

**LEMBAR KERJA
MINI RISET BIOLOGI**

UJI ANTIBAKTERI



Disusun Oleh :

Oktira Roka Aji, S.Si., M.Si.

Afifah Nurul Falih, S.Biotek.

**LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI TERAPAN
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN**

2025

UJI ANTIBAKTERI

A. Tujuan

Siswa dapat melakukan uji antibakteri menggunakan ekstrak tumbuhan dan antibiotik komersial terhadap bakteri *Escherichia coli*.

B. Dasar Teori

Uji Antibakteri

Uji antibakteri merupakan metode untuk mengevaluasi kemampuan suatu zat dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Dalam praktikum ini, pengujian dilakukan menggunakan ekstrak tumbuhan dan antibiotik komersial terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang sering digunakan sebagai organisme uji karena pertumbuhannya cepat dan karakternya telah banyak dipelajari.

Metode pengujian yang umum digunakan, antara lain:

1. Metode difusi cakram (*disk diffusion*): cakram kertas yang mengandung zat uji diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi bakteri. Zat antimikroba akan berdifusi ke medium dan menghasilkan zona hambat berupa area jernih di sekitar cakram.
2. Metode sumuran agar (*well diffusion*): sumuran (lubang) dibuat pada agar kemudian diisi zat uji. Zona bening di sekitar sumuran menunjukkan aktivitas antibakteri.

Ekstrak tumbuhan mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin, yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui beberapa mekanisme, seperti:

1. Merusak membran sel bakteri
2. Mengganggu fungsi enzim dan protein
3. Menghambat sintesis asam nukleat

Antibiotik komersial digunakan sebagai pembanding, di antaranya:

1. Ampisilin: menghambat sintesis dinding sel bakteri.
2. Tetrasiklin: menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri.
3. Kloramfenikol: menghambat sintesis protein dengan mengikat subunit 50S ribosom sehingga mencegah pembentukan ikatan peptida saat translasi.

Hasil pengujian ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat (zona bening) di sekitar cakram atau sumuran menggunakan penggaris atau jangka sorong. Semakin besar diameter zona

hambat, semakin kuat aktivitas antibakteri zat uji tersebut. Nilai diameter dapat dibandingkan dengan standar interpretasi sensitivitas (misalnya kategori sensitif, intermediet, atau resisten pada antibiotik) atau dibandingkan relatif antar perlakuan.

Perbandingan ukuran zona hambat antara ekstrak tumbuhan dan antibiotik komersial membantu menilai efektivitas relatif dan potensi ekstrak sebagai sumber agen antimikroba alami..

Teknis Aseptis

Teknik aseptis adalah serangkaian prosedur yang dilakukan untuk mencegah kontaminasi mikroorganisme dari lingkungan ke sampel, media, atau peralatan kerja, serta mencegah penyebaran mikroba uji ke lingkungan sekitar dan tubuh praktikan. Tujuan penerapan teknik aseptis adalah untuk menjaga keakuratan dan kemurnian kultur mikroba yang diteliti, memastikan hasil percobaan tetap valid, serta melindungi praktikan dan lingkungan kerja dari risiko infeksi atau kontaminasi silang. Teknik aseptis meliputi:

a. Persiapan Diri dan Area Kerja

- Pakai jas laboratorium, masker, dan sarung tangan.
- Bersihkan meja kerja dengan kapas atau tisu yang dibasahi alkohol 70%.
- Pastikan peralatan (pipet, tabung, cawan) dalam keadaan steril.

b. Sterilisasi Alat

- Nyalakan Bunsen untuk menciptakan area kerja steril (zona api).
- Jarum inokulasi atau ose dipijarkan di nyala api sampai berpijar merah, lalu didinginkan sebelum digunakan.

c. Penanganan Tabung dan Cawan

- Saat membuka tabung reaksi atau botol, mulut tabung harus dipanaskan sebentar di nyala api.
- Tutup tabung dipegang dengan tangan yang sama saat memegang ose (jangan diletakkan di meja).
- Jangan biarkan tabung atau cawan terbuka terlalu lama.

d. Inokulasi dan Pemindahan

- Ambil inokulum dengan ose steril.
- Segera tutup kembali tabung atau cawan setelah inokulasi.
- Setelah digunakan, ose kembali dipijarkan sampai berpijar merah untuk mensterilkan.

- Jangan berbicara atau gunakan masker saat kerja dengan kultur mikroba untuk mencegah kontaminasi.

e. Pembuangan dan Pembersihan

- Buang sisa kultur dan bahan terkontaminasi pada tempat khusus limbah mikrobiologi.
- Bersihkan kembali meja kerja dengan alkohol 70%.
- Cuci tangan dengan sabun setelah selesai bekerja.

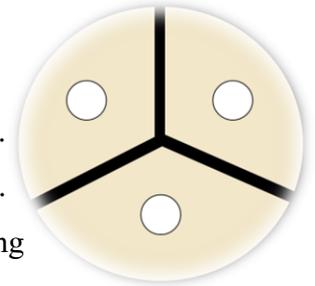
C. Alat dan Bahan

Alat: Erlenmeyer, bunsen, gelas ukur, pipet ukur, neraca analitik, batang pengaduk/spatula, tabung reaksi, tabung durham, autoklaf, cawan petri, rak tabung, beaker glass.

Bahan: akuades, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), spirtus, alkohol 70%, tissue, kertas cakram antibiotik, ekstrak tanaman.

D. Cara Kerja

1. Lakukan uji antibakteri dengan memperhatikan teknik aseptis!
2. Bagi cawan petri menjadi 3 kuadran.
3. Inokulasikan bakteri *E.coli* dengan menggunakan metode *spread* (sebar).
Ambil kultur bakteri *E. coli* sebanyak 0,1 mL lalu tuang ke media MHA.
Ratakan sampel ke seluruh permukaan media menggunakan batang L/drigalski atau *cotton swap* steril.
4. Letakkan kertas cakram diatas media pada posisi di bagian tengah masing-masing kuadran.
 - a. Ekstrak tanaman yang telah dilarutkan dalam larutan DMSO 10%
 - b. Kertas cakram kloramfenikol
 - c. Larutan DMSO 10% (sebagai kontrol negatif)
5. Tekan secara perlahan dengan pinset agar melekat dengan sempurna.
6. Inkubasi selama 24 jam didalam inkubator dengan suhu 36°C.
7. Foto hasil dengan latar belakang gelap agar zona bening terlihat dengan jelas.
8. Ukur zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan penggaris.



E. Hasil

No.	Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)		Rata-rata
		Ulangan 1	Ulangan 2	
1.	Kontrol negatif			
2.	Kloramfenikol			
3.	Ekstrak tanaman			