

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Berbagai bentuk mikroorganisme penyebab infeksi dapat menimbulkan penyakit, yang bila dibiarkan berkembang biak akan dapat membunuh penderita. Kenyataan menunjukkan bahwa di negara-negara yang sedang berkembang urutan penyakit-penyakit utama nasional masih ditempati oleh berbagai penyakit infeksi (Nelwan, 2006). Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme yaitu bakteri, archaea, fungi, protozoa, dan virus (Pratiwi, 2008).

Sebagian besar infeksi disebabkan oleh bakteri. Contoh bakteri yang dapat menyebabkan infeksi diantaranya *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit atau daerah saluran pernafasan bagian atas. Hal ini dikarenakan kulit terus-menerus berhubungan dan kontak dengan lingkungan sekitarnya, maka kulit akan cenderung mengandung mikroorganisme. Selain itu *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia dan paling sering. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan sepsis pada luka bedah, abses payudara pada ibu-ibu, mata lengket, dan lesi-lesi kulit pada bayi (Jawetz *et al.*, 2001).

Escherichia coli adalah bagian flora normal gastrointestinal manusia (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai infeksi diantaranya adalah infeksi saluran kencing, sepsis, gastroenteritis, meningitis, peritonitis, infeksi luka, dan kolesistitis (Souza, 2006).

Meningkatnya berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri, timbul masalah baru yaitu permasalahan resistensi bakteri terhadap antibiotik. Penggunaan antibiotik merupakan salah satu masalah yang berkembang di seluruh dunia. WHO dan beberapa organisasi telah mengeluarkan pernyataan mengenai pentingnya mengkaji faktor-faktor yang terkait dengan masalah tersebut, termasuk strategi untuk mengendalikan kejadian resistensi (Bronzwaer *et al.*, 2002). Suatu organisme dianggap multiresisten jika banyak di antara antibiotik yang biasa digunakan tidak dapat membunuh organisme tersebut (Saepudin *et al.*, 2006). Laporan tahun 2006 menyatakan bahwa lebih dari 70% dari infeksi yang berkaitan dengan semua perawatan kesehatan disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap satu atau lebih pengobatan yang biasanya digunakan untuk melawan bakteri tersebut (Muto, 2006). Timbullah alternatif untuk menjadikan pengobatan herbal sebagai pilihan dalam mengatasi resistensi tersebut. Contoh salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan herbal adalah tanaman *Cymbopogon nardus* atau yang lebih dikenal sebagai tanaman serai.

Daun dan akar serai (*Cymbopogon nardus*) mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol. Disamping itu daunnya juga mengandung minyak atsiri yang terdiri dari berbagai senyawa yang berbau khas. Polifenol dan minyak atsiri merupakan kelompok utama bahan kimia yang dapat memberikan aktivitas terhadap mikroba. Hal ini terbukti pada penelitian sebelumnya bahwa minyak atsiri dari *Cymbopogon citratus* yang merupakan satu marga dengan *Cymbopogon nardus* memiliki aktivitas antimikroba dengan ditunjukkan adanya zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri yaitu dengan diameter 8 mm terhadap *Escherichia*

coli dan 13 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi masing-masing 25% (Poeloengan, 2009). Dengan dasar tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etil asetat tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik dan berapa Kadar Bunuh Minimumnya?
2. Senyawa kimia apa yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik dengan cara mengetahui Kadar Bunuh Minimumnya.

2. Mengetahui senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat tanaman serai yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dengan cara bioautografi.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Serai

a. Sistematika

Kedudukan tanaman serai dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut:

Divisi : Magnoliophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Klas : Liliopsida

Bangsa : Cyperales

Suku : Poaceae (Graminae)

Marga : Cymbopogon

Jenis : *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (Cronquist, 1981)

b. Nama daerah

Penamaan tanaman serai dalam berbagai daerah yaitu sebagai berikut:

Sumatera : sere mongthi (Aceh), sere (Gayo), sangge-sangge (Batak), serai bawati (Minangkabau), sarai (Lampung).

Jawa : sereh (Sunda), kedong witu (Sumba).

Roti : nausina

Timor : humuku

Ambon : serai

Seram : lauwariso (Hariana, 2006)

c. Morfologi

Tanaman serai merupakan tumbuhan sebangsa rumput, yang berumpun besar daunnya panjang berbentuk pita. Daunnya berwarna hijau keabu-abuan, bunga bulir majemuk warna putih. Akar tinggal berbentuk benang berbau agak wangi. Daunnya tunggal, lanset, berpelelah, pangkal pelelah memeluk batang, ujung runcing, tepi rata, panjang 25-75 cm, lebar 5-15 mm, pertulangan sejajar, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, karangan bunga berseludang, terletak dalam satu tangkai, bulir kecil, benang sari berlepasan, kepala putik muncul dari sisi, putih. Buah berbentuk padi, bulat panjang, pipih, putih kekuningan. Biji tanaman serai berbentuk bulat, panjang, coklat. Akar berbentuk serabut, putih kekuningan (Purwanti, 2007).

d. Kandungan Kimia

Tanaman serai mengandung senyawa berbentuk padat dan berbau khas. Daun dan akar serai (*Cymbopogon nardus*) mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol, di samping itu daunnya juga mengandung minyak atsiri yang terdiri dari berbagai senyawa yang berbau khas (Purwanti, 2007).

e. Kegunaan

Tanaman serai (*Cymbopogon nardus*) berkhasiat untuk parfum, bahan pengikat, disinfektan, dan bahan pengusir nyamuk (Hardjono, 2004)

2. Metode Penyarian

Penyarian atau ekstraksi merupakan peristiwa penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut (Ansel, 2005). Cairan penyari yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan pada daya larut zat aktif dan zat tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan juga tergantung pada penyari yang digunakan (Ansel, 2005). Cairan penyarian harus dapat mencapai seluruh serbuk dan secara terus-menerus mendesak larutan yang memiliki konsentrasi lebih tinggi untuk keluar. Faktor utama dalam memilih cairan penyari adalah selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan (Anonim, 2000^b).

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sumber bahan alami dan senyawa yang akan diujikan (Sarker *et al.*, 2006). Oleh karena itu terdapat beberapa metode dasar penyarian antara lain: maserasi, perkolasi, Soxhletasi, destilasi uap, dan pengempaan (Darwis, 2000). Pemilihan terhadap metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik. Penyarian dipengaruhi oleh derajat kehalusan serbuk dan perbedaan konsentrasi yang terdapat mulai dari pusat butir serbuk simplisia sampai ke permukaannya, maupun pada perbedaan konsentrasi yang terdapat lapisan batas, sehingga suatu titik akan dicapai oleh zat-zat yang tersari jika ada daya dorong yang cukup untuk melanjutkan perpindahan massa. Makin besar perbedaan konsentrasi, makin besar daya dorong tersebut hingga makin cepat penyarian (Anonim, 1986).

Metode penyarian yang sering digunakan adalah:

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Darwis, 2000).

Selama proses maserasi, bahan direndam dalam wadah bermulut lebar, ditutup rapat, disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis oleh cahaya atau perubahan warna) dan isinya dikocok (diaduk) berulang-ulang kira-kira tiga kali sehari. Menurut pengalaman, maserasi selama 5 hari sudah memadai untuk menarik zat-zat di dalam bahan. Adanya pengocokan ini, memberikan suatu keseimbangan konsentrasi bahan ekstraktif yang lebih cepat ke dalam cairan penyari. Setelah maserasi, maka diperas dengan kain pemeras, kemudian ampas dicuci dengan bahan ekstraksi (Ansel, 1989).

Keuntungan maserasi cara kerja dan peralatan yang digunakan relatif sederhana. Kerugian maserasi adalah membutuhkan banyak pelarut, waktu yang dibutuhkan sampai berhari-hari (Ansel, 1989).

3. *Escherichia coli*

Klasifikasi dari *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Divisio : Protophyta

Subdivisi : Schizomycetea
Classis : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli* (Salle, 1961).

Bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang pendek termasuk bakteri Gram negatif yang membentuk rantai (Rajkhowa *et al.*, 2010). Dalam keadaan pembiakan yang tidak cocok dapat terjadi bentuk filamen yang panjang, jarang terjadi kapsul, terjadi pergerakan pada bagian strain *Escherichia coli* (Jawetz *et al.*, 2001). *Escherichia coli* bersifat aerob dan juga fakultatif anaerob serta dapat memfermentasi laktosa (Levinson, 2004).

Escherichia coli merupakan kelompok bakteri enterobacteriaceae yang hidup di dalam saluran pencernaan manusia sebagai penghuni usus (*enteron*) dan bersifat patogen (Nursal *et al.*, 2006). *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi primer pada usus, misalnya diare terutama pada bayi dan anak-anak serta infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus dan merupakan bakteri patogen penyebab Infeksi Saluran Kemih sering kali dapat diperkirakan dan merupakan bakteri patogen utama baik pada pasien rawat jalan maupun rawat inap (Saepudin *et al.*, 2006).

Escherichia coli merupakan bagian terbesar dari flora normal usus. Beberapa strain menghasilkan enterotoksin, karena sifat gen yang dibawa dalam plasmid (Jawetz *et al.*, 2005). Penyakit karena *Escherichia coli*

kebanyakan diderita oleh pasien yang menjalani rawat inap rumah sakit, ditularkan lewat urin, atau infeksi peritoneal serta pada orang yang melakukan perjalanan jauh (Levinson, 2004).

Bakteri ini umumnya menyebabkan penyakit bila telah mencapai jaringan di luar traktus intestinal seperti saluran kencing, paru-paru, saluran empedu, peritoneum, dan saluran otak (Jawetz *et al.*, 2005). Selain itu *Escherichia coli* dapat menginvasi sel mukosa, yang dapat mengakibatkan timbulnya kerusakan dan terlepasnya lapisan mukosa (Hayley, 2009).

4. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Micrococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Salle, 1961)

Staphylococcus aureus adalah sel berbentuk bulat dengan diameter antara 0,5-1,0 μm tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur, tidak bergerak, tidak membentuk spora, dan merupakan bakteri Gram positif. *Staphylococcus aureus* bersifat patogen, nonmotil, dan memproduksi laktase serta bersifat banyak meragikan karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menimbulkan gas (Bremer *et al.*, 2004).

Staphylococcus aureus tumbuh baik dalam kaldu pada suhu 37°C. Batas-batas suhu pertumbuhannya ialah 15°C dan 40°C, sedangkan suhu pertumbuhan optimum ialah 30-37°C (Bremer *et al.*, 2004). Kuman ini bersifat anaerob fakultatif, dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk pertumbuhan ialah 7,4 serta tahan pada kondisi kering, temperatur 50°C selama 30 menit, dan natrium klorida 9% dan dihambat oleh heksaklorofen 3% (Jawetz *et al.*, 2005).

Staphylococcus dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan dan menyebar luas ke dalam jaringan dan melalui berbagai produksi bahan ekstraseluler, seperti katalase, koagulase, enzim lain, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, dan enterotoksin (Jawetz *et al.*, 2005). Penyakit-penyakit yang disebabkan *Staphylococcus aureus* antara lain bisul, berbagai infeksi *pyogenik*, keracunan makanan, dan *toxic shock syndrome* (Levinson, 2004).

5. Antibakteri

Antibakteri adalah salah satu senyawa yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme dan dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.*, 2005). Aktivitas antibakteri diantaranya dipengaruhi oleh faktor potensi dari obat antibakteri dan faktor yang menyangkut sifat dan bakteri itu sendiri khususnya susunan dinding kimia dinding sel bakteri tersebut. Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas selektif, berarti obat antibakteri tersebut hanya

berbahaya untuk bakteri tersebut, tetapi relatif tidak membahayakan bagi hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif ada bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (bakterisidal). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dan Gan, 1995).

Hal yang paling penting mengenai konsep antimikroba adalah *selective toxicity*, yaitu selektif dalam menghambat pertumbuhan organisme tanpa merusak inang. Toksisitas selektif dicapai dengan memanfaatkan perbedaan metabolisme, struktur dari mikroorganisme, dan bentuk sel manusia yang cocok (Levinson, 2004).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu sebagai berikut :

- 1) Penghambatan terhadap sintesis dinding sel
- 2) Penghambatan terhadap fungsi membran sel
- 3) Penghambatan terhadap sintesis protein (misalnya penghambatan translasi dan transkripsi material genetik)
- 4) Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat (Jawetz *et al.*, 2005).

6. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengamatan potensi antibakteri dari suatu zat dapat dilakukan dengan metode, yaitu:

a. Metode dilusi

Pada metode dilusi ini ada 2 macam, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Pada prinsipnya metode ini dilakukan dengan mengencerkan zat yang akan diuji menjadi beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi ditambah suspensi kuman dalam media, sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi zat uji dicampur dengan media agar, lalu ditanami kuman. Hasil yang didapat dari metode ini adalah Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Anonim, 2000^a). Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair menggunakan tabung reaksi ataupun *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antibakteri yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Metode Difusi

Pada metode difusi ini ada beberapa cara yang dapat digunakan, yaitu:

1. Cara Kirby Bauer

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 mL BHI cair, diinkubasi 5-8 jam pada 37°C, suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10⁸ CFU per mL. Kapas lidi steril dicelupkan

ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Kertas samir (disk) yang mengandung antibakteri diletakkan di atasnya, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam (Anonim, 1993).

Hasilnya dibaca :

- a. Zona radikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana sama sekali tidak terjadi pertumbuhan bakteri. Potensial antibakteri diukur dengan menggunakan diameter dari zona radikal.
- b. Zona irradikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh bakteri, tetapi tidak dimatikan (Anonim, 1993).

2. Cara Sumuran

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 mL BHI cair, diinkubasikan selama 5-8 jam pada suhu 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10⁸ CFU per mL. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Media agar dibuat sumuran lalu larutan antibakteri diteteskan ke dalam sumuran, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti cara Kirby Bauer (Anonim, 1993).

3. Cara *Pour Plate*

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 mL BHI cair, diinkubasikan selama 5-8 jam pada suhu 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10⁸ CFU per mL. Suspensi bakteri diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5% yang mempunyai suhu 50°C. Setelah suspensi kuman tersebut homogen, dituang pada media agar Mueller hinton, ditunggu sampai agar tersebut membeku lalu disk diletakkan di atas media dan dieramkan selama 15-20 jam dengan temperatur 37°C. Hasil dibaca sesuai standar masing-masing antibakteri (Anonim, 1993).

7. **Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fisikokimia yang menggunakan fase diam berupa serbuk halus yang dilapiskan secara merata pada lempeng kaca, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa bercak atau pita dan pemisahan terjadi selama perambatan (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi. Untuk campuran yang tidak diketahui, lapisan pemisah dan sistem larutan pengembang harus dipilih dengan tepat karena keduanya bekerja sama untuk mencapai pemisahan (Stahl, 1994).

Adapun kerugian KLT yaitu kurang tepat, kurang teliti, dan sukar dalam penyimpanan. Metode KLT ini sangat cocok untuk analisa di

laboratorium farmasi karena hanya memerlukan investasi kecil untuk perlengkapan, menggunakan waktu singkat untuk menyelesaikan analisis (16-60 menit) dan memerlukan jumlah cuplikan yang sangat sedikit (kira-kira 0,1 g) (Stahl, 1985).

Hasil KLT ditentukan oleh fase diam (penjerap), fase gerak (pelarut), dan teknik kerja (Harborne, 1987). Fase diam berupa serbuk halus, dalam KLT bahan penyerap yang umum adalah silika gel, aluminium oksida selulosa, dan turunannya serta poliamid. Silika gel paling banyak digunakan dan dipakai untuk campuran senyawa lipofil maupun senyawa hidrofil (Stahl, 1985).

Pemilihan fase gerak baik tunggal maupun campuran tergantung pada senyawa yang akan dianalisis dan fase diam yang digunakan. Bila fase diam sudah ditentukan maka memilih fase gerak dapat berpedoman pada kekuatan elusi fase gerak tersebut (Sumarno, 2001).

Pada kromatogram kromatografi lapis tipis dikenal istilah atau pengertian faktor retardasi, (RF) oleh tiap-tiap noda kromatogram yang dirumuskan sebagai:

$$R_f = \frac{\text{jarak migrasi}}{\text{jarak pengembangan}} \quad (1)$$

(Mulya dan Suharman, 1995)

8. Bioautografi

Bioautografi adalah suatu metode untuk melokalisir aktivitas antibakteri pada kromatogram. Metode ini didasarkan pada efek biologis dari

senyawa antibakteri (Betina, 1972). Bioautografi dapat juga digunakan untuk mendeteksi antibiotik yang belum diketahui karena metode kimia atau fisika hanya terbatas untuk senyawa murni. Adapun deteksi kimia dengan warna spesifik digunakan sebagai pembandingan hasil bioautografi sehingga kedua metode tersebut saling melengkapi (Djide, 2003).

Dalam prakteknya, plat hasil KLT diletakkan pada permukaan media agar di dalam petri yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang sensitif untuk antibiotik yang akan dipelajari. Setelah diinkubasi selama 15-20 jam pada temperatur kira-kira 37°C akan tampak zona yang jernih pada lapisan media agar yang antibiotiknya berdifusi ke lapisan tersebut dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan lapisan media agar yang ditumbuhi mikroorganisme akan tampak buram (Zweigh dan Whitaker, 1971).

Beberapa prosedur yang dikemukakan di atas dan banyak lagi prosedur yang lain, hampir semuanya didasarkan pada teknik difusi-agar, yaitu dengan memindahkan senyawa antibakteri dari lapisan plat hasil KLT ke agar perbenihan melalui proses difusi. Prosedur ini memiliki beberapa kekurangan, terutama yang disebabkan oleh perbedaan difusi senyawa dari plat hasil KLT ke agar perbenihan, sehingga diupayakan suatu penyederhanaan prosedur melalui pendeteksian secara langsung pada lapisan plat KLT. Tujuan utamanya adalah menghilangkan langkah difusi (Hamburger dan Cordell, 1987).

Prinsip pengujian sebagai berikut: suspensi mikroorganisme dalam kaldu yang sesuai didispersikan pada lempeng hasil KLT. Lempeng KLT

diinkubasikan pada kelembaban udara yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri. Zone inhibisi kemudian ditampakkan oleh aktivitas dehidrogenase dari pereaksi pendeteksian seperti garam tetrazolium. Bakteri yang aktif bermetabolisme merubah garam tetrazolium menjadi formazan berwarna. Sedangkan senyawa antibakteri tampak sebagai bercak yang jernih terhadap latar belakang berwarna (Hamburger dan Cordell, 1987).

E. Keterangan Empiris

Penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat tanaman serai (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik.