

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi adalah proses masuknya parasit dan mengadakan hubungan dengan inang. Infeksi terjadi bila parasit itu sanggup mengadakan penetrasi atau melalui pertahanan inang dan hidup di dalamnya (Irianto, 2006). Infeksi juga merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama di daerah tropis, seperti Indonesia (Kuswandi *et al.*, 2001). Mikroorganisme meliputi semua organisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang seperti bakteri, jamur, ragi, dan virus (James *et al.*, 2008).

Diantara bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Jawetz *et al.*, 2005). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen utama pada manusia. Bakteri ini dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain melalui selaput mukosa yang bertemu dengan kulit. Bakteri ini dapat menyebabkan endokarditis, osteomyelitis akut hematogen, meningitis, ataupun infeksi paru-paru (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri lain yang juga sering menyebabkan penyakit yaitu *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan bagian flora normal gastrointestinal manusia. Penyakit ini yang ditimbulkan adalah sepsis yang terjadi setelah infeksi sistem saluran kencing. Bakteri ini juga menyebabkan diare karena kontaminasi produk makanan dengan sampah yang mengandung bakteri tersebut (Jawetz *et al.*, 2005).

Mikroorganisme dapat memperlihatkan resistensi terhadap obat-obatan melalui berbagai mekanisme. Sebagian besar mikroba yang resisten terhadap obat muncul akibat perubahan genetik dan proses seleksi yang kemudian terjadi oleh antimikroba (Jawetz *et al.*, 2005). Zat atau substansi tersebut dalam jumlah yang sedikit pun masih mempunyai daya hambat terhadap kegiatan mikroorganisme lainnya (Waluyo, 2004). Pengobatan infeksi dengan kombinasi berbagai antibiotik yang semula dipercaya sebagai obat yang mampu memusnahkan bakteri penyebab infeksi ternyata juga menimbulkan permasalahan baru, yaitu munculnya bakteri yang multiresisten (Maryati *et al.*, 2007). Munculnya pertimbangan resistensi antibiotik merupakan pengurangan efikasi antibiotik yang serius dan dapat meningkatkan jumlah infeksi yang menjadi sulit untuk diobati. Pengembangan obat non antibiotik mulai dikembangkan untuk mengatasi adanya suatu masalah resisten terhadap antibiotik (Chusri *et al.*, 2009).

Setiap orang Indonesia pernah menggunakan tumbuhan obat untuk mengobati penyakit atau kelainan yang timbul pada tubuh selama hidupnya. Popularitas tanaman obat tetap besar di masyarakat karena manfaatnya secara langsung dapat dirasakan secara turun menurun, walaupun mekanismenya secara ilmiah masih belum banyak diketahui. Untuk itu perlu dilakukan upaya untuk memulai kegiatan penelitian terhadap tumbuhan yang berkhasiat terhadap penyakit tertentu (Zein, 2005).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba adalah tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle). Pada penelitian sebelumnya minyak atsiri serai memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. epidermidis*,

S. aureus, dan *S. agalactiae*. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* rata-rata 5,1 mm, *S. epidermidis* rata-rata 14,4 mm, *S. aureus* rata-rata 13,26 mm, dan *S. agalactiae* rata-rata 11,96 mm dengan masing-masing perlakuan 5 kali (Poeloengan, 2009). Daun dan akar tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol. Daunnya juga mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri serai terdiri dari berbagai senyawa. Salah satu kandungan minyak tanaman serai meliputi geraniol dalam minyak sebesar 44,01%-51% dan sitronela sebesar 0,5-1,3% (Zulfitriany, 2004).

Berdasarkan penelitian sebelumnya maka perlu dikembangkan untuk melanjutkan penelitian uji aktivitas antibakteri tanaman serai dengan menggunakan metode dilusi padat dan untuk mengetahui senyawa kimia ekstrak etanol tanaman serai yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik, serta berapa Kadar Bunuh Minimal (KBM) nya?
2. Kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle)?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah, maka tujuan dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* multiresisten dan nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum).
2. Mengetahui kandungan senyawa kimia dalam ekstrak etanol tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle)

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle)

a. Sistematika

Kedudukan tanaman serai dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Commelinidae

Anak kelas : Cyperales

Suku : Poaceae

Marga : Cymbopogon

Jenis : (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle)

Sinonim : *Andropogon nardus* L.

(Cronquist, 1981)

b. Nama daerah

Nama daerah dari tanaman serai sebagai berikut :

- Sumatra : sere mongthi (Aceh), sere (Gayo), sangge-sangge (Batak), serai-batawi (Minangkabau), sarae (Lampung).
- Jawa : sereh (Sunda), kedong witu (Sumba).
- Kalimantan : serai, belangkak, salai, segumau.
- Nusa Tenggara : segpalaha mpori, kendaung witu, nau sina, bumuke, tenian malai, rimanil.
- Sulawesi : tonti, limbuale, langilo, towombane, sare, sere.
- Maluku : tapis, pisa, hisa-hisa, isalo, bisa, bewuwu, gara ma husu (Anonim, 1980).

c. Deskripsi

Tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) merupakan tanaman tahunan yang termasuk suku poaceae dengan tinggi mencapai 2-3 m. Batang tidak berkayu, dapat juga disebut batang palsu karena terdiri dari gabungan atau kumpulan daun yang mempunyai pelepah yang tersusun sedemikian rupa seperti turunan batang pisang. Batang ini berada dalam tanah, daun bersifat tunggal, berwarna hijau atau hijau muda dan berpelepah yang memeluk batang. Helai daun berbentuk garis atau pita, berujung runcing, bertepi panjang dengan panjang sampai 1 meter dan bila diremas berbau khas aromatik. Permukaan atas dan bawah daun didapati rambut-rambutan. Bunga majemuk berbentuk helai daun yang berdaun. Buah seperti padi bulat panjang dan pipih. Akar serabut berwarna putih kekuningan dan tumbuhan berakar tunggal (Haris, 1987).

d. Khasiat

Daun tanaman serai berkhasiat sebagai peluruh angin (karminatif), pereda kejang (antispasmodik), penurun panas (antipiretik), dan penambah nafsu makan (stomakik) (Anonim, 1980).

e. Kandungan kimia

Daun dan akar tanaman serai mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol, disamping itu daunnya juga mengandung minyak atsiri. Serai mengandung senyawa berbentuk padat dan berbau khas. Minyak atsiri yang merupakan produksi serai terdiri dari berbagai senyawa (Purwanti, 2007).

f. Sifat : Bau khas aromatik, rasa agak pedas aromatik (Anonim, 1980).

2. Metode Penyarian

Ekstraksi adalah penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan akan larut. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989). Ada beberapa metode dasar ekstraksi yang dipakai untuk penyarian yaitu :

a. Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana dan banyak digunakan untuk mencari bahan obat yang berupa serbuk simplisia yang halus. Simplisia ini direndam dalam penyari sampai meresap dan melemahkan susunan sel sehingga zat-zat akan larut. Serbuk simplisia yang akan disari, diupkan pada wadah bejana yang bermulut besar, ditutup rapat kemudian dikocok berulang-

ulang, sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia (Ansel, 1989).

Lamanya waktu maserasi berbeda-beda tergantung pada sifat atau ciri campuran serbuk dan pelarut. Lamanya harus cukup supaya dapat memasuki semua rongga struktur serbuk dan melarutkan semua zat yang mudah larut. Lamanya maserasi bisa memerlukan waktu beberapa jam atau beberapa hari untuk ekstrak yang optimum. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15°C-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut, melarut (Ansel, 1989)

b. Perkolasi

Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes, secara umum dapat dinyatakan sebagai proses dimana serbuk simplisia yang sudah halus diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewati perlahan-lahan melalui serbuk simplisia dalam suatu kolom. Serbuk simplisia dimampatkan dalam alat ekstraksi khusus disebut perkolator (Ansel, 1989)

c. Sokhletasi

Bahan yang akan disari berada dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas, karton) di dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu. Wadah gelas yang mengandung kantong diletakkan di antara labu suling dan suatu pendingin alir balik dan dihubungkan melalui pipet. Labu tersebut berisi bahan pelarut yang menguap dan jika diberi pemanasan akan menguap mencapai ke dalam pendingin alir balik melalui pipa pipet, pelarut itu berkondensasi di dalamnya, menetes ke bahan yang disari larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai

tinggi maksimum secara otomatis ditarik ke dalam labu dengan demikian zat yang tersari tertimbun di dalam labu tersebut (Voight, 1995).

3. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Divisio	: Schizomycota
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Salle, 1961)

Staphylococcus aureus adalah salah satu contoh dari bakteri Gram positif, tumbuh dalam kelompok menyerupai buah anggur (Gibson, 1996). Bakteri ini berdiameter 1 μm yang tersusun dalam rangkaian tak beraturan. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia (Jawetz, *et al.*, 2005).

Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37° C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu 20° C-25° C. *S. aureus* bersifat koagulase positif, yang membedakan dari tiga spesies lain genus stafilokokus patogen pada manusia. Bakteri ini menghasilkan katalase, menfermentasi karbohidrat, menghasilkan asam laktat dan tidak menghasilkan gas (Jawetz *et al.*, 2005).

Infeksi lokal stafilokokus tampak sebagai jerawat, infeksi folikel rambut, atau abses. Infeksi *Staphylococcus aureus* juga dapat disebabkan karena kontaminasi langsung pada luka seperti infeksi luka pascabedah, atau infeksi

setelah trauma. Jika *Staphylococcus aureus* menyebar dan terjadi bakteremia, dapat terjadi endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis, atau infeksi paru-paru (Jawetz *et al.*, 2005).

4. *Escherichia coli*

Klasifikasi dari *Escherichia coli* sebagai berikut :

Kingdom	: Prokaryotae
Divisio	: Protophyta
Sub divisi	: Schizomycetea
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacterials
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Salle, 1961)

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai. *Escherichia coli* dapat menfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *Escherichia coli* dapat tumbuh baik pada media Mc. Conkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar darah. *Escherichia coli* dapat merombak karbohidrat dan asam-asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas karbondioksida dan heterogen (Pelczar dan Chan, 1988).

Escherichia coli merupakan kuman oportunistis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak-anak dan

travelers diarrhea, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus (Karsinah *et al.*, 1994). Banyak jalur *Escherichia coli* di dalam usus menghasilkan kolkisin yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri-bakteri usus yang patogenik (Pelczar and Chan, 1988). Dalam keadaan dimana terjadi perubahan pada bagian tubuh yang lain bisa menimbulkan penyakit pada tiap jaringan tubuh manusia (Karsinah *et al.*, 1994).

5. Antibakteri

Antibakteri merupakan obat atau senyawa kimia pembasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan pada manusia, dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh (Setiabudy, 2007). Umumnya antibakteri hanya efektif terhadap beberapa bakteri patogen. Antibakteri yang hanya menghentikan pertumbuhan disebut bakteristatik, sedangkan yang dapat membunuh disebut bakterisidal. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba disebut Kadar Hambat Minimal (KHM). Sedangkan kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroba disebut Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Batubara, 2008).

Antimikroba yang ideal harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut :

- a. Mempunyai kemampuan menghambat atau mematikan pertumbuhan mikroorganisme yang luas.
- b. Tidak menimbulkan resisten dari mikroorganisme patogen.
- c. Tidak menimbulkan efek samping yang buruk pada tubuh, seperti reaksi alergi, kerusakan saraf, dan iritasi lambung.
- d. Tidak mengganggu keseimbangan flora normal tubuh (Jawetz *et al.*, 2005).

6. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu

a. Agar difusi

Media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton. Pada metode difusi ini ada beberapa cara, yaitu:

1) Cara Kirby Bauer

Suspensi bakteri yang telah ditambah akuades hingga konsentrasi 10^8 CFU per ml dioleskan pada media agar hingga rata, kemudian kertas samir (*disk*) diletakkan di atasnya. Hasilnya dibaca:

- a) *Radical zone* yaitu suatu daerah di sekitar *disk* dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.
- b) *Irradical zone* yaitu suatu daerah di sekitar *disk* dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan (Lorian, 1980).

2) Cara Sumuran

Pada agar yang telah dicampur dengan suspensi mikroba dibuat sumuran dengan diameter tertentu dan ke dalam sumuran diberi larutan uji, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam, dan hasilnya dibaca seperti cara Kirby Bauer (Lorian, 1980).

3) Cara *Pour Plate*

Suspensi bakteri yang telah ditambahkan dengan akuades, dituang pada media agar Mueller Hinton diambil memadat, *disk* diletakkan di atas media. Hasilnya dibaca sesuai standar masing-masing antibakteri (Lorian, 1980).

b. Dilusi Cair/Dilusi Padat

Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, kemudian ditanami bakteri. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) (Anonim, 1994).

7. Resistensi Bakteri

Resisten adalah kemampuan suatu bakteri untuk tidak terbunuh atau terhambat pertumbuhannya oleh suatu antibakteri (Batubara, 2008). Resisten ada tiga jenis, yaitu :

- a. Resistensi bawaan (primer), yaitu resisten yang secara alamiah sudah terdapat pada bakteri.
- b. Resisten yang diperoleh (sekunder), yaitu akibat kontak dari kuman dengan kemoterapeutik dan biasanya disebabkan oleh pembentukan jenis baru dengan ciri berlainan.
- c. Resisten episomal, yaitu resistensi (faktor R). Faktor R disebut sebagai episom atau plasmid yang dapat dimasuki oleh bakteri lain dengan penggabungan sel lain (Tjay dan Rahardja, 2007).

Secara garis besar bakteri dapat menjadi resisten terhadap suatu antimikroba melalui tiga mekanisme :

- a) Obat tidak dapat mencapai tempat kerjanya di dalam sel mikroba.
- b) Inaktivasi obat, yaitu mikroba mampu membuat enzim yang merusak antimikroba.
- c) Mikroba mengubah tempat ikatan antimikroba (Setiabudy, 2007).

8. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa bercak atau pita (awal). Setelah pelat ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembang), selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi (Stahl, 1985).

a. Fase diam

Fase diam dalam KLT merupakan suatu lapisan dibuat dari bahan berbulir halus yang ditempatkan pada suatu lempengan. Sifat yang penting dari fase diam adalah besar partikel dan homogenitas. Besar partikel yang umum digunakan adalah 1-25 μ L. Partikel yang butirannya kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan (Sastrohamidjojo, 2002).

Fase diam yang umum digunakan adalah silika gel GF₂₅₄, aluminium oksida, kieselgur, selulosa, dan poliamida. Silika gel GF₂₅₄ merupakan fase diam yang paling sering digunakan (Stahl, 1985). Silika gel yang digunakan

kebanyakan diberi pengikat yang dimaksudkan untuk memberikan kekuatan pada lapisan dan menambah adesi pada gelas penyokong. Pengikat yang digunakan kebanyakan kalsium sulfat. Biasanya dalam perdagangan, silika gel telah diberi pengikat sehingga tidak perlu mencampur sendiri (Sastrohamidjojo, 2002).

b. Fase gerak

Pemilihan fase gerak sebaiknya menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin. Salah satu alasannya adalah untuk mengurangi serapan setiap komponen dari campuran pelarut. Jika komponen mempunyai sifat polar tinggi (terutama air) dalam campuran akan merubah sistem menjadi sistem partisi. Campuran yang baik akan memberikan fase gerak yang mempunyai kekuatan bergerak sedang, tetapi sebaiknya dicegah sejauh mungkin mencampur lebih dua komponen, terutama karena campuran yang lebih kompleks cepat mengalami perubahan fase terhadap perubahan suhu (Sastrohamidjojo, 2002).

c. Parameter

Parameter pada kromatografi lapis tipis adalah faktor retensi (R_f), merupakan perbandingan jarak yang ditempuh solut dengan jarak yang ditempuh fase gerak. Adapun rumusnya sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak pusat dari titik awal (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \quad (1)$$

Angka R_f berjarak antara 0,00 sampai 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. hR_f adalah angka R_f dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai yang berjangka 0 sampai 100 (Stahl, 1985). Harga R_f dipengaruhi struktur kimia senyawa dari senyawa yang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat

aktivitasnya, tebal dan kerataan dari lapisan penyerap, pelarut (derajat kemurniannya) fase bergerak, teknik percobaan, jumlah cuplikan yang ditotolkan, suhu yang dapat mempengaruhi perubahan komposisi pelarut, dan keseimbangan dalam bejana (Sastrohamidjojo, 2002).

d. Perekasi Kimia

Beberapa pereaksi kimia yang dapat digunakan untuk mendeteksi kandungan kimia yang terdapat dalam fraksi aktif, antara lain:

- 1) Perekasi sitroborat, untuk mendeteksi senyawa flavonoid. Bercak berwarna kuning setelah pemanasan dibaca pada UV_{366} .
- 2) Perekasi $FeCl_3$, untuk mendeteksi senyawa fenolik. Bercak berwarna hitam, abu-abu, hijau sampai biru setelah pemanasan.
- 3) Perekasi Liebermann Burchard (LB), untuk mendeteksi saponin. Saponin steroid bercak berwarna biru atau hijau, untuk triterpenoid bercak berwarna merah, merah jambu, ungu, atau violet.
- 4) Perekasi vanilin-asam sulfat, untuk mendeteksi minyak atsiri. Bercak berwarna biru, merah, atau coklat dilihat secara visual (Harborne, 1996).

9. Bioautografi

Metode yang spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kertas yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antifungi, antibiotik, dan antiviral disebut bioautografi (Djide, 2003). Metode bioautografi merupakan metode alternatif untuk deteksi zat aktif karena cara kerja yang relatif mudah dan murah. Metode ini dapat digunakan

untuk mengetahui jumlah senyawa dan mengetahui aktivitas biologisnya, terutama aktivitas antibakteri, dan menganalisis antibiotik (Astuti, 2007).

Bioautografi dibagi menjadi 2 metode, yaitu:

a. Bioautografi langsung

Bioautografi langsung dilakukan dengan cara menyemprotkan *plate* KLT dengan suspensi bakteri atau dengan menyentuh *plate* KLT pada permukaan media agar. Setelah inkubasi selama waktu tertentu maka letak zat aktif antimikrobia ditandai dengan adanya zona jernih pada media yang telah ditumbuhi bakteri.

b. Bioautografi *overlay*

Bioautografi *overlay* dilakukan dengan cara menuangkan media agar bakteri di atas permukaan *plate* KLT, setelah media padat kemudian diinkubasi. Penampakan zona hambatan dilakukan dengan penyemprotan menggunakan larutan tetrazolium klorida, maka letak zat aktif antimikroba ditandai dengan adanya zona jernih dengan latar belakang ungu (Rehalison, 1994).

E. Keterangan Empiris

Dari penelitian ini diharapkan didapat suatu data ilmiah mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol tanaman serai (*Cymbopogon nardus*(L.) Rendle) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik.

