

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Salah satu penyakit yang terus berkembang dari waktu ke waktu dalam bidang kedokteran ialah penyakit infeksi. Kasus infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme patogen, yang masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan (Waluyo, 2004). Gejala klinis sebagai akibat adanya infeksi bisa sembuh kembali secara sempurna (kelainan patologinya reversibel) atau sembuh tetapi dengan gejala sisa (kelainan patologinya ireversibel) (Entjang, 2003).

Salah satu penyakit infeksi yang masih menjadi masalah saat ini adalah pneumonia. Pneumonia merupakan masalah kesehatan di dunia karena angka kematiannya tinggi, tidak saja di negara berkembang, tapi juga di negara maju seperti AS, Kanada dan negara-negara Eropa. Di AS misalnya, terdapat dua juta sampai tiga juta kasus pneumonia per tahun dengan jumlah kematian rata-rata 45.000 orang. Di Indonesia, pneumonia merupakan penyebab kematian nomor tiga setelah kardiovaskuler dan tuberkulosis. Faktor sosial ekonomi yang rendah mempertinggi angka kematian. Gejala pneumonia adalah demam, sesak napas, napas dan nadi cepat, dahak berwarna kehijauan atau seperti karet, serta gambaran hasil ronsen memperlihatkan kepadatan pada bagian paru (Anonim<sup>a</sup>, 2010).

Pneumonia yang ada di masyarakat umumnya, disebabkan oleh bakteri, virus atau mikoplasma (bentuk peralihan antara bakteri dan virus). Bakteri yang umum adalah *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella sp*,

*Pseudomonas sp.*, virus misalnya virus influenza (Anonim<sup>a</sup>, 2010).

*Pseudomonas aeruginosa* bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh, dan merupakan patogen nosokomial yang penting. *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi pada luka jika masuk melalui fungsi lumbal, dan infeksi saluran kencing jika masuk kateter (Jawetz *et al.*, 2005).

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri patogen yang paling sering menyebabkan infeksi di antara bakteri enterik Gram negatif lainnya, meskipun hal ini bervariasi dari rumah sakit ke rumah sakit. Basilus Gram negatif biasanya dihubungkan dengan mortalitas yang tinggi, kadang-kadang 50%, potensi bakteri ini untuk menghasilkan morbiditas yang signifikan dan mortalitas juga diperparah dengan terjadinya resistensi terhadap antibiotik di beberapa rumah sakit (Dipiro *et al.*, 2005).

Penggunaan tanaman sebagai obat didasari oleh pengalaman turun-temurun dan dianggap cukup manjur untuk mengobati berbagai penyakit terutama oleh mereka yang telah membuktikan khasiatnya. Guna membuktikannya perlu dilakukan pengujian ilmiah tentang khasiat, keamanan dan standar kualitas. Pada akhirnya, tumbuh-tumbuhan yang digunakan sebagai tumbuhan obat dapat dipertanggung jawabkan secara medis dan ilmiah (Mangan, 2003).

Salah satu tanaman obat yang bermanfaat untuk menjaga dan mengobati gangguan kesehatan adalah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels.). Hasil penelitian Erwiyani (2009) menunjukkan ekstrak etanol buah ceremai mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan KBM sebesar 0,5% dan terhadap *E.*

*coli* mempunyai KBM sebesar 1%. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa buah ceremai mengandung senyawa polifenol dan saponin yang bekerja dengan mendenaturasi sel dan merusak membran sel bakteri maka senyawa-senyawa tersebut merupakan komponen aktif yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Hasil penelitian Melendez dan Capriles (2006) menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* sebesar 11 mm dan *S. aureus* sebesar 20 mm.

Menurut Prasetya (2010) ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mengandung senyawa polifenol yang mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 15%. Hasil penelitian Laksono (2010) menunjukkan bahwa fraksi residu ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* multiresisten antibiotik dengan nilai KBM adalah 1%.

Buah dan daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mengandung adenosine, kaempferol (flavonoid), dan *hypogallic acid* (DHBA) (Sousa *et al.*, 2007). Menurut hasil penelitian Quijano *et al* (2007) buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) juga mengandung karbohidrat, asam organik non volatil dan komponen volatil. Tanaman ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mempunyai khasiat antibakteri dan antijamur (Satish *et al.*, 2007; Jagessar *et al.*, 2008).

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* dengan metode dilusi padat dan bioautografi.

## B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka dirumuskan beberapa masalah, yaitu:

1. Berapakah nilai KBM ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae*?
2. Senyawa apa yang terkandung dalam ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae*?

## C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui nilai KBM ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae*.
2. Mengetahui kandungan senyawa dalam ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae*.

## D. Tinjauan Pustaka

### 1. Tanaman Ceremai

#### a. Klasifikasi

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Rosidae

Bangsa : Euphorbiales  
Suku : Euphorbiaceae  
Marga : Phyllanthus  
Jenis : *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels (Cronquist, 1981)

b. Khasiat dan Kandungan Kimia

Penelitian Erwiyani (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah ceremai mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan KBM sebesar 0,5% dan terhadap *E. coli* mempunyai KBM sebesar 1%. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa buah ceremai mengandung senyawa polifenol dan saponin yang bekerja dengan mendenaturasi sel dan merusak membran sel bakteri. Hasil penelitian Melendez dan Capriles (2006) menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* sebesar 11 mm dan *S. aureus* sebesar 20 mm.

Menurut Prasetya (2010) ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mengandung senyawa polifenol yang mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 15%. Laksono (2010) mengemukakan bahwa fraksi residu ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* multiresisten antibiotik dengan nilai KBM adalah 1%.

Buah dan daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mengandung adenosine, kaempferol (flavonoid) dan *hypogallic acid* (DHBA) (Sousa *et al.*, 2007). Menurut hasil penelitin Quijano *et al* (2007) buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) juga mengandung karbohidrat, asam organik non volatil dan komponen

volatil. Tanaman ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mempunyai khasiat antibakteri dan antijamur (Satish *et al.*, 2007; Jagessar *et al.*, 2008).

## **2. Ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 2000).

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sumber bahan alami dan senyawa yang akan diujikan. Oleh karena itu terdapat beberapa pilihan metode penyarian yang salah satunya adalah maserasi (Sarker *et al.*, 2006). Maserasi merupakan metode penyarian yang sangat sederhana dan paling banyak digunakan untuk menyari bahan obat yang berupa serbuk simplisia yang halus. Remaserasi merupakan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Anonim, 2000).

## **3. Bakteri**

Mikroorganisme yang bisa hidup bebas adalah prokariot, yang terdiri dari bakteri dan archaea. Bakteri merupakan mikroorganisme yang dapat hidup secara individu maupun secara berkelompok (Hugo dan Russell, 2005).

Bakteri diklasifikasikan berdasarkan bentuknya menjadi tiga kelompok, yakni kokus, basil dan spirosites. Kokus berbentuk bulat, basil berbentuk batang dan spirosites berbentuk spiral. Bentuk dari bakteri ditentukan oleh kekakuan dari dinding sel bakteri. Bakteri memiliki ukuran sekitar 0,2-5  $\mu\text{m}$ . Bakteri paling kecil (*Mycoplasma*) memiliki ukuran yang sama dengan virus yang paling besar

(poxvirus) dan organisme terkecil yang bisa hidup di luar inang. Bakteri yang paling panjang menyerupai beberapa jamur dan sel darah merah pada manusia (7  $\mu\text{m}$ ) (Levinson, 2004).

Bakteri dibagi dalam golongan Gram positif dan Gram negatif berdasar reaksinya terhadap prosedur pewarnaan Gram. Sel pertama kali diwarnai dengan kristal violet dan yodium, kemudian dicuci dengan aseton atau alkohol. Langkah terakhir menghilangkan warna pada bakteri Gram negatif, tapi tidak pada bakteri Gram positif (Jawetz *et al.*, 2005). Kemudian dilihat di bawah mikroskop, bakteri Gram negatif akan nampak berwarna merah sedangkan bakteri Gram positif berwarna ungu (Hugo dan Russell, 2005).

**a. *Pseudomonas aeruginosa***

Divisi	: Protophyta	
Kelas	: Schizomycetes	
Bangsa	: Pseudomonadales	
Suku	: Pseudomonadaceae	
Marga	: Pseudomonas	
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(Salle, 1961)

*Pseudomonas aeruginosa* mempunyai ciri dapat bergerak dan berbentuk batang, ukurannya 0,6 x 2  $\mu\text{m}$ , merupakan Gram negatif dan terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda dan kadang-kadang dalam rantai pendek (Jawetz *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan penyakit terlokalisasi dan sistemik. Penyakit karena *Pseudomonas aeruginosa* dimulai dengan penempelan dan kolonisasi bakteri ini pada jaringan inang. Bakteri ini menggunakan fli untuk penempelan sel bakteri pada

permukaan inang. Selain itu, *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat membentuk biofilm yang terbuat dari kapsul glikokalis untuk mengurangi keefektifan mekanisme sistem imun inang. Jaringan inang akan mencoba merusak penempelan dan kolonisasi bakteri. Selanjutnya, *Pseudomonas aeruginosa* memproduksi sejumlah endotoksin dan produk ekstraseluler yang menunjang invasi lokal dan penyebaran mikroorganisme. Toksin dan produk ekstraseluler ini mencakup protease ekstraseluler, sitotoksin, hemolisin, dan piosianin. Untuk penyakit sistemik, produk yang menunjang invasi mencakup kapsul antifagositas, endotoksin, eksotoksin A dan eksotoksin S (Anonim<sup>b</sup>, 2010).

Sebagian besar infeksi *Pseudomonas aeruginosa*, gejala dan tandanya tidak spesifik dan berkaitan dengan organ yang diserang. Kadang-kadang verdoglobulin (hasil pemecahan hemoglobin) atau pigmen fluoresen dapat dideteksi pada luka, luka bakar atau urine dengan sinar ultraviolet (Jawetz *et al.*, 2005).

**b. *Klebsiella pneumoniae***

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: Klebsiella
Jenis	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

*Klebsiella* merupakan kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang, non motil, koloni besar, sangat mukoid dan cenderung bersatu pada pergerakan yang lama, meragikan laktosa dan banyak karbohidrat, negatif terhadap tes merah motil



(Jawetz *et al.*, 2005). *Klebsiella pneumoniae* terdapat di selaput lendir hidung, mulut dan usus orang sehat sebagai flora normal (Entjang, 2003).

*Klebsiella pneumoniae* hemoragik pada paru-paru. *Klebsiella pneumoniae* kadang-kadang menyebabkan infeksi saluran kemih dan bakteremia dengan lesi fokal pada pasien yang lemah (Jawetz *et al.*, 2005). Pneumonia yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae*, biasanya dimulai dengan gejala demam akut, malaise (lesu) dan batuk kering. Kemudian, batuknya menjadi produktif menghasilkan sputum berdarah dan purulent (nanah). Bila penyakitnya berlanjut, terjadi abses, nekrosis jaringan paru, bronkhietas dan fibrosis paru-paru. Angka kematian 40-60% (Entjang, 2003).

#### **4. Antibakteri**

Antibiotik adalah zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroba yang mempunyai khasiat sebagai antimikrobia (Entjang, 2003). Antimikrobia yang ideal menunjukkan toksisitas yang selektif. Hal ini secara tidak langsung menjelaskan bahwa obat berbahaya bagi parasit dan tidak membahayakan inang. Seringkali toksisitas selektif lebih bersifat relatif dan tidak mutlak, hal ini menyatakan bahwa konsentrasi obat-obatan yang toleran terhadap inang, mungkin merusak mikroorganisme penyebab infeksi (Jawetz *et al.*, 2005).

Toksitas selektif mungkin merupakan fungsi reseptor spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat-obatan, atau bisa karena hambatan biokimia yang bisa terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang. Mekanisme aksi antimikrobia tidak sepenuhnya dimengerti (Jawetz *et al.*, 2005).

Mekanisme kerja antibakteri sebagai berikut:

a. Menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bertindak sebagai suatu struktur *corseting*, melindungi sel dari lisis osmotik (Jawetz *et al.*, 2005). Dinding sel terdiri dari lapisan dalam yakni peptidoglikan dan membran luar dengan memiliki ketebalan bervariasi dan komposisi kimia berdasarkan tipe bakteri (Levinson, 2004).

Peptidoglikan menjaga bentuk sel dan kekuatan mekanik dari sel bakteri. Jika hal tersebut dirusak atau dihambat sintesisnya, maka bentuk dari sel akan berubah dan lisis sesuai dengan tingginya tekanan osmosis dari dalam sel (Hugo dan Russell, 2005). Salah satu antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel bakteri adalah  $\beta$ -*lactam* (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Membran sitoplasma.

Integritas dari membran sitoplasma sangat vital untuk fungsi normal sel (Hugo dan Russell, 2005). Jika fungsi integritas membran sitoplasmik dirusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian (Jawetz *et al.*, 2005). Contoh dari mekanisme ini adalah polimiksin pada bakteri Gram negatif dan kerja polien pada fungi (Jawetz *et al.*, 2005).

c. Penghambatan sintesis protein.

Ribosom bakteri mengandung subunit 30S dan 50S. Subunit 30S terdiri dari *single strand* 16S rRNA dan lebih dari 20 protein yang berbeda. Subunit 50S terdiri dari dua *single strand* rRNA (23S dan 5S) bersama dengan 30 protein yang berbeda. Makrolida, azalida dan kloramfenikol bekerja pada subunit 50S pada bakteri dan tidak bekerja pada subunit 60S pada sel mamalia. Obat-obatan tersebut sama-sama aktif terhadap kedua jenis ribosom dengan mengikat subunit 30S dan subunit 40S

(Hugo dan Russell, 2005).

d. Antagonis folat

Asam folat merupakan kofaktor yang penting dalam semua kehidupan sel (Hugo dan Russell, 2005). Asam *p*-aminobenzoat (PABA) merupakan metabolit penting. Bentuk khusus dari kerja PABA adalah pada pembentukan adenosin trifosfat yang berasal dari pteridin dengan PABA untuk menghasilkan asam dihidropteroat, yang secara berangkai berubah jadi asam folat, PABA penting untuk sintesis asam nukleat. Sulfonamid adalah struktur yang analog dengan PABA dan menghambat enzim dihidropteroat sintetase (Jawetz *et al.*, 2005).

e. Mengganggu fungsi kromosom

Sejumlah agen anti mikrobial bekerja dengan merusak DNA, termasuk dalam hal ini radiasi *ionizing*, Sinar UV dan DNA *re-active chemicals*. Diantara kategori terakhir adalah *alkylating agents* dan senyawa lain yang bereaksi secara kovalen dengan basa purin dan pirimidin untuk membentuk DNA dengan beberapa cara sinar UV. Induksi radiasi dan kimia dapat membunuh sel dengan mengganggu replikasi DNA (Jawetz *et al.*, 2005).

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikrobia dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi atau difusi. Metode ini dapat dipergunakan untuk mengukur potensial antibiotik lain dalam sampel atau kepekaan mikrobial (Jawetz *et al.*, 2005).

a. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikrobia dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat (Jawetz *et al.*, 2005). Dilusi ganda

antimikrobia (biasanya pada kisaran 0,12-256 mg/L) disiapkan pada media broth yang sesuai dan volume fase log ditambahkan pada tiap dilusi hingga menghasilkan densitas sekitar  $5 \times 10^5$  CFU/ml. Setelah inkubasi pada 35°C selama 18 jam, konsentrasi antimikrobia yang menghasilkan daerah bersih dibaca sebagai MIC (Hugo dan Russell, 2005).

Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikrobia yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

Metode dilusi padat atau cair pada prinsipnya adalah antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedang pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri. Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri menghambat atau membunuh mikroorganisme konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan ketidaksamaan adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) (Anonim, 2007).

#### b. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi,

diameter zona hambatan sekitar cakram digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standarisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri peka atau resisten dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama (Jawetz *et al.*, 2005).

#### **5. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis (Rohman dan Gandjar, 2007). Pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium atau pelat plastik (Rohman, 2009).

Prinsip KLT tradisional sangat sederhana, yakni campuran solut yang akan dipisahkan ditotolkan pada permukaan lempeng tipis lalu dikembangkan di dalam *chamber* menggunakan fase gerak yang sesuai. Kekuatan interaksi yang berbeda antara solut dengan fase diam atau fase gerak akan menghasilkan mobilitas dan pemisahan yang berbeda (Rohman dan Gandjar, 2007).

Fase diam yang paling sering digunakan pada KLT adalah silika dan serbuk selulosa. Lapis tipis yang digunakan sebagai fase diam juga dapat dibuat dari silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi dan siklodekstrin yang digunakan untuk pemisahan kiral (Rohman, 2009).

Fase gerak dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah dengan menggunakan campuran dua pelarut organik karena daya elusi campuran

kedua pelarut ini mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Rohman, 2009).

Retensi solut pada kromatografi lapis tipis dan kromatografi lapis tipis kinerja tinggi dicirikan dengan faktor retardasi solut ( $R_f$ ) yang didefinisikan sebagai jarak migrasi solut terhadap jarak ujung fase geraknya.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \quad (\text{Rohman dan Gandjar, 2007}).$$

## 6. Bioautografi

Metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antifungi dan antiviral disebut bioautografi. Bioautografi dapat juga digunakan untuk mendeteksi antibiotik yang belum diketahui karena metode kimia atau fisika hanya terbatas untuk senyawa murni (Djide, 2003).

Ada dua metode yang dapat digunakan, yaitu:

### a. Metode langsung

Pada prakteknya KLT diletakkan pada permukaan media agar di dalam permukaan petri yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang sensitif untuk antibiotik yang akan dipelajari. Setelah diinkubasi pada waktu tertentu akan tampak zona yang jernih pada lapisan media agar, antibiotik berdifusi kelapisan tersebut dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan lapisan media agar yang ditumbuhi mikroorganisme akan tampak buram (Pratiwi, 2008).

### b. Metode *overlay*

Dengan menuangkan media agar pada lempeng KLT yang sudah dicampur mikroorganisme media ditunggu hingga padat kemudian diinkubasi. Area hambatan

ditunjukkan dengan penyemprotan tetrazolium klorida. Senyawa antimikroba ditandai dengan area jernih dengan latar ungu (Pratiwi, 2008).

#### **E. Landasan Teori**

Ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) telah diteliti Erwiyani (2009) mengandung senyawa polifenol dan saponin serta mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM) terhadap *S. aureus* dan *E. coli* berturut-turut sebesar 0,5% dan 1%.

Laksono (2010) mengemukakan bahwa fraksi residu ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* multiresisten antibiotik dengan nilai KBM adalah 1%. Sedangkan Prasetya (2010) mengemukakan bahwa ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mengandung senyawa polifenol yang mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 15%. Buah ceremai mengandung senyawa polifenol dan saponin yang mampu mendenaturasi protein pada sel bakteri dan jamur.

#### **F. Hipotesis**

Ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae*.