaman Obat Fakultas Farmasi Universitas Airlangga (2010) juga menyatakan bahwa efek farmakologis dari tumbuhan sawo kecil ialah mengobati diare dan menambah energi.

Daya antibakteri ialah kemampuan suatu bahan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Daya antibakteri tumbuhan sawo kecil masih belum pernah diteliti, sampai saat ini hanya ditemukan referensi daya antibakteri pada sawo manila (*Manilkara zapotta*). Osman dkk (2011) mengemukakan bahwa ekstrak etil asetat kulit batang sawo manila menunjukkan daya antibakteri kategori sedang terhadap *Escherichia coli* dengan menghasilkan zona hambat berkisar 8-15 mm, sedangkan ekstrak daun sawo manila menunjukkan daya antibakteri kategori ringan terhadap *Escherichia coli* dengan menghasilkan zona hambat 6-9 mm.

Berdasarkan Sistem Informasi Tanaman Obat Fakultas Farmasi Universitas Airlangga (2010), tumbuhan sawo kecil mengandung saponin, flavonoid dan polifenol. Uji kualitatif fitokimia dan analisis fraksi terlarut n-heksana terhadap kayu sawo kecil menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, fenolik dan terpenoid (Anisah, 2001). Flavonoid ialah senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri dan antivirus (Chusnie & Lamb, 2005), sehingga tumbuhan yang mengandung flavonoid diasumsikan mempunyai daya antibakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk: 1) menganalisis pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil terhadap penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*, 2) menentukan kombinasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil dengan variasi konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan referensi tentang potensi sawo kecil sebagai sumber bahan obat alami khususnya dalam hal aplikasi pengendalian bakteri penyebab diare dan senyawa-senyawa aktif dalam tumbuhan sawo kecil, serta dapat dijadikan landasan untuk penelitian lebih lanjut secara *in vivo*. Melalui penelitian ini juga diharapkan dapat memberi inspirasi bagi peneliti Indonesia untuk terus meneliti potensi tumbuhan obat dari sumber hayati yang berlimpah di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen *in vitro*, dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan IPA (FMIPA) Universitas Negeri Malang dan ekstraksi daun dan batang sawo kecil dilakukan di Balai Materia Medika Batu pada bulan Mei sampai dengan Juni 2012.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan variabel bebas konsentrasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil yakni 0%, 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, 95% dan 100%. Variabel terikat berupa diameter zona (daya) hambat pertumbuhan *Escherichia coli* dalam media *Mueller Hinton Agar* yang telah diberi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil dengan beberapa macam konsentrasi yang berbeda. Variabel kontrolnya meliputi suhu inkubasi, lama inkubasi, komposisi media, umur dan kepadatan suspensi biakan murni *Escherichia coli*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah daun dan kulit batang sawo kecil, biakan *Escherichia coli* berumur 18-24 jam pada media cawan *Mueller Hinton Agar*, serta *Levofloxacin discs* (cakram uji berisi *Levofloxacin*).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kecil.

Daun segar dan kulit batang kering yang sudah dihaluskan sebanyak 150 g dilarutkan dalam etanol 95% selama 3 hari sambil sesekali diaduk (Mustarichie dkk, 2011). Masing-masing ekstrak tersebut kemudian disaring dengan *vacuum filter mikropore* dan diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental dengan konsentrasi 100% (Poeloengan dkk, 2007). Ekstrak ini kemudian diencerkan dengan aquades steril menjadi beberapa macam konsentrasi yakni 0%, 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85% dan 95%.



Pembiakan *Escherichia coli*.

Suspensi *Escherichia coli* dilakukan dalam media *Nutrient Broth* dan dibiakkan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Suspensi yang digunakan ialah suspensi yang kekeruhannya sama dengan larutan standar 0.5 *McFarland* yang setara dengan konsentrasi bakteri 1.5×10^8 CFU/ml. *Escherichia coli* kemudiandioles merata pada permukaan media cawan *Mueller Hinton Agar* dengan kapas bertangkai (*cotton swab*) steril (Hudzicki, 2010, Jorgensen & Turnidge, 2003).

Penempatan Cakram Kertas (*Paper discs*).

Cakram kertas/*paper discs* berisi 15µL ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil dengan konsentrasi 0% (sebagai kontrol negatif), 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, 95%, 100% dan *Levofloxacin discs* sebagai kontrol positif diletakkan pada olesan biakan *Escherichia coli* pada media *Mueller Hinton Agar* kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

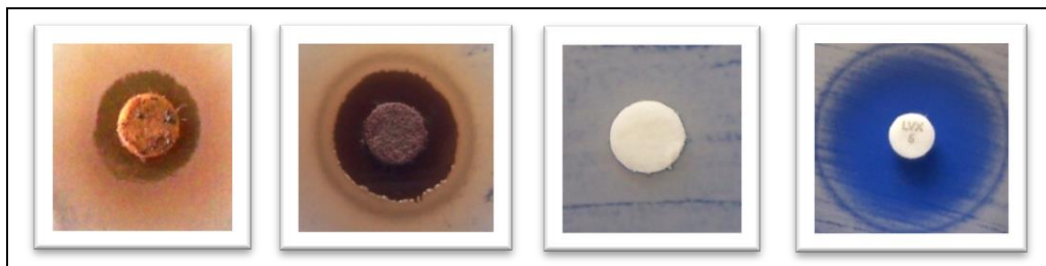
Analisis data.

Data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang diper-oleh dianalisis menggunakan analisis varian ganda, dilanjutkan dengan analisis perbedaan antar perlakuan menggunakan *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)*. Data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang diperoleh juga dibanding-kan dengan kontrol positif dalam bentuk persentase berdasarkan standar NCCLS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

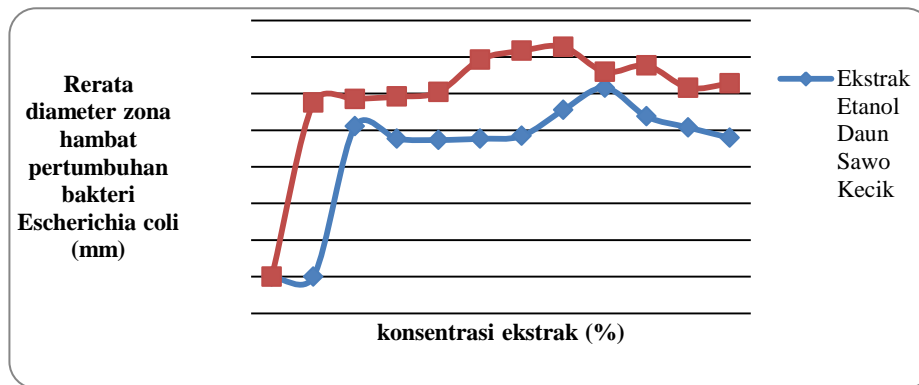
Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kecil.

Penelitian daya antibakteri ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* disekitar cakram kertas berisi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil dalam berbagai konsentrasi (gambar sebagian hasil penelitian ini disajikan pada Gambar 1). Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa flavonoid dalam daun dan kulit batang sawo kecil. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa keberadaan flavonoid pada beberapa jenis tanaman yang diekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian Poeloengan dkk (2007), menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit batang bungur (*Largerstoremia speciosa* Pers) dapat menghambat pertum-buhan *Escherichia coli* yang diisolasi dari feses ayam. Penelitian Siregar (2009), menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang ingul (*Toona sinensis* M. Roem) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.



Gambar 1. Sebagian Hasil Penelitian yang Mewakili Perlakuan Pemberian Ekstrak Etanol Daun (a) dan Kulit Batang (b) Sawo Kecil, Kontrol Negatif (c), dan Kontrol Positif *Levofloxacin* (d) Terhadap *Escherichia coli* pada Media Cawan *Mueller Hinton Agar*

Rerata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang diberi ekstrak daun dan kulit batang sawo kecil dalam berbagai konsentrasi ditunjukkan dalam grafik pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Rerata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* yang Diberi Ekstrak Daun dan Kulit Batang Sawo kecil (*Manilkara kauki* L. Dubard) pada Berbagai Konsentrasi

Berdasarkan grafik tersebut dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak etanol kulit batang sawo kecil menghasilkan daya hambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang lebih besar dari pada pemberian ekstrak etanol daun sawo kecil pada berbagai konsentrasi. Rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* terbesar dihasilkan oleh pemberian ekstrak etanol daun sawo kecil pada konsentrasi 75% dan ekstrak etanol kulit batang sawo kecil pada konsentrasi 65%.

Pelczar & Chan (2005) menyatakan bahwa tingkat konsentrasi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi daya antibakteri. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil menghasilkan zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang meningkat sampai pada konsentrasi 75% pada pemberian ekstrak etanol daun sawo kecil atau 65% pada pemberian ekstrak etanol kulit batang sawo kecil kemudian menurun. Kemampuan tersebut dikarenakan semakin tinggi kandungan ekstrak menyebabkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri juga semakin meningkat. Penurunan daya antibakteri setelah konsentrasi 75% atau 65% tersebut disebabkan oleh volume pelarut yang menghantarkan ekstrak semakin berkurang, sehingga kemampuan ekstrak untuk berdifusi menjadi berkurang.

Penggunaan antibiotik *Levofloxacin* sebagai kontrol positif memberikan hasil rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar 24.0 mm. Berdasarkan *Disk Diffusion Standard* untuk bakteri patogen *Enterobacteriaceae* (NCCLS, 2000 dalam Jorgensen & Turnidge, 2003) dapat disimpulkan bahwa *Escherichia coli* tergolong **susceptible/peka (S)** terhadap *Levofloxacin* karena diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* ≥ 17 mm.

Persentase rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* terhadap kontrol positif berkisar antara 28-52% dengan persentase tertinggi 43% untuk rerata diameter zona hambat yang diberi ekstrak etanol daun sawo kecil dan 52% untuk rerata diameter zona hambat yang diberi ekstrak etanol kulit batang sawo kecil.

Persentase rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* terhadap kontrol positif berkisar antara 28-52% karena *Levofloxacin* merupakan senyawa sintesis yang mengandung bahan antibakteri murni. Sedangkan dalam ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil dimungkinkan masih mengandung bahan atau senyawa lain yang turut terekstraksi.

Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kecil terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Escherichia coli*. Ringkasan hasil anava ganda tentang pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil (*Manilkara kauki* L. Dubard) terhadap penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Ringkasan Hasil Analisis Varian (Anava) untuk Rerata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan *Escherichia coli*

Sumber	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Rerata kuadrat	Statistik F	Sig.
Macam ekstrak	171,989	1	171,989	1594,053	,000
Macam Konsentrasi	625,449	11	56,859	526,987	,000
Ekstrak * Konsentrasi	96,090	11	8,735	80,963	,000
Kesalahan	5,179	48	,108		

Berdasarkan hasil anava ganda tersebut dapat ditunjukkan bahwa hipotesis perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil memberikan pengaruh terhadap rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* dapat diterima.

Hasil notasi *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* dengan tingkat kesalahan 5% terhadap macam ekstrak, macam konsentrasi, dan kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 2 dan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh dari kombinasi perlakuan macam ekstrak yakni ekstrak etanol daun sawo kecil dengan ekstrak etanol kulit batang sawo kecil dengan variasi konsentrasi yang diberikan terhadap rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang dihasilkan.

Kombinasi yang paling efektif ialah kombinasi perlakuan pemberian ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil pada konsentrasi terendah yang menghasilkan rerata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri paling tinggi. Kombinasi perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang sawo kecil dengan konsentrasi 65% memberikan hasil rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang paling besar akan tetapi tidak berbeda nyata dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pada konsentrasi 55% karena notasi antara kedua konsentrasi tersebut sama, sehingga dapat disimpulkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang sawo kecil pada konsentrasi 55% adalah kombinasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Rerata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit batang sawo kecil pada konsentrasi 55% ialah 12,3 mm (51% terhadap *Levofloxacin*).

Tabel 2. Pengaruh Macam Ekstrak, Macam Konsentrasi, dan Kombinasi Perlakuan Terhadap Rerata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi ekstrak (%)	Diameter Zona Hambat (mm) dan Notasi Duncan	
	Daun Sawo Kecil	Kulit Batang Sawo Kecil
0	0 ^a	0 ^a
5	0 ^a	9,5 ^{gh}
15	8,2 ^{de}	9,7 ^h
25	7,5 ^b	9,8 ^{hj}
35	7,5 ^b	10,1 ^{hij}
45	7,5 ^b	11,9 ^{lm}
55	7,7 ^{bcd}	12,3 ^{mn}
65	9,1 ^{fg}	12,6 ⁿ
75	10,3 ^{ij}	11,2 ^k
85	8,8 ^{ef}	11,5 ^{kl}
95	8,2 ^{cd}	10,3 ^j
100	7,6 ^{bc}	10,6 ^j

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit batang sawo kecil lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dari pada pemberian ekstrak etanol daun sawo kecil. Kemampuan ekstrak kulit batang sawo kecil untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* lebih tinggi sejalan dengan hasil penelitian Osman dkk (2011)



yang menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit batang *Manilkara zapota* (L) P. Royen mempunyai daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang lebih tinggi daripada daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etil asetat daun *Manilkara zapota* (L) P. Royen.

Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* oleh Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kecil.

Ohemeng dkk (1993) dalam Chusnie & Lamb (2005) telah menguji aktivitas penghambatan terhadap DNA girase *Escherichia coli* terhadap 14 flavonoid dalam berbagai struktur. Berdasarkan hasil penelitian tersebut ditemukan bahwa tujuh senyawa flavonoid, termasuk *quercetin* dan *apigenin* dapat menghambat DNA girase *Escherichia coli* dengan kadar yang berbeda-beda.

Menurut Stansfield dkk (2006), enzim helikase yang membuka pilinan DNA dalam proses replikasi DNA prokariot menyebabkan terjadinya superkoil positif (pilinan yang sangat rapat pada seluruh DNA sisanya). Untuk membuka pilinan DNA, maka superkoil positif harus dihilangkan dengan cara memotong DNA dan membiarkannya merenggang atau dengan cara memasukkan superkoil negatif untuk mengimbangi superkoil positif. Pemasukan superkoil negatif membutuhkan energi dan enzim DNA girase. Jika DNA girase terhambat maka tidak terbentuk struktur superkoil negatif sehingga akan menghambat proses replikasi DNA dan transkripsi yang dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel dan akhirnya sel mati. *Levofloxacin* yang digunakan sebagai kontrol positif merupakan antibiotik golongan *fluoroquinolon*. Menurut Neal (2006), mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh antibiotik golongan kuinolon ialah dengan menghambat DNA girase.

KESIMPULAN DAN SARAN

Simpulan dari penelitian ini ialah 1) perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*, 2) ekstrak etanol kulit batang sawo kecil pada konsentrasi 55% merupakan kombinasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan rerata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 12.3 mm (51% terhadap *Levofloxacin*). Selanjutnya perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui keefektifan tumbuhan sawo kecil sebagai tanaman obat terutama untuk diare dan disentri secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anisah, L.N. 2001. *Zat ekstraktif kayu tanjung (Mimusops elengi Linn) dan Kayu Sawo kecil (Manilkara kauki Dubard) serta pengaruhnya terhadap rayap tanah (Coptotermes curvignathus) Holmgren dan jamur pelapuk Schizo-phyllum commune Fries*. Tesis tidak diterbitkan. Bogor : PPS IPB
- Chusnie, T.P.T., A.J. Lamb. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (Online), 26 (2005): 343-356, (http://www.idpublications.com/journals/pdfs/ijaa/antage_mostcited_1.pdf), diakses 30 Desember 2012.
- Hudzicki, J. 2010. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology, MicroLibrary* (On line), (<http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol>), diakses 10 Maret 2012.
- Indian Medicinal Plants. 2009. *Manilkara kauki* (L) Dubard. (Online), (<http://in-dian-medicinal-plants.blogspot.com/2009/06/m-maba-nigrescens-dalz.html>), diakses tanggal 9 April 2012.
- Jorgensen, J.H. & J.D. Turnidge. 2003. Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. Dalam P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Tenover & R.H. Tenover (Eds). *Manual Of Clinical Microbiology Volume 1 8th Edition* (hal 1108-1127). Washington DC: American Society for Microbiology Press.
- Mustarichie, R., I. Musfiroh, J. Levita. 2011. *Metode Penelitian Tanaman Obat*. Bandung: Widya Padjadjaran.
- Neal, J.M. 2005. *At a Glance Farmakologi Medis*. Terjemahan J. Surapsari. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Osman, M.A., M.A. Azis, M.R. Habib, M.R. Karim. 2011. Antimicrobial Investigation on *Manilkara zapota* (L) P. Royen. *International Journal of Drug Development & Research*, (Online), Jan-March 2011 Vol 3 (1): 185-190, (<http://www.ijddr.in>), diakses 19 Juni 2011.



- Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi II*. Jakarta : UI Press.
- Poeloengan, M., Andriani, M.M. Susan, I. Komala, M. Hasnita. 2007. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (*Largerstoremia speciosa* Pers) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. (Online) (http://www.bbalitvet.litbang.deptan.go.id/ind/attachments/217_29.pdf), diakses tanggal 8 Januari 2012
- Siregar, R.F. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri dan Ekstrak Etanol dan Air Rebusan Kulit Batang Ingul (*Toona sinensis* M Roem). Terhadap Beberapa Bakteri. Skripsi tidak diterbitkan. Medan : Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Sistem Informasi Tanaman Obat Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. 2010. *Manilkara kauki* (L) Dubard. (On line), (<http://www.ff.unair.ac.id/sito/index>), diakses tanggal 25 Desember 2011.
- Stansfield, W.D., J.S. Colome, R.J. Cano. 2006. *Schaum's Easy Outlines: Biologi Molekuler dan Sel*. Terjemahan: Varian Fahmi. Jakarta: Erlangga.

DISKUSI

Penanya 1 : Triastuti Rahayu

Pertanyaan :

Bagaimana cara pengisian ekstrak ke dalam disk?

Jawaban :

Pengisian dilakukan dengan memasukkan 15 mikro ml ekstrak padap paper disk blank tiap-tiap konsentrasi.

Penanya 2 : Wiwik Haryatik

Pertanyaan :

Bagaimana cara paling sederhana untuk menguji daya antibakteri terutama untuk pembelajaran siswa?

Jawaban :

Jika menginginkan seberapa besar daya hambat suatu bahan maka harus sesuai dengan standar, akan tetapi jika hanya ingin mengetahui ada atau tidaknya kemampuan menghambat bakteri dapat dilakukan cara sederhana menggunakan alat-alat sederhana yang steril.

Penanya 3 : Noer Endah Pracoyo

Pertanyaan :

Apakah sudah dilakukan pengecekan terhadap proses penguapan etanolnya sehingga ekstrak yang dihasilkan benar-benar bebas dari etanol? Apakah standar yang digunakan untuk menentukan kekeruhan bakteri yang digunakan?

Jawaban :

Pengecekan tidak dilakukan akan tetapi proses penguapan dipastikan sampai selesai. Perlu dilakukan pengecekan untuk memastikan proses penguapannya benar-benar sempurna dan tidak ada etanol yang tersisa. Standar yang digunakan adalah larutan standar mefarland 0.5 yang setara dengan 1.5×10^8 CFV/ml

