

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia masih banyak masyarakat yang mengalami penyakit infeksi contoh penyakit yang dapat disebabkan karna infeksi adalah penyakit kulit, penyakit kulit seperti, kurap, panu, jerawat, herpes, bisul, impetigo, selulitis, dan penyakit kulit yang disebabkan oleh luka seperti terjatuh, tersayat, terbentur. Penyakit kulit sangat banyak mulai dari yang ringan hingga yang berat pada umumnya dapat disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur dan dapat disebabkan karna virus, alergi yang dapat menyerang manusia (Djuanda, dkk. 2011).

Bakteri adalah organisme bersel tunggal yang hidup bebas dan mampu bereproduksi sendiri. Bakteri tidak memiliki inti sel. Bakteri terdiri atas sitoplasma yang dikelilingi oleh sebuah dinding sel yang kaku yang terbuat dari suatu zat khusus yang disebut peptidoglikan. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit kulit yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Hasanah, uswatun. 2015). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen oportunistik yang dapat menyebabkan berbagai penyakit infeksi pada kulit misalnya saja penyakit bakteremia, endocarditis, osteomyelitis sekitar 30% manusia memiliki bakteri ini di dalam hidung, sebenarnya bakteri ini tidak menyebabkan bahaya apapun hanya saja terkadang bakteri ini menyebabkan infeksi dan infeksi tersebut bisa fatal dan serius (Jawetz et al., 1995). *Pseudomonas aeruginosa* telah menjadi penyebab penting dari infeksi, terutama pada pasien dengan sistem pertahanan tubuh yang terganggu. *Pseudomonas* tidak tumbuh pada kulit yang kering tetapi tumbuh pada kulit yang lembab. Biasanya seperti infeksi pada kuku yang dapat terjadi pada manusia dengan tangan yang sering terendam air (Priosoeryanto 2006).

Sampai saat ini antibiotik masih sering digunakan sebagai pengobatan penyakit infeksi, tetapi penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan kerugian yang besar. Maka perlu dicari alternatif yang lainnya

seperti pengobatan menggunakan bahan tanaman di Indonesia. Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan infeksi pada kulit yaitu tanaman pisang. Pisang mempunyai banyak manfaat, mulai dari akar, buah, kulit buah, bonggol, batang pisang, bunga dan daunnya. Namun masih sedikit masyarakat yang menggunakan bonggol sebagai obat tradisional, tanaman bonggol mengandung metabolit sekunder senyawa fenol yaitu saponin, tanin, dan flavonoid dimana kandungan flavonoid adalah salah satu pendukung untuk antibakteri (Djulkarnain HB. 1998). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Zukhri. S, Hidayati N 2017) menunjukkan bahwa ekstrak pelepah pisang raja memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan konsentrasi 50%, 37,5%, 25%, 12,5% dan belum dilakukan penelitian menggunakan bonggolnya. Pada penelitian (Bayu 2010) menunjukkan bahwa batang pisang ambon mengandung bahan aktif di antaranya saponin, antarkuinon, kuinon yang dapat menghilangkan rasa sakit pada kulit dan telah dilakukan uji coba terhadap hewan mencit serta pada ekstrak daun pisang ambon dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan pelarut organik etanol 70% dan belum dilakukan pada uji bonggolnya.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka dilakukan pengujian untuk membuktikan pemanfaatan bonggol pisang ambon (*Musa acuminata* Colla) dan pisang raja (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*) sebagai antibakteri, penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% untuk mengekstraksi senyawa antibakteri dengan metode maserasi dan uji aktivitas dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi cakram dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% kemudian dilakukan uji KHM dengan metode dilusi padat pada konsentrasi 6,25%, 5,25%, 4,25% dan 3,25%.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pendahuluan yang telah diuraikan diatas maka dapat dirumuskan yaitu:

1. Apakah terdapat aktivitas antibakteri ekstrak bonggol pisang raja (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*) dan pisang ambon (*Musa acuminata* Colla) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?
2. Berapa KHM yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri bonggol pisang raja (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*) dan pisang ambon (*Musa acuminata* Colla) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*
2. Mengetahui konsentrasi optimal yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

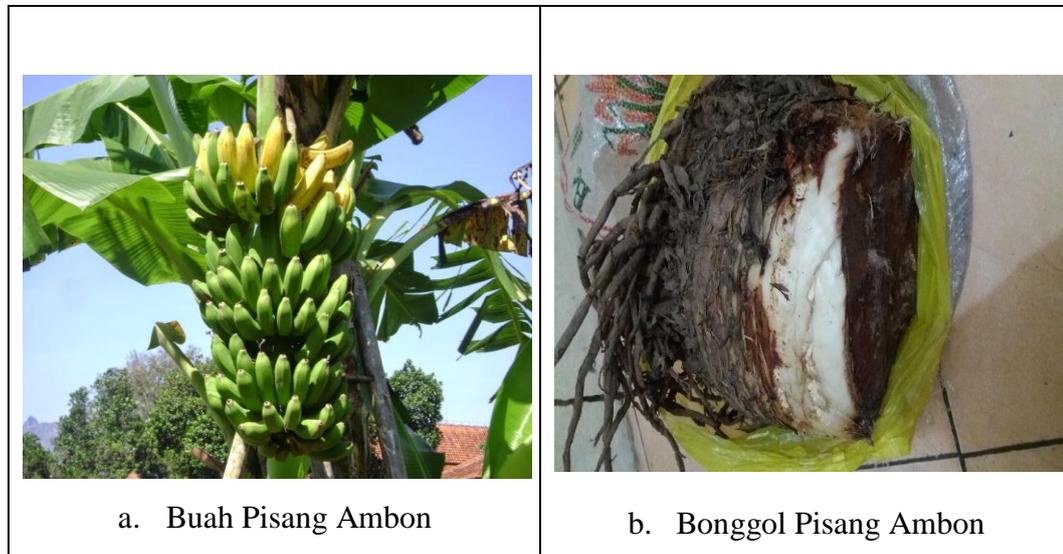
1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah dapat mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak bonggol pisang raja (*Musa acuminata* x *musa balbisiana*) dan bonggol pisang ambon (*Musa acuminata* Colla) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *pseudomonas aureginosa*, menambah pengetahuan masyarakat dalam memanfaatkan bonggol pisang dan tentang sumber antibiotik alami dari tumbuhan yang terdapat di Indonesia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pisang Ambon



Gambar 2.1 Bonggol pisang ambon

Pisang Ambon adalah jenis pisang dengan nama lain pisang cavendish. Pisang Ambon terdiri dari beragam jenis misalnya pisang Ambon lumut, pisang Ambon putih, pisang Ambon kuning, dan sebagainya. Pisang Ambon merupakan hasil perkembang biakkan genetik dengan kultur jaringan. Dalam satu buah pisang Ambon tersimpan begitu banyak khasiat dan manfaat yang baik untuk kesehatan. Pisang Ambon terkenal mampu menambah darah untuk penderita anemia dan disarankan dikonsumsi untuk ibu hamil untuk menjaga asupan nutrisi selama hamil (Roedyarto, 1997).

2.1.1 Morfologi Pisang Ambon (Tjitroesopomo, G., 2001)

a. Akar, tanaman pisang berakar serabut dan tidak memiliki akar tunggang. Akar serabut tersebut tumbuh pada umbi batang, terutama pada bagian bawah. Akar-akar yang tumbuh dibagian bawah akan tumbuh lurus menuju pusat bumi hingga kedalaman 75-150 cm, sementara perakaran yang tumbuh di bagian atas tumbuh menyebar kearah samping.

- b. Batang, tanaman pisang berbatang sejati. Batang sejati tanaman pisang tersebut berupa umbi batang yang berada didalam tanah. Batang sejati tanaman pisang bersifat keras dan memiliki titik tumbuh (mata tunas) yang akan menghasilkan daun dan bunga pisang.
- c. Daun, tanaman pisang berbentuk lanset panjang, memiliki tangkai panjang berkisar antara 30-40 cm. Tangkai daun ini bersifat agak keras dan kuat serta mengandung banyak air. Kedudukan daun agak mendatar dan letaknya lebar daun pisang memiliki lapisan lilin pada permukaan bagian bawahnya.
- d. Bunga, tanaman pisang berbentuk bulat lonjong dengan bagian ujung runcing. Bunga tanaman pisang yang baru muncul, biasa di sebut jantung pisang. Bunga tanaman pisang terdiri dari tangkai bunga, daun penumpung, daun pelindung bunga dan mahkota bunga.
- e. Buah, pisang memiliki bentuk ukuran, warna kulit, warna daging buah, rasa dan aroma yang beragam, tergantung pada varietasnya. Bentuk buah pisang ambon bulat panjang, bulat pendek, bulat agak persegi dan sebagainya.

2.1.2 Klasifikasi Pisang Ambon (Rukmana, R.1999)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Family	: Musaceae
Genus	: Musa
Spesies	: <i>Musa acuminata</i> Colla
Inggris	: Banana
Sunda	: Cau

2.1.3 Varietas pisang ambon

Ukuran buah lebih besar dibanding jenis pisang ambon lainnya, Kulit buah yang sudah matang berwarna kuning putih kemerahan, daging buah pulen, berasa manis dan beraroma harum, dalam satu tandan umumnya terdapat 7- 9 sisir dengan rata-rata persisir 10

2.2 Pisang Raja



Gambar 2.2. Bonggol Pisang Raja

Pisang Raja merupakan salah satu buah tropikal yang banyak sekali tumbuh di wilayah Asia Tenggara termasuk Indonesia dan Malaysia. Buah yang satu ini cukup populer karena rasanya yang tergolong sangat manis bila dibandingkan dengan buah pisang lainnya. kandungan Vitamin C dan Vitamin A yang tinggi membuat buah ini menjadi primadona. Vitamin C dan Vitamin A yang terkandung dalam buah ini merupakan anti oksidan yang sangat baik untuk mengurangi dampak radikal bebas dan mencegah kanker. Pisang raja termasuk jenis pisang buah. Menurut ahli sejarah dan botani secara umum pisang raja berasal dari kawasan Asia Tenggara dan pulaupulau pasifik barat. Selanjutnya menyebar ke berbagai negara baik negara tropis maupun negara subtropis. Akhirnya buah pisang dikenal di seluruh dunia. Jadi pisang raja termasuk tanaman asli Indonesia dan kultivarkultivarnya banyak ditemukan di pulau jawa (Zuhairini, E., 1997)

2.2.1 klasifikasi berikut

Kingdom	: Plantae
Divis	: Spermatophyta
Class	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales

Family	: Musaceae
Genus	: Musa
Spesies	: <i>Musa acuminata x Musa balbisiana</i>
Inggris	: Banana
Sunda	: Cau

2.2.2. Morfologi pisang raja

Morfologi *Musa acuminata x Musa balbisiana* AAB. Merupakan jenis tanaman berbiji, berbatang semu yang dapat tumbuh sekitar 2,1 - 2,9 meter, berakar serabut yang tumbuh menuju bawah sampai kedalaman 75 - 150 cm, memiliki batang semu tegak yang berwarna hijau hingga merah dan memiliki noda coklat atau hitam pada batangnya. Helai daunnya berbentuk lanset memanjang yang letaknya tersebar dengan bagian bawah daun tampak berlipit. Daun ini diperkuat oleh tangkai daun yang panjangnya antara 30 - 40 cm. Memiliki bunga yang bentuknya menyerupai jantung, berkelamin satu yaitu berumah satu dalam satu tandan dan berwarna merah tua. Buahnya melengkung ke atas, dalam satu kesatuan terdapat 13 - 16 buah dengan panjang sekitar 16 - 20cm (Daniells, J 2001)

2.2.3. Kandungan Kimia

Kandungan kimia Kulit buah pisang raja mengandung zat seperti protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, B dan C senyawa golongan flavonoid yaitu katekin, gallokatekin dan epikatekin serta senyawa golongan tannin (Priosoeryanto et al., 2006)

2.2.4. Khasiat Kulit Buah Pisang Raja

Khasiat digunakan sebagai obat penyakit kuning, antidiare, obat gangguan pencernaan (dispepsia) seperti penyakit maag, obat luka, menurunkan kolesterol darah, dapat digunakan sebagai tepung untuk olahan, makanan (melembabkan kulit, menghilangkan bekas cacar, menghaluskan tangan dan kaki, antinyamuk dan menjaga kesehatan retina mata dari kerusakan akibat cahaya berlebih (Satuhu, S dan Supriyadi, A. 2011).

2.3 Manfaat Tanaman Pisang

Menurut (Suyanti dan Supriyadi 2007), tanaman pisang memang banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan hidup manusia dan dikenal sebagai tanaman yang multiguna karena selain buahnya bagian yang lain pun dapat dimanfaatkan, mulai dari bonggol hingga daunnya. Berbagai manfaat dari bagian- bagian tanaman pisang adalah sebagai berikut

A. Bunga

Bunga pisang biasanya dijadikan sebagai sayur karena memiliki kandungan protein, vitamin, lemak dan karbohidrat yang tinggi. Selain dibuat sayur, bunga pisang juga dapat dijadikan sebagai manisan, acar dan lalapan.

B. Daun

Oleh masyarakat pedesaan Jawa, daun pisang yang masih bagus atau tidak robek kerap digunakan untuk pembungkus makanan. Sementara daun-daun yang sudah tua atau sudah robek digunakan untuk pakan kambing, kerbau atau sapi karena banyak mengandung unsur yang diperlukan oleh hewan atau bisa juga dijadikan sebagai bahan kompos.

C. Batang

Batang pisang banyak dimanfaatkan oleh manusia. Misalnya untuk membuat lubang pada bangunan, alas untuk memandikan mayat, untuk menutup saluran air, sebagai tancapan wayang, membungkus bibit dan bahan untuk membuat kompos.

D. Kulit Buah Pisang

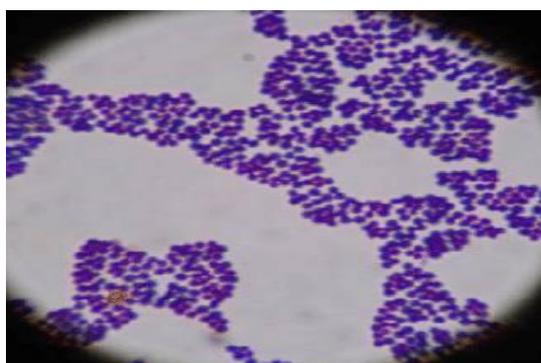
Selain untuk pakan ternak, kulit buah pisang juga dapat dijadikan sebagai bahan campuran cream antinyamuk. Kulit buah pisang juga dapat diekstrak untuk dibuat pectin. Manfaat lainnya dapat dijadikan sebagai pembunuh larva serangga, yakni dengan sedikit menambahkan urea dan pemberian bakteri.

Berdasarkan hasil temuan dari Taiwan, diketahui bahwa kulit pisang yang mengandung vitamin B6 dan serotonin dapat diekstrak dan dimanfaatkan untuk kesehatan mata (menjaga retina mata dari kerusakan akibat cahaya yang lebih).

E. Bonggol

Bonggol pisang merupakan bagian yang paling jarang dimanfaatkan. Selama ini, masyarakat Indonesia masih memanfaatkan bagian buah, daun, jantung pisang, dan pelepahnya saja. Bagian bonggol pisang belum secara optimal dimanfaatkan. Bonggol pisang banyak mengandung air dan pati yang kaya karbohidrat, jika dikeringkan menjadi abu akan menghasilkan soda yang dapat digunakan sebagai bahan baku sabun dan pupuk Kalium. Secara tradisional, air air yang terkandung pada bonggol tanaman pisang dapat digunakan sebagai obat sakit perut dan pendarahan usus (Suhartanto, et. al. 2012)

2.4 *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif berdiameter sekitar 1 μm , selnya berbentuk seperti kelompok anggur, karena pembelahan sel terjadi dilebih dari satu *plane*. Pada medium yang kaya *S. aureus* koloninya berukuran sedang dengan warna keemasan. Pigmentasi emas koloni *S. aureus* disebabkan oleh karena adanya karotenoid dan telah dilaporkan menjadi faktor virulensi

pelindung bakteri terhadap oksidan yang dihasilkan oleh sistem imun. *Staphylococcus* merupakan bakteri anaerob yang mampu menghasilkan energy dengan respirasi aerobik, dan dengan fermentasi yang utamanya menghasilkan asam laktat (Jawetz 1995)

2.4.1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus* (Rosenbach, A. J.F.1884)

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phlum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Species	: <i>Staphulococcus aureus</i>

2.4.2. Ciri-ciri mikroorganisme

S. aureus adalah sel-sel berbentuk bola dengan garis tengah sekitar 1µm dan tersusun dalam kelompok-kelompok tak beraturan. Pada biakan cair tampak juga berbentuk tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai. *S. aureus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Bakteri ini hidup bebas dalam lingkungan dan membentuk kelompok teratur yang terdiri atas empat atau delapan kokus. Koloni bakteri ini berwarna abu-abu sampai kuning emas tua.

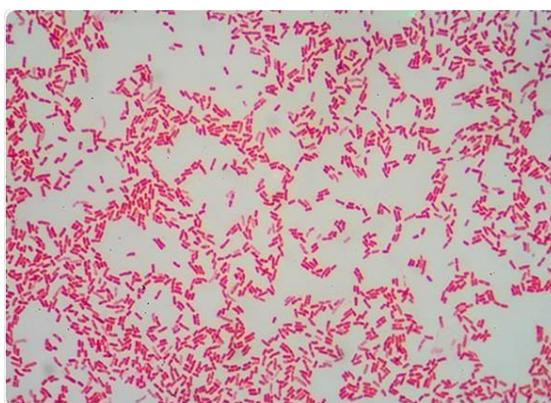
2.4.3. Patologi

S. aureus menjadi patogen utama dan sering terjadi di perawatan di rumah sakit. Bakteri ini sering ditemukan secara alami di kulit dan nasofarinx pada tubuh manusia. Pada kulit dan membran mukosa mempunyai pertahanan baik dalam melawan jaringan lokal dari *S. aureus*. Namun, apabila terjadi kesalahan dalam perawatan, *S. aureus* dapat masuk jaringan dibawahnya, sehingga terbentuk abses. Apabila mencapai saluran limpatik atau darah akan menyebabkan septicemia

S. aureus yang berada dalam folikel rambut menimbulkan nekrosis jaringan. Koagulase dihasilkan dan mengkoagulasi fibrin di sekitar lesi dan di dalam getah bening, mengakibatkan pembentukan dinding yang membatasi proses dan diperkuat oleh penumpukan sel radang dan kemudian jaringan

fibrosis. Ditengah-tengah lesi, terjadi pencairan jaringan nekrotik dan abses “mengarah” pada daerah yang daya tahannya paling kecil. Setelah cairan nekrotik keluar, rongga secara pelan-pelan diisi dengan jaringan granulasi dan akhirnya sembuh Antibiotik yang dikenal mampu membuat *S. aureus* menjadi resisten adalah eritromisin, ampisilin, tetrasiklin, penisillin, metasilin, dan vancomisin. Bakteri jenis ini sangat mudah resisten terhadap obat (Jawetz et al., 1995).

2.5 *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 2.4. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas auroginosa adalah bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan penyakit pada hewan maupun manusia. Bakteri ini dapat ditemukan pada tanah, air, flora, dikulit dan sebagian besar lingkungan manusia didunia, *P. aeruginosa* dapat bergerak karna mempunyai flagel monotrika, berbentuk batang brsifat aerobik obligat yang dapat tumbuh dengan cepat pada berbagai tipe media. *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh baik pada suhu 37°-42°C (Jawetz, et., 1995).

P. aeruginosa merupakan pathogen utama bagi manusia dan hewan karna bakteri ini mengkoloni dan dapat menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan abnormal *pseudomonas aeruginosa* disebut pathogen oportunistik, yaitu memanfaatkan mekanisme pada inang untuk memulai infeksi. Bakteri ini dapat tumbuh pada manusia sehat pada usus dan kulit manusia (Mayasari, 2006)

2.5.1 Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Salle, 1961)

2.5.2 Karakteristik *Pseudomonas Aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan kelas Gamma proteobacteria, merupakan bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan penyakit pada hewan dan manusia. *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh di air suling dan akan tumbuh dengan baik dengan adanya unsur Nitrogen dan Carbon. Mereka banyak dijumpai melimpah dalam air dan tanah. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif aerob obligat, berkapsul, mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil, berukuran sekitar 0,5-1,0 µm. Bakteri aerob ini mensekresikan beberapa jenis pigmen, di antaranya pyocyanin (hijau-biru), fluorescein (kuning-hijau) dan pyorubin (merahcokelat). Bakteri ini dapat tumbuh tanpa oksigen jika tersedia NO₃ sebagai akseptor elektron (Dwidjoseputro, D. 1998). *Pseudomonas aeruginosa* mampu tumbuh di lingkungan yang mengandung oli dan bahan bakar minyak lainnya. Bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang membentuk rantai yang pendek.

Suhu optimum untuk pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 42°C. *Pseudomonas aeruginosa* mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana.

2.5.3 Patogenitas

Pseudomonas aeruginosa menjadi patogenik hanya jika berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya di selaput lender dan kulit yang rusak

akibat kerusakan jaringan. Bakteri menempel dan menyerang selaput lendir atau kulit, menyebar dari tempat tersebut dan berakibat penyakit sistemik. Antioksin A ditemukan dalam beberapa serum manusia termasuk serum penderita yang telah sembuh dari infeksi yang berat, lipopolisakarida mempunyai peran sebagai penyebab timbulnya demam, syok, oliguria, dan leukositosis.

Pseudomonas aeruginosa tahan terhadap berbagai antimikroba dan karena itu menjadi dominan dan penting jika bakteri yang lebih peka dari flora normal ditekan.

2.6 Ekstrak Dan Ekstraksi Tanaman

Ekstraksi adalah pemisahan zat target dan zat yang tidak berguna dimana Teknik pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut atau lebih yang saling bercampur. Pada umumnya, zat terlarut yang diekstraksi bersifat tidak larut atau sedikit larut dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dalam pelarut lainnya. (Harbone, 1987)

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa serbuk atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstrak cair adalah sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet. jika tidak dinyatakan lain pada masing – masing monografi, tiap ml ekstrak mengandung senyawa aktif dari 1g simplisia yang memenuhi syarat.

2.6.1 Tujuan ekstraksi

Tujuan ekstraksi dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia masih berada dalam kadar yang tinggi sehingga memudahkan untuk mengatur dosis zat berkhasiat karena dalam sediaan ekstrak dapat distandardisasikan kadar zat berkhasiat sedangkan kadar zat berkhasiat dalam simplisia sukar diperoleh kadar yang sama (Jawetz et al.,2001)

2.6.2 Metode ekstraksi

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruangan. maserasi bertujuan untuk menarik zat – zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan, metode ini merupakan metode sederhana (Agoes 2007)

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan semourna umumnya dilakukan pada temperature ruangan. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya, terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya 1 – 5 kali bahan (Agoes 2007)

2. Cara panas

a. Refluks

Metode ini digunakan apabila dalam sintesis senyawa tersebut menggunakan pelarut yang volatil. Pada kondisi inijika dilakukan pemanasan yang biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berjalan hingga selesai. Prinsip dari metode ini adalah pelarut volatile yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi. Namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan akan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N₂ diberikan agar tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk terutama senyawa golongan anorganik karna sifatnya yang reaktif (Seidel V 2006).

b. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu umumnya pada temperatur 40 - 50°C. cara ini hanya dapat digunakan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan (Departemen Kesehatan RI 1986).

c. Infundasi

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96 - 98°C) selama waktu tertentu (15 - 20 menit). Proses penyaringan yang umumnya menyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dan bahan – bahan nabati. Penyaringan dengan metode ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh karena itu, sari yang diperoleh dari cairan ini tidak boleh disimpan lebih dari 24jam (Departemen Kesehatan RI 1986).

d. Sokletasi

Sokletasi merupakan suatu cara pengestraksian tumbuhan dengan memakai alat soklet. Pada cara ini pelarut dan simplisia ditempatkan secara terpisah. Sokletasi digunakan untuk simplisia dengan khasiat yang relative stabil dan tahan terhadap pemanasan. Prinsip sokletasi adalah penyaringan secara terus menerus sehingga penyaringan lebih sempurna dengan memakai pelarut yang relative sedikit. Jika penyaringan telah selesai maka pelarutnya diuapkan dan sisanya adalah zat yang tersari. Biasanya pelarut yang digunakan adalah pelarut yang mudah menguap dan memiliki titik didih yang rendah (Departemen Kesehatan RI 1986).

2.7 Uraian Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal yang hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Ukuran bakteri bervariasi, baik penampang maupun panjang, tetapi pada umumnya diameter bakteri adalah sekitar 0,2 - 2,0 mm dan panjang berkisar 2 - 8 mm (Dwidjoseputro, D. 1978) berdasarkan bentuknya bakteri dibagi atas 3 kelompok besar, yaitu:

1. Coccus, berbentuk bulat.
2. Bacillus, berbentuk batang.
3. Spirillae, berbentuk spiral.

2.7.1 Perkembangbiakan bakteri

Pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri dipengaruhi oleh:

1. Suhu merupakan faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. Setiap spesies bakteri dapat tumbuh pada kisaran suhu tertentu
2. klasifikasi bakteri berdasarkan suhu hidupnya yaitu:
 - a. Bakteri psikofil (oligotermik), yaitu bakteri yang dapat hidup antara suhu 0 - 30°C, sedangkan suhu optimumnya antara 10 - 20°C.
 - b. Bakteri mesofil (mesotermik), yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara 5-60°C, sedangkan suhu optimumnya 25 - 40°C.
 - c. Bakteri termofil (politermik), yaitu bakteri yang tumbuh dengan baik pada suhu 50 - 60°C, meskipun demikian bakteri ini juga dapat berkembangbiak pada temperatur lebih rendah atau lebih tinggi dari itu, yaitu dengan batas 40 - 80°C.

Beberapa spesies dapat tumbuh dalam keadaan sangat asam atau sangat alkali. Bila bakteri dibiakkan dalam suatu medium yang semula pHnya tertentu, maka kemungkinan pH ini akan berubah oleh adanya senyawa asam atau basa yang dihasilkan selama masa pertumbuhan (Dwidjoseputro D. 1998)

3. berdasarkan kebutuhan oksigen bakteri dikelompokkan menjadi:
 - a. Bakteri anaerob, yaitu bakteri yang tidak hanya tak dapat tumbuh di tempat yang ada oksigennya bahkan mati dengan adanya oksigen.
 - b. Bakteri mikroaerofil, yaitu bakteri yang dapat tumbuh dengan baik dengan oksigen kurang dari 20%. Oksigen dengan konsentrasi tinggi dapat menjadi toksik bagi bakteri ini.

- c. Bakteri aerob, yaitu bakteri yang membutuhkan oksigen bebas dalam hidupnya.
 - d. Bakteri aerotoleran, yaitu bakteri yang dapat hidup dengan adanya oksigen namun bakteri ini tidak menggunakan oksigen untuk metabolismenya.
4. Tekanan osmosis merupakan perpindahan air melewati suatu membran semi permeabel karena ketidak seimbangan material terlarut dalam media. Bakteri dapat tumbuh dengan baik pada media yang isotonis dengan isi sel bakteri. Media pertumbuhan bakteri harus mempunyai tekanan osmosis yang sama dengan bakteri
 5. Nutrisi Sumber zat makanan (nutrisi) bagi bakteri diperoleh dari senyawa karbon nitrogen, sulfur, unsur logam (natrium, kalsium, magnesium, mangan, besi, tembaga dan kobalt), vitamin dan air untuk fungsi-fungsi metabolik dan pertumbuhannya.

2.7.2 Fase pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan bakteri meliputi empat fase, yaitu:

1. Fase lag Fase lag merupakan fase penyesuaian mikroorganisme pada suatu lingkungan baru. Pada fase ini tidak ada peningkatan jumlah sel, namun ada peningkatan ukuran sel (Pratiwi, S.T., 2008)
2. Fase eksponensial (fase log) Fase ini merupakan fase dimana bakteri tumbuh dan membelah pada kecepatan maksimum, tergantung pada genetika bakteri, sifat media, dan kondisi pertumbuhan. Sel baru terbentuk dengan laju konstan dan massa yang bertambah secara eksponensial (Pratiwi, S.T., 2008)
3. Fase stasioner Pertumbuhan bakteri berhenti pada fase ini dan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang membelah dengan jumlah sel yang mati. Karena pada fase ini terjadi akumulasi produk buangan yang toksik (Pratiwi, S.T., 2008)

2.8 Pengujian Aktivitas

Antibakteri Penentuan kepekaan bakteri terhadap antibiotik tertentu dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi.

- a. Metode dilusi Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dimasukkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja (Jawetz et al 2001).
- b. Metode difusi Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat), selain faktor antara obat dan organisme. Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan menghasilkan uji kepekaan dengan baik (Jawetz et al 2001).

Tabel 2.1 Kategori daya hambat (Greenwood 1995)

Daya hambat bakteri	Kategori daya hambat bakteri
15 - 20 mm	Kuat
10 – 14 mm	Sedang
0 – 9 mm	lemah
0	tidak ada

2.9 Fase pertumbuhan bakteri

A. Fase penyesuaian

Fase penyesuaian merupakan suatu masa dimana sel – sel, yang kekurangan metabolit dan enzim akibat keadaan yang tidak menguntungkan dalam

pembiakan terdahulu, menyesuaikan diri dengan lingkungannya yang baru. pada fase ini tidak ada kenaikan jumlah sel, melainkan peningkatan ukuran atau besar sel. Enzim – enzim dan zat antara terbentuk dan terkumpul sampai mencapai konsentrasi yang memungkinkan pertumbuhan dimulai lagi.

B. Fase eksponensial

Fase ini terjadi setelah bakteri menyesuaikan diri terhadap lingkungannya. Pada fase ini, sel baru terbentuk dengan laju yang konstan tetapi bahan yang baru itu sendiri bersifat katalis sehingga sel bakteri bertumbuh secara eksponensial, massa menjadi dua kali lipat.

C. Fase stasioner

Pada fase ini terjadi kehabisan zat makanan atau penumpukan hasil – hasil metabolisme yang beracun yang menyebabkan pertumbuhan bakteri berhenti. Namun kecepatan tumbuh sama dengan kecepatan mati sehingga jumlah sel akan konstan.

D. Fase kematian

Pada fase ini terjadi akumulasi bahan toksik, zat hara yang diperlukan oleh mikroorganisme juga berkurang, sehingga bakteri mati. Fase ini merupakan kebalikan dari fase eksponensial pertumbuhan. Jumlah sel menurun terus sampai didapatkan jumlah sel yang konstan untuk beberapa waktu.

2.10 Ciprofloxacin (Ganiswara, 2009)

Ciprofloxacin adalah obat dari golongan flourokuinolon dengan memiliki atom flour di posisi 6 pada struktur kimia yang dimilikinya.

Golongan ini memiliki daya antibakteri jauh lebih kuat dari antibiotik kelompok kuinolon. Golongan flourkuinolon juga merupakan kelompok obat yang diserap dengan baik pada pemberian oral dan memiliki derivat yang tersedia dalam bentuk parenteral sehingga dapat digunakan untuk penanggulangan infeksi terutama yang disebabkan oleh bakteri gram negatif. Tetapi kelompok ini memiliki kelemahan karna daya antibakteri yang dimilikinya lemah terhadap bakteri gram positif.

Mekanisme kerja yang dimiliki oleh ciprofloxacin adalah dengan menghambat kerja enzim DNA girase pada kuman dan memiliki sifat

bakterisidal. Efek daya antibakteri yang kuat dari ciprofloxacin dapat bekerja pada bakteri *E.coli*, *Klebisella*, *Salmonella*, *Proteus*, tetapi yang paling kuat adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

2.11 Klindamisin

Klindamisin merupakan suatu antibiotik yang dapat bekerja sebagai bakteriostatik maupun bakterisidal, tergantung pada konsentrasi obat, tempat infeksi dan organisme penyebab infeksi (Mulyani, dkk., 2017). Berdasarkan spektrumnya antibiotik ini termasuk dalam golongan antibiotik berspektrum sempit yang bekerja pada bakteri gram positif saja. (Pratiwi S.T. 2008)

2.12 Pelarut

Pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi ini berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut dalam pelarut polar dan sebaliknya (Sutriani, L.2008)

1. Selektivitas, pelarut hanya boleh melarutkan ekstrak yang diinginkan
2. Kelarutan, pelarut sedapat mungkin memiliki kemampuan melarutkan ekstrak yang besar.
3. Kemampuan tidak saling bercampur, pada ekstraksi cair, pelarut tidak boleh larut dalam bahan ekstraksi.
4. Kerapatan, sedapat mungkin terdapat perbedaan kerapatan yang besar antara pelarut dengan bahan ekstraksi
5. Reaktivitas, pelarut tidak boleh menyebabkan perubahan secara kimia pada kom ponen bahan ekstraksi.
6. Titik didih kedua bahan tidak boleh terlalu dekat karena ekstrak dan pelarut dipisahkan dengan cara penguapan, distilasi dan rektifikasi. (Sutriani, L.2008)

2.13 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen kimia yang terdapat pada tanaman secara kualitatif. Penapisan ini diarahkan pada senyawa metabolit sekunder yang memiliki khasiat bagi kesehatan seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, glikosida, kuinon, dan saponin tanaman pisang memiliki beberapa metabolit sekunder, diantaranya saponin, glikosida, tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid.

A. Saponin

Saponin merupakan jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lender. Metabolit sekunder ini merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolysis sel darah merah (Harbrone, J. B. 1987).

B. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan dan tersebar luas. Tanin memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat, dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, gimnospermae dan angiospermae, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harbrone, J. B. 1987).

C. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, dan lain-lain. Flavonoid yang terkandung di dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Gula yang terikat pada flavonoid mudah larut dalam air. Flavonoid

merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol dan mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur (Harbrone, J. B. 1987).

D. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam bentuk gabungan sebagai bagian dari system siklik. Alkaloid bersifat optis aktif, berbentuk kristal tetapi ada pula yang berupa cairan pada suhu kamar, dan tidak berwarna. Alkaloid pada umumnya larut dalam air jika dalam bentuk garam dan sukar larut dalam pelarut organik. Sebaliknya, bentuk basa atau bebasnya mudah larut dalam pelarut organik dan sukar larut dalam air (Harbrone, J. B. 1987).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September 2018 sampai dengan bulan Januari 2019 di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Fakultas Farmasi ISTN (Institut Sains dan Teknologi Nasional) Jakarta.

3.2 Bahan uji

Bahan uji yang digunakan adalah bonggol pisang ambon (*Musa acuminata* Colla) dan pisang raja (*Musa acuminata x balbisiana*) yang diambil dari perkebunan warga di daerah Ciangsana, bogor. Bonggol pisang yang digunakan dari tanaman pisang yang sudah siap panen.

3.3 Percobaan Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan pisang raja dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yaitu merendam serbuk bonggol pisang ambon dan pisang raja dengan pelarut etanol 96%. Hasil filtrat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporat* sehingga dihasilkan ekstrak kental. Kemudian ekstrak tersebut dibuat menjadi larutan uji dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%, dan 6,25%. Ekstrak selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan metode difusi kertas cakram untuk mengukur Diameter Daya Hambat (DDH) dan metode dilusi padat untuk pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) larutan uji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

3.4 Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain vacuum rotary evaporator, waterbath, autoklaf, laminar air flow (laf), oven lemari pendingin, blender, vortex, magnetic stirrer, hot plate, timbangan analitik, jangka sorong, pipet mikro, cawan petri, beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, vial, bunsen, batang pengaduk, pinset, pipet tetes, kain kasa, kapas, aluminium foil, kertas perkamen, kertas cakram, kaca objek, jarum ose.

2. Bahan

bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain (Nutrien Agar), kertas cakram, etanol 96%, akuades, FeCl_3 , prekursor mayer, prekursor dragendroff, prekursor bouchardat, H_2SO_4 , asam asetat anhidrat, NaCl , alkohol 70%, blank disc, cakram antibiotik klindamisin dan ciprofloxain, gentian violet, cairan lugol, minyak imersi dan safranin.

3.5 Persiapan Sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 10kg bonggol pisang ambon dan 10kg bonggol pisang raja. Kemudian bonggol dipotong-potong menjadi beberapa bagian kecil, lalu dikeringkan dengan menggunakan oven selama pada suhu $60^\circ\text{--}70^\circ\text{C}$ lalu diblender hingga diperoleh 600gram serbuk bonggol pisang raja dan 700gram serbuk bonggol pisang ambon.

3.6 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel tumbuhan pisang ambon dan pisang raja yang digunakan dalam penelitian ini. Hal ini berkaitan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman pisang ambon dan pisang raja terhadap kepustakaan dan dibuktikan di LIPI Bogor.

3.7 Uji Bebas Etanol

Ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja timbang 0,5gram ditambahkan 1ml larutan natrium hidroksida sebanyak 1 ml, kemudian di diamkan selama 3menit, lalu ditambah perlahan-lahan 2ml iodium 0,1N maka timbul bau iodoform dan endapan kuning dalam waktu 30menit, menunjukkan ekstrak masih terkandung pelarut etanol (Anonim 1995)

3.8 Penapisan Fitokimia

A. Pengujian Alkaloid

Serbuk dan ekstrak timbang sebanyak 2gram di ekstraksi dengan amoniak 25% 5 ml didalam elenmeyer, ditambahkan klorofom 20ml hingga masa terendam, disaring kemudian dipanaskan, hasil filtrat ditambah klorofom lalu dituang kedalam tabung reaksi dan ditambah 1ml asam klorida 2N, kemudian dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan atas yang terbentuk dimasukan kedalam 3 tabung dalam jumlah yang sama, kemudian ditambahkan preaksi mayer pada tabung I, preaksi bouchardat pada tabung ke II, dragondruf pada tabung ke III. Terdapat alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada mayer, endapan coklat-hitam pada preaksi Bouchardat, dan endapan merah hingga jingga pada preaksi Dragendrof. Serbuk dan ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan raja tidak menunjukkan adanya kandungan alkaloid. (Satrana, D. K. 2017). (Lampiran 10)

B. Pengujian Saponin

Serbuk dan ekstrak timbang sebanyak 1g ekstraksi dengan air panas 100 ml kemudian disaring. Filtrat sebanyak 10mL dimasukan dalam tabung reaksi, kocok vertical selama 10 detik. Terdapat saponin ditandai dengan adanya buih yang menetap setinggi 1 hingga 10cm. pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang. Serbuk dan ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja menunjukkan adanya kandungan saponin. (Satrana, D. K. 2017). (Lampiran 10)

C. Pengujian flavonoid

Serbuk dan ekstrak timbang sebanyak 1 g diekstraksi dengan air panas 100mL kemudian disaring. Filtrate sebanyak 5mL larutan percobaan, ditambahkan 1mL larutan Natrium Nitrit 5% dan Natrium Hidroksida 1 N. jika positif mengandung flavonoid warna akan berubah menjadi merah atau jingga. Serbuk dan ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja menunjukkan adanya kandungan flavonoid (Satrana, D. K. 2017).

D. Pengujian Tanin

Serbuk dan ekstrak sebanyak 1g ekstraksi dengan air panas 100ml kemudian disaring. filtrate sebanyak 5mL kemudian masukan dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan beberapa tetesan larutan FeCl_3 klorida 1%. Jika terbentuk warna ungu atau hitam, maka positif mengandung tannin. Serbuk dan ekstrak bonggol pisang ambon dan pisang raja menunjukkan adanya kandungan tannin (Satrana, D. K. 2017). (Lampiran 10)

E. Pengujian Steroid/Triterpenoid

Timbang sebanyak 2 g serbuk ekstraksi dengan 20mL eter selama 2jam, kemudian saring dan uapkan dalam cawan penguap residu sisa penguapan tambahkan 2tetes anhidrat asetat dan 2mL klorofom, lalu pindahkan dalam tabung reaksi kemudian tambahkan perlahan lahan 1ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin warna ungu menunjukkan adanya terpenoid. Serbuk dan ekstrak bonggol pisang ambon dan pisang raja menunjukkan adanya kandungan terpenoid (Satrana, D. K. 2017). (Lampiran 10)

3.9 Tahapan Penelitian

3.9.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan disterilkan terlebih dahulu dicuci dan dikeringkan. Cawan petri dibungkus dengan kertas perkamen. Untuk alat-alat gelas (tabung reaksi, gelas baker, Erlenmeyer) ditutup mulutnya dengan kapas steril yang dibalut dengan kain kasa steril, kemudian dibungkus dengan kertas perkamen, disterilkan dalam oven pada suhu 150°C selama 2 jam.

Kasa, kapas, tali, gelas ukur, pipet tetes dan kaca objek dibungkus juga dengan kertas perkamen dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 1atm selama 15 menit. Untuk alat seperti ose, batang L dan pinset disterilkan dengan metode *Flamber*, yaitu direndam dengan alkohol 70% selama 5 menit kemudian dipijarkan dengan api Bunsen. Alat yang terbuat dari karet seperti karet pipet, disterilkan dengan merendamnya dalam alkohol 70% selama 5 menit. *Laminar air flow* disterilkan dengan menyalakan lampu UV selama 2 jam, dibersihkan dari debu, disemprot dengan alcohol 70%, dibiarkan selama 15 menit.

3.10 Peremajaan Bakteri

3.10.1 Pembuatan Media Agar Miring

Sebanyak 8gram *Nutrient Agar* disuspensikan dalam 400 ml aquades steril, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Dilakukan pengadukan dengan *magnetic stirrer* untuk memastikan media telah tersuspensi secara sempurna. Media yang sudah tersuspensi sempurna disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit. Media yang sudah steril, kemudian dituang ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 4ml. media dituang dalam kondisi hangat (40°C- 45°C). tabung reaksi yang berisi media, kemudian dimiringkan dengan kemiringan sekitar 30°-45° C. bagian mulut tabung reaksi disumbat dengan kapas yang dibalut kain kasa steril, kemudian ditunggu sampai media memadat. Pembuatan media dilakukan secara aseptis dalam *Laminar Air Flow (LAF)*.

3.10.2 Proses Peremajaan Bakteri

Bakteri uji ditumbuhkan pada medium *Nutrient Agar* (NA) dengan cara menggoreskan bakteri dari biakan murni menggunakan jarum ose pada permukaan agar miring. Bakteri yang sudah digoreskan pada media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.10.3 Pewarnaan Gram

pewarnaan gram bakteri uji dilakukan dengan cara, sebanyak 1 ose bakteri digoreskan di atas kaca objek, ditetesi dengan 2-3 tetes nacl 0,9%

sambil diratakan menggunakan ose, kemudian kaca objek difiksasi difiksasi diatas api bunsen hingga mengering. kemudian ditetesi 1-2 tetes kristal violet, diamkan selama 30-40 detik, dibilas dengan akuades ditetesi kembali dengan larutan iodine, diamkan selama 1menit, lalu dibilas kembali dengan akudes, ditetesi dengan alkohol 96%, diamkan selama kurang lebih 2menit, dibilas kembali dengan akuades, ditetesi kembali dengan safranin 1-2 tetes diamkan selama 30-40 detik dan bilas dengan akuades lalu dikeringkan. selanjutnya ditambahkan minyak imersi dan diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x.

3.11 Pembuatan Media Uji

Sebanyak 8gram media *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dalam 400 ml aquades steril. Media dipanaskan sampai mendidih. Dilakukan pengadukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* untuk memastikan media tersuspensi sempurna. Setelah media tersuspensi sempurna, kemudian di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu ditunggu sampai suhu hangat (40⁰ C – 45⁰ C). *Nutrient Agar* yang sudah siap, kemudian dituangkan sekitar 8 ml ke dalam cawan petri steril dengan tingkat permukaan horizontal untuk memberikan kedalaman seragam ±0,5 cm. media diamkan sampai memadat.

3.12 Pembuatan larutan uji

Ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja diencerkan dengan menggunakan dimetilsulfoksida (DMSO) hingga diperoleh 4 konsentrasi yaitu 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% control positif yang digunakan yaitu klindamisin untuk bakteri gram positif dan ciprofloxacin untuk gram negativ.

3.13 Pembuatan Suspensi Bakteri uji

Sebanyak 2 ose bakteri uji hasil peremajaan, disuspensikan dalam NaCl 0,9% kemudian dari hasil suspense disamakan dengan larutan standar Mc. farland No. 3,0 (10⁹ CFU/MI) sehingga diperoleh bakteri dengan jumlah 10⁹ CFU/mL.suspensi kemudian diencerkan dengan cara sebanyak 1mL bakteri 10⁹ dimasukan kedalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9%, suspense bakteri tersebut kemudia dihomogenkan menggunakan vortex, sehingga

dihasilkan bakteri pengenceran 10^8 . Selanjutnya dilakukan pengenceran bakteri 10^7 CFU/mL.

3.14 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian daya hambat antibakteri ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja dilakukan dengan metode difusi cakram dengan cara sebar dengan beberapa konsentrasi masing-masing 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%, dengan memasukan suspensi keatas permukaan media NA yang sudah memadat dengan meratakan suspense bakteri dengan menggunakan batang L, kemudian kertas cakram yang berisi 20 μ l larutan ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja dari masing – masing konsentrasi yang telah dibuat sebelumnya letakan dalam cawan yang telah berisikan media NA serta suspensi bakteri yang telah diratakan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diukur diameter zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

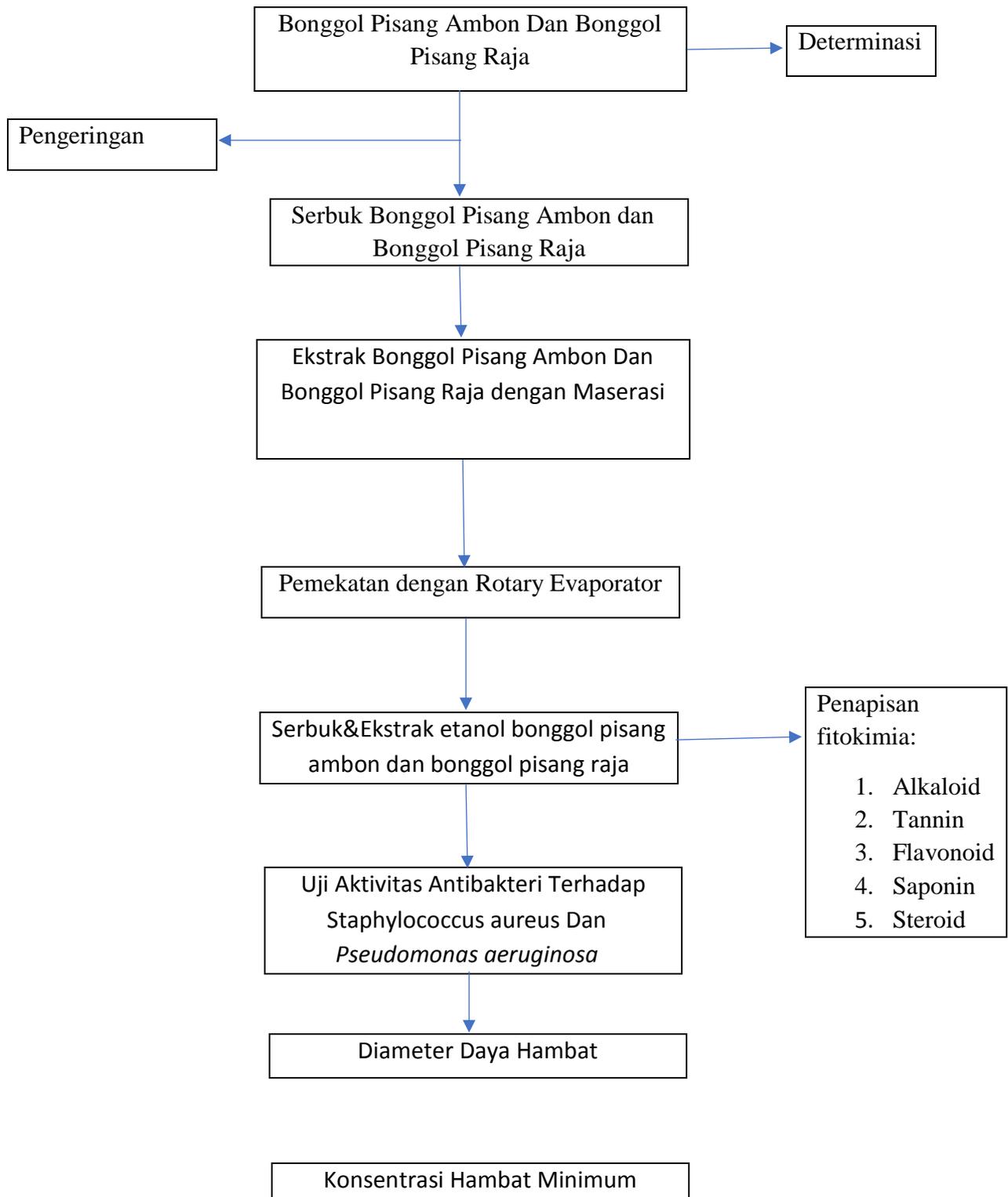
3.15 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi minimal yang menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada uji antibakteri untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM). Metode yang digunakan untuk menentukan KHM adalah dilusi padat. Langkah kerjanya yaitu media NA dengan suhu 45° C dituangkan kedalam cawan petri yang sudah berisi bakteri uji dan sampel ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja. Jumlah media kultur yang digunakan sebanyak 10 ml. Bakteri uji pada pengenceran 10^7 digunakan sebanyak 0,5 ml. Sampel ekstrak sebanyak 0,5 ml. hasil *pour plate* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Media yang terlihat jernih atau tidak ditumbuhi bakteri ditetapkan sebagai KHM.

3.16 Analisis data

Diameter daya hambat (DDH) yang terbentuk disekeliling cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong. hasil setiap pengukuran

dihitung rata-ratanya. sedangkan untuk metode dilusi penampisan lempeng agar, pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri dalam media pada konsentrasi tertentu, kemudian dibandingkan dengan kontrol. hasil pengamatan menunjukkan hasil nilai konsentrasi hambat minimum dari larutan uji yang dapat menghambat bakteri. data yang diperoleh dari hasil pengamatan diolah secara deskriptif.

Skema Tahap Penelitian

BAB 4

PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penyiapan Bahan Uji

Pada penelitian ini, bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja diperoleh dari perkebunan milik warga di daerah Ciangsana, Bogor yang didapatkan pada bulan September 2018. Masing – masing dengan berat bonggol 10kg, bonggol yang telah diperoleh kemudian dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran serta tanah yang menempel. Bonggol yang telah dibersihkan kemudian dirajang tipis – tipis, kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C setelah dikeringkan kemudian bonggol dihaluskan dengan menggunakan *blander* hingga bonggol menjadi serbuk yang halus. Bonggol yang telah menjadi serbuk kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Lalu dievaporasi hingga menjadi ekstrak kental.

4.2 Determinasi

Determinasi dilakukan untuk memastikan tanaman yang digunakan sebagai bahan penelitian. Identifikasi dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong Bogor pada tanggal 18 September 2018. Bagian yang digunakan untuk determinasi yaitu bunga, buah, daun serta bonggolnya. Hasil determinasi yang dihasilkan dari pisang ambon dan pisang raja adalah tanaman pisang ambon dari spesies *Musa acuminata* Colla (AAA) dan pisang raja *Musa acuminata x Musa balbisiana* (AAB). Hasil sesuai dengan yang dimaksud dan dapat digunakan untuk penelitian.

4.3 Penapisan Fitokimia

Ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja kemudian dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui kandungan zat aktif yang ada didalam bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja, pengujian yang dilakukan diantaranya alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, serta steroid dan triterpenoid. Hasil dari penapisan fitokimia yang didapatkan dari bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja.

Table 4.1 Hasil Penapisan Fitokimia serbuk dan ekstrak

No	kandungan kimia	Hasil Serbuk		Hasil Ekstrak	
		bonggol pisang ambon	bonggol pisang raja	bonggol pisang ambon	bonggol pisang raja
1	alkaloid	(-)	(-)	(-)	(-)
2	flavonoid	(+)	(+)	(+)	(+)
3	tanin	(+)	(+)	(+)	(+)
4	saponin	(+)	(+)	(+)	(+)
5	terpenoid	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan: (+) Mengandung senyawa kimia tersebut

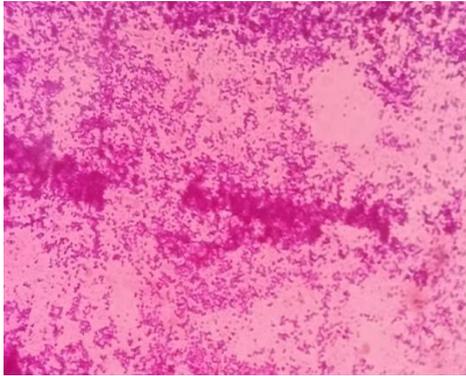
(-) Tidak mengandung senyawa

Penapisan fitokimia pada ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terbukti bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa kimia yaitu saponin, tannin, flavonoid, dan steroid dimana senyawa-senyawa tersebut telah dibuktikan dari penelitian sebelumnya memiliki aktivitas antibakteri.

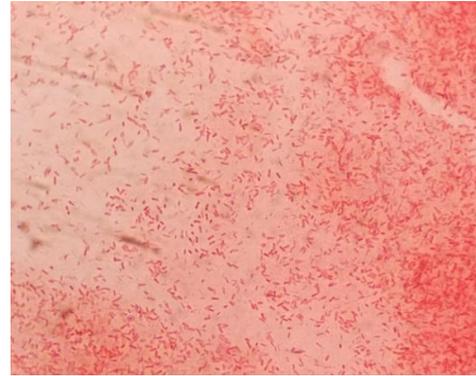
4.4 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Uji

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, terlebih dahulu dilakukan pengujian pewarnaan gram pada bakteri yang akan digunakan. dari hasil uji yang dilakukan bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan warna ungu dan bakteri tersebut tampak berbentuk bulat dan membentuk koloni kecil yang berbentuk anggur, sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Dibuktikan pewarnaan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang menghasilkan warna merah serta

berbentuk basil dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut bakteri gram negatif. Hasil pewarnaan gram bakteri uji tercantum pada gambar



a. Bakteri *Staphylococcus aureus*



b. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Gambar 4.1 Hasil Pewarnaan Gram bakteri uji (dokumen pribadi)

4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Pada pengujian diameter daya hambat (DDH) antibakteri ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja dilakukan dengan metode difusi menggunakan media Nutrient Agar dengan cakram dan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pengujian diameter daya hambat dengan menggunakan ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja yang dilakukan dengan beberapa konsentrasi ekstrak yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%. masing – masing konsentrasi ini dibuat untuk membandingkan aktivitas antibakteri pada penelitian sebelumnya dengan konsentrasi yang sama dalam proses pembuatan konsentrasi ekstrak digunakan pelarut yaitu DMSO 10% karna ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terlalu kental sehingga dapat dilarutkan dengan DMSO 10%. Hasil pengujian zona hambat berbagai macam konsentrasi ekstrak menunjukkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dibuktikan dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram. Nilai diameter daya hambat pada masing – masing konsentrasi ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja diukur dengan menggunakan jangka sorong menunjukkan perbedaan hasil masing – masing konsentrasi, perbedaan tersebut terjadi karna beberapa

faktor salah satunya perbedaan konsentrasi ekstrak itu sendiri dan kepekaan bakteri terhadap larutan uji, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar daya hambat yang dihasilkan.

Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakter Bonggol Pisang Ambon

Bakteri Uji	Pengulangan	Diameter daya hambat					
		Konsentrasi Ekstrak %				kontrol	
		50	25	12,5	6,25	(+)	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	11,4	10,8	8,5	8,4	22,4	0
	2	11,5	10,6	8,5	8,2	23,4	0
Rata - Rata		11,45	10,7	8,5	8,3	22,9	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	9,2	8,1	7,9	7,3	22,2	0
	2	9,6	7,8	6,5	6,6	24,2	0
Rata - Rata		9,4	7,95	7,2	6,95	23,2	0

Keterangan

Kontrol + : *Staphylococcus aureus* (Klindamisin)
Pseudomonas aeruginosa (Ciprofloxain)
 Kontrol - : DMSO 10% Dimetyl sulfoksida

Table 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Bonggol Pisang Raja

Bakteri Uji	Pengulangan	Konsentras Ekstrak%				kontrol	
		50	25	12,5	6,25	(+)	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	11,9	11,2	10,4	9,3	24,3	0
	2	11,8	11,6	9,5	8,3	23,4	0
Rata - Rata		11,85	11,4	9,95	8,8	23,85	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	9,8	8,2	7,4	6,9	25,4	0
	2	9,4	7,8	7,7	7,3	22,6	0
Rata - Rata		9,6	8	7,2	7,1	23,5	0

Keterangan

Kontrol + : *Staphylococcus aureus* (Klindamisin)
Pseudomonas aeruginosa (Ciprofloxain)
 Kontrol - : DMSO 10% Dimetyl sulfoksida

Hasil perhitungan rata - rata diameter zona hambat yang ditimbulkan dari ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja dari berbagai konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dihasilkan daya hambat yang berbeda - beda pada setiap pengulangannya. Uji ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* didapatkan zona hambat terbesar pada konsentrasi 50% dari kedua sampel yang digunakan dimana ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50% memiliki rata - rata diameter daya hambat 11,45mm dan 11,85mm lalu hasil diameter daya hambat dari ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terhadap *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 50% didapat rata - rata diameter daya hambat 9,4mm dan 9,6mm. Hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa masih ada aktivitas antibakteri dari ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. pada penelitian sebelumnya yang didapatkan pada hasil diameter daya hambat pelepah ekstrak pisang ambon yaitu dengan konsentrasi 50% memiliki rata - rata 25,3mm dan pada penelitian ekstrak pelepah pisang ambon dihasilkan 15% dengan rata- rata 15,5mm. perbedaan diameter daya hambat yang dihasilkan pada pengujian efektivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya jumlah bakteri, konsentrasi zat antibakteri, ketebalan medium pertumbuhan bakteri dan intensitas resapan zat uji pada cakram.

Menurut hasil penelitian dapat disimpulkan aktivitas antibakteri dari ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja pada berbagai konsentrasi 50% yang merupakan konsentrasi tertinggi pada penelitian ini mempunyai kategori daya hambat yang kuat. Perbedaan kategori dikarenakan semakin tinggi kadar larut uji semakin besar daya hambatnya.

Pembanding kontrol (-) yang digunakan penelitian ini DMSO 10% karna DMSO 10% merupakan pelarut dari ekstrak kental dan terbukti tidak memberikan daya hambat pada percobaan yang telah dilakukan selain itu pada penelitian ini juga digunakan kontrol (+) dimana pembanding antibiotik yang digunakan yaitu

klindamisin untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan ciprofloxacin untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

4.6 Hasil Konsentrasi Hambat Minimum

Pada ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja kemudian dilakukan pengujian pada konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode dilusi padat, karena metode ini memiliki keunggulan yaitu homogenitas antara bahan uji dengan media dan metode ini lebih mudah untuk digunakan. Penentuan konsentrasi daya hambat dilakukan dengan menurunkan konsentrasi ekstrak yaitu 6,25%, 5,25%, 4,25%, 3,25%.

Table 4.5 Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) Bonggol Pisang Ambon

Bakteri uji	Konsentrasi Ekstrak %			
	6,25	5,25	4,25	3,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	(-)	(+)	(+)	(+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	(+)	(+)	(+)

Keterangan : (-) Tidak terdapat pertumbuhan bakteri

(+) Terdapat pertumbuhan bakteri

Table 4.5 Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) Bonggol Pisang Raja

Bakteri uji	Konsentrasi Ekstrak %			
	6,25	5,25	4,25	3,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	(-)	(+)	(+)	(+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	(+)	(+)	(+)

Keterangan : (-) Tidak terdapat pertumbuhan bakteri

(+) Terdapat pertumbuhan bakteri

Kedua table diatas terlihat bahwa berbagai macam konsentrasi yang digunakan 6,25%, 5,25%, 4,25%, 3,25% pada ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* mempunyai konsentrasi daya hambat minimum yang berbeda dimana pada konsentrasi tertinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan pada konsentrasi yang lainnya terdapat pertumbuhan bakteri. lalu dapat disimpulkan semakin besar konsentrasi yang

digunakan maka semakin sedikit pertumbuhan bakteri dan sebaliknya. Hasil penelitian dalam menghambat pertumbuhan ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25% seperti pada penelitian sebelumnya ekstrak pelepah pisang ambon memiliki efektifitas menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 15% sedangkan pada ekstrak pelepah pisang raja memiliki efektifitas menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 12,5% sedangkan, ekstrak bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja memiliki aktifitas antibakteri pada konsentrasi 6,25%.(Lampiran 8)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.A Kesimpulan

1. Ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Dan hasil terbesar didapatkan pada konsentrasi 50% bonggol pisang ambon pada *staphylococcus aureus* yaitu 11,45mm dan pada pisang raja 11,85mm.
2. Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak etanol bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* hanya terdapat pada konsentrasi 6,25%.

V.B Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut isolasi senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dari bonggol pisang ambon dan pisang raja
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dalam melakukan pengujian antibakteri bonggol pisang ambon dan bonggol pisang raja terhadap penyakit lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (1995). Farmakope Indonesia. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Hal. 63.
- Anonim. (1986). *Sedian Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Daniells, J.: Jenny, C.: Karamura, D: Tomekpe, K., (2001). *Musalogue: a catalogue of musa germplasm. Diversity in the improvement of Banana and plantain, Montpellier, France* (E. Arnaud and S. sharrock, compil.
- Djulkarnain HB. (1998). *Pohon Obat Keluarga*. Jakarta
- Djuanda AI, dkk. (2011). *Ilmu Penyakit Kulit dan kelamin*. Edisi 6. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, p.3-4, 7-8.
- Dwidjoseputro, D. (1978). *Pengantar Mikrobiologi*. Penerbit Alumni Bogor.
- Dwidjoseputro, D.(1998). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta
- Ganiswara (2009). *Farmakologi dan terapi edisi IV*, 271-288 dan 800-801, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta
- Greenwood (1995), *Antibiotics Suscepibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial ant Chemotrapy*, Addison Westley Longman Inc, San Fransisco, USA.
- Harbone, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB. Halaman 5,234. Bandung.
- Hasanah U. (2015). *Mikrobiologi*. Unimed Press: medan
- Jawetz. E., J.L Melnick dan E.A. Adelberg. (1995). *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi XX*, diterjemahkan (Nugroho & R.F .Maulany). penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta

- Jawetz, E., J.L Melnick dan E.A. Adelberg. (2001). *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi XXII*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi
- Mayasari, E. (2006). *Pseudomonas aeruginosa: karakteristik, infeksi dan penanganan*. Sumatra Utara
- Ngajow, M., Abidjulu, J. dan Kamu, V. S., (2013), Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Matoa (*Pometia Pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro, *Jurnal MIPA Unsrat Online* 2 (2), p. 128-132.
- Pratiwi, S.T., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga, Jakarta: 150-171.
- Priesoeryanto, B. P, Huminoto H, Wientarsih I, dan Estuningsih S. (2006). *Aktifitas Getah Pohon Pisang Dalam Proses Persembuhan Luka dan Efek Kosmetik Pada Hewan*. Universitas Institut Pertanian Bogor
- Roedyarto, (1997). *Budidaya Pisang Ambon*. Cetak 1. Surabaya: PT Trubus Agrisarana
- Rukmana, R. (1999). *Usaha Tani Pisang*. Kanisius. jogja
- Salle, A, J. (1961) *Fundamental Principles OF Bacteriology*. New York: Mc Graw Hill company Inc
- Satrana, D. K. (2017). Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol 70% Daun Tegginginanang (*Cassia Planisiliqua Burm.F.*) (Pada Mencit Jantan (*Mus Musculus L.*) Dengan Metode Writhingreflex. Skripsi. Fakultas Farmasi ISTN
- Satuhu, S dan Supriyadi, A. (2011). *Pengelolaan dan prospek pasar*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sirait, M. (2007). *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*. Bandung: Institut Teknologi. Bandung hal. 158-159.
- Suhartanto, Rahmad, et. al. (2012). *Teknologi Sehat Budidaya Pisang: Dari Benih Sampai Pasca Panen*. Pusat Kajian Hortikultura Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat. Universitas IPB
- Sutriani, (2008). *teknik pembelajaran fitokimia*. semarang: Universitas Muhamadiyah
- Suyanti, (2008). *Pisang Budidaya pengolahan dan Prospek Pasar*. Jakarta.
- Syahrurahman, dkk. (2010). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta:

- Binarupa Aksara Publishers 237-239
- Tjitroesopomo, G., (2001). *Taksonomi Tumbuhan*, cetakan 13 Yogyakarta :
Universitas Gajah Mada. Hal106
- Zuhairini, E., (1997). *Budidaya Pisang Raja*. Surabaya. Trubus Agrisarana
hal 64-68
- Zukhri, et al (2017). *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Pelepah Pisang
Raja pada Bakteri Staphylococcus Aureus*. Stikes Muhamadiyah,
Klaten hal 2-4

