

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH MARKISA
KUNING (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* D.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:

WAHYU KRISNA AJI

NIM: 15620087



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH MARKISA
KUNING (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* D.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:

WAHYU KRISNA AJI

NIM. 15620087

Diajukan kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

**Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh
gelar Sarjana Sains (S.Si)**

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2020

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH
MARKISA KUNING (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
WAHYU KRISNA AJI
NIM: 15620087

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:
tanggal 1 Desember 2020

Dosen Pembimbing I



Dr. Nur Kusmiyati, M. Si
NIP. 19890816 2016080 1 2061

Dosen Pembimbing II



Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.
NIP. 197312121998031008

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P




NIP. 19741018 200312 2 002

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH MARKISA
KUNING (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli*

SKRIPSI

Oleh:
WAHYU KRISNA AJI
NIM. 15620087

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 16 Desember 2020

Penguji Utama	<u>Ir. Liliek Harianie A. R., M. P</u> NIP. 19620901 199803 2 001	
Ketua Penguji	<u>Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc</u> NIP. 19900428 20160801 2 062	
Sekretaris Penguji	<u>Dr. Nur Kusmiyati, M. Si</u> NIP. 19890816 2016080 1 2061	
Anggota Penguji	<u>Dr. Ahmad Barizi, M.A</u> NIP. 19731212 199803 1 008	

Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Syukur *Alhamdulillah* penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya serta atas segala nikmat yang tidak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Shalawat dan salam tetap selalu tucurahkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW Karena Beliaulah yang mengubah kegelapan peradaban jahiliyah menjadi terang benderang melalui cahaya Islam dan ilmu pengetahuan hakiki.

Kiranya penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini telah mendapatkan banyak bantuan dan dorongan semangat dari berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ayahku Slamet dan Ibuku Erna serta kakakku Yudha dan Adikku Wanda yang telah mendidik dan selalu memberikan kasih sayang dengan sepenuh hati dan yang memberikan semangat serta mendoakan yang terbaik. Terima kasih telah memberikan do'a restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan kasih sayang Allah lselalu menaungi mereka dan kemudian kelak dikumpulkan di Surga-Nya.
2. Kakekku Sujudi dan Nenekku Nur Samsi, yang selalu memberi semangat dan dukungan kepada penulis.
3. Dr. Nur Kusmiyati, M.Si. sebagai dosen pembimbing skripsi. Terimakasih atas kesabaran serta keikhlasan telah memberikan bimbingan, nasihat, pengarahan dan dorongan dalam penyusunan skripsi ini. Semoga ibu selalu diberi kesehatan, rezeki dan barokah umur.
4. Dr. H. Ahmad Barizi, M.A. selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.

5. Prilya Dewi Fitriasaki, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dalam penulisan skripsi ini..
6. Ir. Liliek Harianie AR,M. selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dalam penulisan skripsi ini.
7. Shinta, M.Si. selaku dosen wali yang selalu sabar membimbing penulis dari semester 1 hingga saat ini.
8. Mbak Retno selaku laboran yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada saya dengan sangat sabar.
9. Teman-teman suka duka selama di kota Malang Ainun, Ratna, Habibi, dan teman-teman lainnya. Terima kasih atas kenangan indah selama di Malang. Semoga kalian semua sukses dan menjadi orang yang bermanfaat.
10. Sahabatku Beyle dan Muhammad yang saat ini berada di kampung halamannya Somalia, semoga keadaan kalian selalu sehat dan semoga silaturahmi diantara kita tetap terjaga.

MOTTO

*“Kesulitan itu akan datang, tetapi dia tidak akan menetap
Dia akan datang dan pergi, tergantung bagaimana
cara menyikapinya” – Merry Riana*



*“Learn continually. There is always
One more thing to learn” – Steve Jobs*

PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wahyu Krisna Aji
NIM : 15620087
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa D.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan pengambilan data, tulisan, maupun pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini adalah hasil jiplakan, maka saya siap menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Malang, 1 Desember 2020
Yang membuat pernyataan



Wahyu Krisna Aji
NIM 15620087

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning (*Passiflora edulis var.flavicarpa* D.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” merupakan karya tulis yang tidak dipublikasikan dengan hak cipta oleh penulis dan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Akan tetapi, karya tulis ini tersedia dalam lingkungan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, dan diperkenankan digunakan sebagai sumber referensi dengan pengutipan harus seizin penyusun dan sesuai dengan kaidah penulisan karya tulis ilmiah.



KATA PENGANTAR

Puji syukur Allhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sekaligus tugas akhir ini dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Nur Kusmiyati., M.Si. dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A. selaku dosen pembimbing biologi dan pembimbing agama. Terimakasih atas kesabaran serta keikhlasan telah memberikan bimbingan, pengarahan dan dorongan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Prilya Dewi Safitri selaku dosen penguji yang memberikan saran dan nasehat yang bermanfaat.
6. Ir. Liliek Harianie AR,M. P selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun yang membantu dalam terselainya skripsi ini.
7. Shinta, M.Si, selaku dosen wali yang selalu memberikan bimbingan dan masukan yang bermanfaat.
8. Seluruh dosen, Laboran Jurusan Biologi dan Staf Administrasi yang telah membantu dan memberikan kemudahan, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.

9. Bapak, Ibu segenap keluargaku lainnya yang tak pernah lelah untuk tetap mendukung baik secara moril dan materil serta ketulusan doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
10. Keluarga besar Biologi, terkhusus untuk angkatan 2015, terimakasih atas semua dukungan, semangat, dan pertemanan yang terjalin.

Semoga Allah memberikan balasan atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Akhir kata, penulis berharap semoga karya sederhana ini dapat bermanfaat dan menjadi inspirasi bagi peneliti lain serta menambah khasanah ilmu pengetahuan bagi semua pembaca, Amiin.

Malang, 1 Desember 2020

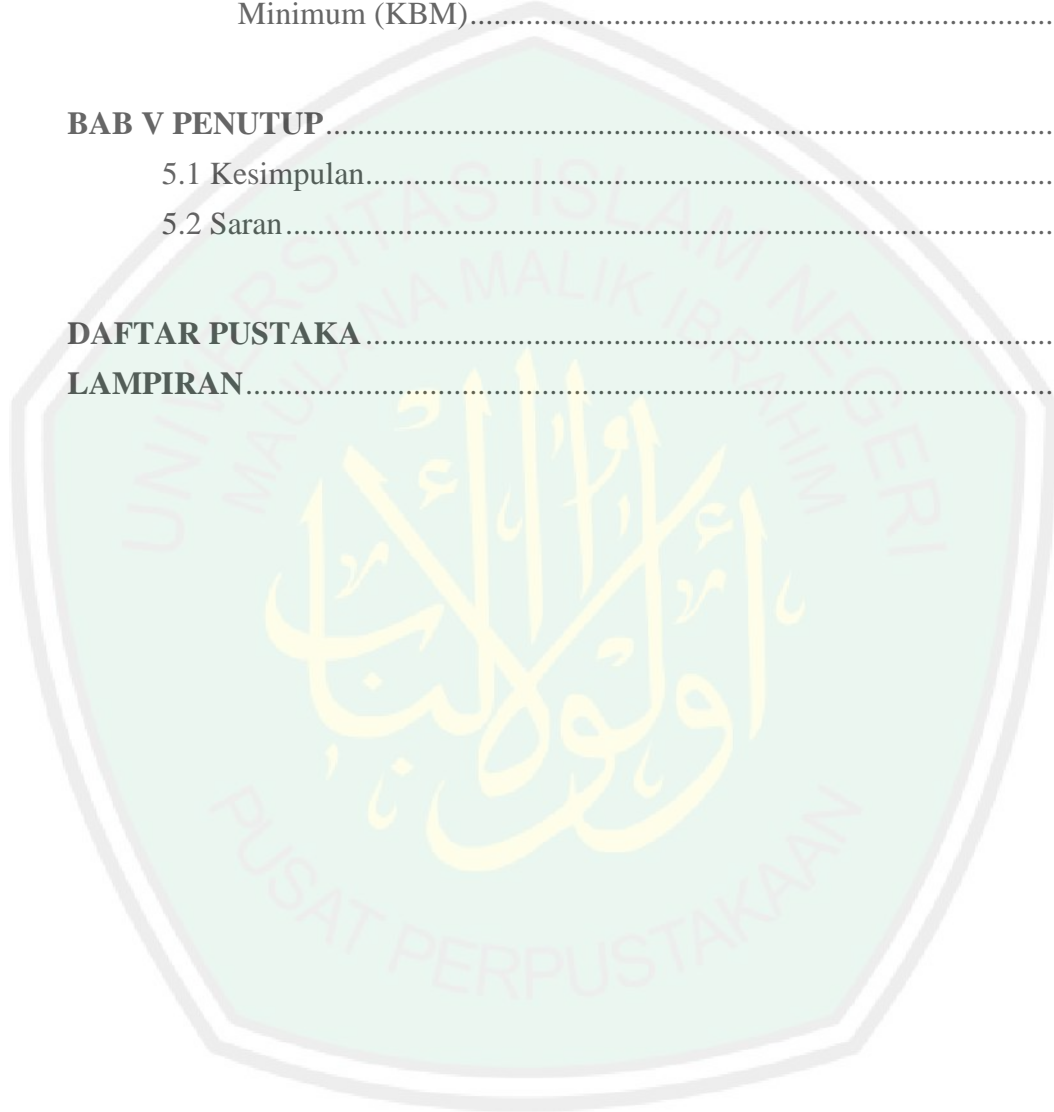
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	vi
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK	xvii
ABSTRACT	xviii
صغالما	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Hipotesis	6
1.5 Batasan Penelitian	7
1.6 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Markisa (<i>Passiflora edulis</i>)	8
2.1.1 Klasifikasi Markisa	9
2.1.2 Morfologi	10
2.1.3 Ekologi dan Penyebaran	12
2.1.4 Manfaat dan Kandungan Buah Markisa	13

2.1.4.1 Flavonoid	15
2.1.4.2 Tanin	15
2.1.4.3 Saponin	16
2.1.4.4 Steroid	17
2.2 Antimikroba	18
2.3 Kulit Buah Markisa Sebagai Antimikroba	20
2.4 Bakteri Patogen	21
2.5 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	23
2.6 Patogenitas Bakteri <i>E. coli</i>	25
2.7 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
2.8 Patogenitas <i>S. aureus</i>	29
2.9 Uji Konfirmasi.....	29
2.10 Ekstraksi Maserasi.....	30
2.11 Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum...32	
BAB III METODE PENELITIAN	34
3.1 Rancangan Penelitian	34
3.2 Waktu dan Tempat	34
3.3 Alat dan Bahan	35
3.3.1 Alat	35
3.3.2 Bahan.....	35
3.4 Variabel	35
3.5 Tahapan Penelitian	36
3.6 Cara Kerja	36
3.6.1 Preparasi Sampel Kulit Buah Markisa.....	36
3.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Markisa dengan Maserasi	36
3.6.3 Pembuatan Media Nutrient Agar	37
3.6.4 Pembuatan Media Nutrient Broth.....	37
3.6.5 Peremajaan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> 37	
3.6.6 Pembuatan Inokulum Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	38
3.6.7 Uji Konfirmasi <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	39
3.6.8 Uji Aktivitas Antibakteri	40

3.6.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	41
3.6.10 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	42
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	43
4.1 Uji Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Markisa Kuning	43
4.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).....	44
BAB V PENUTUP.....	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	54



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Buah Markisa per 100 gram.....	14
Tabel 4.1.1 Data Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning dengan Konsentrasi 350 mg/mL	43
Tabel 4.2.1 Data Hasil Uji KHM Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E.coli</i>	45
Tabel 4.2.2 Data Hasil Uji KBM Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E.coli</i>	46

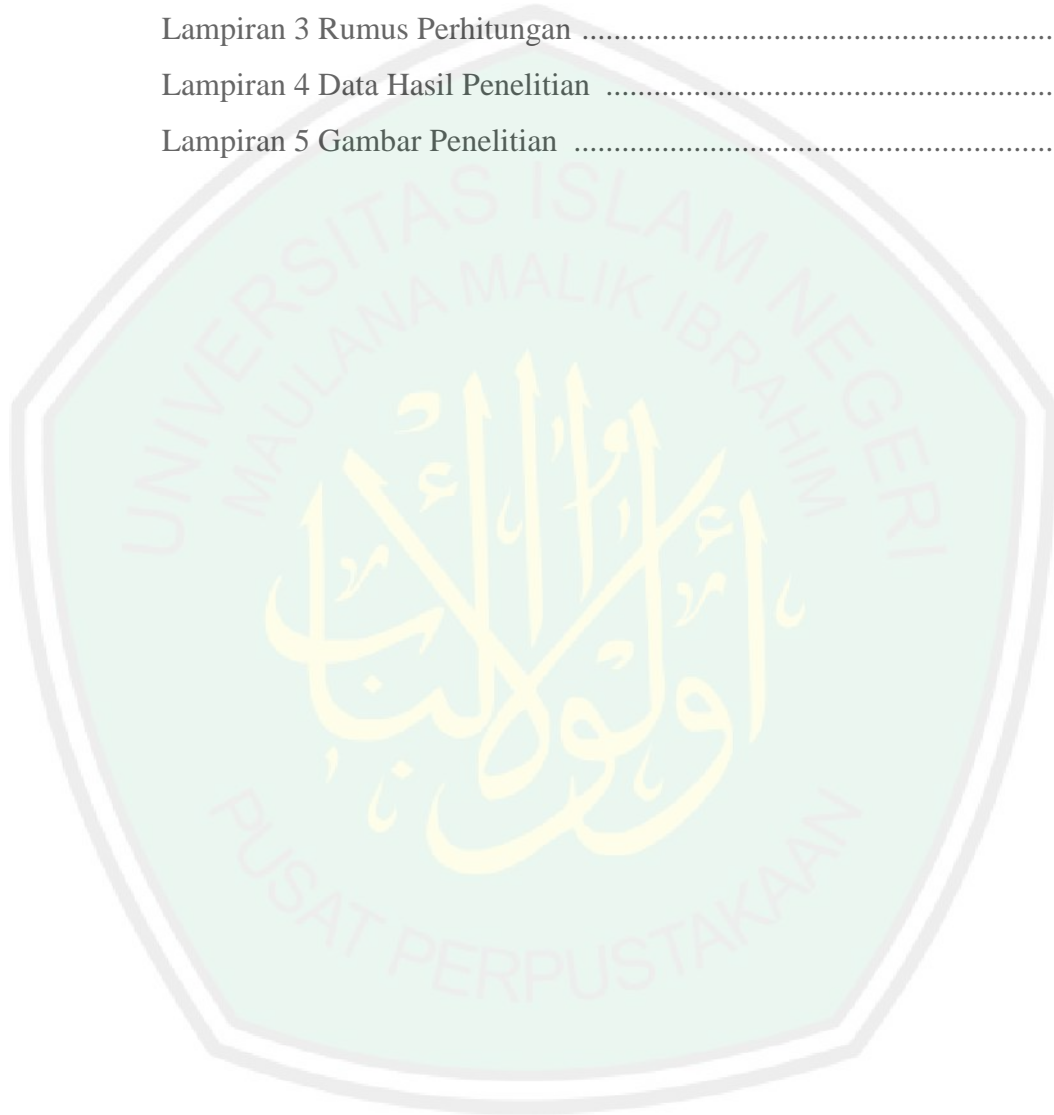


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Markisa Ungu	11
Gambar 2.2 Morfologi Tanaman Markisa Kuning.....	12
Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid.....	15
Gambar 2.4 Struktur Kimia Tanin.....	16
Gambar 2.5 Struktur Kimia Saponin.....	17
Gambar 2.6 Struktur Kimia Steroid	18
Gambar 2.7 Bakteri <i>Escherichia coli</i> Berdasarkan Pewarnaan Gram.....	24
Gambar 2.8 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Berdasarkan Pewarnaan Gram.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Rancangan Penelitian	53
Lampiran 2 Langkah Kerja	54
Lampiran 3 Rumus Perhitungan	58
Lampiran 4 Data Hasil Penelitian	59
Lampiran 5 Gambar Penelitian	60



ABSTRAK

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Wahyu Krisna Aji, Nur Kusmiyati, Ahmad Barizi

Markisa adalah tanaman yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, diantaranya adalah sebagai antioksidan, antitumor, anti-inflamasi, antifungal, dan antibakteri. Kulit buah markisa ungu diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* (Nugraha dkk, 2019). Akan tetapi, dalam penelitian tersebut hanya sebatas dilakukan uji antibakteri dan fitokimia kulit markisa ungu. Oleh karenanya diperlukan penelitian untuk melengkapi kekurangan tersebut. Selain itu, juga perlu dilakukan eksplorasi aktivitas antibakteri pada jenis markisa lainnya, salah satunya adalah markisa kuning. Penelitian ini dilakukan secara dua tahap, yaitu uji antibakteri dan dilanjutkan dengan uji KHM dan KBM. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi, sedangkan KHM dan KBM ditentukan dengan metode dilusi dengan konsentrasi ekstrak kulit buah markisa kuning yang digunakan adalah 25, 50, 75, 100 dan 350 mg/mL. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan adanya zona hambat sebesar 12, 73 mm pada *S. aureus* dan 11, 54 mm pada *E. coli*. Nilai KHM pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan nilai positif pada konsentrasi 350 mg/mL. Sementara itu, hasil uji KBM masih menunjukkan adanya pertumbuhan pada bakteri sehingga ekstrak kulit buah markisa kuning termasuk zat antibakteri yang bersifat bakteriostatik.

Kata kunci: *Markisa, Markisa Kuning, Antibakteri, KHM, KBM.*

ABSTRACT

Antibacterial Test of Yellow Passion Fruit Ekstract (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* D.) to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Wahyu Krisna Aji, Nur Kusmiyati, Ahmad Barizi

Passion fruit is a plant that has many health benefits, such as antioxidants, anti-tumor, anti-inflammatory, anti-fungal, and antibacteria. According to Nugraha et. al (2019), purple passion fruit peel was known having antibacteria activity to *S. aureus* and *E. coli*. But, this research was only limited to testing antibacteria and phytochemical of purple passion fruit peel. Therefore, further research is needed to make up for these shortcomings. Beside that, exploration of antibacteria activity to other passion fruit is needed, one of them yellow passion fruit. This research was conducted in two stages, namely antibacterial test and continued by MIC and MBC test. Antibacterial test was carried out using diffusion method, while MIC and MBC determined using dilution method with the yellow passion fruit extract concentration were 25, 50, 75, 100, and 350 mg/mL. The result of antibacterial activity test showed an inhibitory zone of 12, 73 mm in *S. aureus* and 11, 54 mm in *E. coli*. The MIC value of *S. aureus* and *E. coli* showed positive result in 350 mg/mL concentration. Meanwhile, the MBC test result still showing the growth of bacteria that indicate the yellow passion fruit peel extract is bacteriostatic antibacteria.

Keywords: Passion Fruit, Yellow Passion Fruit, Antibacteria, MIC, MBC

مستخلص البحث

اختبار نشاط المضاد للبكتيريا لخلع قشرة فاكهة مركيسا الصفراء (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) على بكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* (D).

واهيو كريسناجي ، نور قسيميائي ، أحمد باريزي

لفاكهة مركيسا الفوائد المتنوعة للصحية، منها المضاد للأكسدة، والمضاد للأورام، والمضاد للالتهابات، والمضاد للفطريات، والمضاد للبكتيريا. عند نوكرأا وأخواته (2019)، من المعروف أن قشرة فاكهة مركيسا الأرجواني لها نشاط مضاد للجراثيم ضد بكتيريا على *S. aureus* و *E. coli*. ولكن، تم إجراء الاختبارات في هذا البحث المضاد للبكتيريا والكيمياء النباتية لقشرة مركيسا الأرجواني. لذلك هناك حاجة إلى البحث لاستكمال النقص. بالإضافة إلى ذلك، من الضروري أيضا استكشاف نشاط المضاد للبكتيريا لأنواع أخرى من فاكهة مركيسا، أحدها مركيسا الصفراء. تم إجراء هذا البحث على مرحلتين، وهما اختبار المضاد للبكتيريا متبوعا بـ KBM و KHM. وتم إجراء اختبار المضاد للجراثيم بطريقة الانتشار، أما KBM و KHM تحدد بطريقة التخفيف مع تركيزات خلع قشر فاكهة مركيسا الصفراء المستخدمة كانت 25، 50، 75، 100 و 350 مجم /مل. أظهرت نتائج اختبار النشاط المضاد للبكتيريا منطقة تثبيط 12.73 ملم في *S. aureus* و 11.54 ملم في *E. coli*. أظهرت قيم KHM في *S. aureus* و *E. coli* قيمة موجبة بتركيز 350 مجم / مل. في هذه الأثناء ، أظهرت نتائج اختبار KBM نموًا في البكتيريا ، لذا كان مستخلص قشر فاكهة العاطفة الصفراء عاملاً مضاداً للجراثيم.

الكلمات المفتاحية: مركيسا، مركيسا الصفراء، المضاد للبكتيريا، KBM، KHM



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara dengan mega biodiversitas terbesar di dunia selain Brazil dan Republik Demokratik Kongo. Keragaman hayati di Indonesia sangat berlimpah oleh karena beriklim tropis dengan curah hujan yang tinggi sehingga sangat mendukung pertumbuhan dan perkembangan makhluk hidup. Salah satu contoh keragaman hayati yang dapat diamati adalah keragaman flora atau tumbuh-tumbuhan. Hal ini sebagaimana firman Allah SWT di dalam Al-Quran Surah Thaaha Ayat 53 sebagai berikut :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ
شَتَّىٰ (٥٣)

Artinya: “(Allah SWT) yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (Q.S. Thaahaa/20:53).

Abdullah (2003) menyatakan bahwasanya makna dari فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّىٰ adalah keberagaman jenis pada tumbuh-tumbuhan. Pada ayat tersebut dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan beragam jenis tumbuhan dengan aneka rasa, yaitu asam, pahit, dan manis serta dengan manfaat yang sangat beragam pada masing-masing jenis tumbuhan. Salah satu jenis tumbuh-tumbuhan tersebut diantaranya adalah markisa.

Markisa adalah jenis tumbuhan yang tumbuh pada iklim sub-tropis dan tropis. Jenis tumbuhan ini sangat bervariasi dengan bentuk semak atau pohon kecil (Karsinah, 2007). Jenis markisa yang diketahui bisa dikonsumsi adalah sekitar 50-60 dari 400 jenis lainnya. Beberapa jenis markisa adalah tanaman budidaya, yang paling banyak dibudidayakan untuk tujuan komersial, yaitu

markisa ungu (*Passiflora edulis* S.) dan markisa kuning (*Passiflora edulis* var.*flavicarpa* D.) (Nakasone dan Paul, 1999).

Markisa kuning adalah mutasi dari markisa ungu sehingga ciri morfologi maupun sifatnya sedikit berbeda dari markisa ungu. Markisa kuning adalah tumbuhan herba berkayu, panjang batang antara 7-10 cm, daun menjari dengan panjang 10-13 cm dan lebar 9-12 cm (Halima, 2014). Tumbuhan ini adalah salah satu tanaman budidaya di negara beriklim tropis seperti Puerto Rico, Kuba, Venezuela, Kolumbia, Suriname, Brazil, dan Haiti. Tanaman ini juga banyak di budidayakan di Indonesia khususnya Sumatra Utara dan Jawa Barat. Daerah di Sumatra Utara yang diketahui banyak membudidayakan markisa kuning adalah Simalungun, Langkat, dan Medan. Sedangkan di Jawa Barat tanaman markisa ini banyak dijumpai di Sukabumi, Pelabuhan Ratu, dan Bogor (Surianta, 2011). Budidaya tanaman markisa banyak dilakukan karena manfaatnya yang baik untuk kesehatan (Rudnicki dkk, 2007) dan bernilai ekonomis (Machado dkk, 2009).

Warna jingga jus pada markisa menunjukkan kandungan antioksidan yang tinggi. Antioksidan adalah zat penangkal radikal bebas bagi tubuh (Rudnicki dkk, 2007). Patel (2009) menyatakan bahwasanya penggunaan markisa dalam farmasi adalah sebagai anti-inflamasi, antitumor, antifungal, antihipertensi, dan sebagai antibakteri (Nugraha dkk, 2019). Kandungan serat yang tinggi menjadikan buah markisa sangat baik untuk kesehatan pencernaan (Rudnicki dkk, 2007). Manfaat buah markisa seperti disebut di atas disebabkan oleh kompoonen fitokimia dalam buah markisa kuning yang meliputi karotenoid 0,058%, alkaloid 0,700%, dan flavonoid 1,000% (Karsinah, 2010). Selain itu, markisa juga mengandung beberapa zat gizi seperti vitamin A, vitamin C, thiamin, riboflavin, niasin, folat, potasium, besi, fosfor, kalsium, serat, karbohidrat, lemak, dan protein (Wenkam, 1990).

Allah SWT berfirman di dalam Al-Quran Surah Yaasiin Ayat 36 sebagai berikut :

سُبْحَانَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ (٣٦)

Artinya : “Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui.” (Q.S. Yaasiin/36:36).

Abdullah (2004), menyatakan bahwasanya makna berpasang-pasangan (الأزواج) pada ayat di atas adalah segala ciptaan Allah SWT yang diciptakan saling berpasangan untuk melengkapi kekurangan masing-masing. Salah satu contoh nyata untuk lebih memahami makna dari berpasang-pasangan dapat dilihat pada analogi buah dan kulitnya. Kulit buah dalam hal ini berperan penting dalam melindungi buah dari kerusakan akibat pengaruh luar. Kemampuan kulit buah tersebut dikarenakan struktur penyusun kulit buah tebal dan rapat. Selain itu, pada beberapa jenis kulit buah-buahan mengandung senyawa penting seperti flavonoid, tanin, saponin, dan senyawa-senyawa fitokimia lain yang dapat menghambat bahkan membunuh bakteri patogen. Salah satu kulit buah-buahan dengan kemampuan antibakteri tersebut adalah kulit buah markisa, khususnya markisa kuning.

Markisa kuning merupakan famili dari *Passifloraceae* yang merupakan buah eksotik dengan rasa yang khas. Buah markisa kuning secara komersial banyak ditanam di daerah beriklim tropis dan sub-tropis. Hasil produk buah markisa yang paling populer dipasaran adalah jusnya (Simmaky dan Jaanaki, 2014). Akan tetapi, selama proses pembuatan jus tersebut, juga menghasilkan limbah berupa kulit buah markisa yang dapat menimbulkan masalah polusi di lingkungan. Salah satu bentuk dalam mengatasi permasalahan limbah kulit buah markisa dengan mengubahnya menjadi zat antibakteri. Hal ini mengacu pada hasil penelitian Nugraha dkk (2019), yang menunjukkan adanya kemampuan ekstrak kulit buah markisa ungu dalam menghambat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kemampuan antibakteri tersebut diakibatkan oleh senyawa-senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya. Dewi (2010)

menyatakan bahwasanya kemampuan antibakteri suatu senyawa bisa diketahui dengan melihat zona hambatnya. Akan tetapi, selain menggunakan zona hambat sebagai patokan, aktivitas antibakteri bisa juga ditentukan berdasarkan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) maupun KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum).

KHM dapat diartikan sebagai konsentrasi paling kecil antibakteri agar dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sedangkan KBM adalah konsentrasi terkecil untuk membunuh bakteri (Forbes, 2007). Penentuan KBM dan KHM adalah dengan metode dilusi. Metode dilusi menurut Jawetz dkk (2007) adalah metode untuk mengetahui kuantitas antibakteri yang bisa menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji, dimana pada penelitian ini digunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri uji.

Keberadaan bakteri seperti disebutkan di atas telah disinggung dalam firman Allah SWT Surah Yunus Ayat 61 berikut :

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُبَيِّضُونَ فِيهِ^٤ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

Artinya : "*Dan tidakkah engkau (Muhammad) berada dalam suatu urusan, dan tidak membaca suatu ayat Al-Qur'an serta tidak pula kamu melakukan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak lengah sedikit pun dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarah, baik di bumi ataupun di langit. Tidak ada sesuatu yang lebih kecil dan yang lebih besar daripada itu, melainkan semua tercatat dalam Kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh).*" (Q. S. Yunus/10:61).

Kata ذَرَّةٌ dalam ayat di atas menurut Burhanuddin (2010), lebih dimaksudkan untuk menunjuk kepada ukuran yang sangat kecil. Hal ini dikarenakan orang-orang pada zaman itu belum mengetahui keberadaan benda atau makhluk yang sangat kecil ukurannya atau bisa juga dikarenakan pada zaman itu tidak ada benda yang bisa digunakan untuk menggambarkan makna ذَرَّةٌ

tersebut. Sementara itu, apabila dilihat dari sudut pandang ilmu hayat, makna ذَّرَّةٌ dapat merujuk pada mikroorganisme yang sangat kecil ukurannya, salah satunya adalah bakteri. Warsito (1995) menyatakan bahwasanya bakteri adalah organisme prokariot yang terdiri dari satu sel tunggal, tanpa klorofil, dan sangat renik ukurannya. Kehadiran bakteri dapat berdampak positif maupun negatif tergantung jenis bakterinya. Hal ini dikarenakan bakteri dapat bersifat patogen dan kehadirannya menjadi penyebab munculnya penyakit-penyakit infeksi, seperti halnya *E. coli* dan *S. aureus*.

Staphylococcus aureus adalah penyebab penyakit infeksi seperti pneumonia, keracunan makanan, septicaemia, dan abses (Bernardo dkk, 2005), sedangkan *E. coli* adalah penyebab diare dan kram perut (Jawetz dkk, 2007). Penggunaan kedua spesies bakteri di atas adalah sebagai perwakilan dari kelompok Gram positif (*S. aureus*) dan Gram negatif (*E. coli*) untuk mengetahui efektifitas dan pengaruh ekstrak kulit markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.) terhadap masing-masing kelompok bakteri. Sementara itu, penggunaan konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 300 mg/mL menyesuaikan dengan penelitian Nugraha dkk (2019), yang menggunakan ekstrak kulit markisa ungu pada konsentrasi 6,25, 12,5, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, dan 500 mg/mL. Berdasarkan pada penelitian tersebut, pada konsentrasi 6,25 mg/mL tidak didapati adanya aktivitas antibakteri, akan tetapi pada konsentrasi 12,5 mg/mL terlihat adanya aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat sebesar 7, 33 mm pada *S. aureus* dan 7, 26 mm pada *E. coli*. Konsentrasi 100 mg/mL dan 500 mg/mL ekstrak kulit markisa ungu masing-masing menunjukkan zona hambat dengan diameter 14,2 mm dan 20,3 mm pada *S. aureus* serta 14,23 mm dan 20,43 mm pada *E. coli*. Akan tetapi, pada penelitian tersebut tidak dilakukan uji KHM dan KBM serta hanya sebatas pada uji antibakteri, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk melengkapi kekurangan pada penelitian tersebut.

Latar belakang di atas menjelaskan potensi-potensi ekstrak kulit buah markisa, terutama buah markisa kuning. Disamping kemampuan antibakterinya, penelitian tentang pemanfaatan kulit buah markisa kuning juga masih belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini berperan penting dalam

menjelaskan manfaat dan potensi ekstrak kulit buah markisa kuning sebagai antibakteri.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian adalah :

1. Apakah terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah markisa kuning (*Passiflora edulis var.flavicarpa* D.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ?
2. Berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak kulit buah markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ?

1.3. Tujuan

Tujuan penelitian adalah untuk :

1. Mengetahui kemampuan aktivitas antibakteri pada ekstrak kulit buah markisa kuning (*P. edulis var.flavicarpa* D.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak kulit buah markisa kuning (*P. edulis var.flavicarpa* D.) pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

1.4. Hipotesis

Hipotesis penelitian adalah :

1. Ada aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah markisa kuning (*P. edulis var.flavicarpa* D.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Ada KHM dan KBM ekstrak kulit buah markisa kuning (*P. edulis var.flavicarpa* D.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian adalah :

1. Buah markisa yang digunakan adalah markisa kuning (*P. edulis var.flavicarpa* D.) dan berasal dari Desa Sirnobojo, Kecamatan Pacitan, Kabupaten Pacitan, Provinsi Jawa Timur.
2. Bakteri uji yang digunakan adalah *E. coli* dan *S. aureus* yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
3. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan ekstraksi maserasi pada pelarut etanol.
4. Ekstrak kulit buah markisa kuning (*P. edulis var.flavicarpa* D.) yang digunakan dibuat dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 350 mg/mL.

1.6. Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukannya penelitian adalah sebagai salah satu referensi dalam bidang kesehatan terutama dalam pembuatan obat-obatan antibakteri. Selain itu, hasil penelitian ini juga bisa dikembangkan sebagai alternatif dari antibiotik.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Markisa (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.)

Buah-buahan adalah salah satu hal yang paling banyak disinggung dalam Al-Quran. Salah satu ayat Al-Quran yang menjelaskan tentang buah-buahan adalah Surah An-Nahl Ayat 11 sebagai berikut:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya : "*Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untuk kamu tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir.*" (Q. S. An-Nahl/16:11).

Ayat di atas menjelaskan bahwasanya Allah SWT menumbuhkan semuanya dari bumi dengan air yang sama, tetapi hasilnya berbeda jenis, rasa, warna, bau, dan bentuknya (Abdullah, 2003). Air yang diturunkan dari langit itu dapat menumbuhkan tanaman-tanaman yang menghasilkan biji-bijian, zaitun, kurma, dan jenis-buah-buahan lainnya (Shihab, 2002). Salah satu jenis buah-buahan tersebut adalah buah markisa yang termasuk ke dalam Genus *Passiflora*.

Genus *Passiflora* banyak tersebar di daerah beriklim sub-tropis dan tropis, terutama di Australia, Asia, dan wilayah Tropis Afrika (Beninca dkk, 2007). Negara-negara tropis menjadikan markisa sebagai salah satu komoditas penting (Machado dkk, 2008). Penamaan buah markisa di masing-masing negara berbeda satu sama lain (Verheij dan Coronel, 1997). Markisa dikenal sebagai "maracuja" di negara Brazil (Dhawan dkk, 2004 dan Machado dkk, 2008). Nama markisa lebih dikenal sebagai "granadilla" atau "passion fruit" di Inggris Raya dan negara eropa lainnya. Sementara itu, buah markisa lebih dikenal dengan naman "granadille" di negara Perancis. Di negara Malaysia, markisa dikenal dengan nama "buah susu" atau "markisa" dan di negara Thailand buah ini lebih dikenal dengan "Linmangkon" (Verheij dan Coronel, 1997).

Spesies *Passiflora edulis* umumnya lebih dikenal sebagai markisa kuning atau juga dikenal dengan nama buah rola. Markisa kuning (*P. edulis* var.*flavicarpa* D.) dan markisa ungu (*P. edulis* S.) adalah spesies markisa yang paling banyak ditanam sebagai tanaman budidaya. (Montanher dkk, 2007 dan Beninca dkk, 2007). *P. edulis* var.*flavicarpa* D. adalah mutan *P. edulis* S. (Surianta, 2011) dan diduga berasal dari persilangan markisa ungu dengan markisa manis (*Passiflora ligularis*) (Morton, 1987; Verheij dan Coronel 1997). Markisa kuning banyak ditanam di negara-negara Amerika Tengah dan Amerika Latin seperti Kuba, Puerto Rico, Suriname, Venezuela, Kolumbia, Haiti, dan Brazil. Selain itu, markisa kuning juga banyak dibudidayakan di Indonesia terutama di Jawa Barat dan Sumatra Utara. Di Jawa Barat, markisa kuning banyak dibudidayakan di daerah Pelabuhan Ratu, Sukabumu, dan Bogor. Sedangkan di Sumatra Utara tanaman ini banyak dibudidayakan di Simalungun, Langkat, dan Medan (Surianta, 2011).

2.1.1. Klasifikasi Markisa

Markisa, seperti telah disinggung sebelumnya merupakan tanaman yang termasuk ke dalam filum *Spermatophyta*, kelas *Angiospermae*, dan famili *Passifloraceae* (Nakasone dan Paul, 1999). Klasifikasi tumbuhan markisa kuning secara lengkap (*Passiflora edulis* var.*flavicarpa*) menurut Rukmana (2003) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub-Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Passiflorae
Famili	: Passifloraceae
Genus	: Passiflora
Spesies	: <i>Passiflora edulis</i> var. <i>flavicarpa</i> Degenerer

2.1.2. Morfologi

Markisa adalah tanaman semak tahunan dan dapat merambat dengan panjang hingga mencapai 20 meter. Batang tanaman markisa adalah berkayu serta memiliki sulur. Percabangan pada batang markisa sangat banyak. Warna cabang muda tanaman markisa adalah hijau, sedangkan cabang tua berwarna hijau kecoklatan. Pertumbuhan daun terjadi secara bergantian baik pada batang maupun cabang. Daun markisa memiliki tiga percabangan, dimana masing-masing percabangan memiliki bentuk bergerigi, berwarna hijau, serta mengkilap (Rukmana, 2003).

Markisa merupakan tanaman budidaya yang banyak dijumpai di negara-negara tropis, termasuk Indonesia. Ada dua jenis markisa yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia dengan tujuan komersial, yaitu markisa ungu (*Passiflora edulis* S.) dan markisa kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* D.). Masing-masing jenis tanaman tersebut memiliki bentuk morfologi dan ciri yang berbeda satu sama lain. Berikut merupakan perbedaan pada markisa ungu dan markisa kuning secara morfologi (Karsinah, 2010) :

a) Markisa Ungu (*Passiflora edulis* S.)

Tanaman markisa ungu, berbeda secara morfologis dengan tanaman markisa kuning. Hal ini dikarenakan tumbuhan markisa kuning adalah tanaman hasil mutasi markisa ungu (Surianta, 2011). Perbedaan morfologi tersebut dapat mencakup pada bentuk tanaman, bentuk daun, bunga, maupun buah, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1. berikut (Karsinah, 2010).



Gambar 2.1. Morfologi tanaman markisa ungu. A) pohon markisa ungu B) daun C) bunga D) buah E) jus atau sari buah markisa ungu (Karsinah, 2010).

Bentuk daun markisa ungu adalah menjari dengan ukuran yang lebih kecil dari markisa kuning. Batang lebih pendek, serta memiliki bunga yang lebih kecil. Buah berwarna hijau apabila masih muda, dan berwarna ungu apabila telah masak. Bentuk buahnya bulat, diameter buah 4,6–5,7 cm, dan berat buah antara 45–60 g. Markisa ungu memiliki jus buah berwarna jingga, asam manis rasanya, dengan aroma yang khas.

b) Markisa Kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*)

Markisa kuning adalah salah satu tanaman budidaya di Indonesia. Sebagai hasil mutasi dari markisa ungu, markisa kuning memiliki perbedaan morfologi yang cukup jelas. Perbedaan tersebut disajikan pada Gambar 2.2. sebagai berikut (Karsinah, 2010).



Gambar 2.2. Morfologi tanaman markisa kuning A) pohon markisa kuning B) bunga C) buah D) jus atau sari buah markisa kuning (Karsinah, 2010).

Daun markisa kuning adalah menjari, lebih besar dan tebal dari pada daun markisa ungu, Bunga juga memiliki ukuran yang lebih besar. Warna buah muda adalah hijau, sedangkan warna buah yang sudah masak adalah kuning. Buah berbentuk bulat, berdiameter 5-7 cm dengan berat dapat mencapai 55-130 g. Jus buah markisa kuning seperti halnya jus buah pada markisa ungu yang berwarna jingga. Akan tetapi, aroma jus buah pada markisa kuning lebih mirip dengan aroma jambu biji (Karsinah, 2010).

2.1.3. Ekologi dan Penyebaran

Persebaran tanaman dari genus *Passiflora* dapat ditemukan di daerah dengan temperatur hangat seperti daerah beriklim tropis dan sub-tropis. Akan tetapi, persebaran paling banyak terdapat di Benua Asia, Australia, dan wilayah tropis Benua Afrika (Beninca dkk, 2007). Tanaman ini banyak dibudidayakan di negara beriklim tropis maupun sub-tropis (Machado dkk, 2008). Dua jenis tanaman markisa yang paling banyak dibudidayakan untuk tujuan komersial adalah markisa ungu (*Passiflora edulis* S.) dan markisa kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* D.) (Montanher dkk, 2007 dan Beninca dkk, 2007).

Asal-usul tanaman markisa ungu diketahui dari Amerika Latin, tepatnya wilayah yang sekarang dikenal sebagai negara Brazil, bagian utara negara Argentina, dan Paraguay. Sementara itu, asal-usul tumbuhan markisa kuning masih belum banyak diketahui kepastiannya. Menurut pendapat dari beberapa ahli tanaman ini merupakan hasil perkawinan silang *Passiflora edulis* S. (markisa ungu) dan *Passiflora ligularis* (markisa manis) yang berasal dari Amerika Latin (Morton, 1987; Verheij dan Coronel 1997).

Markisa ungu, seperti halnya markisa kuning merupakan tanaman budidaya. Di Indonesia markisa ungu banyak dijumpai di dataran tinggi, terutama Sumatra Utara dan Sulawesi Selatan. Sementara itu, untuk markisa kuning banyak dijumpai di Jawa Barat dan Sumatra Utara (Karsinah, 2010). Markisa kuning juga diketahui banyak ditanam sebagai tanaman budidaya di negara-negara Amerika Tengah dan Amerika Latin seperti negara Kuba, Puerto Rico, Venezuela, Suriname, Kolumbia, Brazil, dan Haiti (Surianta, 2011).

2.1.4. Manfaat dan Kandungan Buah Markisa

Markisa banyak dikenal dan dijadikan sebagai tanaman budidaya oleh karena memiliki manfaat yang beragam bagi kesehatan tubuh. Warna jingga pada jus dan daging buah menunjukkan kandungan antioksidan yang tinggi. Antioksidan, sebagaimana telah diketahui merupakan senyawa yang berperan penting dalam menangkal radikal bebas dalam tubuh (Rudnicki dkk, 2007). Menurut Patel (2009), buah ini memiliki banyak manfaat farmakologis, diantaranya adalah anti-inflamasi, antitumor, antifungal, dan antibakteri (Nugraha dkk, 2019). Kemampuan markisa seperti disebut di atas berasal dari senyawa-senyawa penting yang terkandung di dalamnya seperti pada Tabel 2.1 berikut (Wenkam, 1990).

Tabel 2.1. Komposisi Buah Markisa per 100 gram

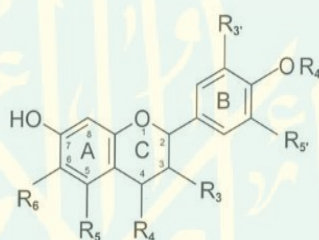
Komponen	<i>P. edulis</i> L	<i>P. edulis</i> var. <i>flavicarpa</i>
Air	85,6 g	84,9 g
Energi	213 kJ	222 kJ
Protein	0,39 g	0,67 g
Lemak	0,05 g	0,18 g
Karbohidrat	13,65 g	13,72 g
Serat	0,04 g	0,17 g
Abu	-	-
Kalsium	3,6 mg	3,8 mg
Fosfor	12,5 mg	24,6 mg
Besi	0,24 mg	0,36 mg
Kalium	-	-
Vitamin A	717 IU	2410 IU
Vitamin C	29,8 mg	20,0 mg
Thiamin	trace	trace
Riboflavin	0,13 mg	0,10 mg
Niasin	1,46 mg	2,24 mg
Folat	-	-

Buah markisa umumnya memiliki komponen utama berupa kulit buah yang mencakup sekitar 45% dan bagian yang dapat dikonsumsi mencakup 55% dari total berat buah markisa. Sebagian besar kandungan buah markisa adalah air dengan berat mencapai 69-80 g. Selain itu, buah markisa juga mengandung beberapa komponen lain seperti protein sebanyak 2,3 g, lemak 2 g, karbohidrat 16 g, serat 3,5 g, kalsium 10 mg, zat besi atau Fe sebesar 1,0 mg, vitamin A 20 SI, tiamin dalam jumlah yang sangat sedikit, riboflavin 0,1 mg, niasin 1,5 mg, serta vitamin C sebanyak 20-80 mg. Sementara itu, total energi yang dimiliki oleh buah markisa adalah sebesar 385 kJ/100 g (Karsinah dkk, 2007; Verheij dan Coronel 1997). Selain beberapa kandungan seperti telah disebutkan di atas, buah markisa juga diketahui mengandung asam amino bebas seperti arginin, asam aspartat, glisin, leusin, lisin, tirosin, treonin, dan valin pada jus buahnya. Pada buah markisa ungu, terdapat kandungan karotenoid sebesar 1,160%, 1,060% flavonoid,

dan 0,012% alkaloid. Sedangkan pada buah markisa kuning didapati sebanyak 0,058% kandungan karotenoid, 1,000% kandungan flavonoid, dan 0,700% kandungan alkaloid (Karsinah, 2010).

2.1.4.1. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa yang bersifat polar, umumnya memiliki kelarutan yang tinggi pada pelarut polar (Markham, 1998). Senyawa ini dapat diperoleh dari hampir seluruh bagian tanaman, baik dari akar, batang, daun, bahkan serbuk sari (Sirait, 2007). Flavonoid memiliki struktur kimia seperti pada Gambar 2.3. di bawah ini, dimana pada rantai karbon ke 15 terdapat dua inti fenolat, yang masing-masing dihubungkan oleh tiga atom karbon (Sastrohamidjojo, 1996).



Gambar 2.3. Struktur kimia flavonoid (Markham, 1998)

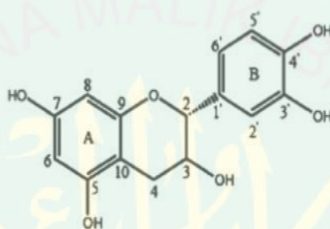
Flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap bakteri dan mikroba lainnya, sehingga sangat efektif digunakan sebagai antibakteri (Cowan, 1999). Berdasarkan pada penelitian Sabir (2005), flavonoid memiliki aktivitas antibakteri pada *Streptococcus* mutan pada konsentrasi 0,1%. Senyawa ini juga diketahui efektif sebagai antiaging, antikarsinogenik, antiradang, antiviral, antioksidan, bahkan juga efektif sebagai antiradang (Wirakusuma, 2007). Selain itu, flavonoid juga memiliki kemampuan untuk menggumpalkan protein dan bersifat lipofilik (Monalisa dkk, 2011).

2.1.4.2. Tanin

Tanin adalah metabolit sekunder tanaman berpembuluh yang termasuk ke dalam turunan senyawa fenolik (Nugraha dkk, 2019). Ada dua jenis tanin

berdasarkan struktur kimianya, yaitu tanin terhidrolisi dan terkondensasi. Tanin terkondensasi terbentuk sebagai akibat dari kondensasi katekin yang kemudian membentuk senyawa oligomer yang lebih kompleks. Sedangkan, tanin terhidrolisis adalah tanin yang di dalamnya memiliki ikatan ester (Harbone, 1987).

Bagian tubuh tumbuhan yang biasanya mengandung metabolit sekunder berupa tanin adalah buah, daun, batang, dan kulit kayu (Robinson, 1995). Sintesis tanin oleh tumbuh-tumbuhan merupakan upaya dalam melindungi diri melawan invasi bakteri dan cendawan patogen (Salisbury dan Ross, 1995). Struktur kimia senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Struktur kimia tanin (Robinson, 1995)

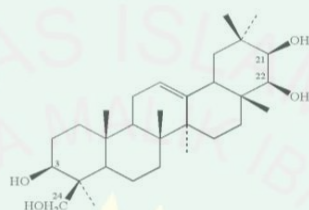
Kemampuan antibakteri tanin bekerja dengan cara mengganggu transportasi protein sel bakteri, menghambat aktivasi enzim dan adesi sel mikroba (Cowan, 1998). Selain itu, kemampuan antibakteri tanin juga dapat memperlambat pertumbuhan sel dengan cara mengganggu permeabilitas pada dinding sel (Ajizah, 2004). Target dari aktivitas antibakteri tanin adalah polipeptida pada dinding sel bakteri yang dapat menyebabkan dinding sel terbentuk secara kurang sempurna (Sari dkk, 2011).

2.1.4.3. Saponin

Saponin dapat diperoleh dari ekstrak tumbuhan, hewan laut tingkat rendah, maupun pada beberapa jenis bakteri. Senyawa ini memiliki sifat tidak larut pada pelarut ester, akan tetapi larut pada pelarut air. Apabila ditinjau dari

struktur kimianya seperti ditunjukkan pada Gambar 2.5, senyawa ini merupakan glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi (Aswin, 2008).

Ciri umum senyawa saponin adalah apabila dikocok dengan air akan menghasilkan buih atau busa (Robinson, 1995). Ada dua jenis saponin berdasarkan pada struktur kimianya, yaitu saponin steroid yang merupakan saponin dengan inti steroid dan saponin triterpenoid yang merupakan saponin dengan inti triterpenoid (Purwono dan Hartono, 2008). Ekstraksi saponin dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut polar maupun semi-polar (Robinson, 1995).



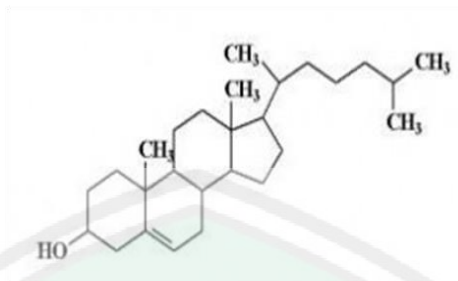
Gambar 2.5. Struktur kimia saponin (Robinson, 1995)

Saponin, seperti halnya flavonoid dan tanin juga memiliki kemampuan antimikroba (Robinson, 1995). Kemampuan antimikroba saponin dapat membunuh bakteri dengan cara merusak dinding selnya. Hal ini akan menyebabkan komponen-komponen sel bakteri keluar sehingga mengakibatkan terjadinya lisis dan kematian pada bakteri. Selain itu, kerusakan pada membran sel juga dapat mencegah masuknya zat-zat penting ke dalam sel bakteri (Monalisa dkk, 2011). Menurut Oesman dkk (2010), senyawa saponin dapat diekstrak dengan menggunakan pelarut polar maupun pelarut non-polar.

2.1.4.4. Steroid

Struktur kimia steroid seperti terlihat pada Gambar 2.6. menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana. Senyawa ini disebut juga sebagai triterpenoid yang memiliki bentuk dasar berupa siklopentana perihidrofenantren dan merupakan turunan dari siklopentanoperihidrofenantrena (Febriany, 2004). Turunan steroid yang banyak diketahui diantaranya adalah steroid alkohol atau lebih dikenal dengan nama

sterol asam empedu, kortikosteroid, dan hormon seks seperti androgen, dan estrogen (Poedjiadi, 1994).



Gambar 2.6. Struktur kimia steroid (Robinson, 1995)

Steroid dapat diperoleh dari semua makhluk hidup, dimana secara garis besar senyawa ini dibagi menjadi dua jenis utama yaitu fitosterol dan kolesterol. Fitosterol merupakan steroid pada tumbuh-tumbuhan, sedangkan kolesterol adalah steroid pada hewan dan manusia (Robinson, 1995). Menurut Monalisa dkk (2011), steroid memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.choli*. Sedangkan mekanisme kerja dari senyawa ini adalah dengan cara merusak membran sel pada bakteri.

2.2. Antimikroba

Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antimikroba apabila memiliki kemampuan dalam membunuh maupun menghambat pertumbuhan mikroba. Suatu antimikroba dapat dikatakan memiliki sifat bakterisidal maupun bakteriostatik berdasarkan pada tingkat kemampuannya. Antibakteri akan dikatakan bakterisidal apabila dapat membunuh bakteri, sedangkan untuk antibakteri yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik (Volk and Wheeler, 1998).

Antibakteri seperti dijelaskan sebelumnya memiliki kemampuan dalam menghambat maupun membunuh bakteri. Aktivitas tersebut memiliki mekanisme kerja menghambat maupun mengganggu pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini sebagai akibat dari sifat toksisitas efektif yang dimiliki oleh senyawa antibakteri.

Toksisitas efektif adalah sifat unik antibakteri dalam meracuni bakteri akan tetapi tidak bersifat racun pada inang. Kemampuan antibakteri dalam membunuh bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor sebagai berikut (Pelczar dan Chan, 1998; Irianto, 2007) :

1. pH lingkungan

Tingkat keasaman maupun kebasaan suatu lingkungan dapat berpengaruh cukup besar terhadap aktivitas antibakteri. Setiap senyawa aktif baik obat-obatan maupun antibakteri memiliki pH optimum yang berbeda-beda. Beberapa antibakteri seperti nitrofurantoin dapat bekerja dengan sangat baik pada pH asam, sedangkan antibakteri seperti streptomisin dan sulfonamida pada pH basa.

2. Komponen Medium

Komponen medium selain pH lingkungan juga merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kinerja dari antibakteri. Sebagai contohnya adalah streptomisin akan terhambat dan tidak dapat bekerja dengan baik pada medium yang mengandung garam. Selain itu, pada contoh lain adalah sulfonamida yang akan terhambat kinerjanya apabila berada pada medium yang banyak mengandung asam aminobenzoat atau PARA.

3. Stabilitas Obat

Stabilitas suatu obat-obatan termasuk antimikroba merupakan salah satu faktor yang perlu diperhatikan. Stabilitas obat yang dimaksud dalam hal ini adalah stabilitas kinerja senyawa obat-obatan pada suhu panas. Peningkatan suhu pada umumnya akan meningkatkan reaktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen, sehingga meningkatkan kinerja dari zat antibakteri tersebut. Akan tetapi, tidak semua antibakteri akan meningkat kinerjanya apabila dipanaskan. Sebaliknya, beberapa jenis antimikroba akan terhenti aktivitasnya apabila berada pada suhu tinggi.

4. Jumlah Bakteri

Jumlah bakteri merupakan salah satu faktor yang perlu diperhatikan dalam mempersiapkan senyawa antibakteri. Hal ini dikarenakan jumlah bakteri berbanding lurus dengan waktu yang diperlukan antibakteri dalam membunuh bakteri patogen. Aktivitas antibakteri akan membutuhkan waktu yang lebih lama

apabila jumlah bakteri semakin banyak. Jumlah bakteri yang terlalu berlebih juga dapat menurunkan kemampuan dari suatu zat antibakteri tersebut. Hal ini dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk menjadi semakin kecil.

5. Waktu Inkubasi

Waktu inkubasi merupakan salah satu hal yang perlu diperhatikan dalam mempersiapkan senyawa antibakteri. Waktu inkubasi tidak boleh terlalu lama maupun terlalu singkat. Waktu inkubasi yang terlalu lama dapat memunculkan mutan resisten dari bakteri patogen. Akan tetapi, waktu inkubasi yang terlalu sebentar akan menyebabkan aktivitas antibakteri kurang sempurna oleh karena waktu kontak yang singkat.

6. Metabolisme Mikroorganisme

Metabolisme bakteri dapat berpengaruh pada kinerja antibakteri, sehingga fase pertumbuhan bakteri patogen perlu diperhatikan dengan cermat. Pada fase pertumbuhan, bakteri bersifat lebih sensitif terhadap antibakteri oleh karena metabolisme yang dihasilkan masih terlalu sedikit. Sedangkan pada fase tidak aktif bakteri akan lebih tahan terhadap antibakteri.

2.3. Kulit Buah Markisa sebagai Antimikroba

Menurut penelitian Nugraha dkk (2019), ekstrak kulit buah markisa ungu memiliki senyawa penting yang berperan sebagai antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwasanya pada konsentrasi 12,5 mg/mL ekstrak kulit buah markisa ungu mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat rata-rata sebesar 7,33 mm pada *S. aureus* dan 7,26 mm pada *E.coli*. Kemampuan antimikroba tersebut berasal dari komponen fitokimia yang terkandung dalam kulit buah markisa ungu. Selain aktivitas antibakteri, penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa kulit buah markisa ungu memiliki kandungan senyawa aktif yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri seperti flavonoid, saponin, tanin, dan steroid.

Flavonoid memiliki sifat polar sehingga dapat larut pada pelarut-pelarut polar seperti metanol, etanol, aseton, dan pelarut-pelarut polar lainnya (Markham,

1998). Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang memiliki kemampuan antibakteri dengan cara menghancurkan dinding sel pada bakteri patogen (Sudarno, 2012). Sementara itu, selain flavonoid senyawa antibakteri yang terdapat dalam markisa ungu adalah tanin (Nugraha dkk, 2019). Tanin adalah turunan dari senyawa fenolik dan dapat diperoleh dari tumbuhan berpembuluh. Fenol dan turunannya diketahui merupakan antibakteri yang dapat menghancurkan fungsi membran sitoplasma bakteri. Pada konsentrasi rendah, senyawa ini mampu merusak membran sitoplasma bakteri patogen. Sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa ini mampu menghancurkan sitoplasma dan protein sel bakteri (Harbone, 1987; Vaquero dkk, 2007).

2.4. Bakteri Patogen

Keberadaan makhluk atau benda yang berukuran kecil telah disinggung oleh Allah SWT di dalam Al-Quran. Salah satu ayat Al-Quran yang menyebutkan keberadaan benda kecil ini adalah Surah Yunus Ayat 61 sebagai berikut:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْءَانٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

Artinya : "*Dan tidakkah engkau (Muhammad) berada dalam suatu urusan, dan tidak membaca suatu ayat Al-Qur'an serta tidak pula kamu melakukan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak lengah sedikit pun dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarah, baik di bumi ataupun di langit. Tidak ada sesuatu yang lebih kecil dan yang lebih besar daripada itu, melainkan semua tercatat dalam Kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh).*" (Q. S. Yunus/10:61).

Allah SWT menjelaskan bahwa tidak ada sesuatupun yang terlepas dari pengetahuannya, seringannya dzarrah sekalipun, baik di langit maupun di bumi, lebih ringan atau lebih berat. Semuanya tercatat dengan terang dan jelas dalam kitab yang ada disisi Allah (Shihab, 2002). Sementara itu, menurut Burhanuddin (2010), kata ذَرَّةٍ dimaksudkan untuk menunjuk pada sesuatu yang berukuran kecil.

Hal ini dikarenakan orang-orang pada masa itu belum mengenal benda-benda atau makhluk hidup yang berukuran sangat kecil dan pada saat itu juga tidak ada benda yang dapat digunakan untuk menjelaskan kata ذَرَّةٌ tersebut. Sementara itu, apabila dilihat dari sudut pandang ilmu biologi, kata ذَرَّةٌ dapat merujuk pada organisme yang sangat kecil ukutannya seperti bakteri.

Bakteri dapat dikatakan bersifat patogen apabila memiliki kemampuan untuk dapat menyebabkan penyakit pada makhluk hidup lainnya, termasuk manusia. Bakteri patogen mampu menginfeksi dan menimbulkan berbagai macam penyakit apabila memasuki jaringan tubuh dan berkembang biak di dalamnya. Hal ini akan menyebabkan metabolisme tubuh mengalami gangguan dan menimbulkan penyakit (Pelczar dan Chan, 2012).

Mikroorganisme termasuk bakteri dapat disebut patogen apabila memiliki kemampuan sebagai berikut (Pelczar dan Chan, 2012) :

Memiliki kemampuan untuk memasuki jaringan tubuh inang. Memiliki kemampuan dalam melakukan metabolisme dan berkembangbiak di dalam tubuh inang. Memiliki kemampuan mempertahankan diri dari pertahanan tubuh inang. Serta memiliki kemampuan dan kapabilitas dalam menyebabkan kerusakan pada inang.

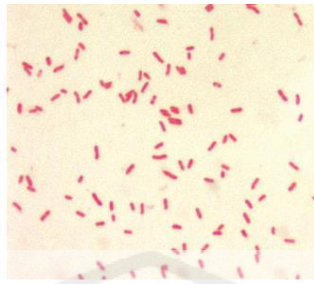
Bakteri patogen dapat dibedakan menjadi dua kelompok utama berdasarkan pada pewarnaan Gram. Dua kelompok utama bakteri patogen tersebut adalah bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Suatu jenis bakteri dapat dimasukkan ke dalam kelompok Gram positif apabila pada pewarnaan Gram menunjukkan warna ungu. Hal ini dikarenakan bakteri golongan ini memiliki lapisan peptidoglikan yang sangat tebal pada dinding selnya, sehingga dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet. Sementara itu, bakteri yang termasuk ke dalam kelompok Gram negatif menunjukkan warna merah pada hasil pewarnaan Gram. Hal ini dikarenakan bakteri kelompok ini memiliki lapisan peptidoglikan yang tidak terlalu tebal sehingga tidak mampu mempertahankan warna ungu dari pewarna dasar kristal violet (Helmiyati dan Nurrahman, 2010).

Bakteri yang termasuk ke dalam kelompok Gram positif diantaranya adalah bakteri dari genus *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Cyanococcus*, *Enterococcus*, *Nocardia*, *Clostridium*, *Actinobacteria*, dan *Listeria*. Sementara itu, bakteri yang termasuk ke dalam kelompok Gram negatif diantaranya adalah *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Helicobacter*, *Moravella*, *Streptomonas*, Bakteri Asam Laktat (BAL), alfa proteobacter, dan *Legionella* (Pratita dan Putra, 2012).

2.5. Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *E.coli* pada mulanya adalah flora normal yang hidup di dalam usus hewan maupun manusia. Keberadaan bakteri ini pada umumnya tidak berbahaya bagi kesehatan dan merupakan salah satu flora normal yang bermanfaat bagi pencernaan (WHO, 2006). Bakteri ini memiliki peran yang sangat penting dalam sistem pencernaan oleh karena kemampuannya dalam mensintesis vitamin K, mengkonversi pigmen dan garam-garam empedu, serta berperan penting dalam membantu proses penyerapan makanan (Norajit dkk, 2007). Akan tetapi, bakteri *Escherichia coli* selain memiliki manfaat bagi pencernaan juga bisa menghasilkan toksin yang dapat mengakibatkan kram perut dan diare (Sulistio, 2012). Berikut ini adalah klasifikasi lengkap dari bakteri *Escherichia coli* menurut Jawetz dkk, (2012) :

Kerajaan	: Prokaryota
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
<i>Spesies</i>	: <i>E. Coli</i>



Gambar 2.7. Bakteri *Escherichia coli* berdasarkan pewarnaan Gram (Mahon dkk, 2015)

Gambar 2.7. di atas adalah hasil pewarnaan Gram pada bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* termasuk ke dalam kelompok Gram negatif berbentuk batang dengan panjang sekitar 1 μm dan lebar 0,35 μm (Blount, 2015) dan bersifat aerob fakultatif (Jawetz dkk, 2012). *E. coli* adalah bakteri koliform yang biasa ditemukan pada kotoran hewan maupun manusia (Fardiaz, 1992). Menurut Adila dkk (2013), terdapat lima galur bakteri *Escherichia.coli* yang bersifat patogen, yaitu :

1. *Escherichia. coli* Enteropatogenik (EPEC)

Bakteri *Escherichia coli* galur EPEC adalah bakteri *E.coli* patogen yang menyebabkan diare pada bayi di negara-negara berkembang. Karakteristik dari diare yang disebabkan oleh galur ini adalah feses encer dan berlendir, akan tetapi tidak disertai dengan darah (Donnenberg, 2002). Diare yang disebabkan oleh infeksi bakteri *E.coli* patogenik galur EPEC biasanya sangat sulit penyembuhannya, akan tetapi tidak termasuk penyakit kronis.

2. *Escherichia. coli* Enterotoksigenik (ETEC)

Galur ETEC dari bakteri *Escherichia coli* patogenik umumnya merupakan penyebab diare pada hewan dan manusia. Bakteri ini adalah penyebab utama diare enterotoksik pada mamalia. Infeksi oleh bakteri *E.coli* patogenik jenis ini memiliki gejala-gejala klinis yang meliputi diare, dehidrasi, asidosis, hingga dapat menyebabkan kematian pada penderitanya (Hanif dkk, 2003). Galur ini

dapat diidentifikasi dengan melihat faktor virukensi yang berupa antigen fili dan enterotoksin (Saylers dan Whitt, 1994).

3. *Escherichia. coli* Enteroinvasif (EIEC)

Galur EIEC dari bakteri *Escherichia coli* patogen menyebabkan penyakit melalui proses invasi bakteri pada epitel mukosa usus (Pelczar dan Chan, 1988). Penyakit yang ditimbulkan oleh infeksi galur EIEC memiliki kemiripan dengan penyakit shigelosis (Adilla dk, 2003).

4. *Escherichia. coli* Enterohemoragik (EHEK)

Bakteri *E. coli* patogenik galur EHEK adalah bakteri penyebab utama sebagian besar penyakit diare yang berkaitan erat dengan penyakit gastroenteritis. Gastroenteritis peradangan yang terjadi pada perut dan usus yang menjadi penyebab timbulnya berbagai penyakit lain seperti mual, lesu, sakit perut, dan diare (Manning, 2005). Kemampuan bakteri *E. coli* patogenik galur EHEK dalam menyebabkan penyakit infeksi seperti telah disebutkan di atas berasal dari kemampuannya dalam memproduksi verotoksin (Angreini, 2015).

5. *Escherichia. coli* Enteroagregatif (EAEC)

Galur *E. coli* patogenik yang satu ini dapat dikatakan sebagai penyebab penyakit infeksi yang mengakibatkan diare akut dan kronik. Menurut Pelczar dan Chan (1988), bakteri patogenik *E.coli* galur AECC menginfeksi inang dengan cara melekatkan diri dan mengganggu kerja pada permukaan mukosa intestinal.

2.6. Patogenitas Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* secara umum merupakan flora normal yang dapat ditemukan pada usus manusia maupun hewan. Keberadaan bakteri ini tidak bersifat patogen pada saluran pencernaan. Sebaliknya, keberadaan bakteri *E.coli* pada saluran pencernaan memberikan banyak manfaat bagi pencernaan. Akan tetapi, diluar sistem pencernaan, maupun pada organ tubuh dengan jumlah flora normal yang rendah dapat bersifat patogenik (Kayser, 2005). Bakteri *E.coli* patogenik memiliki beberapa antigen yang berperan penting dalam sifat patogenik pada bakteri tersebut. Antigen pada bakteri patogenik *Escherichia coli* antara lain antigen polisakarida atau antigen O, antigen kapsular (antigen K), dan antigen

flagela (antigen H). Antigen O adalah antigen terluar yang terletak di bagian terluar dinding sel bakteri. Antigen K terletak pada kapsul dan antigen H pada flagela bakteri (Juliana dkk, 2008).

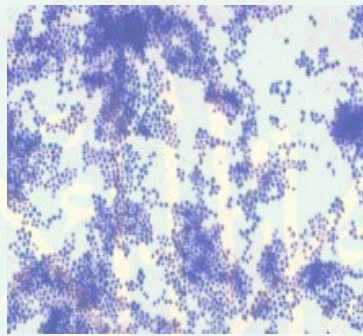
Keberadaan bakteri patogenik *Escherichia coli* diluar sistem pencernaan dapat menimbulkan bebera jenis penyakit infeksi seperti apenditis, kolesistitis, peritonitis, sistitis, dan pielonefritis. Selain itu, bakteri *E.coli* patogenik diketahui juga dapat menyebabkan penyakit infeksi serius seperti meningitis dan sepsis apabila menginfeksi luka akibat operasi (Kayser, 2005). Pada lansia dan anak-anak infeksi bakteri patogen ini dapat menjadi salah satu penyebab terjadinya gagal ginjal (Sulistio, 2012). Sementara itu, keberadaan bakteri *E.coli* patogenik dalam jumlah yang cukup besar pada sistem pencernaan dapat menyebabkan diare dengan gejala yang berbeda-beda tergantung pada galur bakteri yang menginfeksi (Jawetz dkk, 2005).

2.7. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri patogen *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang tidak berspora dan non-motil. Bakteri *S.aureus* berbentuk bulat dengan diameter anatar 0,8 hingga 1 mikron. Bakteri ini merupakan salah satu flora normal yang dapat ditemukan pada bagian tubuh manusia seperti kulit dan membran mukus yang meliputi bukal, nasal, dan aural. Bakteri patogenik *S. aureus* dapat menyebabkan berbagai macam penyakit serius seperti pneumonia, septicaemia, osteomyelitis, endokarditis, dan gatroenteritis (Bernardo dkk, 2005). Berikut merupakan klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Todar (2005) :

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Cocci
Ordo	: Bacillales
Famili	: Satphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogenik yang termasuk ke dalam kelompok Gram positif. Bakteri patogenik *S.aureus* memiliki bentuk sel bulat dan biasa ditemukan dalam keadaan berkelompok. Bakteri ini merupakan anaerob fakultatif, non-motil, dan tidak menghasilkan spora (Jawetz dkk, 2007). *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada kisaran suhu 6,5 hingga 45 °C dengan suhu optimum adalah 37 °C dan pH antara 4,2 hingga 9,3 (Tyasningsih dkk, 2010). Koloni bakteri pada biakan media padat memiliki ciri berbentuk bundar, halus, berkilau, menonjol, dan berwarna kelabu hingga kuning keemasan (Jawetz dkk, 2007). Berikut merupakan gambar dari bakteri *Staphylococcus aureus*.



Gambar 2.8. bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan pearnaan Gram (Yuwono, 2009)

Bakteri patogen *S. aureus* memiliki kemampuan untuk memproduksi metabolit sekunder yang meliputi eksotoksin, enterotoksin, serta metabolit yang bersifat non-toksik atau tidak beracun (Rahma, 2018). Beberapa jenis metabolit non-toksik pada bakteri patogen *S.aureus* tersebut meliputi antigen permukaan pada bakteri, dan enzim-enzim seperti koagulase, hialuronidase, fibrinolisin, gelatinase, dan enzim protease (Rahma, 2018). Enzim koagulase berperan sebagai agen penggumpalan untuk menghambat proses fagositosis pada bakteri. (Rahma, 2018). Apabila terjadi interaksi antara enzim koagulase bakteri *S. aureus* dengan serum inang, maka hal ini akan menyebabkan terjadinya penggumpalan pada kalsium oksalat (Ryan dkk, 1994). Salah satu enzim yang diketahui berperan penting bagi bakteri patogenik *S. aureus* adalah hialuronidase. Hal ini karena

enzim ini merupakan enzim yang berperan penting dalam mempermudah penyebaran bakteri patogen *S. aureus*. Bakteri ini juga memiliki metabolit yang mampu mencegah terjadinya pembekuan darah, yaitu enzim fibrinolisin. Enzim ini juga memiliki peran yang cukup penting dalam mempercepat penyebaran bakteri patogen *S. aureus* (Rahma, 2018). Sementara itu, enzim protease berfungsi dalam melunakkan serum dan menyebabkan nekrosis jaringan (Jawetz dkk, 2007).

Bakteri patogen *S. aureus* selain menghasilkan antigen dan enzim seperti yang telah disinggung sebelumnya, bakteri ini juga mampu menghasilkan beberapa jenis eksotoksin yang meliputi alfa hemolisis, beta hemolisis, dan gamma hemolisis. Alfa toksin adalah toksin dengan sifat dan kemampuan yang meliputi 1) kemampuan untuk melisiskan eritrosit kambing, kelinci, dan domba akan tetapi tidak dapat melisiskan eritrosit manusia 2) Mampu menyebabkan nekrosis kulit manusia dan hewan 3) Apabila dalam dosis yang besar toksin ini mampu membunuh manusia dan hewan 4) Toksin ini mampu melisiskan dan menghancurkan leukosit kelinci akan tetapi tidak dapat menghancurkan leukosit manusia 5) Mampu menghancurkan keping darah atau trombosit pada kelinci 6) dan mampu meracuni biakan sel mamalia (Rahma, 2018).

Beta hemolisis yang dihasilkan oleh bakteri ini diketahui mampu menghancurkan eritrosit kambing, akan tetapi tidak dapat menghancurkan eritrosit kelinci (Rahma, 2018). Sedangkan eksotoksin gamma hemolisis adalah toksin atau racun dengan kemampuan seperti halnya antigen (Jawetz, 2007). Selain eksotoksin, bakteri patogenik *S. aureus* juga menghasilkan metabolit lain berupa enterotoksin. Toksin ini hanya dihasilkan apabila bakteri *S. aureus* tumbuh pada makanan maupun bahan makanan yang banyak mengandung karbohidrat. Toksin ini juga dikenal sebagai salah satu penyebab utama keracunan makanan (Hasibuan, 2016).

2.8. Patogenitas Bakteri *Staphylococcus aureus*

Patogenitas pada bakteri patogenik *S. aureus* disebabkan oleh kemampuannya dalam menghasilkan toksin, virulensi bakteri, sifat bakteri yang invasif, serta kemampuan bakteri *S.aureus* patogen dalam melawan zat antibiotik (Karimela dkk, 2017). Keberadaan bakteri ini mengakibatkan penyakit infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Bakteri patogenik ini dapat tumbuh dan berkembang di dalam tubuh manusia maupun pada bahan pangan dan menghasilkan toksin pada suhu ruangan (BSN, 2009).

Bakteri patogenik *S. aureus* adalah bakteri invasif (Warsa, 1994) yang diketahui dapat menghasilkan pigmen berwarna kekuningan dan enzim koagulase. Enzim koagulase yang dihasilkan oleh bakteri patogen ini mampu meragikan mannitol dan bersifat hemolitik (Hasibuan, 2006). Infeksi bakteri patogenik *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai macam penyakit infeksi seperti pneumonia, mastitis, jerawat, meningitis, plabitis, osteomiellisis, infeksi saluran kemih, endokarditis, dan penyakit nosokomial, keracunan makanan, hingga sindrom syok toksin (Ryan dkk, 1994; Warsa, 1994).

Makanan yang terkontaminasi oleh bakteri *S. aureus* patogenik dapat menyebabkan keracunan makan, dimana keracunan makanan oleh bakteri ini merupakan salah satu penyebab utama dari keseluruhan kasus keracunan makanan yang ada di dunia (Normanno dkk, 2005). Keracunan makanan yang disebabkan oleh kontaminasi *S. aureus* pada bahan makanan terjadi karena enterotoksin bakteri patogenik *S. aureus*. Enterotoksin bakteri *s.aureus* patogenik pada dosis 10 mg/mL diketahui dapat mengakibatkan terjadinya keracunan apabila dikonsumsi. Sementara itu, keracunan makanan oleh enterotoksin *Staphylococcus aureus* akan menunjukkan gejala seperti muntah-muntah, mual, mabuk, dan diare (Ryan dkk, 1994).

2.9. Uji Konfirmasi

Uji konfirmasi digunakan untuk mengetahui dan memastikan bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian merupakan bakteri yang benar-benar

jenis bakteri yang diinginkan. Ada tiga jenis pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini, yaitu pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, dan uji katalase.

a) Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah cara atau metode yang digunakan untuk membedakan jenis bakteri menjadi dua kelompok besar, yaitu Gram positif dan Gram negatif berdasarkan pada sifat fisik dan kimia dinding selnya. Penamaan metode ini didasarkan pada nama penemunya, yaitu Hans Christian Gram, seorang ilmuwan asal Denmark yang menemukan teknik ini pada tahun 1884 (Karmana, 2008). Pembagian kelompok bakteri menjadi Gram positif dan negatif ditentukan oleh reaksi dinding sel bakteri terhadap pewarna safranin dan kristal violet (James, 2002).

b) Pewarnaan Endospora

Spora bakteri dapat diamati dengan menggunakan pewarna tertentu yang mampu menembus dinding tebal spora bakteri (Volk dan Wheeler, 1998). Pewarna yang digunakan dalam pewarnaan endospora tersebut adalah malachite green sedangkan untuk mewarnai tubuh bakteri digunakan pewarna safranin. Hal ini akan mengakibatkan endospora bakteri berwarna hijau, sedangkan tubuh bakteri berwarna merah (Pratita dan Putra, 2012).

c) Uji Katalase

Uji katalase adalah metode yang digunakan untuk mengetahui bahwa suatu bakteri termasuk bakteri aerob, anaerob fakultatif, atau anaerob obligat. Bakteri yang memerlukan oksigen akan menghasilkan hidrogen peroksida H_2O_2 yang bersifat racun bagi bakteri itu sendiri. Akan tetapi, bakteri tersebut dapat bertahan oleh karena memiliki enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Volk dan Wheeler, 1998).

2.10. Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah usaha atau cara yang dilakukan untuk dapat memisahkan senyawa tertentu dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Kholifah, 2014). Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi disebut sebagai

ekstrak yang berupa sediaan pekat. Ekstrak dapat dibuat dari siplisia hewani maupun nabati (Indraswari, 2008). Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi harus merupakan pelarut yang bersifat selektif. Hal ini dimaksudkan agar hanya senyawa-senyawa yang diinginkan yang terekstrak. Cara kerja pelarut dalam proses ekstraksi adalah pelarut akan masuk ke dalam jaringan dan melarutkan senyawa-senyawa penting yang terkandung dalam sampel (Fajriati, 2012).

Proses ekstraksi seperti di atas dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa cara atau metode, seperti perkolasi, maserasi, dan soxhlet (Prawesti, 2008). Sementara itu, untuk metode yang paling banyak digunakan dalam melakukan ekstraksi bahan alam adalah metode maserasi (Ansel, 1995). Maserasi adalah salah satu metode atau cara dalam melakukan ekstraksi bahan alam yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut (Kholifah, 2014). Pelarut tersebut kemudian akan melarutkan senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam rongga dan dinding sel sampel (Harmita, 2008).

Keuntungan menggunakan metode maserasi terletak pada kecepatan ekstraksi dan memungkinkan untuk menghindari pengaruh suhu (Kristanti, 2008; Widodo, 2007). Akan tetapi, penggunaan metode maserasi tidak selalu efektif dan efisien. Hal ini dikarenakan variasi waktu pada perendaman, dimana ada yang membutuhkan waktu perendaman selama 15-30 menit hingga 24 jam, serta jumlah pelarut harus lebih banyak 10-20 kali jumlah sel (Kristanti, 2008).

Prinsip dasar ekstraksi maserasi adalah merendam bahan atau simplisia pada suhu kamar dalam keadaan terlindung dari cahaya matahari (Kristanti, 2008). Pada proses ekstraksi maserasi, pelarut akan melarutkan senyawa aktif dalam simplisia, sehingga efektifitas dari metode ekstraksi ini tergantung pada jenis pelarut yang digunakan (Darwis, 2000). Pemilihan pelarut dalam ekstraksi memerlukan pertimbangan seperti murah dan mudah didapat, netral, stabil, selektif, tidak mudah menguap dan terbakar, serta tidak mempengaruhi senyawa-senyawa yang berkhasiat (Ahmad, 2006). Selain itu, pemilihan pelarut yang tepat akan meningkatkan efektifitas pada ekstraksi maserasi dengan mempertimbangkan beberapa faktor seperti kelarutan senyawa pada pelarut yang bersangkutan (Darwis, 2000).

Tingkat kepolaran senyawa dan zat pelarut akan sangat berpengaruh terhadap kelarutan suatu zat (Sudarmadji, 1989). Hal ini berdasarkan pada prinsip “like dissolve like”, dimana zat dengan sifat polar akan larut pada pelarut polar begitu juga sebaliknya (Khopkar, 2003). Penentuan tingkat kepolaran pelarut dapat dilihat berdasarkan pada nilai konstanta dielektriknya. Pelarut dengan konstanta dielektrik yang relatif tinggi memiliki tingkat kepolaran yang tinggi, begitu juga sebaliknya (Sudarmadji, 1989). Sementara itu, tingkat kepolaran suatu pelarut dapat menjadi acuan dalam menentukan kemampuan pelarut dalam melarutkan senyawa atau zat-zat tertentu (Effendy, 2006).

Golongan alkohol adalah pelarut yang paling banyak digunakan. Hal ini dikarenakan kemampuannya dalam melarutkan keseluruhan metabolit sekunder dalam simplisia (Khopkar, 2003). Selain itu, alkohol merupakan pelarut dengan konstanta dielektrik yang paling besar diantara jenis pelarut lainnya, yakni sebesar 24,3 (Sudarmadji, 1989). Sementara itu, pelarut dari golongan alkohol yang paling banyak digunakan adalah etanol. Etanol diketahui mampu melarutkan semua jenis metabolit sekunder karena memiliki gugus hidroksi yang bersifat polar dan gugus alkil yang non-polar. Etanol juga merupakan pelarut yang bersifat selektif, netral, tidak mudah berjamur, dan absorbansinya sangat baik (Hargono, 1986).

2.11. Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum

Konsentrasi Hambat Minimum atau KHM adalah konsentrasi terkecil yang dibutuhkan senyawa antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan antibakteri dapat meningkat menjadi bakterisidal apabila dosisnya ditingkatkan melebihi KHM (Forbes, 2007). Nilai KHM ditentukan dengan metode dilusi dengan cara menumbuhkan bakteri uji pada media cair NB (Nutrient Broth) dan diukur absorbansinya. Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak dua kali, yaitu sebelum inkubasi dan setelah inkubasi (Rahmawati, 2014).

Konsentrasi Bunuh Minimum atau KBM adalah konsentrasi terkecil antibakteri untuk dapat membunuh 99,9% bakteri (Forbes, 2007). Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) merupakan kelanjutan dari Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dimana sampel hasil uji KHM yang positif diambil sebanyak 1 mL dan ditumbuhkan pada media padat secara pour plate serta diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan menggunakan inkubator. Hasil inkubasi kemudian diamati jumlah koloni bakteri yang terbentuk, dimana jumlah koloni yang dihitung antara 30 hingga 300 koloni (Pratiwi, 2008).

Metode yang digunakan dalam uji KHM dan KBM adalah metode dilusi (Pratiwi, 2008). Metode ini ditujukan untuk mengetahui konsentrasi zat antibakteri untuk dapat menghambat maupun membunuh bakteri uji (Jawetz, 2007). Metode ini dilakukan dengan mengencerkan larutan antibakteri hingga didapatkan beberapa konsentrasi, kemudian ditambahkan ke dalam media cair berisi bakteri uji (Hugo dan Russel, 1987). Menurut Tortora dkk (2001), metode dilusi memiliki prinsip kerja dengan cara menambahkan bakteri uji ke dalam media cair bersama dengan zat antibakteri untuk diamati tingkat kekeruhannya. Berdasarkan pada metode ini, yang dimaksud KHM adalah sampel dengan kekeruhan paling jernih atau tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba. Sedangkan KBM merupakan kelanjutan dari KHM, dimana sampel yang positif KHM ditumbuhkan dalam media padat untuk kemudian diamati ada tidaknya koloni bakteri yang terbentuk. Hal inilah yang kemudian disebut sebagai KBM.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif kualitatif dengan menggunakan rancangan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, dimana tahap pertama untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit buah markisa kuning terhadap bakteri uji *S.aureus* dan *E.coli*. Sementara itu, tahap kedua penelitian adalah untuk mengetahui konsentrasi terendah ekstrak kulit buah markisa dalam membunuh dan menghambat bakteri uji dengan konsentrasi sebagai berikut :

K1 = 25 mg/mL

K2 = 50 mg/mL

K3 = 75 mg/mL

K4 = 100 mg/mL

K5 = 350 mg/mL

K+ = Kloramfenikol 30 mg/mL

K- = Akuades Steril

Total perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini berlangsung sebanyak 40 kali dimana masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali ulangan. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah markisa kuning yang menunjukkan hasil positif akan dilanjutkan dengan uji KHM dan KBM dengan menggunakan metode dilusi.

3.2. Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian dilakukan pada pertengahan bulan Januari hingga Pertengahan bulan September tahun 2020. Tempat pelaksanaan penelitian adalah Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Penggunaan alat-alat pada penelitian ini meliputi alat untuk ekstraksi dan uji aktivitas antibakteri. Alat-alat untuk ekstraksi diantaranya adalah Rotary Vacum Evaporator, Erlenmeyer, neraca analitik, dan shaker water bath. Sedangkan alat-alat untuk uji antibakteri antara lain LAF (Laminar Air Flow), autoklave, inkubator, pembakar bunsen, penjepit, hot plate dan stirer, serta spektrofotometer.

3.3.2. Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian meliputi kulit buah markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.), isolat bakteri *S. aureus* sebagai perwakilan dari Gram positif dan *E. coli* sebagai perwakilan Gram negatif. Selain itu, bahan lain yang diperlukan adalah alkohol 70%, etanol 70%, media padat NA, media cair NB, safranin, kristal violet, dan malachite green.

3.4. Variabel

Variabel-variabel dalam penelitian ini meliputi variabel bebas, variabel terikat, dan variabel kontrol sebagai berikut :

Variabel bebas

Ekstrak kulit buah markisa kuning yang dibuat dalam berbagai konsentrasi yang telah ditentukan merupakan variabel bebas dalam penelitian ini.

Variabel terikat

Zona hambat, KHM, dan KBM ekstrak kulit buah markisa kuning pada berbagai konsentrasi yang telah ditentukan terhadap bakteri uji adalah variabel terikat yang terdapat dalam penelitian ini.

Variabel kontrol

Suhu, waktu inkubasi, media yang digunakan dalam menumbuhkan bakteri merupakan beberapa contoh dari variabel kontrol dalam penelitian ini.

3.5. Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Pembuatan ekstrak kulit buah markisa kuning
2. Peremajaan dan pembuatan inokulum bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
 - a) Sterilisasi alat dan bahan.
 - b) Pembuatan media.
 - c) Peremajaan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
 - d) Pembuatan Inokulum dan pengenceran bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah markisa kuning terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*.
4. Uji KHM dan KBM ekstrak kulit buah markisa kuning terhadap bakteri *S. aureus* dan *E.coli*.
5. Analisis data hasil penelitian.

3.6. Cara Kerja

3.6.1. Preparasi Sampel Kulit Buah Markisa

Preparasi sampel adalah tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini. Pada tahap ini dilakukan pengumpulan bahan berupa kulit buah markisa kuning yang diperoleh dari Desa Sirnoboyo, Kecamatan Pacitan, Kabupaten Pacitan, Provinsi Jawa Timur. Kulit buah markisa kuning yang telah diperoleh kemudian dicuci bersih dan dikering anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung selama kurang lebih 3 hari. Setelah sampel kering, sampel kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender dan dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak kulit buah markisa kuning (Nugraha dkk, 2019).

3.6.2. Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Markisa dengan Maserasi

Ekstrak kulit buah markisa kuning dibuat dengan cara merendam sebanyak 30 gram serbuk kulit buah markisa kuning ke dalam toples gelas berisi

750 mL etanol 70% selama 48 jam. Larutan tersebut kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan maserat. Maserat yang telah diperoleh diuapkan dengan rotary vacuum evaporator pada suhu 40 °C sampai didapatkan ekstrak pekat seperti pasta (Yulianingtyas dan Bambang, 2016).

3.6.3. Pembuatan Media Nutrient Agar

Nutrient Agar atau NA adalah media padat yang digunakan dalam penelitian ini untuk menumbuhkan bakteri uji. Pembuatan media NA dilakukan dengan melarutkan dan menghomogenkan 2 gram serbuk NA ke dalam 100 mL akuades. Proses penghomogenan dilakukan dengan cara memanaskan suspensi pada hot plate dan mengaduknya dengan menggunakan pengaduk hingga suspensi mendidih. Media NA yang sudah siap digunakan kemudian dituang ke dalam tabung reaksi secara aseptik dan disterilisasi dengan menggunakan autoclave. Sterilisasi dilakukan pada suhu 121 °C pada tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi dibiarkan dalam keadaan miring sehingga terbentuk media padat miring (Muhibah, 2013).

3.6.4. Pembuatan Media Nutrient Broth

Nutrient Broth atau NB adalah media cair untuk melakukan uji KHM dan KBM dalam penelitian ini. Pembuatan media NB tidak berbeda jauh dengan pembuatan media NA, yaitu sebanyak 1,8 gram serbuk NB dilarutkan dan dihomogenkan dengan 100 mL akuades steril. Suspensi tersebut kemudian dipanaskan pada hot plate dan diaduk dengan menggunakan pengaduk hingga mendidih dalam keadaan tertutup. Media NB yang telah siap untuk digunakan dituang ke dalam tabung reaksi, ditutup rapat dan disterilisasi pada temperature 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Rahmawati, 2014).

3.6.5. Peremajaan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Bakteri uji yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri uji yang akan digunakan

harus diremajakan terlebih dahulu dengan cara mengambil sebanyak 1 ose biakan murni dari masing-masing bakteri dan mengoleskannya di atas permukaan media miring yang telah dibuat sebelumnya. Proses ini dilakukan secara aseptis dengan meletakkan media miring di dekat pembakar bunsen pada saat mengoleskan bakteri uji. Media miring yang telah diolesi biakan bakteri uji kemudian ditutup rapat dengan menggunakan kapas dan diinkubasi dengan inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam (Muhibah, 2013).

3.6.6. Pembuatan Inokulum Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Bakteri *S. aureus* dan *E.coli* hasil peremajaan selanjutnya digunakan untuk membuat inokulum dengan cara menumbuhkan bakteri tersebut pada media cair NB. Proses ini dilakukan secara aseptis, yakni pada saat mengambil bakteri dari hasil peremajaan maupun pada saat menumbuhkan bakteri uji pada media NB dilakukan di dekat api pembakar bunsen. Bakteri uji tersebut disuspensikan dan dihomogenkan ke dalam media NB sebanyak 100 mL dan ditutup rapat dengan kapas. Suspensi bakteri *E.coli* dan *S.aureus* tersebut kemudian diinkubasi pada suhu optimum, yaitu 37 °C selama 24 jam, sehingga didapatkan biakan murni bakteri uji yang siap digunakan (Rahmawati, 2014).

Hasil inokulum bakteri *E. coli* dan *S. aureus* kemudian diencerkan dari pengenceran 10^{-1} atau pengenceran pertama hingga pengenceran keenam atau 10^{-6} . Pengenceran pertama dilakukan dengan mengencerkan dan menghomogenkan 1 mL suspensi bakteri uji ke dalam 9 mL media NB. Pengenceran kedua hingga pengenceran terakhir dilakukan dengan mengencerkan dan menghomogenkan 1 mL suspensi bakteri uji dari pengenceran sebelumnya ke dalam 9 mL media NB (Sari dkk, 2013). Kekeruhan bakteri kemudian dihitung menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm. Menurut Febriyansari (2008), panjang gelombang 600 – 625 nm digunakan untuk melihat tingkat kekeruhan pada larutan yang berwarna kuning hingga coklat. Hasil pengenceran dengan nilai absorbansi 0,08 – 0,1 atau setara dengan larutan Mc Farland 0,5 atau

$1,5 \times 10^{-8}$ CFU/mL akan digunakan dalam uji KHM dan KBM (Mubarak, dkk., 2016). Penggunaan larutan standard McFarland adalah sebagai referensi untuk menyesuaikan kekeruhan bakteri suspensi sehingga jumlah bakteri dalam kisaran yang diberikan untuk membakukan bakteri uji (Fitri dkk, 2015).

3.6.7. Uji Konfirmasi *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Uji konfirmasi dilakukan untuk mengkonfirmasi bahwa bakteri yang digunakan merupakan bakteri uji yang murni tanpa adanya kontaminasi dari mikroorganisme lainnya. Pada penelitian ini, uji konfirmasi yang dilakukan meliputi pewarnaan Gram, uji katalase, dan pewarnaan endospora. Pewarnaan Gram adalah perlakuan yang dilakukan untuk menentukan kelompok bakteri termasuk Gram positif maupun Gram negatif. Bakteri yang tergolong ke dalam kelompok Gram positif akan menghasilkan warna ungu pada pewarnaan Gram, sedangkan bakteri yang termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif akan menghasilkan warna merah (Jawetz dkk, 2010). Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat preparat bakteri uji yang kemudian diwarnai dengan pewarna Gram. Preparat bakteri uji dibuat dengan cara mengoleskan ose berisi bakteri uji di atas gelas objek dan difiksasi dengan menggunakan api pembakar bunsen. Bakteri uji yang telah difiksasi tersebut kemudian ditetesi dengan kristal violet dan didiamkan selama 60 detik. Setelah lewat 60 detik, apusan bakteri uji dibilas dengan menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Setelah kering, apusan bakteri uji ditetesi dengan iodine dan ditunggu hingga 60 detik untuk kemudian dibilas dan ditetesi dengan alkohol, ditunggu selama 30 detik, dan bibilas lagi dengan air. Setelah itu, apusan ditetesi dengan pewarna safranin, ditunggu selama 60 detik, dibilas, dan dikeringkan untuk selanjutnya diamati di bawah mikroskop mulai dari perbesaran 1000 kali. Hasil pengamatan dicatat dan dicocokkan dengan ciri-ciri pada masing-masing bakteri uji yang digunakan (Fardiaz, 1992).

Pewarnaan endospora memiliki cara kerja yang berbeda dengan pewarnaan Gram. Pada pewarnaan endospora apusan bakteri uji yang telah dibuat sebelumnya diletakkan di atas kawat rum yang dibawahnya terdapat air mendidih. Permukaan preparat bakteri uji kemudian ditutup dengan menggunakan kertas tisu

dan ditetesi dengan malachite green. Proses ini berlangsung selama 5 hingga 6 menit dengan catatan permukaan preparat tidak boleh kering. Apabila permukaan preparat mulai mengering, maka permukaan preparat tersebut harus ditetesi dengan malachite green. Setelah proses ini selesai, preparat diangkat dari atas kawat rum dan didinginkan untuk kemudian ditetesi dengan safranin dan dibiarkan selama 90 detik. Setelah lewat dari 90 detik, preparat dibilas dan diamati di bawah mikroskop (Fardiaz, 1992).

Uji katalase merupakan uji konfirmasi yang paling sederhana jika dibandingkan dengan dua uji konfirmasi lainnya. Pada uji katalase yang harus dilakukan menambahkan 2 hingga 3 tetes inokulum bakteri uji pada 12 tetes larutan H₂O₂ 10% hingga 30%. Pada bakteri positif katalase akan didapati adanya buih yang terbentuk dan sebaliknya tidak pada didapati buih pada katalase negatif (Fardiaz, 1992). Menurut Lay (1994), pada bakteri berbentuk bulat atau kokus, uji katalase digunakan untuk membedakan antara bakteri dari jenis *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*, dimana pada bakteri *Staphylococcus* akan menunjukkan katalase positif sedangkan pada *Streptococcus* menunjukkan katalase negatif.

3.6.8. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak kulit buah markisa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 0,2 mL suspensi bakteri uji dari hasil pembuatan inokulum di atas media NA padat dan diratakan dengan menggunakan cotton swab. Media yang telah diolesi dengan bakteri dilubangi dengan menggunakan tup mikropipet kuning sehingga terbentuk lubang sumuran. Lubang sumuran yang telah terbentuk ditambahkan sebanyak 0,5 mL ekstrak kulit buah markisa kuning dengan konsentrasi 350 mg/mL dan diulangi sebanyak 4 kali ulangan. Setelah itu, ditambahkan kontrol positif yang dibuat dengan memasukkan larutan kloramfenikol 30 mg/mL sebanyak 0,5 mL dan kontrol negatif yang dilakukan

dengan memasukkan 0,5 mL akuades. Media yang telah diberi perlakuan seperti dijelaskan di atas kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dengan menggunakan inkubator (Prayoga, 2013). Hasil inkubasi kemudian diamati untuk melihat ada tidaknya zona zona hambat yang terbentuk. Apabila terdapat zona hambat, maka zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong dan dihitung luasnya dengan menggunakan perhitungan sebagai berikut (Warbung, dkk, 2014) : Rumus 1

$$\text{Luas Zona Hambat (mm)} = \frac{d1 + d2}{2} - x \quad (\text{Rumus 1})$$

Keterangan :

d1 = diameter zona hambat secara vertikal (mm)

d2 = diameter zona hambat secara horizontal (mm)

x = lubang sumuran (5 mm)

3.6.9. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji KHM atau Konsentrasi Hambat Minimum dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah ekstrak kulit buah markisa kuning yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Proses ini dilakukan dengan menggunakan metode dilusi, yakni sebanyak 0,5 mL suspensi masing-masing bakteri uji ditambahkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL NB dan 0,5 mL ekstrak kulit buah markisa kuning pada masing-masing konsentrasi. Perlakuan ini juga menggunakan kontrol positif yang dibuat dengan melarutkan suspensi bakteri uji pada tabung reaksi berisi 2 mL media NB dan kontrol negatif dengan menghomogenkan 0,5 mL bakteri uji dan 0,5 mL akuades ke dalam 9 mL NB. Suspensi di atas kemudian diambil sebanyak 3 mL untuk dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm dengan spektrofotometer. Suspensi bakteri yang telah diambil sampel untuk dibaca nilai absorbansinya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam, sampel kemudian divorteks dan diambil sebanyak 3 mL untuk dibaca kembali nilai absorbansinya. Nilai KHM kemudian ditentukan dengan mengurangi nilai OD

setelah inkubasi dengan OD sebelum inkubasi seperti pada persamaan berikut (Rahmawati, 2014) : Rumus 2

$$\mathbf{KHM (nm) = OD setelah inkubasi - OD sebelum inkubasi \quad (Rumus 2)}$$

3.6.10. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Uji KBM merupakan kelanjutan dari uji KHM. Hal ini dikarenakan KBM tidak dapat dipisahkan dengan KHM. Uji KBM dilakukan dengan cara mengambil sampel yang positif secara KHM sebanyak 1 mL untuk dibiakkan pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Hasil inkubasi kemudian diamati jumlah koloni bakterinya dengan counter plate untuk menentukan jumlah mikroba hidup seperti pada persamaan berikut (Kholifah, 2014)

$$\mathbf{Jumlah\ mikroba\ hidup\ (CFU/mL) = Jumlah\ koloni\ x\ faktor\ pengenceran}$$

Ketentuan perhitungan jumlah koloni dilakukan dengan mengikuti aturan seperti berikut :

1. Koloni tunggal dianggap satu koloni.
2. Koloni ganda yang bertumbukan dan saling terhubung dianggap dua koloni.
3. Sejumlah besar koloni bakteri yang saling terhubung satu sama lain dianggap satu koloni.
4. Koloni ganda yang saling terhubung namun masih dapat dibedakan dianggap dua koloni.
5. Koloni seperti bentukan rantai dianggap satu koloni.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah markisa kuning dilakukan untuk mengetahui kemampuan antibakteri pada suatu senyawa. Menurut Dewi (2010), kemampuan antibakteri suatu senyawa dapat diketahui dengan melihat zona hambatnya. Akan tetapi, sebelum melakukan uji aktivitas antibakteri, perlu dilakukan uji konfirmasi terhadap bakteri uji untuk memastikan kebenaran dari jenis bakteri yang digunakan sebagaimana terlampir dalam Lampiran 4.1.

Berdasarkan pada Lampiran 4.1. di atas, maka dapat disimpulkan bahwa bakteri uji yang akan digunakan benar-benar bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Oleh karenanya, penelitian bisa dilanjutkan pada tahap berikutnya, yaitu uji aktivitas antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri ditunjukkan pada Tabel 4.1.1. sebagai berikut.

Tabel 4.1.1. Data Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning

No	Nama Sampel	Aktivitas Antibakteri (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	Ekstrak Kulit Buah markisa Kuning 350 mg/mL	12,73	11,54
2	K (+)	21,22	24,67
3	K (-)	0	0

Hasil penelitian antibakteri pada ekstrak kulit buah markisa kuning menunjukkan adanya aktivitas antibakteri seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.1.1. di atas. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak kulit buah markisa kuning (*Passiflora edulis var.flavicarpa* D.) pada konsentrasi 350 mg/mL menunjukkan adanya zona hambat pada bakteri *S. aureus* sebesar 12,73 mm. Sementara itu, pada bakteri *E.coli* juga terdapat zona hambat sebesar 11,54 mm. Berdasarkan pada hasil penelitian, dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri pada *S. aureus* lebih tinggi dibandingkan dengan *E. coli*. Hal ini dikarenakan susunan dinding sel pada bakteri Gram positif mengandung lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid, dan polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut

dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif, sehingga sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri Gram positif bersifat lebih polar. Senyawa dalam ekstrak kulit buah markisa kuning yang bersifat polar seperti flavonoid, tanin, dan saponin lebih mudah menembus peptidoglikan yang bersifat polar dari pada yang bersifat non-polar (Septiani dkk, 2017). Sementara itu, apabila dilihat dari segi kekuatan zat antibakteri berdasarkan pada diameter zona hambatnya, ekstrak kulit buah markisa dapat dikategorikan sebagai zat antibakteri yang kuat. Hal ini sebagaimana pernyataan Susanto, dkk (2012) yang menyatakan bahwasanya suatu zat antibakteri termasuk kuat apabila memiliki zona hambat antara 11-20 mm. Sementara itu, kontrol positif yang merupakan 30 mg/mL kloramfenikol menunjukkan zona hambat sebesar 21,22 mm pada bakteri *S. aureus* dan 24,67 mm pada *E. coli*. Menurut Susanto dkk (2012), zat antibakteri dengan zona hambat lebih dari 20 mm dikategorikan sebagai zat antibakteri yang sangat kuat.

Penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak kulit buah markisa kuning diketahui dapat menghambat bakteri Gram positif dan negatif. Bakteri yang dapat dihambat pada kelompok Gram positif adalah *S. aureus* dan pada Gram negatif adalah bakteri *E. coli*. Sementara itu, pada bakteri lain dari kelompok Gram positif dan negatif belum dilakukan pengujian, begitu juga pada jamur baik yang patogen maupun non-patogen.

4.2. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi Hambat Minimum atau KHM adalah konsentrasi terkecil yang dibutuhkan senyawa antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan antibakteri dapat meningkat menjadi bakterisidal apabila dosisnya ditingkatkan melebihi KHM (Forbes, 2007). Data hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) disajikan pada Tabel 4.2.1.

Tabel 4.2.1. Data Hasil Uji KHM Bakteri *S.aureus* dan *E. coli*

No	Konsentrasi	Bakteri Uji	Hasil
1	25 mg/mL	<i>S. aureus</i>	++
		<i>E. coli</i>	++
2	50 mg/mL	<i>S. aureus</i>	++
		<i>E. coli</i>	++
3	75 mg/mL	<i>S. aureus</i>	+
		<i>E. coli</i>	+
4	100 mg/mL	<i>S. aureus</i>	+
		<i>E. coli</i>	+
5	350 mg/mL	<i>S. aureus</i>	-
		<i>E. coli</i>	-
6	K (+)	<i>S. aureus</i>	-
		<i>E. coli</i>	-
7	K (-)	<i>S. aureus</i>	++
		<i>E. coli</i>	++

Keterangan :

- : Jernih
- + : Sedikit Keruh
- ++ : Keruh

Data hasil uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) yang dilakukan dalam penelitian dapat dilihat pada tabel 4.2.1. Berdasarkan pada data yang ditampilkan, pada konsentrasi ekstrak 25, 50, 75, dan 100 mg/mL serta kontrol negatif tidak ditemukan adanya aktivitas KHM baik pada bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna pada suspensi uji yang menjadi lebih keruh. Sementara itu, pada konsentrasi 350 mg/mL dan kontrol positif ditemukan adanya aktivitas KHM yang ditunjukkan dengan warna jernih pada suspensi uji.

Hasil uji KHM yang menunjukkan hasil positif akan dilanjutkan dengan uji KBM atau Konsentrasi Bunuh Minimum. Konsentrasi Bunuh Minimum atau KBM adalah konsentrasi terkecil antibakteri untuk dapat membunuh 99,9% bakteri (Forbes, 2007). Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) merupakan kelanjutan dari Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Hasil KHM yang

menunjukkan adanya penghambatan terhadap bakteri uji, dimana dalam penelitian ini adalah kontrol positif dan ekstrak kulit buah markisa kuning pada konsentrasi 350 mg/mL diambil sebanyak 1 mL dan ditumbuhkan pada media serta diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan menggunakan inkubator. Hasil inkubasi kemudian diamati jumlah koloni bakteri yang terbentuk, dimana jumlah koloni yang dihitung antara 30 hingga 300 koloni (Pratiwi, 2008). Data hasil uji KBM dapat dilihat pada Tabel 4.2.2. di bawah ini.

Tabel 4.2.2. Data Hasil Uji KHM Bakteri *S.aureus* dan *E. coli*

No	Bakteri Uji	Jumlah Mikroba Hidup (CFU/mL)		
		Ekstrak Kulit buah markisa kuning 350 mg/mL	Kontrol Positif	Kontrol negatif
1	<i>S. aureus</i>	15×10^{-1}	0	200×10^{-1}
2	<i>E. coli</i>	15×10^{-1}	0	230×10^{-1}

Berdasarkan pada data hasil uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang telah dilakukan, tidak menunjukkan adanya kemampuan dalam membunuh bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan masih tumbuhnya kedua bakteri tersebut pada media agar. Pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan sebanyak 15×10^{-1} CFU/mL bakteri yang bertahan hidup. Menurut McKane dan Kandel (1996) dan Koneman dkk (1997), KBM adalah konsentrasi terkecil yang dapat membunuh bakteri, ditandai dengan bakteri uji tidak dapat tumbuh pada hasil goresan di cawan yang menandakan bahwa masing-masing bakteri uji telah mati.

Hasil kontrol positif menunjukkan adanya kemampuan dalam membunuh bakteri, yang ditandai dengan tidak adanya bakteri yang tumbuh dalam media agar. Sementara itu, hasil uji KBM pada kontrol negatif tidak didapati kemampuan dalam membunuh bakteri, oleh karena masih adanya bakteri yang timbul dalam media. Pada sampel bakteri *S. aureus* jumlah koloni yang bertahan hidup sebanyak 200×10^{-1} CFU/mL dan 230×10^{-1} CFU/mL koloni pada bakteri uji *E. coli*.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak kulit buah markisa kuning (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* D.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak kulit buah markisa kuning (*P. Edulis* var. *flavicarpa* D.) adalah pada konsentrasi 350 mg/mL baik pada bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. Sementara itu, Konsentrasi Bunuh Minimum pada ekstrak dengan konsentrasi 350 mg/mL menunjukkan masih adanya bakteri yang tumbuh.

5.2. Saran

Saran yang dapat diperoleh dalam penelitian ini adalah perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap jamur patogen untuk mengetahui lebih lanjut mengenai kemampuan ekstrak kulit buah markisa kuning terhadap berbagai jenis mikroorganismen patogen, salah satunya adalah mikroba yang memiliki patogenesis lebih tinggi dari bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M., 2003, *Tafsit Ibnu Katsir Jilid 5*, Bogor : Pustaka Imam Syafi'i.
- Abdullah, M., 2004, *Tafsit Ibnu Katsir Jilid 6*, Bogor : Pustaka Imam Syafi'i.
- Adila, R., Nurmiati, dan Agustien A., 2013, Uji Antimikroba *Curcuma* spp. Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*, *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, Vol. 2. No. 1., 1-7.
- Ajizah, A., 2004, Sensitivitas *Salmonella thypimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L., *Bioscientiae*, Vol. 1. No. 1., 8-31.
- Akanbi, B. O., O. D. Bodunrin, dan S. Olayanju, 2001, Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Passiflora edulis*, *Reserchers*, Vol. 3. No. 5., 9-12.
- Ansel, H. C. dan Popovich N. G. L. V., 1995, *Pharmaceutical Dosage Form and Drug Delivery System 6 Edition*, Malvern : William and Wilkins.
- Bernardo, W., M. F. G. Boriollo, R. B. Goncalves, dan J. F. Hofling, 2005, *Staphylococcus aureus* Amplicillin Resistant from The Odontological Clinic Environment, *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, Vol. 47.
- Blount, Z. D., 2015, The Natural History of Model Organism P: The Exhausted Potential of *E. coli*, *eLIFE*, Vol. 4.
- Brooks, G. F., Butel J. S., dan Morse S. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, Jakarta : Salemba Medika.
- BSN (Badan Standardisasi Nasional), 2009, SNI 3924:2009 Mutu Karkas dan daging Ayam.
- Burhanuddin, N., 2010, *Mushaf Al-Burhan Edisi 1*, Kutai, Media Fitrah Rabbani.
- Cowan, M., 1998, Plants Products as Antimicrobial Agent, *Clinical Microbiology*, Vol. 4. No. 12., 564-582.
- Darwis, D., 2000, Teknik Dasar Laboratoium dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
- Dewi, F. K., 2010, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Dhawan, K., S. Dhawan, dan A. Sharma, 2004, *Passiflora : A Review Update*, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 94. No. 1., 1-23.
- Donnenberg, M. I. S., 2002, *Escherichia coli* Virulence Mechanism of a Versatile Pathogen, Elsevier Inc.
- Fardiaz, S., 1992, *Mikrobiologi Pangan I*, Jakarta : Gramedia.
- Fatisah, Y. dan Endah, 2013, Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit dan Biji Buah Pulasan (*Nepehelium mutabile*). ISBN 978-602-7902-34-3. Prosiding Seminar Nasional IAIN Sultan Thaha Saifuddin, Jambi.

- Fitrah, I. D., Darmawi, dan Rasmaidar, 2013, Isolasi *Pasteurella multocida* pada Kuda dan Sensitivitasnya terhadap Antibiotik, *Jurnal Medika Veterinaria*, Vol. 7, No. 2.
- Fitri, K. S. A., Agung M. U. K., dan Meika J., 2015, Larutan McFarland Standard Digunakan Sebagai Referensi untuk Menyesuaikan Kekeuhan Bakteri Suspensi Sehingga Jumlah Bakteri dalam Kisaran yang Diberikan untuk Membakukan Mikroba Pengujian, *Jurnal Akuatika*, Vol. 6, No. 2.
- Forbes, A. B., 2007, *Bailey and Scott's Diagnostig Microbiology Edisi 12*, St. Louis : Mosby.
- Halima, Annisa Willy, 2014, Studi Morfologi dan Anatomi Beberapa Markisa Koleksi Balai Penelitian Tanaman Buah Kebun Percobaan Berastagi Sumatra Utara, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Harbone, 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Moderen Menganalisis Tumbuhan*, Bandung : ITB Press.
- Hargono, D., 1986, *Obat Analgetik dan Antiinflamasi*, Jakarta : Cermin Dunia Kedokteran.
- Harmita dan Radji M., 2008, *Buku Ajar Analisis Hayati*, Jakarta : EGC.
- Irianto, K., 2007, *Mikrobiologi : Menuak Dunia Mikroorganisme Jilid 1*, Bandung : C. V. Yrama Widya.
- Jawetz, E. L., J. Melnick, dan Edward A., 2007, *Mikrobiologi Kedokteran*, Jakarta : EGC.
- Karimela, E. J., Frans G. L., dan Henny A. D., 2017, Karakteristik *Staphylococcus aureus* yangt Diisolasi dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe, *JPHPI*, Vol. 20.
- Karsinah, F. H., Silalahi, dan A. Manshur, 2007, Eksplorasi dan Karakterisasi Plasma Nutfah Tanaman Markisa, *Jurnal Hortikultura*, Vol. 17. No. 4., 297-306.
- Karsinah, F. H., Silalahi, dan A. Mansur, 2010, Markisa Asam Buah Eksotika Kaya Manfaat, *IPTEK Hortikultura*, 30-35.
- Kayser, F. H., 2005, *Medical Microbiology*, New York : Thieme Stuttgart.
- Kholifah, 2014, Uji Aktivitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pare (*Momordica charantia* L) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Edwardsiella tarda* Penyebab Penyakit Edwardsiellosis pada Ikan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Khopkar, 2003, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Jakarta : UI Press.
- Kristanti, A. N., Aminah N. S., Tanjung M., dan Kurniadi B., 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Surabaya : Airlangga Press.
- Lay, B. W., 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, Jakarta : PT Raja Grafindo Persada.
- Manning, S. D., 2005, *Escherichia coli Infection*, Philadelphia : Chelsea House Publisher.
- Markham, K. R., 1998, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Bandung : Penerbit ITB.

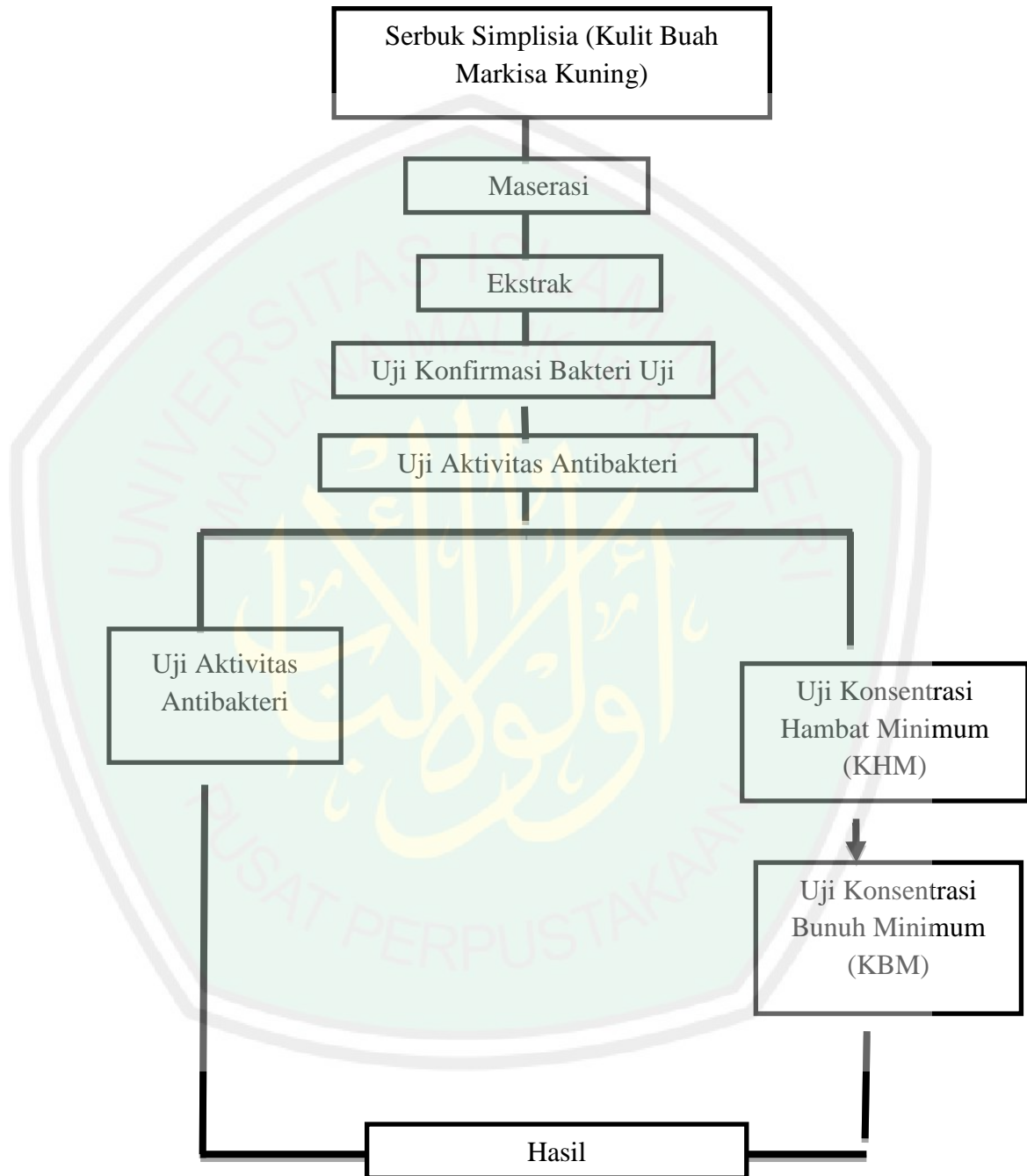
- Monalisa, D., Handayani T., dan Sukmawati D., 2011, Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*, *Jurnal BIOMA*, Vol. 9. No. 2., 13-20.
- Montanher, A. B., S. M. Zucolotto, E. P. Shcenkel, dan T. S. Frode, 2007, Evidence of Anti-Inflammatory Effect of *Passiflora edulis* in an Inflammation Model, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 109. No. 2., 281-288.
- Mubarak, Z., Santi C., dan Hafizah H. D., 2016, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami dari Sarang Lebah terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*, *Journal of Syiah Kuala Dentristy Society*, Vol. 1., No. 2.
- Muhibah, S. R. N., 2013, Uji Golongan Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah dari Petani Lobuk Madura, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Mulyadi, M., Wuryanti, dan Purbowantiningrum R. S., 2003, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-alang (*Imperata cylindrical*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram, *Chem info*, Vol. 1.
- Nakasone, H. Y. dan Paul R. E., 1999, *Crop Production Science in Horticulture Tropical Fruit*, CAB International.
- Nicolls, J. M., J. Birner, dan P. Forsell, 1973, Passicol, an Antibacterial and Antifungal Agent Produced by *Passiflora* Plant Species : Qualitative and Quantitative Range of Activity, *Antimicrobial Agent and Chemoteraphy*, Vol. 3. No. 1., 105-109.
- Norajid, K., Laohakunjit N., Kerdchoechuen O., 2007, Antibacterial Effect of Five Zingiberaceae Essential Oils, *Molecules*, Vol. 12.
- Nugraha, S. E., Suryadi A., dan Erly S., 2019, Antibacterial Activity of Ethyl Acetat Fraction of Passion Fruit Peel (*Passiflora edulis* Sims) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Vol. 2. No. 1., 7-12.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, dan Mursal G., 2015, Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Pengakik Ice-Ice, *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, Vol. 1, No. 2.
- Patel, S. S., 2009, Morphology and Pharmacology of *Passiflora edulis* : A Review, *Journal of Herbal Medicine and toxicology*, Vol. 3. No. 1., 1-6.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan, 1998, *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 2*, jakarta : UI Press.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan, 2012, *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1*, Jakarta : UI Press.
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-dasar Biokimia*, Jakarta :UI Press.
- Pratita, M. Y. E. dan Putra S. R., 2012, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi, *Jurnal Teknik Pornits*, Vol. 1.
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Jakarta : Erlangga.

- Purwono dan Hartono R., 2008, *Bertanam Jagung Unggul*, Jakarta : Penebar Swadaya.
- Rahma, E., 2018, Uji Efektivitas Lendir *Anguilla bicolor* terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Rahmawati, R., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloid* L) dan Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Streptococcus* Mutan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi Edisi 6*, Bandung : ITB Press.
- Rukmana, H. R., 2003, *Usaha Tani Markisa*, Yogyakarta : Kanisius.
- Sabir, A., 2005, Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis trigona sp. terhadap bakteri *Streptococcus* Mutan (In Vitro), *Majalah Kedokteran Gigi*, Vol. 38, No. 3., 135-141.
- Salisbury, F. B. dan Ross C. W., 1995, *Fisiologi Tumbuhan Jilid 1*, Bandung : ITB Press.
- Sari, P. P., R ita W. S., dan Puspawati N. M., 2011, Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq) Merr) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*, 27-34.
- Sastrohamidjojo, H., 1996, *Spektroskopi*, Yogyakarta : Liberty.
- Saudi, A. D. A. dan Rusdy, 2018, Uji Daya Hambat Antibiotika terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih Di Rumah Sakit Salewangang Maros, *Media Farmasi*, Vol. 15.. No. 2., 27-31.
- Septiani, Eko N. D., dan Ima W., 2017, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, Vol. 13, No. 1-6.
- Shihab, Muhammad Quraish. 2002. Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an, Jakarta, Lentera Hati.
- Simmaky, S. dan G. Jaanaki, 2014, Extraction and Characterization of Pectin from Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis f. Flavicarpa* L.) Endocarp Peel, *SAITM Research on Engineering Advancement*, Hal 27-38.
- Sirait, M., 2007, *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*, Bandung : ITB Press.
- Sudarmadji, S., 1989, *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*, Yogyakarta : Liberty.
- Sudarno, 2012, Sensitivity Test of Fruit Bitter Melon Juice (*Momordica charantia* L) on Bacteria *Edwardsiella tarda* with Paper Disc Diffusion Method In Vitro, *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, Vol. 4. No. 1., 7-12.
- Suganda, A. G., Sukandar E. Y., dan Rahman A. A., 2003, Aktivitas Antibakteri dan Antifungi Ekstrak Etanol Daun *Allamanda cathartica* L. dan *Allamanda nerifolia* HOOK. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, Vol. 2. No. 3., 1412-2855.

- Sulistio, D., 2012, Uji Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi* pada Air Minum Isi Ulang di Kelurahan Antang Kota Makassar, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Surianta, 2011, *Sifat Fisik dan Daya Simpan Buah Markisa Kuning (Passiflora flavicarpa) yang Dilapisis Kitosan*, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Susanto, Sudrajat, dan Ruga, 2012, Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq.) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri, *Jurnal Kesehatan*, Vol. 11., No. 2.
- Tyasningsih, W., Ratih R., Erni, R. S. I. Suryanie, Hasutji E. N., Sri C., dan Didik H., 2010, *Buku Ajar Penyakit Infeksius I*, Surabaya : Airlangga University Press.
- Vaquero, M. J. R., M. R. Alberto, dan M. C. M. de Nadra, 2007, Antibacterial Effect of Phenolic Compounds from Different Wines, *Food Control*, Vol. 18. No. 2., 93-101.
- Verheij, E. W. M. dan Coronel R. E., 1997, *Buah-buahan yang Dapat Dimakan. Porsea. Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2*, Jakarta : Gramedia.
- Volk, W. A. dan Wheeler M. F., 1998, *Mikrobiologi Dasar Jilid 1*, Jakarta : Erlangga.
- Warbung, Y.Y., Vonny, N. S. W., dan Jimmy P., 2014, Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Callyspongia* sp terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia*, Vol. 1, No. 2.
- WHO, 2006, *Guidelines for Drinking Water Quality : First Addendum to Thrid Edition, Volume 1*, Recommendation. Genewa.
- Widodo, N., 2007, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid yang Terkandung dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*), Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Wirakusuma, E. S., 2007, *Jus Buah dan Sayuran*, Jakarta : Penebar Swadaya.
- Yulianingtyas, A. dan Bambang K, 2016, Optimasi Volume Pelarut dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), *Jurnal Teknik Kimia*, 10, 2.
- Yuwono, 2012, *Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2. Langkah Kerja

L2.1 Sterilisasi Alat

Alat

- Ditutup mulut alat-alat gelas menggunakan kapas dan kasa kemudian dilapisi wrap
- Dibungkus cawan petri dengan kertas dan dibungkus dengan plastik
- Dimasukkan ke dalam autoklaf dengan tekanan 15 psi pada suhu 121 °C.

Hasil

L2.2 Pembuatan Media

Nutrien Agar

- Ditimbang 5 gram serbuk NA.
- Dilarutkan dalam 250 mL aquades dalam gelas beker.
- Ditutup dengan aluminium foil.
- Dipanaskan di atas *hot plate* dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.
- Dimasukkan kedalam tabung Erlenmeyer secara aseptis.
- Ditutup dengan aluminium foil dan dilapisi plastik wrap.
- Disterilkan dalam autoklaf.

Hasil

Nutrien Broth (NB)

- Ditimbang serbuk NB sebanyak 2 gram.
- Dilarutkan dalam 250 mL aquades dalam gelas beker.
- Ditutup dengan aluminium foil.
- Dipanaskan di atas hot plate dan dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer.
- Dipindahkan pada tabung Erlenmeyer secara aseptis.
- Ditutup dengan kapas dan dilapisi plastik wrap.
- Disterilkan dalam autoklaf.

Hasil

L.2.3 Peremajaan Mikroba *S. aureus* dan *E. coli***Biakan Murni *S. aureus* dan *E. coli***

- Diambil 1 ose.
- Digoreskan pada media NA miring secara aseptik
- Ditutup tabung dengan kapas dan dilapisi plastik wrap
- Diinkubasi pada suhu 37 °C

Hasil

L.2.4 Pembuatan Inokulum Bakteri

Stok bakteri uji yang telah diremajakan

- Diambil masing-masing 1 ose bakteri uji.
- Dichelupkan pada media cair NB steril
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.
- Dihomogenkan dengan vortex.
- Dibuat suspensi mikroba uji dari inokulum media cair dengan perbandingan 1:9 dalam NaCl steril 0,9% (mL).
- Divortex kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam.
- Dihat nilai OD dengan spektrofotometer.
- Ditambahkan media cair hingga sesuai standart.

Hasil

L.2.5 Pembuatan Larutan Uji 350 mg/mL

Ekstrak Kulit Buah Markisa

- Ditimbang 350 mg ekstrak kulit buah markisa kuning.
- Dimasukkan pada botol falcon.
- Ditambahkan 1 mL akuades steril.
- Dihomogenkan menggunakan vortex.

Hasil

L.2.6 Uji Uji Akrivitas Antibakteri (Kirby Bauer)

Stok larutan uji antimikroba 350 mg/mL

- Dicairkan media padat kemudian dituang pada cawan petri steril.
- Ditunggu hingga memadat.
- Ditambahkan suspensi inokulum bakteri sebanyak 0,2 mL pada media agar.
- Diratakan menggunakan *cotton swab*.
- Dilubangi media padat dengan tip sebanyak 4 kali.
- Ditambahkan 0,05 mL ekstrak ke dalam sumuran.
- Diinkubasi selama 24 jam.
- Diukur zona bening menggunakan jangka sorong.
- Dianalisis.

Hasil

L.2.7 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning

- Disiapkan sampel ekstrak kulit buah markisa (konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 350 mg/mL), kontrol positif, dan kontrol negatif.
- Dimasukkan sebanyak 0,5 mL sampel ke dalam 9 mL media cair.
- Dimasukkan sebanyak 0,5 mL bakteri uji ke dalam 9 mL media cair.
- Dihomogenkan dengan vortex.
- Diamati nilai OD dengan spektrofotometer.
- Diinkubasi selama 24 jam.
- Diamati nilai OD dengan spektrofotometer.
- Dianalisis.

Hasil

L.2.8 Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Sampel positif KHM

- Dimasukkan sampel hasil KHM yang positif ke dalam cawan petri.
- Ditambahkan media NA.
- Dihomogenkan.
- Ditunggu hingga memadat.
- Diinkubasi selama 24 jam.

Hasil

Lampiran 3. Rumus Perhitungan

L.3.1. Rumus Perhitungan Perulangan

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :

r = Sampel/kelompok

t = Perlakuan

L.3.2. Rumus Perhitungan Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

Keterangan :

V1 = Volume awal larutan

M1 = Massa awal larutan

V2 = Volume akhir larutan

M2 = Massa akhir larutan

L.3.3. Rumus Perhitungan Zona Hambat

$$\text{Luas Zona Hambat (mm)} = \frac{d1 + d2}{2} - x$$

Keterangan :

d1 = Diameter zona hambat secara vertikal

d2 = Diameter zona hambat secara horizontal

x = Lubang sumuran (5 mm)

L.3.4. Rumus Perhitungan KHM

KHM (nm) = OD setelah inkubasi – OD sebelum inkubasi

Lampiran 4. Data Hasil Penelitian

L. 4.1. Uji Konfirmasi

No	Bakteri Uji	Uji Konfirmasi		
		Gram	Endospora	Katalase
1	<i>S. aureus</i>	Positif	-	+
2	<i>E. coli</i>	Negatif	-	+

L.4.2. Uji Aktivitas Antibakteri

No	Bakteri Uji	Ulangan				Kontrol	
		1	2	3	4	Positif	Negatif
1	<i>S. aureus</i>	12,95	13,8	12,92	11,27	22,72	0
2	<i>E. coli</i>	15,37	9,76	11,48	9,55	24,73	0

L.4.3. Uji KHM

No	Konsentrasi	Bakteri Uji	Hasil			
			Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
1	25 mg/mL	<i>S. aureus</i>	++	++	++	++
		<i>E. coli</i>	++	++	++	++
2	50 mg/mL	<i>S. aureus</i>	++	++	++	++
		<i>E. coli</i>	++	++	++	++
3	75 mg/mL	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+
		<i>E. coli</i>	+	+	+	+
4	100 mg/mL	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+
		<i>E. coli</i>	+	+	+	+
5	350 mg/mL	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
		<i>E. coli</i>	-	-	-	-
6	K (+)	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
		<i>E. coli</i>	-	-	-	-
7	K (-)	<i>S. aureus</i>	++	++	++	++
		<i>E. coli</i>	++	++	++	++

L.4.4. Uji KBM

No	Bakteri Uji	Hasil (CFU/mL)			
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
1	<i>S. aureus</i>	$1,2 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$
2	<i>E. coli</i>	$1,5 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$

Lampiran 5. Gambar Penelitian

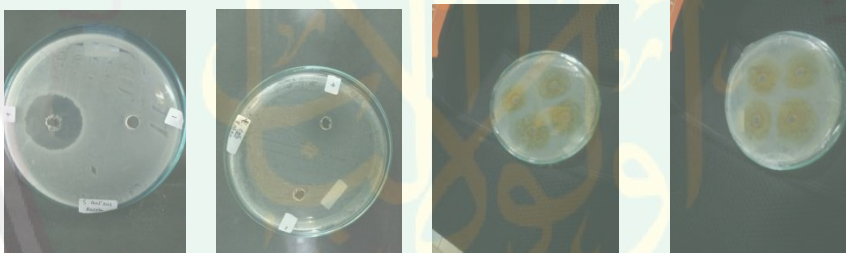
Lampiran 5.1. Persiapan Sampel



Lampiran 5.2. Uji Konfirmasi

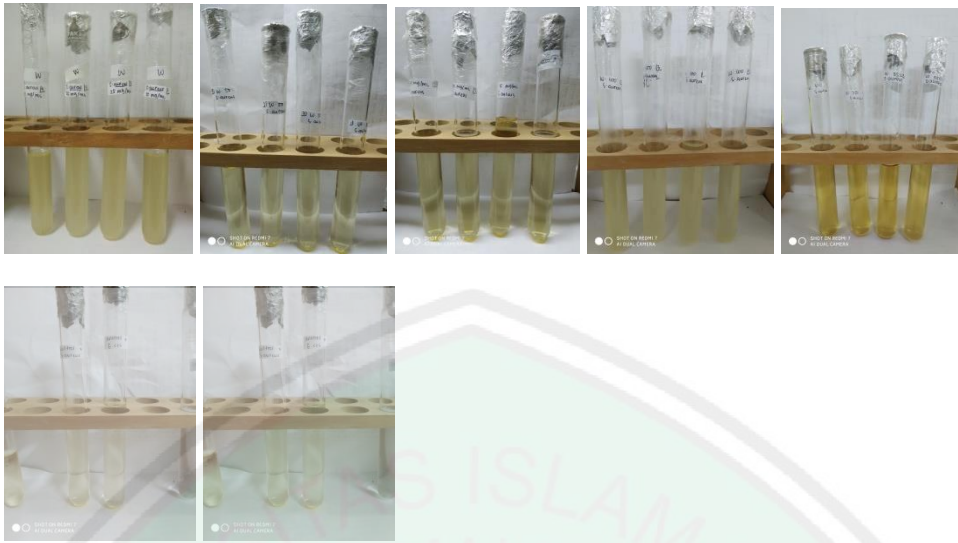


Lampiran 5.3. Uji Aktivitas Antibakteri

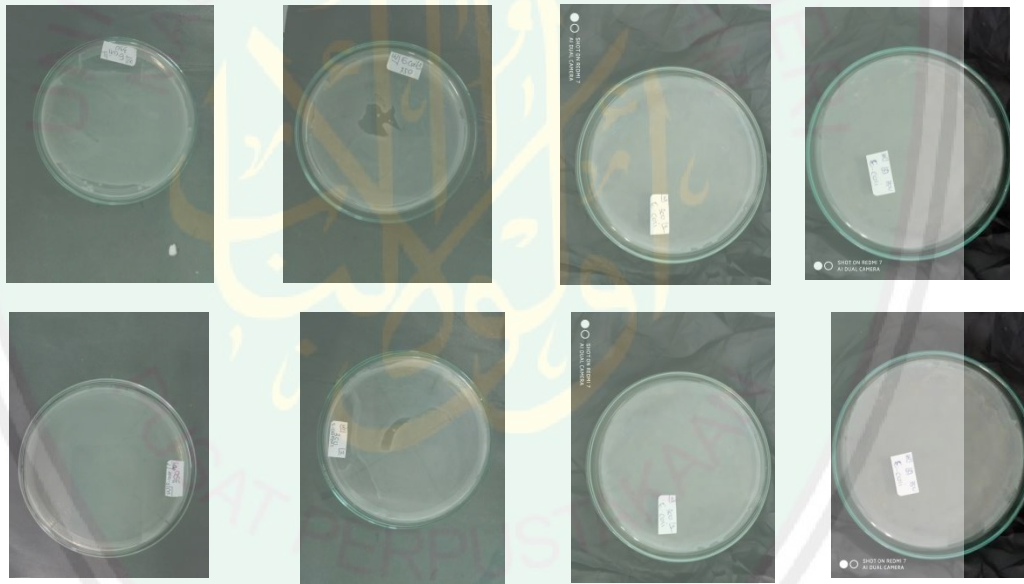


Lampiran 5.4. Uji KHM





Lampiran 5.5. Uji KBM







KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Wahyu Krisna Aji
NIM : 15620087
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2020/2021
Pembimbing : Dr. Nur Kusmiyati, M. Si.
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	05 Agustus 2019	Konsultasi BAB I, II, dan III	1.
2.	07 Agustus 2019	ACC BAB I, II, dan III	2.
3.	31 Oktober 2020	Konsultasi BAB IV dan V	3.
4.	04 November 2020	Revisi BAB IV dan V	4.
5.	11 November 2020	ACC BAB IV dan V	5.

Pembimbing Skripsi,

Malang, 27 Desember 2020
Ketua Prodi Biologi,

Dr. Nur Kusmiyati, M. Si.
NIP. 19890816 2016080 1 2061



Dr. Evika Sandi Sayitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
 PROGRAM STUDI BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Wahyu Krisna Aji
 NIM : 15620087
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil TA 2020/2021
 Pembimbing : Dr. Ahmad Barizi, MA
 Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa* D.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	21 Agustus 2019	Konsultasi Ayat pada BAB I	1.
2	22 Agustus 2019	ACC Integrasi Ayat BAB I	2.
3	23 November 2020	Konsultasi Integrasi Ayat Al-Quran tentang Dzarrah dan Tumbuhan Berbiji	3.
4	26 November 2020	ACC Integrasi Ayat Al-Quran tentang Dzarrah dan Tumbuhan Berbiji	4.

Malang, 27 Desember 2020

Pembimbing Agama Skripsi,

Dr. Ahmad Barizi, MA
 NIP. 19731212 199803 1 008

ketua Prodi Biologi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018 200312 2 002