

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Infeksi bakteri merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Penggunaan antibiotik secara luas telah menjadi strategi utama dalam pengendalian infeksi ini. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan telah menyebabkan peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik, yang dikenal sebagai resistensi antimikroba. Hal ini menjadi ancaman serius bagi kesehatan global karena mengurangi efektivitas pengobatan infeksi bakteri dan meningkatkan risiko penyebaran penyakit yang sulit diobati. Menurut data dari Komite Pengendalian Resistensi Antimikroba, tingkat resistensi bakteri di Indonesia meningkat dari 40% pada tahun 2013 menjadi 60,4% pada tahun 2019, yang disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak terkendali (Marsudi et al., 2021).

Masalah resistensi antibiotik telah menjadi isu global, termasuk di Indonesia. Untuk mengatasi peningkatan resistensi ini, diperlukan pengendalian yang lebih bijak dalam penggunaan antibiotik serta perbaikan sanitasi guna mengurangi risiko infeksi bakteri (Nasrun et al., 2023). Resistensi antibiotik tercatat sebagai salah satu dari 10 ancaman kesehatan global pada tahun 2019, dengan jumlah kematian mencapai 1,27 juta jiwa. Diperkirakan, angka ini akan meningkat menjadi 10 juta kematian pada tahun 2050 (Rahmadi et al., 2024). Peningkatan resistensi bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik justru memperburuk tingkat kematian akibat infeksi bakteri, yang terus meningkat seiring dengan meluasnya masalah resistensi ini (Sayogo et al., 2017). Sehingga pengobatan saat ini kembali ke alternatif bahan alami.

Pengembangan obat antibakteri yang berasal dari sumber alami sangat penting untuk mengurangi insiden resistensi antibiotik (Pratiwi et al., 2023). Rambut jagung merupakan salah satu bahan alami yang memiliki sifat antimikroba. Dalam pengobatan tradisional, rambut jagung telah digunakan sejak lama karena mengandung berbagai senyawa bermanfaat, termasuk alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, dan saponin (Fajrina et al., 2021). Penelitian mengenai aktivitas antimikroba ekstrak etanol dari rambut jagung (*Zea mays L.*) telah dilakukan dan menunjukkan hasil yang positif. Ekstrak ini terbukti efektif melawan bakteri penyebab infeksi saluran kemih serta jamur yang dapat merusak sayuran (Abirami et al., 2021).

Dengan meningkatnya resistensi antibiotik, pencarian metode pengobatan alternatif menjadi semakin krusial. Salah satu solusi praktis untuk mengobati infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri adalah dengan menggunakan bahan alami dalam bentuk sediaan salep (Pratiwi et al., 2023). Dengan demikian, penelitian ini bertujuan menilai efektivitas salep dari ekstrak rambut jagung (*Zea mays L.*) sebagai alternatif pengobatan infeksi luka akibat bakteri. Diharapkan, hasilnya dapat berkontribusi pada pengembangan terapi topikal yang lebih aman dan efektif, serta mengurangi ketergantungan pada antibiotik sintetis yang berisiko menimbulkan resistensi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik fisik salep ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) berdasarkan organoleptik, homogenitas, pH, daya sebar, dan daya lekat agar memenuhi kriteria salep topikal yang baik?
2. Bagaimana efektivitas salep ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram-positif dan gram-negatif?
3. Berapa konsentrasi optimal salep ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) yang menghasilkan aktivitas antibakteri terbaik terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan maka dapat tujuan penelitian pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui karakteristik fisik salep ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) berdasarkan organoleptik, homogenitas, pH, daya sebar, dan daya lekat agar memenuhi kriteria salep topikal yang baik.
2. Menguji aktivitas antibakteri salep ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif.
3. Menentukan pengaruh konsentrasi ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) yang digunakan dalam formulasi salep terhadap efektivitas penghambatan pertumbuhan bakteri gram-positif dan bakteri gram-negatif.

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Pengembangan Ilmu  
Penelitian ini memperkaya ilmu tentang potensi ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) sebagai antimikroba alami terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif serta menjadi referensi dalam pengembangan obat herbal.
2. Manfaat Aplikasi  
Penelitian ini diharapkan dapat mendukung pengembangan salep herbal berbasis ekstrak rambut jagung sebagai alternatif pengobatan infeksi bakteri gram-positif dan gram-negatif.

## 1.5 Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, dapat diambil hipotesis penelitian bahwa adanya pengaruh pemberian salep ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) terhadap aktivitas bakteri gram-positif dan gram-negatif.

## 1.6 Keaslian Penelitian

Berdasarkan penelusuran pustaka penulis, hingga saat ini belum ditemukan publikasi penelitian secara spesifik mengenai mengenai "Analisis Aktivitas Antibakteri Dari Formulasi Salep Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* L.) Terhadap Bakteri Gram-Positif dan Gram-Negatif". Penelitian yang pernah dilakukan berkaitan dengan penelitian ini adalah penelitian oleh Rawung et al., (2020), dengan judul "Uji

Aktivitas Antibakteri Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Krisan (*Chrysanthemum morifolium*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*".

## 1.7 Kajian Pustaka

### 1.7.1 Antibakteri

Antibakteri atau disebut juga antibiotik adalah zat atau senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Zat ini dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri) atau bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri). Antibakteri digunakan secara luas dalam berbagai bidang, seperti pengobatan, pertanian, dan produk-produk sanitasi, untuk mencegah serta mengendalikan infeksi bakteri. Sumber antibakteri dapat berasal dari bahan sintetis maupun alami, seperti tanaman obat yang mengandung senyawa aktif tertentu seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang terbukti efektif melawan berbagai jenis bakteri pathogen (Rahmadi et al., 2024).

Meskipun penggunaan antibakteri telah memberikan manfaat besar dalam pengendalian infeksi, muncul berbagai permasalahan yang mengkhawatirkan, terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Penggunaan antibakteri secara berlebihan atau tidak tepat dapat menyebabkan bakteri menjadi kebal terhadap pengobatan, sehingga pengendalian infeksi menjadi semakin sulit. Selain itu, beberapa antibakteri sintetis dapat menimbulkan efek samping dan berdampak buruk terhadap lingkungan. Oleh karena itu, dibutuhkan upaya untuk mengembangkan alternatif antibakteri yang lebih aman, efektif, dan ramah lingkungan, seperti dari bahan alam yang memiliki potensi antibakteri namun minim risiko resistensi. (Rahmadi et al., 2024).

### 1.7.2 *Staphylococcus* sp

*Staphylococcus* sp. merupakan bakteri gram-positif berbentuk kokus yang bersifat fakultatif anaerob dan dapat ditemukan secara alami pada kulit serta mukosa manusia dan hewan, namun beberapa spesies seperti *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* bersifat patogen dan mampu menyebabkan infeksi kulit, luka, serta abses. Struktur dinding sel bakteri ini tersusun atas lapisan peptidoglikan tebal dan asam teikoat yang menjadikannya sensitif terhadap senyawa antibakteri. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus* sp. karena mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin yang mampu mengganggu permeabilitas membran serta menghambat proses metabolisme sel bakteri (Wardani et al., 2022).



Gambar 1. Bakteri *Staphylococcus* sp dengan Koloni Berwarna Ungu Dengan Bentuk Bulat (Febrianti dan Tjamparkasari, 2024)

### 1.7.3 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram-negatif berbentuk batang yang secara normal hidup di saluran pencernaan manusia dan hewan, namun beberapa strainnya bersifat patogen dan dapat menyebabkan berbagai infeksi seperti diare, infeksi saluran kemih, serta septicemia (Li et al., 2023). Struktur dinding sel *E. coli* terdiri atas lapisan peptidoglikan tipis yang dilapisi oleh membran luar yang mengandung *lipopolisakarida* (LPS), yang menjadikannya lebih resisten terhadap berbagai zat antibakteri dibandingkan bakteri gram-positif (Carvalho et al., 2019). Ketahanan ini menyebabkan *E. coli* sering kali sulit dihambat oleh senyawa antibakteri alami, termasuk yang berasal dari tanaman. Namun, beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* melalui kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid yang bekerja dengan merusak membran sel dan mengganggu metabolisme bakteri (Andry et al., 2023).



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli* dengan Koloni Berwarna Merah dengan Bentuk Batang (Khakim dan Rini, 2018)

### 1.7.4 Rambut Jagung

Rambut jagung, yang secara biologis merupakan perpanjangan dari kepala putik bunga betina pada tanaman jagung (*Zea mays* L.), memiliki bentuk memanjang dan halus yang mirip dengan helaian rambut tipis. Struktur ini berfungsi sebagai jalur penting bagi serbuk sari untuk mencapai ovarium tanaman selama proses penyerbukan. Secara kimiawi, rambut jagung diketahui mengandung berbagai senyawa fenolik yang berperan penting dalam aktivitas biologis. Beberapa kelompok senyawa yang terdapat dalam rambut jagung meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid. Senyawa-senyawa ini merupakan komponen bioaktif yang umum ditemukan pada tanaman dan memiliki berbagai manfaat farmakologis, seperti sifat antioksidan, anti-inflamasi, dan antibakteri (Alwi dan Laeliocattleya, 2020).

Hasil analisis kuantitatif menunjukkan bahwa total kandungan senyawa fenolik dalam rambut jagung mencapai  $123,12 \pm 13,49$  mg GAE/g. Angka ini mengindikasikan bahwa rambut jagung memiliki konsentrasi senyawa fenolik yang cukup tinggi, menjadikannya sumber yang potensial untuk penelitian di bidang kesehatan dan pengobatan. Selanjutnya, identifikasi menunjukkan bahwa flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik yang paling dominan dalam rambut jagung. Flavonoid dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis yang bermanfaat, termasuk

sebagai antioksidan alami yang efektif melawan radikal bebas, serta berfungsi sebagai agen anti-inflamasi dan antibakteri. Dengan kandungan senyawa yang melimpah, rambut jagung memiliki potensi yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai bahan aktif dalam formulasi produk kesehatan dan obat-obatan alami (Alwi dan Laeliocattleya, 2020).

#### **1.7.5 Salep**

Salep adalah formulasi semi padat juga mudah diaplikasikan, terdiri dari zat aktif utama dan basis salep. Bentuk sediaan ini mudah diaplikasikan pada permukaan kulit sehingga memudahkan penggunaannya. Secara umum, salep terdiri dari dua komponen utama, yaitu zat aktif utama yang berfungsi sebagai bahan obat dan basis salep yang berperan sebagai media pembawa. Komposisi salep dirancang agar dapat memberikan kontak yang lebih lama antara bahan obat dan kulit (Djarami, 2022). Salep digunakan untuk memperpanjang kontak bahan aktif dengan kulit, sehingga meningkatkan efektivitas penyembuhan. Selain itu, salep berfungsi sebagai pembalut yang melindungi luka dari kontaminasi luar (Zahra et al., 2023).

Salep memiliki konsistensi yang sesuai untuk pengobatan luka pada kulit. Teksturnya yang lembut memungkinkan salep meresap ke dalam lapisan kulit dan melepaskan bahan aktif secara bertahap. Mekanisme ini sangat penting untuk memberikan efek terapeutik yang optimal, khususnya dalam mengatasi infeksi bakteri yang menyerang lapisan kulit bagian dalam. Kemampuan salep dalam meresap dan melepaskan bahan aktif menjadikannya pilihan yang efektif untuk mengobati berbagai kondisi kulit, seperti luka terbuka, peradangan, atau infeksi. Dengan pemilihan basis salep yang tepat, formulasi ini dapat dimaksimalkan untuk memberikan efek penyembuhan yang cepat dan efektif (Zahra et al., 2023).

## **BAB II**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **2.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental pada bulan Mei-Juli 2025. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin, Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, dan Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

#### **2.2 Jenis Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium yang bersifat kuantitatif. Metode yang diterapkan adalah uji *in vitro* untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari formulasi salep ekstrak rambut jagung (*Zea mays* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus sp* dan *Escherichia coli*. Penelitian melibatkan pemberian perlakuan berupa salep dengan berbagai konsentrasi ekstrak rambut jagung pada media yang telah diinokulasi bakteri. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap zona hambat sebagai indikator aktivitas antibakteri. Data hasil pengukuran dianalisis secara statistik untuk mengetahui perbedaan signifikan antara berbagai konsentrasi perlakuan dan kontrol.

#### **2.3 Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh kultur bakteri *Staphylococcus sp* dan *Escherichia coli* yang dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri secara *in vitro* di laboratorium mikrobiologi. Adapun sampel penelitian ini adalah isolat *Staphylococcus sp.* dan *Escherichia coli* standar laboratorium (misalnya ATCC 25923) yang dipilih secara purposive, karena merupakan strain bakteri uji yang umum digunakan untuk mengukur efektivitas zat antibakteri dengan hasil yang dapat diperbandingkan secara konsisten. Penelitian ini dibagi dalam lima kelompok perlakuan, yaitu K0 sebagai kontrol negatif (tanpa perlakuan), K1 sebagai kontrol positif (menggunakan salep neomycin sulfat), K2 berupa salep ekstrak rambut jagung konsentrasi 5%, K3 dengan konsentrasi 7%, dan K4 dengan konsentrasi 9%. Setiap kelompok perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan untuk memastikan validitas data dan memungkinkan analisis statistik yang akurat, seperti analisis ANOVA, dalam mengevaluasi aktivitas antibakteri dari masing-masing perlakuan.

#### **2.4 Alat dan Bahan**

Peralatan yang digunakan ialah batang pengaduk, *beaker glass* 250 mL, blender, botol maserasi, cawan petri, *cawan porselin*, *erlenmeyer* 250 mL, gelas ukur 25 mL, inkubator, jangka sorong, kaca arloji, kulkas, masker, mortir, neraca analitik, *object glass*, oven, pemanas, penangas air, pH meter, pisau, pot salep, rak tabung, *rotary evaporator*, sarung tangan, spatula, spuit, *stamper*, tabung reaksi, dan timbangan analitik.

Bahan yang digunakan ialah akuades, etanol 96%, *aluminium foil*, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), *blank disc*, *cotton swab* steril, formalin 10%, HCl pekat, kertas saring,

kloroform, larutan amoniak, media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), media *Mannitol Salt Agar* (MSA), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), metanol, natrium klorida (NaCl) 0,85%, *nipasol*, rambut jagung (*Zea mays L.*), reagen *dragendroff*, reagen *mayer*, reagen *wagner*, salep ekstrak plasenta dan *neomycin sulfate*, serbuk magnesium, dan *vaselin flavum*.

## **2.5 Prosedur Penelitian**

### **2.5.1 Pembuatan Sampel Ekstrak Rambut Jagung**

Pengolahan sampel ekstrak rambut jagung dilakukan dengan membersihkan, mengeringkan, dan menyerbukkan sampel rambut jagung sebelum dimaserasi dengan menggunakan larutan etanol 70% selama lima hari. Selanjutnya ekstrak melalui penyaringan yang kemudian dilanjutkan dengan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental dari ekstrak rambut jagung (Rawung et al., 2020).

### **2.5.2 Uji Fitokimia Ekstrak Rambut Jagung**

#### **a. Uji Flavonoid**

Uji flavonoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak rambut jagung pada larutan metanol. Selanjutnya, menambahkan serbuk magnesium dan meneteskan ekstrak dengan larutan HCl pekat sehingga terjadi perubahan warna pada larutan (Aulyawati et al., 2021).

#### **b. Uji Alkaloid**

Uji alkaloid dilakukan menggunakan reagen *Mayer*, *Wagner*, dan *Dragendorff* melalui pengamatan terhadap perubahan warna dan pembentukan endapan pada ekstrak rambut jagung setelah ditambahkan masing-masing reagen (Aulyawati et al., 2021).

#### **c. Uji Steroid**

Uji steroid dilakukan dengan melarutkan ekstrak rambut jagung dalam kloroform kemudian menambahkan reagen *Lieberman Burchard* dan mengamati perubahan warna pada campuran (Aulyawati et al., 2021).

#### **d. Uji Fenolik**

Uji fenolik dilakukan dengan menambahkan ekstrak dalam metanol, kemudian menambahkan  $\text{FeCl}_3$  hingga teramati perubahan warna (Astika et al., 2022).

#### **e. Uji Saponin**

Uji saponin dilakukan dengan melarutkan ekstrak ke dalam akuades kemudian menyaringnya yang selanjutnya menambahkan larutan HCl pekat dan mengamati pembentukan busanya (Aulyawati et al., 2021).

#### **f. Uji Tanin**

Uji tanin dilakukan dengan melarutkan sampel dalam akuades. Selanjutnya menyaring sampel dan menambahkan  $\text{FeCl}_3$  1% sehingga teramati perubahan warna (Aulyawati et al., 2021).

### 2.5.3 Pembuatan Salep Ekstak Rambut Jagung

- a. Pembuatan salep dilakukan dengan mengikuti langkah-langkah yang telah ditentukan berdasarkan komposisi formula pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi Salep Ekstrak Rambut Jagung

| Bahan Salep           | Konsentrasi Ekstrak 5% | Konsentrasi Ekstrak 7% | Konsentrasi Ekstrak 9% |
|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Ekstrak rambut jagung | 1,25 g                 | 1,75 g                 | 2,25 g                 |
| <i>Nipasol</i> 0,1%   | 0,025 g                | 0,025 g                | 0,025 g                |
| <i>Vaselin flavum</i> | Ad 25 g                | Ad 25 g                | Ad 25 g                |

### 2.5.4 Uji Sifat Fisik Salep

- a. Uji Organoleptik  
Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati sediaan salep dari bentuk, bau dan warna. Uji dilakukan untuk menilai karakteristik sensori (Badia et al., 2022).
- b. Uji Homogenitas  
Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan salep pada kaca objek. Uji ini memastikan bahan terdistribusi merata dalam salep (Badia et al., 2022).
- c. Uji pH  
Uji pH untuk memastikan salep memiliki pH yang sesuai dengan kulit. Uji pH menggunakan pH meter yang dicelupkan ke dalam 0,5 g salep (Badia et al., 2022).
- d. Uji Daya Sebar  
Uji daya sebar dilakukan dengan meletakkan 0,5 g salep di tengah kaca preparat, menutupnya dengan *cover glass* dan pemberat, dan mendiampkannya selama 1 menit. Uji daya sebar dilakukan untuk menentukan kemampuan salep menyebar pada permukaan kulit (Badia et al., 2022).
- e. Uji Daya Lekat  
Uji daya lekat dilakukan dengan menempatkan salep 0,5 g di antara dua *object glass* dengan beban 100 g selama 5 menit, kemudian melepaskan dengan beban 80 g dan mencatat waktu pelepasannya. Uji daya lekat untuk mengukur kemampuan salep menempel pada kulit (Badia et al., 2022).

### 2.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri

- a. Sterilisasi Alat  
Alat-alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu, Alat-alat gelas disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan untuk jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara di bakar di atas api langsung (Rawung et al., 2020).
- b. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)  
Pembuatan media *nutrient agar* dilakukan dengan cara menimbang NA 2,8gr dan dilarutkan dalam 100ml akuades, kemudian panaskan di atas hotplate hingga homogen. Setelah itu, sterilkan pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit guna menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan. Selanjutnya, setelah

disterilisasi, media dapat dituangkan secara aseptik pada cawan petri steril untuk penggunaan (Elisa et al., 2023)

c. Pembuatan Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan Media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA)

Pembuatan media MSA dilakukan dengan cara melarutkan 7,77 gram media MSA dengan 100 mL akuades. Media dipanaskan di atas hot plate sambil diaduk hingga serbuk media larut sempurna. Periksa pH media dengan kertas pH indikator, jika pH sudah pada rentang 7,2-7,6 lubang erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri steril, dibiarkan hingga dingin dan memadat (Rafika et al., 2024).

Pembuatan media EMBA dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 37,5 gram serbuk media, kemudian melarutkannya ke dalam 1 liter akuades. Larutan media diaduk hingga homogen, lalu dipanaskan hingga mendidih untuk memastikan semua komponen terlarut sempurna. Setelah itu, media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 30 menit untuk membunuh semua mikroorganisme yang mungkin terdapat pada media (Fatiqin et al., 2019).

d. Inokulasi Bakteri *Staphylococcus sp* dan *Escherichia coli* ke Media

Identifikasi *Staphylococcus sp* pada sampel ayam yang terindikasi *Staphylococcosis* dimulai dengan pengambilan sampel secara aseptik dari lesi kulit, abses, atau organ yang diduga terinfeksi. Sampel diambil menggunakan swab steril, aspirasi nanah, atau potongan jaringan, kemudian disimpan dalam media transport steril dan dijaga pada suhu 4°C jika tidak langsung diproses. Sampel kemudian diinokulasikan pada media kultur seperti Nutrient Agar untuk isolasi umum dan *Mannitol Salt Agar* (MSA) untuk selektivitas terhadap *Staphylococcus spp.*, diikuti inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Rawung et al., 2020).

Identifikasi *Escherichia coli* pada sampel yang diduga terkontaminasi dilakukan dengan pengambilan sampel secara aseptik dari feses ayam. Sampel diambil menggunakan swab steril atau spatula logam. Selanjutnya, sampel diinokulasikan pada media selektif seperti *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) untuk isolasi dan identifikasi awal *E. coli*, serta *Nutrient Agar* (NA) sebagai media pertumbuhan umum. Cawan inokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Koloni yang tumbuh dengan morfologi khas *E. coli*, yaitu berwarna hijau metalik pada EMBA (Pratiwi et al., 2023).

e. Uji Resistensi Antibiotik

Metode uji yang digunakan adalah metode difusi cakram. Uji resistensi antibiotik bakteri *Staphylococcus sp* dimulai dari pembuatan media *mannitol salt agar* (MSA) yang diinokulasi dengan sampel *bumble foot* ayam dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mengidentifikasi *Staphylococcus sp*. Setelah itu, persiapan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk diinokulasi menggunakan *cotton swab* steril dengan suspensi bakteri *Staphylococcus sp*. yang telah diperoleh. Uji resistensi dilakukan dengan meletakkan *disc* yang telah direndam sesuai perlakuan tabel 2 di atas inokulasi suspensi bakteri *Staphylococcus sp*. Inkubasi selama 24 jam

pada suhu 37°C. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong (Magvirah et al., 2019).

Metode uji yang digunakan untuk menguji resistensi antibiotik bakteri *Escherichia coli* adalah metode difusi cakram (*disk diffusion method*). Prosedur diawali dengan pembuatan media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) untuk mengisolasi koloni *E. coli* dari sampel feses atau jaringan yang dicurigai terinfeksi, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memperoleh koloni murni dengan morfologi khas. Koloni tersebut selanjutnya disuspensikan ke dalam larutan NaCl fisiologis steril. media *Mueller Hinton Agar* (MHA) kemudian disiapkan dan diinokulasi menggunakan *cotton swab* steril yang telah dicelupkan ke dalam suspensi bakteri *E. coli* tersebut. Selanjutnya, cakram antibiotik diletakkan secara aseptik di atas permukaan media yang telah diinokulasi sesuai perlakuan. Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram antibiotik diukur menggunakan jangka sorong (Khakim dan Rini, 2018).

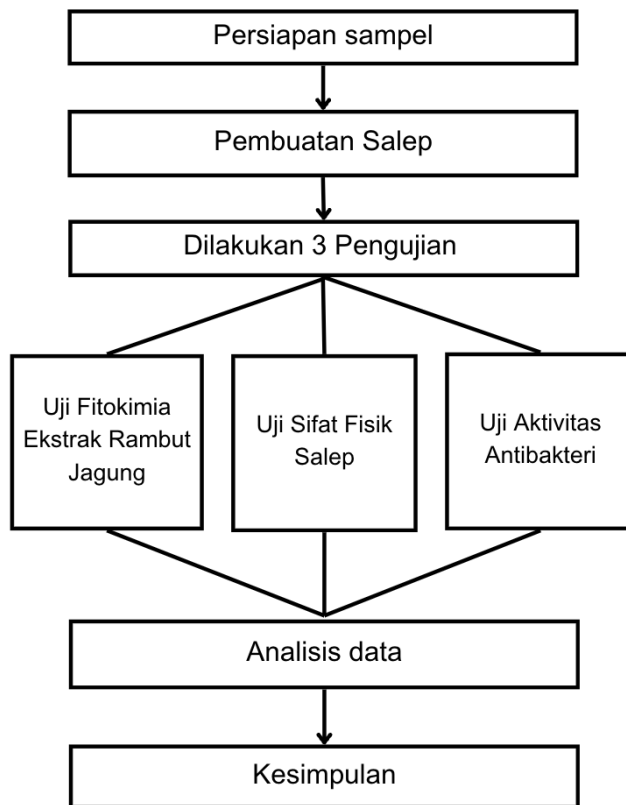
Tabel 2. Kelompok Perlakuan Uji Resistensi Antibiotik Ekstrak Rambut Jagung

| Kelompok | Perlakuan                                              |
|----------|--------------------------------------------------------|
| K0       | berisi <i>blank disc</i>                               |
| K1       | berisi <i>disc</i> salep dengan <i>neomycin sulfat</i> |
| K2       | berisi <i>disc</i> ekstrak rambut jagung 5%            |
| K3       | berisi <i>disc</i> ekstrak rambut jagung 7%            |
| K4       | berisi <i>disc</i> ekstrak rambut jagung 9%            |

## 2.6 Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data

Data pengujian dikumpulkan dari masing masing pengujian kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistika. Analisis data menggunakan *One Way ANOVA* dengan program IBM SPSS® 25 dan Graph Prism 8.

## 2.7 Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian