

GAMBARAN EFEKTIVITAS METODE UJI DALAM PENGUJIAN GETAH PELEPAH POHON PISANG KEPOK SEBAGAI ANTIBAKTERI PADA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Overview of the Effectiveness of Test Methods in Kepok Banana Tree Sap as an Antibacterial Testing of Staphylococcus aureus

Rifa Nurafifah Farhat¹, Yuliana Salman^{1*}, Hajrah Hidriya¹

¹Politeknik Unggulan Kalimantan

*Korespondensi:salmanyuliana86@gmail.com

ABSTRACT

Antibiotic resistance testing of bacteria has many different methods and techniques, namely the well diffusion method, the disc diffusion method, the cylinder diffusion method, the dilution method, and the dilution diffusion method. The many antibacterial examination methods available for bacteria make people consider a lot in determining the appropriate method. The purpose of this study was to determine the effectiveness of the test method in antibacterial testing on Staphylococcus aureus. This study was conducted using the disc diffusion method and the well diffusion method, using distilled water as a negative control, Ampicillin antibiotics as a positive control. This study used concentrations of 15%, 30% and 60% with three repetitions. The results of the difference in the average measurement of the inhibition zone of the kepok banana tree sap extract against Staphylococcus aureus bacteria were respectively 0 mm, 3.2 mm, 3.2 mm, 3 mm, and 2.5 mm. The results showed that the difference in the average diameter of the inhibition zone of the well diffusion method was greater than that of the disc diffusion method. It was concluded that the antibacterial test method using the well diffusion method was more effective than the disc diffusion method.

Keywords: Antibacterial, Disc diffusion, Well diffusion, Staphylococcus aureus.

ABSTRAK

Uji resistensi antibiotik terhadap bakteri memiliki banyak metode dan teknik yang berbeda, yaitu metode difusi sumuran, metode difusi cakram disc, metode difusi silinder, metode dilusi, dan metode difusi dilusi. Banyaknya metode pemeriksaan antibakteri bakteri yang ada, membuat orang menjadi banyak pertimbangan dalam menentukan metode yang sesuai. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran efektivitas metode uji dalam pengujian antibakteri pada Staphylococcus aureus . Penelitian ini dilakukan dengan metode difusi cakram dan metode difusi sumuran menggunakan aquadest sebagai kontrol negatif, antibiotik Ampicilin sebagai kontrol positif. Penelitian ini menggunakan konsentrasi 15%, 30% dan 60% dengan tiga kali pengulangan. Hasil selisih pengukuran rerata zona hambat ekstrak getah pohon pisang kepok terhadap bakteri Staphylococcus aureus secara berturut turut yaitu 0 mm, 3.2 mm, 3.2 mm, 3 mm, dan 2.5 mm. Hasil menunjukkan selisih rerata diameter zona hambat metode difusi sumuran lebih besar dari pada metode difusi cakram.

Disimpulkan bahwa metode uji antibakteri menggunakan metode difusi sumuran lebih efektif dibandingkan dengan metode difusi cakram..

Kata kunci : Antibakteri, Difusi cakram, Difusi sumuran, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Infeksi muncul saat mikroorganisme sudah mulai mengganggu kesehatan. Bakteri yang paling sering ditemukan pada luka kulit yakni *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini biasanya terdapat pada permukaan kulit maupun hidung manusia. Jika lapisan permukaan tubuh tersebut mengalami luka akibat gesekan, goresan atau penyakit kulit lainnya, bakteri akan menginfeksi bahkan dapat masuk ke pembuluh darah dan menyebabkan bacteremia dan menginfeksi berbagai organ tubuh manusia. Pada kulit, infeksi *Staphylococcus aureus* dapat berupa bisul, selulitis, impetigo dan lain sebagainya (Hanina et al., 2022).

Penyakit yang disebabkan bakteri umumnya ditangani dengan pemberian antibiotik. Antibiotik yang tidak digunakan secara tepat dan rasional dapat menyebabkan adanya efek samping yang merugikan bagi kesehatan bahkan dapat terjadi resistensi, sehingga diperlukan alternatif dalam menanggulangi penyakit dengan menggunakan tanaman yang lebih aman dan memiliki efek samping lebih ringan (Dwijayanti & Pamungkas, 2016).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional adalah tanaman pisang (*Musa paradisiaca*). Manfaat tanaman pisang bukan hanya sebagai penyedia pangan. Kandungan senyawa aktif (metabolit sekunder) tanaman pisang dapat berperan sebagai agen kemoterapi dan senyawa antimikroba (Fitri et al., 2021).

Membuktikan adanya efek antibakteri dari tanaman tersebut khususnya getah pisang terhadap bakteri tertentu perlu dilakukan uji antibakteri. Aktivitas antibakteri dapat diuji dengan beberapa metode, yaitu metode dilusi, metode difusi, dan metode difusi dilusi. Metode difusi adalah metode yang sering digunakan untuk analisis aktivitas antibakteri. Ada tiga cara dari metode difusi yang dapat dilakukan yaitu metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder (Nurhayati et al., 2020).

Keunikan dari kandungan getah ini ternyata baru ditemukan dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Agustin dan Wijoyo (2018) pada getah batang pisang kepok (*Musa x paradisiaca* L) menggunakan metode sumuran. Berdasarkan hasil penelitiannya, getah batang pisang kepok mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona hambatnya adalah 0,866 mm.

Sementara pada penelitian Jumriah, dkk (2013) hasil uji aktivitas antibakteri getah pelepah pisang ambon dengan menggunakan metode cakram menunjukkan hasil terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 5% dan 10% dengan diameter rata-rata hambatannya adalah 12,25 mm dan 18,25 mm. Hal tersebut menunjukkan getah pelepah pisang ambon dianggap efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode sumuran dan metode cakram merupakan metode kategori difusi dan hasil ditunjukkan dengan cara menghitung zona hambat bakteri terhadap antibakteri. Namun kedua metode tersebut memiliki cara kerja serta kelebihan dan kekurangan yang berbeda. Metode sumuran dan cakram juga sering digunakan untuk penelitian tetapi masih sedikit peneliti yang membandingkan kedua metode ini (Nurhayati et al., 2020). Sehubungan dengan hal tersebut, maka peneliti tertarik untuk mengetahui perbandingan metode sumuran dan cakram dalam uji efektivitas ekstrak getah pelepah pohon pisang

kepok terhadap antibakteri bakteri *Staphylococcus aureus* dalam pencegahan infeksi pada luka luar.

METODE PENELITIAN

Desain studi yang digunakan yaitu eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini meliputi 5 perlakuan dan 3 kali replikasi. Perlakuan dalam penelitian ini yaitu kontrol negative, kontrol positif, konsentrasi getah pelepah pisang 15%, 30%, dan 60% dengan 2 metode uji, yaitu difusi cakram dan difusi sumuran. Pengujian antibakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Unggulan Kalimantan. Analisis statistik yang digunakan adalah uji statistik Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Post Hoc Kruskal-Wallis dengan tingkat kepercayaan 95%.

Bahan dalam penelitian ini yaitu getah pelepah pohon pisang mahuli dan biakan murni *Staphylococcus aureus*. Pengambilan sampel getah pelepah pohon pisang kepok yang diperoleh di pemukiman penduduk sekitar kampus Politeknik Unggulan Kalimantan pada waktu siang hari sedangkan biakan murni g diperoleh dari PT. Agiritma Sinergi Inovasi (AGAVI) dengan Kode Strain ATCC-29213 pada Media Nutrient Agar (NA) dengan jumlah sel bakteri 1×10^7 - 1×10^8 (0,5McFarland). Bahan yang digunakan yaitu antibiotic ampicillin 1000mg, aquadest, etanol 70%, etanol 96%, HCl, FeCl₃, Serbuk Mg, dan media Muller Hinton Agar (MHA).

Alat yang digunakan adalah pisau, labu erlenmeyer, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, pinset, kapas, tabung reaksi, kertas Whatman, pipet penetes, autoklaf, oven, inkubator, api bunsen, timbangan analitik, alumunium foil, masker, sarung tangan, cawan porselein, batang pengaduk, pemantik api, kaki tiga, asbes, spuit, spatula, penjepit kayu, pipet ukur, cawan porselin, cork borer, mikropipet, tip kuning dan tip biru penggaris, cotton swab. Adapun prosedur uji dilakukan dalam beberapa tahap yaitu:

1. Pengambilan sampel getah pelepah pohon pisang kepok
 - a. Disiapkan alat dan bahan (pisau dan wadah kecil bertutup rapat steril)
 - b. Pelepah daun pisang dilukai dengan pisau untuk diambil getahnya dengan cara disayat hingga kedalaman 2 cm dalam keadaan pisau dimiringkan.
 - c. Dimasukan ke wadah steril untuk menampung getah.
2. Pembuatan Media

MHA Media MHA ditimbang 19 gram dan dilarutkan dengan aquades dalam labu Erlenmeyer hingga mencapai volume 500 ml lalu dipanaskan hingga homogen. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tuangkan sekitar 20ml media kultur ke dalam cawan Petri dan tunggu sampai padat (Nurhayati, Yahdiyani and Hidayatulloh, 2020).
3. Persiapan suspensi bakteri uji

Suspensi koloni uji *S.aureus* dibuat dengan menempatkan loop koloni medium Nutrient Agar padat ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml NaCl fisiologis. Kekeruhan suspensi koloni uji dinormalisasi ke standar McFarland 0,5 (kira-kira $1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Gunakan suspensi sebagai inokulum dalam waktu 15 menit (Nurhayati, Yahdiyani and Hidayatulloh, 2020).
4. Pengujian antibakteri dengan metode difusi sumuran.

Suspensi bakteri uji diinokulasi ke dalam 0,1 ml media MHA, didistribusikan secara merata dengan tongkat hoki dan dikeringkan. Sumuran disiapkan menggunakan ujung pipet steril. Dimasukkan 5 perlakuan (kontrol negative, kontrol positif, konsentrasi getah pelepah pisang 15%, 30%, dan 60%) Tambahkan 40 µL ke

masing-masing sumur yang telah disiapkan dan inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Perhatikan zona bening di sekitar sumuran (Nurhayati, Yahdiyani and Hidayatulloh, 2020).

5. Pengujian antibakteri dengan metode difusi cakram
Beri tanda pada bagian bawah cawan petri kelompok I sebanyak 3 petri (15%, 30%, dan 60%) dan cawan petri kelompok II sebanyak 3 petri (pembanding Ampicilin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif). Suspensi bakteri uji dinokulasikan pada media MHA dengan cara di swab menggunakan cotton swab pada media MHA. *Disc blank* berukuran 6 mm direndam selama 15 menit ke dalam getah pelepah pisang kepok, ampicilin dan aquadest. Dimasukkan disc ke dalam media MHA, selanjutnya inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Perhatikan zona bening di sekitar *disc* (Henaulu & Kaihena, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbandingan hasil uji efektivitas getah pelepah pisang kepok terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi sumuran dan difusi cakram

Pelarut yang digunakan pada getah pelepah pisang yaitu pelarut aquadest steril dengan konsentrasi 15%, 30%, dan 60%. Uji efektivitas tersebut digunakan untuk mengetahui konsentrasi yang paling efektif sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*. Antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif yaitu *Ampicillin* dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Metode uji yang digunakan adalah metode sumuran dan cakram, hasil uji diamati adanya zona bening disekitar sumuran dan kertas cakram sebagai zona hambatan pertumbuhan bakteri. Diameter zona hambat diukur menggunakan penggaris dan dinyatakan dalam milimeter (mm). Tabel 1 menunjukkan kategori zona hambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 1 Kategori Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
≥ 20 mm	Sangat kuat (<i>very strong</i>)
11–20 mm	Kuat (<i>strong</i>)
6–10 mm	Sedang (<i>moderate</i>)
≤ 5 mm	Lemah (<i>weak</i>)

Sumber: (Surjowardojo *et al.*, 2015)

Tabel 2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat yang terbentuk pada media Mueller Hinton Agar dengan metode difusi sumuran

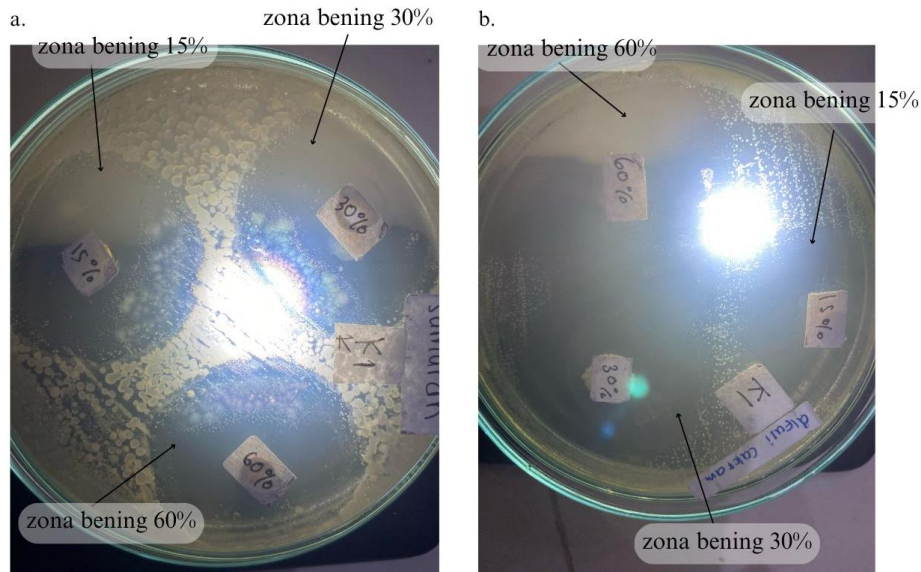
No	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata
		I	II	III	
1	Kontrol (-)	0	0	0	0
2	<i>Ampicilin</i>	37,5	41	38	38,5
3	15%	28	28,5	26	27,5
4	30%	31,5	32,5	29	31
5	60%	33	35,5	32	33,5

Sumber: Data Primer (2023)

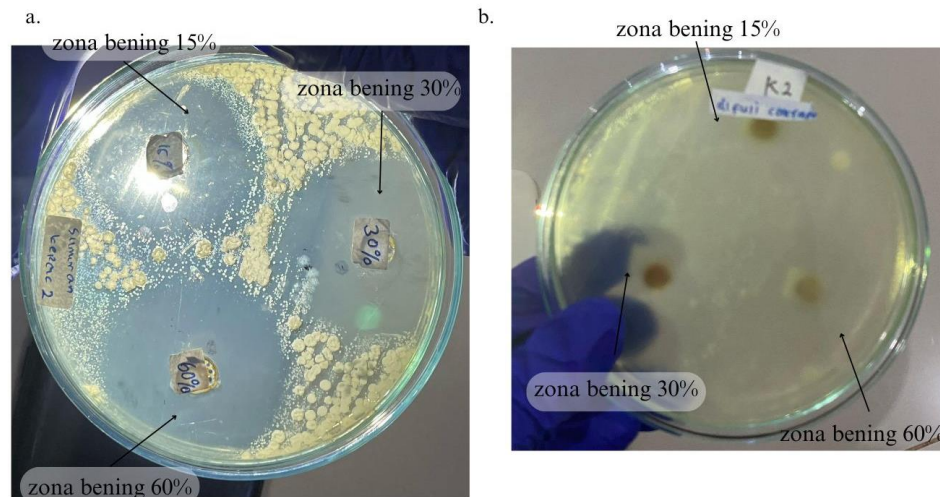
Tabel 3 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat yang terbentuk pada media Mueller Hinton Agar metode difusi cakram

No	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata
		I	II	III	
1	Kontrol (-)	0	0	0	0
2	<i>Ampicilin</i>	33,5	41	31,5	35,3
3	15%	24	28	21	24,3
4	30%	28	32	26	28
5	60%	30	33	30	31

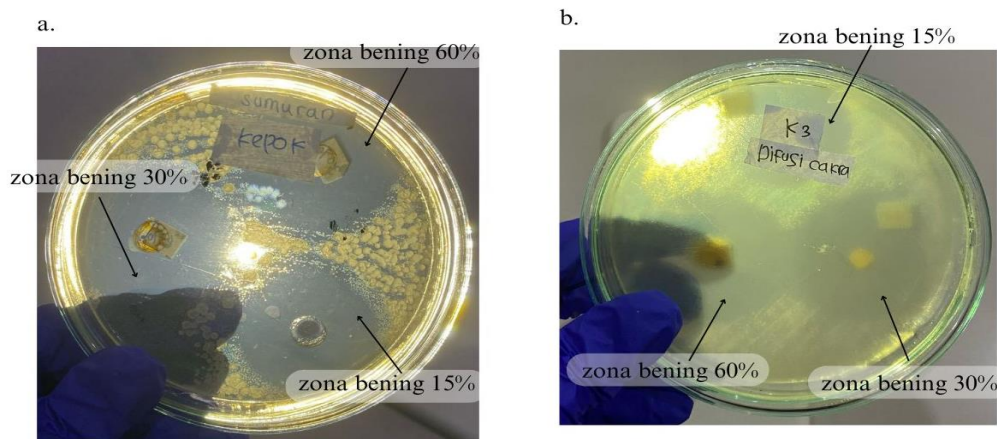
Sumber: Data Primer (2023)



Gambar 1. Hasil pengamatan zona hambat: a) Metode sumuran konsentrasi 15%, 30% dan 60%; b) Metode cakram konsentrasi 15%, 30% dan 60% pada pengulangan yang pertama



Gambar 2 Hasil pengamatan zona hambat: a) Metode sumuran konsentrasi 15%, 30% dan 60%; b) Metode cakram konsentrasi 15%, 30% dan 60% pada pengulangan yang kedua



Gambar 4 Hasil pengamatan zona hambat: a) Metode sumuran konsentrasi 15%, 30% dan 60%; b) Metode cakram konsentrasi 15%, 30% dan 60% pada pengulangan yang ketiga

Tabel 4 Perbandingan rerata hasil pengukuran diameter zona hambat dengan metode cakram dan metode sumuran

No	Konsentrasi	Rerata diameter zona hambat (mm)		
		Metode sumuran	Metode cakram	Selisih diameter zona hambat (mm)
1	Kontrol (-)	0	0	0
2	<i>Ampicilin</i>	38,5	35,3	3,2
3	15%	27,5	24,3	3,2
4	30%	31	28	3
5	60%	33,5	31	2,5

Sumber: Data Primer (2023)

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui selisih rerata diameter zona hambat antara metode sumuran dan metode cakram yaitu sebesar 0 mm untuk perlakuan kontrol negatif, 3,2 mm untuk perlakuan kontrol positif atau *Ampicilin*, 3,2 mm untuk perlakuan konsentrasi 15%, 3 mm untuk perlakuan konsentrasi 30%, 2,5 mm untuk perlakuan konsentrasi 60%. Dari tabel tersebut terlihat metode sumuran memiliki rerata selisih diameter zona hambat yang lebih besar dari pada metode cakram. Hal ini sejalan dengan penelitian studi literatur oleh Zada Amalia dan Rahmat Febriawan (2021) yang mengungkapkan bahwa antara metode difusi sumuran dan metode difusi cakram, metode sumuran lah yang dianggap lebih baik dari pada metode cakram.

Pada penelitian Marulak, dkk (2022) yang dilakukan menguji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun dolar terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Salmonella typhi* dengan menggunakan metode difusi agar. Hasil dari penelitian tersebut adalah antibiotik ampicilin yang diuji dengan menggunakan metode sumuran memiliki diameter zona hambat sebesar 41,8 mm dan 22,8 mm. Sedangkan pada metode cakram dengan antibiotik yang sama menghasilkan diameter zona hambat sebesar 12,6 mm dan 19 mm. Dapat dilihat pada penelitian tersebut diameter zona hambat yang terbentuk dengan metode sumuran lebih besar dari pada metode cakram. Hal ini diduga karena sampel uji yang dimasukkan ke dalam sumuran yang telah dibuat menghasilkan proses osmosis dapat terjadi lebih homogen dan efisien dalam menghambat pertumbuhan bakteri sehingga lebih efektif.

Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Prayoga (2015) tentang uji aktifitas antibakteri ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan terdapat perbedaan aktifitas bakteri yang signifikan antara metode

sumuran dan metode cakram *disk*. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan metode sumuran menghasilkan rerata diameter 27.83 mm sedangkan metode cakram *disk* menghasilkan rerata diameter 18.41 mm. Sehingga dapat dilihat bahwa metode sumuran zona hambatnya lebih besar dari pada metode cakram.

Mengacu pada penelitian Kartini, dkk (2024) menyatakan bahwa peneliti memilih metode sumuran karena memungkinkan sediaan untuk berdifusi langsung ke dalam medium sehingga daya hambat lebih kuat. Kelebihan metode ini juga disebutkan dalam penelitian Susanti & Aslah (2016) pada metode sumuran terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dari pada metode difusi cakram, setiap lubang diisi ekstrak maka osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih sitasi.

Pada penelitian Khusuma, et al (2019) menyebutkan kelemahan metode cakram yaitu pada tumpukan kertas saring yang terlalu banyak menyebabkan antibiotik yang terserap ke permukaan media MHA tidak maksimal, sehingga dapat mempengaruhi ukuran diameter zona hambat yang terbentuk. Selain itu, metode cakram memiliki harga disk antibiotik yang relatif mahal sehingga tidak selalu tersedia ketika dibutuhkan karena itu teknik sumuran menjadi lebih efisien untuk digunakan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan bahwa terdapat selisih rerata zona hambat antara metode sumuran dan metode cakram ekstrak getah pelepah pohon pisang terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Selesih rerata diameter zona hambat metode sumuran lebih besar dari metode cakram. Hasil selisih rerata diameter zona hambat metode sumuran dan metode cakram secara berturut turut yaitu 0 mm, 3.2 mm, 3.2 mm, 3 mm, 2.5 mm. Sehingga dapat disimpulkan metode sumuran lebih efektif dibandingkan metode cakram untuk menguji efektivitas getah pelepah pohon pisang kepek sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dalam pencegahan infeksi pada luka luar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, N. D., & Wijiono, S. (2018). *Keefektifan Antibakteri Salep Getah Batang Pisang Kepok (Musa x paradisiaca L) Terhadap Bakteri taphylococcus aureus*. Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Malang jl. Barito No 5 Malang.
- Dwijayanti, S. I. P., & Pamungkas, G. S. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Biomedika*, 9(2), 11–20. www.biomedika.ac.id
- Fitri, I., Susilowati, D. T., & Rohmah, I. N. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bonggol Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn. var. kepok) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Pendidikan IPA*, 3(1), 24–30.
- Hanina, H., Humaryanto, H., Gading, P. W., Aurora, W. I. D., & Harahap, H. (2022). Peningkatan Pengetahuan Siswa Pondok Pesantren Nurul Iman Tentang Infeksi *Staphylococcus aureus* Di Kulit Dengan Metode Penyuluhan. *Medical Dedication (Medic): Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat FKIK UNJA*, 5(2), 426–430. <https://doi.org/10.22437/medicaldedication.v5i2.21000>

- Henaulu, A. H., & Kaihena, M. (2020). Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L .) DC) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* in vitro. *Biofaal Journal*, 1(1), 44–54. <https://core.ac.uk/download/pdf/322568351.pdf>
- Jumriah, N., Dwyana, Z., & Abdullah, A. (2013). Bioaktivitas Getah Pelelepah Plisang Ambon *Musa paradisiaca* var *sapientum* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. *Semantic Scholar, Universitas Hasanudin*.
- Kartini, D. N., Hidayati, L., & Faizah, N. (2024). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Krim Ekstrak Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Metode Difusi Sumuran. 11(3), 287–297.
- Khusuma, A., Safitri, Y., Yuniarni, A., & Rizki, K. (2019). Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia coli* Sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2), 151. <https://doi.org/10.32807/jkp.v13i2.257>
- Marulak Sehat Sinaga, Daniel, Saibun Sitorus, A. R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Metanol Daun Dolar (*Ficus Pumila* L.) Terhadap 34 Bakteri *Streptococcus mutans* Dan *Salmonella typhi* Dengan Menggunakan Metode Difusi Agar.
- Nurhayati, L.S., Yahdiani, N. and Hidayatulloh, A. (2020) 'Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram', *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), p. 41. Available at: <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>.
- Prayoga, E. (2015). Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Foundations of Physics*, 34(3), 361–403.
- Susanti, S. F., & Aslah, M. K. (2016). Pengaruh Variasi Metode Pengukuran dan Media Pertumbuhan Dalam Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*. 14(1), 1–23.