

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE  
(*Momordica charantia* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*  
ATCC 27853 DENGAN METODE DIFUSI DAN DILUSI**



**Oleh :  
Yuliana Trisnani  
20144142A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE  
(*Momordica charantia* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*  
ATCC 27853 DENGAN METODE DIFUSI DAN DILUSI**

*SKRIPSI*

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh:**

**Yuliana Trisnani**

**20144142A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE  
(*Momordica charantia* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*  
ATCC 27853 DENGAN METODE DIFUSI DAN DILUSI**

Oleh :

Yuliana Trisnani

20144142A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal : 2 Juli 2018

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

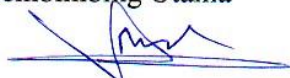


Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

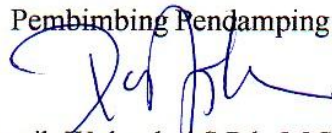
Surakarta, 2 Juli 2018

Pembimbing Utama



Drs. Mardiyono M.Si.

Pembimbing Pendamping



Destik Wulandari S.Pd., M.Si.

Penguji:

1. Drs. Edy Prasetya, M.Si.
2. Opstaria Saptarini, S.Farm., M.Si., Apt.
3. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt.
4. Drs. Mardiyono, M.Si



## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

**“Tetapi carilah dahulu Kerajaan Allah dan kebenarannya, maka semuanya itu akan ditambahkan kepadamu”**

**Matius 6:33**

**“Jagalah dirimu! Jikalau saudaramu berbuat dosa, tegorlah dia, dan jikalau ia menyesal, ampunilah dia. Bahkan jikalau ia berbuat dosa terhadap engkau tujuh kali dan tujuh kali ia kembali kepadamu dan berkata: Aku menyesal, engkau harus mengampuni dia”**

**Lukas 17:3-4**

**Skripsi ini kupersembahkan kepada:**

Tuhan Yesus Kristus yang telah memimpin dan menuntun dalam menyelesaikan penelitian ini.

Kedua orangtua yang saya sayangi

Teman-teman seperjuangan S1 Farmasi Universitas Setia Budi, khususnya teman-teman dari FKK 2

## **PERNYATAAN**

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juli 2018



Yuliana Trisnani

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat, tuntunan dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana dalam Ilmu Farmasi pada Universitas Setia Budi, Surakarta.

Skripsi ini dalam penyusunannya penulis memilih judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE (*Momordica charantia* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 DENGAN METODE DIFUSI DAN DILUSI”**

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini telah mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djony Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Drs. Mardiyono, M.Si selaku pembimbing utama dan Destik Wulandari S.Pd., M.Si. selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberi nasehat, dan memberikan ilmunya sehingga terselesainya skripsi ini.
4. Dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk dapat menguji serta telah memberikan masukan dan ilmu sehingga terselesainya skripsi ini.
5. Segenap Dosen, Karyawan dan Staff Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah banyak membantu demi kelancaran dan sempurnanya skripsi ini.
6. Segenap Karyawan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.

7. Kedua orangtua tercinta Bapak Sukarno dan Ibu Parmini yang telah memberikan dukungan dan selalu mendoakan yang luar biasa berupa dukungan moril maupun dukungan materil.
8. Kakakku yang tersayang Sigit Untoro dan istrinya Martina serta keponakan tersayang Nataniella Martha Untoro yang selalu memberikan dukungan dan doanya serta semua keluarga dan saudara-saudara yang selalu memberikan dukungan dan semangat kepada penulis. Sepupu saya Diah Budi Arti yang sudah membantu dan memberikan dukungan.
9. Keluarga King Salman Squad (Nawang, Devi, Yanuar, Nitrol, Ayusum) yang selalu memberikan semangat, dukungan serta doanya.
10. Semua teman angkatan 2014, teman FKK 2 yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.
11. Teman satu team (Mariana dan Mario) dan teman seperjuangan (Asti, Mia, Ima, Tika, Pristo) yang telah membantu dan memberi dukungan.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Semua ini merupakan anugerah dan pengalaman terindah yang tidak akan terlupakan.

Harapan penulis semoga Tuhan yang Maha Esa selalu melimpahkan rahmat dan kasih karuniaNya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, namun penulis sudah berusaha semaksimal mungkin. Oleh karena itu, penulis menerima segala kritik dan saran yang bersifat membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat berguna untuk pengembangan pengobatan dan ilmu Farmasi.

Surakarta, 2 Juli 2018

Yuliana Trisnani

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
LEMBAR PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. Buah Pare.....	4
1. Klasifikasi tumbuhan.....	4
2. Morfologi tumbuhan .....	4
3. Khasiat tanaman .....	5
4. Kandungan kimia .....	5
5. Nama lain .....	6
B. Bakteri .....	6
1. Bakteri .....	6
2. Sistematika <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	7
3. Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	8
4. Patogenesis .....	9
C. Antibakteri.....	9
1. Menghambat sintesis dinding sel mikroba .....	10
2. Mengganggu atau merusak membran sel .....	10



3.	Menghambat sintesis protein.....	10
4.	Mengganggu biosintesis asam nukleat .....	11
D.	Ciprofloxacin .....	11
E.	Simplisia .....	12
1.	Pengertian simplisia .....	12
2.	Pencucian dan pengeringan simplisia.....	12
F.	Penyarian .....	13
1.	Ekstraksi .....	13
2.	Maserasi.....	13
G.	Media Pertumbuhan Bakteri.....	14
H.	Sterilisasi .....	14
I.	Landasan Teori .....	15
J.	Hipotesis .....	16
BAB III	METODE PENELITIAN .....	17
A.	Populasi dan Sampel.....	17
1.	Populasi .....	17
2.	Sampel .....	17
B.	Variabel Penelitian .....	17
1.	Identifikasi variabel utama .....	17
2.	Klasifikasi variabel utama .....	17
3.	Definisi operasional variabel utama .....	18
C.	Bahan dan Alat .....	18
1.	Bahan.....	18
1.1.	Bahan sampel .....	18
1.2.	Bakteri uji.....	19
1.3.	Media .....	19
1.4.	Bahan kimia .....	19
2.	Alat .....	19
D.	Jalannya Penelitian .....	19
1.	Identifikasi tanaman .....	19
2.	Pengambilan bahan.....	20
3.	Pembuatan ekstrak buah pare .....	20
4.	Penetapan susut pengeringan serbuk buah pare .....	20
5.	Pembuatan ekstrak etanol 70%.....	20
6.	Penetapan persen rendemen .....	21
7.	Tes bebas etanol ekstrak buah pare .....	21
8.	Identifikasi kandungan senyawa kimia .....	21
8.1.	Identifikasi alkaloid .....	21
8.2.	Identifikasi flavonoid .....	21

8.3. Identifikasi saponin.....	22
8.4. Identifikasi tanin .....	22
9. Sterilisasi .....	22
10. Pembuatan suspensi bakteri uji .....	22
11. Identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	22
11.1. Identifikasi bakteri dengan goresan .....	22
11.2. Pewarnaan Gram.....	23
12. Identifikasi biokimia.....	23
12.1. Uji biokimia dengan media KIA.....	23
12.2. Uji biokimia dengan media LIA .....	23
12.3. Uji biokimia dengan media SIM.....	23
12.4. Uji biokimia dengan media citrat.....	24
13. Pengujian antibakteri buah pare secara difusi .....	24
14. Pengujian antibakteri buah pare secara dilusi .....	25
E. Analisis Hasil.....	25
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	29
1. Determinasi tanaman buah pare ( <i>Momordica charantia</i> L.)....	29
2. Pengambilan bahan.....	29
3. Pembuatan serbuk buah pare .....	29
4. Penetapan susut pengeringan serbuk buah pare .....	29
5. Pembuatan ekstrak etanol 70%.....	30
6. Hasil uji bebas etanol ekstrak buah pare .....	31
7. Identifikasi kandungan senyawa kimia .....	31
8. Identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853...	33
8.1 Hasil identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 dengan metode goresan .....	33
8.2 Hasil identifikasi dengan metode pewarnaan Gram. ....	34
9. Identifikasi biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	35
10. Pembuatan suspensi bakteri uji.....	36
11. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol buah pare secara difusi .....	37
12. Hasil pengujian antibakteri secara dilusi .....	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	41
A. Kesimpulan .....	41
B. Saran .....	41
DAFTAR PUSTAKA .....	42
LAMPIRAN.....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) .....	4
Gambar 2. Anatomi umum dari bakteri .....	7
Gambar 3. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	7
Gambar 4. Diagram skema pembuatan ekstrak etanol buah pare ( <i>Momordica charantia</i> L.).....	26
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi. ....	27
Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri ekstrak buah pare dengan metode dilusi. ....	28
Gambar 7. Hasil identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 dengan metode goresan .....	34
Gambar 8. Hasil identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27852 dengan metode pewarnaan Gram .....	35
Gambar 9. Hasil identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara biokimia.....	35

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Hasil uji biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	24
Tabel 2.	Persentase bobot kering terhadap bobot basah buah pare .....	29
Tabel 3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah pare .....	30
Tabel 4.	Persentase bobot ekstrak buah pare .....	31
Tabel 5.	Hasil uji bebas etanol ekstrak etanol buah pare.....	31
Tabel 6.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia buah pare ( <i>Momordica charantia</i> L.).....	31
Tabel 7.	Hasil identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara biokimia.....	35
Tabel 8.	Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol buah pare secara difusi.	38
Tabel 9.	Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi.....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman buah pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) .....	47
Lampiran 2. Proses pembuatan serbuk buah pare.....	50
Lampiran 3. Proses pembuatan ekstrak buah pare .....	51
Lampiran 4. Hasil identifikasi bakteri .....	52
Lampiran 5. ..Hasil uji antibakteri dengan metode difusi.....	53
Lampiran 6. Hasil uji antibakteri dengan metode dilusi .....	54
Lampiran 7. Alat yang digunakan dalam penelitian .....	57
Lampiran 8. Bahan yang digunakan dalam penelitian .....	60
Lampiran 9. Hasil uji kandungan senyawa kimia .....	61
Lampiran 10. Hasil perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah.....	63
Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak etanol buah pare .....	64
Lampiran 12. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol buah pare dengan metode difusi .....	65
Lampiran 13. Formulasi dan pembuatan media.....	66
Lampiran 14. Hasil Analisis <i>One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test</i> dengan SPSS .....	69
Lampiran 15. Hasil Analisis <i>Test of Homogeneity of Variances</i> dengan SPSS .....	70
Lampiran 16. Hasil Analisis <i>Multiple Comparisons</i> dengan SPSS 17 .....	71

## DAFTAR SINGKATAN

ATTC	: American Type Culture Collection
KBM	: Konsentrai Bunuh Minimum
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimum
PSA	: Pseudomonas Selective Agar
BHI	: <i>Brain Heart Infusion</i>
CFU	: Colony Forming Unit
DMSO	: Dimetyl Sulfoxide

## INTISARI

**TRISNANI, Y., 2018 UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE (*Momordica charantia* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 DENGAN METODE DIFUSI DAN DILUSI, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Buah pare mengandung senyawa kimia tanin, saponin, flavonoid, alkaloid. Kandungan tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak buah pare terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, nilai KHM, dan nilai KBM.

Serbuk buah pare diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pengujian dilakukan dengan metode difusi yang digunakan untuk mengetahui konsentrasi teraktif dari ekstrak dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%. Selanjutnya dilakukan pengujian dengan metode dilusi untuk mengetahui nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dengan seri pengenceran 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,79%; 0,39%; 0,19%. Hasil data yang didapatkan dari uji dilusi dilakukan pengujian analisis ANOVA dengan SPSS 17.

Uji difusi menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pada uji difusi didapatkan konsentrasi paling efektif yaitu 75%. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tidak dapat ditentukan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu konsentrasi 50%.

---

Kata kunci : buah pare ( *Momordica charantia* L.), antibakteri, difusi, dilusi, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

## ABSTRACT

**TRISNANI, Y., 2018 TEST OF ETHANOLIC 70% BITTER MELON FRUIT (*Momordica charantia* L.) TO *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 BACTERIA WITH DIFFUSION AND DILLUSION METHOD, SKRIPSI, PHARMACEUTICAL PHARMACEUTICALS, SETIA BUDI OF UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Pare contains a chemical compound of tannins, saponins, flavonoids, alkaloids. The content has activity as an antibacterial. This research was conducted to find out antibacterial activity of pare extract to *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bacteria, MIC value, and MBC value.

The powder of bitter melon fruit was extracted by maceration method using 70% ethanol. The test by diffusion method which was used to know the effectiveness of extract with 100%, 75%, 50%, and 25% concentration. Then, dillusion method was tested to determine the value of MBC (Minimum Kill Concentration) with series concentration 100%; 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.12%; 1.56%; 0.79%; 0.39%; and 0.19%. The result of the diffusion test were analyzed by ANOVA with SPSS 17.

The result of diffusion test extract ethanol of bitter melon fruit had antibacterial activity to *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. In the diffusion test, the effectiveness concentration was 75%. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) can't be determined. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was concentration of 50%.

---

Keywords: Bitter Melon Fruit (*Momordica charantia* L.), antibacterial, diffusion, dilution, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Tubuh manusia pada umumnya terdapat bakteri yang merupakan flora normal. Tetapi apabila bakteri ini jumlahnya terlalu banyak dan melebihi batas normal maka akan menimbulkan suatu infeksi. Penyakit infeksi ini disebabkan oleh mikroorganisme salah satunya adalah bakteri patogen. Selama beberapa tahun terakhir, terjadi peningkatan timbulnya penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri seiring dengan bertambahnya populasi manusia (Swamy dan Jayaveera 2007).

Infeksi adalah proses invasif oleh mikroorganisme dan berpoliferasi di dalam tubuh yang menyebabkan sakit (Potter dan Perry 2005). Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi salah satunya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sering dihubungkan dengan penyakit yang terjadi pada manusia. Bakteri ini merupakan penyebab infeksi nosokomial dengan angka kejadian antara 10-20%, sering terjadi pada penderita neoplastik, luka dan luka bakar yang berat. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran pernafasan bagian bawah, saluran kemih, dan mata. Infeksi dapat dikurangi dengan cara meminum obat yaitu antibiotik. Antibiotik telah banyak dikonsumsi oleh masyarakat untuk mengurangi infeksi, namun penggunaan antibiotik yang terlalu sering dan pemakaian yang tidak sesuai aturan dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tersebut, sehingga sebaiknya dikurangi penggunaannya.

Untuk mengurangi kejadian resistensi terhadap antibiotik, dapat digunakan bahan alam yang berasal dari tanaman. Salah satu tanaman yang diduga mempunyai potensi sebagai antibakteri adalah buah pare (*Momordica charantia* L.). Buah pare dapat bermanfaat sebagai anthelmintik, antibakteri, antibiotic, antidiabetes, antiinflamasi, antimikroba, antileukimia, antioksidan, antitumor, antivirus, obat pencahar, afrodisiak, astringen, karminatif, sitostatik, sitotoksik, hipotensi, hipoglikemik, imunostimulan, insektisida, stomatik, dan tonik (Karpu *et*

al 2006). Telah dilakukan uji klinis terhadap ekstrak daun pare, ekstrak buah pare, serta jus buah pare dengan pelarut air, etanol, maupun metanol dan menunjukkan aktivitas antibakteri (Taylor 2002). Ekstrak metanol buah menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih besar daripada ekstrak daun dengan persentase penghambatan mencapai 75% dari semua mikroorganisme yang diuji (Mwambete 2009). Buah pare biasa digunakan dalam pengobatan diabetes, infeksi kulit dan infeksi lainnya. Buah pare mempunyai kandungan flavonoid, alkaloid, dan saponin berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Secara farmakologi senyawa flavonoid juga berfungsi sebagai zat antiinflamasi, antioksidan, analgesik dan antibakteri (Rachmawati 2015).

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 perlu dilakukan uji antibakteri digunakan berbagai konsentrasi yang berbeda yaitu 25% ; 50% ; 75% ; dan 100%. Sedangkan untuk mengetahui konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan digunakan ekstrak buah pare dengan berbagai konsentrasi yaitu 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,79%; 0,39%; 0,19%. Dari berbagai konsentrasi tersebut, nanti akan didapatkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

## **B. Perumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol 70% buah pare mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) yang paling efektif menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ?
3. Berapakah nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minumum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) ekstrak buah pare yang dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui ekstrak etanol 70% buah pare mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginos* ATCC 27853.
2. Menentukan konsentrasi ekstrak etanol 70% buah pare (*Momordica charantia* L.) yang paling efektif menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
3. Menentukan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) ekstrak buah pare yang dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Kegunaan dari penelitian ini adalah :

1. Diharapkan dapat menjadi bukti ilmiah tentang manfaat antibakteri dari buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
2. Sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
3. Memberikan informasi kepada masyarakat umum tentang manfaat buah pare (*Momordica charantia* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginos* ATCC 27853.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Buah Pare

#### 1. Klasifikasi tumbuhan

Menurut Cronquist dalam Dasuki (1991) klasifikasi dari pare adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Sub Divisi	: Magnoliopsida
Kelas	: Dicotyledonae
Famili	: Cucurbitaceae
Genus	: Momordica
Spesies	: <i>Momordica charantia</i> L.



Gambar 1. Pare (*Momordica charantia* L.). (Joseph 2013)

#### 2. Morfologi tumbuhan

Pare merupakan tanaman semak semusim yang dapat tumbuh di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar, tegalan, ataupun dapat ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar. Pare tumbuh menjalar atau merambat dengan sulur yang berbentuk spiral, daunnya berbentuk tunggal, berbulu, berbentuk lekuk, dan bertangkai sepanjang  $\pm 10$  cm serta bunganya berwarna kuning muda. Batang pare dapat mencapai panjang  $\pm 5$  m dan berbentuk segilima. Memiliki buah menyerupai bulat telur memanjang dan berwarna hijau, kuning sampai jingga dengan rasa yang pahit (Suwanto 2010).

Permukaan buah berbintil-bintil dengan daging buah yang agak tebal dan di dalamnya terdapat sejumlah biji yang keras berwarna coklat kekuningan. Biji buah pare ini digunakan sebagai alat perbanyakan tanaman secara generatif.

Pare dapat tumbuh baik di daerah tropis sampai pada ketinggian 500 m/dpl, suhu antara 18°C - 24°C, kelembaban udara yang cukup tinggi antara 50% - 70% dan dengan curah hujan yang relatif rendah. Tanaman ini dapat tumbuh dengan subur sepanjang tahun dan tidak tergantung kepada musim. Tanah yang paling baik bagi pare adalah tanah lempung berpasir yang subur, gembur, banyak mengandung bahan organik, aerasi, dan drainase yang baik (Kristiawan 2011).

Di bawah epidermis terdapat lapisan kolenkim terdiri dari sel berbentuk poligonal atau bundar dengan ukuran lebih besar dari sel epidermis. Bagian ini mengandung kloroplas sehingga berwarna hijau. Bagian mesokarpium terdiri dari sel parenkim bentuk poligonal dan makin ke dalam ukurannya semakin besar, mengandung kristal kalsium oksalat bentuk prisma dan resin. Bagian endokarpium terdiri dari sel parenkim panjang-panjang, serabut dan berkas pembuluh. Pada bagian dalam endokarpium terdapat jaringan yang berasal dari daun buah terdiri dari sel bentuk bundar, berdinding tebal dengan ruang sel berbentuk segitiga. Pada sayatan paradermal nampak epidermis berbentuk poligonal hampir bundar dan sel yang mengandung resin (Champbell 2002).

### **3. Khasiat tanaman**

Telah diketahui bahwa buah pare mempunyai berbagai khasiat antara lain antiinflamasi dan antelmintik, selain itu juga dapat digunakan sebagai obat untuk penyakit batuk, radang tenggorokan, sakit mata merah, menambah nafsu makan, kencing manis, rematik, sariawan, bisul, abses, demam, malaria, sakit liver, serta sembelit. Pada demam dan disentri biasanya digunakan sebanyak 2 buah pare segar.

### **4. Kandungan kimia**

Senyawa fitokimia yang terkandung dalam buah pare yakni tanin, minyak atsiri, flavonoid, ursolic, oleanolic, karoten, alkaloid. Daun pare digunakan pada disentri, kencing manis, membangkitkan nafsu makan, nifas, pelancar ASI, sakit liver, bisul (obat luar). Untuk radang kulit bernanah (obat luar) digunakan 1 buah

segar dilumatkan dan diborehkan. Sedangkan akar pare digunakan pada disentri amoeba. Senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin buah pare dapat dipakai sebagai antiseptik dan antimikroba (bakteri dan virus) (Champbell 2002). Buah pare mempunyai kandungan flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Adanya senyawa flavonoid, dimana secara farmakologi senyawa flavonoid berfungsi sebagai zat antiinflamasi, antioksidan, analgesik dan antibakteri (Rachmawati dan Nusyamsi 2015).

## **5. Nama lain**

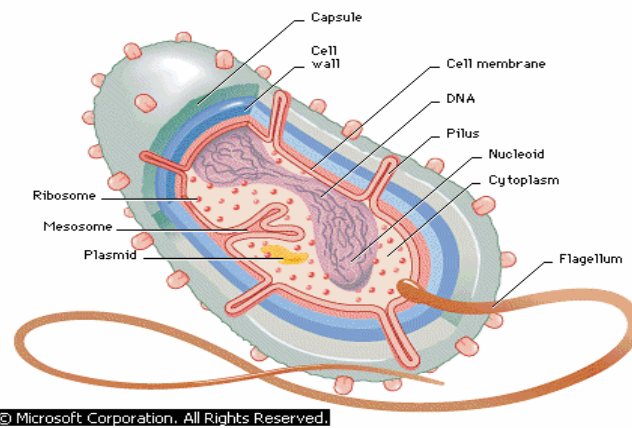
Pare memiliki nama yang berbeda-beda pada setiap daerah diantaranya Prien (Gayo), Paria (Batak Toba), Foria (Nias), Peria (Melayu), Kambeh (Minangkabau), Papare (Jakarta), Paria (Sunda), Pare (Jawa Tengah), Pepareh (Madura), Paya Truwok (Sasak), Paria (Bima), Pania (Timor), Popari (Manado), Beleng gede (Gorontalo), paria (Makasar), Paria (Bugis), Papariane (Seram), Papari (Buru), Papare (Halmahera), Kepare (Ternate) (Subahar dan Tim Lentera 2004).

## **B. Bakteri**

### **1. Bakteri**

Bakteri merupakan mikrobia prokariotik uniselular, termasuk kelas Schizomycetes, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri tidak berklorofil kecuali beberapa yang bersifat fotosintetik. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Habitatnya tersebar luas di alam, dalam tanah, atmosfer (sampai + 10 km diatas bumi), di dalam lumpur, dan di laut. Bakteri mempunyai bentuk dasar bulat, batang, dan lengkung. Bentuk bakteri juga dapat dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Bakteri dapat mengalami involusi, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan faktor makanan, suhu, dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Selain itu dapat mengalami pleomorfi, yaitu bentuk yang bermacam-macam dan teratur walaupun ditumbuhkan pada syarat

pertumbuhan yang sesuai. Umumnya bakteri berukuran 0,5-10  $\mu$  (Sumarsih 1993). Anatomi bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.



© Microsoft Corporation. All Rights Reserved.

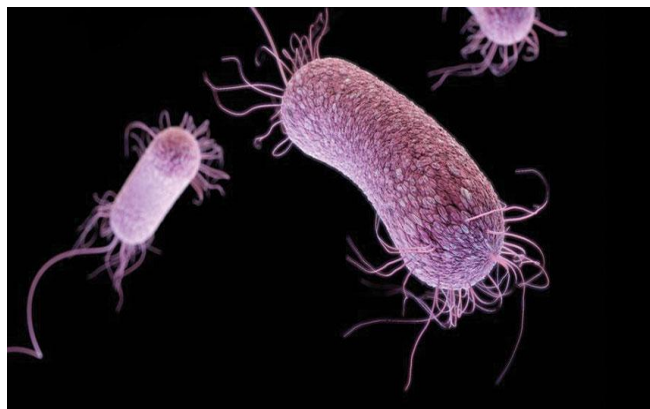
**Gambar 2. Anatomi umum dari bakteri.**

Dikutip dari : Microsoft Encarta Reference Library Premium, 2005

## 2. Sistematika *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Berikut klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menurut Salle 1961 :

- Divisi : Protophyta
- Kelas : Schizomycetes
- Ordo : Eubacteriales
- Famili : Pseudomonadaceae
- Genus : *Pseudomonas*
- Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Salle 1961).



**Gambar 3. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.**

### 3. Morfologi

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bergerak dan berbentuk batang, berukuran sekitar  $0,6 \times 2 \mu$ . Bakteri ini merupakan Gram negatif dan terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai yang pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Mayasari 2005). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tumbuh dengan baik pada suhu  $37-42^{\circ}\text{C}$ , pertumbuhannya pada suhu  $42^{\circ}\text{C}$  membantu membedakan spesies ini dari spesies *Pseudomonas* yang lain. Bakteri ini oksidase positif dan tidak dapat meragikan karbohidrat. Tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa. Pengenalan biasanya berdasarkan morfologi, sifat oksidasi positif, adanya pigmen yang khas dan pertumbuhan pada suhu  $42^{\circ}\text{C}$ . Untuk membedakan *Pseudomonas aeruginosa* dari *Pseudomonas* yang lain berdasarkan aktivitas biokimiawinya dibutuhkan berbagai substrat (Jawetz *et al* 1986).

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri patogen oportunistik, yaitu memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan, dermatitis, infeksi jaringan lunak, bakteremia, infeksi tulang dan sendi, infeksi saluran pencernaan, dan bermacam-macam infeksi sistemik, terutama pada penderita luka bakar berat, kanker dan penderita AIDS yang mengalami penurunan sistem imun (Mayasari 2005). Penyakit yang serius yang ditimbulkan adalah komplikasi *cystic fibrosis* merupakan infeksi saluran pernapasan. Kanker dan luka bakar pada pasien sering di infeksi dengan serius oleh bakteri ini.

*Pseudomonas aeruginosa* adalah satu-satunya spesies bakteri yang dapat menghasilkan:

- a. Piocianin, suatu pigmen yang larut dalam kloroform
- b. Flouresen, suatu pigmen yang larut dalam air. Beberapa strain menghasilkan pigmen merah.



#### 4. Patogenesis

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 merupakan flora normal pada telinga (Soedarto 2007) dan saluran pencernaan makanan (Entjang 2003). Bakteri ini menjadi patogenik jika berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya di selaput lendir dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan; jika menggunakan kateter pembuluh darah atau saluran kencing, atau pada neutropenia, seperti kemoterapi kanker (Jawetz *et al* 2005). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menyebabkan beberapa penyakit infeksi yaitu dermatitis, otitis eksterna, folikulitis, infeksi pada mata, infeksi pada luka bakar (Radji 2011), meningitis, sepsis (Jawetz *et al* 2005), osteomielitis, osteomielitis korpus vertebra, pneumonia, gagal nafas, bakteremia, dan infeksi saluran kemih (Sears *et al* 2011). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sering kali dihubungkan dengan penyakit yang ditularkan secara nosokomial pada manusia, yaitu infeksi yang didapat di rumah sakit (Radji 2011). Selain itu *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 juga tergolong organisme oportunistik, yaitu organisme yang mampu menyebabkan penyakit pada orang yang memiliki mekanisme pertahanan umum lemah, misal terlalu tua, anak-anak, pasien yang luka bakar, sedang menjalani terapi immunosupresan, atau penderita AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) (Waluyo 2009). Prevalensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 mencapai lebih dari 30% dari semua penyebab infeksi pada bangsal luka bakar atau unit perawatan penyakit kanker (Radji 2011).

#### C. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa kimia yang khas yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup termasuk turunan senyawa dan struktur analognya yang dibuat secara sintetik dan dalam kadar yang rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan suatu mikroorganisme. Pada awalnya antibiotik diisolasi dari mikroorganisme, tetapi sekarang beberapa antibiotik didapatkan dari tumbuhan tingkat tinggi dan binatang (Soekardjo dan Siswandono 2000).

Salah satu contoh antibiotik adalah obat antibakteri. Antibakteri adalah zat yang membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Suatu zat

antibakteri yang ideal harus memiliki sifat toksisitas selektif, artinya bahwa suatu obat berbahaya terhadap parasit tetapi tidak membahayakan tuan rumah (hopses). Zat antibakteri dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan antibakteri yang dapat membunuh bakteri (bakteriosid) (Talaro 2008). Berdasarkan daya menghambat atau membunuhnya, antibakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit (narrow spectrum) dan berspektrum luas (broad spectrum). Antibakteri yang berspektrum sempit yaitu antibakteri yang hanya dapat bekerja terhadap bakteri tertentu saja, misalnya hanya terhadap bakteri Gram positif saja atau Gram negatif saja. Antibakteri yang berspektrum luas dapat bekerja baik pada bakteri Gram negatif maupun bakteri Gram positif (Talaro 2008).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dapat dibagi menjadi empat cara, yaitu :

### **1. Menghambat sintesis dinding sel mikroba**

Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Oleh karena itu, zat yang dapat merusak dinding sel akan melisiskan dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel, yang pada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut. Antibakteri yang termasuk kelompok ini antara lain penisilin, sefalosporin, fosfomisin, vankomisin, sikloserin, dan basitrasin.

### **2. Mengganggu atau merusak membran sel**

Membran sel mempunyai peranan penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel. Membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Antibakteri yang dapat mengganggu atau merusak membran sel akan mempengaruhi kehidupan sel bakteri tersebut. Antibakteri yang termasuk kelompok ini antara lain polimiksin, nistatin, golongan makrolida, dan poliena (misal amfoterisin B).

### **3. Menghambat sintesis protein**

Sintesis protein merupakan suatu rangkaian proses yang terdiri atas proses transkripsi (yaitu DNA ditranskripsi menjadi mRNA) dan proses translasi (yaitu

mRNA ditranslasi menjadi protein). Antibakteri yang menghambat proses-proses tersebut akan menghambat sintesis protein. Antibakteri yang termasuk kelompok ini antara lain aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin, dan gentamisin.

#### **4. Mengganggu biosintesis asam nukleat**

Proses replikasi DNA di dalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri. Antibakteri yang termasuk kelompok ini antara lain asam nalidixat dan golongan kuinolon. Antibakteri ini dapat menghambat enzim DNA-gyrase yang membuat lilitan pada DNA untai ganda (Radji 2011).

#### **D. Ciprofloxasin**

Salah satu obat antibiotik pilihan pertama untuk penanganan terhadap infeksi *Pseudomonas aeruginosa* yaitu Ciprofloxasin (Goodman dan Gilman, 2008). Ciprofloxasin diindikasikan untuk pengobatan infeksi saluran kemih yang disebabkan oleh kuman-kuman multiresisten dan *Pseudomonas aeruginosa* (Sari 2009). Ciprofloxasin adalah obat antibiotik golongan kuinolon generasi kedua (Jawetz *et al* 2005). Antibiotik kuinolon bersifat bakterisid dan mekanisme kerjanya menghambat enzim gyrase DNA yang diperlukan untuk DNA bakteri (Tambayong 2002). Ciprofloxasin mempunyai substituen 6-fluoro yang sangat memperkuat potensi antibakteri melawan organisme Gram positif dan terutama Gram negatif, termasuk *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, dan *Campylobacter*. Sejauh ini resistensi tidak sering terjadi. Ciprofloxasin diabsorpsi dengan baik secara oral dan dapat diberikan secara intravena. Ciprofloxasin dieliminasi oleh ginjal dan sebagian besar dieliminasi dalam bentuk yang tidak berubah (Neal 2006).

## **E. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral.

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani ialah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

Untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan maupun kegunaannya, maka simplisia harus memenuhi persyaratan minimal. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi, antara lain, adalah: bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia termasuk cara penyimpanan bahan baku simplisia, cara pengepakan dan penyimpanan simplisia (Depkes RI 1985).

### **2. Pencucian dan pengeringan simplisia**

Simplisia yang sudah dikumpulkan kemudian dilakukan pencucian pada air mengalir. Pencucian berguna untuk membersihkan tanaman dari kotoran yang melekat pada simplisia baik tanah, bakteri, maupun jamur (Wijayakusuma 2000). Tujuan utama dari pengeringan ini adalah untuk menurunkan kadar air sehingga simplisia tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Selain itu, pengeringan juga dapat menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif (Gunawan dan Mulyani 2004).

Proses pengeringan dilakukan dengan cepat, tetapi pada suhu yang tidak terlalu tinggi. Pengeringan yang dilakukan dalam waktu yang lama akan mengakibatkan simplisia yang diperoleh ditumbuhi kapang. Sedangkan pengeringan yang dilakukan pada suhu yang terlalu tinggi akan mengakibatkan perubahan kimia pada kandungan senyawa aktifnya (Depkes RI 1985).

## **F. Penyarian**

### **1. Ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa serbuk atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 1995). Proses ekstraksi bahan nabati/bahan obat alami dapat dilakukan berdasarkan teori penyarian. Penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan aktif dalam cairan penyari tersebut.

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa metabolit sekunder dengan bantuan pelarut. Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen mengalami kerusakan (Harbone 1987). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi karena metode tersebut merupakan salah satu metode umum dalam proses ekstraksi bahan alam, selain itu metode maserasi lebih sederhana dan mudah.

### **2. Maserasi**

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak, dan lain lain. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara: 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang - ulang diaduk. Setelah 5 hari sari diserikai, ampas

diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan diserkai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Benjana ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari. Kemudian endapan dipisahkan (Depkes RI 1986).

### **G. Media Pertumbuhan Bakteri**

Media adalah kumpulan zat-zat organik maupun anorganik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat-syarat tertentu. Pertumbuhan mikroba dapat dimungkinkan apabila kondisi fisik dan lingkungannya sesuai. Kondisi fisik contohnya suhu dan struktur bahan, sedangkan kondisi kimiawi untuk pertumbuhan seperti air, sumber karbon, sumber energi, sumber nitrogen, mineral, dan faktor pertumbuhan (Anonim 1995).

Media yang digunakan harus dalam keadaan steril. Steril artinya tidak ditumbuhi mikroba lain yang tidak diharapkan. Agar media dapat tumbuh dan berkembang dengan baik di dalam media maka diperlukan persyaratan, antara lain dalam media harus terkandung unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri, harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba dan harus steril (Suriawiria 1986).

### **H. Sterilisasi**

Sterilisasi adalah tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Alat dan bahan dapat dikatakan steril apabila bebas dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan antara lain sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan, penggunaan sinar X, dan penggunaan sinar UV (Suriawiria 2005). Sterilisasi dengan bahan kimia yaitu memakai bahan kimia misal dengan menggunakan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu dengan penggunaan saringan atau filter dengan pori-pori halus sehingga dapat menahan bakteri (Suryono 1995).

## I. Landasan Teori

Buah pare mengandung senyawa fitokimia yakni tanin, minyak atsiri, flavonoid, ursolic, oleanolic, karoten, alkaloid. Adanya senyawa flavonoid yang terkandung di dalam buah pare dimana secara farmakologi senyawa flavonoid berfungsi sebagai zat antiinflamasi, antioksidan, analgesik dan antibakteri (Rachmawati dan Nusyamsi 2015).

Selain mudah ditemukan, menggunakan bahan alam lebih aman dibandingkan antibiotik. Dalam sebuah penelitian terbukti bahwa buah pare dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif lainnya. Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri yaitu flavonoid yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membrane sel tanpa dapat diperbaiki kembali atau *irreversibel* (Prayudhani *et al* 2012).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Komala dkk (2012), menyatakan bahwa senyawa alkaloid dan saponin dari ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella Tiphy* dengan menunjukkan efektivitas pada konsentrasi 75%, dengan hambatan minimum disimpulkan KHM berada di konsentrasi 60%.

Dalam penelitian ini, metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak buah pare yaitu maserasi dengan menggunakan etanol 70%. Aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh buah pare dapat diketahui lewat metode difusi dan dilusi. Metode difusi dilakukan untuk mengetahui nilai zona hambatan dari ekstrak. Sedangkan metode dilusi dilakukan dengan cara membuat satu seri konsentrasi yang terdiri dari beberapa tabung reaksi, kemudian masing-masing tabung ditambahkan bahan uji yang akan diperiksa kecuali kontrol positif, kemudian ditambahkan suspensi bakteri yang telah disamakan kekeruhannya dengan 0,5 McFarland ke dalam tiap-tiap tabung reaksi kecuali untuk kontrol negatif. Hasil yang didapatkan dari metode ini adalah nilai KHM dan KBM (Bonang dan Koeswoyo 1982).

## **J. Hipotesis**

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
2. Terdapat konsentrasi ekstrak etanol 70% buah pare (*Momordica charantia* L.) yang paling efektif menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
4. Mendapatkan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) ekstrak buah pare yang dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran dalam penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare (*Momordica charantia* L.) yang diperoleh dari Kota Surakarta, Jawa Tengah.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare (*Momordica charantia* L.) yang sudah masak tapi masih berwarna hijau yang diambil secara acak dari Kota Surakarta, Jawa Tengah.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pada penelitian ini yaitu buah pare (*Momordica charantia* L.).

Variabel kedua pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol. Variabel bebas merupakan variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel tergantung sendiri adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh variabel bebas. Dalam penelitian ini, variabel bebasnya adalah konsentrasi dari buah pare.

Variabel terkontrolnya adalah ekstrak etanol buah pare, bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, serilisasi, suhu, kondisi laboratorium, metode dan media penelitian.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak buah pare dengan melihat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media uji.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare (*Momordica charantia* L.) yang masih muda yang pengambilannya dilakukan secara acak dari Mojosongo, Kecamatan Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak etanol 70% buah pere adalah hasil ekstraksi yang diperoleh dari buah pare yang diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Ketiga, bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Keempat, konsentrasi difusi ekstrak buah pare yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25%; 50%; 75%; dan 100%.

Kelima, konsentrasi dilusi ekstrak buah pare yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,79%; 0,39%; 0,19%.

Keenam, uji aktivitas antibakteri metode difusi adalah pengujian aktivitas dengan metode difusi untuk melihat pertumbuhan bakteri dalam media uji berbagai konsentrasi dengan menghitung diameter zona hambat.

Ketujuh, uji aktivitas antibakteri metode dilusi adalah pengujian aktivitas dengan metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri uji.

## **C. Bahan dan Alat**

### **1. Bahan**

**1.1. Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare (*Momordica charantia* L.) yang diperoleh dari Kota Surakarta, Jawa Tengah.

**1.2. Bakteri uji.** Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

**1.3. Media.** Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion* (BHI), *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA), *Muller Hinton Agar* (MHA) *Kigler Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Sulfide Indol Motilitas* (SIM) dan citrat.

**1.4. Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, HCl, FeCl<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, DMSO 5%, kalium tellurit, reagen untuk pengecatan Gram, larutan kristal violet (Gram A), lugol iodine (Gram B), etanol 70% (Gram C), safranin (Gram D), dan minyak imersi pada penggunaan mikroskop.

## **2. Alat**

Alat yang digunakan dalam melakukan penelitian ini adalah oven dengan suhu rendah dan konstan, alat penyerbuk, *Moisture Balance*, timbangan analitik, mikropipet, evaporator, ayakan no 40, gelas ukur, batang pengaduk, beaker glass, *waterbath*, kertas saring, corong kaca, tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, corong pisah, alat *Rotary Evaporator*.

Alat uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah *autoclave*, inkubator, inkas, jarum ose, tabung reaksi, oven, lampu spiritus, kapas lidi steril, beaker glass, pipet ukur, pinset, dan cawan petri.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Identifikasi tanaman**

Langkah pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman buah pare (*Momordica charantia* L.) yang bertujuan untuk mengetahui kebenaran sampel buah pare (*Momordica charantia* L.) dengan cara mencocokkan ciri morfologi tanaman buah pare terhadap pustaka dan dibuktikan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

## **2. Pengambilan bahan**

Bahan / sampel buah pare (*Momordica charantia* L.) diambil secara acak dengan memilih buah yang masih hijau dan masih segar yang diambil dari daerah Kota Surakarta, Jawa Tengah.

## **3. Pembuatan serbuk buah pare**

Langkah pertama yang dilakukan dalam pembuatan serbuk buah pare adalah memetik buah pare dari rantingnya. Buah pare dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk membersihkan dari kotoran. Kemudian buah pare ditiriskan sampai kering. Pare yang sudah kering dari air kemudian diiris kira-kira setebal 1 cm lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  selama 30 jam. Setelah buah pare benar-benar kering, buah pare diserbuk dengan menggunakan mesin penggiling dan diayak dengan menggunakan pengayak no.40.

## **4. Penetapan susut pengeringan serbuk buah pare**

Dalam menetapkan susut pengeringan serbuk buah pare (*Momordica charantia* L.) digunakan alat *moisture balance* dengan pengaturan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  dan waktu pengeringan secara manual hingga kering kemudian dimasukkan neraca timbang dengan posisi 0,00 maka sampel serbuk buah pare sebanyak 0,5 gram dimasukkan. Kemudian ditunggu sampai alat berbunyi yang menandakan bahwa hasil analisa telah selesai. Kadar air memenuhi syarat apabila kadar air simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

## **5. Pembuatan ekstrak etanol 70%**

Pembuatan ekstrak buah pare dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan menggunakan pelarut etanol 70 (1:10). Sebanyak 500 gram simplisia dimasukkan ke dalam bejana ditambah 75% ( 3750 ml) pelarut dan direndam selama lima hari sambil diaduk setiap 6 jam, kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan 25% (1250 ml) pelarut dan dimaserasi kembali dengan perlakuan yang sama. Maserat yang dihasilkan kemudian dikumpulkan untuk dipisahkan dengan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh ditimbang dan dicatat.

## 6. Penetapan persen rendemen

Persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil dari ekstrak kemudian dibagi berat serbuk buah pare sering dan dikalikan 100%.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat serbuk buah pare}} \times 100\%$$

## 7. Tes bebas etanol ekstrak buah pare

Tes bebas etanol ekstrak buah pare dilakukan dan dibuktikan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Ekstrak buah pare diuji etanolnya bertujuan untuk mengetahui ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) sudah bebas etanol atau belum. Ekstrak buah pare diuji etanolnya dengan melakukan uji esterifikasi etanol menggunakan reagen H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (asam sulfat pekat) dan CH<sub>3</sub>COOH (asam asetat) kemudian dipanaskan. Hasil uji bebas etanol dalam ekstrak buah pare bisa diketahui dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol (Depkes RI 1977).

## 8. Identifikasi kandungan senyawa kimia

Identifikasi kandungan kimia bertujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada buah pare (*Momordica charantia* L.).

**8.1 Identifikasi alkaloid.** Identifikasi alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak sebanyak 50 mg ditambah 1 mL HCl 2N dan 9 mL aquades, kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan disaring, kemudian dibagi dalam dua tabung reaksi. Pada tabung pertama dimasukkan pereaksi Mayer, hasil dinyatakan positif bila terbentuk endapan putih. Pada tabung kedua dimasukkan pereaksi Dragendorf. Hasil dinyatakan positif bila terbentuk endapan coklat sampai hitam.

**8.2 Identifikasi flavonoid.** Identifikasi flavonoid dilakukan dengan mengambil ekstrak etanol sebanyak 50 mg dan ditambah 100 mL air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit, disaring sehingga diperoleh filtrat yang digunakan sebagai larutan percobaan. Setelah itu dalam 5 mL larutan percobaan ditambahkan serbuk magnesium dan 1 mL HCl pekat. Selanjutnya ditambahkan amil alkohol dikocok dengan kuat dan dibiarkan memisah. Terbentuknya warna

merah, kuning atau jingga dalam larutan amil alkohol menunjukkan positif adanya senyawa golongan flavonoid (Depkes 1995).

**8.3 Identifikasi saponin.** Ekstrak sebanyak 50 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas dan didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Hasilnya dinilai positif pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Depkes RI 1977).

**8.4 Identifikasi tanin.** Identifikasi tanin dilakukan dengan memasukkan ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) ke dalam tabung reaksi lalu ditambah aquades panas sama banyak dan didinginkan lalu ditambahkan 5 ml  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu (Robinson 1995).

## 9. Sterilisasi

Sebelum dilakukan penelitian, media yang akan digunakan harus dilakukan disterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan alat autoklave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 1 atm selama 15 menit. Gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu  $170\text{-}180^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Jarum ose disterilkan menggunakan pemanasan api secara langsung (Suriawiria 2005).

## 10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Suspensi bakteri dibuat dengan mengambil satu ose steril bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan ditanamkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml medium *Brain Heart Infussion* (BHI) yang kekeruhannya disesuaikan dengan standart *Mc Farland* 0,5 ekuivalen dengan konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  (Bonang dan Koeswardono 1982).

## 11. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

**11.1. Identifikasi bakteri dengan goresan.** Bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diinokulasi pada medium PSA kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Penampakan membentuk koloni bulat halus dengan membentuk pigmen yang berwarna kehijauan (Jawetz *et al* 2007).

**11.2. Pewarnaan Gram.** Pewarnaan pada bakteri Gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dilakukan dengan menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordant), Gram C (etanol 70%) dan Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet tetapi zat warna safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskop akan memperlihatkan warna merah (Putra 2012).

## **12. Identifikasi biokimia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat diketahui sifat fisiologisnya dengan dilakukan inokulasi pada media-media uji biokimia. Media yang dapat digunakan untuk inokulasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu KIA, LIA, SIM, dan citrat. Masing-masing media diinokulasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 18-24 jam. Hasil dapat diketahui dengan melihat perubahan warna yang terjadi pada masing-masing media atau dengan penambahan reagen.

**12.1. Uji biokimia dengan media KIA.** Uji biokimia menggunakan media KIA dilakukan dengan biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 24 jam. Tujuan dari identifikasi ini adalah untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat dan sulfida. Hasil *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 K/KS<sup>-</sup> adalah bagian lereng berwarna merah ditulis K, bagian dasar berwarna merah ditulis K, dan sulfida negatif yaitu tidak terbentuk warna hitam pada media ditulis S<sup>-</sup>.

**12.2. Uji biokimia dengan media LIA.** Identifikasi menggunakan media LIA yaitu dengan biakan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 24 jam. Hasil *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 K/KS<sup>-</sup> adalah bagian lereng berwarna ungu ditulis K, bagian dasar berwarna ungu ditulis K, dan sulfida negatif yaitu tidak terbentuk warna hitam pada media ditulis S<sup>-</sup>.

**12.3. Uji biokimia dengan media SIM.** Identifikasi menggunakan media SIM yaitu dengan biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara tusukan kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 24 jam. Hasil uji sulfida

untuk *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah (-), yaitu tidak terdapat warna hitam pada media, uji indol (-) yaitu tidak terbentuk warna merah pada bagian atas setelah ditambahkan reagem Erlich, uji motilitas (+) yaitu pertumbuhan bakteri menyebar pada media.

**12.4. Uji biokimia dengan media citrat.** Identifikasi menggunakan media citrat dilakukan dengan biakan bakteri diinokulasi dengan cara tusukan dan goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 24 jam. Tujuan dari identifikasi ini yaitu untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan citrate sebagai sumber karbon tunggal. Hasil positif apabila media citrat berwarna biru (Volk dan Wheller 1990).

**Tabel 1. Hasil uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.**

Bakteri	Media			
	KIA	SIM	LIA	Citrat
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	K/K S-	(- - +)	K/K S-	(+)

### 13. Pengujian antibakteri buah pare secara difusi

Ekstrak etanol buah pare yang sudah diperoleh kemudian dilakukan pengujian secara mikrobiologi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pengujian antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Metode yang digunakan adalah difusi dengan cara menyelupkan kapas lidi steril ke dalam suspensi bakteri yang telah dibuat. Kemudian diinokulasi ke dalam media *Muller Hinton Agar* (MHA) dan didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Kemudian disiapkan cakram kosong dan masing-masing cakram direndam ke dalam ekstrak konsentrasi 25% ; 50% ; 75% ; dan 100% dengan kontrol positif Ciprofloxasin dan kontrol negatif DMSO 5%. Masa inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C lalu diamati hasilnya. Pengukuran diameter zona hambat yang ada di sekitar sumuran digunakan untuk menentukan adanya daya hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



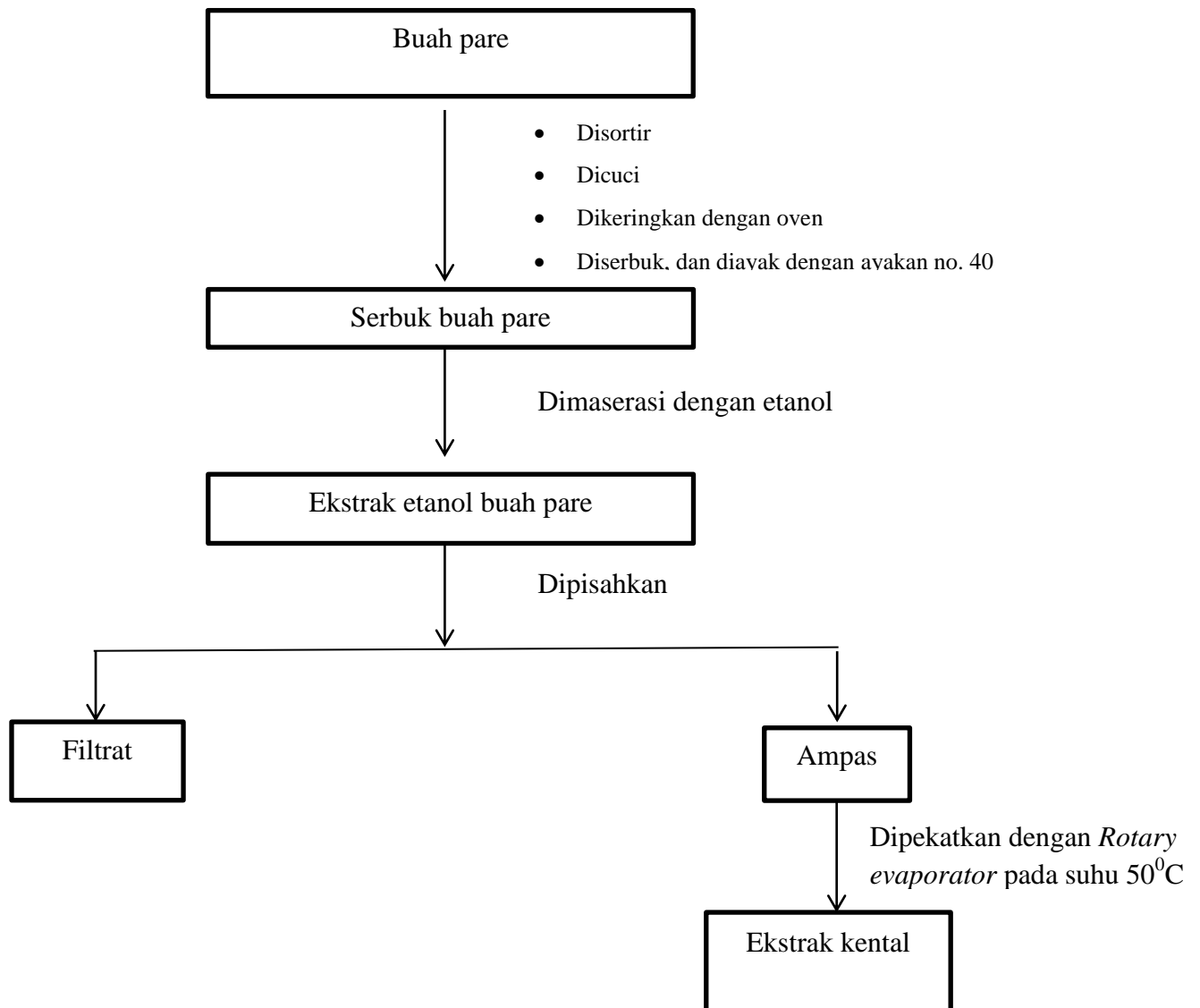
#### **14. Pengujian antibakteri buah pare secara dilusi**

Pengujian antibakteri ekstrak etanol 70% buah pare diuji secara mikrobiologis terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pengujian antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Metode dilusi dilakukan dengan menggunakan 12 tabung. Tabung pertama berisi kontrol negatif (-) yang diisi dengan ekstrak etanol konsentrasi 100% sebanyak 2 ml. Tabung kedua diisi dengan ekstrak sebanyak 1 ml dan bakteri sebanyak 1 ml sehingga didapatkan pengenceran ekstrak 100%. Tabung ketiga sampai tabung kesebelas diisi dengan media BHI sebanyak 1 ml, lalu ditambahkan ekstrak etanol konsentrasi 100% sebanyak 1 ml pada tabung ketiga. Dari tabung ketiga dihomogenkan lalu diambil 1 ml dimasukkan ke dalam tabung 4. Perlakuan yang sama dilakukan sampai tabung kesebelas lalu larutan dibuang. Setelah itu, maka didapatkan seri pengenceran ekstrak yaitu konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,79%; 0,39%; dan 0,19%. Kemudian ditambahkan bakteri uji sebanyak 1 ml pada masing-masing tabung dari tabung ketiga sampai tabung kesebelas. Sedangkan tabung keduabelas diisi dengan 2 ml bakteri uji sebagai kontrol positif (+). Semua tabung diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dari tabung yang terlihat sedikit keruh. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menggoreskan larutan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada medium PSA kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24-48 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri, untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

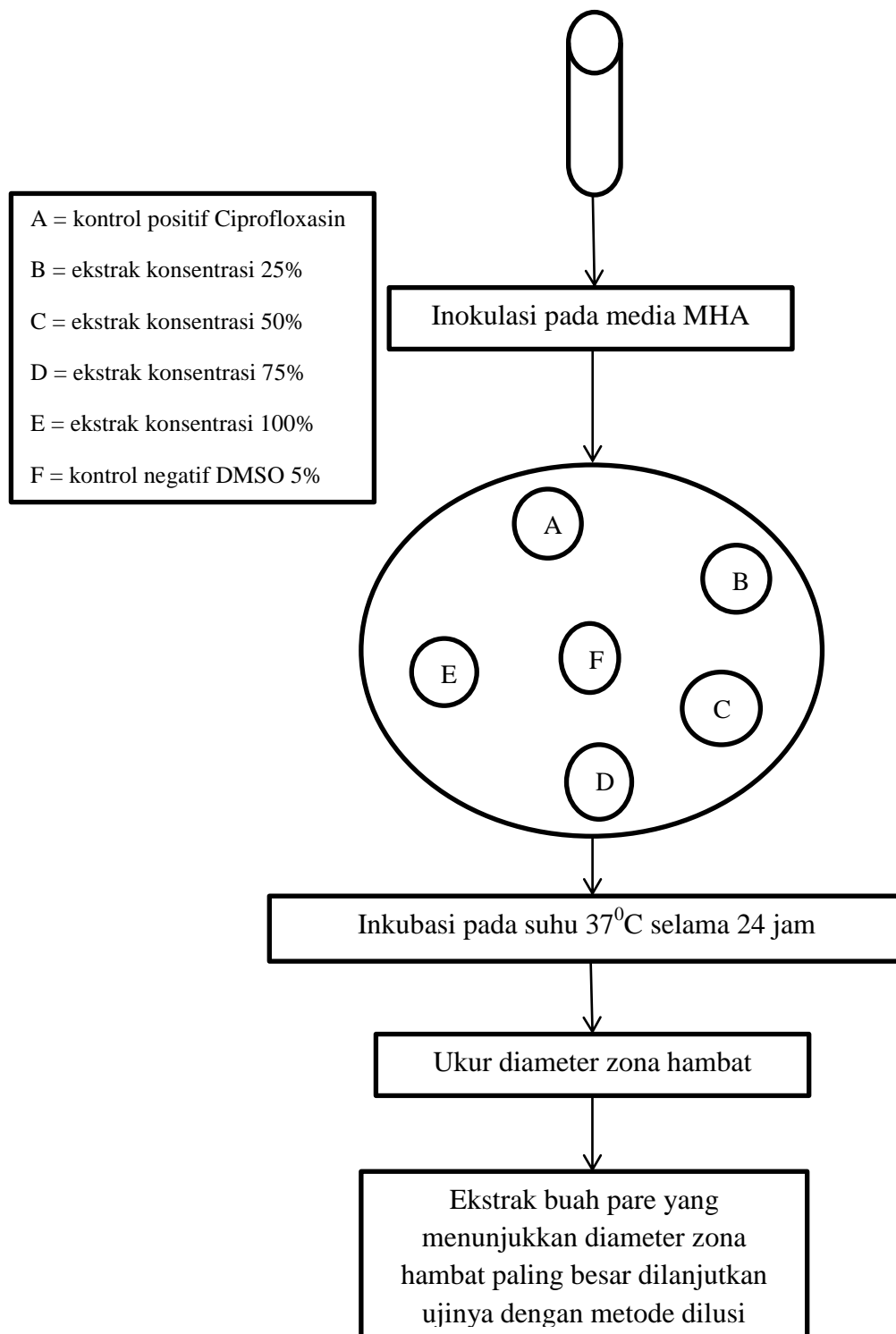
#### **E. Analisis Hasil**

Analisis hasil yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan melakukan uji statistik dengan Analisis of Varian (ANOVA) dengan menggunakan software SPSS 17 terhadap ekstrak etanol buah pare. Uji statistik ini dilakukan untuk data hasil uji difusi. Apabila data dari hasil analisis terdistribusi normal atau tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan

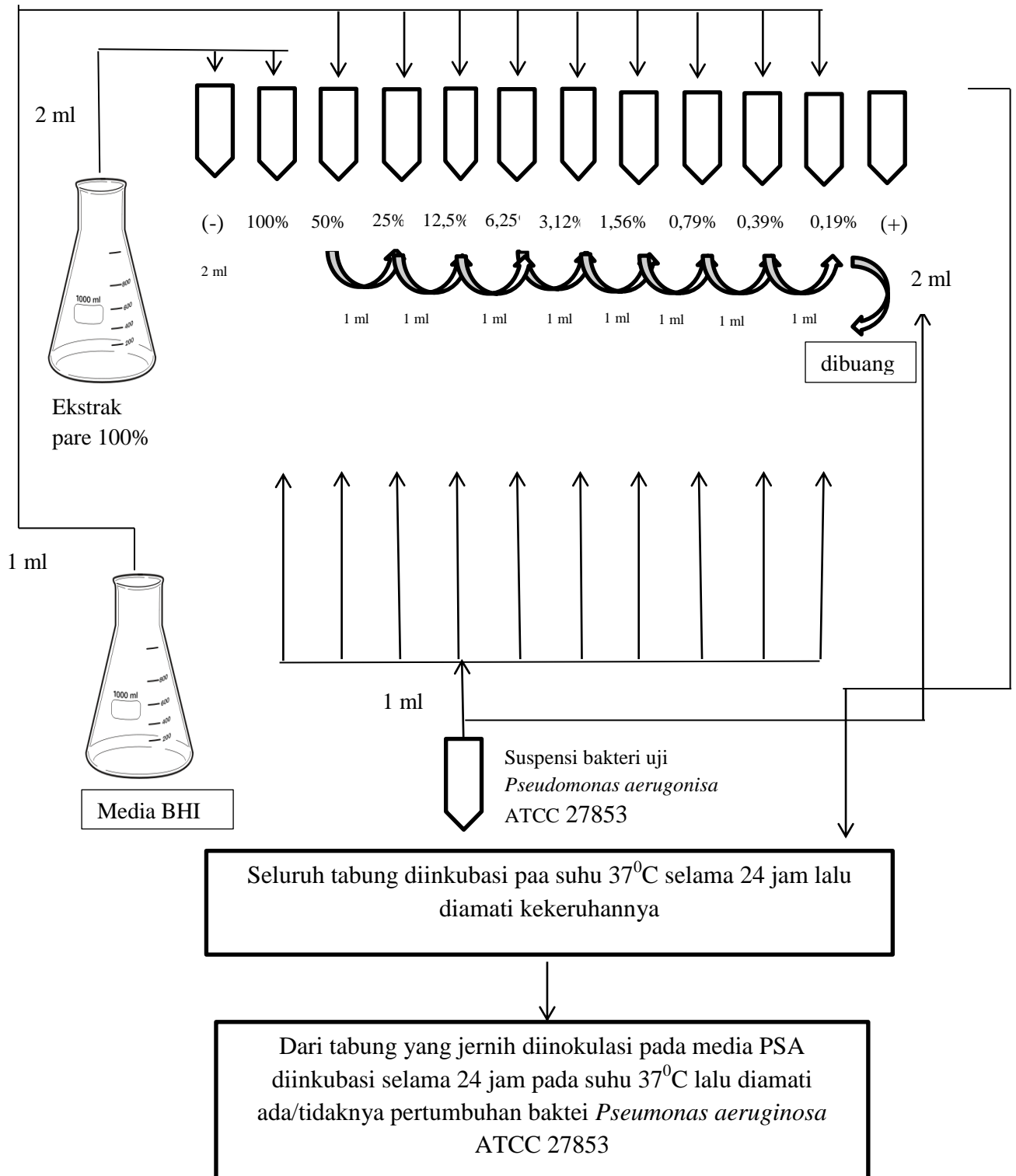
dengan analisis metode non parametrik, sedangkan jika data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji parametrik (ANOVA).



Gambar 4. Diagram skema pembuatan ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia L.*).



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi.



Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri ekstrak buah pare dengan metode dilusi.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 1. Determinasi tanaman buah pare (*Momordica charantia* L.)

Tujuan dilakukan determinasi tanaman yaitu untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian dengan cara mencocokkan ciri morfologi tanaman buah pare terhadap pustaka dan dibuktikan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hasil determinasi tanaman buah pare (*Momordica charantia* L.) dapat dilihat pada lampiran 1.

#### 2. Pengambilan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare yang diambil secara acak dengan memilih buah yang masih hijau segar. Pengambilan bahan buah pare dilakukan pada bulan Juli 2017 di daerah Kota Surakarta, Jawa Tengah.

#### 3. Pembuatan serbuk buah pare

Setelah buah pare terkumpul, selanjutnya dicuci sampai bersih dengan menggunakan air mengalir lalu ditiriskan. Proses ini dilakukan dengan tujuan untuk membersihkan buah pare dari kotoran yang menempel pada saat pengambilan bahan. Setelah buah pare ditiriskan kemudian diiris kira-kira setebal 1 cm lalu dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 40<sup>0</sup>C. Setelah buah pare kering kemudian digiling sehingga mendapatkan serbuk buah pare. Serbuk yang didapatkan lalu diayak menggunakan ayakan mesh 40. Mesh 40 artinya dalam bidang jaring seluas 1 inci terdapat 40 lubang. Penggunaan ayakan ini bertujuan untuk mendapatkan serbuk buah pare yang halus.

**Tabel 2. Persentase bobot kering terhadap bobot basah buah pare.**

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
13000	650	5

#### 4. Penetapan susut pengeringan serbuk buah pare

Penetapan susut pengeringan serbuk buah pare bertujuan untuk mengetahui batasan maksimal kandungan air yang terdapat dalam bahan (Depkes 2000). Penetapan susut pengeringan serbuk buah pare dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Digunakan *moisture balance* karena alat ini

memiliki tingkat keakuratan sampai 0,01% walaupun hanya dengan menggunakan sampel dengan bobot 0,05 gram sampai 10 gram. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah pare yang sudah dilakukan mendapatkan nilai rata-rata kadar lembab 3,06. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah pare dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk buah pare.**

No	Bobot serbuk (gram)	Kadar lembab (%)
1	2,00	3,00
2	2,00	3,20
3	2,00	3,00
Rata-rata		3,06

## 5. Pembuatan ekstrak etanol 70%

Pembuatan ekstrak etanol buah pare dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana karena proses pengerjaan yang mudah dengan biaya murah dan sering digunakan dalam penyarian untuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (Tiwari *et al* 2011). Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Digunakan etanol 70% karena pelarut ini dapat menyerap senyawa polar, semipolar, maupun non polar dan mampu mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri (Ansel 1989). Selain itu, penyarian dengan menggunakan etanol mempunyai keuntungan yaitu menghasilkan bahan aktif yang optimal, memperbaiki stabilitas bahan pelarut, dan mampu memberikan perlindungan dan kontaminasi mikroorganisme lain.

Serbuk buah pare dimasukkan kedalam botol berwarna gelap, hal ini bertujuan untuk mencegah supaya tidak terjadi reaksi katalis oleh cahaya sehingga tidak terjadi perubahan warna. Kemudian dimasukkan pelarut etanol 70% ke dalam botol coklat lalu ditutup supaya pelarut tidak menguap. Campuran pelarut dan serbuk didiamkan selama lima hari sambil digojog setiap 6 jam. Proses penggojogan ini bertujuan supaya pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, zat aktif dalam rongga sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam sel dan di luar sel, maka larutan dengan konsentrasi tinggi akan tersedak keluar. Proses ini dilakukan berulang agar terjadi keseimbangan konsentrasi antara di dalam sel dan di luar sel (Hargono 1986). Setelah lima hari,

kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang didapatkan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* supaya mendapatkan ekstrak kental.

**Tabel 4. Persentase bobot ekstrak buah pare.**

Serbuk buah pare (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen (%)
500	200	40

Perhitungan persentase bobot ekstrak buah pare bertujuan untuk membandingkan berat ekstrak yang diperoleh dengan berat serbuk awal (Depkes 2000). Rendemen yang didapatkan yaitu 40%.

## 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak buah pare

Hasil uji bebas etanol ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) dapat dilihat pada table 5.

**Tabel 5. Hasil uji bebas etanol ekstrak etanol buah pare.**

Hasil	Pustaka
Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol (Kurniawati 2015)

Hasil uji bebas etanol ekstrak buah pare menunjukkan bahwa ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) positif bebas etanol ditandai dengan tidak ada bau ester yang khas dari etanol pada saat pengujian. Uji bebas etanol dilakukan dengan tujuan untuk mencegah kesalahan dalam penelitian uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hal ini disebabkan karena etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

## 7. Identifikasi kandungan senyawa kimia buah pare

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia buah pare (*Momordica charantia* L.) dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia buah pare (*Momordica charantia* L.).**

Senyawa	Pustaka	Hasil	
		Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	Hasil positif apabila terbentuk endapan putih saat penambahan reagen Mayer dan terbentuk endapan coklat hitam saat penambahan pereaksi Dragondorf (Depkes 1980)	+	+
Flavonoid	Hasil positif apabila terbentuk warna merah, kuning, atau jingga dalam larutan amil alkohol (Depkes, 1995)	+	+
Saponin	Hasil positif apabila pada penambahan 1 tetes HCl buih tidak hilang (Depkes RI, 1977)	+	+
Tanin	Hasil positif apabila terbentuk warna ungu atau biru atau warna hitam setelah penambahan $\text{FeCl}_3$ 5%	+	+

Identifikasi kandungan senyawa kimia terhadap ekstrak dan serbuk buah pare dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat pada buah pare yang akan digunakan sebagai bahan penelitian. Dari hasil identifikasi yang dapat dilihat pada tabel 6 dapat disimpulkan bahwa buah pare mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Kandungan tersebut diduga mempunyai aktivitas antibakteri. Senyawa kimia yang terkandung dalam buah pare ada yang bersifat polar, semipolar dan non polar. Alkaloid merupakan senyawa semipolar, sedangkan senyawa flavonoid, saponin dan tanin termasuk senyawa polar (Haris 2011).

Prinsip identifikasi kandungan senyawa alkaloid adalah reaksi pengendapan yang terjadi setelah penambahan reagen Mayer dan Dragendorf yang dikarenakan adanya pergantian ligan (Sangi *et al* 2012). Pada penambahan reagen Mayer terbentuk endapan putih, hal ini dikarenakan adanya reaksi antara nitrogen alkaloid dengan ion logam  $K^+$  yang terdapat dari kalium tetraiodomerkuat (II) yang membentuk kompleks kalium-alkaloid (Marlina *et al* 2005). Pada uji kandungan senyawa dengan menggunakan pereaksi Dragendorf mendapatkan hasil terbentuknya endapan coklat kehitaman karena adanya nitrogen yang membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $K^+$  ion logam (Marliana *et al* 2005). Pada uji kandungan flavonoid didapatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga pada larutan amil alkohol. Hasil ini terbentuk karena senyawa flavonoid memiliki ikatan dengan gugus gula yang dapat menyebabkan flavonoid bersifat polar (Markham 1988).

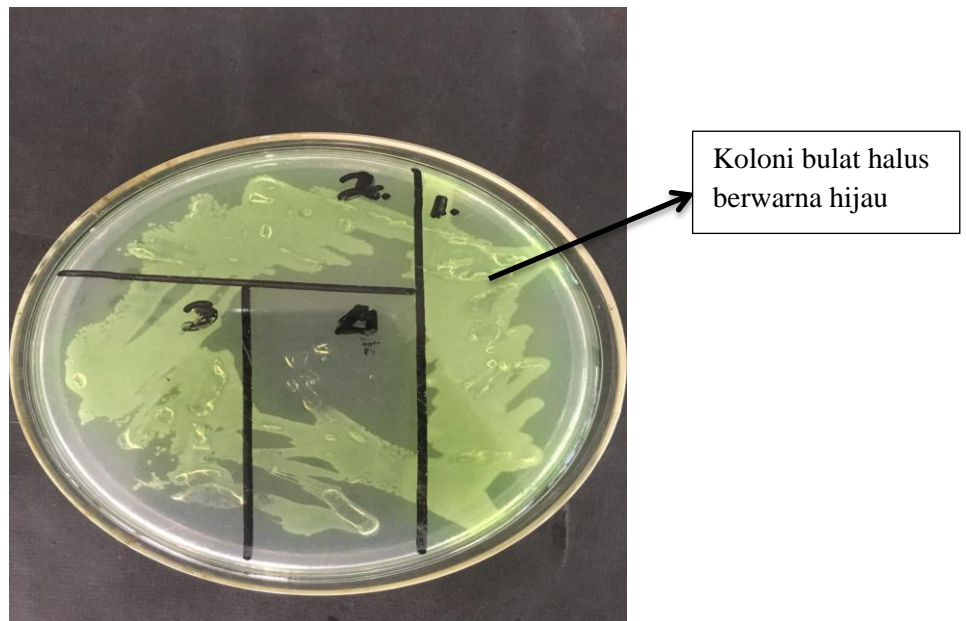
Pada uji kandungan senyawa saponin memberikan hasil positif yang ditunjukkan dengan tidak hilangnya buih setelah penambahan HCl. Hal ini disebabkan karena senyawa saponin memiliki dua gugus yaitu gugus hidrofilik dan hidrofobik. Pada saat dilakukan penggojogan gugus hidrofilik ini akan berikatan dengan air, sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga menghasilkan buih (Saifudin 2015). Uji tanin diperoleh hasil positif hal ini dikarenakan adanya reaksi yang terjadi sehingga terjadi perubahan warna berupa coklat kehitaman yang terbentuk karena terjadi kompleks dengan ion  $Fe^{3+}$  (Saefudin 2015).



Sebagai antibakteri senyawa-senyawa kimia tersebut memiliki mekanisme yang berbeda-beda. Senyawa alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri. Senyawa flavonoid sebagai antibakteri bekerja dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Saponin dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Zat aktif saponin permukaannya mirip detergen, akibatnya dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran yang akan mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Senyawa saponin terdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Tanin bekerja dengan menghambat reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk.

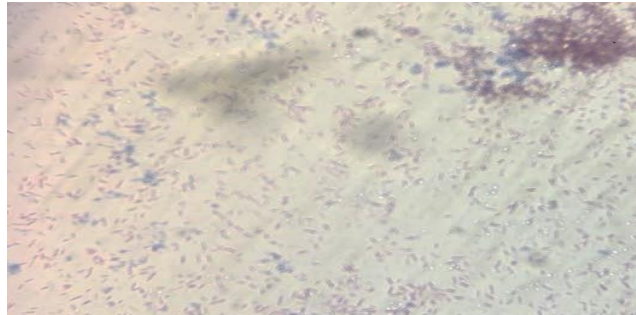
## **8. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

**8.1 Hasil identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode goresan.** Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan goresan dilakukan dengan cara menggoreskan bakteri pada media PSA kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Hasil identifikasi dari goresan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu akan terbentuk koloni bulat halus berwarna hijau. Warna hijau ini dihasilkan karena bakteri menghasilkan enzim piocyanin. Dari hasil identifikasi didapatkan terbentuknya koloni bulat halus berwarna hijau yang membuktikan bahwa bakteri yang akan dipakai untuk penelitian adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hasil identifikasi dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Hasil identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media PSA dengan teknik goresan.

**8.2 Hasil identifikasi dengan metode pewarnaan Gram.** Identifikasi dengan pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan jenis bakteri yang akan digunakan dalam penelitian. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri Gram negatif sehingga pada saat dilakukan pengecatan tidak dapat mempertahankan warna ungu. Hasil akan menunjukkan warna merah, karena warna ungu dari pengecatan akan luntur oleh alkohol. Lunturnya warna oleh alkohol dikarenakan rusaknya lapisan liposakarida pada dinding sel. Dari hasil pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menghasilkan sel bakteri berwarna merah dengan bentuk sel batang dan berkoloni tunggal. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Hasil identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27852 dengan metode pewarnaan Gram.

### 9. Identifikasi biokimia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia.**

Pengujian	Hasil	Pustaka
SIM	--+	--+
KIA	K/ K S(-)	K/ K S(-)
LIA	K/ K S(-)	K/ K S(-)
Citrat	+	+

Keterangan:

SIM : *Sulfida Indol Motility*

KIA : *Kliger Iron Agar*

LIA : *Lysine Iron Agar*

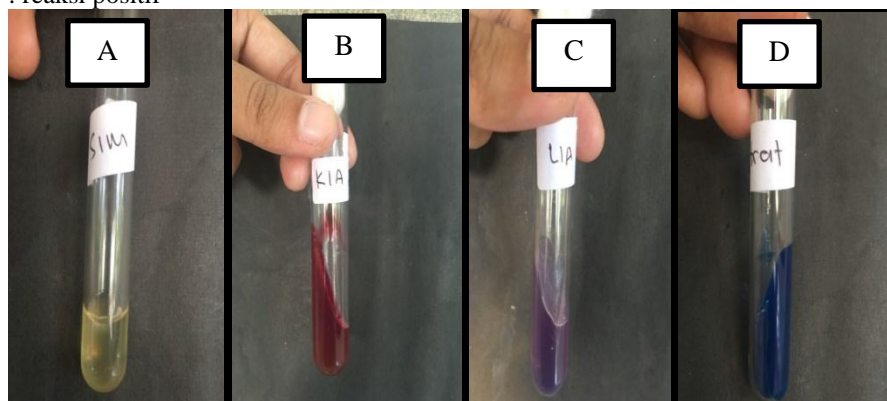
K : merah (pada media KIA)

A : terbentuk warna kuning

K : terbentuk warna ungu (pada media LIA)

(-) : reaksi negatif

(+) : reaksi positif



Gambar 9. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia.

Keterangan:

A : SIM

B : KIA

C : LIA

D : Citrat

Pada hasil identifikasi media SIM (*Sulfida Indol Motility*) menunjukkan hasil negatif (-) sulfida. Hal ini dikarenakan tidak terbentuk warna hitam pada media tersebut yang artinya bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfat ( $H_2SO_4$ ). Hasil indol negatif (-) pada saat penambahan Erlich A dan B membuktikan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak dapat membentuk indol dari triptopan sebagai sumber karbon, motilitas positif (+) dikarenakan pertumbuhan bakteri menyebar pada media SIM. Pada media KIA (*Kliger's Iron Agar*) di bagian lereng dan bagian dasar menunjukkan warna merah (K/ K) yang berarti bahwa bakteri tidak memfermentasi glukosa dan laktosa, sedangkan untuk sulfida hasilnya negatif (-) karena pada media tidak menghasilkan warna hitam. Hasil identifikasi dengan media LIA (*Lysin Iron Agar*) pada bagian lereng dan bagian dasar menunjukkan warna ungu (K/ K), sedangkan untuk sulfida hasilnya negatif (-) hal ini dikarenakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak dapat mendeaminasi lisin dan tidak menghasilkan  $H_2S$ . Pada tabung yang berisi media citrat menghasilkan warna biru yang artinya bahwa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menggunakan citrat sebagai sumber tunggal. Dari hasil identifikasi bakteri yang dilakukan secara biokimia yaitu dengan menggunakan media SIM, KIA, LIA, dan citrat dapat disimpulkan bahwa bakteri yang akan digunakan dalam penelitian adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

#### **10. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan dengan mengambil biakan murni sebanyak satu ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi media BHI, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}C$ . Setelah itu dihomogenkan menggunakan alat vortek lalu disetarakan kekeruhannya dengan standar *Mc Farland* 0,5 yang setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ ml, selanjutnya suspensi bakteri digunakan untuk dilakukan pengujian.

## 11. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol buah pare secara difusi

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) dilakukan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya zona bening. Zona bening merupakan zona dimana tidak terdapat pertumbuhan bakteri karena adanya aktivitas antibakteri. Adanya zona bening tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Ekstrak buah pare yang sudah didapatkan dilakukan uji terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan beberapa seri konsentrasi, yaitu 100%; 75%; 50%; dan 25%.

Pada pengujian ini digunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif digunakan sebagai pembandingan terhadap aktivitas antibakteri dari ekstrak yang akan diujikan. Digunakan antibiotik ini karena antibiotik adalah senyawa antibakteri yang dibuat standart (Reapinam 2007). Dimana kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik Ciprofloxasin 5 $\mu$ g. Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO 5%. Ciprofloxasin merupakan antibiotik golongan fluoroquinolon yang digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Mekanisme kerja dari antibiotik ini yaitu dengan cara menghambat DNA girase dan topoisomerase IV yang keduanya merupakan enzim yang sangat berperan dalam replikasi DNA bakteri.

Suspensi bakteri dibuat dan disesuaikan dengan kekeruhan *Mc Farland* 0,5 yang dianggap setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Bonang dan Koeswardono 1982). Metode difusi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan disk cakram. Cakram yang masih kosong direndam pada larutan uji selama kurang lebih 3 jam. Langkah yang

dilakukan pada uji difusi yaitu dengan mengulas suspensi bakteri pada cawan petri yang telah berisi media MHA kemudian didiamkan kurang lebih 3 menit supaya bakteri terdifusi pada media. Setelah itu diletakkan disk cakram yang telah berisi larutan uji kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.

**Tabel 8. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol buah pare secara difusi.**

Sampel	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
	Replikasi			
	I	II	III	
Ekstrak etanol 100%	22,2	24,3	24,0	23,5 ± 1,1
Ekstrak etanol 75%	21,2	22,3	22,0	21,9 ± 0,6
Ekstrak etanol 50%	17,7	19,0	17,7	18,1 ± 0,7
Ekstrak etanol 25%	16,6	15,7	15,0	15,8 ± 0,8
Kontrol (+)	28,7	28,3	26,7	27,9 ± 1,0
Kontrol (-) 5%	0	0	0	0

Keterangan :  
 Kontrol (+) : Ciprofloxasin 5µg  
 Kontrol (-) : DMSO 5%

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol buah pare dengan konsentrasi 100% memiliki aktivitas yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 27,9 mm. Dalam pengujian antibakteri metode difusi dengan terbentuk zona hambat berukuran kurang dari 5 mm maka dapat dikatakan bahwa penghambatan antibakteri dikategorikan lemah. Sedangkan apabila zona hambat yang terbentuk berukuran 5-10 mm maka dapat dikategorikan sedang, dan apabila terbentuk zona hambat berukuran 10-19 masuk kategori kuat dan 20 mm atau lebih dapat dikategorikan sangat kuat (Davis dan Stout 1971).

Dilihat dari data statistik ANOVA diameter zona hambat ekstrak buah pare terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ). Hasil tersebut berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada pengaruh perlakuan yang diberikan pada bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif, ekstrak buah pare 100%, 75%, 50%, dan 25% memberikan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Tabel *Homogeneous Subsets* adalah uji yang digunakan untuk mencari grup/ subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda

secara signifikan. Dilihat pada tabel menunjukkan bahwa diameter zona hambat antara kontrol negatif dengan kontrol positif dan ekstrak buah pare terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 memiliki perbedaan yang sangat nyata.

Pada uji *Tukey* menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki perbedaan yang nyata dibandingkan kontrol negatif, dan kelompok uji lainnya. Hal ini dikarenakan kontrol positif memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar dibandingkan dengan kontrol negatif dan kelompok uji lainnya.

## 12. Hasil pengujian antibakteri secara dilusi

Setelah dilakukan pengujian antibakteri dengan metode difusi, maka selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi. Pengujian dengan metode dilusi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Pada uji dilusi dilakukan terhadap ekstrak buah pare dengan konsentrasi paling aktif yang sebelumnya telah diuji dengan metode difusi. Konsentrasi yang digunakan pada uji dilusi dimulai dari 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,79%; 0,39%; 0,19%. Uji dilusi juga digunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan yaitu bakteri yang diujikan, dan kontrol negatif yang digunakan adalah ekstrak etanol buah pare. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah pare dengan metode dilusi.**

No	Konsentrasi (%)	Replikasi		
		I	II	III
1	100	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	+	+	+
4	12,5	+	+	+
5	6,25	+	+	+
6	3,125	+	+	+
7	1,56	+	+	+
8	0,7	+	+	+
9	0,39	+	+	+
10	0,19	+	+	+
11	Kontrol (+)	+	+	+
12	Kontrol (-)	-	-	-

Keterangan :  
 (+) : terdapat pertumbuhan bakteri  
 (-) : tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dengan dinilai Konsentrasi Hambat Minimum yang dapat dilihat dari kekeruhan pada tabung setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Namun kekeruhan pada tabung tidak dapat diamati dengan kasat mata karena adanya pengaruh dari warna dari ekstrak sehingga menyebabkan warnanya menjadi coklat gelap. Untuk mengetahui nilai KBM maka dilanjutkan dengan penggoresan dari pengenceran dilusi pada media PSA, dimana nilai KBM ditentukan dari konsentrasi terendah yang tidak ditumbuhi bakteri pada media. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri pada media berupa koloni bulat berwarna hijau. Dari hasil penggoresan didapatkan hasil bahwa konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu konsentrasi 50%. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Komala dkk (2012) ekstrak etanol buah pare memiliki nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) 60% terhadap bakteri *Salmonella typhi*, dimana pada konsentrasi 60% tidak terdapat pertumbuhan bakteri.



## **BAB V**

### **KSEIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol 70% buah pare (*Momordica charantia* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) dengan konsentrasi 75% merupakan ekstrak yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, Konsentrasi hambat minimum (KHM) tidak dapat diamati dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) dalam menghambat dan membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah konsentrasi 50%.

#### **B. Saran**

Pertama perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak buah pare terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Kedua perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari ekstrak buah pare dikombinasikan dengan bahan alam lainnya.

Ketiga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membuat sediaan dari ekstrak buah pare kemudian diujikan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada hewan uji dengan metode *in vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bonang G, Koeswardono ES.1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Gramedia.
- Champbell. 2002. *Tanaman Pare*. Jakarta: Erlangga. 197.
- Dasuki UA. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung..
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan R.I. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan R.I. 1980. *Materia Medika Indonesia*, Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan R.I. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlmm 1-15.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan R.I 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 4-11, 25-26.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan R.I. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 103-113.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan R.I. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Entjang. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan*. Bandung: Citra Aditya Bakti.
- Firdausi PM, Hastuti US, Suarsini E. 2012. Daya antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kecil (*Manikara Kauki L Dubard*) Terhadap Bakteri *Erscherechia coli*. Malang: SMK Negeri 1 Pasuruan dan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang.
- Goodman, Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Penerjemah: Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB. Bandung: Buku Kedokteran. Terjemahan dari: *Basic Pharmacology Therapy*. Edisi 10, Vol.2, 48: 1247-1253..
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal 106-107.

- Harbone JB. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasih P, Iwang S, penerjemah; Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*. Hlm 7-8.
- Hargono D. 1986. *Sediaan Galenik dan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Penerbit Direktorat Jendral POM.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII. Jakarta: Salemba Medika 317-327,371-376.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika. 315-326,352-360.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, 2007. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan, Staphylococcus aureus*. Bonang G, penerjemah. Jakarta: Buku Kedokteran. Terjemahan dari: *Review of Medical Microbiology*.
- Komala O, Sari BL, Sakinah N. 2012. Uji efektivitas ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L) sebagai antibakteri *Salmonella typhi*. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi* (1): 36-41.
- Kurniawati E. 2015. Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Wiyata* 2: 83-90.
- Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Kosasih Padmawinata. Penerjemah; Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Techniques of Flavonoid Identification*.
- Marliana SD, Seryanti V, Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi*, 3(1):26-31.
- Mayasari, Evita. 2016. *Pseudomonas; Karakter, Infeksi, dan Penanganan*. <http://library.usu.ac.id>
- Mwambete KD, 2009. The *in vitro* antimicrobial activity of fruit and leaf crude extracts of *Momordica charantia*: A Tanzania medicinal plan. *African Health Sciences* 9 (1): 34-39.
- Neal MJ. 2006. *At a Glance Farmakologi Medis*. Edisi Kelima. Jakarta : Erlangga. pp. 85.

- Potter PA, Perry AG. 2005. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan : Konsep, Proses, dan Prektik*. Edisi 4. Volume 2. Alih Bahasa : Renata Kumalasari, dkk. Jakarta : EGC.
- Putra A. 2012. *Hubungan Antara Tingkat Pengetahuan Ibu Tentang Demam Tifoid Terhadap Kebiasaan Jajan Anak Sekolah Dasar*. Jogjakarta: D-Medika.
- Rachmawati N, Nusyamsi. 2015. Efek antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media pembenihan difusi. *Medika Tadulako*. 2 (1) : 1-9.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. 107, 118, 201-207, 295. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Reapinam E. 2007. Kajian aktifitas antimikroba ekstrak kulit kayu mesoyi (*Cryptocaria massoia*) terhadap bakteri patogen dan pembusuk makanan. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Ternologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Edisi ke-VI Padmawinata K, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plants*.
- Saifudin Z. 2015. Efektifitas antibakteri ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Motorik*. 10 (20): 21-30.
- Salle AJ, 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi* 5th Edition. New York: MC Graw Hill Book Company Inc. 414-418, 719-739.
- Sangi MS, Momuat LI, Kumaunang M. 2012. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2): 127-134.
- Siswandono, Soekardjo. 2000. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press. Hal:10-14.
- Soedarto. 2007. *Sinopsis Kedokteran Tropis*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Subahar T, Tim Lentera. 2004. *Khasiat dan Manfaat Pare, Si Pahit Pembasmi Penyakit*. Indonesia: Agomedia Pustaka.
- Suriawiria U. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta : Papar Sinar Sinanti.
- Suryono B. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Jaya.

- Suwarto. 2010. *Budidaya Tanaman Unggulan Perkebunan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Swamy, Jayaveera. 2007. *Antimicrobial Properties of Momordica cymbalaria* Hook. F. *Pharmacologyonline* 3 : 505-510.
- Talaro KP. 2008. *Foundation in Microbiology : Basic Principles*. Sixth Edition. New York: Mc Graw Hin.
- Tambayong. 2002. *Anatomi Fisiologi Untuk Keperawatan*. Jakarta : EGC.
- Taylor L. 2002. *Technical Data Report For Bitter Melon From Herbal Secrets of the Rainforest 2nd edition*. Sage Press. Austin. Hal: 2
- Tiwari P, Bimleshk, Mandeep K, Gurpreetk, Harleen K. 2011. Skringing Fitokimia dan ekstraksi. *International Pharmaceutical Sciencia* Jan-Maret 2011: Vol 1 Halaman 113-116.
- Volk, Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima Jilid Dua. Jakarta: Erlangga.
- Waluyo L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM Press. Hal 1-9.
- Wijayakusuma M. 2000. *Kromatografi Teori Dasar*. Yogyakarta: Kimia Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman buah pare (*Momordica charantia* L.)**


**LABORATORIUM BIOLOGI**  
**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN**  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**  
 Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura Surakarta 57102.Telp. (0271) 717417 ext 171

---

**SURAT KETERANGAN**  
No: 731/A.E-I/LAB.BIO/I/2018

Yang bertanda tangan di bawah ini atas nama Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta menerangkan bahwa:

Nama : Yuliana Trisnani  
 Nim : 20144142A  
 Program Studi : S1 Farmasi  
 Fakultas : Farmasi  
 Perguruan Tinggi : Universitas Setia Budi  
 Keperluan : Skripsi

Menyatakan bahwa mahasiswa tersebut telah mendeterminasikan Tanaman **Pare (*Momordica charantia* L.)**. Pendeterminasian dilakukan pada:

Hari : Senin  
 Tanggal : 15 Januari 2018  
 Tempat : Laboratorium Biologi

Demikian surat keterangan ini kami buat, harap dipergunakan dengan semestinya.

Surakarta, 15 Januari 2018

Mengetahui,  
 Kepala Laboratorium Biologi, Penanggung jawab determinasi,




Rina Astuti, M.Pd  
 NIK: 110.1653

Siti Kartika Sari, M.Pd.

**Pare (*Momordica charantia* L.)**

**Kunci Determinasi :**

1b, 2a, 27a, 28b, 29b, 30b, 31b, .... → Familia : Cucurbitaceae  
 1a, 2b, 3b, .... → Genus : *Momordica*  
 → Species : *Momordica charantia* L.

**Klasifikasi :**

Divisio : Spermatophyta  
 Sub Divisio : Angiospermae  
 Classis : Dicotyledoneae  
 Sub Classis : Sympetales  
 Ordo : Cucurbitales  
 Familia : Cucurbitaceae  
 Genus : *Momordica*  
 Species : *Momordica charantia* L.

**Tabel Deskripsi tanaman *Momordica charantia* L.:**

Keterangan	Deskripsi
Akar	tanaman menjalar atau memanjat dengan akar tunggang
Batang	Batang bersegi, panjang 2 – 5 m, yang muda berambut cukup rapat, terdapat alat pembelit.
Daun	Daun berbagi 5 – 9 dalam, bangun lingkaran dengan pangkal berbentuk jantung, nervatio menjari, permukaan bawah daun bertrikoma dengan nervatio yang jelas, sulur panjangnya $\pm 20 - 30$ cm mengeper, tangkai $\pm 5$ cm, panjang helaian dari basis sampai apex $\pm 9$ cm, lebar helaian $\pm 11$ cm, tekstur lunak, duduk tersebar berseling, apex folii membulat, basis folii bertoreh.
Bunga	Tangkai bunga panjang $\pm 8$ cm dekat pangkalnya dengan daun pelindung bentuk jantung hingga bentuk ginjal $\pm 1$ cm dengan jarak ke pangkal $\pm 1,5$ cm, berkelamin tunggal, bertrocama, ♀



	aktinomorf terdapat stamodia serta 5 sepala dan 5 petala serta 3 kepala putik dengan bakal buah bentuk paruh panjang yang tenggelam, ♂ aktinomorf dengan 5 sepala yang saling berlekatan bentuk lonceng dan berlekatan dengan 5 petala kuning yang saling berepasan serta memiliki 3 stamen yang bersatu pada bagian kepala sari.
Buah	Buah buni memanjang bentuk spul <i>cylindris</i> , dengan 8 -10 rusuk memanjang, berjerawat tak beraturan, bila masak berwarna oranye.
Biji	Biji coklat kekuningan pucat, bentuk gepeng memanjang.
Manfaat	Sering dimanfaatkan sebagai tanaman sayur.

**Sumber :**

Becker, D.Sc , C.A. and Van den Brink Jr, PH.D., R.C. Bakhuizen. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only)* Vol I. Groningen-The Netherlands:Wolters-Noordhoff N.V.

Tjitrosoepomo, G. 2007. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta : UGM Press.

Steenis, C.G.G.J. van. 2005. *Flora*. Jakarta : PT. Pradnya Paramita.

**Lampiran 2. Proses pembuatan serbuk buah pare**



Buah pare kering



Serbuk buah pare

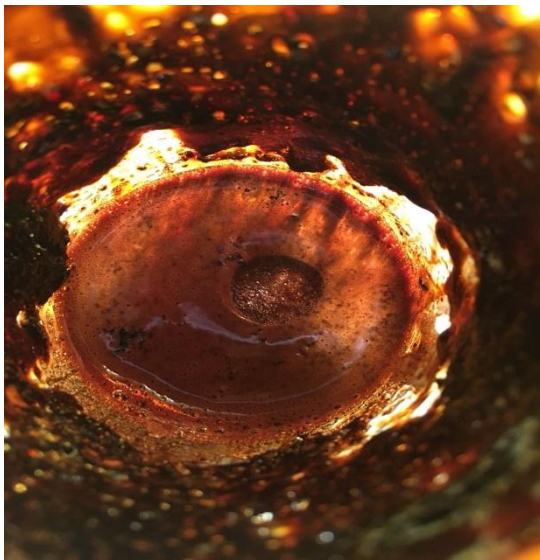
**Lampiran 3. Proses pembuatan ekstrak buah pare dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%**



Maserasi pada botol gelap

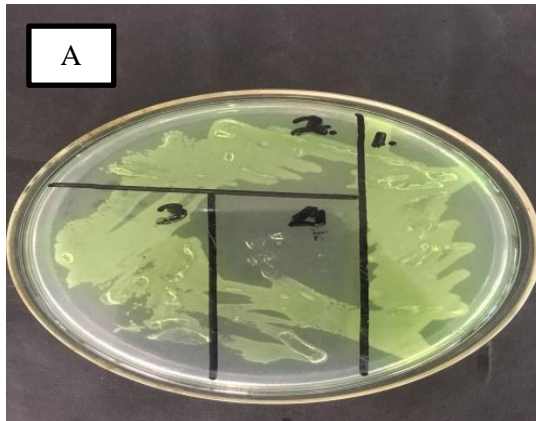


Pembuatan ekstrak dengan alat *rotary evaporator*

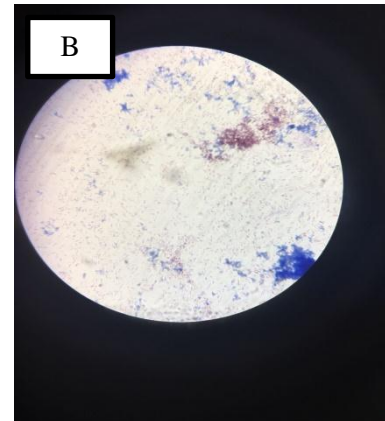


Ekstrak kental buah pare

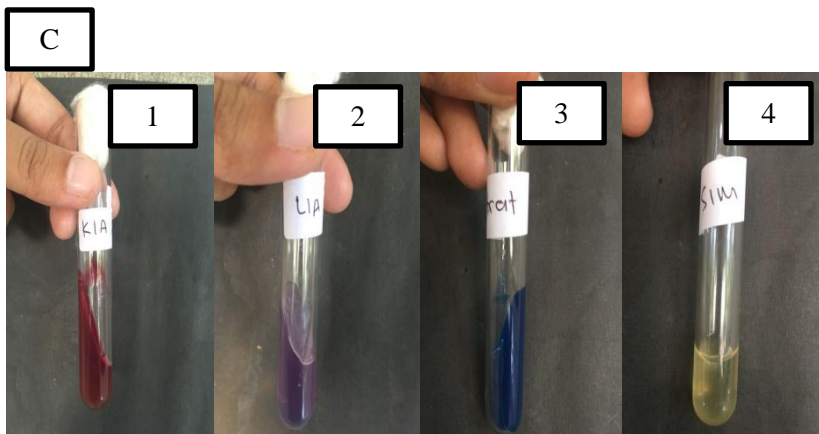
**Lampiran 4. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara makroskopis (A), mikroskopis (B), biokimia (C)**



Hasil identifikasi bakteri dengan digores pada media PSA

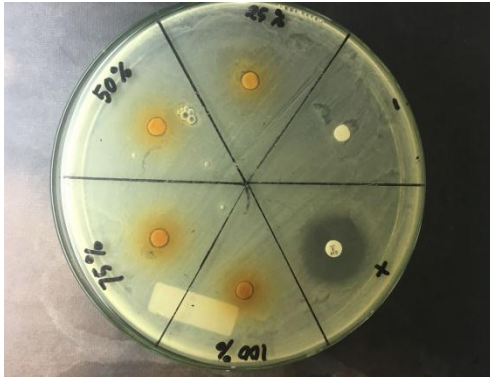


Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan pewarnaan gram

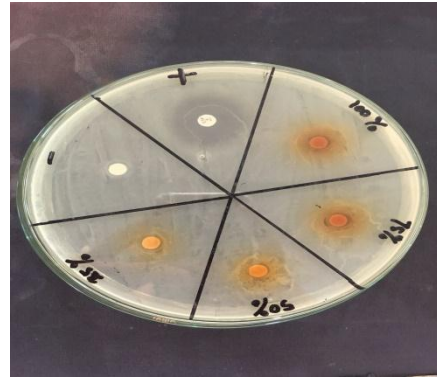


Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara biokimia dengan media KIA (1), LIA (2), Citrat (3), dan SIM (4)

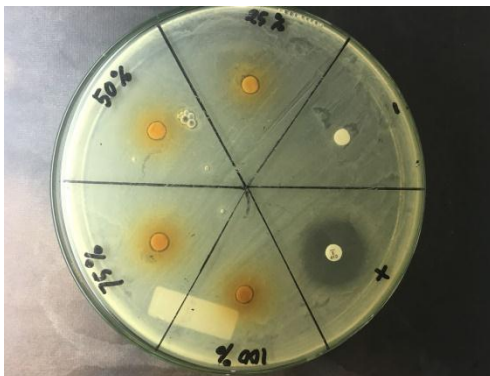
**Lampiran 5. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah pare terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode difusi**



Hasil uji difusi replikasi 1

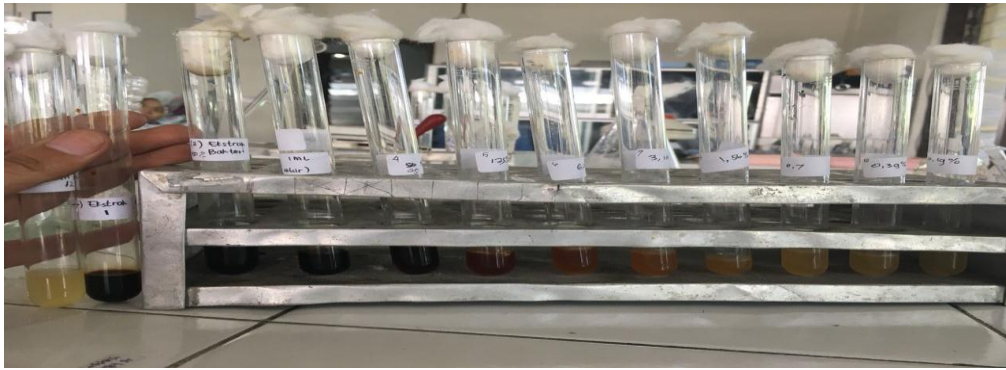


Hasil uji difusi replikasi 2

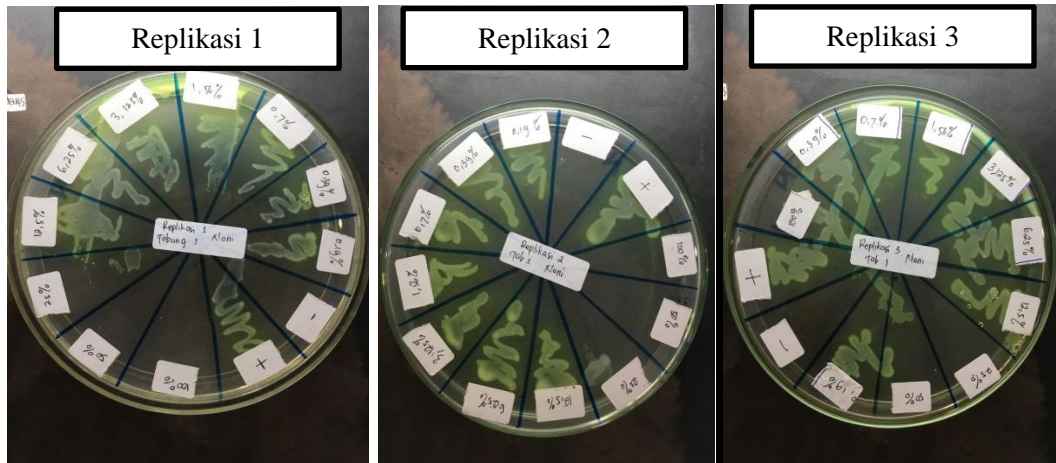


Hasil uji difusi replikasi 3

**Lampiran 6. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah pare terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode dilusi**



Hasil uji antibakteri metode dilusi replikasi pertama



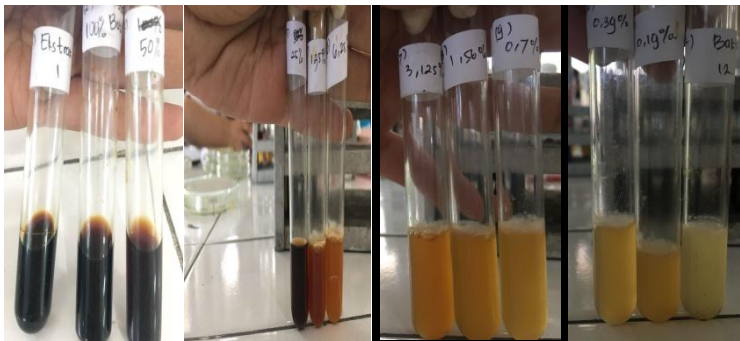
Hasil goresan *Pseudomonas aeruginosa* pada media PSA replikasi pertama



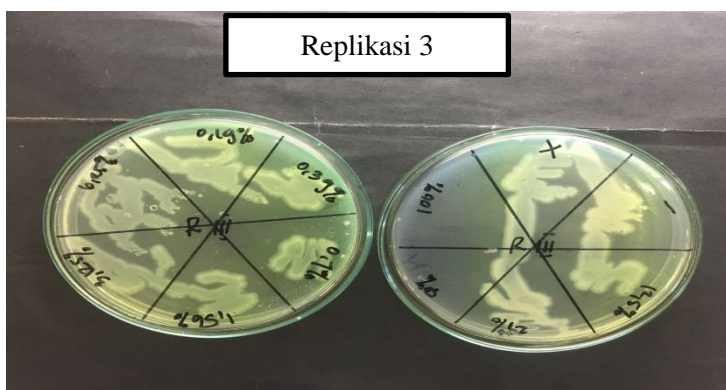
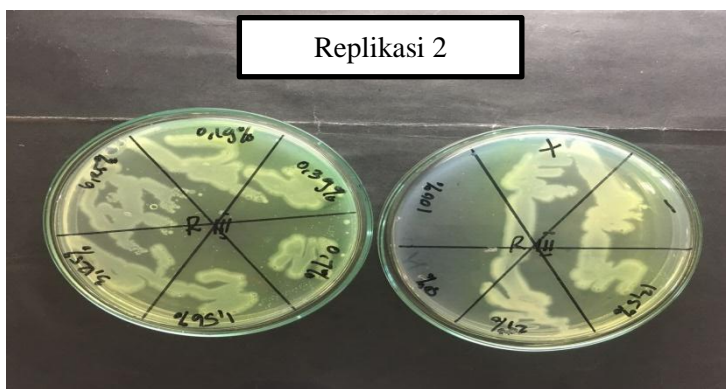
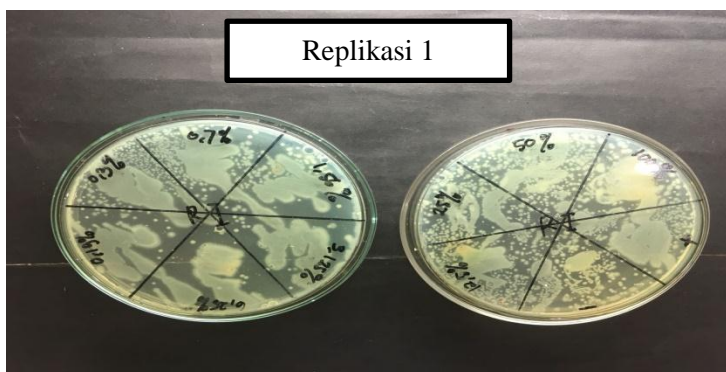
Hasil uji antibakteri metode dilusi replikasi kedua



Hasil goresan *Pseudomonas aeruginosa* pada media PSA replikasi kedua

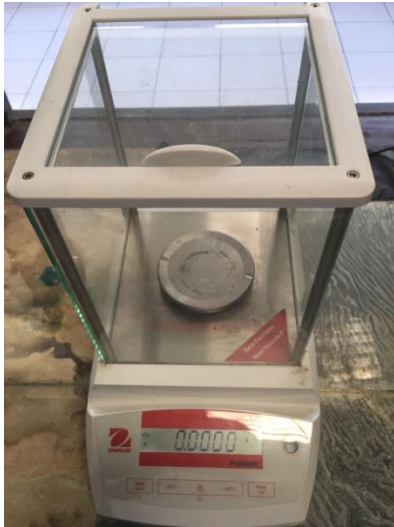


Hasil uji antibakteri metode dilusi replikasi ketiga



Hasil goresan *Pseudomonas aeruginosa* pada media PSA replikasi ketiga



**Lampiran 7. Alat yang digunakan dalam penelitian**

Timbangan analitik



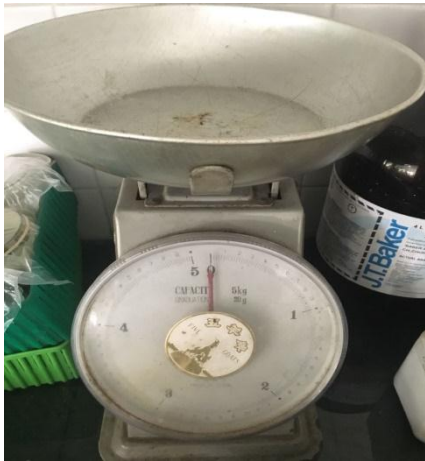
*rotary evaporator*



Botol gelap



Oven untuk menguapkan ekstrak buah pare



Timbangan



Oven untuk mensterilkan alat



Vortek



Incubator

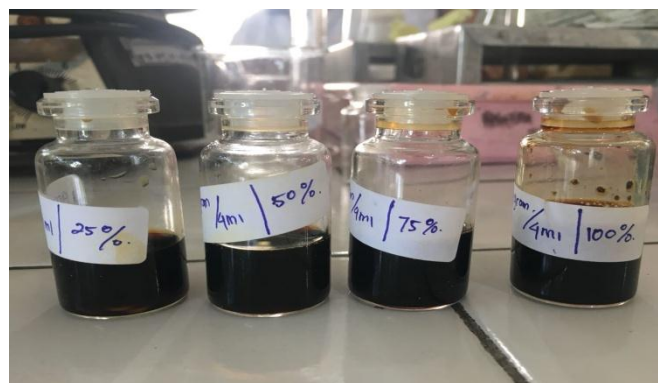
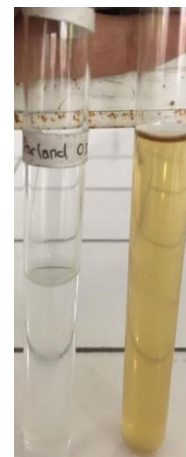
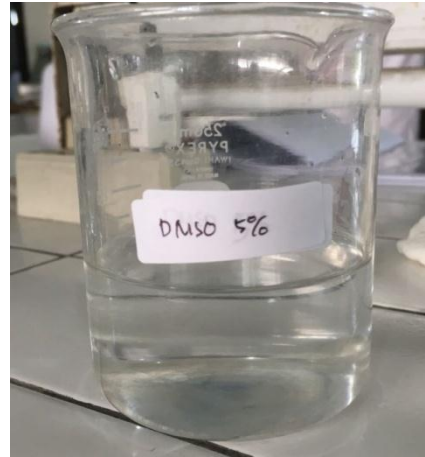


Mikroskop



*Moisture balance*

### Lampiran 8. Bahan yang digunakan dalam penelitian



### Lampiran 9. Hasil uji kandungan senyawa kimia

- Ekstrak



Alkaloid dengan reagen Mayer



Alkaloid dengan reagen Dragendorff



Saponin

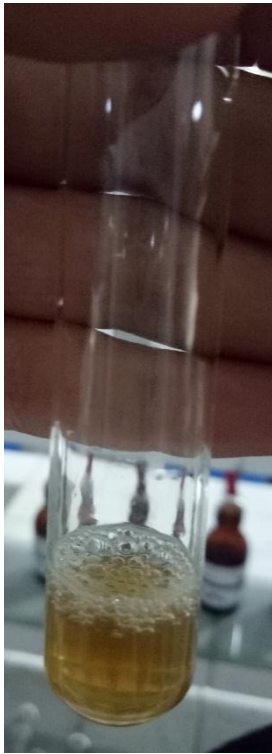


Tannin



Flavonoid

- Serbuk



Saponin



flavonoid



Alkaloid



Tanin

**Lampiran 10. Hasil perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah**

<b>Bobot basah (gram)</b>	<b>Bobot kering (gram)</b>	<b>Rendemen (% b/b)</b>
<b>13000</b>	<b>650</b>	<b>5</b>

$$\text{Perhitungan presentase bobot kering} = \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{650}{13000} \times 100\%$$

$$= 5\%$$

**Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak etanol buah pare**

Serbuk buah pare (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen (%)
500	200	40

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\%$$

$$= \frac{200}{500} \times 100\%$$

$$= 40\%$$



**Lampiran 12. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol buah pare dengan metode difusi**

**1. Konsentrasi 100%**

$$100\% = \frac{100 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{100000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} \frac{4 \text{ g}}{4 \text{ ml}}$$

Menimbang 4 g ekstrak dilarutkan dalam DMSO 5% sampai 4 ml.

**2. Konsentrasi 75%**

$$75\% = \frac{75 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{75000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{750 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} \frac{3 \text{ g}}{4 \text{ ml}}$$

Menimbang 3 g ekstrak dilarutkan dalam DMSO 5% sampai 4 ml.

**3. Konsentrasi 50%**

$$50\% = \frac{50 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{50000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{500 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} \frac{2 \text{ g}}{4 \text{ ml}}$$

Menimbang 2 g ekstrak dilarutkan dalam DMSO 5% sampai 4 ml.

**4. Konsentrasi 25%**

$$25\% = \frac{25 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{25000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{250 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} \frac{1 \text{ g}}{4 \text{ ml}}$$

Menimbang 1 g ekstrak dilarutkan dalam DMSO 5% sampai 4 ml.

### Lampiran 13. Formulasi dan pembuatan media

#### 1. Formulasi dan pembuatan media *Brain Heart Infusion* (BHI)

Infus dari otak sapi .....	200,0 gram
Infus dari hati sapi.....	250,0 gram
Protease peptone.....	10,0 gram
Dekstrosa .....	2,0 gram
NaCl .....	5,0 gram
Dinatrium fosfate .....	5,0 gram
Aquadestilata.....	ad 1000,0 ml
Ph .....	7,4

Semua bahan dilarutkan dalam aquades sebanyak 1000 ml kemudian dipanaskan sampai larut sempurna, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

#### 2. Formulasi dan pembuatan media *Pseudomonas Selektiv Agar* (PSA)

Peptone from gelatin .....	20 gam
Magnesium chloride.....	1,4 gram
Potasium sulfate .....	10 gram
N-cetyl-N,N,N,N-trimethylammonium bromide .....	0,5 gram
Agar-agar.....	13,6 gram
pH .....	7,2 ± 0,2

Semua reagen dilarutkan ke dalam aquadest sebanyak 1000 ml dan dipanaskan sampai larut sempurna. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit. Didinginkan pada suhu 50<sup>0</sup>C dan ditambahkan gliseryn kemudian dituangkan dalam cawan petri (Depkes, 1994).

#### 3. Formulasi dan pembuatan media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Beef, dehydrated infusion from	300,0 gram
Casein hydrolysate .....	17,5 gram
Starch .....	1,5 gram
Agar-agar.....	17,0 gram
Aquadest.....	ad 1000 ml

Semua bahan dilarutkan dalam aquadest sampai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan sampai larut sempurna, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

4. Formulasi dan pembuatan media *Sulfida Indol Motility* (SIM)

Pepton from casein .....	20 gram
Pepton from meat .....	6 gram
Ammonium Iron (II) citrate .....	0,2 gram
Sodium thiosulfate .....	0,2 gram
Agar-agar.....	0,2 gram
pH .....	7,3 ± 0,1
Aquadest.....	ad 1000 ml

Semua bahan dilarutkan dalam aquadest sampai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan sampai larut sempurna, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

5. Formulasi dan pembuatan media *Kliger Iron Agar* (KIA)

Meat extract.....	3,0 gram
Yeast extract.....	3,0 gram
Peptone from casein .....	15,0 gram
Peptone from meat .....	5,0 gram
Lactose .....	10,0 gram
D(+) glucose.....	1,0 gram
Ammonium iron (III) citrate .....	0,5 gram
Sodium chloride .....	5,0 gram
Sodium thiosulfate .....	0,5 gram
Phenol red .....	0,024 gram
Agar-agar.....	12,0 gram
pH .....	7,4 ± 0,1
Aquadest.....	ad 1000 ml

Semua bahan dilarutkan dalam aquadest sampai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan sampai larut sempurna, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

6. Formulasi dan pembuatan media *Lysine Iron Agar* (LIA)

Peptone from meat .....	5,0 gram
Yeast extract.....	3,0 gram
D(+) glucose.....	1,0 gram
L-lysine monohydrochloride.....	10,0 gram
Sodium thiosulfate .....	0,04 gram
Ammonium iron (III) citrate .....	0,5 gram
Bromocresol purple.....	0,02 gram
Agar-agar.....	12,5 gram
pH .....	6,7 ± 0,1
Aquadest .....	ad 1000ml

Semua bahan dilarutkan dalam aquadest sampai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan sampai larut sempurna, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

7. Formulasi dan pembuatan media Citrat

Ammonium hydrogen fosfat .....	1,0 gram
DI- potassium hydrogen fosfate .....	1,0 gram
Sodium chloride .....	5,0 gram
Magnesium sulfat.....	0,2 gram
Bromo thymol blue .....	0,08 gram
Agar-agar.....	12,5 gram
pH .....	7,4
Aquadest.....	ad 1000 ml

Semua bahan dilarutkan dalam aquadest sampai volume 1000 ml, kemudian dipanaskan sampai larut sempurna, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit (Bridson, 1998).

**Lampiran 14. Hasil analisis *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*  
dengan SPSS 17**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter	18	17.8556	9.15033	.00	28.70

***One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test***

		Diameter
	N	18
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	17.8556
	Std. Deviation	9.15033
Most Extreme Differences	Absolute	.211
	Positive	.141
	Negative	-.211
Kolmogorov-Smirnov Z		.894
Asymp. Sig. (2-tailed)		.400

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### Lampiran 15. Hasil analisis Test of Homogeneity of Variances dengan SPSS

17

#### Descriptives

##### Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Ciprofloxacin	3		
DMSO 4%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
ekstrak buah pare 100%	3	23.5000	1.13578	.65574	20.6786	26.3214	22.20	24.30
ekstrak buah pare 75%	3	21.8333	.56862	.32830	20.4208	23.2459	21.20	22.30
ekstrak buah pare 50%	3	18.1333	.75056	.43333	16.2689	19.9978	17.70	19.00
ekstrak buah pare 25%	3	15.7667	.80208	.46308	13.7742	17.7591	15.00	16.60
Total	18	17.8556	9.15033	2.15675	13.3052	22.4059	.00	28.70

#### Test of Homogeneity of Variances

##### Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.785	5	12	.068

#### ANOVA

##### Diameter

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1415.504	5	283.101	431.118	.000
Within Groups	7.880	12	.657		
Total	1423.384	17			

**Lampiran 16. Hasil analisis Multiple Comparisons dengan SPSS 17**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable:diameter

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Ciprofloxacin	DMSO 4%	27.90000*	.66165	.000	25.6776	30.1224
		ekstrak buah pare 100%	4.40000*	.66165	.000	2.1776	6.6224
		ekstrak buah pare 75%	6.06667*	.66165	.000	3.8442	8.2891
		ekstrak buah pare 50%	9.76667*	.66165	.000	7.5442	11.9891
		ekstrak buah pare 25%	12.13333*	.66165	.000	9.9109	14.3558
	DMSO 4%	Ciprofloxacin	-27.90000*	.66165	.000	-30.1224	-25.6776
		ekstrak buah pare 100%	-23.50000*	.66165	.000	-25.7224	-21.2776
		ekstrak buah pare 75%	-21.83333*	.66165	.000	-24.0558	-19.6109
		ekstrak buah pare 50%	-18.13333*	.66165	.000	-20.3558	-15.9109
		ekstrak buah pare 25%	-15.76667*	.66165	.000	-17.9891	-13.5442
	ekstrak buah pare 100%	Ciprofloxacin	-4.40000*	.66165	.000	-6.6224	-2.1776
		DMSO 4%	23.50000*	.66165	.000	21.2776	25.7224
		ekstrak buah pare 75%	1.66667	.66165	.193	-.5558	3.8891
		ekstrak buah pare 50%	5.36667*	.66165	.000	3.1442	7.5891
		ekstrak buah pare 25%	7.73333*	.66165	.000	5.5109	9.9558
	ekstrak buah pare 75%	Ciprofloxacin	-6.06667*	.66165	.000	-8.2891	-3.8442
		DMSO 4%	21.83333*	.66165	.000	19.6109	24.0558
		ekstrak buah pare 100%	-1.66667	.66165	.193	-3.8891	.5558
		ekstrak buah pare 50%	3.70000*	.66165	.001	1.4776	5.9224
		ekstrak buah pare 25%	6.06667*	.66165	.000	3.8442	8.2891
ekstrak buah pare 50%	Ciprofloxacin	-9.76667*	.66165	.000	-11.9891	-7.5442	
	DMSO 4%	18.13333*	.66165	.000	15.9109	20.3558	
	ekstrak buah pare 100%	-5.36667*	.66165	.000	-7.5891	-3.1442	
	ekstrak buah pare 75%	-3.70000*	.66165	.001	-5.9224	-1.4776	
	ekstrak buah pare 25%	2.36667*	.66165	.035	.1442	4.5891	
ekstrak buah pare 25%	Ciprofloxacin	-12.13333*	.66165	.000	-14.3558	-9.9109	
	DMSO 4%	15.76667*	.66165	.000	13.5442	17.9891	
	ekstrak buah pare 100%	-7.73333*	.66165	.000	-9.9558	-5.5109	
	ekstrak buah pare 75%	-6.06667*	.66165	.000	-8.2891	-3.8442	
	ekstrak buah pare 50%	-2.36667*	.66165	.035	-4.5891	-.1442	

## Lanjutan.....

Bonferro ni	Ciprofloxacin	DMSO 4%	27.90000*	.66165	.000	25.4857	30.3143	
		ekstrak buah pare 100%	4.40000*	.66165	.000	1.9857	6.8143	
		ekstrak buah pare 75%	6.06667*	.66165	.000	3.6524	8.4809	
		ekstrak buah pare 50%	9.76667*	.66165	.000	7.3524	12.1809	
		ekstrak buah pare 25%	12.13333*	.66165	.000	9.7191	14.5476	
		DMSO 4%	Ciprofloxacin	-27.90000*	.66165	.000	-30.3143	-25.4857
			ekstrak buah pare 100%	-23.50000*	.66165	.000	-25.9143	-21.0857
			ekstrak buah pare 75%	-21.83333*	.66165	.000	-24.2476	-19.4191
			ekstrak buah pare 50%	-18.13333*	.66165	.000	-20.5476	-15.7191
			ekstrak buah pare 25%	-15.76667*	.66165	.000	-18.1809	-13.3524
		ekstrak buah pare 100%	Ciprofloxacin	-4.40000*	.66165	.000	-6.8143	-1.9857
			DMSO 4%	23.50000*	.66165	.000	21.0857	25.9143
			ekstrak buah pare 75%	1.66667	.66165	.404	-.7476	4.0809
			ekstrak buah pare 50%	5.36667*	.66165	.000	2.9524	7.7809
			ekstrak buah pare 25%	7.73333*	.66165	.000	5.3191	10.1476
		ekstrak buah pare 75%	Ciprofloxacin	-6.06667*	.66165	.000	-8.4809	-3.6524
			DMSO 4%	21.83333*	.66165	.000	19.4191	24.2476
			ekstrak buah pare 100%	-1.66667	.66165	.404	-4.0809	.7476
			ekstrak buah pare 50%	3.70000*	.66165	.002	1.2857	6.1143
			ekstrak buah pare 25%	6.06667*	.66165	.000	3.6524	8.4809
		ekstrak buah pare 50%	Ciprofloxacin	-9.76667*	.66165	.000	-12.1809	-7.3524
			DMSO 4%	18.13333*	.66165	.000	15.7191	20.5476
			ekstrak buah pare 100%	-5.36667*	.66165	.000	-7.7809	-2.9524
			ekstrak buah pare 75%	-3.70000*	.66165	.002	-6.1143	-1.2857
			ekstrak buah pare 25%	2.36667	.66165	.057	-.0476	4.7809
	ekstrak buah pare 25%	Ciprofloxacin	-12.13333*	.66165	.000	-14.5476	-9.7191	
		DMSO 4%	15.76667*	.66165	.000	13.3524	18.1809	
		ekstrak buah pare 100%	-7.73333*	.66165	.000	-10.1476	-5.3191	
		ekstrak buah pare 75%	-6.06667*	.66165	.000	-8.4809	-3.6524	
		ekstrak buah pare 50%	-2.36667	.66165	.057	-4.7809	.0476	

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.