

Test of Himalayan Pink Salt and Krosok Salt as Antibacteria Against Lactobacillus Acidophilus and Pseudomonas Aeruginosa Bacteria In-Vitro

[Uji Garam Himalaya Pink dan Garam Krosok sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Lactobacillus acidophilus dan Pseudomonas aeruginosa secara In-Vitro]

Yazni Rahma Dewi¹⁾, Chylen Setiyo Rini^{2)*}

¹⁾ Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

²⁾ Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Email Penulis Korespondensi : chylensetiyorini@umsida.ac.id

Abstract. This research aims to determine the effect of testing Himalaya Pink salt and krosok salt as antibacterials against the bacteria *Lactobacillus acidophilus* and *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. This research was experimental with 7 treatments, namely negative control, positive control, Himalaya Pink salt solution and krosok salt. The results based on the calculation results of the diameter of the inhibition zone formed in the Himalaya Pink salt and Krosok salt solutions, it is classified as weak in inhibiting the growth of *Lactobacillus acidophilus* bacteria. The results use of Himalaya Pink salt solution and Krosok salt is moderate to strong in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria..

Keywords - Himalayan Pink salt, Krosok salt, *Lactobacillus acidophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengujian garam Himalaya Pink dan garam krosok sebagai antibakteri terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan 7 perlakuan, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, larutan garam Himalaya Pink dan garam krosok. Hasil penelitian berdasarkan hasil perhitungan diameter zona hambat yang terbentuk pada larutan garam Himalaya Pink dan garam krosok tergolong lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Hasil penggunaan larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok tergolong sedang hingga kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci - Garam Himalaya Pink, Garam Krosok, *Lactobacillus acidophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*

I. PENDAHULUAN

Garam merupakan senyawa kimia yang komponen utamanya ialah Natrium Klorida (NaCl) yang ditemukan dalam konsentrasi tinggi pada garam dapur dan beberapa zat pengotor [1]. Penggunaan garam dalam kehidupan sehari-hari terdiri atas beberapa macam seperti garam dapur, garam Himalaya Pink (garam Himalaya berwarna merah muda), garam Himalaya Black (garam Himalaya berwarna hitam), dan garam krosok. Garam Himalaya Pink (Himalayan Pink Salt) merupakan garam batu yang berasal dari tambang garam di daerah pegunungan Khewra [2]. Natrium klorida yang murni memiliki warna putih, garam ini memiliki warna merah muda karena terdapat banyak kandungan mineral didalamnya. Garam Himalaya dikonsumsi secara langsung tanpa melalui proses pemurnian terlebih dahulu layaknya garam dapur dengan tujuan menjaga kemurnian dari kandungan mineral yang ada seperti Mg, Ca, S, N, dan I [3]. Sementara garam krosok (Krosok Salt) merupakan garam yang memiliki tekstur kasar. Garam dengan tekstur kasar ini dibuat melalui proses penguapan dan kristalisasi air laut dengan bantuan sinar matahari. Garam krosok memiliki kandungan magnesium yang lebih tinggi dan biasa digunakan sebagai garam mandi untuk perawatan [4].

Garam merupakan salah satu kebutuhan terpenting dalam kehidupan yang dibutuhkan oleh tubuh seseorang, serta dapat digunakan untuk bumbu makanan. Selain itu, NaCl juga dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganisme. Akan tetapi beberapa jenis mikroorganisme yang tahan terhadap garam akan dapat tumbuh [5]. Konsentrasi NaCl 15% tidak memiliki diameter zona hambat karena pada konsentrasi rendah bakteri masih dapat tumbuh [6]. Konsentrasi 20% masih terdapat 37 koloni bakteri yang tumbuh, sementara pada konsentrasi 40% terdapat 4 koloni bakteri yang tumbuh [7].

Lactobacillus acidophilus adalah bakteri Gram positif, berbentuk batang, dapat ditemukan di dalam mulut sehingga dapat memicu tumbuhnya karies gigi karena keasaman dan sifatnya yang asidogenik. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh secara optimal dalam suhu sekitar 37°C - 41°C dengan rentang pH 6,5-7 [8]. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* memiliki ciri khusus yaitu dapat memfermentasi sukrosa, glukosa, fruktosa, serta dapat

memfermentasi laktosa dengan menghasilkan asam tanpa gas tetapi tidak dapat memfermentasi manitol [9]. Mikroorganisme ini banyak dijumpai pada air liur, selaput lendir, langit-langit keras, atap gigi dan di permukaan gigi [10]. Mikroorganisme penyebab karies adalah *Streptococcus* (*Streptococcus mutans*) dan *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus*) [11].

Pseudomonas aeruginosa adalah jenis bakteri yang banyak dijumpai di tanah, air, manusia, hewan maupun tumbuhan. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berkembang paling baik pada suhu 37°C - 42°C [12]. Ciri dari bakteri ini adalah Gram negatif, bentuknya batang, motil, aerob, katalase positif, oksidase positif, serta dapat mengoksidasi glukosa atau karbohidrat namun tidak bisa melakukan fermentasi [13]. Hasil swab penderita periodontal didapatkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kesehatan gigi dan mulut yang tidak dijaga akan menimbulkan penyakit seperti karies dan periodontitis. Karies gigi adalah penyakit pada gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme yang merusak jaringan gigi berupa enamel, dentin dan sementum [14]. Periodontitis adalah perkembangan penyakit gusi yang disebabkan oleh mikroorganisme yang menyebabkan kerusakan gusi progresif, termasuk kerusakan gigi dan penyakit gusi [15]. Prevalensi penduduk Indonesia yang mempunyai masalah pada kesehatan gigi dan mulut termasuk karies gigi dan penyakit periodontal yaitu sebesar 25,9% [16]. Tujuan dilakukan penelitian ini untuk membuktikan apakah Garam Himalaya Pink dan Garam Krosok dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

II. METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Klinik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Juni 2023 sampai agustus 2023. Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik dan Penelitian KEPK STIKes Ngudia Husada Madura kelayakan etik dengan Nomor: 1846/KEPK/STIKES-NHM/EC/VII/2023. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan 7 perlakuan yaitu kontrol negatif (aquades steril), kontrol positif (antibiotik Ciprofloxacin), larutan garam Himalaya Pink (konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%) dan garam krosok (konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan pengulangan 4 kali pada setiap perlakuan. Tahapan penelitian ini terdiri atas identifikasi bakteri yang digunakan secara makroskopis dan mikroskopis, pembuatan larutan garam larutan garam Himalaya Pink dan garam krosok, pengujian antibakteri, dan perhitungan zona hambat.

Bahan yang digunakan meliputi : media MRSA (*Man Rogosa Sharpe Agar*), media MCA (*Mac Conkey Agar*), media NA (*Nutrient Agar*), media MHA (*Muller Hinton Agar*), media standar *Mac Farland* 0,5, PZ steril, aquades, *plastic wrap*, alumunium foil, antibiotik Ciprofloxacin, garam yang digunakan pada penelitian ini yaitu garam Himalaya Pink dan garam krosok. Bakteri yang akan digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Alat yang digunakan meliputi : timbangan analitik, labu erlenmeyer, tabung ukur, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, autoklaf, bunsen, kaki tiga, kawat kasa, pipet volume, bulb, pipet tetes, kawat ose, cotton bud, *paper disc*, inkubator, *colony counter*.

Identifikasi bakteri secara makroskopis dan mikroskopis bertujuan untuk membuktikan kebenaran bakteri *Lactobacillus acidophilus* (Gram positif) dan *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negatif). Identifikasi bakteri secara makroskopis dilakukan inokulasi bakteri *Lactobacillus acidophilus* media MRSA dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* media MCA. Diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Koloni bakteri yang tumbuh pada media diamati ukuran, bentuk, warna, dan permukaan bakteri. Identifikasi bakteri secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram. Larutan yang digunakan pada pewarnaan gram meliputi Kristal violet, lugol, alkohol dan safranin. Hasil pewarnaan Gram kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x.

Tahap persiapan bahan uji meliputi pembuatan larutan garam, kontrol positif (antibiotik Ciprofloxacin), kontrol negatif (aquades), dan suspensi bakteri. Pembuatan larutan garam Himalaya Pink dan garam krosok konsentrasi 5% (timbang 5 gram garam dilarutkan dalam 100 mL aquades), konsentrasi 10% (timbang 10 gram garam dilarutkan dalam 100 mL aquades), konsentrasi 15% (timbang 15 gram garam dilarutkan dalam 100mL aquades), konsentrasi 20% (timbang 20 gram garam dilarutkan dalam 100 mL aquades), konsentrasi 25% (timbang 25 gram garam dilarutkan dalam 100 mL aquades). Pembuatan kontrol positif antibiotik Ciprofloxacin 500 mg (timbang 65 mg dilarutkan dalam 50 mL aquades). Pembuatan kontrol negatif menggunakan aquades steril 50 mL. Pembuatan suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* diambil dari media MRSA dan *Pseudomonas aeruginosa* diambil dari media MCA kemudian bakteri dihomogenkan dengan pz steril hingga didapatkan kekeruhan. Kemudian hasil kekeruhan di setarkan dengan standart Mc farland 0,5.

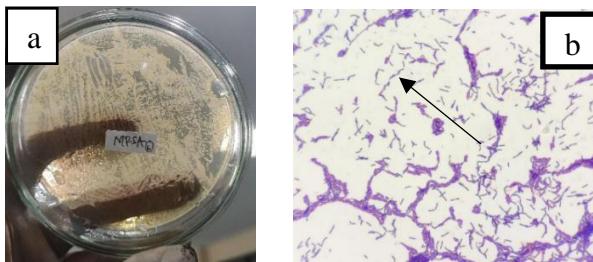
Tahap uji antibakteri. Suspensi bakteri diambil menggunakan cotton bud steril kemudian diusapkan ke seluruh permukaan media *Mueller Hinton* (MHA). Paper disk (diameter 5 mm) yang berisi larutan garam uji diletakkan diatas media *Mueller Hinton* (MHA) yang berisi suspensi bakteri. Media MHA diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C Pengamatan dan pengukuran berdasarkan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Hasil zona hambat disesuaikan dengan table respon klasifikasi zona hambat untuk mengetahui respon daya hambat senyawa antibakteri.

Tabel 1. Klasifikasi Respon Daya Hambat [17].

Diameter Zona Hambat	Respon Daya Hambat
>20 mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

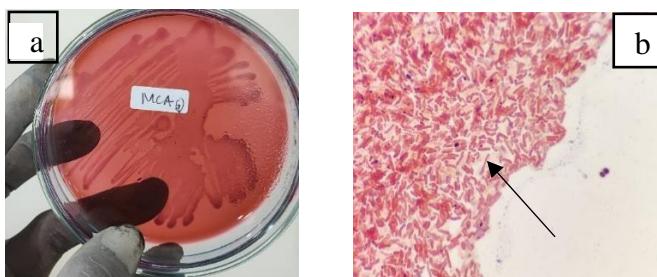
Analisis Data. Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisa secara deskriptif untuk menunjukkan hasil pengukuran diameter hambatan dalam satuan millimeter. Data yang diperoleh akan dilakukan Uji *One Way ANOVA* menggunakan aplikasi SPSS yang bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan dari setiap perlakuan. Langkah awal yang dilakukan ialah menentukan nilai normalitas untuk mengetahui data tersebut normal atau tidak dengan *uji Shapiro Wilk*. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk menguji apakah data tersebut homogen atau tidak. Apabila distribusi datanya normal atau varians data sama ($p > 0,05$) dan distribusi homogen, maka dilakukan uji *One Way Anova*. Kemudian selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan uji *Duncan* yang digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan dari setiap perlakuan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1 a. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media MRS A. b. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada mikroskop dengan perbesaran 100x.

Hasil identifikasi bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media MRS A menunjukkan koloni bakteri berukuran pin point, berbentuk bulat, tepi rata, berwarna krem, permukaan datar. Sementara hasil identifikasi bakteri *Lactobacillus acidophilus* secara mikroskopis dengan perbesaran 100x menunjukkan bakteri Gram positif berwarna ungu dan berbentuk batang [8].



Gambar 2 a. Makroskopis *Pseudomonas aeruginosa* pada media MCA. b. Mikroskopis *Pseudomonas aeruginosa* pada mikroskop dengan perbesaran 100x.

Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media MCA koloni bakteri berukuran moderate, berbentuk irregular, tepi undulate, berwarna merah gelap hingga hitam (piorubin atau piomelanin), permukaan convex. Sementara hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara mikroskopis dengan perbesaran 100x menunjukkan bakteri Gram negatif berwarna merah dan berbentuk batang [12].

Tabel 2. Hasil uji salinitas NaCl

Nama Garam	Hasil Salinitas NaCl
Garam Himalaya Pink	999.716,75 mg/kg

Garam krosok	987.691,28 mg/kg
--------------	------------------

Tabel 2. Menunjukkan hasil salinitas NaCl yang terkandung pada garam Himalaya Pink lebih tinggi dibandingkan hasil salinitas NaCl yang terkandung pada garam Krosok. Salinitas adalah tingkat keasinan atau kadar NaCl yang terdapat pada garam. Pengujian salinitas NaCl bertujuan untuk mengetahui kadar NaCl pada garam yang digunakan sebagai bahan pengujian antibakteri. Kandungan NaCl yang tinggi pada garam dipercaya dapat digunakan sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri. Kandungan senyawa kimia NaCl pada larutan garam dapat digunakan sebagai antibakteri karena larutan garam menimbulkan perubahan tekanan osmotik terhadap mikroorganisme. Tekanan osmotik larutan garam menyebabkan terjadinya penarikan air dari dalam sel mikroorganisme sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat. Tekanan osmotik merupakan proses dimana air dari konsentrasi yang lebih rendah perjalanan di seluruh membran sel penghalang untuk konsentrasi yang lebih tinggi [19]. Penggunaan larutan garam memberikan efek hipotonis dan hipertonis terhadap pertumbuhan bakteri. Larutan garam dengan konsentrasi rendah (hipotonis) dapat merangsang pertumbuhan bakteri sementara larutan garam konsentrasi tinggi (hipertonis) dapat bersifat toksik bagi bakteri. Kadar garam yang tinggi dapat menyebabkan bakteri yang tidak tahan terhadap garam akan mati sementara pada bakteri yang tahan terhadap kadar garam tinggi memungkinkan bakteri dapat berkembang biak [20].

Pengujian aktivitas antibakteri larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan empat kali pengulangan. Diameter rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji antibakteri larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

	Rata-rata (mm) ± Std.Deviasi (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	Rata-rata (mm) ± Std.Deviasi (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)
K +	4,43 ± 0,012 ^d	22,69 ± 0,311 ^h
K -	0 ± 0,000 ^a	0 ± 0,000 ^a
HP 5%	0,03 ± 0,015 ^{ab}	5,53 ± 0,353 ^b
HP 10%	0,07 ± 0,413 ^{abc}	6,38 ± 0,330 ^c
HP 15%	0,13 ± 0,009 ^{abc}	7,08 ± 0,129 ^{cd}
HP 20%	0,29 ± 0,005 ^{abc}	8,25 ± 0,121 ^{ef}
HP 25%	0,35 ± 0,221 ^c	10,95 ± 0,615 ^g
Kr 5%	0,03 ± 0,005 ^{ab}	5,56 ± 0,215 ^b
Kr 10%	0,08 ± 0,009 ^{abc}	6,51 ± 0,407 ^c
Kr 15%	0,13 ± 0,012 ^{abc}	7,81 ± 0,424 ^{de}
Kr 20%	0,30 ± 0,030 ^{bc}	8,78 ± 0,131 ^f
Kr 25%	0,35 ± 0,046 ^c	10,55 ± 0,112 ^g

Keterangan : K+ (Kontrol Positif), K- (Kontrol Negatif), HP (Larutan Garam Himalaya Pink Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%), Kr (Larutan Garam Krosok Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%). Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan pada setiap perlakuan dan persamaan notasi menunjukkan tidak ada perbedaan pada setiap perlakuan.

Pada Tabel 3 Menunjukkan hasil uji kontrol positif, kontrol negatif, dan larutan garam dengan masing-masing konsentrasi memberikan diameter zona hambat yang berbeda terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil rata-rata diameter zona hambat kontrol negatif terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 0 mm. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquades steril. Penggunaan aquades steril sebagai kontrol negatif juga bertujuan untuk membuktikan bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri [21].

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu antibiotik Ciprofloxacin. Ciprofloxacin dapat digunakan sebagai kontrol positif karena tergolong antibiotik berspektrum luas (dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif). Antibiotik Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan quinolon yang bekerja dalam mensugesti enzim DNA gyrase pada bakteri sehingga mengganggu proses replikasi dan transkripsi pada bakteri. Antibiotik Ciprofloxacin termasuk golongan bakterisidal sehingga menyebabkan kematian terhadap bakteri [22]. Pemilihan antibiotik Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dinyatakan kurang efektif, karena diameter zona hambat 4,43 mm termasuk ke dalam kategori respon daya hambat lemah. Sementara, Pemilihan antibiotik Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dinyatakan efektif, karena diameter zona hambat 22,69 mm termasuk ke dalam kategori respon daya hambat Sangat kuat. Antibiotik Ciprofloxacin dapat digunakan untuk pengobatan akibat bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter*, *Haemophylus sp*, *Chlamydia sp*, *Salmonella sp*, *Pseudomonas Aeruginosa*) dan bakteri Gram positif (*Staphylococcus sp* dan *Streptococcus sp*) [23].

Hasil rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* yaitu kontrol negatif (0 mm), kontrol positif (4,43 mm), larutan garam Himalaya Pink konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (0,03 mm, 0,07 mm, 0,13 mm, 0,29 mm, 0,35 mm), larutan garam Krosok konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (0,03 mm, 0,08 mm, 0,13 mm, 0,30 mm, 0,35 mm). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa perbedaan salinitas NaCl yang terdapat pada garam Himalaya Pink dan garam Krosok pada konsentrasi 5% (0,03 mm) dan 25% (0,35 mm) memiliki rata-rata diameter yang sama terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka diameter zona hambat yang dihasilkan juga semakin tinggi. Berdasarkan hasil perhitungan diameter zona hambat yang terbentuk pada larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok tergolong lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Larutan garam Himalaya Pink dan larutan garam krosok sebagai antibakteri kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang merupakan bakteri Gram Positif. Karena bakteri Gram Positif beberapa lapis peptidoglikan, asam teikoat dan dinding sel bakteri memiliki ketebalan 20-80 nm, maka senyawa antibakteri sulit menembus dinding sel dan pertumbuhan bakteri menjadi sulit terhambat [24]. Dinding sel pada bakteri berfungsi sebagai pertahanan dan tempat berlangsungnya proses biokimia [25].

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* juga memiliki senyawa antibakteri dalam sel nya yang biasa disebut dengan bakteriosin. Bakteriosin adalah senyawa protein kompleks yang dihasilkan oleh bakteri dan disintesa di ribosom serta mempunyai aktifitas antibakteri terutama terhadap bakteri patogen. Bakteriosin dapat berasal dari bakteri yang bersifat Gram positif dan Gram negatif [26]. Bakteriosin biasanya dianggap sebagai antibiotik spektrum sempit. Pada umumnya bakteriosin dihasilkan oleh bakteri asam laktat [27]. Bakteriosin yang dihasilkan bakteri *Lactobacillus acidophilus* biasa disebut dengan Lactacin [28]. Hasil rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu kontrol negatif (0 mm), kontrol positif (22,69 mm), larutan garam Himalaya Pink konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (5,53 mm, 6,38 mm, 7,08 mm, 8,25 mm, 10,95 mm), larutan garam Krosok konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (5,56 mm, 6,51 mm, 7,81 mm, 8,78 mm, 10,55 mm). Hasil zona hambat larutan garam Himalaya Pink konsentrasi 5% (5,53 mm) dan konsentrasi 25% (10,95 mm) sementara hasil zona hambat larutan garam Krosok konsentrasi 5% (5,56 mm) dan konsentrasi 25% (10,55 mm). Hasil diameter menunjukkan zona hambat tertinggi terdapat pada larutan garam Himalaya Pink konsentrasi 25%. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa perbedaan salinitas NaCl yang terdapat pada garam Himalaya Pink dan garam Krosok mempengaruhi hasil diameter zona hambat yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka diameter zona hambat yang dihasilkan juga semakin tinggi. Penggunaan larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok tergolong sedang hingga kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Larutan garam Himalaya Pink dan larutan garam krosok sebagai antibakteri cukup efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri Gram Negatif. Bakteri Gram Negatif tersusun atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan dinding sel bakteri miliki ketebalan 8-10 nm [24]. Dinding sel pada bakteri berfungsi sebagai pertahanan dan tempat berlangsungnya proses biokimia [25]. Karena hanya mengandung sedikit lapisan dan tidak mengandung asam teikoat, maka senyawa antibakteri mudah menembus dinding sel dan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat.

Hasil zona hambat yang sedang hingga kuat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* karena senyawa antibakteri mudah menembus dinding sel dan mengikat protein penisilin (*PBPs=Penicillin-binding proteins*). Setelah senyawa antibakteri melekat pada reseptor maka reaksi transpeptidasi akan dihambat dan selanjutnya sintesis peptidoglikan akan dihambat. Tahap berikutnya adalah inaktivasi serta hilangnya inhibitor enzim-enzim autolitik pada dinding sel. Akibatnya adalah aktivasi enzim-enzim litik yang akan menyebabkan lisis bakteri.

Tabel 4. Hasil uji normalitas, homogenitas, dan One Way Anova larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Normalitas (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	Homogenitas (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	One Way Anova (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)	Normalitas (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	Homogenitas (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	One Way Anova (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)
K +	0,406	0,051	0,000	0,159	0,060
K -	-		-		
HP 5%	0,091		0,505		
HP 10%	0,102		0,830		
HP 15%	0,272		0,442		
HP 20%	0,081		0,902		
HP 25%	0,103		0,062		
Kr 5%	0,121		0,751		
Kr 10%	0,272		0,203		
Kr 15%	0,406		0,074		
Kr 20%	0,538		0,594		

Kr 25%	0,792	0,537
--------	-------	-------

Keterangan : K+ (Kontrol Positif), K- (Kontrol Negatif), HP (Larutan Garam Himalaya Pink Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%), Kr (Larutan Garam Krosok Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%).

Tabel 4. Hasil uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh nilai signifikansi diatas 0,05, dapat disimpulkan bahwa setiap perlakuan memiliki data terdistribusi dengan normal. Jika nilai signifikansi <0,05 berarti data tidak terdistribusi normal, sementara apabila nilai signifikansi >0,05 berarti data tersebut terdistribusi normal.

Setelah dilakukan uji normalitas selanjutnya data dilakukan uji homogenitas. Hasil uji homogenitas (*Levene*) larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh nilai signifikansi diatas 0,05, dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen. Jika nilai signifikansi <0,05 berarti data tidak homogen sementara apabila nilai signifikansi >0,05 berarti data tersebut homogen.

Setelah dilakukan uji homogenitas selanjutnya data dilakukan uji *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh nilai signifikansi 0,000 dapat disimpulkan jika nilai signifikansi <0,05 berarti terdapat perbedaan bermakna rata-rata zona hambat pada masing-masing larutan garam terhadap bakteri. Selanjutnya, untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan, maka digunakan uji lanjutan yaitu uji *post-hoc*.

Tabel 5. Hasil Uji *post-hoc* larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap *Lactobacillus acidophilus*

	K-	K+	HP 5%	HP 10%	HP 15%	HP 20%	HP 25%	KR 5%	KR 10%	KR 15%	KR 20%	KR 25%
K+	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K-	0,000*	-	1,000	0,083	0,915	0,051	0,008*	1,000	0,996	0,915	0,038*	0,010*
HP5%	0,000*	1,000	-	0,207	0,992	0,138	0,027*	1,000	1,000	0,992	0,107	0,031*
HP10%	0,000*	0,083	0,207	-	0,844	1,000	0,999	0,185	0,525	0,844	1,000	0,999
HP15%	0,000*	0,915	0,992	0,844	-	0,733	0,300	0,988	1,000	1,000	0,660	0,330
HP20%	0,000*	0,051	0,138	1,000	0,733	-	1,000	0,122	0,397	0,733	1,000	1,000
HP25%	0,000*	0,008*	0,027*	0,999	0,3	1,000	-	0,023*	0,107	0,300	1,000	1,000
KR5%	0,000*	1,000	1,000	0,185	0,988	0,122	0,023*	-	1,000	0,988	0,924	0,927
KR10%	0,000*	0,996	1,000	0,525	1,000	0,397	0,107	1,000	-	1,000	0,330	0,122
KR15%	0,000*	0,915	0,992	0,844	1,000	0,733	0,3	0,988	1,000	-	0,660	1,000
KR20%	0,000*	0,038*	0,107	1,000	0,66	1,000	1,000	0,924	0,330	0,660	-	1,000
KR25%	0,000*	0,01*	0,031*	0,999	0,33	1,000	1,000	0,927	0,122	1,000	1,000	-

Keterangan : K+ (Kontrol Positif), K- (Kontrol Negatif), HP (Larutan Garam Himalaya Pink Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%), Kr (Larutan Garam Krosok Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%), * = menunjukkan adanya perbedaan antara dua perlakuan.

Tabel 5. Hasil uji *post-hoc* (*Tukey*) larutan garam Himalaya Pink terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan perlakuan kontrol positif memiliki perbedaan pada perlakuan lainnya. Kontrol negatif menunjukkan ada perbedaan dengan 4 perlakuan (kontrol negatif, Himalaya Pink konsentrasi 25%, Krosok konsentrasi 20% dan 25%), dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya.. Himalaya Pink konsentrasi 5% menunjukkan ada perbedaan dengan 3 perlakuan (kontrol negatif, Himalaya Pink konsentrasi 25%, dan Krosok konsentrasi 25%), dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya. Himalaya Pink konsentrasi 10%, 15%, dan 20% menunjukkan ada perbedaan dengan perlakuan kontrol negatif, dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya. Himalaya Pink konsentrasi 25% menunjukkan ada perbedaan dengan 3 perlakuan (kontrol negatif, kontrol positif, Himalaya Pink konsentrasi 5%, dan Krosok konsentrasi 5%), dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya.

Hasil uji *post-hoc* (*Tukey*) larutan garam Krosok terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan perlakuan kontrol positif memiliki perbedaan pada perlakuan lainnya. Kontrol negatif menunjukkan ada perbedaan dengan 4 perlakuan (kontrol negatif, Himalaya Pink konsentrasi 25%, Krosok konsentrasi 20% dan 25%), dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya.. Krosok konsentrasi 5% menunjukkan ada perbedaan dengan 3 perlakuan (kontrol negatif, Himalaya Pink konsentrasi 25%), dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya. Krosok konsentrasi 10% dan 15% menunjukkan ada perbedaan dengan perlakuan kontrol negatif, dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya. Krosok konsentrasi 20% menunjukkan ada perbedaan dengan 2 perlakuan (kontrol negatif dan kontrol positif), dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya. Krosok konsentrasi 25% menunjukkan ada perbedaan dengan 3 perlakuan (kontrol negatif dan kontrol positif, Himalaya Pink konsentrasi 5%), dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya.

Jika hasil uji *post-hoc* (*Tukey*) larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* memiliki nilai signifikansi $<0,05$ menunjukkan adanya perbedaan antara 2 perlakuan tersebut, sementara jika nilai signifikansi $>0,05$ tidak ada perbedaan yang nyata antara 2 perlakuan tersebut.

Tabel 6. Hasil Uji *post-hoc* larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

	K-	K+	HP 5%	HP 10%	HP 15%	HP 20%	HP 25%	KR 5%	KR 10%	KR 15%	KR 20%	KR 25%
K+	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K-	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
HP5%	0,000*	0,000*	-	0,022*	0,000*	0,000*	0,000*	1,000	0,004*	0,000*	0,000*	0,000*
HP10%	0,000*	0,000*	0,022*	-	0,103	0,000*	0,000*	0,029*	1,000	0,000*	0,000*	0,000*
HP15%	0,000*	0,000*	0,000*	0,103	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,342	0,529	0,000*	0,000*
HP20%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,131	0,428	0,000*
HP25%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,793
KR5%	0,000*	0,000*	1,000	0,029*	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,005*	0,000*	0,000*	0,000*
KR10%	0,000*	0,000*	0,004*	1,000	0,342	0,000*	0,000*	0,005*	-	0,001*	0,000*	0,000*
KR15%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,529	0,131	0,000*	0,000*	0,001*	-	0,000*	0,000*
KR20%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,428	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
KR25%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,793	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-

Keterangan : K+ (Kontrol Positif), K- (Kontrol Negatif), HP (Larutan Garam Himalaya Pink Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%), Kr (Larutan Garam Krosok Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%), * = menunjukkan adanya perbedaan antara dua perlakuan.

Tabel 6. Hasil uji *post-hoc* (*Tukey*) larutan garam Himalaya Pink terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan perlakuan kontrol positif memiliki perbedaan pada perlakuan lainnya. Kontrol negatif menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya. Himalaya Pink konsentrasi 5% menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada Krosok konsentrasi 5%. Himalaya Pink konsentrasi 10% menunjukkan ada perbedaan dengan perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada 2 perlakuan (Himalaya Pink konsentrasi 15% dan Krosok konsentrasi 10%). Himalaya Pink konsentrasi 15% menunjukkan ada perbedaan dengan perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada 3 perlakuan (Himalaya Pink konsentrasi 10%, Krosok konsentrasi 10% dan Krosok konsentrasi 15%). Himalaya Pink konsentrasi 20% menunjukkan ada perbedaan dengan perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada 3 perlakuan (Krosok konsentrasi 15% dan Krosok konsentrasi 20%). Himalaya Pink konsentrasi 25% menunjukkan ada perbedaan dengan perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan Krosok konsentrasi 25%.

Hasil uji *post-hoc* (*Tukey*) larutan garam Krosok terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan perlakuan kontrol positif memiliki perbedaan pada perlakuan lainnya. Kontrol negatif menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya. Krosok konsentrasi 5% menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan Himalaya Pink konsentrasi 5%. Krosok konsentrasi 10% menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan Himalaya Pink konsentrasi 10% dan 15%. Krosok konsentrasi 15% menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan Himalaya Pink konsentrasi 15% dan 20%. Krosok konsentrasi 20% menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan Himalaya Pink konsentrasi 20%. Krosok konsentrasi 25% menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan lainnya dan tidak menunjukkan ada perbedaan pada perlakuan Himalaya Pink konsentrasi 25%.

Jika hasil uji *post-hoc* (*Tukey*) larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki nilai signifikansi $<0,05$ menunjukkan adanya perbedaan antara 2 perlakuan tersebut, sementara jika nilai signifikansi $>0,05$ tidak ada perbedaan yang nyata antara 2 perlakuan tersebut

VII. SIMPULAN

Penggunaan larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok tergolong lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Penggunaan larutan garam Himalaya Pink dan garam Krosok tergolong sedang hingga kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada dosen pembimbing beserta staff Universitas Muhammadiyah Sidoarjo Fakultas Ilmu Kesehatan yang telah memberi arahan dan bimbingannya selama penulis melakukan penelitian. Juga kepada kedua orang tua atas doa dan dukungannya. Tak lupa kepada teman penelitian saya yang bersedia menemani dan membantu dalam menyelesaikan artikel ini.

REFERENSI

- [1] Umam, F. (2019). Pemurnian Garam dengan Metode Rekrystalisasi di Desa Bunder Pamekasan untuk Mencapai SNI Garam Dapur. *Jurnal Ilmiah Pangabdhi*, Vol. 5 No. 1, Hal 24-27. doi: 10.21107/pgd.v5i1.5161i.
- [2] Rizqi, K.G. 2018. Pengaruh Substitusi Garam Dapur dengan Garam Himalaya Terhadap Kualitas Telur Asin. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- [3] Anonimus. 2013. Garam Crystal Himalaya. <http://garamHimalaya.blogspot.co.id/2013/04/garam-crystal-Himalaya.html>. Diakses pada 24 Maret 2017
- [4] Putri, R. D., Destryana, R. A, Santosa, R. 2020. "Pemanfaatan Garam Krosok Sebagai Kreatif bisnis masyarakat Pesisir." *Journal of Food Technologi and Agroindustry2*, No.1 (Februari 2020),15-19.
- [5] Desrosier, N. (2008). *Teknologi Pengawetan Pangan*, Edisi 3. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- [6] Amalia, Dwiyanti, R.D., Haitami. (2016). Daya Hambat NaCl terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Medical Laboratory Technology Journal*, Vol. 2 No. 2, Hal. 42-45. Diakses dari <https://www.ejurnal-analiskesehatan.web.id/index.php/JAK/article/view/125>.
- [7] Nadira, G.A. (2018). Uji Daya Hambat Garam Bermerk yang Mengandung Yodium terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Politeknik Kesehatan Kemenkes RI Medan, Medan. Diakses dari <http://repo.poltekkes-medan.ac.id/xmlui/handle/123456789/1582>.
- [8] Praja, D.I. 2011. *The Miracle of Probiotics*. DIVA Press. Yogyakarta.
- [9] Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- [10] Evans et al. 2015. *Inhibitory effects of antiseptic mouthrinses on Streptococcus mutans, Streptococcus sanguinis and Lactobacillus acidophilus*. Australian Dental Journal, Vol 60: hal 247–254.
- [11] Cura F, Palmieri A, Girardi A, Martinelli M, Scapoli L, Carinci F. *Test for Dental Caries and Bacteriological Analysis*. *Dental Research Journal*. 2012; 9(8) : S139-S141.
- [12] Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Sagung Seto.
- [13] Widowati, Imas., Siti Efiyati, dan Sari Wahyuningtyas. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Bakteri Pembusuk Ikan Segar (*Pseudomonas aeruginosa*)*. *PELITA*. 9(1): 146-157.
- [14] Hakim, R., Fakhruzai., dan Editia, A. 2018. Pengaruh Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *Journal Syiah Kuala Dent Soc*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala. Vol.3, No.1: hal 1-5.
- [15] Carranza, F. A. 2012. *Carranza's Clinical Periodontology*. Jakarta: EGC.
- [16] Mintjelungan dkk. (2016). *Efektivitas Dental Health Education Disertai Demonstrasi Cara Menyikat Gigi Terhadap Tingkat Kebersihan Gigi dan Mulut Anak Sekolah Dasar*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*.UNSRAT Vol.5 ISSN 2302-2493.
- [17] Davis, W. W. dan T. R. Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiology* 22: 659-665.
- [18] Ghozali, I. (2018). "Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program IBM SPSS" Edisi. Sembilan.Semarang:Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- [19] Nurdeviyanti, N., 2011. "Larutan Garam Dapur Beriodium Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Secara *In Vitro*". Tidak Diterbitkan. Tesis. Denpasar: Program Magister Biomedik Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- [20] Yoshi, L. A., & Widiasa, I. N. (2016). Sistem Desalinasi Membran Reverse Osmosis (RO) untuk Penyediaan Air Bersih. In Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuungan (p. 6).
- [21] Natheer, S. E., C. Sekar, P. Amutharaj, M.S.A. Rahman, and K. F. Khan. 2012. *Evaluation of antibacterial activity of Morinda citrifolia, Vitex trifolia and Chromolaena odorata*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 6(11): 783–788. doi: 10.5897/AJPP11.435.
- [22] Indrawati Y. Perbedaan Daya Antibakteri Fraksi N-Heksana Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Dengan Ciprofloxacin Terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (*Mrsa*) Hasil Isolat Abses Odontogenik. Universitas Padjajaran; 2016.
- [23] Siswadono, 2008. Kimia Medisinal ed 2. Surabaya: Airlangga University Press (Hal: 134).

- [24] Sukmiwati M, Diharmi A, Mora E, Susanti E. 2018. Aktivitas antimikroba teripang kasur Stichopus vastus Sluiter) dari Perairan Natuna Kepulauan Riau. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(2): 328-335.
- [25] Agustiani, D. Kharisma, Y. dan Romadhona, N. 2017. Efek Antibakteri Ekstrak Air Buah Pepaya (*Carica papaya L*) Muda Terhadap *Lactobacillus acidophilus*. *Bandung Meeting on Global Medicine and Health (BaMGMH)*. Vol. 01, No. 01.
- [26] Brosnan, B. et al. (2012) ‘Rapid identification, by use of the LTQ Orbitrap hybrid FT mass spectrometer, of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria’, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(10), pp. 2983–2995. doi: 10.1007/s00216-012-5955- 1.
- [27] Udhayashree, N. et al. (2012) ‘Production of bacteriocin and their application in food products’, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1 SUPPL.). doi: 10.1016/S2221-1691(12)60197-X.
- [28] Elamathy, S. and Kanchana, D. (2013) ‘Characterization of heat stable and inhibitory activity of bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*’, *International Journal of ChemTech Research*, 5(3), pp. 1281–1283.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.