

Efektivitas Ekstrak Minyak Atsiri Bawang Tunggal terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan Profil *Scanning Electron Microscope*

Soeyati Poejiani¹, Sri Rahayu Lestari¹, Agung Witjoro¹

¹I Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Malang

E-mail: ian132233@gmail.com

Abstract. Infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menjadi sulit dalam terapi pengobatan, hal ini disebabkan karena penularan infeksi yang begitu cepat dan sifat resistensinya terhadap antibiotik, sehingga untuk mengatasi hal tersebut diperlukan suatu pengembangan pengobatan alternatif yang berkhasiat sebagai antibakteri yang berasal dari bahan alami yaitu tumbuh-tumbuhan salah satunya adalah bawang tunggal. Bawang tunggal mengandung senyawa organosulfur salah satunya adalah minyak atsiri yang di dalamnya terdapat allisin, alliin dan ajoene. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur daya hambat ekstrak minyak atsiri bawang tunggal terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode difusi cakram dan kerusakan bakteri diamati berdasar profil scanning Electron microscope. Konsentrasi ekstrak minyak atsiri yang digunakan yaitu 100mg/ml, 75mg/ml, 50mg/ml, 25mg/ml, Ceftazidime 30µg/ml. Hasil uji ANAVA tunggal diketahui ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya nilai yang signifikan pada masing-masing perlakuan ekstrak minyak atsiri bawang tunggal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Kerusakan bakteri diamati dengan Scanning Electron Microscope menunjukkan bakteri mengalami pengerutan, sel menipis dan lisis. Simpulan penelitian yaitu ekstrak minyak atsiri bawang tunggal dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kriteria kuat yaitu pada konsentrasi 100mg/ml.

Kata Kunci: Minyak Atsiri; Bawang Tunggal; *Pseudomonas aeruginosa*; Zona hambat; *Scanning Electron Microscope* (SEM).

Abstract. Nosocomial infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* bacteria become difficult in therapeutic treatment, this is due to the rapid transmission of infection and the nature of resistance to antibiotics, so to overcome this is necessary a development of alternative medicine is efficacious as an antibacterial derived from natural ingredients that grow one of which is a garlic's. Garlic's contains organosulfur compounds one of them is essential oil in which there are allisin, allin and ajoene. This study aims to measure the inhibitory power extract of garlic's essential oil on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria *in vitro* by method disk diffusion and bacterial damage observed on scanning electron microscope profile. The concentration extract of garlic's essential oil used was 100mg/ml, 75mg/ml, 50mg/ml, 25mg/ml, Ceftazidime 30µg/ml. One Way ANAVA test result were known ($p < 0,05$) which showed a significant value in each treatment exktrack of garlic's essential oil in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Bacterial damage observed by Scanning Electron Microscope show the bacteria undergo contraction, leading to the wrinkled cell. The research conclusion that extract of essential oil can inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria with strong criterion that is at concentration 100mg/ml.

Keywords: Essential Oil Extract; Garlic; *Pseudomonas aeruginosa*; Inhibition zone; Scanning Electron Microscope (SEM).

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan masalah yang cukup besar di Indonesia (Priyanto, 2008). Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh agen biologi seperti virus, jamur, bakteri atau parasit, bukan disebabkan faktor fisik (seperti luka bakar) atau kimia (seperti keracunan). Berdasarkan Survey Kesehatan Departemen Kesehatan tahun 2014, penyebab utama kematian antara lain: 28,1% disebabkan oleh penyakit infeksi (Depkes, 2014).

Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah infeksi nosokomial (Inweregbu, 2005). Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang terjadi di rumah sakit yang bersumber dari fasilitas kesehatan. Bakteri gram negatif penyebab infeksi nosokomial yang sering ditemukan adalah *Pseudomonas aeruginosa* (Refdanita, et al., 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Khan, et al. (2015) dengan menggunakan 315 sampel pasien yang berada di rumah sakit di Cina menunjukkan bahwa terdapat 24,9% dari seluruh pasien mengalami infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Kejadian infeksi nosokomial di negara berkembang mempunyai prevalensi yang cukup tinggi termasuk di Indonesia sekitar 6-16% (Zulkarnain, 2006).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menjadi sulit dalam terapi pengobatan, hal ini disebabkan karena penularan infeksi yang begitu cepat dan sifat resistensinya terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik ini menjadi ancaman terhadap pengobatan penyakit infeksi di dunia sehingga untuk mengatasi hal tersebut diperlukan suatu pengembangan pengobatan alternatif yang berkhasiat sebagai antibakteri yang berasal dari bahan alami yaitu tumbuh-tumbuhan.

Bahan alam yang memiliki manfaat sebagai antibakteri adalah bawang tunggal. Bawang tunggal merupakan bawang putih yang terdiri dari satu umbi dikarenakan tumbuh pada lingkungan yang tidak sesuai (Untari, 2010).

Senyawa dalam bawang tunggal kebanyakan mengandung sulfur yang bertanggungjawab terhadap rasa, aroma dan sifat-sifat farmakologi bawang tunggal (Ellmore dan Feldberg, 1994). Senyawa organosulfur yang paling penting dalam bawang tunggal salah satunya adalah minyak atsiri yang mengandung allisin, alliin dan ajoene (Lestari dan Rifai, 2017). Allisin merupakan komponen sulfur yang memiliki aktifitas antibakteri yang bekerja dengan mekanisme menghambat pembentukan membran sel bakteri (Dusica P, et al., 2011). Kerusakan membran sel bakteri akibat interaksi dengan senyawa antibakteri dapat diamati dengan Scanning Electron Microscope (Burt & Reinders, 2003).

Berdasarkan latar belakang di atas, tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan senyawa yang terkandung di dalam bawang tunggal mempunyai daya antimikroba yang terdapat di dalam ekstrak minyak atsiri bawang tunggal. Dengan diketahuinya senyawa yang terkandung di dalam minyak atsiri bawang tunggal diharapkan mampu memberikan informasi kepada masyarakat luas dan

dapat menjadikan bawang tunggal sebagai salah satu alternatif obat herbal yang dapat digunakan sebagai antimikroba.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratoris. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA jurusan Biologi dan Laboratorium Mineral dan Material Maju Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dari bulan Juli sampai September 2017. Pengujian daya hambat bakteri secara *invitro* dilakukan dengan metode difusi cakram. Sebelum dilakukan pengujian daya hambat ekstrak minyak atsiri bawang tunggal terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, terlebih dahulu membuat ekstrak minyak atsiri yang diperoleh secara sokhletasi dengan pelarut N-Heksan yang diproses di UPT Penelitian Materia Medika Batu Malang.

Instrumen

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet mikro 200 μ l-1000 μ l, 20 μ l-200 μ l, ose, api bunsen, korek api, *Laminary Air Flow*, Inkubator suhu, *Autoclave*, bak pengecatan, cawan petri, *centrifuge*, *analytical balance*, gelas ukur 100 ml, *beaker glass* 500 ml, Spektrofotometri UV-VIS, *Scanning Electron Mikroskop*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah *Mac Conkey Agar* (Oxoid), *Nutrien Agar* (Oxoid), *Nutien Broth* (Oxoid), *Muller Hinton Agar* (Oxoid), NaCl 0,9% (Merck), aquadest, blue/yellow tip, oksidase strip (Oxoid), pengecatan gram, *paper disk* (Oxoid), gelas kaca, gelas penutup, kapas lidi steril, *Ceftazidime* (Merck), *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), *Sodium Cacodylate Trihydrate* (*Electron Microcopy Sciences*), *Phospat Buffer Saline*, *Glutaraldehyd* (Sigma), *Osmium Tetraoxide* (*Electron Microcopy Sciences*), alkohol 50%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol *absolut* (Merck), *t-Butanol* (Merck), Minyak Atsiri bawang tunggal, *Pseudomonas aeruginosa*.

Prosedur

a) Uji Identifikasi Bakteri

Pewarnaan gram menurut penelitian Chaskes *et al.*, pada tahun 2015 dapat dilakukan dengan cara membuat sediaan aquadest steril dan koloni bakteri pada gelas benda dan dikeringkan udara. Untuk sediaan cair tidak disuspensikan dengan aquadest steril. Memfiksasi sediaan yang telah kering dengan melewati diatas api bunsen. Memberi sediaan dengan kristal violet selama satu menit, kemudian dibilas dengan air mengalir. Memberi sediaan dengan lugol selama satu menit,

kemudian dibilas dengan air mengalir. Memberi sediaan dengan alkohol absolut selama satu 5-10 detik, kemudian dibilas dengan air mengalir. Memberi sediaan dengan safranin selama setengah menit, kemudian dibilas dengan air mengalir. Mengeringkan dengan kertas penghisap, meneteskan minyak emersi dan melihat di bawah microscope dengan perbesaran 1000x. Hasil positif untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah tercat merah dan berbentuk batang.

b) Uji Oksidase

Tes oksidase menurut penelitian Gardenia, et al., (2010) dapat dilakukan dengan menyiapkan oksidase tes strip. Mengambil satu ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Menggoreskan satu ose *Pseudomonas aeruginosa* pada oksidase tes strip. Menunggu 10 detik, mengamati perubahan. Hasil positif menunjukkan oksidase strip berwarna biru keunguan.

c) Uji Biokimia

Uji biokimia yang digunakan untuk identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan *Microbact System test*. Tes ini dapat dilakukan dengan melakukan uji oksidase, jika hasil oksidase negatif menggunakan *Microbact System* 12A/12E saja, sedangkan jika hasil oksidasenya positif maka menggunakan 24E. Mengambil satu koloni bakteri secara aseptis yang telah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dimasukkan kedalam 5 ml NaCl 0,9%, vortex agar suspensi homogen. Memipet suspensi bakteri sebanyak 100µl dan dimasukkan ke dalam sumuran *Microbact*, untuk sumur Lysin, ornitin dan H₂S ditambah dengan 1-2 tetes mineral oil. *Microbact* tes diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Meneteskan reagen Nitrat A dan B sebanyak 2 tetes pada sumur 7, 2 tetes reagen Indol Kovach pada sumur 8, 2 tetes reagen VP I dan VP II pada sumur 10 dan 1 tetes reagen TDA pada sumur 12. Melakukan uji fermentasi karbohidrat pada *microbact* 12B, tanpa penambahan reagen, hasil fermentasi positif apabila menunjukkan warna kuning, jika hasil fermentasi negatif perubahan warna tidak terjadi yaitu tetap biru.

d) Persiapan Kultur Bakteri Uji

Kultur bakteri uji yang akan digunakan dapat dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri dari *Nutrien* Agar, kemudian diinokulasikan pada medium cair *Nutrien Broth*. Selanjutnya divortex supaya homogen, lalu diinkubasi pada suhu 37° selama 1x24 jam didapatkan inokulum yang langsung dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri. Suspensi bakteri uji pada medium cair *Nutrien Broth* yang telah diinkubasi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm sehingga diketahui *Optical Density* (OD) 0,1 setara dengan 10⁸ CFU/ml (Murray et al. 1999).

e) Uji Daya Aktifitas Ekstrak Minyak Atsiri Bawang Tunggal Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian daya hambat bakteri secara *invitro* dilakukan dengan metode difusi cakram. Penanaman kultur bakteri uji dilakukan secara aseptis dengan menggunakan kapas lidi steril yang sudah berisi suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan menggoreskan dengan lembut pada permukaan agar secara merata. *Paperdisk* yang telah ditetesi masing-masing konsentrasi ekstrak minyak atsiri bawang tunggal diletakkan pada permukaan agar. Kemudian cawan petri tersebut diinkubasikan dalam posisi terbalik pada inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Penandaan diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong. Efektifitas dari bahan aktif, ditentukan oleh perbandingan diameter zona hambat dengan nilai standar, aktivitas tersebut dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu : kriteria kuat(10–20 mm), sangat kuat (>20–30 mm) (Greenwood., 1995).

f) Uji Kerusakan Bakteri dengan *Scanning Electron Microscope*

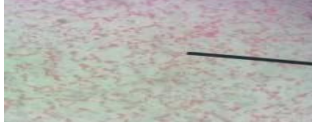
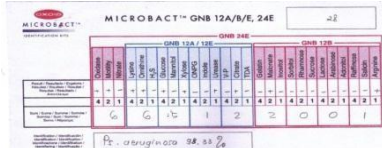
Metode yang digunakan untuk pengamatan SEM adalah Bozzolla dan Russel (1999) dengan cara bakteri yang berusia 1x24 jam yang sudah diberi perlakuan disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Membuang supernatan dan mencuci endapan dengan buffer phosphate dan disentrifuge kembali, pencucian dilakukan sebanyak 2 kali. Menambahkan glutaraldehid 2% dengan pH 7,3 pada endapan dan didiamkan selama 1-2 jam. Menambahkan asam tannin 2% pada endapan dan didiamkan selama 1-2 jam. Menambahkan *buffer cocodilate* pada endapan dan didiamkan selama 20 menit. Menambahkan Osmium Tetraoksida 1% dan didiamkan selama 1 jam. Menambahkan alkohol 50% pada endapan dan didiamkan selama 20 menit. Menambahkan secara berturut-turut alkohol 70%, 80%, 95% dan didiamkan selama 10 menit, menambahkan alkohol absolut dan didiamkan selama 20 menit. Melakukan sentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Menambahkan t-butanol pada endapan dan didiamkan selama 20 menit, melakukan sebanyak 2 kali. Membuat suspensi dalam butanol. Membuat hapusan tipis suspensi pada cover slip yang dibekukan. Mengering anginkan cover slip selanjutnya sampel dibaca dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* dengan perbesaran 25.000 kali.

HASIL

Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa pada pewarnaan gram didapatkan sel bakteri berbentuk batang, gram negatif berwarna merah dan uji biokimia dengan menggunakan *Microbact System Test*. Berdasarkan hasil dari uji identifikasi tersebut, dapat dibuktikan bahwa bakteri yang digunakan adalah benar *Pseudomonas aeruginosa*. pada Tabel 2. menunjukkan bahwa disk antibiotik *Ceftazidime* 30µg/ml (kontrol positif) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat 14 mm, dibandingkan dengan DMSO 1% (kontrol negatif)

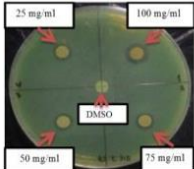
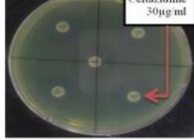
tidak menghasilkan zona hambat. Hasil pewarnaan Gram dan *Microbact System Test* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pewarnaan Gram dan *Microbact System Test*

| Uji | Visualisasi | Hasil |
|------------------------------|--|---|
| Pewarnaan Gram |  | Batang Gram Negative |
| <i>Microbact System Test</i> |  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 98,33% |

Hasil zona hambat pada konsentrasi 25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml, dan 100 mg/ml adalah 7,9mm; 8,4mm; 9,3mm; 11,1mm. Hasil uji daya hambat ekstrak minyak atsiri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil zona hambat ekstrak minyak atsiri bawang tunggal terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

| Uji | Hasil visualisasi |
|---------------|--|
| Difusi cakram |  |
| Difusi cakram |  |

Hasil pengukuran zona hambat ekstrak minyak atsiri bawang tunggal terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Bawang Tunggal terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

| Bakteri | Konsentrasi Minyak Atsiri Ekstrak Bawang Tunggal (mg/ml) | Diameter Zona Hambat (mm) | Kriteria Kekuatan Antibakteri |
|----------------------|--|---------------------------|-------------------------------|
| <i>P. aeruginosa</i> | K4 (100) | 11,1 | Kuat |
| | K3 (75) | 9,3 | Lemah |
| | K2 (50) | 8,4 | Lemah |
| | K1 (25) | 7,9 | Lemah |
| | K (+) | 14 | Kuat |
| | K (-) | 6 | Lemah |

Keterangan:

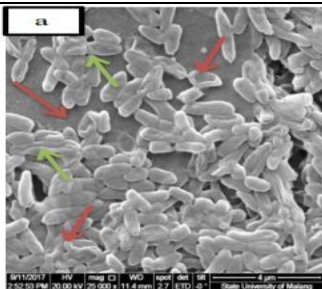
K (-): DMSO 1%

K(+): Ceftazidime 30µg/ml K(4,3,2,1): Konsentrasi Ekstak mg/ml

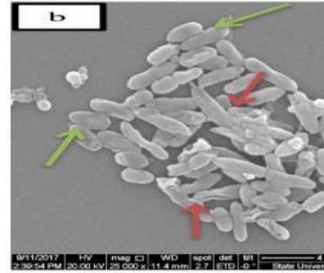
Tabel 3. Menunjukkan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak minyak atsiri bawang tunggal yaitu 100 mg/ml, 75 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 0 mg/ml terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki nilai yang berbeda namun kriteria kekuatan antibakteri pada konsentrasi 100 mg/ml dan kontrol positif adalah sama karena termasuk dalam kategori kuat karena berada didiameter antara 10-20 mm (Greenwood, 1995). Hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak minyak atsiri bawang tunggal dengan konsentrasi 100 mg/ml mengandung zat antibakteri yang kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kerusakan bakteri akibat pemberian ekstrak minyak atsiri bawang tunggal dapat diamati secara morfologik melalui *Scanning Electron Microscope* (Tabel 4).

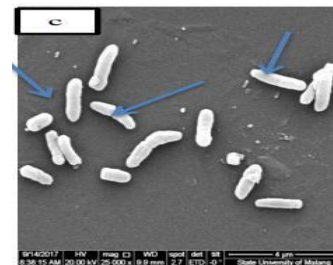
Tabel 4. Hasil Uji Kerusakan Bakteri dengan *Scanning Electron Mikroskop* (SEM)

| Konsentrasi | Hasil SEM |
|---------------------------------|--|
| Ekstrak Minyak Atsiri 100 md/ml |  |

Ceftazidime 30µg/ml



Bakteri pada medium Nutrien Cair



Tabel 4. Menunjukkan sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan pemberian ekstrak minyak atsiri bawang tunggal dengan konsentrasi 100mg/ml berdasarkan hasil pengamatan Microscope Electron (SEM) dengan perbesaran 25.000x. Tanda panah merah menunjukkan permukaan membran sel mengalami pengerutan disertai bentuk tipis dan ada bagian sel yang terlihat kosong. Tanda panah hijau menunjukkan permukaan membransel mengalami pengerutan dan lisis. *Pseudomonas aeruginosa* dengan pemberian antibiotik *Ceftazidime* konsentrasi 30µg/ml berdasarkan hasil pengamatan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan perbesaran 25.000x. Tanda panah merah menunjukkan permukaan membran sel mengalami pengerutan disertai bentuk tipis dan ada bagian sel yang terlihat kosong. Tanda panah hijau menunjukkan permukaan membransel mengalami pengerutan dan lisis. *Pseudomonas aeruginosa* dengan pada medium *Nutrient Broth* berdasarkan hasil pengamatan dibawah *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan perbesaran 25.000x. Tanda panah biru menunjukkan membran sel bakteri yang terlihat utuh.

Analisis Varian Tunggal

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan analisis varian tunggal dalam RAL menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak minyak atsiri bawang tunggal memiliki efek antibakteri yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.

Uji Lanjut *Post Hoc* Gomes Howell

Berdasarkan notasi hasil uji lanjut *post hoc* Gomes Howell diketahui bahwa pada konsentrasi 100mg/ml menunjukkan perbedaan yang bermakna dibanding dengan konsentrasi yang lain

Uji Kerusakan Bakteri dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Kerusakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat diamati melalui perubahan morfologi terhadap struktur sel akibat penggunaan ekstrak minyak atsiri bawang tunggal yang mengandung senyawa antibakteri dengan menggunakan SEM pada perbesaran 25.000x nampak adanya kebocoran yang menunjukkan bahwa sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mengalami lisis yang mengakibatkan gangguan pada membran sel. Kerusakan pada membran sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi ekstrak minyak atsiri bawang tunggal memberikan hasil yang hampir sama dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diberi penambahan antibiotik *Ceftazidime* dengan konsentrasi 30µg/ml. Berbeda dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang tanpa pemberian ekstrak minyak atsiri bawang tunggal dan tanpa antibiotik *Ceftazidime*, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terlihat utuh dan tampak normal.

PEMBAHASAN

Ekstrak minyak atsiri bawang tunggal berpengaruh terhadap dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* karena mengandung lebih dari 100 senyawa metabolit sekunder yang secara biologi sangat berguna (Challem, 1995). Senyawa ini kebanyakan mengandung belerang (Zhang, 1999). Lestari dan Rifai (2017) menyatakan bahwa terdapat tiga senyawa organosulfur dalam bawang putih tunggal dengan konsentrasi tinggi yaitu alliin (41136,92762 µg/mL), allicin (26822,79018 µg/mL), dan ajoene yang dibedakan menjadi E-ajoene (10154,21939 µg/mL) dan Z-ajoene (25135,53338 µg/mL).

Mekanisme kerja allisin sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis RNA dan merusak dinding sel bakteri (Durairaj, 2010). Penghambatan sintesis RNA dilakukan dengan cara membentuk ikatan yang sangat kuat pada enzim bakteri yaitu DNA Dependent RNA Polymerase sehingga dapat menghambat sintesis RNA bakteri (Jawetz et al, 2005). Penghambatan dinding sel dilakukan dengan cara menginhibisi biosintesis peptidoglikan yang akan memberikan kekuatan dan rigiditas pada dinding sel (Brooks, dkk. 2013).

Kerusakan pada dinding sel dapat diamati secara microscopeis dengan menggunakan Electron microscope (SEM). Pada pemberian pemberian ekstrak minyak atsiri bawang tunggal pada konsentrasi 100µg/ml dan *Ceftazidime* pada konsentrasi 30µg/ml menunjukkan adanya

kerusakan pada dinding sel dengan ditandai permukaan membran sel yang mengerut. Permukaan sel yang mengerut disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam minyak atsiri bawang tunggal bersifat hidrofilik sehingga dapat melewati membran luar sel yang diselubungi oleh lipopolisakarida (LPS) yang bersifat hidrofilik, selain itu ada pula bagian permukaan sel yang kosong, bentuk sel yang menipis, hal ini disebabkan karena peningkatan permeabilitas membran yang menyebabkan hilangnya komponen penyusun sel. Mangoni, dkk., (2004) menyatakan bahwa kerusakan sel yang mengakibatkan permeabilitas membran dapat menyebabkan pembentukan *ghost cell*. *Ghost cell* adalah struktur sel yang terlihat tipis dan kosong.

Peningkatan permeabilitas pada membran sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan pengerutan dan menipis apabila kontak dengan fosfolipid. Fosfolipid merupakan bagian dari komponen khusus pada dinding sel bakteri gram negatif yaitu membran luar yang merupakan struktur berlapis ganda, lapisan sebelah dalam memiliki komposisi yang serupa dengan membran sitoplasma, sedangkan fosfolipid pada sebelah luar digantikan oleh molekul lipopolisakarida (LPS) (Brooks. 2013). Senyawa antibakteri yang menyerang fosfolipid akan membuat fosfolipid terurai menjadi senyawa-senyawa seperti gliserol dan asam fosfat, hal ini membuat fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya akan terjadi kebocoran membran sel bakteri, kebocoran tersebut terlihat secara morfologi berbentuk *ghost cell* (Rustanty dan Elly, 2009).

Membran sel pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang mengalami pengerutan menyebabkan sel menjadi lisis. Secara morfologi, sel yang lisis ada nampak sebagian dan ada secara keseluruhan. Davidson dan Branen (1980) menyatakan senyawa antibakteri dapat bereaksi dengan dengan komponen fosfolipid dari sel bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan lisis pada dinding sel. Dinding sel yang lisis dapat menyebabkan terlepas semua atau sebagian disebut dengan *sferoplas*.

Pada permukaan membran sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan pemberian medium tumbuh *Nutrien Broth* nampak permukaan sel yang utuh dan rata. Hal ini menunjukkan bahwa pada membran sel bakteri tidak terjadi kontak dengan bahan antibakteri sehingga permukaan sel membran bakteri secara morfologi terlihat.

Tujuan pembahasan adalah menjawab masalah penelitian atau menunjukkan bagaimana tujuan penelitian itu dicapai, menafsirkan temuan-temuan, mengintegrasikan temuan penelitian ke dalam kumpulan pengetahuan yang telah mapan, dan menyusun teori baru atau memodifikasi teori yang ada.

Dalam menjawab masalah penelitian dan atau tujuan penelitian, harus disimpulkan hasil penelitian secara jelas. Penafsiran terhadap temuan dilakukan dengan menggunakan logika dan

teori-teori yang ada. Temuan diintegrasikan ke dalam kumpulan pengetahuan yang sudah ada dengan jalan membandingkan temuan dengan temuan penelitian sebelumnya, atau dengan teori yang ada, atau dengan kenyataan di lapangan. Perbandingan harus disertai rujukan. Jika penelitian ini menelaah teori (penelitian dasar), teori yang lama dapat dikonfirmasi atau ditolak, sebagian atau seluruhnya. Penolakan sebagian dari teori haruslah disertai dengan modifikasi teori, dan penolakan terhadap seluruh teori haruslah disertai dengan rumusan teori baru.

KESIMPULAN

Penelitian ini telah membuktikan bahwa ada pengaruh ekstrak minyak atsiri bawang tunggal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi ekstrak minyak atsiri bawang tunggal yang paling berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah 100mg/ml. Struktur lipopolisakarida berdasarkan SEM mengalami pengerutan, sel menipis dan lisis. Hal yang sama ditunjukkan pada membran sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan pemberian antibiotik *Ceftazidime* dengan konsentrasi 30µg/ml. Penelitian lebih lanjut dibutuhkan dalam mengkaji lebih dalam tentang efektivitas ekstrak minyak atsiri bawang tunggal terhadap daya hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan perlu diteliti lebih lanjut dengan mengetahui kerusakan yang terjadi pada bagian dalam sel dengan menggunakan *Transmission Microscope Electron*.

DAFTAR RUJUKAN

- Bozzola, M. M. C., Flanders, K. J., Donnelly, C. W. (1999). *Principles and Techniques for Biologist*, 2nd edition. Boston: Jones and Bartleet Publisher.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Miatzner, T. A. (2013). Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiologi 26th ed. USA: Lange.
- Burt, S. A., Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of Selected plant essential Oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*. 36(3): 162-167. doi:10.1046/j.1472-765X.2003.01285.
- Challem, J. 1995. The Wonders of Garlic. (Online), (<http://www.jrthorns.com/Challem/garlic.html>), diakses 10 Juli 2017.
- Chaskes, S. (2015) Stains for Light Microscopy dalam Goldman, E. and Green, L.H.(Eds.), *Practical handbook of Microbiology*, 2nd Ed., 39, New York: CRC Press.
- Davidson, P. M and Branen, A. L. (1980). Antimicrobial mechanism of butylated hydroxyanisole against two *Pseudomonas* species. *Journal of Food Science*. 45. 1607-1613.
- DepKes RI. 2014. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2014*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Hal 143.

- Durairaj, S., Srinivasan, S., Lakshmanaperumalsamy, P. (2010). In vitro Antibacterial Activity and Stability of Garlic Extract at Different pH and Temperature. *Electronic Journal of Biology*, 6 (4), 92-97.
- Dusica, P., Vesna, D., Ljubisa, B., Mihajlo, Z. (2011). Allicin and Related Compound Gardenia, L. 2010. *Aplikasi Deteksi Aeromonas hydrophila penghasil Aerolysin dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction(PCR)*. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur.
- Ellmore, G. dan Feldberg. (1994). Alliin lyase localization in bundle sheaths of garlic clove (*Allium sativum*). *American Journal of Botany* 81: 89-95.
- Gardenia, L. (2010). *Aplikasi Deteksi Aeromonas hydrophila penghasil Aerolysin dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction(PCR)*. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur.
- Greenwood. (1995). *Antibiotik, Suspecibility (Sensitivity) Test Antimicrobial and Chemotheraphy*. USA: Mc. Graw Hill Company.
- Inweregbu, K. (2005). Nosocomial infections, *Contin Educ Anaesth Care Pain*, 5(1): 14-17.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Maulany, R. F., dan Edinugroho. Jakarta, Salemba Medika.
- Khan, H.A., Ahmad, A., Mehboob, R. (2015). Nosocomial Infections and their control Strategies. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(7): 509-514.
- Lestari, S.R, Rifa, M. (2017). *Daily Administration Single Garlic Oil Extract in Mice as Subchronic Toxicity Assessment*. The 5th International Conference on Biological Science. Program and Abstrct Book. Universitas Gadjah mada.
- Mangoni, M. L., Papo, N., Barra, D., Simmaco, M., Bozzi, A., Giuliu, A., Rinaldi, C. (2004). Effect of antimicrobial peptide temporin L on cell morphology, membrane permeability and viability of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemical Journal*, 380: 859-865.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenofer, F. C., Tenover, R. H. (1999). *Manual of Clinical Microbiologi 7 Edition*. USA: ASM Press.
- Priyanto. (2008). *Farmakologi dasar Untuk Mahasiswa Keperawatan dan Farmasi*. Bandung: Penerbit Leskonfi.
- Refdanita, Maksum, R., Nurgani, A., Endang, P. (2004). Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotik di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. 2004. (Online) (<http://journal.ui.ac.id/v2/upload/artikel/02Pola%20Kepekaan%20KumanRefdanita2.PDF>).
- Rustanti, E. 2009. Uji aktifitas antibakteri dan identifikasi senyawa katekin hasil dari isolasi daun the (*Camellia sinensis* L. var. Assamica) (Online), (<http://scribd.com/doi/106057034/khasiatdaunteh-110715104447-phapp01>), diakses tanggal 18 September 2017.
- Untari, I. (2010). Bawang Putih Sebagai Obat paling Mujarab Bagi Kesehatan. *Jurnal GASTER*. Vol. 7 No 1.
- Zhang, X. (1999). *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants: Bulbus Alii Sativii*. Geneva: World Health Organization

Soeyati Poejiani et al. (2018)

Zulkarnain, I. (2006). Infeksi Nosokomial. Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.