

**EFEK ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL BIJI SELEDRI (*Apium graveolens L.*)
TERHADAP *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) SECARA IN
VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

NI MADE SAVITRI DEVI

0810713074

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2011

HALAMAN PERSETUJUAN



TUGAS AKHIR

**UJI EFEK ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL BIJI SELEDRI (*Apium graveolens*
L.) TERHADAP *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) SECARA
IN VITRO**

Oleh:

Ni Made Savitri Devi

NIM: 0810713074

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 28 Desember 2011

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Safrina Dewi R, SSi., MSi., Med
NIP. 19740318 200501 2 001

Pembimbing I / Penguji II

Dr. dra Sri Winarsih, Apt., MSi
NIP. 19540823 198103 2 001

Pembimbing II / Penguji III

dr. Bambang Prijadi, MS
NIP. 19520324 198403 1 002

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat, rahmat, dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul: "Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Seledri (*Apium graveolens L.*) Terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Secara *In Vitro*".

Proses penulisan Tugas Akhir ini merupakan sebuah pengalaman yang sangat berharga. Sebuah pengalaman yang dapat menjadi bekal penulis untuk menjadi insan cita yang selalu mengembangkan intelektualitas yang tiada pernah berhenti. Dukungan, masukan, kritik dan saran dari berbagai pihak telah menjadikan sesuatu yang tidak bernilai menjadi bernilai karena adanya proses pembelajaran yang terus berlangsung.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., MSi., sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan mulai dari proses awal pembuatan proposal, penelitian, hingga Tugas Akhir ini selesai.
3. dr. Bambang Prijadi, MS, sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan, sehingga dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

4. Safrina Dewi R., SSi., MSi., Med., selaku dosen penguji atas ilmu, bimbingan, dan saran yang diberikan dengan penuh kesabaran.
5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
6. Yang tercinta kedua orang tua saya, ibunda Sri Murwani dan ayahanda Putu Atinia, serta kakak saya Ni Luh Larasati Devi yang selalu mendukung dan mendoakan dalam penyelesaian Tugas Akhir ini.
7. Gede Jaya Wisesa yang selalu memberi semangat, bantuan dan dukungan dalam proses penyelesaian Tugas Akhir ini.
8. Mas Slamet, Mbak Uci, Mas Hendri, Bu Yatik di Laboratorium Mikrobiologi FKUB yang tidak hanya membantu dalam proses penelitian dan administrasi tetapi juga memberi semangat untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini.
9. Sahabat - sahabatku, Carissa, Putri, Inneke, Mirza, Richa dan Qotul yang memberi dukungan, membagi ilmunya selama proses pembuatan TA ini, serta selalu membantu dalam proses pengerjaan penelitian ini.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap agar Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan dan menambah wawasan kepada pembaca sekalian. Akhir kata, tak ada gading yang tak retak, demikian pula dengan Tugas Akhir ini. Penulis membuka diri untuk semua saran dan kritik yang membangun demi kesempurnaan Tugas Akhir ini.

Malang, 15 Desember 2011,

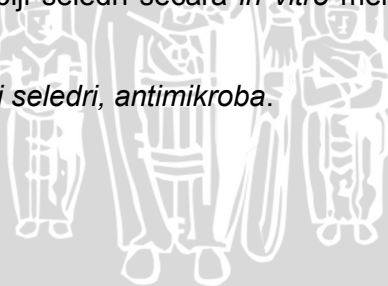
Penulis

ABSTRAK

Savitri, Ni Made. 2011. **Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Seledri (*Apium graveolens L.*) Terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, MSi. (2) dr. Bambang Prijadi, MS.

Staphylococcus aureus adalah bakteri kokus Gram positif yang sering menjadi berbagai penyebab infeksi pada manusia. MRSA adalah strain *S. aureus* yang resisten terhadap kelompok antibiotik beta laktam. Untuk mengatasi penyakit infeksi tersebut, banyak dikembangkan penggunaan antimikroba, termasuk antimikroba herbal. Salah satu tanaman yang diduga mengandung antimikroba adalah biji seledri (*Apium graveolens L.*), karena mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak biji seledri sebagai antimikroba terhadap MRSA. Sampel diperoleh dari isolat klinis di Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Penelitian ini adalah *true experimental post test control only design* dengan metode dilusi tabung. Konsentrasi ekstrak yang dipakai yaitu 0%, 5%, 6%, 7% dan 8% (v/v). Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM-nya adalah 4% dan KBM-nya adalah 8%. Dari hasil analisis tersebut terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak biji seledri terhadap jumlah koloni MRSA (*one-way ANOVA*, $p < 0,05$). Uji korelasi dan regresi menunjukkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak biji seledri maka jumlah pertumbuhan koloni MRSA semakin menurun ($R = -0,992$, $p < 0,05$). Kesimpulan pada penelitian ini adalah ekstrak biji seledri secara *in vitro* mempunyai potensi sebagai antimikroba terhadap MRSA.

Kata kunci: *MRSA, ekstrak biji seledri, antimikroba.*



ABSTRACT

Savitri, Ni Made. 2011. **Antimicrobial Effect of Celery Seed Ethanol Extract (*Apium graveolens L.*) against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *In Vitro***. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine Brawijaya University. Supervisors : (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, MSi. (2) dr. Bambang Prijadi, MS.

Staphylococcus aureus is a coccus Gram-positive bacteria and the most common causing human infection. MRSA is a strain *S. aureus* that is resistant to antimicrobial beta lactam. In order to eliminate the infection, the use of antimicrobial is developed, including herbal antimicrobial. One of herbs which is supposed to have antimicrobial effect is celery seed (*Apium graveolens L.*), because contains flavonoids, tannins, saponins, and terpenoids. This study was aimed to determine the potential of the celery seed extract as an antimicrobial agent against MRSA. Samples was obtained from clinical isolates in the Microbiology Laboratory of the Brawijaya University medical school. This study was a true experimental post test control-only design with tube dilution method. The extract concentrations used were 0%, 5%, 6%, 7% and 8% (v/v). The result shows that the minimal inhibition concentration (MIC) is 4% and the minimal bactericidal concentration (MBC) is 8%. Based on data analysis, we know that there were significant differences in the changes of the extract concentrations to the colony numbers of MRSA (*one-way ANOVA*, $p < 0,05$). Regression correlation test showed that the higher the extract concentration, the lower the number of MRSA colony growth ($R = -0,992$, $p < 0,05$). The conclusion of this study was that celery seed extract *in vitro* has potential as an antimicrobial againts MRSA.

Keywords : *MRSA, celery seed extracts, antimicrobial.*

DAFTAR ISI



Judul	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	xii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademis	5
1.4.2 Manfaat Aplikatif	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Seledri.....	6



2.1.1 Taksonomi Tanaman Seledri	6
2.1.2 Morfologi Tanaman Seledri.....	7
2.1.3 Kandungan Kimia Biji Seledri	8
2.1.3.1 Saponin.....	8
2.1.3.2 Flavonoid.....	10
2.1.3.3 Tannin.....	11
2.1.3.4 Terpenoid.....	13
2.1.4 Kegunaan Tanaman Seledri.....	14
2.2 Staphylococcus aureus.....	15
2.2.1 Taksonomi.....	15
2.2.2 Morfologi dan Identifikasi	16
2.2.3 Epidemiologi.....	17
2.2.4 Struktur Antigen.....	18
2.2.5 Toksin dan Enzim.....	19
2.2.6 Patogenitas.....	22
2.2.7 Gambaran Klinik.....	23
2.2.8 Diagnosis Laboratorium.....	25
2.2.9 Daya Tahan.....	27
2.2.10 Pencegahan dan Pengobatan.....	27
2.3 <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	29
2.3.1 Definisi.....	29
2.3.2 Mekanisme Resistensi	29
2.3.3 Gejala Klinis.....	30

2.3.4 Infeksi MRSA.....	31
2.3.5 Tranmisi Penyakit MRSA.....	31
2.3.6 Identifikasi MRSA.....	32
2.3.7 Pencegahan MRSA.....	37
2.4 Antimikroba.....	38
2.5 Uji Sensitivitas Bakteri terhadap Antimikroba.....	40
2.5.1 Metode Dilusi.....	40
2.5.1.1 Dilusi Tabung.....	40
2.5.1.2 Dilusi Agar.....	41
2.5.2 Metode Difusi Cakram.....	42
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	44
3.2 Hipotesis Penelitian	45
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Desain Penelitian	46
4.2 Estimasi Jumlah Sampel.....	46
4.3 Variabel Penelitian	47
4.3.1 Variabel Tergantung Penelitian	47
4.3.2 Variabel Bebas Penelitian.....	47
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	48
4.5 Definisi Operasional	48
4.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	49
4.6.1 Pembuatan Ekstrak Biji Seledri	49

4.6.1.1 Alat.....	49
4.6.1.2 Bahan.....	49
4.6.2 Identifikasi dan Tes Kepekaan Bakteri.....	49
4.6.2.1 Alat.....	49
4.6.2.2 Bahan.....	49
4.6.3 Uji Efek Antimikroba Biji Seledri.....	50
4.6.1.1 Alat.....	50
4.6.1.2 Bahan.....	50
4.7 Prosedur Penelitian	50
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Biji Seledri	50
4.7.1.1 Proses Pengeringan.....	50
4.7.1.2 Proses Ekstraksi.....	50
4.7.1.3 Proses Evaporasi.....	51
4.7.2 Identifikasi Ulang Bakteri.....	52
4.7.2.1 Pemurnian Bakteri	52
4.7.2.2 Uji Konfirmasi Bakteri.....	52
4.7.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	54
4.7.4 Pengujian Efek Antimikroba.....	55
4.8 Kerangka Operasional Penelitian.....	57
4.9 Analisis Data	58
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian	59
5.1.1 Hasil identifikasi bakteri MRSA.....	59

5.1.2 Hasil uji efek antimikroba	61
5.1.2.1 Hasil penentuan Kadar Hambat Minimal	61
5.1.2.2 Hasil penentuan Kadar Bunuh Minimal	63
5.2 Analisis data.....	66
5.2.1 Uji One- Way Anova.....	67
5.2.2 Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	67
5.2.3 Uji Korelasi dan Regresi	69
BAB 6 PEMBAHASAN	71
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan	78
7.2 Saran	78
DAFTAR PUSTAKA	79
LAMPIRAN.....	84

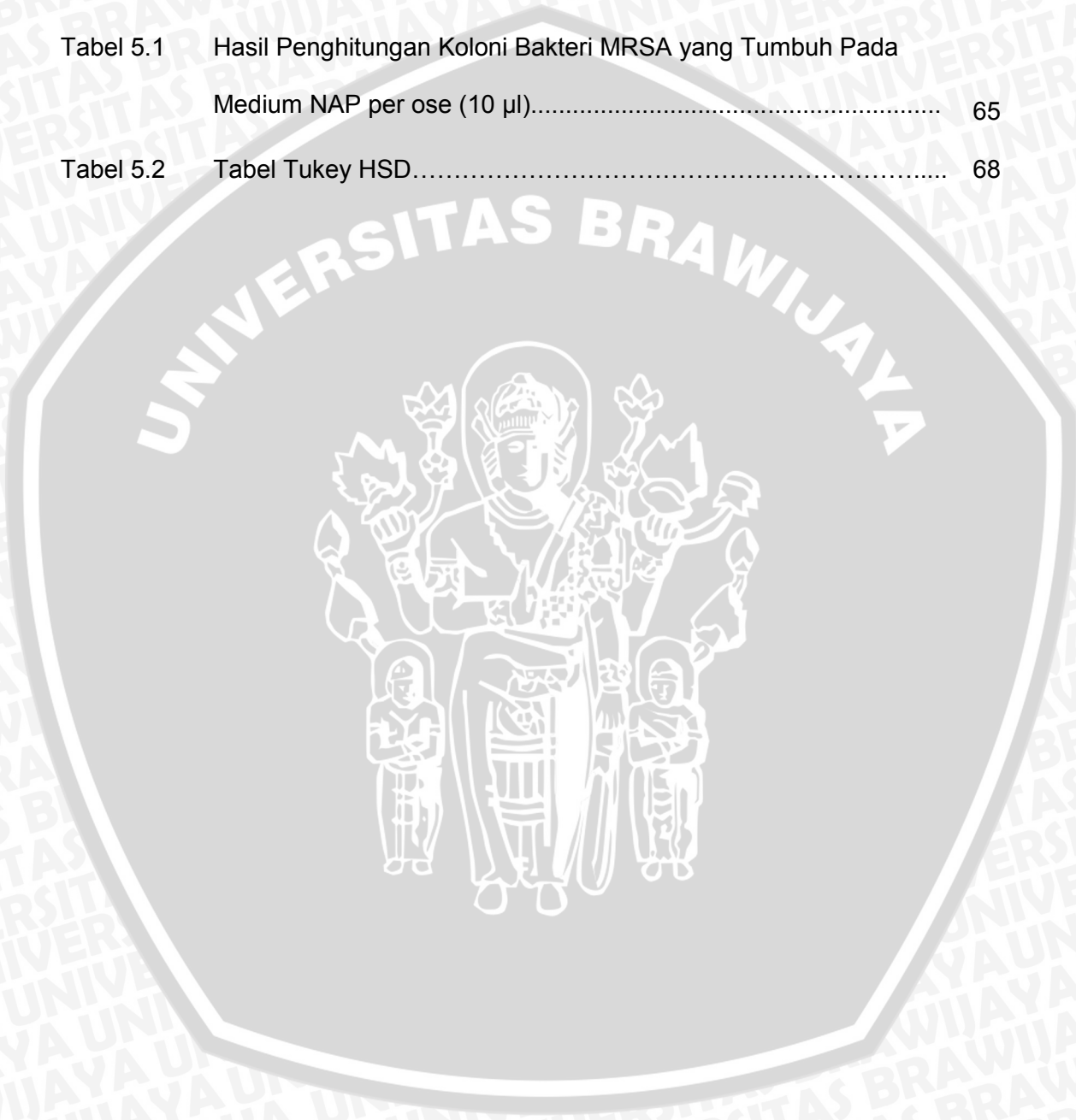


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Seledri.....	8
Gambar 2.2	Biji Seledri.....	8
Gambar 2.3	<i>Staphylococcus aureus</i> Pewarnaan Gram	17
Gambar 2.4	Mekanisme Penentu Patogenitas <i>Staphylococcus aureus</i>	22
Gambar 2.5	Lokasi Infeksi <i>Staphylococcus aureus</i> pada Manusia	23
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian	44
Gambar 4.1	Kerangka Prosedur Penelitian.....	57
Gambar 5.1	Hasil Kultur Isolat Bakteri MRSA pada Media NAP.....	59
Gambar 5.2	Hasil Identifikasi Isolat MRSA dengan Pengecatan Gram.....	60
Gambar 5.3	Hasil Uji Koagulase dan Uji Katalase Isolat MRSA.....	60
Gambar 5.4	Hasil Tes Difusi Cakram Oksasilin dan Methisilin Terhadap Bakteri MRSA.....	61
Gambar 5.5	Hasil Uji Dilusi Tabung Ekstrak Biji Seledri Terhadap MRSA.....	62
Gambar 5.6	<i>Streaking MRSA</i> pada medium NAP.....	64
Gambar 5.7	Grafik Rerata Jumlah Koloni MRSA setelah Perlakuan dengan Ekstrak Biji Seledri.....	66
Gambar 5.8	Grafik Persamaan Linier Uji Regresi Setelah di Transformasi Jumlah Koloni MRSA terhadap Konsentrasi Ekstrak Biji Seledri adalah $y = 6,634 - 0,719x$	70

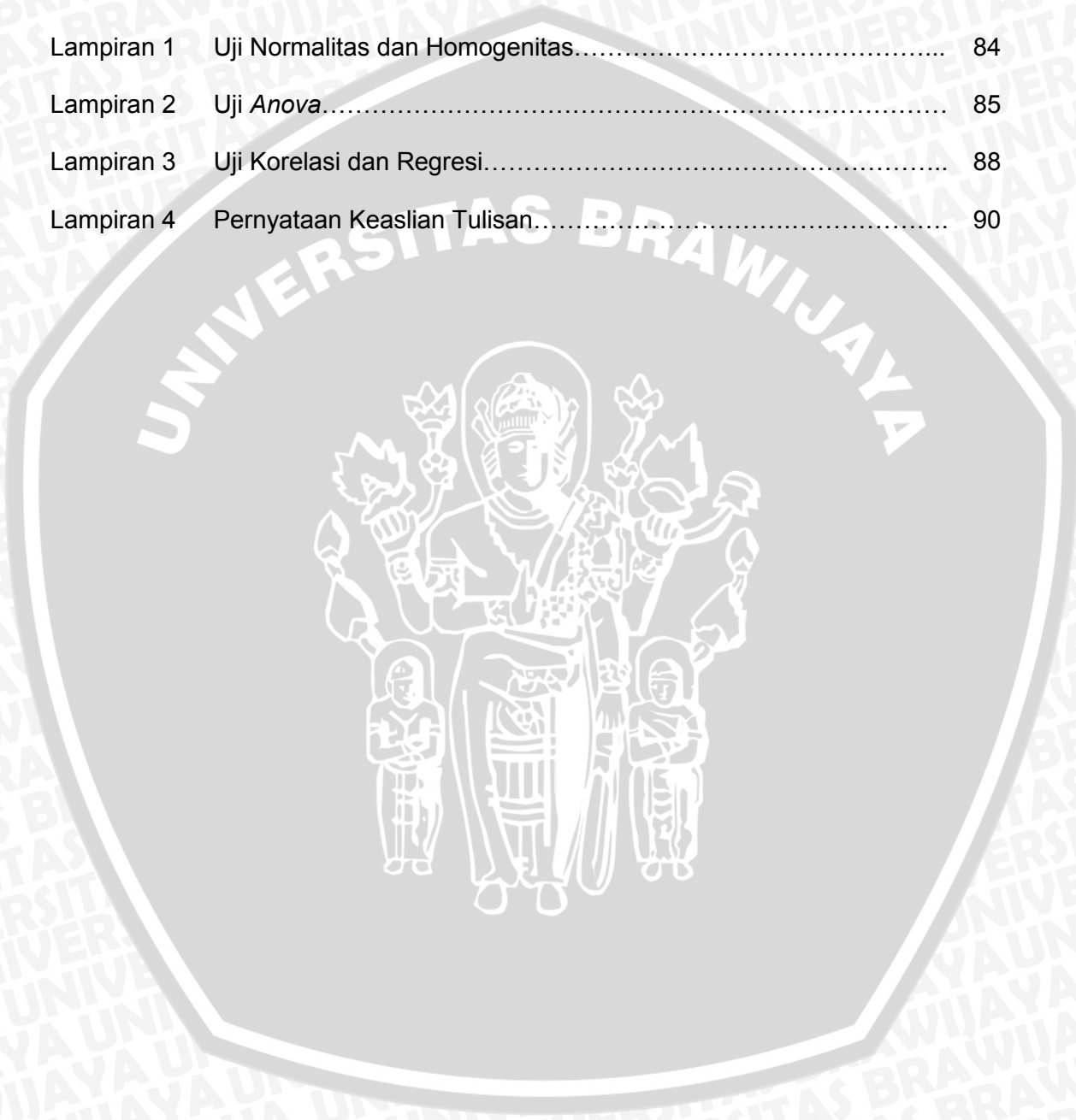
DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Hasil Penghitungan Koloni Bakteri MRSA yang Tumbuh Pada Medium NAP per ose (10 µl).....	65
Tabel 5.2	Tabel Tukey HSD.....	68



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Uji Normalitas dan Homogenitas.....	84
Lampiran 2	Uji Anova.....	85
Lampiran 3	Uji Korelasi dan Regresi.....	88
Lampiran 4	Pernyataan Keaslian Tulisan.....	90



DAFTAR SINGKATAN

BAP	= Blood Agar Plate
CA-MRSA	= Community associated – MRSA
EMRSA	= Epidemic MRSA
HA-MRSA	= Healthcare associated – MRSA
HPLC	= <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
KBM	= Kadar Bunuh Minimum
KHM	= Kadar Hambat Minimum
KK	= Kontrol Kuman
MBC	= Minimum Bactericide Concentration
MIC	= Minimum Inhibitory Concentration
MRSA	= <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
MSA	= Manitol Salt Agar
NA	= Nutrient Agar
NAP	= Nutrient Agar Plate
OD	= Optical Density
OI	= Original Inoculum
PBP	= Penicillin-Binding Protein
SCCmec	= Staphylococcal Cassette Chromosome mec
SD	= Standard Deviasi
Sig	= Significant
TSST-1	= Toksin Sindroma Syok Toksik

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh invasi dan proliferasi dari mikroorganisme dalam tubuh inang sehingga dapat menyebabkan efek petogenesis kepada manusia. Infeksi ini pada dasarnya disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan prion. Di Indonesia, penyakit infeksi masih sering terjadi dengan tingkat mortalitas dan morbiditas yang tinggi. Menurut data Yanmedik dari dinas kesehatan Jakarta Pusat tahun 2006, sepuluh penyakit terbanyak pada masyarakat Jakarta Pusat yaitu penyakit infeksi. Pada urutan pertama terdapat infeksi saluran nafas bagian atas sebesar 7,05% atau sekitar 1.117.179 orang sedangkan di urutan ke empat merupakan penyakit infeksi oleh parasit tertentu dengan jumlah sekitar 2,82% atau 446. 897 orang. Diare yang disebabkan oleh infeksi berjumlah 2,34% atau 370.479 orang disusul dengan angka kejadian tuberculosis dengan jumlah 369.071 atau 2,33%. Suatu penelitian yang dilakukan oleh Gitawati dkk pada tahun 2007, menunjukkan bahwa sepuluh dari kuman yang telah diisolasi dari swab tenggorok pada pasien infeksi saluran nafas akut bagian atas memperlihatkan data bahwa salah satu dari kuman tersebut adalah *Staphylococcus aureus* (Kayser *et al*, 2005; Gitawati dkk, 2007; Bahar, 2009).

Antibiotik sebagai agen pembunuh bakteri penyebab infeksi cukup efektif mengurangi angka kematian akibat infeksi pada awalnya. Namun penggunaan

antibiotik penicillin secara berlebihan dan irrasional menyebabkan berkembangnya galur bakteri yang kebal terhadap antibiotik tipe penicillin. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan galur dari bakteri *S. aureus* yang resisten terhadap *penicillin G* dan *methicillin* (CDC, 2008).

MRSA ditemukan pada sebagian besar isolat *S. aureus* yang diambil dari masyarakat dan dari pasien yang sedang dirawat di rumah sakit. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap terapi *beta-lactam antibiotics*, termasuk *methicillin*, *dicloxacillin*, *nafcillin*, dan *oxacillin*. MRSA merupakan masalah utama pada infeksi nosokomial. Di rumah sakit pasien dengan luka terbuka, perlakuan invasif, dan sistem imun yang lemah memiliki resiko lebih tinggi untuk terkena infeksi daripada masyarakat umum (Depkes RI, 2005).

Walaupun pada awalnya MRSA diketahui sebagai agen penyebab penyakit infeksi yang didapat hanya pada pasien di rumah sakit, namun sekarang telah menyebar ke kesehatan populasi masyarakat umum. Di beberapa regio negara, MRSA merupakan penyebab tersering dari penyakit infeksi pada kulit atau jaringan lunak. Jenis infeksi yang disebabkan oleh bakteri MRSA disebut *community-acquired* atau *community-associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (CA-MRSA), dimana dapat dibawa oleh orang dewasa atau anak-anak yang sehat yang tidak memiliki keluhan apapun. Pembawa bakteri tersebut dapat terkena infeksi kulit atau jaringan lunak CA-MRSA, sedangkan yang bukan pembawa dapat terkena infeksi karena terpapar dengan orang lain yang sudah terinfeksi. MRSA menyebar secara langsung melalui kontak kulit ke kulit, saling berbagi barang milik pribadi

seperti handuk, pisau cukur, dan pakaian, dan jika menyentuh bagian permukaan kulit yang terkontaminasi dengan MRSA (CDC, 2008).

Resistensi *S. aureus* terhadap methicillin membuat biaya pengobatan semakin mahal. Biaya pengobatan untuk kasus MRSA sekitar 6-10% lebih mahal daripada penanganan kasus *Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA). Dengan meningkatnya angka infeksi MRSA serta mahalnya biaya pengobatan infeksi MRSA maka perlu dikembangkan pengobatan obat yang relatif lebih efektif dan murah, sehingga dapat dijangkau oleh seluruh lapisan masyarakat sebagai alternatif pengobatan MRSA (Wise, 2003).

Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati, dan berpotensi besar dalam pengembangan obat-obatan herbal. Seledri merupakan salah satu obat tradisional Indonesia yang telah banyak digunakan oleh masyarakat. Bagian tanaman seledri yang dapat digunakan sebagai obat adalah daun, akar, buah, dan biji. Seledri mempunyai komponen gizi yang cukup baik, jumlah vitamin K dan vitamin C termasuk dalam kategori sangat baik. Kandungan Kalium, Folat, Serat, vitamin B6, Mangan-nya berkategori baik. Seledri juga cukup mengandung sumber kalsium, vitamin B1, Magnesium, Vitamin A, Triptofan, zat besi dan vitamin B12 (Aditiaseptiani, 2010). Selain itu terdapat kandungan bahan-bahan aktif pada biji seledri yang memiliki daya antimikroba, yaitu terpenoid, saponin, tannin, dan flavonoid, yang diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Bahan-bahan aktif tersebut dapat merusak integritas dinding sel sehingga dapat menghambat atau membunuh bakteri (PDPERSI, 2005; MDidea, 2010).

Berdasarkan apa yang telah diuraikan di atas, serta mengingat ketersediaannya dan harga bahan biji seledri yang relatif murah dan mudah didapatkan di Indonesia, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak biji seledri terhadap bakteri MRSA.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* dalam studi *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) dengan pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* secara *in vitro*.

1.3.2.2 Mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya dan mendukung perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang kedokteran, terutama yang berhubungan dengan antimikroba herbal.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

- Memperkaya pengetahuan tentang khasiat biji seledri sebagai obat dan memasyarakatkannya.
- Mengembangkan obat antimikroba alternatif alami, murah, dan mudah sebagai pengobatan infeksi MRSA.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Seledri

2.1.1 Taksonomi Tanaman Seledri

Dalam taksonomi tumbuhan, seledri diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi	: Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae (biji berkeping dua)
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Apiales
Famili	: Umbelliferae (Apiaceae)
Genus	: <i>Apium L.</i>
Spesies	: <i>Apium graveolens L.</i> (USDA, 2010)

Tanaman seledri (*Apium graveolens L.*) merupakan Ordo Umbelliferales. Ordo ini pada umumnya tumbuhan basah (herba), jarang yang berkayu dengan daun tunggal atau majemuk, umumnya tanpa stipula. Sering terdapat saluran minyak atau harsa. Ciri khas ordo ini yaitu karangan bunga berbentuk *umbella* atau *umbella composita*. Bunga *actinomorphus*, bisexualis, tetra atau pentamer (Ismawati, 2003)

Familia Umbelliferae mempunyai ciri sebagai berikut, yaitu tumbuhan basah yang aromatis umumnya berbatang berongga dengan internodus yang kosong dan nodus yang padat, terdapat saluran minyak dalam batang, akar dan pericapium (Ismawati, 2003).

2.1.2 Morfologi Tanaman Seledri

Secara morfologi, tanaman seledri terdiri dari beberapa organ penting, yaitu sebagai berikut:

- Batang

Batang tanaman seledri termasuk batang yang tidak berkayu, beralur, beruas, dan tidak berambut. Batang tanaman bercabang banyak, tumbuh tegak, tinggi sekitar 50 cm dengan bau aromatik yang khas dan berwarna hijau pucat (PDPERSI, 2005) (Gambar 2.1).

- Daun

Daun seledri umumnya tipis dan termasuk daun majemuk menyirip ganjil dengan anak daun 3-7 helai. Anak daun bertangkai yang panjangnya 1-2,7 cm, helaian daun tipis dan rapuh, pangkal dan ujung runcing (*acutus*), tepi beringgit (*crenatus*), panjang 2-7,5 cm, lebar 2-5 cm, pertulangan menyirip, berwarna hijau keputih-putihan (PDPERSI, 2005) (Gambar 2.1).

- Bunga : Bunga majemuk berbentuk payung, 8-12 buah, kecil-kecil, berwarna putih, mekar secara bertahap (PDPERSI, 2005).

- Buah : Buahnya buah kotak, berbentuk kerucut, panjang 1-1,5 mm, berwarna hijau kekuningan, dan sangat aromatic (PDPERSI, 2005).

- Biji : Berisi endosperm dalam jumlah besar yang dikelilingi embrio kecil yang berlokasi di *microcapylar end* biji. Biji seledri memiliki karakteristik berwarna coklat dan sangat aromatik (MDidea, 2010) (Gambar 2.2).



Gambar 2.1 Seledri
(MDidea, 2010)



Gambar 2.2 Biji Seledri
(Laxmi Enterprises, 2010)

2.1.3 Kandungan Kimia Biji Seledri

2.1.3.1 Saponin

Saponin adalah sebuah kelompok senyawa kimia yang merupakan salah satu metabolit sekunder alami. *Saponin* merupakan sebuah glikosida yang dapat ditemukan dalam jumlah melimpah pada bermacam-macam tanaman. Secara struktural, *saponin* tersusun atas satu atau lebih pecahan *hydrophilic glycoside* berupa rantai gula yang terkombinasi dengan derivat *polycyclic aglycone* berupa *steroid* atau *triterpenoid*. Secara spesifik, *saponin* merupakan *amphipathic glycoside*, dengan *aglycone* yang lipid soluble serta rantai gula yang water soluble, yang dikelompokkan secara fenomenologis yakni melalui kemampuan *saponin* untuk menimbulkan busa saat dikocok dalam pelarut berupa air. Kemampuan saponin

untuk menimbulkan busa menyebabkan *saponin* dapat berfungsi sebagai deterjen dan *emulsifier* (Cornell University, 2008; Ozlem & Mazza, 2007).

Secara keseluruhan, *saponin* merupakan gabungan dari *sapogenin* atau bagian dari *aglycone* yang dapat berupa *choline steroid* atau *triterpenoid* yang menempel melalui atom C3 dan sebuah ikatan *ether* pada sisi rantai glukosa. Bagian *choline steroid* disebut juga *saraponins*. *Saponin* berasa pahit namun apabila *aglycone* berupa *triterpenoid*, *saponin* memiliki rasa *licorice* karena asam glukoronat menggantikan glukosa (Cornell University, 2008).

Saponin steroid terutama ditemukan pada tumbuhan *monocotyledons* (seperti *Agavaceae*, *Dioscoreaceae*, dan *Liliaceae*), sedangkan *saponin triterpenoid* terutama ditemukan pada *dycotyledons* (*Leguminosae*, *Araliaceae*, *Caryophyllaceae*). *Saponin* dapat diekstrak dengan menggunakan air, alkohol rendah (*methanol* dan *ethanol*), serta campuran air dan alkohol (Ozlem & Mazza, 2007).

Efek biologis yang dihasilkan oleh saponin antara lain adalah peranannya pada membran sel. Saponin memiliki kemampuan khusus pada membrane sel yaitu mampu membentuk lubang pada membrane tersebut. Selain itu saponin juga diketahui mampu melisiskan membran sel eritrosit. Hal ini terkait dengan afinitasnya dari *aglycone moiety* pada membrane sterol, dan kolesterol (Francis *et al*, 2002).

Saponin memiliki aktifitas luas sebagai agen antifungi, penurun kolesterol tubuh, dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Saponin dapat bekerja menghambat DNA polimerase sehingga sintesa asam nukleat terganggu. Bahan aktif ini juga dapat menghambat sintesis protein melalui penghambatan translasi dan

transkripsi. Saponin juga terbukti mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktivitas enzimatis membran sel dan transport ion yang melewati membran sel. Ketika berikatan dengan kolesterol, saponin mengubah lingkungan lipid protein membran, termasuk kanal ion, transporter, dan reseptor. Oleh karena itu, saponin juga diduga menghambat respon biokimiawi sekunder pada sel (Francis *et al*, 2002; Davidson, 2005; Cornell University, 2008).

2.1.3.2 Flavonoid

Flavonoid diketahui disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba sehingga tidak mengherankan kalau mereka efektif secara *in vitro* terhadap sejumlah mikroorganisme. Aktivitas flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat tajam, sebagian besar merupakan pigmen warna kuning, larut air dan pelarut organik, mudah terurai pada temperatur tinggi (Melderer, 2002).

Senyawa Flavonoid memiliki struktur kimia berupa 15 atom karbon yang tersusun dalam 3 cincin. Senyawa flavonoid sangat diperlukan bagi kesehatan manusia, terutama manfaatnya sebagai antioksidan. Karena bermanfaat sebagai antioksidan, maka flavonoid dapat memperlambat maupun mencegah timbulnya penyakit, seperti kanker yang diinduksi oleh radikal bebas. Bagaimanapun efek dan potensi antioksidan dari flavonoid bagi kesehatan manusia tergantung dari tipe flavonoid baik dari kandungan kimia, fisika maupun dari strukturnya. Selain itu,

flavonoid juga memiliki efek sebagai anti-bakteri, anti-virus, anti-tumor, anti-alergi, anti-inflamasi, dan vasodilator (Verena *et al.*, 2006; Sellappan & Akoh, 2002).

Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavon, flavonoid, dan falavonol, ketiganya diketahui disintesis oleh tanaman dalam responnya terhadap infeksi mikroba. Senyawa flavonoid mempunyai kerja menghambat enzim topoisomerase II pada bakteri serta berikatan dengan protein bakteri. DNA gyrase termasuk salah satu dari enzim kelas topoisomerase II. DNA gyrase memilin untaian dari DNA, dengan menguraikan untaian DNA. Flavonoid dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga terjadi denaturasi protein. Semakin lipofilik suatu flavonoid, kemampuannya dalam merusak dinding sel bakteri semakin kuat. Zat flavonoid dari tanaman dapat dimurnikan dengan menggunakan ekstrak alkohol (Cowan, 1999; Melderer, 2002).

2.1.3.3 Tannin

Tannin adalah suatu nama deskriptif umum untuk satu grup substansi fenolik polimer yang mampu menyamak kulit atau mempresipitasi gelatin dari cairan, suatu sifat yang dikenal sebagai astringensi. Tannin ditemukan hampir di setiap bagian dari tanaman; kulit kayu, daun, buah, dan akar. Tannin dibagi ke dalam dua grup, tannin yang dapat dihidrolisis dan tannin kondensasi. Tannin mungkin dibentuk dengan kondensasi derivatif flavan yang ditransportasikan ke jaringan kayu dari tanaman (Naim, 2004).

Tannin merupakan salah satu senyawa kimiawi yang termasuk dalam golongan polifenol yang diduga dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki oleh bakteri yaitu adhesin dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan reseptor pada permukaan sel bakteri. Tannin telah dibuktikan dapat membentuk kompleks senyawa yang irreversibel dengan prolin, suatu protein lengkap, yang mana ikatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel (Agnol *et.al.*,2003).

Beberapa laporan penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa secara potensial terdapat hubungan yang signifikan antara sistem biologi/organisme seperti virus, bakteri, dan molluska dengan beberapa enzim penghambat, antioksidan, dan zat anti radikal bebas. Adapun kecenderungan beberapa senyawa tersebut untuk bercampur dengan sistem biologi yang ada, paling tidak salah satu sistem biologi, karena adanya kemampuan khusus dari senyawa-senyawa tersebut untuk membentuk ikatan kompleks dengan makromolekul tertentu, yang mana makromolekul tadi berkombinasi dengan suatu senyawa polifenol yang berasal dari alam. Polifenol yang terdiri atas tannin, flavonoid dan asam fenolat merupakan komponen yang paling menonjol dalam kaitannya dengan aktivitas antimikroba. Beberapa literatur menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri pada beberapa tanaman obat juga diperankan oleh tannin (Agnol *et.al.*,2003).

2.1.3.4 Terpenoid

Senyawa terpenoid merupakan senyawa yang dibangun oleh satuan C_5 isoprena, digolongkan atas monoterpenoid, siskiterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, tetraterpenoid dan politerpenoid serta terpenoid asiklik. Monoterpenoid merupakan senyawa golongan terpenoid yang terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi dan alga. Senyawa ini biasanya dipakai sebagai pheromone dan salah satu komponen minyak atsiri. Siskiterpenoid terdapat pada tumbuhan dan klorofil berbagai bakteri biasanya digunakan sebagai minyak atsiri dan antibiotik jamur. Sedangkan senyawa diterpenoid mempunyai unsure paling penting berupa isoprenoid asiklik fitol yang terdapat pada berbagai gliserida eter lipid bakterial sebagai dihidrofitol (fitanol). Senyawa ini merupakan komponen yang umum pada tumbuhan tingkat tinggi. Triterpenoid yang diturunkan dari isoprenoid asiklik skualen ($C_{30}H_{50}$) merupakan komponen utuh dari minyak ikan, minyak sayur, dan jamur (Burhan, 2003).

Terpenoid diyakini mempunyai aktifitas anti bakteri karena kemampuannya untuk berikatan dengan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel bakteri dan dapat menimbulkan lisis pada sel. Membran sel yang tersusun atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa dan ion) melalui membran sel sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya (Wulandari dkk, 2006).

2.1.4 Kegunaan Tanaman Seledri

Seledri dan bahan ikutannya (misalnya daun dan biji) memiliki bermacam-macam manfaat, antara lain sebagai bahan makanan dan bahan obat-obatan.

a. Bahan makanan

Seledri merupakan salah satu jenis tanaman sayuran yang dapat digunakan sebagai bumbu masakan penyedap. Daun seledri biasa dipakai untuk memperkaya cita rasa sajian atau kaldu (live and feel, diakses pada Desember 2010).

b. Bahan obat-obatan

Seledri juga memiliki kegunaan sebagai bahan obat-obatan untuk mengobati beberapa jenis penyakit, karena mengandung zat-zat yang berkhasiat untuk melawan beberapa penyakit antara lain sebagai berikut :

- Vitamin C dikenal sebagai salah satu antioxidant. Seledri kaya akan vitamin C, yang memiliki kemampuan untuk memproteksi diri dari berbagai macam tipe cancer, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan membuat tubuh lebih resistan terhadap penyakit-penyakit yang menyerang (live and feel, diakses pada Desember 2010).
- Flavonoid juga memiliki kandungan antioxidant, yang memiliki kemampuan untuk melawan cancer, arteriosclerosis, dan thrombosis (target woman, diakses pada Desember 2010).
- Seledri memiliki kandungan rendah karbohidrat yang bisa digunakan sebagai bahan makanan pada orang penderita diabetes (target woman, diakses pada Desember 2010).

- Kandungan sodium dan potassium pada seledri membantu pada aktivitas diuretic, dengan meregulasi keseimbangan cairan di dalam tubuh (organicfacts, 2009).
- Seledri dikenal dapat membantu menurunkan tekanan darah. Hal ini tak lepas dari peran *phthalide* serta kalium dalam celery. *Phthalide* yang menyumbangkan aroma dan rasa yang khas pada celery dapat merelaksakan dinding pembuluh darah. Hasilnya, pembuluh darah akan melebar sehingga darah pun dapat mengalir dengan lebih lancar. Kalium pun berperan dalam menurunkan tekanan darah dengan cara menjaga keseimbangan elektrolit dalam tubuh (Murray, 2005).

2.2 *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Taksonomi

S. aureus merupakan salah satu bakteri yang termasuk flora normal yang ditemukan paling banyak pada kulit. Dalam sebuah buku yang bertajuk *Clinical Microbiology*, *S. aureus* digolongkan dalam suatu taksonomi, yaitu:

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Micrococcaceae

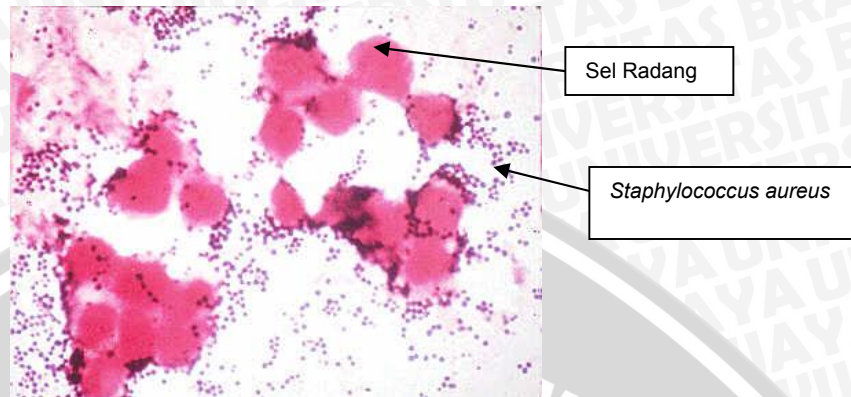
Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al*, 2001)

2.2.2 Morfologi dan Identifikasi

S. aureus berbentuk bulat dengan diameter 0,4-1,2 μm (rata-rata 0,8 μm) dan merupakan bakteri Gram positif. Susunan bakteri sendiri-sendiri, berpasangan dan irregular seperti anggur, tetrad atau bentuk rantai pada biakan cair (Brooks *et.al*, 2008; Tolan, 2008). (Gambar 2.3)

Bakteri tersebut tidak bergerak, tidak membentuk spora, dan menghasilkan katalase. Dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan dan asam teikhoat yang melindungi bakteri dari lisis oleh karena kondisi osmotik yang tidak mendukung dan dapat membantu perlekatan dengan reseptor sel mukosa pada host. Bakteri resisten pada kadar garam yang tinggi (7-9% NaCl). Bentuk koloninya luas (diameter 6-8 mm), halus, mengkilat, konveks dengan tepi rata, dan konsistensinya lunak. Koloninya berpigmen dan berwarna kuning emas pada medium NAP terutama pada suhu (20-25°C). *S. aureus* relative resisten terhadap pengeringan, panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit) tetapi mudah dihambat oleh bahan kimia tertentu seperti heksaklorofen (Dzen dkk, 2003; Brooks *et.al*, 2008; Tolan, 2008).



Gambar 2.3 *Staphylococcus aureus* Pewarnaan Gram (Todar, 2008)

2.2.3 Epidemiologi

Sebagian besar koloni hidup pada *nares anteriores*, juga biasa ditemukan pada daerah hidung yang lain, kulit, atau bagian tubuh lain. Bakteri ini juga terdapat pada berbagai jenis makanan. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *S. aureus* dalam hidupnya. Beratnya bervariasi, mulai dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang mengancam jiwa (Jawetz, 2002).

Autoinfeksi terjadi pada 1/3 dari kejadian infeksi. Orang yang mempunyai lesi berair atau yang mengeluarkan *discharge* purulen merupakan sumber penularan yang paling sering menyebabkan wabah. Penularan melalui kontak dengan orang yang mempunyai lesi purulen atau orang tanpa gejala (*nasal carrier* dari strain yang patogenik). *Carrier* lebih efektif menyebarkan infeksi dari pada yang lain. Tangan adalah instrumen yang paling penting dalam penyebaran infeksi. Penularan lewat udara sangat jarang terjadi tetapi pernah ditemukan pada bayi dengan infeksi virus pada saluran pernafasan (Depkes RI, 2005).

Penyakit akibat infeksi bakteri ini tersebar di seluruh dunia. Insiden tertinggi ditemukan di daerah yang kebersihan perorangnya jelek (mandi tidak menggunakan sabun dan air bersih) dan di daerah dengan penduduk yang padat biasanya menyerang anak-anak, khususnya pada musim kemarau. Penyakit tersebar secara sporadis dan dapat menyebabkan wabah kecil di lingkungan keluarga. Anggota keluarga yang berbeda akan terkena penyakit berulang dengan strain *Staphylococcus* yang sama (Depkes RI, 2005).

2.2.4 Struktur Antigen

S. aureus mengandung polisakarida antigenik dan protein serta substansi penting lainnya di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan, polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang terangkai, merupakan eksoskelet yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan memicu produksi interleukin-1 (pirogen endogen) dan antibody opsonik oleh monosit (Brooks *et.al*, 2008).

Asam teikhoat, yang merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat, berhubungan dengan peptidoglikan dan dapat menjadi antigenik (Brooks *et.al*, 2008). Penentu serologis dari polisakarida ini adalah N-acetylglucosamine. Pada dinding sel, asam teikhoat berkaitan dengan peptidoglikan pada bagian yang tidak larut dan membutuhkan enzim pelisis untuk melepaskannya (Brooks *et.al*, 2008).

Protein A adalah komponen dinding sel pada banyak strain *S. aureus* yang berikatan dengan bagian Fc dari molekul IgG kecuali IgG3. Bagian Fab dari IgG yang terikat dengan protein A bebas berikatan dengan antigen spesifik. Protein A ini mempunyai berat molekul sekitar 13.000 Da berikatan dengan peptidoglikan secara

kovalen. Protein A ini dikeluarkan ke dalam medium selama pertumbuhan sel. Protein A ini memicu terjadinya berbagai efek biologis. Protein ini bersifat kemotaksis, antikomplementer, antifagosit, dan memicu reaksi hipersensitifitas dan pelukaan platelet (Dzen dkk, 2003; Brooks *et.al*, 2008).

Beberapa strain *S. aureus* memiliki kapsul, yang menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear kecuali terdapat antibiotik spesifik. Sebagian besar strain *S. aureus* mempunyai koagulase pada permukaan dinding sel (Brooks *et.al*, 2008).

2.2.5 Toksin dan Enzim

S. aureus dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Beberapa zat ini adalah enzim, sedangkan yang lain diduga toksin, meskipun berfungsi sebagai enzim. Kebanyakan toksin berada dibawah pengendalian genetik plasmid, beberapa dibawah pengendalian kromosom dan ekstrakromosom (Jawetz, 2002).

- Katalase

Katalase dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Tes katalase membedakan *Staphylococcus* yang memberi hasil positif dan *Streptococcus* yang memberikan hasil negatif (Jawetz, 2002).

- Koagulase

S. aureus menghasilkan koagulase, suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang telah diberi oksalat atau sitrat dengan bantuan

suatu faktor yang terdapat dalam banyak serum. Faktor serum bereaksi dengan koagulasi untuk menghasilkan estrase dan menyebabkan aktifitas pembekuan, dengan cara yang mirip dengan pengaktifan protrombin menjadi trombin. Daya kerja koagulasi tidak memakai jalur rangkaian reaksi untuk penggumpalan plasma dalam keadaan normal. Koagulasi dapat mengendapkan fibrin pada permukaan *Staphylococcus*, mungkin mengubah pola pemakanan bakteri oleh sel-sel fagosit atau perusakannya dalam sel ini. Bakteri yang membentuk koagulasi dianggap mempunyai potensi menjadi patogen invasif (Jawetz, 2002)

- Enzim lain

Enzim lain yang dihasilkan oleh *Staphylococcus* adalah hialuronidase, stafilokinase yang menyebabkan fibrinolisis, proteinase, lipase, dan b-laktamase (Jawetz, 2002).

- Eksotoksin

Toksin ini meliputi beberapa toksin yang mematikan jika disuntikkan pada hewan, menyebabkan nekrosis pada kulit, dan mengandung hemolisin yang dapat larut. Toksin alfa hemolisin adalah protein heterogen yang dapat melisis eritrosit, merusak trombosit, dan mungkin identik dengan faktor letal dan faktor derminekrotik eksotoksin. Toksin alfa juga mempunyai daya kerja kuat pada otot polos pembuluh darah. Toksin beta merusak spengiomelin dan bersifat racun untuk berbagai jenis sel, termasuk sel darah merah manusia (Jawetz, 2002).

- Leukosidin

Toksin *S. aureus* ini dapat mematikan sel darah putih. Peranannya dalam patogenitas tidak jelas karena *S. aureus* patogen tidak dapat mematikan sel darah putih dan dapat difagositosis seefektif jenis yang tidak patogen. Namun bakteri

tersebut mampu berbiak dengan sangat aktif di dalam sel. Sedangkan organisme nonpatogen cenderung mati bila berada dalam sel. Antibodi terhadap leukosidin mungkin berperan dalam resistensi terhadap infeksi *Staphylococcus* berulang (Jawetz, 2002).

- Toksin eksfoliatif

Toksin *S. aureus* ini meliputi sekurang-kurangnya dua protein yang mengakibatkan deskuamasi menyeluruh pada sindrom lepuh kulit *Staphylococcus*. Antibodi spesifik dapat melindungi terhadap kerja toksin eksfoliatif ini (Jawetz, 2002).

- Toksin sindrom syok toksik

Kebanyakam strain *S. aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik memproduksi Toksin Sindroma Syok Toksik-1 (TSST-1), yang sama dengan enterotoksin F dan eksotoksin pirogenik C. Toksin ini menyebabkan demam, syok, dan keterlibatan multisistem, termasuk ruam kulit deskuamatif (Jawetz, 2002).

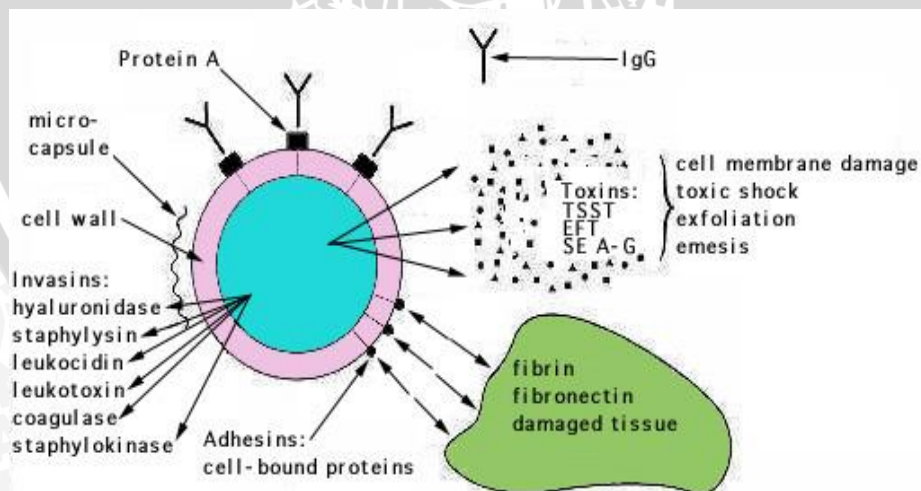
- Enterotoksin

Beberapa enterotoksin bersifat tahan panas (tahan pendidihan selama 30 menit) dan tahan terhadap daya kerja enzim-enzim usus. *Staphylococcus* merupakan penyebab penting dari keracunan makanan. Enterotoksin dihasilkan oleh *S. aureus* ketika bakteri ini tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein. Gen untuk pembentukan enterotoksin mungkin terletak pada kromosom, tapi suatu plasmid mungkin membawa protein yang mengatur pengaktifan produksi toksin. Efek yang ditimbulkan dari toksin ini adalah muntah-muntah dan diare. Efek muntah ini mungkin akibat perangsangan sistem syaraf

pusat, tepatnya pada pusat muntah setelah toksin bekerja pada reseptor-resptor syaraf dalam usus. Enterotoksin dapat diukur dengan tes presipitin (Jawetz, 2002).

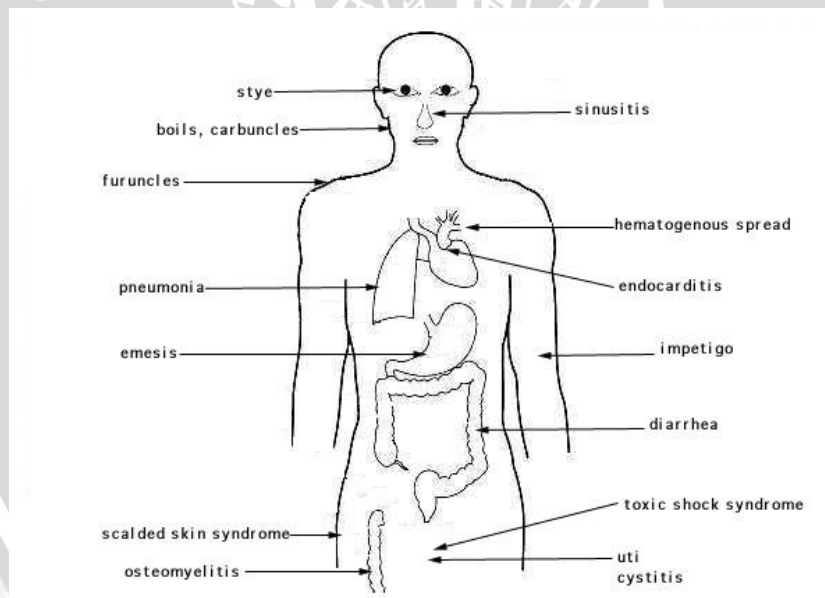
2.2.6 Patogenitas

S. aureus mengekspresikan berbagai factor virulensi: (1) protein permukaan yang mengawali kolonisasi pada jaringan hospes; (2) invasi yang mengawali penyebaran bakteri di jaringan (leukosidin, kinase, hyaluronidase); (3) faktor permukaan yang menghambat fagositosis (kapsul, protein A); (4) piranti biokimia yang mencegah fagositosis (karotenoid, dan katalase); (5) toksin yang merusak membran yang melisiskan membran sel eukariot (hemolysin, leukotoksin, leukosidin); (6) eksotoksin yang menghancurkan jaringan atau menyebabkan munculnya *symptom* penyakit; (7) adanya kemampuan resistensi terhadap antimikroba (Todar, 2008). (Gambar 2.3)



Gambar 2.4 Mekanisme Penentu Patogenisitas *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008)

Infeksi *Staphylococcus* pada manusia biasanya terlokalisasi pada *portal of entry*, karena adanya mekanisme pertahanan tubuh. Respon lokal infeksi *Staphylococcus* adalah inflamasi, yang ditandai peningkatan suhu pada lokasi infeksi, pembengkakan, akumulasi pus, dan jaringan nekrosis. Infeksi yang serius pada kulit dapat menyebabkan furunkel atau impetigo. Lokalisasi infeksi pada tulang disebut osteomyelitis. Dampak yang lebih serius terjadi apabila bakteri menginvasi aliran darah. Hal ini dapat menyebabkan septikemi yang berakibat fatal dalam waktu singkat atau dapat menyebabkan bakteriemia yang menyebabkan abses internal, infeksi paru, ginjal, jantung, dan meningen (Todar, 2008). (Gambar 2.5)



Gambar 2.5 Lokasi infeksi *Staphylococcus aureus* pada manusia (Todar, 2008)

2.2.7. Gambaran Klinik

S. aureus dapat menyebabkan penyakit pada hampir semua jaringan tubuh. Infeksi yang utama adalah terjadinya abses, dimana bagian inti di tengahnya

nekrotis dan berisi leukosit polimorfonuklear. Nanah dan bakteri dikelilingi oleh dinding fibroblastik avaskuler yang terdiri dari fibrin. Biasanya infeksi yang ditimbulkan adalah lokal dan menular, tapi tidak menutup kemungkinan terjadi penyebaran. Infeksi lokal yang menular dapat terjadi pada kulit, seperti folikulitis, furunkel yang meluas hingga daerah subkutis, karbunkel yang menyerang jaringan tubuh lebih dalam yang cenderung multipel terutama di daerah leher dan punggung atas, atau impetigo yang meliputi pustula berkeropeng pada lapisan superfisial kulit. Pada mata dapat terjadi bintikan dan konjungtivitis. Pada paru-paru menyebabkan pneumonia, menyebabkan infeksi pada luka trauma atau pembedahan (Johnson, 2007).

Infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* pada dasarnya tidak hanya terjadi pada jalan masuk bakteri namun juga dapat terjadi penyebaran infeksi melalui jalur hematogen dan lymphogen (Levinson, 2004).

Infeksi oleh *S. aureus* yang menyebar dapat dibagi menjadi dua, melalui aliran darah atau getah bening, dan infeksi yang berkaitan dengan toksin. Contoh infeksi yang menyebar adalah osteomielitis, poliartritis, dan endokarditis. Infeksi yang berkaitan dengan toksin antara lain sindrom luka lepuh akibat toksin eksfoliatif yang memisahkan kulit pada stratum granulosum, menyebabkan terkelupasnya kulit. Selain itu, sindrom rejatan toksis akibat toksin pirogenik ditandai dengan demam tinggi dan disertai muntah, diare, kolaps sirkulasi perifer, rejatan hipotensif dan pengelupasan kulit (Johnson, 2007).

S. aureus dapat menyebabkan keracunan makanan akibat enterotoksin yang terdapat pada makanan. Gejalanya ditandai dengan muntah akut dan kejang ringan

tanpa demam, terjadi 2-4 jam setelah makanan tercemar. Selain itu, *S.aureus* juga bisa menyebabkan enterokolitis, yang ditandai dengan kejang, diare, demam, dan dehidrasi (Johnson, 2007).

Masa inkubasi dari infeksi ini bervariasi dan tidak pasti biasanya antara 4-10 hari. Masa penularan berlangsung selama masih ada lesi yang purulen tetap mengeluarkan pus atau selama tetap sebagai carrier. Auto infeksi tetap berlangsung selama kolonisasi bakteri di hidung tetap berlangsung atau selama lesinya masih aktif (Depkes RI, 2005).

2.2.8 Diagnosis Laboratorium

Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri antara lain zat makanan, konsentrasi ion hidrogen (pH), suhu, dan penganginan. Untuk membiakkan *S. aureus* diperlukan suhu optimal antara 28-38 derajat celcius. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal yang diperlukan adalah 37 derajat celcius. pH optimal untuk pertumbuhan bakteri ini adalah 7,4. Medium yang pada umumnya digunakan untuk pembiakan *S. aureus* antara lain *Nutrient Agar Plate* (NAP), medium selektif *Manitol Salt Agar* (MSA), dan *Blood Agar Plate* (BAP). Kemudian dari koloni yang tumbuh dilakukan pewarnaan Gram. Selain itu juga bisa dilakukan tes biokimia untuk keperluan identifikasi dan tes patogenitas (Dzen dkk, 2003).

NAP penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen yang berwarna kuning keemasan. Koloni yang tumbuh pada medium ini berbentuk bulat, dengan diameter sekitar 1-2 mm, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat

dengan konsistensi lunak. Pada BAP, yang merupakan medium yang dipakai rutin, koloni tampak lebih besar dan terkadang dapat memberikan zona hemolisa yang jernih (Dzen dkk, 2003; Jawetz, *et al.*, 2001).

Pada umumnya untuk membiakkan *S. aureus*, perlu medium yang mengandung asam amino dan vitamin. Untuk isolasi primer dari infeksi campuran, terutama yang berasal dari tinja atau luka, perlu medium yang mengandung garam NaCl konsentrasi tinggi misalnya 7,5% atau medium yang mengandung polimiksin. Pembentukan pigmen paling baik apabila dieramkan pada medium NAP pada suhu kamar (20 derajat celsius). Pigmen ini bersifat mudah larut dalam alkohol, benzena, dan eter; termasuk bahan yang bersifat lipokrom; tetap tinggal dalam koloni bakteri; tidak berdifusi ke dalam medium (Dzen dkk, 2003).

S. aureus menghasilkan enzim katalase sehingga mampu merubah hydrogen peroxide (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Tes katalase inilah yang memudahkan pembedaan antara *Staphylococcus* dan *Streptococcus*. Kebanyakan *S. aureus* dapat dibedakan dengan *Staphylococcus* yang lain dengan tes koagulase. *S. aureus* bersifat koagulase-positif (dapat memproduksi enzim koagulase yang menyebabkan formasi pembekuan). Sebagian besar spesies *Staphylococcus* lain merupakan koagulase-negatif. Walaupun mayoritas *S. aureus* merupakan koagulase positif, beberapa mungkin tidak memproduksi koagulase (Johnson, 2007).

Hubungan antara warna pigmen dengan patogenitas tidak selalu tetap. *S. aureus* yang menghasilkan pigmen warna emas tidak selalu memberikan hasil tes koagulase yang positif. Pada umumnya *S. aureus* adalah bakteri yang patogen.

Pigmen ini tidak terbentuk pada keadaan anaerob dan juga pada perbenihan cair (Dzen dkk, 2003).

2.2.9 Daya Tahan

S. aureus termasuk bakteri yang tahan terhadap bahan-bahan kimia. Sehingga digunakan untuk standar tes evaluasi bahan-bahan antiseptik atau antibiotik. Misalnya *S. aureus* ATCC 29213. Dalam suhu kamar, pada agar miring atau keadaan beku, bakteri dapat hidup hingga beberapa bulan, sedang dalam keadaan kering pada pus dapat hidup 14-16 minggu. Relatif tahan terhadap pemanasan 60°C selama kurang lebih 30 menit. Daya tahan terhadap bahan-bahan kimia bervariasi. Dalam fenol 2 % mati dalam waktu 15 menit. Sedangkan dalam hidrogen peroksida 3 % mati dalam waktu 3 menit dan dalam tinctura iodii mati dalam waktu 1 menit.

Beberapa galur dari *S. aureus* menghasilkan enzim penisilinase sehingga resisten terhadap golongan obat penisilin. Tetapi masih memiliki kepekaan terhadap metichillin dan oksasiklin.

2.2.10 Pencegahan dan pengobatan

Hal ideal pertama yang harus dilakukan untuk pengobatan infeksi akibat *S. aureus* adalah memeriksa kepekaannya terhadap antibiotik karena kekebalan bakteri ini telah meluas. Infeksi yang terlokalisir membutuhkan antibiotik oral selama 10 hari. Infeksi yang menyebar memerlukan antibiotik parenteral selama 4-6 minggu. Pada dasarnya, *S. aureus* peka terhadap obat-obatan yang dapat mematikan bakteri

Gram positif, tapi bakteri ini mudah sekali menjadi resisten. Antibiotik yang dapat digunakan antara lain penisilin, obat-obatan yang tahan terhadap penisilinase, dll. Pada umumnya bakteri ini sensitif terhadap vankomisin, termasuk MRSA. Pada infeksi yang timbul abses, maka nanahnya harus dikeluarkan terlebih dulu. Untuk sindrom renjatan toksis memerlukan infus cairan jika berat dan menaikkan tekanan darah. Pada kasus keracunan makanan, dapat sembuh sendiri dalam waktu 24 jam (Johnson, 2007).

Hal yang harus dilakukan untuk mencegah terjadinya infeksi oleh *S. aureus* adalah terutama dengan menjaga ke higienisan diri dan lingkungan. Cuci tangan merupakan tindakan untuk pencegahan infeksi dan penularannya di rumah sakit. Problem di rumah sakit terutama di dalam ruang operasi dan ruang perawatan. Pembawa bakteri harus dicari dan diobati terutama di daerah rumah sakit (Depkes RI, 2005).

Juga perlu diberikan penyuluhan kepada masyarakat tentang kebersihan perorangan, khususnya membudayakan kebiasaan cuci tangan dan menghindari pemakaian bersama alat-alat di toilet (handuk, sapu tangan, dll). Mengobati dengan segera penderita yang ditemukan, anak-anak maupun anggota keluarga lainnya dapat mencegah terjadinya wabah penyakit dari bakteri ini. Jika terjadinya wabah tidak terhindarkan, maka perlu untuk mencari dan menemukan penderita terutama mereka dengan lesi mengeluarkan discharge. Hendaknya para penderita ini diberikan pengobatan yang tepat. Juga perlu diterapkan prosedur kebersihan perorangan yang ketat pada institusi-institusi dan menekankan kebiasaan mencuci tangan. Kultur dilakukan pada pasien *nasal carrier* dari strain yang dapat

menimbulkan KLB dan perlu diobati dengan mupirocin topical dan jika gagal dapat diobati dengan antibiotika oral. Setelah itu hendaknya dilakukan investigasi kalau ada kejadian meningkatnya prevalensi infeksi *Staphylococcus* secara tiba-tiba di masyarakat yang cara penularannya kemungkinan “Common source”, seperti halnya KLB di rumah sakit yang tidak diketahui (Depkes RI, 2005).

2.3 Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

2.3.1 Definisi

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus adalah strain *S.aureus* yang resisten terhadap kelompok antibiotik beta laktam, termasuk penisilin, cephalosporin, methicillin, dicloxacillin, nafcillin, oxacillin dan amoxicillin (Medicine net, 2007).

2.3.2 Mekanisme Resistensi

Pada kondisi normal, antimikroba β -laktam berikatan dengan reseptor pada dinding sel bakteri yang disebut PBPs (*Penicillin Binding Proteins*), menimbulkan hambatan pembentukan dinding sel pada proses transpeptidasi. Transpeptidasi bertujuan untuk membentuk senyawa peptidoglikan. Setelah hambatan transpeptidasi, tahap berikutnya adalah aktivasi enzim autolitik di dalam dinding sel yang akan mengakibatkan sel bakteri lisis (Dzen dkk, 2003).

Resistensi *S. aureus* terhadap penicillin dimediasi oleh pembentukan penicillinase (bentuk β -lactamase), yaitu enzim yang menghancurkan cincin β -lactam dari komponen penicillin. Komponen ini dikendalikan oleh plasmid dan

membuat resisten terhadap berbagai penicillin.. Mekanisme resistensi terhadap methicillin dimediasi melalui operon *mec*, yang merupakan bagian dari *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCC*mec*). Resistensi terjadi secara kromosomal melalui gen *mec - A* yang mengkode untuk terjadinya perubahan pada *Penicillin Binding Protein 2 α* (PBP 2 α), yaitu suatu protein yang mempunyai afinitas yang rendah terhadap antibiotika β -lactams. Hal ini menyebabkan terjadinya resistensi terhadap semua jenis antibiotik β -lactam (Wise, 2003; Brooks *et.al*, 2008).

2.3.3 Gejala Klinis

MRSA dapat menyebabkan tipe infeksi yang sama sebagaimana isolat *S. aureus*. Organisme ini menyebabkan infeksi pada kulit dan jaringan lunak seperti impetigo, folikulitis, furunkulosis, selulitis, abses. Infeksi pada kulit ditandai dengan tanda-tanda peradangan seperti merah, bengkak, nyeri, hangat, terdapat pus, disertai demam. MRSA juga dapat menyebabkan infeksi yang invasif seperti pneumonia, endokarditis, arthritis septic, osteomyelitis, meningitis, dan septikemi. MRSA juga dapat menyebabkan toksik syok sindrom, yang dicirikan dengan onset tiba-tiba dari panas yang tinggi, rash, deskuamasi, hipotensi dan kegagalan organ multipel. MRSA juga dapat menyebabkan *scalded skin syndrome* pada bayi dan dewasa. MRSA juga dapat menyebabkan gastroenteritis (The Centre for Security and Public Health IOWA State University, 2006; CDC, 2008).

2.3.4 Infeksi MRSA

Menurut Smith (2008), infeksi MRSA dikelompokkan dalam dua tipe:

- Infeksi *Healthcare-associated* MRSA (HA-MRSA) terjadi pada orang yang baru saja dirawat di rumah sakit. Orang yang baru saja melakukan operasi atau sedang dirawat di rumah sakit memiliki kemungkinan terkena penyakit ini lebih besar.
- Infeksi *Community-associated* MRSA (CA-MRSA) terjadi pada orang sehat yang tidak pernah dirawat di rumah sakit. Infeksi ini terjadi karena kontak dengan bakteri.

2.3.5 Transmisi Penyakit MRSA

Kasus MRSA dapat terjadi ketika satu strain ditransmisikan kepada pasien lain atau melalui kontak dengan orang yang terinfeksi di masyarakat. Hal ini terjadi apabila pasien atau tenaga kesehatan membawa MRSA (*carrier*) dan melalui kontak, dapat menyebar dari satu orang ke orang lainnya (CDC, 2005).

Transmisi MRSA biasanya terjadi pada orang yang menderita infeksi MRSA pada kulitnya. MRSA sebagian besar disebarkan melalui kontak fisik langsung dan melalui udara. Penyebaran juga dapat terjadi melalui kontak tidak langsung melalui benda-benda yang terkontaminasi oleh luka yang terinfeksi MRSA seperti handuk, perban, pakaian, peralatan olahraga. Beberapa strain MRSA berhasil melakukan penyebaran diantara pasien dan dapat menyebar antar rumah sakit, khususnya apabila pasien yang menderita MRSA atau tenaga kesehatan yang memiliki MRSA

berpindah dari satu rumah sakit ke rumah sakit lainnya. Strain ini disebut sebagai *epidemic* MRSA (EMRSA). Di Inggris sejak tahun 1990 telah terdapat EMRSA dan khususnya untuk tipe EMRSA-15 dan EMRSA-16. Selain penyebaran di rumah sakit dapat pula terjadi penyebaran dari rumah sakit ke masyarakat (Johnson,2007; Medicine net, 2007).

2.3.6 Identifikasi MRSA

Proses identifikasi MRSA diawali dengan identifikasi *S. aureus* kemudian dilanjutkan dengan identifikasi resistensinya terhadap *methicillin*. Adapun proses identifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut (Brown et.al, 2005):

- a. Pertama kali dilakukan pengambilan spesimen
- b. Kemudian dilakukan pewarnaan Gram. Pada pewarnaan ini dapat diidentifikasi bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif.
- c. Dilakukan uji katalase dan hasilnya adalah positif. Tes katalase ini dilakukan untuk membedakan antara *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*.
- d. Dilakukan uji koagulase dengan menggunakan plasma manusia atau kelinci dan hasilnya adalah positif. Adapun uji koagulase ini meliputi tes koagulase tabung/ koagulase bebas dan tes koagulase slide/ koagulase terikat. Tes koagulase dilakukan untuk membedakan *S. aureus* dengan *Staphylococcus* jenis lainnya. Tes koagulase yang terikat ini membutuhkan plasma darah manusia. Tes ini tidak memerlukan waktu yang cukup lama. Akan tetapi 15% *S. aureus* menunjukkan hasil yang negative. Apabila hasil yang diperoleh negatif maka harus dilakukan tes koagulase tabung untuk memastikan jenisnya. Tes

koagulase tabung dilakukan dengan menggunakan plasma kelinci dan pemeriksaan dilakukan setelah inkubasi selama 4 jam dan 24 jam. Apabila hasil tes pada 4 jam negatif maka harus diulang dengan diinkubasi selama 24 jam. Apabila hasil tes positif menunjukkan bahwa bakteri itu adalah *S. aureus*.

Langkah berikutnya dilakukan uji sensitivitas terhadap *methicillin*. Tes identifikasi MRSA dapat dilakukan dengan menggunakan metode dilusi, metode Etest, metode breakpoint, metode skrining agar, metode difusi cakram, aglutinasi latex, metode otomatis, metode *Quenching fluorescence*, dan metode molekuler. Berikut adalah penjelasannya (*Brown et.al, 2005*):

- a. Metode dilusi dilakukan dengan menggunakan dilusi agar dan mikrodilusi broth. Tes yang dilakukan pada agar *Mueller Hinton* (MH) atau agar Kolumbia dengan 2%NaCl dan inokulum 10^4 CFU/mL dapat membedakan antara strain yang paling resisten dengan strain yang sensitif. Dengan menggunakan metode NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*) atau saat ini disebut CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) hanya dapat digunakan agar *Mueller Hinton* dengan 2% NaCl. Akan tetapi dengan menggunakan metode BSAC (*British Society for Antimicrobial Chemotherapy*) dapat digunakan medium lain. Keduanya membutuhkan inkubasi selama 24 jam. BSAC membutuhkan suhu 30°C , sementara NCCLS membutuhkan suhu $33-35^{\circ}\text{C}$. Pada kedua metode, KBM oksasilin yang $\leq 2\text{mg/L}$ menunjukkan bahwa strain sensitif dan $>2\text{mg/L}$ menunjukkan resisten. Pada metode BSAC KHM methicillin yang $\leq 4\text{mg/L}$ menunjukkan strain sensitif dan $> 4\text{mg/L}$ resisten.

Metode mikrodilusi broth dengan menggunakan metode NCCLS, membutuhkan broth dengan 2%NaCl, dengan inokulum 5×10^5 CFU/mL dan inkubasi pada suhu 33-35°C selama 24 jam.

b. Metode Etest

Metode Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden) memberikan hasil KHM dan dipengaruhi oleh kondisi tes pada metode lainnya dan metode difusi. Kondisinya disesuaikan dengan NCCLS dan membutuhkan MH agar dengan 2% NaCl, serta diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Dengan menggunakan sefoksitin, nilai KHMnya adalah ≥ 6 mg/L.

c. Metode Breakpoint

Metode ini terdiri dari metode dilusi agar dan dilusi broth dan sama dengan metode untuk menentukan KHM tetapi dengan menggunakan konsentrasi yang pasti yaitu 2mg/L untuk oksasilin dan 4mg/L untuk methicillin.

d. Metode skrining agar

Metode ini disarankan untuk skrining koloni yang diisolasi pada media rutin dan untuk konfirmasi dugaan resisten yang terlihat pada tes difusi cakram. Metode yang direkomendasikan NCCLS membutuhkan suspensi organisme dengan densitas 0,5 McFarland dan MH untuk inokulasi mengandung 4% NaCl dan 6 mg/L oksasilin dengan melakukan streak. Cawan diinkubasikan pada suhu 35°C atau kurang selama 24 jam dan pertumbuhan lebih dari 1 koloni mengindikasikan adanya resistensi.

e. Difusi Cakram

Tes difusi cakram akhir-akhir ini mengalami perkembangan menggunakan sefoksitin. Penggunaan sefoksitin lebih *reliable* daripada oksasilin. Tidak ada medium khusus atau temperature inkubasi yang diperlukan untuk sefoksitin (*Brown et.al, 2005*). Untuk sefoksitin 30 μ g dikatakan resisten apabila diameter zona inhibisi ≤ 21 mm dan untuk sefoksitin 10 μ g dikatakan resisten apabila diameter zona inhibisi ≤ 16 mm. Pada tes difusi cakram, produksi penisilinase yang berlebih akan menghasilkan zone inhibisi yang sempit. Untuk oksasilin dikatakan resisten apabila diameter zona inhibisi ≤ 10 mm (CDC, 2005). Akan tetapi Resistensi oleh *mecA* ini dapat dikonfirmasi dengan PCR atau metode lateks. Kadang ada hasil false positif yang disebabkan oleh penghasil penisilinase yang berlebih yang tidak menunjukkan zone inhibisi.

f. Aglutinasi Lateks

Tes aglutinasi lateks berlangsung sangat singkat (sekitar 10 menit). Tes ini didasarkan pada deteksi PBP2a. Metodenya meliputi ekstraksi PBP2a dari suspense koloni dan deteksi oleh aglutinasi dengan partikel lateks yang diselubungi antibody monoklonal terhadap PBP2a. Tes ini sangat sensitif dan spesifik untuk *S. aureus* akan tetapi tidak *reliable* untuk koloni yang tumbuh pada media yang mengandung NaCl. Metode ini sering dilakukan pada tes laboratorium rutin. Isolat yang menghasilkan sedikit PBP2 akan memberikan reaksi aglutinasi yang pelan.

g. Metode Otomatis

Sistem otomatis termasuk Vitek2 (bioMérieux), Phoenix (Becton Dickinson) dan Microscan (Dade Behring) merupakan tes kepekaan methicillin atau oksasilin dan dilaporkan *reliable* untuk *S. aureus*, akan tetapi kebanyakan hasilnya resisten palsu.

h. Metode *Quenching fluorescence*

Metode ini menggunakan inhibisi MRSA Crystal (Becton Dickinson). Inhibisi pertumbuhan isolat oleh oksasilin diindikasikan dengan tidak adanya fluorescence dari indikator fluoresen sensitif oksigen oleh sisa oksigen di dalam broth. Metode ini *reliable* akan tetapi butuh beberapa jam untuk inkubasi.

i. Metode Molekuler

Metode molekuler ini dilakukan untuk mendeteksi gen *mecA*. Metode ini dilakukan dengan menggunakan PCR (*polymerase chain reaction*) sebagai metode standard. Strain MRSA menunjukkan adanya gen *mecA*.

Resistensi terhadap methicillin dapat digantikan oleh oksasilin karena methicillin tidak lagi berlaku di Amerika Serikat dan oksasilin memiliki aktivitas yang bagus selama penyimpanan daripada methicillin dan lebih dapat mendeteksi strain heteroresisten (1 kelas dengan methicillin) (CDC, 2007).

2.3.7 Pencegahan MRSA

MRSA dapat dicegah penyebarannya dengan melalui metode-metode sabagai berikut:

- Melakukan program skrining terhadap semua yang berinteraksi di rumah sakit atau terhadap pasien yang baru masuk, dengan melakukan kultur.
- Pembersihan permukaan benda-benda yang kemungkinan terpapar dengan MRSA.
- Membiasakan mencuci tangan sebelum dan setelah melakukan kegiatan yang berkaitan dengan pemeriksaan pasien dengan menggunakan sabun atau larutan antibakteri.
- Membiasakan menggunakan sarung tangan saat kontak dengan pasien atau dengan menggunakan pakaian khusus disertai alat pelindung lainnya untuk mencegah kontak dengan pasien positif MRSA .
- Pemisahan ruangan pasien yang terinfeksi MRSA untuk mencegah terjadinya penyebaran dari pasien ke tenaga kesehatan atau dari pasien ke pasien yang tidak terinfeksi MRSA .
- Menghindari penggunaan peralatan dengan pasien MRSA .
- Menggunakan antibiotik dengan tepat dan hati-hati.
- Menjaga kebersihan diri dan lingkungan sekitar yang dimungkinkan dapat menjadi sarana penyebaran MRSA.
- Menghindari penggunaan alat-alat bersama yang diduga terinfeksi MRSA

- Membiasakan untuk membersihkan benda-benda yang dipakai bersama (seperti alat olahraga) untuk membersihkannya dahulu dengan antiseptic sebelum dipakai.
- Menjaga kebersihan kolam renang dan menghindari pemakaian bersama orang yang memiliki luka terbuka (diduga terinfeksi MRSA) (Johnson, 2007; Medicine net, 2007; Bulosan, 2008).

2.4 Antimikroba

Sumber senyawa antimikroba pada umumnya merupakan hasil sintesis dan memiliki toksisitas selektif yaitu membunuh bakteri-bakteri pathogen tanpa menimbulkan efek pada flora normal hospes. Suatu antimikroba dapat bersifat bakterisida dimana antimikroba tersebut membunuh bakteri dengan parameter kadar bunuh minimum (KBM). Istilah “*bakterisidal*” digunakan untuk obat yang menyebabkan kematian organisme (Sockett, 2006).

Suatu antimikroba disebut bakteriostatik jika dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan parameter kadar hambat minimum (KHM). Kadar hambat Minimal (KHM) adalah dilusi tertinggi (konsentrasi terendah) dari suatu antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Nilai KHM dilaporkan berdasar garis pedoman interpretasi: sensitif (S), Intermediaet (I), Resisten (R) yang telah dibuat oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Terkadang, *no interpretation* (NI) dilaporkan pada hasil KHM. ini berarti tidak ada garis pedoman untuk menginterpretasi terhadap kepekaan suatu bakteri atau antimikroba yang sedang diuji (Sockett, 2006).

Istilah “bakteriostatik” menggambarkan suatu obat yang sewaktu-waktu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Keberhasilan pengobatan ini sering bergantung pada partisipasi mekanisme pertahanan tubuh inang. Lebih jauh, efeknya dapat berubah apabila obat dihilangkan, organisme akan tumbuh kembali, dan infeksi atau penyakit akan kambuh. Kadang-kadang pengobatan jangka panjang dengan obat-obat bakteriostatik dapat membunuh populasi tertentu, sedangkan dengan obat bakterisidal mungkin gagal, baik *in vitro* maupun *in vivo* (Katzung, 2003).

Berdasar spektrum kerjanya, antimikroba dibagi menjadi antimikroba dengan spektrum sempit dan antimikroba dengan spektrum luas. Antimikroba berspektrum sempit contohnya adalah golongan penisillin (benzil penisillin, penisillin V, nafsillin, metisilin, kloksasillin, oksasilin), dan streptomisin. Antimikroba dengan spektrum luas contohnya tetrasiklin, golongan sulfa (sulfonamid, krotimoksazol, para amino-salisilat (PAS), sulfon (dapsone), golongan penisillin (aminopenisillin, tikarsillin, karbenisillin) dan kloramfenikol (Sockett, 2006). Menurut Dzen dkk (2003), dalam upaya membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri, antimikroba bekerja dengan beberapa mekanisme diantaranya:

- Menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri yang merupakan prokariotik terdiri dari peptidoglikan sehingga antibiotik ini relative aman untuk sel hospes karena dinding sel eukariot tidak memiliki peptidoglikan. Rusaknya dinding sel bakteri menyebabkan lisis.

- Merusak membran sel

Fungsi dari membrane sel adalah untuk menjaga komposisi internal dari sel dan menjaga permeabilitas selektif dan proses transport aktif. Rusaknya membrane sel dapat menyebabkan metabolit penting dalam sel keluar sel dengan akibat kematian sel.

- Menghambat sintesis protein

Penghambatan sintesis protein dapat dilakukan dengan penghambatan perpanjangan rantai polipeptida, mencegah perjalanan ribosom sepanjang mRNA, atau dengan mengubah struktur ribosom dan bentuk kodon pun ikut berubah. Hal ini mengakibatkan *misreading* oleh anti kodon pada tRNA.

- Menghambat sintesis asam nukleat

Penghambatan sintesis asam nukleat ini dapat dilakukan dengan menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi, atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel. Bisa juga dengan mengikat enzim *DNA-dependent RNA Polimerase* atau mengganggu enzim *DNA-gyrase* yang berperan pada proses replikasi DNA sehingga tidak terbentuk asam nukleat.

2.5 Uji Sensitivitas Bakteri terhadap Antimikroba

2.5.1 Metode Dilusi

2.5.1.1 Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat anti mikroba. Prinsipnya dengan

menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Ada satu tabung yang hanya diisi bahan aktif tanpa bakteri sebagai kontrol negatif dan ada pula satu tabung yang hanya diisi oleh bakteri biakan sebagai kontrol positif. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM obat. KHM ini adalah kemampuan dari agen antimikroba yang menghambat multiplikasi bakteri uji (sebagai bakteriostatik). Untuk mengukur kemampuan antimikroba untuk membunuh mikroorganisme, perlu dilakukan tes aktivitas bakterisidal dengan menggunakan modifikasi dari tes dilusi tabung. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya (22-24 jam) diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan < 0,1% inokulum original disebut kadar bunuh minimal (KBM) dari bahan antimikroba (Dzen dkk, 2003).

2.5.1.2 Dilusi Agar

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dari bahan antimikroba. Prinsipnya adalah dengan menggunakan medium agar padat *Mueller-Hinton*, yang diperkaya dengan 5% *defibrinated sheep blood*. Pada saat dilakukan uji antimikroba bahan yang diujikan diencerkan terlebih dahulu, kemudian

diinokulasikan pada medium agar. Setelah itu diinkubasikan dalam suhu 37°C selama 48 jam. KHM dicatat sebagai konsentrasi terendah dari bahan antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Ge *et.al*, 2002).

2.5.2 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram dilakukan dengan menjenuhkan obat ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Apabila ada zona inhibisi yang cukup luas (sesuai dengan skala yang dipakai), maka menunjukkan bahwa antimikroba bekerja efektif, tetapi apabila tidak ada zona inhibisi menunjukkan bahwa bakteri resisten terhadap antimikroba tersebut (Dzen dkk, 2003).

Untuk mengetahui hasil uji kepekaan terhadap antimikroba dapat dilakukan dua cara sebagai berikut:

- Kirby Bauer, yaitu dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan table NCCLS ini dapat diketahui criteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten.
- Joan Stokes, yaitu dengan membandingkan radius zona hambatan antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri

kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen dkk, 2003).

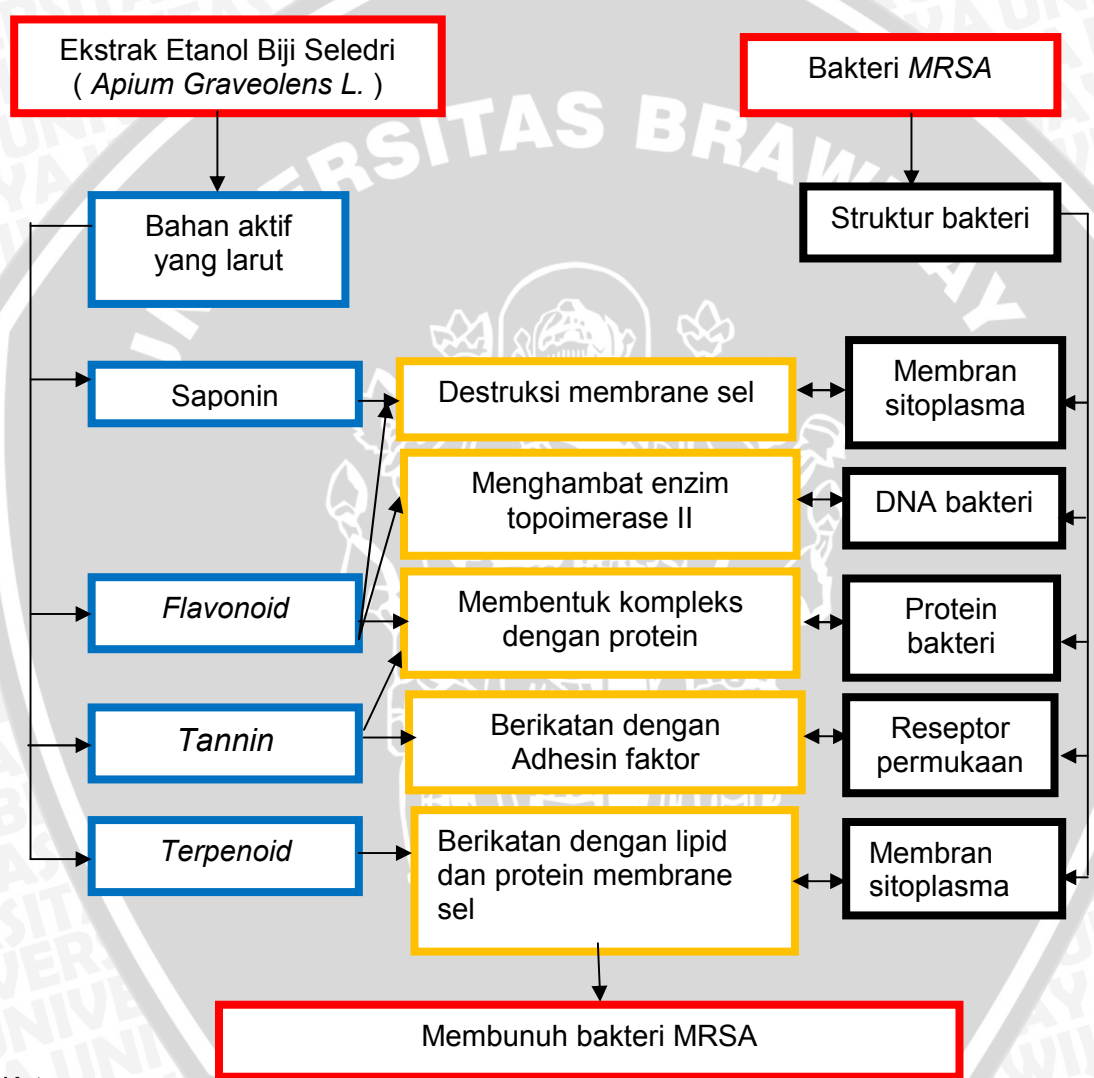
Interpretasi hasil dari metode difusi cakram ini tergantung dari perlakuan ketika tes. Variabel yang mempengaruhi antara lain dalamnya, pH, kandungan kation, suplemen, dan sumber dari agar *Mueller Hinton*; umur dan turbiditas inokulum bakteri; cara inokulum menyebar di cawan; suhu, udara, dan durasi inkubasi; metode pembacaan hasil; antimikroba yang berada pada cawan, umur dan kondisi penyimpanannya (Dzen dkk, 2003).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :

- = Variable yang diteliti
- = Bahan yang dikandung ekstrak biji seledri
- = Efek antimikroba ekstrak biji seledri
- = Struktur bakteri MRSA yang terinduksi

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Ekstrak biji seledri mempunyai empat zat yang bersifat sebagai antimikroba yaitu flavonoid, saponin, terpenoid, dan tannin. Mekanisme kerja terpen belum diketahui secara jelas. Namun, diduga terpen berkerja melalui gugus lipofiliknya. Flavonoid bekerja sebagai inhibitor Topoisomerase tipe II yang akan menghambat replikasi dan transkripsi DNA bakteri dan dapat berikatan dengan protein bakteri yaitu protein ekstraseluler dan terlarut serta dinding sel bakteri. Saponin bekerja dengan merusak membran plasma bakteri. Tannin mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel. Disamping itu, flavonoid juga merusak integritas dinding sel bakteri melalui ikatannya dengan protein ekstraseluler dan dinding sel. Semua efek-efek tersebut pada akhirnya mengakibatkan kematian bakteri.

Melalui mekanisme kerjanya terhadap membran sitoplasma, dinding sel, adhesin faktor, protein bakteri, maupun protein bakteri, keempat komponen utama dari ekstrak biji seledri tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang, tinjauan pustaka, dan kerangka konsep diatas maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

“ Ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L*) mempunyai efek antimikroba dan menghambat pertumbuhan bakteri MRSA secara *in vitro* ”

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan desain post tes yang menggunakan metode dilusi tabung untuk mengetahui konsentrasi biji seledri yang dapat mempengaruhi pertumbuhan isolat kuman MRSA secara *in vitro*. Metode dilusi tabung ini untuk mengetahui KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Maksimum). Metode ini meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada medium *broth* untuk menentukan KHM, serta tahap penggoresan pada media *NAP (Nutrient Agar Plate)* untuk mengetahui KBM.

4.2 Estimasi Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan di dalam penelitian ini adalah bakteri MRSA yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sampel diperoleh dari spesimen yang berasal dari urin salah satu pasien Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Besarnya sampel yang diperlukan untuk penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

Estimasi jumlah sampel:

$$p(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$n \geq 4 \quad (\text{Solimun, 2001})$$

Keterangan :

p = jumlah perlakuan (terdiri dari lima macam perlakuan berdasarkan konsentrasi ekstrak biji seledri)

n = banyaknya sampel yang diperlukan

Dengan demikian, untuk memenuhi persyaratan uji statistik diperlukan paling sedikit 4 sampel bakteri MRSA yang berasal dari isolat yang berbeda.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel tergantung penelitian

Pertumbuhan bakteri MRSA yang diamati dari kekeruhan pada medium cair dan jumlah koloni bakteri pada medium padat.

4.3.2 Variabel Bebas Penelitian

Ekstrak biji seledri yang dibuat dalam 5 macam konsentrasi tertentu.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Maret hingga Juni 2011.

4.5 Definisi Operasional

- a. Biji seledri yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji seledri yang didapat dari Materia Medica Batu dan berwarna coklat.
- b. Ekstrak biji seledri adalah biji seledri yang dibuat menjadi serbuk kemudian diekstraksi menggunakan etanol 96%.
- c. Isolat MRSA adalah galur *S. aureus* yang telah diuji resisten terhadap methicillin dan oxacillin oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- d. KHM adalah kadar minimal ekstrak biji seledri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan MRSA, dengan uji dilusi tabung ditandai dengan hasil biakan pada tabung yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba).
- e. KBM adalah kadar minimal ekstrak biji seledri yang diperlukan untuk membunuh kuman uji MRSA, ditandai apabila pertumbuhan koloni kuman $< 0,1\%$ dari jumlah koloni pada *original inoculum*.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Pembuatan Ekstrak Biji Seledri

4.6.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak biji seledri antara lain: blender untuk menghaluskan biji seledri, kertas saring untuk membungkus serbuk biji seledri, gelas ekstraksi, seperangkat evaporator vakum, alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, rotary evaporator, tabung pendingin dan pompa sirkulasi air dingin, bak penampung air dingin, pompa vakum, tabung penampung etanol, batu didih, cawan penguap, dan neraca analitik.

4.6.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak biji seledri antara lain: biji seledri, etanol 96%, dan aquades.

4.6.2 Identifikasi dan Tes Kepekaan Bakteri

4.6.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam identifikasi dan tes kepekaan ekstrak bakteri antara lain: cawan petri, ose, tabung reaksi, labu erlenmeyer, termometer, inkubator, gelas obyek, bunsen, korek api, spidol permanen, pipet steril 10 ml, mikroskop, penggaris, dan *colony counter*.

4.6.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam identifikasi dan tes kepekaan ekstrak bakteri antara lain: ekstrak biji seledri, isolat MRSA, Nutrient broth, NAP, aquades,

pewarnaan Gram (Kristal violet, lugol, alcohol 96%, safranin), minyak emersi, H₂O₂ 3%, serum plasma mamalia, dan cakram *Methicillin* dan *Oxacillin*.

4.6.3 Uji Efek Antimikroba Biji Seledri

4.6.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam uji kepekaan ekstrak biji seledri antara lain: tabung reaksi, ose, mikropipet 1 ml, incubator, lampu spiritus, dan vortex.

4.6.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam uji kepekaan ekstrak biji seledri antara lain: ekstrak biji seledri, perbenihan cair bakteri MRSA, Nutrient Broth (NB), Nutrient Agar Plate (NAP), dan aquades.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Biji Seledri

Di dalam penelitian ini dipergunakan bahan uji berupa ekstrak biji seledri yang dibuat dengan cara sebagai berikut:

4.7.1.1 Proses pengeringan

- Mencuci bersih biji seledri yang akan dikeringkan
- Mengoven dengan suhu 80⁰ C

4.7.1.2 Proses ekstraksi

- Setelah kering, menghaluskan dengan blender sampai halus
- Menimbang sebanyak 100 gram (biji seledri kering)

- Memasukkan 100 gram biji seledri kering ke dalam gelas Erlenmeyer ukuran 1 liter
- Kemudian merendam dengan etanol sampai volume 900 ml
- Mengocok sampai benar-benar tercampur (\pm 30 menit)
- Mendinginkan semalam sampai mengendap

4.7.1.3 Proses evaporasi

- Mengambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil
- Memasukkan dalam labu evaporasi pada evaporator
- Mengisi *water bath* dengan air sampai penuh
- Memasang semua rangkaian alat termasuk pendingin spiral, pemanas *water bath* (atur sampai suhu 90° C), sambungkan dengan aliran listrik
- Membiarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu
- Menunggu sampai larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung (\pm 1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu)
- Memasukkan hasil ekstraksi dalam botol plastic
- Menyimpan dalam freezer

4.7.2 Identifikasi Ulang Bakteri Uji

4.7.2.1 Permurnian Bakteri

Dilakukan pemurnian bakteri terlebih dahulu dengan menanam bakteri yang diduga MRSA pada NAP, diinkubasikan dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

4.7.2.2 Uji Konfirmasi Bakteri

Dilakukan uji konfirmasi, masing-masing dilakukan dengan pewarnaan Gram, tes katalase, tes koagulase, dan tes kepekaan bakteri MRSA terhadap *Methicillin* dan *Oxacillin* dengan uji difusi cakram.

Masing-masing uji konfirmasi adalah sebagai berikut:

a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut bersifat Gram (+) atau Gram (-), serta untuk mengetahui morfologi bakteri. Bakteri MRSA bersifat Gram (+) sehingga memberikan warna ungu dan berbentuk kokus seperti buah anggur. Langkah-langkah pewarnaan Gram (Baron *et.al*, 1994 dan Dzen dkk, 2003)

- Dibuat sediaan bakteri MRSA , dikeringkan di udara dan kemudian difiksasi.
- Dituangi Kristal violet selama 1 menit.
- Dibuang sisa bahan warna dan dibilas dengan air yang mengalir
- Dituangi larutan lugol (iodine) selama 1 menit.
- Dibuang sisa bahan warna dan dibilas dengan air yang mengalir

- Dituangi alkohol 96% selama 5-10 detik, kemudian bilas dengan air yang mengalir
- Dituangi safranin selama 30 detik.
- Dibuang sisa bahan warna dan dibilas dengan air yang mengalir
- Dikeringkan dengan kertas penghisap dan dilihat di bawah mikroskop.

b. Tes Katalase

Untuk membedakan *Staphylococcus* dengan *Streptococcus* dilakukan tes katalase, yaitu dengan menambahkan larutan H₂O₂ 3% sebanyak 1-2 tetes atau secukupnya pada perbenihan cair. Selain itu dapat dilakukan juga dengan mengambil 1 koloni bakteri dan dtambahkan H₂O₂ 3% secukupnya pada obyek glass kemudian diamati. *Staphylococcus* menunjukkan hasil yang positif yaitu dengan terbentuknya gelembung-gelembung udara.

c. Tes Koagulase

Tes koagulase bertujuan untuk membedakan *S. aureus* dengan jenis *Staphylococcus* yang lainnya dan untuk menentukan patogenitasnya. *S. aureus* bersifat koagulase positif. Pada obyek glass ditetesi dengan 1 tetes larutan saline atau aquadest steril dan ditambahkan 1 koloni bakteri kemudian ditambah dengan 1 tetes plasma darah dan dicampur dengan cara menggoyang obyek glass arah melingkar selama 5-10 detik. Apabila hasilnya positif akan tampak gumpalan-gumpalan putih. Apabila hasil yang diperoleh negative maka harus dilakukan tes koagulase tabung untuk memastikan jenisnya. Tes koagulase tabung dilakukan dengan

menggunakan plasma kelinci dan pemeriksaan dilakukan setelah inkubasi selama 4 jam dan 24 jam. Apabila hasil tes pada 4 jam negatif maka harus diulang dengan diinkubasi selama 24 jam.

d. Tes Kepekaan Bakteri terhadap *Methicillin* dan *Oxacillin*

Untuk mengidentifikasi lebih lanjut apakah bakteri tersebut MSSA atau MRSA digunakan tes difusi cakram terhadap *Methicillin* dan *Oxacillin*, dikatakan sensitif jika diameter zona hambat terhadap *oxacillin* diameter zona inhibisi ≥ 13 mm dan sensitif terhadap *methicillin* diameter zona inhibisi ≥ 14 mm. Jika resisten maka terhadap *oxacillin* diameter zona inhibisi ≤ 10 mm dan terhadap *methicillin* diameter zona inhibisi ≤ 9 mm. Pada penelitian ini bakteri *S. aureus* yang digunakan memiliki zona hambat terhadap cakram antibiotika *oxacillin* sebesar ≤ 10 mm dan *methicillin* sebesar ≤ 9 mm.

4.7.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

- a. Dilakukan pemeriksaan spektrofotometri pada hasil kultur medium cair NA Broth, dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui nilai absorbansi dari suspensi.
- b. Untuk mendapatkan suspensi bakteri uji dengan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 /ml yang setara dengan OD (Optical Density) = 0,1 maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan:

V1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

N2 = OD (0,1 = setara dengan 10^8 /ml)

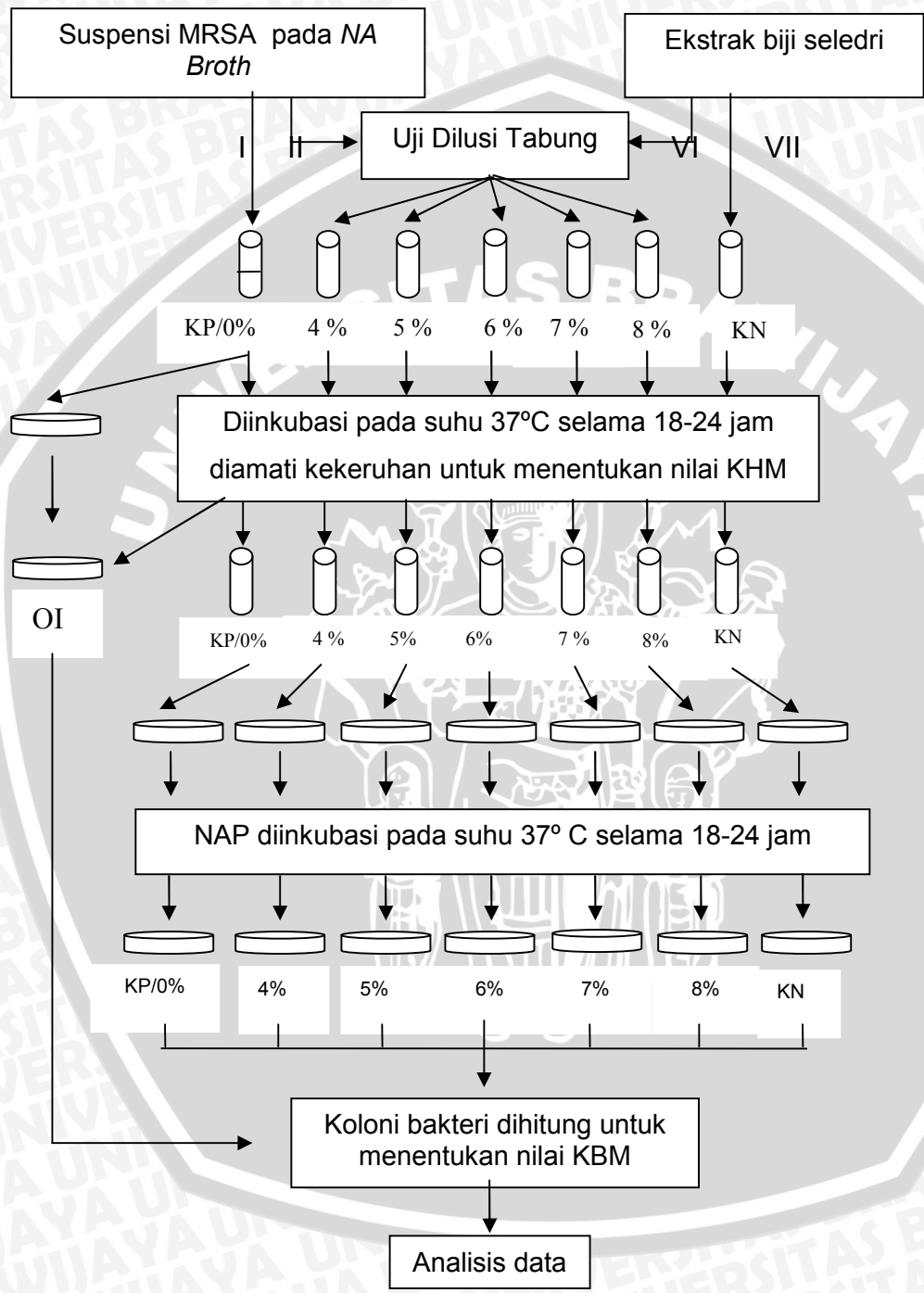
- c. Dari perhitungan tersebut diperoleh volume (dalam ml) bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi 10^8 /ml sebanyak 10 ml. Setelah diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 /ml sebanyak 10 ml, selanjutnya dilakukan pengenceran sebanyak 100 kali dengan menggunakan NA broth sehingga diperoleh suspensi bakteri sebanyak 10 ml dengan konsentrasi bakteri 10^6 /ml. Kini suspensi bakteri telah siap digunakan untuk penelitian.

4.7.4 Pengujian Efek Antimikroba

- Menyiapkan 7 tabung steril, 0%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, dan KB (kontrol bahan). Kontrol bahan adalah ekstrak biji seledri. Konsentrasi ekstrak 0% adalah biakan MRSA dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml.
- Memasukkan 0,6 ml aquades steril ke dalam tabung bertanda 4%, lalu tambahkan 0,4 ml ekstrak biji seledri.
- Memasukkan 0,5 ml aquades steril ke dalam tabung bertanda 5%, lalu tambahkan 0,5 ml ekstrak biji seledri.
- Memasukkan 0,4 ml aquades steril ke dalam tabung bertanda 6%, lalu tambahkan 0,6 ml ekstrak biji seledri.

- e. Memasukkan 0,3 ml aquades steril ke dalam tabung bertanda 7%, lalu ditambahkan 0,7 ml ekstrak biji seledri.
- f. Memasukkan 0,2 ml aquades steril ke dalam tabung bertanda 8%, lalu ditambahkan 0,8 ml ekstrak biji seledri.
- g. Memasukkan 1 ml aquades steril ke dalam tabung bertanda konsentrasi ekstrak biji seledri 0%.
- h. Menambahkan 1 ml biakan cair *MRSA* kedalam setiap tabung kecuali tabung kontrol bahan.
- i. Memasukkan 2 ml ekstrak biji seledri ke dalam tabung bertanda kontrol bahan.
- j. Semua tabung diinkubasikan pada suhu 37° - $37,5^{\circ}$ C selama 18-24 jam.
- k. Setelah 18-24 jam memperhatikan dan mencatat derajat kekeruhan pada semua tabung. Cara membaca derajat kekeruhan adalah dengan meletakkan sebuah kertas putih dibelakang tabung, dimana sebelumnya pada kertas tersebut digambar sebuah garis hitam, kemudian perhatikan garis hitam dari depan tabung. Konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan kekeruhan adalah KHM.
- l. Untuk mengetahui KBM, melakukan penggoresan pada media NAP, kemudian diinkubasikan pada suhu 37° - $37,5^{\circ}$ C selama 18-24 jam.
- m. Setelah 18-24 jam menghitung jumlah koloni *MRSA* yang tumbuh dengan *colony counter*, konsentrasi terendah dengan jumlah koloni kurang dari 0,1% original inokulum adalah KBM.

4.8 Kerangka Operasional Penelitian



Keterangan : KP : Kontrol Positif KN : Kontrol Negatif
 OI : Original Inoculum NAP : Natrium Agar Plate

Gambar 4.1 Kerangka Prosedur Penelitian

4.9 Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah uji statistik *one way* ANOVA dan uji statistik korelasi-regresi. Uji statistik *one way* ANOVA dengan derajat kepercayaan 95 % ($\alpha=0,05$) digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak biji seledri terhadap jumlah koloni bakteri MRSA. Sedangkan uji korelasi-regresi digunakan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak biji seledri terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for Windows versi 16.0.



BAB 5**HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA****5.1 Hasil Penelitian****5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Methicillin – Resistant Staphylococcus aureus***

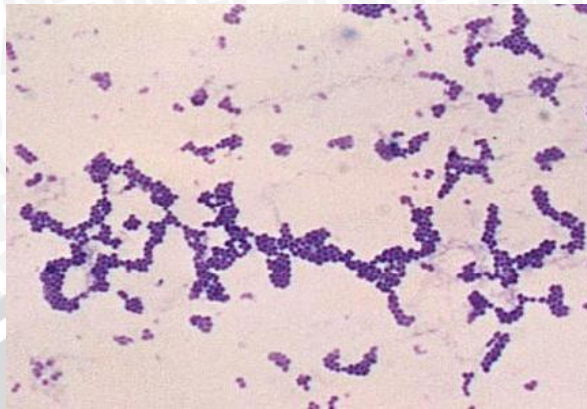
Penelitian ini menggunakan isolat bakteri MRSA yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Berdasarkan hasil kultur isolat bakteri MRSA pada media NAP didapatkan koloni bakteri dengan karakteristik berbentuk bulat, konveks dengan tepi rata dan permukaan yang mengkilat serta berwarna kuning keemasan seperti yang disajikan dalam Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Hasil Kultur Isolat Bakteri MRSA pada Media NAP

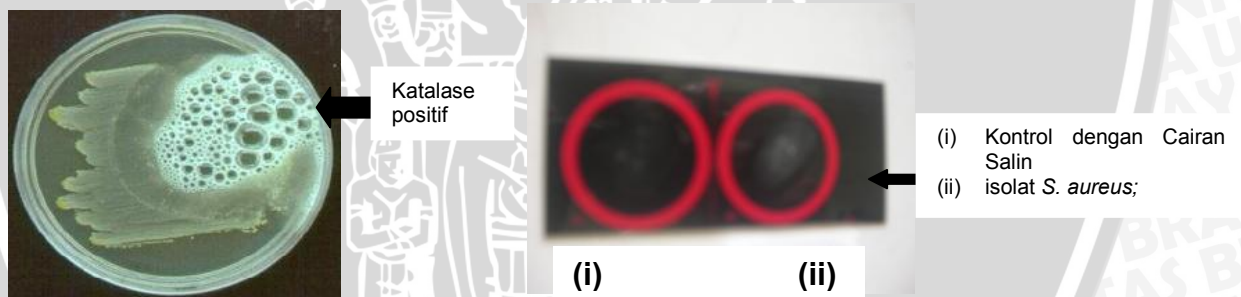
Selanjutnya koloni ini dilakukan uji identifikasi seperti pewarnaan Gram, uji katalase, uji koagulase, dan uji kepekaan terhadap oksasilin dan methisilin.

Hasil identifikasi isolat *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan dalam penelitian ini dengan pengecatan Gram menunjukkan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus yang dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Hasil Identifikasi Isolat MRSA dengan Pengecatan Gram

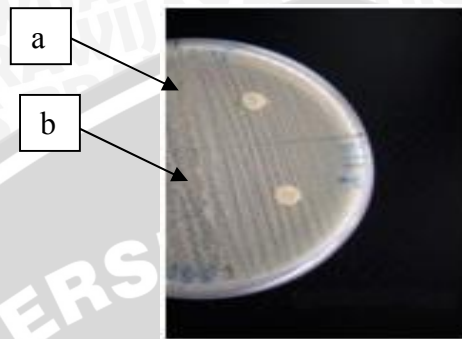
Uji katalase dan koagulase terhadap isolat *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan dalam penelitian ini menunjukkan hasil positif dengan ditandai terbentuknya gelembung pada uji katalase dan terjadinya penggumpalan pada uji koagulase seperti yang tersaji pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Hasil Uji Koagulase dan Uji Katalase Isolat MRSA

Untuk membuktikan apakah isolat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah isolat MRSA atau MSSA maka dilakukan tes difusi cakram dengan menggunakan cakram oksasilin dan methisilin. Bila diameter zona inhibisi methisilin ≥ 14 mm dan zona inhibisi oksasilin ≥ 13 mm maka isolat *Staphylococcus aureus* dikatakan sensitif, tetapi jika zona inhibisi methisilin ≤ 9 mm dan zona inhibisi oksasilin ≤ 10 mm maka isolat *Staphylococcus aureus* dikatakan resisten. Hasil dari

penelitian ini menunjukkan bahwa zona inhibisi methisilin ≤ 9 mm dan zona inhibisi oksasilin ≤ 10 mm seperti yang disajikan pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4 Hasil Tes Difusi Cakram Oksasilin dan Methisilin Terhadap Bakteri MRSA

- a : resisten terhadap oksasilin (diameter zona inhibisi ≤ 10 mm)
- b : resisten terhadap methisilin (diameter zona inhibisi ≤ 9 mm)

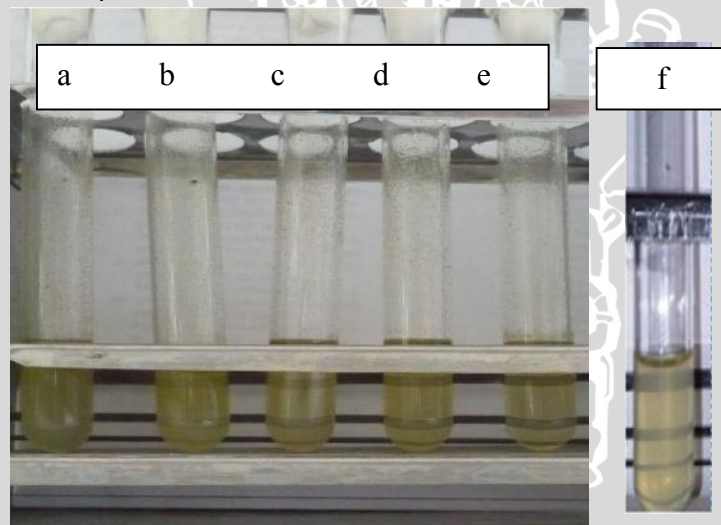
Berdasarkan karakteristik koloni pada media NAP serta hasil uji identifikasi menunjukkan bahwa bakteri yang akan dipergunakan dalam penelitian ini adalah bakteri MRSA.

5.1.2 Hasil Uji Efek Antimikroba

5.1.2.1 Hasil Penentuan Kadar Hambat Minimal

Langkah pertama untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dari suatu bahan uji terhadap suatu bakteri adalah melakukan uji dilusi tabung dengan konsentrasi yang sudah ditentukan. Setelah diinkubasi selama 18-24 jam, dilakukan pengamatan dengan mata telanjang terhadap kekeruhan masing-masing tabung. Konsentrasi terkecil pertama yang menunjukkan kejernihan merupakan KHM dari bahan uji, yaitu estrak biji seledri.

Pada penelitian ini digunakan lima macam konsentrasi ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) yaitu 4%, 5%, 6%, 7%, 8% (v/v) serta konsentrasi 0% (v/v) (kontrol bakteri atau bakteri tanpa ekstrak) dan konsentrasi 100% (v/v) sebagai kontrol negatif atau bahan ekstrak tanpa bakteri. KHM (Kadar Hambat Minimal) atau MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah kadar terendah dari antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasikan selama 18-24 jam (Dzen dkk, 2003). Tingkat kekeruhan larutan ekstrak biji seledri diamati untuk menentukan KHM. Uji dilusi tabung dengan konsentrasi 4%, 5%, 6%, 7%, 8% (v/v), kontrol positif dan negatif dapat dilihat pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Hasil Uji Dilusi Tabung Ekstrak Biji Seledri Terhadap MRSA

Keterangan gambar :

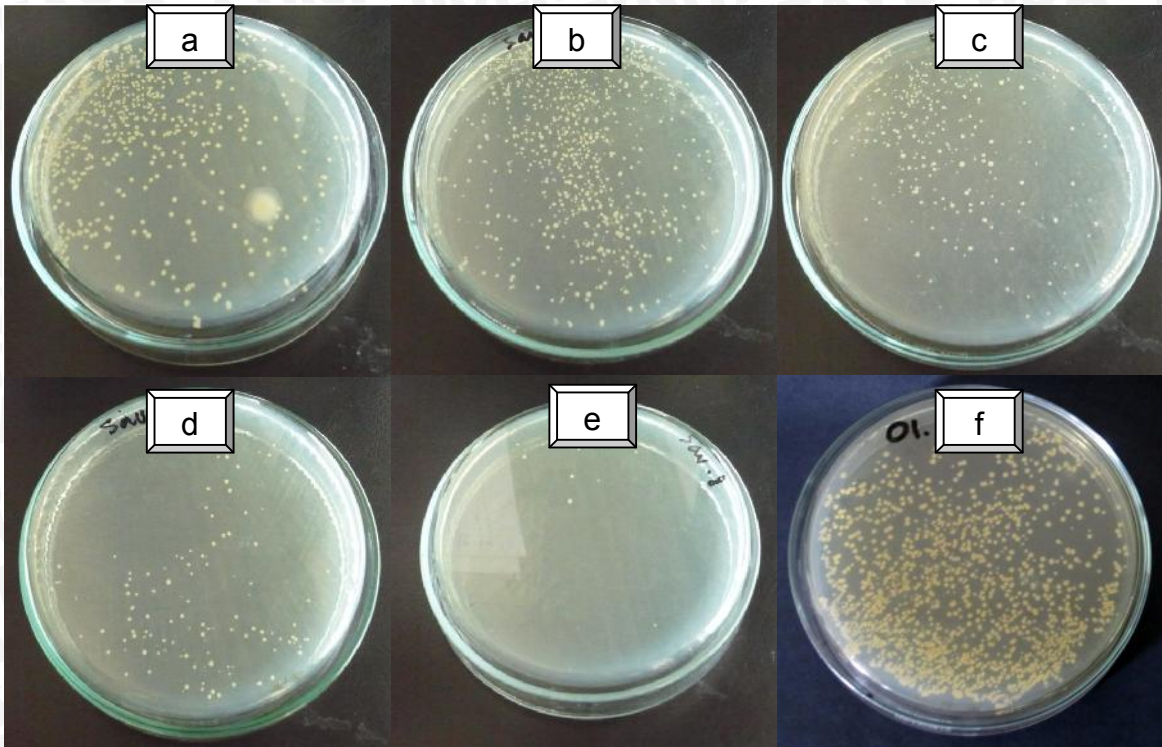
- Suspensi bakteri dan ekstrak biji seledri dengan konsentrasi 8 % (v/v)
- Suspensi bakteri dan ekstrak biji seledri dengan konsentrasi 7 % (v/v)
- Suspensi bakteri dan ekstrak biji seledri dengan konsentrasi 6 % (v/v)
- Suspensi bakteri dan ekstrak biji seledri dengan konsentrasi 5 % (v/v)
- Suspensi bakteri dan ekstrak biji seledri dengan konsentrasi 4 % (v/v)
- Kontrol positif : kontrol bakteri dengan konsentrasi ekstrak biji seledri 0% (v/v)

Berdasarkan hasil uji dilusi tabung setelah diinkubasi, dapat diamati bahwa pada tabung 4% mulai tampak jernih yang artinya nyaris tidak ada bakteri yang tumbuh. Tabung 4% merupakan tabung dengan konsentrasi dekok terkecil yang mulai tampak jernih sehingga dapat ditentukan bahwa KHM dalam penelitian ini adalah konsentrasi biji seledri 4% (v/v).

5.1.2.2 Hasil Penentuan Kadar Bunuh Minimal

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, tiap konsentrasi ekstrak tersebut di-*streaking* penuh pada medium NAP. Kemudian medium NAP diinkubasi lagi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Keesokannya dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi di NAP dengan menggunakan *colony counter*. Hal ini berlaku pada keempat isolat bakteri MRSA untuk melihat kadar bunuh minimum (KBM).

KBM (Kadar Bunuh Minimal) atau MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) adalah kadar terendah dari antimikroba yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada medium NAP) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum/OI*) pada medium NAP yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (Dzen dkk, 2003). Hasil penggoresan pada SDA dapat dilihat pada Gambar 5.6.



Gambar 5.6 Streaking MRSA pada Medium NAP

Keterangan gambar:

- (a) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak 0% ($\%v/v$) atau kontrol bakteri
- (b) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak biji seledri 5% ($\%v/v$)
- (c) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak biji seledri 6% ($\%v/v$)
- (d) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak biji seledri 7% ($\%v/v$)
- (e) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak biji seledri 8% ($\%v/v$)
- (f) Pertumbuhan koloni pada *Original inoculum*

Tabung dengan konsentrasi 0% ($\%v/v$) pada semua isolatnya dilakukan pengenceran terlebih dahulu dengan larutan NaCl sebanyak 10^4 sebelum di-streaking penuh pada medium NAP. Hal ini dilakukan untuk memudahkan dalam penghitungan jumlah koloni yang tumbuh karena apabila tidak dilakukan pengenceran maka koloni yang tumbuh terlalu padat dan tidak bisa dihitung.

Dari hasil pertumbuhan dan penghitungan keempat koloni isolat bakteri MRSA tersebut dapat ditentukan kadar bunuh minimal dari ekstrak biji seledri yaitu pada medium NAP yang tidak ditumbuhi koloni atau jumlah koloni $\leq 0,1\%$ dari *original inoculum*. KBM terlihat pada konsentrasi ekstrak 8% (v/v) pada keempat isolate MRSA yang diteliti. Hasil penghitungan koloni yang tumbuh di NAP pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 5.1. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

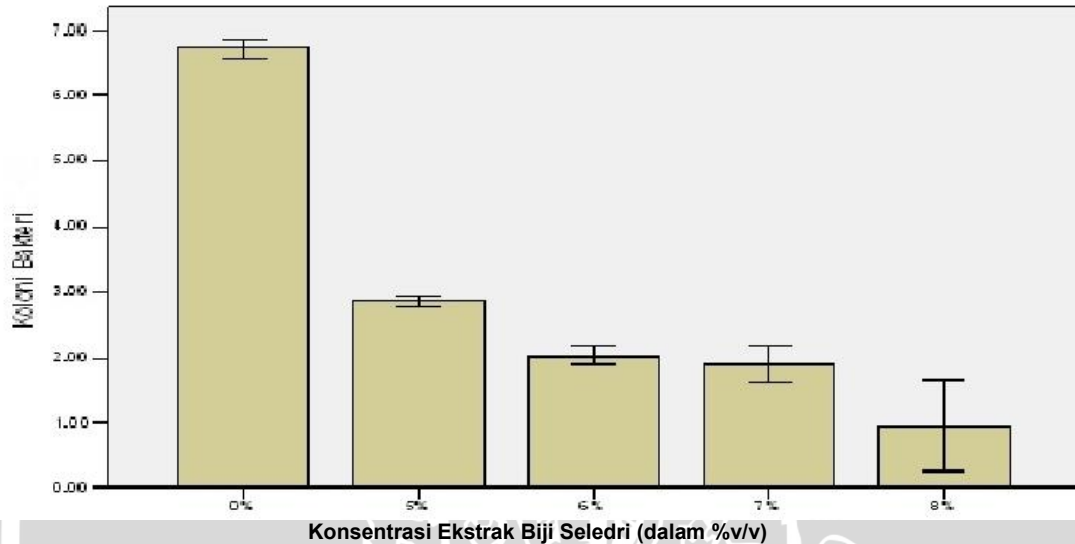
Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Bakteri MRSA yang Tumbuh Pada Medium NAP per ose (10 μ l)

Konsentrasi (% v/v)	Jumlah Koloni per isolat				Rerata \pm SD	Rerata \pm SD
	I	II	III	IV	Untuk Koloni	Hasil transformasi
KK 0 %	6820350	5157450	4744450	5298750	5505250 \pm 907728.25	6.74 \pm 0.068
K 5%	714	643	785	770	728 \pm 64.4	2.86 \pm 0.039
K 6%	130	136	134	138	134.5 \pm 16.6	2.03 \pm 0.066
K 7%	123	69	61	75	82 \pm 27.9	1.89 \pm 0.134
K 8%	20	12	9	3	11 \pm 7.07	0.95 \pm 0.348
OI	28430	25702	23622	22450	25051	6.4

Keterangan : KK = Kontrol Kuman, K= Konsentrasi, OI = Original Inoculum

Data pada Tabel 5.1 dibuat grafik rata-rata jumlah koloni yang menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi ekstrak biji seledri dengan jumlah koloni bakteri MRSA yang tumbuh pada medium NAP. Grafik rerata jumlah koloni menunjukkan adanya penurunan yang berarti pada peningkatan ekstrak biji seledri.

Untuk mengetahui gambaran interaksi antara perubahan konsentrasi ekstrak terhadap rerata jumlah koloni, maka dapat dilihat pada Gambar 5.7.



Gambar 5.7 Grafik Rerata Jumlah Koloni *MRSA* setelah Perlakuan dengan Ekstrak Biji Seledri

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistik SPSS versi 16.0 untuk windows. Analisis data hasil jumlah koloni pada Tabel 5.1 menggunakan uji statistik parametrik *One-Way ANOVA* dan regresi linier karena data penelitian ini bersifat data rasio yang memiliki satu variabel bebas dan satu variabel tergantung. Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Sebagai prasyarat analisis statistik parametrik diperlukan beberapa pengujian pendahuluan. Data sampel diuji dengan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui apakah data memiliki distribusi yang normal atau tidak. Syarat menggunakan uji parametrik *One-Way ANOVA* adalah data memiliki distribusi yang normal yaitu bila nilai signifikansinya lebih dari 0,05 ($p > 0,05$).

Sedangkan syarat varian data/homogenitas harus sama adalah nilai signifikansi > 0.05 (Dahlan, 2004).

Dari uji normalitas (Lampiran 1) didapatkan nilai signifikansi $0,054$ ($p > 0,05$) yang berarti data terdistribusi normal. Selain itu diperlukan uji homogenitas varian data sebelum memasuki uji *One-Way ANOVA*. Berdasarkan hasil uji homogenitas (Lampiran 1) diketahui nilai signifikansi yaitu $0,073$ ($p > 0,05$). Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varian data adalah homogen. Setelah diketahui bahwa data terdistribusi normal dan varian data homogen maka data dianalisa dengan uji statistik *One-Way ANOVA* serta Korelasi dan Regresi Linier.

5.2.1 Uji *One-Way ANOVA*

One-Way ANOVA merupakan pengujian untuk mengetahui perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak biji seledri terhadap rerata pertumbuhan koloni empat isolat bakteri MRSA. Dari hasil uji *One-Way ANOVA* (Lampiran 2) didapatkan angka signifikansi $0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini berarti efek perubahan konsentrasi ekstrak biji seledri terhadap jumlah koloni rerata empat isolat bakteri MRSA adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

5.2.2 Uji *Post Hoc Tukey*

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparisons*). Uji ini menunjukkan pasangan kelompok sampel (kelompok perlakuan atau konsentrasi dan jumlah koloni) yang memberikan perbedaan yang signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan secara signifikan.

Dari hasil uji *Post Hoc Tukey* (Lampiran 2) dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan disetiap pasangan kelompok sampel yang ditunjukkan oleh angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Tetapi pada konsentrasi 6% dan 7% tidak menunjukkan perbedaan efek yang signifikan pada pertumbuhan jumlah koloni (nilai signifikansi 0,809 atau lebih dari 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa antara konsentrasi 6% dan 7% rerata jumlah koloni empat pengulangan bakteri MRSA yang tumbuh adalah tidak berbeda secara signifikan.

Pada *output* tabel *Homogeneous Subsets* (Lampiran 3) akan diketahui subset mana saja yang mempunyai perbedaan reratanya yang tidak signifikan. Pada *Homogeneous Subsets* ini empat kelompok sampel masuk ke dalam tiga *subset*. Pada *subset* 1 diisi oleh kelompok sampel konsentrasi 8% (ν/v). Hal ini berarti kelompok konsentrasi 8% (ν/v) memiliki perbedaan rerata yang signifikan terhadap setiap kelompok lainnya. Pada *subset* 2 diisi oleh 2 kelompok sampel dengan konsentrasi 6% dan 7% (ν/v). Hal ini berarti kedua kelompok konsentrasi tersebut tidak memiliki rerata perbedaan yang signifikan. Pada *subset* 3 diisi oleh 1 kelompok sampel dengan konsentrasi 5% (ν/v). Hal ini berarti kelompok konsentrasi 5% (ν/v) memiliki perbedaan rerata yang signifikan terhadap setiap kelompok lainnya. Pada *subset* 4 diisi oleh 1 kelompok sampel dengan konsentrasi 0% (ν/v). Hal ini berarti kelompok konsentrasi 0% (ν/v) memiliki perbedaan rerata yang signifikan terhadap setiap kelompok lainnya. Hasil pada *Homogeneous Subsets* sesuai dengan hasil yang telah didapat pada uji *Post Hoc Tukey*.

Tabel 5.2 Tabel Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset untuk alfa = 0.05			
		1	2	3	4
8%	4	0.9529			
7%	4		1.8973		
6%	4		2.0307		
5%	4			2.8608	
0%	4				6.7367
Sig.		1.000	0.809	1.000	1.000

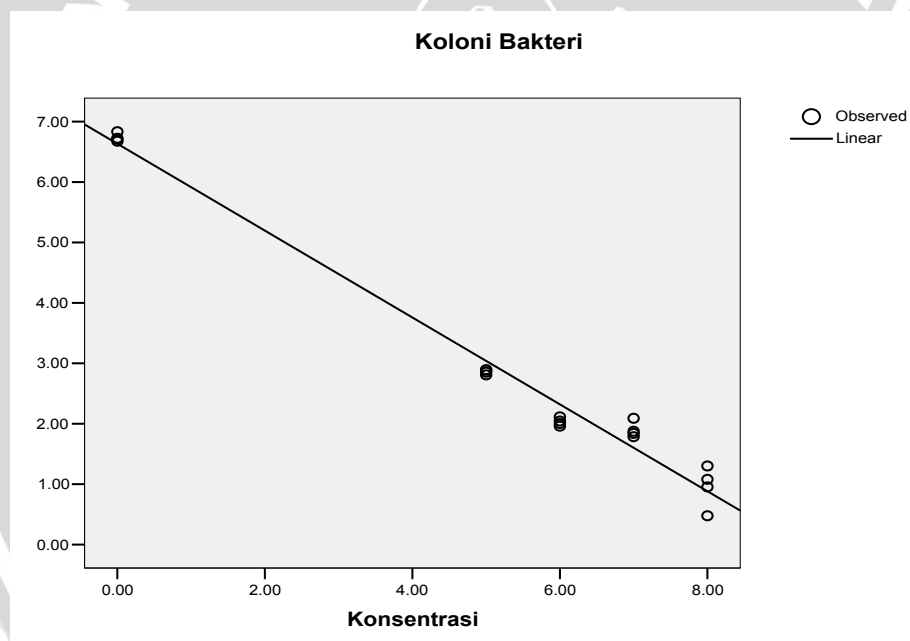
5.2.3 Uji Korelasi dan Regresi

Uji Korelasi (Lampiran 3) menunjukkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak biji seledri dengan jumlah koloni bakteri MRSA. Besar koefisien korelasi Pearson yaitu $r = -0,992$. Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji seledri maka semakin sedikit jumlah koloni isolate bakteri yang tumbuh, dan sebaliknya. Nilai 0,992 menunjukkan bahwa koefisien korelasinya sangat kuat (nilai mendekati ± 1).

Analisis Regresi (Lampiran 3) digunakan untuk menentukan model yang paling sesuai untuk pasangan data serta dapat digunakan untuk membuat model dan menyelidiki hubungan antara dua variabel atau lebih. Dalam penelitian ini uji regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan kemampuan penghambatan terhadap koloni.

Koefisien determinasi R Square (r^2) sebesar 0,984 menyatakan besarnya derajat keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak biji seledri dengan jumlah koloni MRSA yaitu 98,4%. Hal ini berarti kontribusi pemberian ekstrak biji seledri dalam menurunkan jumlah koloni bakteri MRSA sebesar 98,4% sedangkan sisanya 1,6% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti (Dahlan, 2004). Hubungan

antara perubahan konsentrasi ekstrak biji seledri dengan pertumbuhan koloni bakteri MRSA dapat dinyatakan dengan rumus $y = 6,634 - 0,719x$. y adalah jumlah koloni bakteri MRSA sedangkan x adalah konsentrasi ekstrak biji seledri. Hal ini berarti tanpa pemberian ekstrak biji seledri maka jumlah koloni MRSA yang dihasilkan di medium NAP akan meningkat konstan yaitu 6,634. Sedangkan, dengan pengaruh ekstrak maka setiap peningkatan konsentrasi ekstrak biji seledri 1% justru menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri hingga 0,719 koloni bakteri. Hasil persamaan tersebut dapat dilihat dalam grafik persamaan linier pada Gambar 5.8.



Gambar 5.8 Grafik Persamaan Linier Uji Regresi setelah di Transformasi Jumlah Koloni MRSA terhadap Konsentrasi Ekstrak Biji Seledri adalah $y = 6,634 - 0,719x$

Gambar 5.8 menunjukkan persamaan linier uji regresi data jumlah yang telah ditransformasi. Tanda lingkaran (○) pada kurva tersebut sesuai dengan hasil yang tercantum pada tabel.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*. Selain untuk mengetahui hubungan antara ekstrak biji seledri dengan pertumbuhan MRSA, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak biji seledri terhadap MRSA. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Tube dilution test* untuk mengetahui KHM dan dengan menggunakan media *Nutrient Agar Plate* (NAP) untuk menentukan KBM.

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dengan cara ekstraksi metode *maserasi*. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Brawijaya. Ekstrak biji seledri ini menggunakan pelarut ethanol 96%, karena ethanol relatif tidak merusak senyawa kimia aktif yang terdapat dalam biji seledri.

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan untuk penelitian, MRSA diidentifikasi terlebih dahulu dengan pewarnaan Gram, uji katalase, uji koagulase, dan uji kepekaan terhadap oksasilin dan metisilin. Dari pewarnaan Gram, didapatkan gambaran bentuk bakteri coccus Gram positif, yang ditandai dengan warna ungu pada bakteri. Uji katalase menunjukkan hasil positif yaitu ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung udara setelah

pemberian H_2O_2 3% pada biakan cair. Hasil positif dari uji katalase ini menunjukkan bahwa isolate yang digunakan adalah isolat bakteri *Staphylococcus*. Kemudian dari uji koagulase didapatkan hasil positif yang menunjukkan adanya gumpalan-gumpalan putih setelah penambahan plasma darah pada suspensi bakteri. Hasil positif dari uji koagulase menunjukkan bahwa isolat yang digunakan adalah isolat bakteri *S.aureus*. Uji kepekaan terhadap oxacillin dan metisilin menunjukkan bahwa zona inhibisi metisilin ≤ 9 mm dan zona inhibisi oxasilin ≤ 10 mm maka isolat *Staphylococcus aureus* dikatakan resisten.

Sebelum dimulai penelitian, dilakukan penelitian pendahuluan terlebih dahulu. Pada dasarnya penelitian pendahuluan hanya bertujuan untuk menentukan dosis yang akan digunakan dalam penelitian. Pada penelitian pendahuluan, masih belum ditentukan KHM dan KBM. Tetapi prosedur yang digunakan pada setiap penelitian tetap, yaitu penanaman bakteri pada medium cair (NB) serta penanaman bakteri pada medium padat (NAP). Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan ditentukan konsentrasi yang tepat pada penelitian yaitu 5%, 6%, 7% dan 8% (v/v). Dalam penelitian ini menggunakan 5 macam perlakuan (konsentrasi 0%, 5%, 6%, 7%, dan 8% (v/v)), sehingga pengulangan yang dibutuhkan adalah empat kali pengulangan (Notobroto, 2005).

Kadar Hambat Minimal (KHM) pada penelitian ini diperoleh dengan melihat konsentrasi terendah larutan ekstrak biji seledri yang tidak menunjukkan kekeruhan (tetap jernih), setelah diinkubasikan selama 18-24 jam. Kejernihan larutan ekstrak biji seledri ini dikonfirmasi dengan menggunakan kertas bergaris hitam putih yang diletakkan di belakang tabung untuk melihat pada tabung konsentrasi mana

yang masih jernih. Pada penelitian ini didapatkan pada konsentrasi 4% sebagai KHM.

Untuk menentukan KBM, biakan dari semua tabung dilusi tersebut di *streaking* pada media NAP dan diinkubasi selama 18-24 jam, kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh menggunakan *colony counter*. Konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni $\leq 0,1\%$ dari *original inoculum* menunjukkan nilai KBM. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan konsentrasi 8% (v/v) sebagai KBM.

Uji statistik yang digunakan adalah Uji *One-Way ANOVA*, Uji Korelasi dan Uji Regresi. Dari Uji ANOVA didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan nyata antar tiap konsentrasi ekstrak biji seledri terhadap rata-rata pertumbuhan koloni bakteri MRSA. Sedangkan hasil dari Uji *Post Hoc Tukey* dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan disetiap pasangan kelompok sampel yang ditunjukkan oleh angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Tetapi pada konsentrasi 6% dan 7% tidak menunjukkan perbedaan efek yang signifikan pada pertumbuhan jumlah koloni (nilai signifikansi 0,809 atau lebih dari 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa antara konsentrasi 6% dan 7% rerata jumlah koloni empat pengulangan bakteri MRSA yang tumbuh adalah tidak berbeda secara signifikan..

Dari Uji korelasi didapatkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat hubungan bermakna antara pemberian konsentrasi ekstrak biji seledri dengan jumlah koloni MRSA. Besar koefisien korelasi yaitu $R = -0,992$. Tanda negatif menunjukkan hubungan antara variabel terbalik yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji seledri maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Nilai 0,992 (mendekati ± 1) menunjukkan korelasi yang sangat kuat.

Pada uji Regresi didapatkan koefisien determinasi *R Square* (r^2) sebesar 0,984. Angka ini menunjukkan besarnya derajat keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak biji seledri dengan jumlah koloni MRSA yaitu 98,4%. Hal ini berarti kontribusi pemberian ekstrak biji seledri dalam menurunkan jumlah koloni bakteri MRSA sebesar 98,4% sedangkan sisanya 1,6% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti (Dahlan, 2004). Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak biji seledri dengan pertumbuhan koloni bakteri MRSA dapat dinyatakan dengan rumus $y = 6,634 - 0,719x$.

Fakta penurunan jumlah koloni MRSA dalam penelitian ini diduga karena efek dari senyawa-senyawa kimia aktif yang berasal dari ekstrak biji seledri. Biji seledri mengandung beberapa senyawa-senyawa kimia aktif misalnya flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat antimikroba dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Flavonoid adalah polifenol yang hanya dapat disintesis dari tanaman. Senyawa flavonoid ini memiliki manfaat sebagai antioksidan sekaligus sebagai antimikroba. Karena bermanfaat sebagai antioksidan, flavonoid dapat memperlambat maupun mencegah timbulnya penyakit, seperti penyakit-penyakit yang diinduksi oleh radikal bebas (Sellapan *and* Akoh, 2002). Senyawa flavonoid mempunyai kerja menghambat enzim topoisomerase II pada bakteri serta berikatan dengan protein bakteri. DNA gyrase termasuk salah satu dari enzim kelas topoisomerase II. DNA gyrase memilin untaian dari DNA, dengan menguraikan untaian DNA. Selain itu flavonoid dapat membentuk kompleks dengan protein

ekstraseluler bakteri sehingga terjadi denaturasi protein (Robinson,1991; Cowan,1999; Melderren,2002).

Saponin memiliki aktifitas luas sebagai agen antifungi, penurun kolesterol tubuh, dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Saponin dapat bekerja menghambat DNA polimerase sehingga sintesa asam nukleat terganggu. Bahan aktif ini juga dapat menghambat sintesis protein melalui penghambatan translasi dan transkripsi. Saponin juga terbukti mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktivitas enzimatik membran sel dan transport ion yang melewati membran sel. Ketika berikatan dengan kolesterol, saponin mengubah lingkungan lipid protein membran, termasuk kanal ion, transporter, dan reseptor. Oleh karena itu, saponin juga diduga menghambat respon biokimiawi sekunder pada sel (Francis *et al*, 2002; Davidson, 2005; Cornell University, 2008).

Tannin adalah salah satu senyawa kimiawi yang termasuk dalam golongan polifenol yang diduga dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki oleh bakteri yaitu adhesin dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan reseptor pada permukaan sel bakteri. Tannin telah dibuktikan dapat membentuk kompleks senyawa yang irreversibel dengan prolin, suatu protein lengkap, yang mana ikatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel (Agnol *et.al.*,2003).

Terpenoid merupakan senyawa yang dibangun oleh satuan C₅ isoprena, digolongkan atas monoterpenoid, siskiterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, tetraterpenoid dan politerpenoid serta terpenoid asiklik (Burhan, 2003). Terpenoid diyakini mempunyai aktifitas anti bakteri karena kemampuannya untuk berikatan

dengan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel bakteri dan dapat menimbulkan lisis pada sel. Membran sel yang tersusun atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa dan ion) melalui membran sel sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya (Wulandari *et al*, 2006).

Beberapa penelitian yang berhubungan dengan biji seledri telah dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Kim Drummond Rainsford dan Zhong-Ping Liu (2006) menyebutkan bahwa ekstrak etanol 80% biji seledri memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Helicobacter pylori* strain 3330, 3336, dan 3339. Kadar hambat minimum (KHM) yang didapatkan pada penelitian ini untuk *H. pylori* strain 3330 adalah 250 µg/ml dan kadar bunuh minimum-nya (KBM) adalah 500 µg/ml. Sedangkan untuk *H. pylori* strain 3336 dan 3339 kadar hambat minimum-nya adalah 125 µg/ml dan kadar bunuh minimum-nya adalah 500 µg/ml.

Penelitian lain yang pernah dilakukan yaitu dengan menggunakan ekstrak alkohol biji seledri dengan metode pemurnian *column chromatography* dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Penelitian yang dilakukan oleh Malcolm Clench *et al.* (2010) ini menunjukkan bahwa ekstrak alkohol biji seledri memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *H. pylori*. Dari penelitian didapatkan hasil : (1) kadar hambat minimum (KHM) untuk *H. pylori* adalah sebesar 3,15 µg/ml dan (2) kadar bunuh minimum-nya (KBM) sebesar 6,25 – 12,5 µg/ml.

Berdasarkan hasil penelitian uji efek antimikroba ekstrak biji seledri terhadap bakteri MRSA secara *in vitro* yang telah dilakukan dan dianalisis serta diperkuat

dengan bukti-bukti penelitian yang terkait, maka dapat ditarik kesimpulan, yaitu : pertama, penelitian ini masih belum dapat diaplikasikan, dengan kata lain memiliki validitas eksternal yang rendah. Karena meskipun penelitian ekstrak biji seledri mempunyai efek terhadap MRSA secara *in vitro*, namun masih diperlukan uji lebih lanjut tentang farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, dan efek ekstrak ini pada hewan coba lain dan *clinical trial* pada manusia. Selain itu, perbedaan geografi mempengaruhi kandungan bahan aktif pada biji seledri begitu juga metode ekstraksinya. Sehingga penelitian ini masih belum dapat diaplikasikan secara langsung dalam kasus-kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri MRSA. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian yang lebih luas dari penelitian ini agar nantinya dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia. Kedua, dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji seledri memiliki efek antimikroba terhadap MRSA. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji seledri, maka semakin rendah tingkat pertumbuhan MRSA yang ditandai dengan jumlah koloni yang semakin sedikit. Dengan demikian, hipotesis penelitian terbukti benar.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

7.1.1 Ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) mempunyai efek antimikroba terhadap *Methicillin – Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan dapat menghambat pertumbuhan MRSA secara *in vitro* yang dibuktikan dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin rendah pertumbuhan MRSA.

7.1.2 Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) yang dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri MRSA pada konsentrasi ekstrak 4% (v/v).

7.1.3 Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak biji seledri (*Apium graveolens L.*) yang dapat membunuh bakteri MRSA pada konsentrasi ekstrak 8% (v/v).

7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan yang telah dikemukakan maka diberikan saran-saran untuk mengadakan perbaikan di masa mendatang yaitu sebagai berikut:

- Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai kemungkinan ekstrak biji seledri dalam menghambat mikroba lain selain bakteri MRSA.
- Diperlukan penelitian lanjutan mengenai efek antimikroba ekstrak biji seledri secara *in vivo* pada berbagai hewan coba maupun *clinical trial* untuk melihat farmakodinamik, farmakokinetik dan toksisitas ekstrak biji seledri agar pemanfaatan ekstrak biji seledri dapat diaplikasikan ke manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Agnol R.D., Ferraz A., Bernardi A.P., Albring D., Nor C., Sarmiento L., Lamb L. 2003. *Antimicrobial Activity of Some Hypericum species*. Brazil: TANAC SA. Hal: 511-516
- Bahar. 2009. *Sekilas Tentang Penyakit*. <http://arbaafivone.blogspot.com/2009/02/sekilas-tentang-penyakit.html>. Diakses tanggal 27 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Brooks GF, Butel J.S., Morse S.A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta: EGC. Halaman 225-231.
- Brown D.J.F., Edwards, Hawkey P.M., Morrison D., Rigway G.L., Towner K.J, Wren M.W.D. 2005. *Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. <http://jac.oxfordjournals.org/content/56/6/1000.full>. Diakses pada 27 November 2010 pukul 20.00 WIB
- Bulosan, M. 2008. *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. (<http://www.mgm.ufl.edu/InfectiousDiseases/2008/april15/8-MRSA-Bulosan.pdf>). Diakses pada 27 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Burhan, P. R.Y. 2003. *Geokimia Organik*. <http://oc.its.ac.id/ambilfile.php?idp=20>. Diakses tanggal 1 Desember 2010 pukul 20.00 WIB.
- CDC. 2005. *Laboratory Detection of: Oxacillin/Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_lab_mrsa.html. Diakses pada 27 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- CDC. 2007. *MRSA: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Healthcare Settings*. <http://www.cdc.gov/Features/MRSA/>. Diakses tanggal 27 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- CDC. 2008. *Recognize and Prevent MRSA Infections*. <http://www.cdc.gov/Features/MRSAInfections/>. Diakses tanggal 27 November 2010 WIB.
- Clench, M., Davies, N.W., Smith, Taylor, B., Zhou, Y. 2009. A novel compound from celery seed with a bactericidal effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, volume 61, Issue 8, pages 1067–1077.
- Cornell University. 2008. *Saponins*, (Online). http://www.herbs2000.com/h_menu/saponins.htm. diakses tanggal 29 Oktober 2011).

- Cowan, M.M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Reviews, Hal 564-582, <http://www.pubmedcentral.nih.gov/about/copyright.html>, Diakses tanggal 2 Desember 2010 pukul 19.00 WIB.
- Dahlan, S. 2004. *Seri Statistik: Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan Uji Hipotesis dengan Menggunakan SPSS Program 12 Jam*. Jakarta: PT Arkans.
- Davidson. 2005. *Tanaman herbal*. (Online), (<http://www.deherba.com/index.php>, diakses tanggal 13 Desember 2010).
- Dzen S.M., Roekitiningih, Santoso S., Winarsih S. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publishing. Halaman 58-59, 132-141
- Depkes RI. 2005. *Penyakit Infeksi Staphylococcus di masyarakat*. <http://www.pppl.depkes.go.id>, Diakses pada 27 november 2010 pukul 20.00 WIB.
- Francis, G., Karem, Z., Makkar, HPS., Becker K. 2002. The Biological Action of Saponins in Animal System: a review. *Brithis Journal of Nutrition*, 88: 587-605.
- Ge B., Bodei S., Walker R.D., White D.G., Zhao S., McDermott F.P., Meng J. 2002. Comparison of the Etest and agar dilution for *in vitro* antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter*. <http://jac.oxfordjournals.org/content/50/4/487.full>. Diakses tanggal 8 Januari pukul 09.00 WIB.
- Gitawati, R., Isnawati, A. 2007. *Pola Sensitivitas Kuman dari Isolat Hasil Usap Tenggorok Penderita Tonsilofaringitis Akut Terhadap Beberapa Antimikroba Betalaktam di Puskesmas Jakarta Pusat*. http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/144_10PolaSensitivitasKuman.pdf/144_10PolaSensitivitasKuman.html. Diakses tanggal 22 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Ismawati, E. 2002. Perikehidupan Seledri (*Apium graveolens* L.). <http://www.docstoc.com/docs/24594280/EUIS-SELEDRI>. Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Jawetz E., Levinson E. W. 2002. *Medical Microbiology and Immunology 7th edition*. New York: Lange Medical Book.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2001. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 24th Edition by Vishal*. USA: Mx Graw Hill.
- Keiser, JF., Smith, TF., Weissfield, AS. 1994. *Clinical and Pathogenic Microbiology*. St.Louis: Richard C. Tilton. Halaman 243-254.

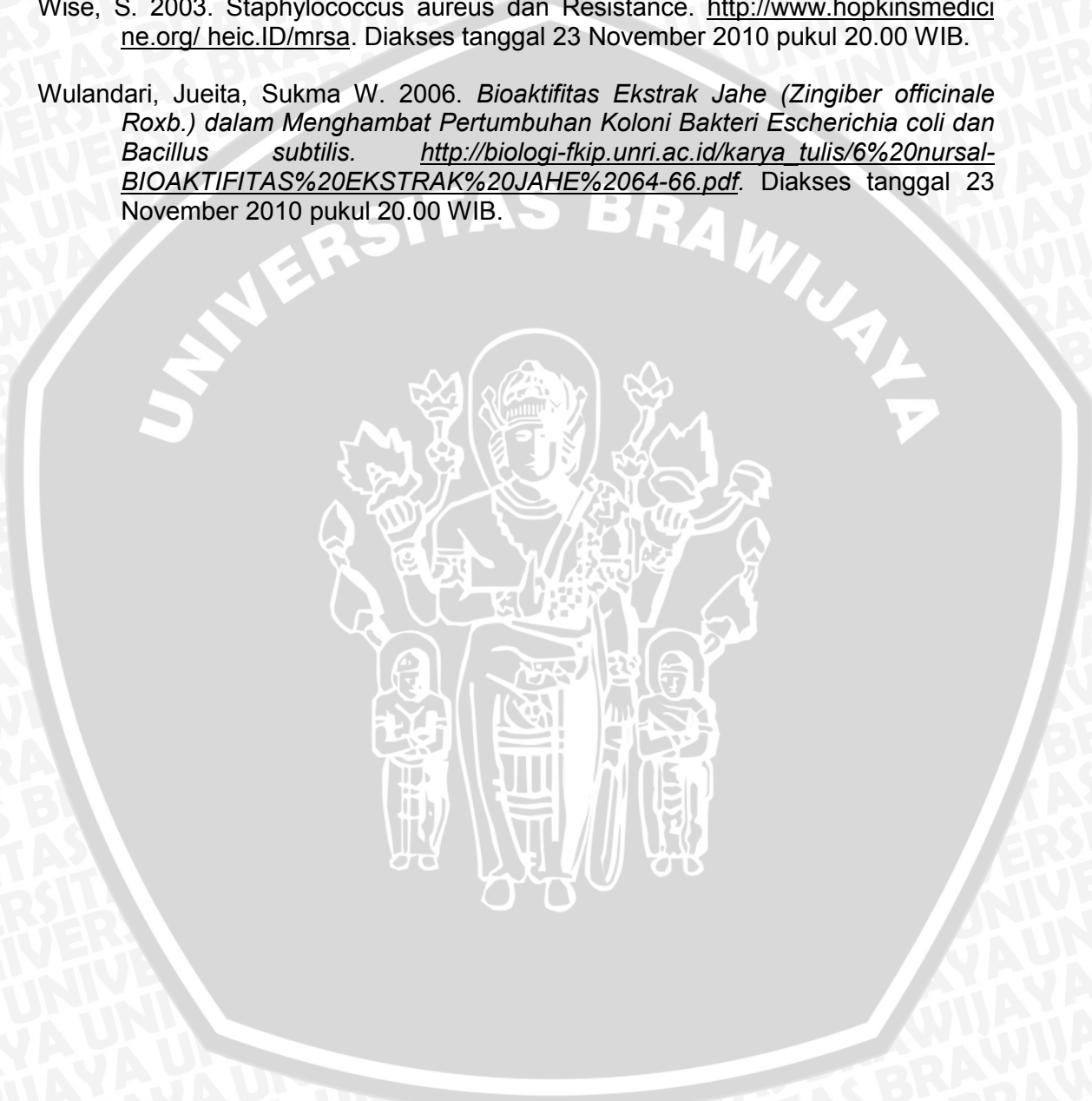
- Johnson A. 2007. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infection*. <http://www.netdoctor.co.uk/diseases/facts/mrsa.htm>. Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Kayser H. F., Bienz K. A., Eckert J., Zinkernagel M. R. 2005. *Medical Microbiology*. New York: Stuttgart Thieme.
- Todar, K. 2008. *The Staphylococci*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html>. Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Laxmi Enterprises. 2010. Celery Seeds. http://wholespices.tradeindia.com/Exporters_Suppliers/Exporter20161.339396/Celery-Seeds.html. Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB
- Levinson, W. 2004. *Medical Microbiology and Immunology*. USA: Mc Graw Hill.
- Live and feel. 2010. Benefit of Celery. <http://www.liveandfeel.com/medicinalplants/celery.html>. Diakses pada 22 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- MDidea Exporting Division Extract Professional. 2010. Property, Nutrients and Constituents of Celery Seed (*Apium graveolens* L). http://www.mdidea.com/products/new/new01_805.html. Diakses pada 22 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- MDidea Exporting Division Extract Professional. 2010. Botanical Basic Data of Celery Seed (*Apium graveolens* L). <http://www.mdidea.com/products/new/new01801.html>. Diakses pada 22 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Medicine net*. 2007. Staph Infection. http://www.medicinenet.com/staph_infection/article.htm. Diakses pada 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Melderer, L.V. 2002. *Molecular interaction of the CcdB poison with its bacterial target, the DNA gyrase*. USA: IJMM. Hal : 291, 537 – 544.
- Murray. 2005. *The Encyclopedia of Healing Foods*. USA: Atria Books.
- Naim, R. 2004. *Senyawa Antimikroba dalam Tanaman*. <http://www2.kompas.com/kompas-cetak/0409/15/sorotan/1265264.htm>. Diakses tanggal 2 Desember 2010 pukul 19.00 WIB.
- Notobroto, B.H. 2005. *Penelitian Eksperimental Dalam Materi Praktikum Teknik Sampling dan Perhitungan Besar Sampel Angkatan III*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.

- Organic facts. 2009. Health Benefits of Celery. <http://www.organicfacts.net/health-benefits/vegetable/health-benefits-of-celery.html>. Diakses tanggal 22 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Ozlem, Guclu-Ustunda & Giuseppe Mazza. 2007. Saponin: Properties, Application, and Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol.47 (3): 231-258
- Pusat Data dan Informasi Perhimpunan Rumah Sakit Seluruh Indonesia (PDPERSI). 2005. Obat Tradisional Seledri. <http://swww.pdpersi.co.id/?show=detailnews&kode=1026&tbl=alternatif>. Diakses tanggal 22 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Rainsford, K.D., Liu Z.P. 2006. Anti-Helicobacter Activity of Celery Extract. United States of America : Sheffiled Hallam University.
- Sellappan, S., Akoh, C.C. 2002. Flavonoids and antioxidant activity of Georgia grown Vidalia onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(19): 5338-5342.
- Smith S. 2008. MRSA. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/007261.htm>. Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Socket, D. C., Valley, A. 2006. *Antimicrobial Susceptibility Testing*. Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory. <http://www.Orapinkerd.com>. Diakses tanggal 27 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Solimun. 2001. *Diklat Metodologi Penelitian LKIP&PKM Kelompok Agrokompleks*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Target Woman. 2010. Benefit of Celery. <http://www.targetwoman.com/articles/celery.html>. Diakses tanggal 22 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- Tolan R.W. 2008. Staphylococcus Aureus Infection. <http://www.emedicine.com/ped/topic2704.htm>. Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- The Centre for Security and Public Health IOWA State University. 2006. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. (<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/mrsa.pdf>). Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.
- United States Departement of Agriculture. 2010. *Apium graveolens* L. Wild Celery. <http://plant.usda.gov/java/profile?symbol=APGR2#>. Diakses tanggal 22 november 2010 pukul 20.00.

Verena, S., Lorenz, M. and Stangl, K. 2006. *The role of tea and tea flavonoids in cardiovascular health*. Mol. Nutri. Food res. 50:218-228.

Wise, S. 2003. Staphylococcus aureus dan Resistance. <http://www.hopkinsmedicine.org/heic.ID/mrsa>. Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.

Wulandari, Jueita, Sukma W. 2006. *Bioaktivitas Ekstrak Jahe (Zingiber officinale Roxb.) dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni Bakteri Escherichia coli dan Bacillus subtilis*. http://biologi-fkip.unri.ac.id/karya_tulis/6%20nursal-BIOAKTIFITAS%20EKSTRAK%20JAHE%2064-66.pdf. Diakses tanggal 23 November 2010 pukul 20.00 WIB.



LAMPIRAN 1

UJI NORMALITAS DAN HOMOGENITAS

1. Uji Normalitas Sebaran Data untuk Jumlah Koloni

Untuk menguji apakah sampel penelitian mempunyai sebaran data yang normal, maka dalam penelitian ini digunakan uji Kolmogorov-Smirnov terhadap tiap-tiap variabel.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Bakteri
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.8957
	Std. Deviation	2.07166
Most Extreme Differences	Absolute	.300
	Positive	.300
	Negative	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		1.342
Asymp. Sig. (2-tailed)		.054

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Nilai signifikansi = 0,054 ($p > 0,05$) yang berarti bahwa distribusi data normal.

2. Uji Homogenitas Variansi Data Untuk Jumlah koloni

Test of Homogeneity of Variances

Bakteri			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.669	4	15	.073

Nilai signifikansi = 0,073 ($p > 0,05$) yang berarti data mempunyai ragam (varians) yang relatif homogen.

LAMPIRAN 2

UJI ANOVA

One-Way

Descriptives

Bakteri

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0%	4	6.7367	.06792	.03396	6.6286	6.8447	6.68	6.83
5%	4	2.8608	.03931	.01966	2.7983	2.9234	2.81	2.89
6%	4	2.0307	.06576	.03288	1.9260	2.1353	1.96	2.11
7%	4	1.8973	.13360	.06680	1.6847	2.1099	1.79	2.09
8%	4	.9529	.34809	.17405	.3990	1.5068	.48	1.30
Total	20	2.8957	2.07166	.46324	1.9261	3.8652	.48	6.83

ANOVA

Bakteri

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	81.095	4	20.274	678.048	.000
Within Groups	.449	15	.030		
Total	81.543	19			

Nilai signifikansi = 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi terhadap jumlah koloni.

Post Hoc Tests (Tukey HSD)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Bakteri
Tukey HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	5%	3.87583 *	.12227	.000	3.4983	4.2534
	6%	4.70599 *	.12227	.000	4.3284	5.0836
	7%	4.83936 *	.12227	.000	4.4618	5.2169
	8%	5.78376 *	.12227	.000	5.4062	6.1613
5%	0%	-3.87583 *	.12227	.000	-4.2534	-3.4983
	6%	.83016 *	.12227	.000	.4526	1.2077
	7%	.96353 *	.12227	.000	.5860	1.3411
	8%	1.90792 *	.12227	.000	1.5304	2.2855
6%	0%	-4.70599 *	.12227	.000	-5.0836	-4.3284
	5%	-.83016 *	.12227	.000	-1.2077	-.4526
	7%	.13337	.12227	.809	-.2442	.5109
	8%	1.07776 *	.12227	.000	.7002	1.4553
7%	0%	-4.83936 *	.12227	.000	-5.2169	-4.4618
	5%	-.96353 *	.12227	.000	-1.3411	-.5860
	6%	-.13337	.12227	.809	-.5109	.2442
	8%	.94439 *	.12227	.000	.5668	1.3220
8%	0%	-5.78376 *	.12227	.000	-6.1613	-5.4062
	5%	-1.90792 *	.12227	.000	-2.2855	-1.5304
	6%	-1.07776 *	.12227	.000	-1.4553	-.7002
	7%	-.94439 *	.12227	.000	-1.3220	-.5668

*. The mean difference is significant at the .05 level.



Homogeneous Subsets

Bakteri

Tukey HSD^a

Konsentrasi	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
8%	4	.9529			
7%	4		1.8973		
6%	4		2.0307		
5%	4			2.8608	
0%	4				6.7367
Sig.		1.000	.809	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.



LAMPIRAN 3

UJI KORELASI DAN REGRESI

Correlations

Correlations			
		Koloni Bakteri	Konsentrasi
Pearson Correlation	Koloni Bakteri	1.000	-.992
	Konsentrasi	-.992	1.000
Sig. (1-tailed)	Koloni Bakteri	.	.000
	Konsentrasi	.000	.
N	Koloni Bakteri	20	20
	Konsentrasi	20	20

Regression

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.992 ^a	.984	.983	.27119

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

ANOVA^b

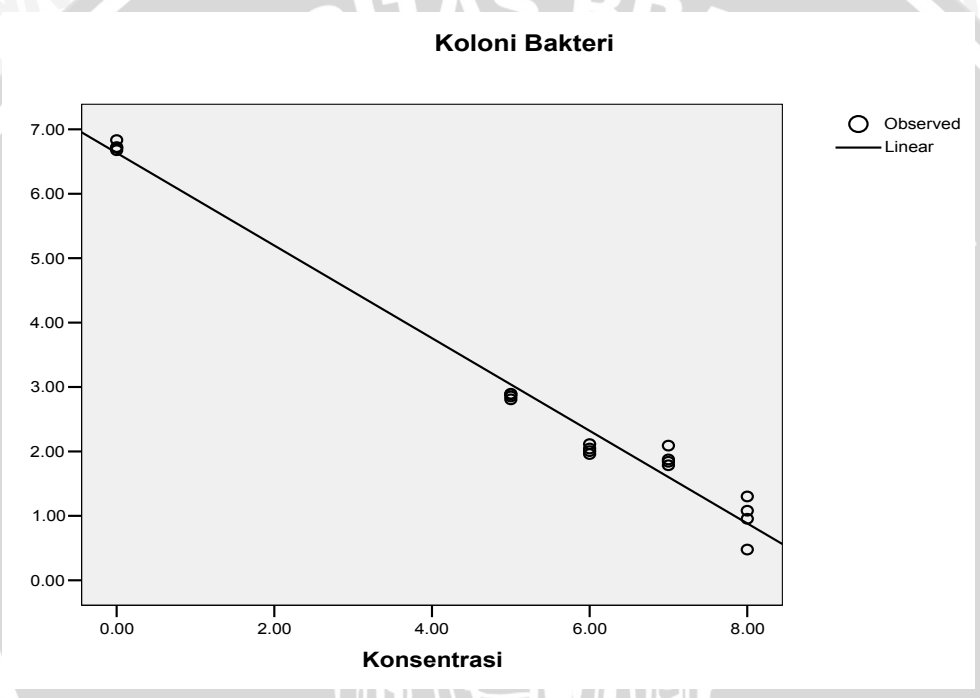
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	80.220	1	80.220	1090.794	.000 ^a
	Residual	1.324	18	.074		
	Total	81.543	19			

- a. Predictors: (Constant), Konsentrasi
- b. Dependent Variable: Koloni Bakteri

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	6.634	.128		51.662	.000
	Konsentrasi	-.719	.022	-.992	-33.027	.000

a. Dependent Variable: Koloni Bakteri



Grafik Persamaan Linier Uji Regresi dengan persamaan $Y = 6,634 - 0,719 X$

LAMPIRAN 4

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ni Made Savitri Devi

NIM : 0810713074

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan Tugas Akhir ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 7 November 2011

Yang Membuat Pernyataan,

Ni Made Savitri Devi

0810713074