

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cabai Rawit

Tanaman cabai (secara umum) termasuk ke dalam famili Solanaceae (terong - terongan). Diperkirakan terdapat 20 jenis spesies yang sebagian besar hidup dinegara asalnya. Jenis tanaman cabai banyak dibudidayakan di Indonesia diantaranya adalah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) (Alif S.M., 2017).

2.1.1 Uraian Tanaman

Tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan tanaman perdu dari famili terong – terongan yang memiliki nama ilmiah *capsicum spp.* Cabai rawit berasal dari benua Amerika tepatnya daerah Peru dan menyebar ke Negara-negara Amerika, Eropa dan Asia Termasuk Negara Indonesia. Tanaman cabai rawit banyak ragam tipe pertumbuhan dan bentuk buahnya. Diperkirakan terdapat 20 spesies yang sebagian besar hidup di Negara asalnya. Masyarakat pada umumnya hanya mengenal beberapa jenis saja, yakni cabai besar, cabai keriting, cabai rawit dan paprika. Secara umum cabai rawit memiliki banyak kandungan gizi dan vitamin (Harpenas, 2010). Cabai rawit merupakan tanaman berkayu dengan panjang batang utama berkisar antara 20-28 cm dan diameter batang antara 1.5-2.5 cm (Herdiawati, 2006). Percabangan batang berwarna hijau dengan panjang mencapai 5-7 cm dengan diameter cabang dikolom sekitar 0.5-1 cm. Bentuk percabangan menggarpu dengan posisi daun berselang-seling, daun berbentuk hati, lonjong atau agak bulat telur (Dermawan, 2010). Cabai rawit masuk dalam suku terong - terongan (*Solanaceae*) dan merupakan tanaman yang mudah ditanam didataran rendah ataupun didataran tinggi. Organ penting dalam tanaman cabai meliputi bagian cabai rawit merupakan tanaman tahunan yang tumbuh tegak (Cahyono, 2003). Tanaman cabai banyak mengandung vitamin A dan vitamin C serta mengandung atsiri kapsaisin, yang menyebabkan rasa pedas dan

memberikan kehangatan bila digunakan untuk bumbu dapur (Dewanti *et al*, 2010).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman

Dalam sistematika tumbuhan - tumbuhan, tanaman cabai rawit diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	:	Plante (tumbuhan)
Sub kingdom	:	Tracheobionita (tumbuhan berpembuluh)
Super divisi	:	Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	:	Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	:	Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub kelas	:	Asteridae
Ordo	:	Solanes
Famili	:	Solanaceae (suku terong - terongan)
Genus	:	Capsicum
Spesies	:	<i>Capsicum frutescens</i> L. (cabai rawit)

(Alif S.M., 2017).



Gambar 2.1 Tanaman Cabai Rawit sumber dari (Alif S.M., 2017).

2.1.3 Morfologi Tanaman

Secara morfologi, bagian-bagian atau organ - organ penting dari tanaman cabai rawit dapat dideskripsikan sebagai berikut :

a. Akar

Akar tanaman cabai rawit termasuk ke dalam kategori akar serabut. Pada tanaman cabai banyak terdapat bintil-bintil kecil yang berfungsi untuk mencari sumber makanan dengan menyerap unsur hara. Sedangkan pada bagian ujung akar terdapat akar semu yang berfungsi

untuk menyerap nutrisi dari dalam tanah. Akar tanaman cabai rawit atas akar utama (primer) dan lateral (sekunder). Akar tersier berupa serabut - serabut akar yang keluar dari akar lateral. Panjang akar primer sekitar 35 – 50 cm, dan akar lateral sekitar 35 – 45 cm.

b. Batang

Batang tanaman cabai rawit berwarna hijau tua dan berkayu. Panjang batang berkisar 30 – 37,5 cm dan berdiameter 1,5 – 3 cm. Jumlah cabangnya yakni antara 7 – 15 per tanaman. Panjang cabangnya sekitar 5 – 7 cm dengan diameter sekitar 0,5 – 1 cm. Di daerah percabangan terdapat tangkai dan daun. Tangkai daun berfungsi untuk menopang daun. Ukuran tangkai daun sangat pendek, yakni hanya 2 – 5 cm.

c. Daun

Tiap tanaman cabai memiliki karakteristik daun tersendiri, pada tanaman cabai rawit, variasi warna daun sangat bergantung pada iklim serta lingkungan pertanian. Akan tetapi, daun tanaman cabai rawit umumnya berwarna hijau muda, dengan panjang sekitar 3 – 4 cm dan lebar daun berkisar 1 – 2 cm. Termasuk ke dalam kategori daun tunggal, dengan bentuk bulat dan agak lebar dengan ujung meruncing, pangkal menyempit, tepi rata, serta bentuk pertualangannya merata.

d. Bunga

Bunga tanaman cabai rawit bersifat tunggal dan tumbuhan di ujung ruas tunas. Mahkotanya berwarna putih, kuning muda, kuning, ungu dengan dasar putih, putih dengan dasar ungu, atau ungu tergantung dari varietas tanaman itu sendiri. Alat kelamin jantan dan betina terletak disatu bunga sehingga termasuk bunga sempurna. Putik bunga berukuran panjang 0,5 cm berwarna putih dengan kepala berwarna hijau. Posisi bunga cabai rawit ada yang menggantung, horizontal dan tegak.

e. Buah

Semua jenis buah cabai pada umumnya memiliki rongga dengan jumlah berbeda-beda sesuai dengan varietasnya. Di dalam buah

terdapat plasenta sebagai tempat biji melekat. Daging buah cabai memiliki tekstur yang renyah dan lunak, serta memiliki ukuran yang beragam, mulai dari pendek sampai panjang dengan ujung runcing atau tumpul. Bentuk buah cabai rawit tegak, kadang-kadang merunduk, berbentuk bulat telur, lurus atau bengkok dengan ujung meruncing dengan panjang 1 – 5 cm. Buah menempel pada tangkai yang panjang dan mempunyai rasa yang pedas. Buah muda berwarna hijau tua, putih kehijauan, atau putih. Sedangkan buah yang telah masak berwarna merah. Ukuran cabai rawit lebih kecil jika dibandingkan dengan jenis cabai lainnya, namun memiliki rasa yang lebih pedas.

f. Biji

Dalam buah cabai rawit terdapat biji dengan jumlah yang banyak. Biji cabai rawit berbentuk bulat pipih berdiameter 2 – 2,5 cm. Biji cabai rawit terdapat didalam buah dan menempel disepanjang plasenta. Warnanya juga beragam, mulai dai putih hingga kuning jerami. Bagian terluarnya terdapat lapisan keras. Biji inilah yang kemudian menghasilkan bibit tanaman yang baru (Alif S.M., 2017).

2.1.4 Kandungan Senyawa

Kandungan senyawa pada tanaman cabai rawit yaitu *capsaicin*. *Capsaicin* sendiri adalah zat kimia yang dapat menimbulkan sensasi rasa terbakar reseptor syaraf tertentu, sehingga otak merespon sama seperti respon pada rasa panas. *Capsaicin* juga dapat merangsang keluarnya endorfin (*Opiat endogen*) (Alif S.M., 2017).

2.1.5 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder pada tanaman cabai rawit juga beragam seperti tanin, flavonoid, alkaloid, antraquinon, fenol, saponi, glikosida, terpenoid, limonoid dan karotenoid (Emmanuel-Ikpeme *et al.*, 2014). Lebih lanjut, Zhuang *et al.* (2012) menunjukkan kandungan total fenol cabai rawit lebih tinggi dibandingkan cabai dari golongan *Capsicum annum*.

2.2 Bakteri

Bakteri adalah merupakan organisme uniseluler yang relatif sederhana karena materi genetik tidak diselubungi oleh selaput inti. Bakteri ini memiliki bentuk dan ukuran yang sangat beragam. Sebagian besar bakteri memiliki diameter 0,2 – 2 μm dan panjang 2 – 8 μm . Secara umum, sel bakteri terdiri atas beberapa bentuk, yaitu basil atau batang, dan spiral (Radji, 2011).

Dinding sel tersusun atas peptidoglikan yakni polisakarida yang berikatan dengan protein. Dengan adanya dinding sel ini, tubuh bakteri memiliki bentuk yang tetap. Fungsi dinding sel adalah untuk melindungi sel. Berdasarkan struktur protein dan polisakarida yang terkandung didalam dinding sel ini, bakteri dapat dibedakan menjadi bakteri gram positif dan gram negatif. Jika bakteri diwarnai dengan tinta Cina kemudian timbul warna pada dinding selnya, maka bakteri itu tergolong bakteri gram positif. Sebaliknya, jika diberi warna dengan tinta Cina namun tidak menunjukkan perubahan warna pada dinding selnya, maka bakteri itu tergolong ke dalam bakteri gram negatif. Bakteri gram positif mempunyai peptidoglikan di luar membran plasma. Pada bakteri gram negatif, peptidoglikan terletak di antara membran plasma dan membran luar dan jumlahnya lebih sedikit. Umumnya bakteri gram negatif lebih patogen (Fifendy dan Biomed, 2017).

Rangka dasar dinding sel bakteri adalah murein peptidoglikan. Murein tersusun dari N-asetil glukosamin dan N-asetil muramat, yang terikat melalui ikatan 1,4- β -glukosida. Pada N-asetil asam muramat terdapat rantai pendek asam amino; alanin, glutamat, diaminopimelat, atau lisin dan alanin, yang terikat melalui ikatan peptida. Peranan ikatan peptida ini sangat penting dalam menghubungkan antara rantai satu dengan rantai yang lain.

Dinding sel bakteri gram positif : Dinding sel bakteri gram positif terdiri 40 lapis rangka dasar murein, meliputi 30-70% berat kering dinding sel bakteri. Senyawa lain penyusun dinding sel gram positif adalah polisakarida yang terikat secara kovalen, dan asam teikoat yang sangat spesifik.

Dinding sel bakteri gram negatif : Dinding sel bakteri gram negatif hanya terdiri atas satu lapis rangka dasar murein, dan hanya meliputi +10% dari berat kering dinding sel. Murein hanya mengandung diaminopemelat, dan tidak mengandung lisin. Di luar rangka murein tersebut terdapat sejumlah besar lipoprotein, lipopolisakarida, dan lipida jenis lain. Senyawa - senyawa ini merupakan 80% penyusun dinding sel (Ismail, 2019).

Berdasarkan pengecatan Gram, sel bakteri dapat dibagi menjadi 2, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel yang kompleks terdiri dari membran luar (mengandung lipopolisakarida (LPS), lipoprotein (LP), dan phospholipid) dan membran bagian tengah (mengandung peptidoglikan atau mukopeptida). Bakteri Gram positif mempunyai dinding sel yang tebal terdiri dari beberapa lapis mukopeptida dan dua jenis asam teikoat (Lestari *et all*, 2018).

2.2.1 Morfologi Bakteri

Bentuk tubuh bakteri terpengaruh oleh keadaan medium dan oleh usia. Maka untuk membandingkan bentuk serta ukuran bakteri perlu diperhatikan bahwa kondisi bakteri itu harus sama, temperature di mana piaraan itu disimpan harus sama, penyinaran oleh sumber cahaya apapun harus sama, dan usia piaraan pun harus sama. Pada bakteri umumnya dikenal 3 macam bentuk yaitu kokus, basil, dan spiral.

a. Kokus

Kokus berasal dari kata *coccus* yang berarti bola, jadi kokus adalah bakteri yang berbentuknya serupa bola-bola kecil. Beberapa kokus secara khas ada yang hidupnya sendiri-sendiri, ada yang berpasangan, atau rantai panjang bergantung. Caranya membelah diri dan kemudian melekat satu sama lain setelah pembelahan. Golongan kokus tidak sebanyak golongan basil. Kokus ada yang berdiameter 0,5 μm ada pula yang diameternya sampai 2,5 μm .

Pada bentuk kokus ada beberapa tipe morfologi diantaranya adalah :

1. *Streptococcus Kokus* yang bergandeng-gandeng panjang serupa tali leher. *Streptococcus* dicirikan dengan sel-sel yang

membelah menjadi dua *kokus*, yang ada pembelahan berikutnya tidak memisahkan diri, biasanya dengan meninggalkan dua *kokus* yang melekat satu sama lain. *Kokus* yang senantiasa membelah dalam satu bidang namun tidak memisahkan diri membentuk rantai *kokus*. Berdiameter 0,5 – 1,2 mikron.

2. *Sarcina kokus* yang mengelompok serupa kubus, yaitu kokus membelah ke dalam tiga bidang yang tegak lurus satu sama lain membentuk paket kubus berdiameter 4,0 – 4,5 mikron.
3. *Staphylococcus* kokus yang mengelompok merupakan suatu untaian yaitu kokus yang membelah dalam dua bidang yang membentuk dua gugusan yang tidak teratur bagaikan buah anggur. Berdiameter 0,8 – 1,0 mikron. *Diplococcus kokus* yang bergandengan dua-dua. *Tetracoccus kokus* yang mengelompokkan berempat.

b. *Basil*

Basil berasal dari kata *bacillus* yang artinya tongkat pendek atau batang kecil silindris. Bakteri yang berbentuk basil adalah bakteri yang bentuknya menyerupai tongkat pendek atau batang kecil silindris. Basil mempunyai bentuk dan ukuran yang beraneka ragam. Ujung beberapa *bacillus* di antaranya ada yang berupa batang rokok dan ada yang berbentuk seperti cerutu.

Streptobasil, bentuk basil yang bergandengan panjang ada yang bergandengan dua-dua yang disebut *diplobasil* dan ada yang terlepas satu sama lain. Ujung-ujung basil yang terlepas satu sama lain itu tumpul, sedang ujung-ujung yang masih bergandengan itu tajam. Akan tetapi bila ditinjau dari segi pembelahan basil membelah hanya dalam satu bidang sehingga disebut sebagai sel tunggal. Beberapa basil ada yang bentuknya hampir sama dengan kokus yaitu lebar dan panjangnya sama serta bentuknya lonjong sehingga disebut koko basil. Basil ada yang lebarnya antara 0,2 sampai 2,0 μ , sedangkan panjangnya ada yang satu sampai 15 μ .

c. *Spiral*

Spiral adalah bakteri yang bengkok atau tidak lurus atau berbentuk silinder. Bakteri yang berbentuk spiral itu tidak banyak terdapat. Spiral terbagi menjadi tiga bentuk diantaranya :

1. *Vibrio* atau *bakteri koma*. Batang melengkung seperti koma dan kadang membelit seperti huruf S. Mempunyai spiral yang pendek.
2. *Spiril*. Bentuknya seperti spiral atau seperti lilitan. Individu-individu sel yang tidak saling melekat.
3. *Spirocheta*. Bentuknya seperti spiral tetapi pergerakannya sangat aktif yang dimungkinkan karena adanya flagela yang membelit diketahui bentuk aslinya (Ismail, 2019).

2.2.2 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang menekan pertumbuhan atau reproduksi bahkan membunuh bakteri. Antibakteri terbagi atas dua berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu bakteriostatika yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan bakterisida yang bersifat membunuh bakteri. Antibakteri dapat memiliki aktivitas bakteriostatika menjadi aktivitas bakterisida apabila kadarnya ditingkatkan melebihi Kadar Hambar Minimal (KHM) (Rollando, 2019).

2.2.3 Mekanisme Antibakteri

a. Perusakan dinding sel

Struktur sel dirusak dengan menghambat pada saat pembentukan atau setelah proses pembentukan dinding sel. Seperti antibiotika penisilin yang menghambat pembentukan dinding sel dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroba.

b. Pengubahan permeabilitas sel

Kerusakan pada membran sitoplasma akan menghambat pertumbuhan sel, karena membran sitoplasma berfungsi mempertahankan bagian-bagian tertentu dalam sel serta mengatur

aktivitas difusi bahan-bahan penting, dan membentuk integritas komponen seluler.

c. Penghambatan kerja enzim

Penghambatan enzim akan menyebabkan aktivitas seluler tidak berjalan normal. Seperti sulfonamid yang bekerja dengan bersaing dengan PABA, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan asam amino esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin.

d. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA dan RNA yang mempunyai peran yang sangat penting sebagai bahan baku pembentukan sel bakteri. Penghambatan DNA dan RNA akan mengakibatkan kerusakan pada sel.

e. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Suatu sel hidup tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasi protein dan asam nukleat sehingga merusak sel secara permanen (Rollando, 2019).

2.3 Simplisia

Kata simplisia berasal dari kata *simpleks* atau *simple* yang berarti sederhana. Dalam hubungannya dengan pemanfaatan tanaman obat, istilah simplisia digunakan untuk menjelaskan bahan baku obat yang berasal dari alam dan bentuknya masih belum berubah atau masih asli. Sementara itu, Kementerian Kesehatan menerangkan definisi simplisia ialah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan melalui proses apapun, kecuali dinyatakan lain misalnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat digolongkan menjadi tiga jenis, berdasarkan bahan bakunya yaitu Simplisia nabati, Simplisia hewani, dan Simplisia pelikan atau mineral (Widaryanto dan Azizah, 2018).

2.3.1 Simplisia Nabati

Simplisia nabati ialah simplisia yang dibuat dari tanaman, baik berupa keseluruhan, bagian organ ataupun eksudat tanaman. Eksudat ialah bagian isi sel yang keluar secara spontan atau sengaja dikeluarkan dari selnya dengan teknik tertentu, atau zat nabati yang diekstrak dari tanaman. Contoh bagian organ tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk membuat simplisia ialah herbal (seluruh bagian tanaman), akar, umbi, rimpang, batang, daun, bunga, buah, biji, pati, getah, damar, minyak, malam, kulit kayu.

2.3.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani ialah simplisia yang bahan dasarnya dari hewan. Simplisia jenis ini dapat berupa hewan utuh atau zat yang dihasilkan oleh hewan dan belum berwujud senyawa kimia murni, seperti madu (*Mel depuratum*) dan minyak ikan (*Oleum iecoris asselli*).

2.3.3 Simplisia Pelikan atau Mineral

Simplisia pelikan atau mineral ialah simplisia yang berwujud bahan mineral atau pelikan, masih belum mengalami proses pengolahan atau sudah diolah namun masih dengan teknik yang sederhana dan masih belum berbentuk zat kimia murni. Sebagai contoh adalah serbuk tembaga dan seng (Widaryanto dan Azizah, 2018).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah langkah awal untuk mendapatkan bahan alam. Ekstraksi merupakan metode atau teknik untuk memisahkan bahan alam target dari matriks tanaman, hewan atau mikroba. Ada banyak metode ekstraksi dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi dan efektivitas mendapatkan bahan alam. Pemilihan prosedur ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang diisolasi. Sebelum pemilihan suatu metode, perlu membuat atau menetapkan dalam ekstraksi. Target-target yang diharapkan untuk didapatkan dengan dilakukannya ekstraksi adalah

1. Senyawa bioaktif yang nbelum diketahui.
2. Senyawa aktif yang diketahui dalam organisme.
3. Sekumpulan senyawa dalam organisme yang strukturnya serupa.

4. Seluruh metabolit sekunder dihasilkan oleh satu sumber alam yang tidak dihasilkan melalui kondisi yang sama.
5. Identifikasi seluruh metabolit sekunder yang berada dalam organisme bagi sidik jari dan studi metabolomik.

Proses ekstraksi umumnya melalui beberapa tahapan yaitu :

1. Pengeringan
2. Penghancuran bahan atau homogenisasi bagian tanaman
3. Pemilihan pelarut
 - a. Pelarut polar : air, etanol, metanol
 - b. Pelarut semi-polar : etil asetat, diklorometan
 - c. Pelarut non polar : n-heksan, petroleum eter, kloroform
4. Pemilihan metode ekstrak
 - a. Maserasi
 - b. Pendidikan
 - c. Soxhlet
 - d. Ekstraksi cairan super kritis
 - e. Sublimasi
 - f. Distilasi uap (Firdaus M *et all.*, 2013).

2.5 Metode Pengkajian Antibakteri

2.5.1 Metode Difusi

- a. Metode *Disc Diffusion*

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan agen yang berisi antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Ukuran zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas media biakkan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antibiotik dan interaksi antibiotik dengan media.

b. *Media E-Test*

Metode ini digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*), yaitu konsentrasi minimal suatu antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga kadar tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada are jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

c. *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang digunakan dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum enam macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

d. *Cup plate technique*

Metode ini serupa dengan *disc diffusion*, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

e. *Gradient plate technique*

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teroris bervariasi dari nol hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua kemudian dituangkan di atasnya. *Plate* diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal enam macam) digoreskan pada arah dimulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan. Yang perlu diperhatikan adalah hasil perbandingan yang didapat dari lingkungan padat dan cair,

faktor difusi agen antimikroba dapat mempengaruhi keseluruhan hasil pada media padat (Prayoga dan Lisnawati, 2020).

2.5.2 Metode Dilusi

a. Metode Dilusi Cair

Metode ini digunakan untuk mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan memberi seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM.

b. Media Dilusi Padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah suatu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Prayoga dan Lisnawati, 2020).