

**EKSTRAK METANOL KULIT PISANG AMBON MUDA
(*Musa paradisiaca L.*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :
Annie Minerva
NIM. 0910714026

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EKSTRAK METANOL KULIT PISANG AMBON MUDA
(*Musa paradisiaca L.*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP
BAKTERI *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

Annie Minerva

NIM : 0910714026

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 3 Oktober 2012

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

drg.Prasetyo Adi, MS

NIP. 195604161983031003

Pembimbing I/Penguji II

Pembimbing II/Penguji III

Prof.Dr.dr.Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK

NIP. 19501110 1980021 001

Dr.drg.Nur Permatasari, MS

NIP. 19601005 1991032001

Mengetahui :

Ketua Program Studi

Prof.Dr.dr.Teguh Wahyu S., DTM&H., MSc., Sp.Par(K)

NIP. 195204101980021001

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur bagi Tuhan Yesus Kristus atas berkat, hikmat dan penyertaan-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Ekstrak Metanol Kulit Pisang Ambon Muda (*Musa paradisiaca* L.) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*”

Ketertarikan penulis pada topik ini didasari oleh fakta bahwa bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu penyebab penyakit diare yang masih banyak terjadi di kalangan anak-anak maupun orang dewasa. Di sisi lain, telah ditemukan resistensi bakteri *Escherichia coli* terhadap beberapa jenis antibiotik sehingga diperlukan adanya bahan baru yang berpotensi untuk mencegah perluasan resistensi. Hal ini didukung dengan banyaknya kulit pisang yang hanya terbuang sia-sia dan ternyata terdapat potensi antimikroba di dalam kulit pisang tersebut. Oleh karena itu, penulis menggunakan kulit pisang ambon muda yang banyak tumbuh di daerah tropis seperti di Indonesia.

Dalam proses penulisan tugas akhir ini, penulis juga didukung oleh berbagai pihak. Melalui kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Noorhamdani AS, DMM, SpMK., selaku dosen pembimbing pertama yang telah banyak memberikan masukan dan dukungan sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan. Terima kasih juga untuk banyak nasihat,

dorongan, dan semangat yang telah diberikan dengan kesabaran serta pengertiannya.

3. Dr. drg. Nur Permatasari, MS., selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan dukungan sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. drg. Prasetyo Adi, MS., selaku dosen penguji atas saran dan kritik yang telah diberikan sehingga dapat menyempurnakan tugas akhir ini.
5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, dr. Soemardini, MPd. dan Dra. Sri winarsih, Apt. Msi yang telah memberikan banyak informasi, bantuan, dan dukungan.
6. Yang terkasih dan tercinta, papa, mama, dan adik-adikku yang telah memberikan dukungan dan doa yang tidak pernah berhenti dalam bentuk moral maupun materi sehingga tugas akhir ini berjalan lancar.
7. Teman-teman jurusan Pendidikan Dokter angkatan 2009 khususnya pdB 2009 atas persahabatannya selama ini.
8. Sahabatku tersayang Samuel Denny Lawanto, Nathan Willyanto, dan Theola Valencia pdB 2009 atas dukungannya selama proses pembuatan tugas akhir ini.
9. Segenap staf Laboratorium Mikrobiologi, terutama Mas Slamet, Mas Hendri, Bu Yati, dan Bu Uci yang telah banyak memberikan informasi dan bantuan dalam proses penelitian tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima segala saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 25 Agustus 2012

Penulis



ABSTRAK

Minerva, Annie. 2012. **Ekstrak Metanol Kulit Pisang Ambon Muda (*Musa paradisiaca L.*) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara in Vitro.** Tugas akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Prof.Dr.dr.Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK. (2) Dr.drg. Nur Permatasari, MS.

Escherichia coli adalah salah satu patogen penyebab diare pada anak maupun dewasa. *Escherichia coli* cepat menjadi resisten terhadap banyak obat antimikroba sehingga menimbulkan masalah terapi yang sulit. Salah satu alternatif terapi adalah dengan bahan alami, yaitu kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*). Kandungan aktif kulit pisang ambon muda yang diduga bermanfaat sebagai antimikroba adalah tannin dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antimikroba ekstrak metanol kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*) terhadap *Escherichia coli*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris murni dengan *post test only control group design*, menggunakan metode dilusi agar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Konsentrasi ekstrak metanol yang digunakan yaitu 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan 17,5% dengan empat kali perulangan. Hasil uji statistik Kruskal Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak metanol kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ($p < 0,05$). Uji statistik Mann Whitney menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah koloni *Escherichia coli* yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak metanol kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*). Uji korelasi Spearman menunjukkan adanya hubungan yang erat antara konsentrasi ekstrak dengan pertumbuhan bakteri (Korelasi, $r = -0,989$; $p < 0,05$). Kesimpulan penelitian ini yaitu ekstrak metanol kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*) mempunyai pengaruh sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli* dengan kadar hambat minimum (KHM) 10% dan kadar bunuh minimum (KBM) 17,5%.

Kata kunci : kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*), antimikroba, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Minerva, Annie. 2012. **Methanol Extract of Unripe Banana (*Musa paradisiaca L.*) Peel as an Antimicrobial Against *Escherichia coli* in Vitro**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof.Dr.dr.Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK. (2) Dr.drg. Nur Permatasari, MS.

Escherichia coli is one of pathogens caused diarrhoea in children and adults. *Escherichia coli* is quickly becoming resistant to many antimicrobial drugs and lead to a difficult therapeutic problems. One natural alternative therapy that can be used is unripe banana (*Musa paradisiaca L.*) peel extract. The active compositions of banana peel (*Musa paradisiaca L.*) which allegedly useful as antimicrobial are tannin and flavonoid. This study aims to determine the antimicrobial potency of unripe banana (*Musa paradisiaca L.*) peel against *Escherichia coli*. This study is an experimental research laboratory using post test only control group design, done by agar dilution method. Samples used in this study were *Escherichia coli* derived from Microbiology Laboratory of Medical Faculty Brawijaya University, Malang. Concentration of the methanol extract used is 7.5%, 10%, 12.5%, 15%, and 17.5% with four repetitions. Kruskal Wallis test results showed statistically significant difference in changes in the concentration of unripe banana (*Musa paradisiaca L.*) peel in methanol extracts on the growth of *Escherichia coli* ($p < 0.05$). Mann Whitney test showed that there was a significant decreasing amount of *Escherichia coli* colonies together with the increasing dose of methanol extract (*Musa paradisiaca L.*). Spearman correlation test showed a close relationship between the concentration of the extract with bacterial growth (correlation, $r = -0.989$, $p < 0.05$). Conclusion of the research is methanol extract of unripe banana (*Musa paradisiaca L.*) peel has effect as an antimicrobial against *Escherichia coli* which the level of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is 10% and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) is 17.5%.

Keywords : unripe banana (*Musa paradisiaca L.*) peel, antimicrobial, *Escherichia coli*.

DAFTAR ISI

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	vi
Abstrack	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar	xii
Daftar Tabel	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv

BAB I PENDAHULUAN

1.1	Latar
Belakang Masalah	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	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Klinis	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diare	6
-----------------	---



2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Etiologi Diare.....	7
2.1.3 Patofisiologi Diare	10
2.1.4 Klasifikasi Diare	13
2.1.5 Manifestasi Klinis dan Diagnosis Diare	16
2.1.6 Terapi dan Prevensi Diare	18
2.2 <i>Escherichia coli</i>	21
2.2.1 Taksonomi	21
2.2.2 Morfologi	22
2.2.3 Gambar	22
2.2.4 Struktur Antigen	23
2.2.5 Penentu Patogenesitas	25
2.2.6 Medium Perbenihan	27
2.2.7 Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	28
2.2.8 Infeksi <i>Escherichia coli</i> Lainnya	29
2.3 Antimikroba	30
2.3.1 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba <i>in Vitro</i>	32
2.4 Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM)	34
2.5 Tannin dan Flavonoid	35
2.5.1 Tannin	35
2.5.2 Flavonoid	37
2.5.3 Isoflavon	38
2.5.4 Peran <i>Condensed Tannin</i> dan Flavonoid sebagai Antimikroba	38



2.6 Pisang (<i>Musa paradisiaca</i>)	40
2.6.1 Taksonomi	40
6.2 Gambar	41
2.6.3 Deskripsi <i>Musa paradisiaca</i>	41
2.6.4 Deskripsi Pisang Ambon	42
2.6.5 Kandungan Pisang dan Kulit Pisang Ambon	43
2.7 Hubungan antara Diare, <i>Escherichia coli</i> , Tannin, Flavonoid, dan Kulit Pisang Ambon Muda	44
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	47
3.2 Hipotesis Penelitian	48
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	49
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	49
4.2.1 Waktu Penelitian	49
4.2.2 Lokasi Penelitian	49
4.3 Sampel Penelitian	49
4.4 Estimasi Jumlah Sampel Minimal	49
4.5 Variabel Penelitian	50
4.5.1 Variabel Bebas	50
4.5.2 Variabel Tergantung	50
4.6 Definisi Operasional	50
4.7 Alat dan Bahan	51



4.7.1 Alat dan Bahan untuk Kultur Bakteri	51
4.7.2 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan Gram	51
4.7.3 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang	51
4.7.4 Alat dan Bahan untuk Dilusi Tabung	52
4.8 Prosedur Penelitian	52
4.8.1 Identifikasi Bakteri	52
4.8.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	54
4.8.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang	55
4.8.4 Uji Sensitivitas Mikroba	56
4.9 Analisis Data	60
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Data Hasil Penelitian	61
5.1.1 Identifikasi <i>Eshcherichia coli</i>	61
5.1.2 Hasil Penentuan KHM	62
5.1.3 Hasil Penentuan KBM	64
5.2 Analisis Data	66
BAB VI PEMBAHASAN	
6.1 <i>Escherichia coli</i>	68
6.2 Kadar Hambat Minimal (KHM)	68
6.3 Kadar Bunuh Minimal (KBM)	73
BAB VII PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	76
7.2 Saran	76



DAFTAR PUSTAKA	78
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	87
LAMPIRAN	88



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Bakteri <i>Escherichia coli</i> dengan mikroskop	22
Gambar 2.2	Koloni <i>Escherichia coli</i>	23
Gambar 2.3	<i>Escherichia coli</i> di bawah mikroskop	23
Gambar 2.4	Struktur Kimia Ellagitannin	36
Gambar 2.5	Struktur Kimia Gallotannin	36
Gambar 2.6	Struktur Kimis <i>Condensed Tannin</i>	37
Gambar 2.7	Struktur Kimia Macam-macam Flavonoid	38
Gambar 2.8	Buah Pisang Ambon	41
Gambar 2.9	Pohon <i>Musa paradisiaca</i>	41
Gambar 3.1	Kerangka konsep penelitian	47
Gambar 4.1	Kerangka Operasional Penelitian	59
Gambar 5.1	<i>E.coli</i> dengan pengecatan Gram	61
Gambar 5.2	Hasil Scan <i>Microbact Test</i>	62
Gambar 5.3	Dilusi Tabung dengan Beberapa Konsentrasi Ekstrak Kulit Pisang terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i>	63
Gambar 5.4	Hasil <i>Streaking Escherichia coli</i> pada Medium NAP untuk uji KBM	65
Gambar 5.5	Kurva Regresi Linier Jumlah Koloni untuk Masing-Masing Konsentrasi Ekstrak Kulit Pisang Dimulai dari Konsentrasi Rendah ke Konsentrasi Tinggi	66

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Epidemiologi Diare Akut di Negara Maju dan Berkembang	6
Tabel 2.2	Etiologi Diare oleh Bakteri, Virus, dan Parasit	7
Tabel 2.3	Evaluasi Pasien Diare Akut	17
Tabel 2.4	Terapi Berdasarkan Derajat Dehidrasi	18
Tabel 2.5	Vitamin yang Terkandung dalam Pisang Ambon	43
Tabel 4.1	Persiapan Ekstrak Kulit Pisang Ambon	58
Tabel 5.1	Jumlah Koloni <i>Escherichia coli</i> pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Kulit Pisang Ambon	64
Tabel 5.2	Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney	68



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penelitian Pendahuluan	88
Lampiran 2. Kebun Pisang Sukoanyar, Wajak	89
Lampiran 3. Uji Normalitas dan Homogenitas	90
Lampiran 4. Uji Beda Non Parametrik Kruskal Wallis	92
Lampiran 5. Uji Multi Komparasi Non Parametrik Mann Whitney	93
Lampiran 6. Uji Korelasi Non Parametrik Spearman	101
Lampiran 7. Uji Regresi Linier	102

DAFTAR SINGKATAN

AMP	: Adenosine Monophospate
<i>B.subtilis</i>	: <i>Bacillus subtilis</i>
CFA	: Colonization Factor Antigen
CFU	: Colony Forming Unit
DII	: dan lain-lain
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
EAF	: EPEC Adherence Factor
<i>E.coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
GMP	: Guanosine Monophospate
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
IBD	: Inflammatory Bowel Disease
ISK	: Infeksi Saluran Kemih
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KHM	: Kadar Hambat Minimum
KN	: Kontrol Negatif
KP	: Kontrol Positif
LPS	: Lipo Poli Sakarida
mg	: miligram
MH Broth	: <i>Mueller Hinton Broth</i>
ml	: mililiter
MRS	: Masuk Rumah Sakit
NAP	: <i>Natrium Agar Plate</i>

NS	: Normal Saline
NTB	: Nusa Tenggara Barat
OI	: Original Inoculum
<i>P.aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S.aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S.dysenteriae</i>	: <i>Shigella dysenteriae</i>
<i>S.flexneri</i>	: <i>Shigella flexneri</i>
TDA	: Tryptophan Deaminase
VIP	: Vasoactive Intestinal Polypeptide
VP	: Vogues Proskauer
<i>V.parahaemolyticus</i>	: <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
°C	: derajat Celcius

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini, penyakit infeksi masih menempati urutan teratas penyebab masalah kesehatan di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Infeksi merupakan masalah penting bagi dunia kesehatan karena angka morbiditas dan mortalitasnya masih terbilang tinggi. Dari sekian banyak penyakit infeksi, diare merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas tinggi dikalangan semua usia pada negara-negara berkembang khususnya Asia Tenggara. Kasus diare mencapai 1 milyar dan mortalitas sebanyak 5 juta pertahun pada anak usia di bawah 5 tahun. Sebanyak 80% anak meninggal karena diare pada 2 tahun pertama usia mereka (Carlos and Sanieel, 2006). Di Indonesia, angka mortalitas berkisar antara 1-18 per 1000 pada anak usia kurang dari lima tahun dan mortalitas tertinggi dilaporkan pada anak usia kurang dari satu tahun. Oleh sebab itu, kasus diare di Indonesia menempati urutan ketiga penyebab morbiditas dan mortalitas pada bayi dan balita (Lee *et al.*, 2007).

Diare bisa disebabkan oleh bakteri, virus dan parasit melalui produksi toksin dan invasi jaringan oleh mikroorganisme tersebut. Salah satu etiologi diare oleh bakteri adalah *Escherichia coli* (*E.coli*) yang merupakan flora normal saluran cerna manusia. *Escherichia coli* termasuk dalam famili enterobacteriaceae genus escherichia memiliki berbagai macam galur yang memainkan peranan penting dalam penyakit gastrointestinal (diare). Bakteri ini diklasifikasikan berdasarkan karakteristik faktor virulensinya dan tiap grup menginfeksi dengan mekanisme yang berbeda-beda. Galur *Escherichia coli* patogen meliputi lima jenis, yakni *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) yang menyebabkan diare pada bayi baru lahir khususnya di negara-negara berkembang, *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) merupakan etiologi umum *travellers' diarrhea*, *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC), *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) menyebabkan penyakit yang serupa dengan shigellosis dan *Enteraggregative Escherichia coli* (EAEC) penyebab diare akut dan kronis (Brooks *et al.*, 2004; Carlos and Saniel, 2006). Definisi dari diare sendiri adalah frekuensi pengeluaran dan kekentalan feses yang tidak normal. Diare oleh *Escherichia coli* biasanya terbagi menjadi tiga jenis, yaitu enteritis akut, *dysentery-like disease* (feses bercampur lendir dan darah), dan kolitis hemoragik atau *bloody diarrhea* (Dorland, 2002; Greenwood *et al.*, 1992).

Pengobatan diare yang pertama kali adalah dengan rehidrasi, namun diare yang disebabkan oleh bakteri, virus, dan parasit dapat diobati dengan antibiotik. Namun, saat ini resistensi mikroba terhadap antibiotik semakin meningkat. Banyak alasan yang dapat menimbulkan resistensi terhadap antibiotik, seperti pada mereka yang sering mengonsumsi antibiotik sebelumnya (konsumsi berlebihan),

penggunaan dengan dosis yang tidak tepat atau tidak menyelesaikan pengobatan hingga tuntas. *Escherichia coli* yang sebelumnya dikenal sebagai patogen yang sensitif terhadap antibiotik, mulai mengalami resistensi sejak lebih dari satu dekade ini (Kuntaman *et al.*, 2005). Tes sensitivitas terhadap 12 jenis antibiotik dan kombinasinya dilakukan pada 901 koloni *Escherichia coli* 0157:H7 yang diisolasi tahun 1997-2000 membuktikan sebanyak 6,6% koloni resisten terhadap lebih dari satu jenis antibiotik. Resistensi terbesar ditemukan pada tertrasiklin (98%) diikuti dengan streptomisin (66%) kemudian ampicilin (9%) dan sebanyak 68% koloni merupakan *multidrug resistant* (ASM, 2004; Anonymous^a, 2006).

Dengan adanya resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik tertentu, angka morbiditas dan mortalitas juga turut meningkat. Menanggapi hal tersebut, maka perlu dikembangkan pengobatan alternatif tanpa menggunakan kandungan kimiawi dalam antibiotik, tetapi memanfaatkan bahan aktif yang terkandung dalam tanaman (bahan alam). Produk yang terbuat dari bahan-bahan alam ternyata telah menjadi alternatif utama dalam pengobatan berbagai penyakit dan sekitar 80% masyarakat di negara berkembang masih menggunakan obat-obat tradisional sebagai terapi (Verma and Singh, 2008). Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*) yang dipercaya masyarakat dapat menyembuhkan berbagai penyakit infeksi, diantaranya diare oleh *Escherichia coli*. Kandungan fenolik dan bahan aktif lain seperti tannin dan flavonoid yang terkandung dalam kulit pisang ambon muda dapat dipertimbangkan sebagai antimikroba pilihan dalam mengatasi resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik (Ahmad and Beg, 2001; Chanda *et al.*, 2011).

Sejauh penelurusan yang telah dilakukan, ada beberapa penelitian menggunakan ekstrak kulit pisang sebagai antimikroba terhadap *Salmonella typhii*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* di mana keempat bakteri ini adalah jenis bakteri gram negatif. Berdasarkan penelitian-penelitian terdahulu, pada penelitian ini akan dilakukan penelitian efek ekstrak kulit pisang ambon terhadap *Escherichia coli* yang juga termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif (Biswas *et al.*, 2011).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak metanol kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*) memiliki efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui bahwa ekstrak metanol kulit pisang ambon muda memiliki efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- Menentukan besarnya Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak metanol kulit pisang ambon muda terhadap bakteri *Escherichia coli*.
- Mengetahui hubungan antara besar konsentrasi ekstrak dengan efek antimikroba kulit pisang ambon muda terhadap *Escherichia coli*.

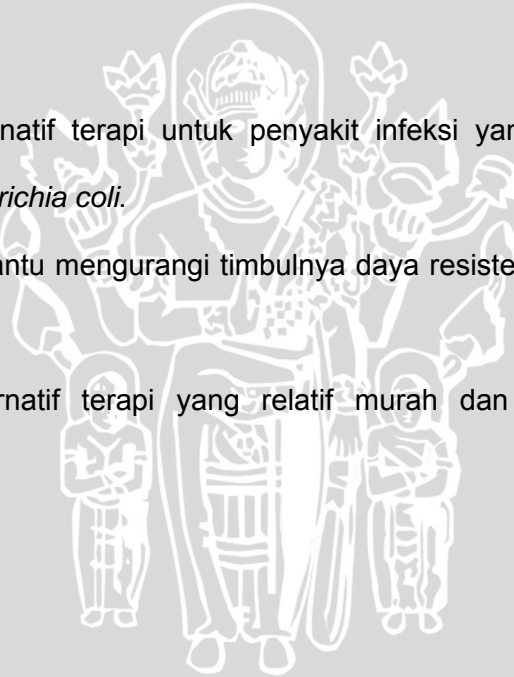
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

- a. Dapat memberikan dasar ilmiah mengenai penggunaan ekstrak metanol kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*) sebagai antimikroba pada penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*.
- b. Memberikan kesempatan kepada peneliti lain untuk meneliti lebih lanjut mengenai efek farmakologi yang terdapat pada ekstrak kulit pisang sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli*.

1.4.2 Manfaat Klinis

- a. Sebagai alternatif terapi untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*.
- b. Dapat membantu mengurangi timbulnya daya resistensi bakteri terhadap antibiotik.
- c. Sebagai alternatif terapi yang relatif murah dan mudah ditemukan masyarakat.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diare

2.1.1 Definisi

Diare adalah frekuensi pengeluaran dan kekentalan feses yang tidak normal (Dorland, 2002). Sumber lain mengartikan diare sebagai pengeluaran feses cair atau kental lebih dari tiga kali sehari atau lebih dibandingkan individu normal, biasanya merupakan gejala infeksi gastrointestinal yang dapat disebabkan oleh beragam jenis bakteri, virus, dan parasit, infeksi menyebar melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi atau kontak langsung dengan manusia. Angka morbiditas dan mortalitas diare cukup tinggi di negara-negara berkembang, utamanya dikalangan anak-anak usia kurang dari 1 tahun. Mortalitas diare di negara maju memang relatif kurang, namun kasus ini masih dianggap penting karena dapat menimbulkan morbiditas di masyarakat (Karsten *et al.*, 2009; Farthing *et al.*, 2008).

Tabel 2.1 Epidemiologi Diare Akut di Negara Maju dan Berkembang (Farthing *et al.*, 2008)

Per tahun	Kisaran episode diare akut	MRS	Meninggal
USA	375 juta–1,4 episode per orang per Tahun	900.000	6.000

Dunia	> 1,5 juta pasien anak rawat jalan 1,5 milyar episode anak < 5 tahun di negara berkembang, anak < 3 tahun mengalami 3 episode per tahun	200.000	300
-------	---	---------	-----

2.1.2 Etiologi Diare

Tabel 2.2 Etiologi Diare oleh Bakteri, Virus, dan Parasit (Farthing *et al.*, 2008; Dzen, dkk., 2003)

Bakteri	Virus	Parasit
<i>Vibrio cholera</i> 02, 0239	Rotavirus	Protozoa :
<i>Vibrioparahaemolyticus</i>	Calicivirus	Giardia intestinalis
<i>Escherichia Coli</i>	Adenovirus	Cryptosporidium intestinales
<i>Campylobacter jejuni</i>	Astrovirus	Entamoeba histolytica
<i>Bacterioides fragilis</i>	Cytomegalovirus	Cyclospora cayetanensis
<i>Clostridium dificile</i>	Coronavirus	Dientamoeba fragilis
<i>Helicobacter pylori</i>		Blastomycosis homonis
<i>Salmonellae</i>		Helminth :
<i>Yersinia enterocolitica</i>		Strongyloides stercoralis
<i>Shigella species</i>		Schistosoma japonicum

Berikut ini adalah penjabaran etiologi diare oleh bakteri:

a. *Escherichia coli*

Semua jenis *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare pada anak-anak khususnya di negara yang sedang berkembang, namun Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC, termasuk *Escherichia coli* 0157:H7) merupakan penyebab tersering di negara maju.

- *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) menyebabkan *travelers' diarrhea* dan pada anak di negara berkembang.

- *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) menyebabkan diare pada anak usia < 2 tahun; diare kronik pada anak; jarang pada orang dewasa.
- *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) menyebabkan *bloody mucoid diarrhea* dan demam
- *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) menyebabkan *bloody diarrhea*; kolitis hemoragik yang parah dan sindrom hemolitik uremik.
- *Enteraggregative Escherichia coli* (EAggEC) menyebabkan diare berair pada anak; persisten diare pada orang dewasa dengan HIV.

b. *Campylobacter*

Bakteri jenis ini adalah bakteri tersering yang diisolasi dari feses bayi dan anak-anak. Infeksinya asimtomatik dan sering dikaitkan dengan keberadaan hewan ternak di sekitar tempat tinggal. Infeksinya sering menimbulkan diare berair dan diare akut berdarah. Keberadaan hewan ternak di sekitar area memasak menjadi faktor resiko terjadinya infeksi ini.

c. *Shigella species*

Pada umumnya menginfeksi anak usia 3-5 tahun dan kasusnya tercatat sebanyak 160 juta tiap tahunnya. Infeksi oleh *S.sonnei* lebih banyak terjadi di negara maju dengan gejala ringan, sedangkan *S.flexneri* menimbulkan gejala seperti disentri di negara berkembang, *S.dysenteriae* tipe 1 memproduksi Shiga toxin seperti EHEC yang menyebabkan diare berdarah dan kasusnya fatal hingga 10% di Asia, Afrika, dan Amerika pusat.

d. *Vibrio cholerae*

Vibrio memiliki banyak jenis spesies yang dapat menyebabkan diare. *V. Cholerae* serogrup O1 dan O139 dapat mengakibatkan pengurangan cairan yang banyak dan cepat, jika tidak ditangani secara tepat dan rehidrasi yang cukup, syok hipovolemik, dan kematian bisa terjadi dalam waktu 12-18 jam setelah gejala awal. Gejalanya berupa muntah, diare berair, tak berwarna disertai mukus, hipogilkemi dapat menyebabkan kejang dan kematian pada anak-anak (Kasper and Fauci, 2010).

e. *Salmonella*

Semua serotipe *salmonella* (> 2000) adalah patogen bagi manusia, bayi, dan orangtua memiliki potensi yang lebih besar terkena infeksi ini. Gejala infeksi *salmonella* meliputi mual, muntah, dan diare berair atau disentri yang akut, bisa juga disertai demam (pada 70% anak) yang berlangsung selama 3 minggu atau lebih, bakteriemia meliputi 1-5% pada bayi. *Salmonella typhi* atau *paratyphi A*, B, atau C adalah agen penyebab demam tifoid.

Etiologi oleh virus dapat disebabkan oleh:

a. Rotavirus

Virus ini merupakan penyebab utama dehidrasi gastroenteritis yang parah dikalangan anak-anak dan termasuk sepertiga dari kasus diare di rumah sakit yang menyebabkan kematian 500.000 orang tiap tahun di seluruh dunia.

b. Human calicivirus (HuCV)

Virus ini termasuk dalam famili *caliciviridae* bersama dengan norovirus dan sapovirus. Norovirus adalah penyebab utama wabah gastroenteritis yang menyerang segala usia, sapovirus biasanya menyerang anak-anak. Human

calicivirus menempati urutan kedua setelah rotavirus yang menjadi agen utama penyebab diare, terhitung sebanyak 4-19% episode gastroenteritis pada anak.

c. Adenovirus

Infeksi oleh adenovirus biasanya menyerang saluran pernapasan, namun beberapa serotipe tertentu dapat menyebabkan gastroenteritis khususnya pada anak.

Etiologi oleh parasit dapat disebabkan oleh *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica*, dan *Cyclospora cayetanensis* adalah jenis parasit yang paling sering dijumpai pada penyakit diare akut yang menyerang anak-anak. *Cryptosporidium* dan *Cyclospora* biasanya menginfeksi tanpa menimbulkan gejala (Carlos and Saniel, 2006).

2.1.3 Patofisiologi Diare

Saluran pencernaan berfungsi dalam menyerap cairan, elektrolit, dan berbagai nutrisi. Diare terjadi ketika fungsi-fungsi dari saluran pencernaan yang telah disebutkan di atas terganggu dan volume feses menjadi berlebihan. Volume feses yang normal adalah sekitar 100 g perhari, tetapi individu dengan konsumsi serat yang tinggi dapat mengeluarkan feses dengan volume sampai dengan 500 g perhari. Definisi klinis dari diare adalah volume feses yang melebihi 250 g perhari. Diare merupakan gangguan keseimbangan air dan elektrolit dalam usus (Fauci *et al.*, 2008).

Diare yang terjadi karena infeksi dapat diklasifikasikan secara klinis dan patofisiologis menjadi diare non-inflamasi dan diare inflamasi. Diare Inflamasi

disebabkan invasi bakteri dan sitotoksin di kolon dengan manifestasi sindroma disentri dengan diare yang disertai lendir dan darah. Pada diare non-inflamasi, diare disebabkan oleh enterotoksin yang mengakibatkan diare cair dengan volume yang besar tanpa lendir dan darah. Mekanisme terjadinya diare yang akut maupun yang kronik dapat dibagi menjadi kelompok osmotik, sekretorik, eksudatif, dan gangguan motilitas. Diare osmotik terjadi bila ada bahan yang tidak dapat diserap meningkatkan osmolaritas dalam lumen yang menarik air dari plasma sehingga terjadi diare. Contohnya adalah malabsorpsi karbohidrat akibat defisiensi laktase atau akibat garam magnesium. Diare sekretorik bila terjadi gangguan transport elektrolit baik absorpsi yang berkurang ataupun sekresi yang meningkat. Hal ini dapat terjadi akibat toksin yang dikeluarkan bakteri misalnya toksin kolera atau pengaruh garam empedu, asam lemak rantai pendek, atau laksatif non-osmotik. Beberapa hormon intestinal seperti *gastrin vasoactive intestinal polypeptide (VIP)* juga dapat menyebabkan diare sekretorik. Diare eksudatif, inflamasi akan mengakibatkan kerusakan mukosa baik usus halus maupun usus besar (Kaufman, 1996; Fauci *et al.*, 2008).

Inflamasi dan eksudasi dapat terjadi akibat infeksi bakteri atau bersifat non-infeksi seperti *gluten sensitive enteropathy, inflammatory bowel disease (IBD)*, atau akibat radiasi. Diare dapat terjadi akibat lebih dari satu mekanisme. Pada infeksi bakteri paling tidak ada dua mekanisme yang bekerja dalam peningkatan sekresi usus dan penurunan absorpsi di usus. Infeksi bakteri menyebabkan inflamasi dan mengeluarkan toksin yang menyebabkan terjadinya diare. Infeksi bakteri yang

invasif mengakibatkan perdarahan atau adanya leukosit dalam feses (Zein *et al.*, 2004; Bailen, 2007).

Satu bakteri dapat menggunakan satu atau lebih mekanisme tersebut untuk dapat mengatasi pertahanan mukosa usus. Penjabaran mekanismenya adalah sebagai berikut:

a. Adhesi

Mekanisme adhesi yang pertama terjadi dengan ikatan antara struktur polimer fimbria atau pili dengan reseptor atau ligan spesifik pada permukaan sel epitel. Fimbria terdiri atas lebih dari 7 jenis, disebut juga sebagai *colonization factor antigen* (CFA) yang lebih sering ditemukan pada enteropatogen seperti *Enterotoxigenic Escherichia Coli* (ETEC). Mekanisme adhesi yang kedua terlihat pada infeksi *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC), yang melibatkan gen EPEC *adherence factor* (EAF), menyebabkan perubahan konsentrasi kalsium intraselluler dan arsitektur sitoskeleton di bawah membran mikrovilus. Invasi intraselluler yang ekstensif tidak terlihat pada infeksi EPEC ini dan diare terjadi akibat *shiga like toksin*. Mekanisme adhesi yang ketiga adalah dengan pola agregasi yang terlihat pada jenis kuman enteropatogenik yang berbeda dari ETEC atau EHEC.

b. Invasi

Kuman *Shigella* melakukan invasi melalui membran basolateral sel epitel usus. Di dalam sel terjadi multiplikasi di dalam fagosom dan menyebar ke sel epitel sekitarnya. Invasi dan multiplikasi intraselluler menimbulkan reaksi inflamasi serta kematian sel epitel. Reaksi inflamasi terjadi akibat

dilepaskannya mediator seperti leukotrien, interleukin, kinin, dan zat vasoaktif lain. Kuman *Shigella* juga memproduksi toksin shiga yang menimbulkan kerusakan sel.

c. Sitotoksin

Prototipe kelompok toksin ini adalah toksin shiga yang dihasilkan oleh *Shigella dysenteriae* yang bersifat sitotoksik. Kuman lain yang menghasilkan sitotoksin adalah *Enterohemorrhagic Escherichia Coli* (EHEC) serogroup 0157 yang dapat menyebabkan kolitis hemoragik dan sindroma uremik hemolitik, kuman EPEC serta *V. Parahemolyticus*.

d. Enterotoksin

Prototipe klasik enterotoksin adalah toksin kolera atau *Cholera toxin* (CT) yang secara biologis sangat aktif meningkatkan sekresi epitel usus halus. Toksin kolera terdiri dari satu subunit A dan 5 subunit B. Subunit A1 akan merangsang aktivitas adenil siklase, meningkatkan konsentrasi cAMP intraseluler sehingga terjadi inhibisi absorpsi Na dan klorida pada sel vilus serta peningkatan sekresi klorida dan HCO₃ pada sel kriptas mukosa usus. ETEC menghasilkan *heat labile toxin* (LT) yang mekanisme kerjanya sama dengan CT serta *heat Stable toxin* (ST) (Zein, 2007; Girardin and Philpot, 2010).

2.1.4 Klasifikasi Diare

Berikut ini adalah klasifikasi berbagai macam diare, antara lain:

a. Diare osmotik dan sekretorik

Diare dapat diklasifikasikan berdasarkan perubahan sekresi usus (diare sekretorik) maupun absorpsinya (diare osmotik). Diare osmotik terjadi ketika suatu substrat atau zat tidak dapat tercerna sehingga menimbulkan peningkatan tekanan osmotik dan membawa sejumlah air ke dalam lumen usus guna mencegah terjadinya absorpsi air secara pasif. Diare sekretorik adalah diare dalam volume besar yang disebabkan oleh sekresi cairan dan elektrolit yang berlebihan oleh mukosa usus sebagai bentuk pertahanan terhadap patogen ataupun toksin di bawah stimulasi berbagai zat. Penyebab utama diare jenis ini adalah *lactose intolerance*. Peningkatan hormon seperti VIP (*Vasoactive Intestinal Polypeptide*) pada tumor dapat merangsang sekresi air dan klorida melalui mekanisme AMP siklik dan GMP siklik.

b. Diare inflamatori dan non-inflamatori

Diare dikategorikan menjadi inflamatori dan diare non-inflamatori berdasarkan gambaran histologi mukosa usus, diare non-inflamatori terjadi akibat toksin *Escherichia coli* (ETEC), virus maupun tumor endokrin. Pada kasus diare ini, terjadi penurunan fungsi usus, sedangkan pada diare inflamatori sering dikaitkan dengan kerusakan mukosa. Feses yang dihasilkan mengandung sejumlah leukosit dan darah.

c. Diare eksudatif

Jenis diare ini akibat keluarnya protein yang ada dalam darah atau mukus dari mukosa yang mengalami inflamasi atau iritasi, bisa disebabkan oleh infeksi yang invasif, limfoma, penyakit infiltratif seperti *Whipple's disease*.

d. Diare oleh karena infeksi:

Diare yang disebabkan oleh agen infeksius dan sering disertai dengan gejala mual, muntah atau kram otot. Beberapa jenis diare infeksius adalah sebagai berikut:

- Diare akut

Beberapa jenis bakteri, virus, parasit, dan jamur berperan penting dalam penyebaran penyakit ini. Diare akut dengan durasi < 15 hari, dapat berupa inflamatori atau non-inflamatori. Diare non-inflamatori terjadi akibat dari penurunan absorpsi dan peningkatan sekresi usus.

Rotavirus menjadi etiologi tersering diare ini

- Diare kronik

Diare kronik terjadi dengan durasi >30 hari dan dapat didefinisikan sebagai defekasi abnormal lebih dari 3 kali sehari dengan konsistensi feses yang cair atau lunak selama 4 minggu atau lebih atau didefinisikan sebagai defekasi lebih dari 200 g perhari.

- *Travellers' diarrhea*

Biasanya menyerang mereka yang sering berkunjung ke negara-negara yang sedang berkembang dan lebih sering terjadi pada orang muda. Sebagian besar kasus diakibatkan oleh infeksi ETEC yang memproduksi beberapa jenis toksin, diantaranya toksin labil panas yang dapat meningkatkan AMP siklik dan toksin stabil panas yang dapat meningkatkan GMP siklik. Kedua jenis toksin ini akan meningkatkan sekresi usus (Torresi and Leder, 2009; Fauci *et al.*, 2008).

- Kolera

Kolera disebabkan oleh *Vibrio cholera* yang merupakan vektor diare melalui air dan merupakan infeksi ringan sampai pada infeksi yang mengancam jiwa. Yang berperan pada proses patogenesis penyakit ini adalah toksin kolera yang mengganggu penyerapan garam dan mengatifikasikan sekresi klorida dalam tubuh (Kaufman, 1996; Guerrant *et al.*, 2001; Thomas, 2003).

e. Penyakit inflamatori

Penyakit-penyakit inflamatori menyebabkan iritasi atau luka pada mukosa dan mengubah permeabilitas mukosa sehingga terjadi diare. Enteritis regional atau *Chron's disease* sering melibatkan usus halus dan diduga sekret berupa histamin, leukotrien, prostaglandin, interleukin, dan neurotransmitter seperti substansi P juga berperan cukup banyak dalam terjadinya diare.

f. Iatrogenik

Konsumsi beberapa jenis obat dalam jangka waktu yang lama juga dapat menyebabkan diare. Penggunaan kolkisin dan neomisin mengakibatkan *steatorrhea* yang merusak sel mukosa. Malabsorpsi lipid disebabkan oleh *cholestyramine* yang berkaitan dengan asam empedu dan mencegah sirkulasi enterohepatik (Kaufman and MacKee, 1996; Herbst, 2009).

2.1.5 Manifestasi Klinis dan Diagnosis Diare

Episode diare dapat diuraikan ke dalam tiga kategori sebagai berikut:

- Demam: merupakan gejala umum dan sering dikaitkan dengan patogen invasif.
- Feses berdarah: oleh produksi sitotoksin patogen yang bersifat invasif, seperti pada EHEC. Namun, tidak ditemukan pada virus dan bakteri enterotoksin.
- Muntah: sering terjadi pada infeksi virus dan toksin bakteri, contohnya *S.aureus* (Farthing *et al.*, 2008).

Dalam menegakkan diagnosis diare, evaluasi klinis terhadap gejala-gejala yang dikeluhkan oleh pasien adalah penting. Evaluasi klinis yang pertama kali dilakukan seharusnya mengutamakan untuk memeriksa seberapa parah penyakit (derajat kesakitan pasien) dan berapa banyak jumlah cairan yang dibutuhkan untuk rehidrasi serta yang tidak kalah penting adalah mengidentifikasi agen penyebab diare melalui anamnesa dan gambaran klinis pasien (Anonymous^f, 2008).

Tabel 2.3 Evaluasi Pasien Diare Akut (Surawicz *et al*, 2007)

Anamnesa	Pemeriksaan Fisik	Pemeriksaan Dehidrasi
Waktu, frekuensi, kualitas Muntah Karakter feses (berdarah / berlendir) Riwayat sakit sebelumnya Petunjuk epidemiologi	Berat badan Suhu Tekanan darah Frekuensi jantung dan pernapasan	Keadaan umum Nadi dan tekanan darah Hipotensi postural Membran mukosa Tekanan turgor kulit Mata dan fontanella yang masuk ke dalam Tekanan vena jugularis <i>Capillary refill test</i>

Dalam diagnosis diare, keadaan dehidrasi harus menjadi perhatian utama bagi para tenaga medis mengingat dehidrasi dapat menimbulkan akibat fatal bagi pasien jika tidak segera ditangani (Henderson, 1996). Tanda-tanda umum dehidrasi pada orang dewasa meliputi: denyut nadi > 90 , hipotensi postural, denyut nadi tidak teraba, lidah kering, *sunken eyes*, kulit kering, kelelahan, berkurangnya frekuensi berkemih, dan urin berwarna gelap (Guerrant *et al.*, 2001). Diare berdarah biasanya dihubungkan dengan infeksi EHEC, *Campylobacter jejuni/coli*, *Shigella spp.*, dan *Clostridium difficile* (Anonymous^b, 2009).

Pemeriksaan bakteri patogen, virus, atau parasit pada feses anak yang menderita diare tidak menjadi indikasi utama pada semua kasus diare. Pemeriksaan serum elektrolit hanya dibutuhkan pada anak dengan dehidrasi berat atau dehidrasi sedang dan ditemukan riwayat klinis yang menyimpang. Endoskopi juga dapat dilakukan pada saat kunjungan awal pasien (Anonymous^c, 2003; Herbst, 2009).

2.1.6 Terapi dan Prevensi Diare

Terapi diare dapat dilakukan dengan cara antara lain:

a. Rehidrasi

Rehidrasi adalah pemberian cairan dan elektrolit tubuh untuk mengganti cairan dan elektrolit yang hilang. *Oral Rehydration Therapy* (ORT) adalah pemberian cairan melalui mulut untuk mencegah atau mengatasi dehidrasi yang disebabkan oleh diare. ORT merupakan standar

manajemen untuk gastroenteritis akut, terapi ini juga telah diterapkan di negara-negara berkembang. ORS (*Oral Rehidration Solution*) adalah cairan yang secara khusus dikembangkan untuk ORT. Anak dengan syok hemodinamik atau dengan ileus abdominal tidak dapat diberikan ORS (kontraindikasi ORS). Bila ORS oral tidak dapat diberikan pada anak (dengan muntah persisten), pipa nasogastrik dapat digunakan sebagai media dalam pemberian ORS.

Tabel 2.4 Terapi Berdasarkan Derajat Dehidrasi (Thomas ,2003)

Derajat Dehidrasi	Terapi Rehidrasi	Penggantian Cairan
Minimal	Tidak ada terapi	BB < 10 kg : 60-120 ml ORS tiap episode diare BB > 10 kg : 120-240 ml ORS tiap episode
diare Sedang	ORS 50-100ml/kgBB	Sama
Berat	3 – 4 jam Cairan RL/NS iv bolus 20ml/kgBB hingga perfusi dan status mental meningkat lalu ORS selama 4jam/ Dextrose 5% 0,5 NS iv	Jika tidak bisa minum, pemberian melalui pipa nasogastrik/ D 5% 0,25 NS dengan 20 mEq/L KCl iv

b. Terapi Suplemen Zn, Multivitamin, dan Mineral

Defisiensi Zn sering terjadi di kalangan anak-anak pada kasus diare yang terjadi di negara berkembang. Suplementasi mikronutrien seperti Zn (20 mg perhari hingga diare pulih) dapat mengurangi durasi dan derajat keparahan diare pada anak-anak. Suplementasi ZnSO₄ (2 mg perhari

selama 10–14 hari) dapat menurunkan jumlah insiden diare selama 2-3 bulan. Terapi ini membantu mengurangi angka kematian karena diare pada anak-anak. Administrasi $ZnSO_4$ direkomendasikan oleh WHO. Semua anak dengan diare yang persisten dianjurkan mengkonsumsi multivitamin dan mineral setiap hari selama 2 minggu.

c. Diet

Makanan sebaiknya diberikan 4 jam setelah ORT atau cairan intravena.

Berikut ini adalah beberapa hal yang boleh diberikan ketika terapi:

- Makanan yang diberikan sebaiknya disesuaikan dengan usia.
- Bayi memerlukan ASI yang lebih banyak.
- Anak dengan usia yang lebih tua sebaiknya diberikan cairan lebih banyak.
- Frekuensi makan 6 kali per hari dengan porsi kecil.
- Makanan yang kaya energi dan mikronutrien (gandum, daging, buah, dan sayur).
- Meningkatkan asupan energi.

d. Antimikroba

Terapi antimikroba tidak diberikan pada anak-anak, namun biasanya bekerja pada anak dengan diare berdarah (seperti *shigellosis*), kolera dengan dehidrasi berat, dan infeksi berat selain saluran pencernaan (seperti pneumonia). Antiprotozoa efektif mengatasi infeksi oleh *Giardia*,

Entamoeba histolytica, dan *Cryptosporidium*. Pada dewasa, konsumsi antimikroba dapat memicu eradikasi flora normal saluran pencernaan, menginduksi produksi Shiga toksin dan dapat menimbulkan resistensi. Antimikroba merupakan terapi empiris pilihan untuk mengobati *travellers' diarrhea* (Van Niel *et al.*, 2002).

Eritromisin adalah jenis antibiotik yang paling sering digunakan untuk terapi diare, azitromisin tersedia dalam dosis tunggal. Diare akut pada orang dewasa dapat menggunakan ciprofloxacin atau floroquinolon sebagai antimikroba yang dapat mengurangi derajat keparahan dan memperpendek durasi diare (Farthing *et al.*, 2008).

Prevensi terhadap diare dilakukan dengan cara menjaga kebersihan air, sanitasi, dan higienis. Suplemen mikronutrien juga penting diberikan dalam upaya mencegah terjadinya diare. Setiap organisme memiliki jenis vaksin yang berbeda pula, contoh vaksin yang telah ada: vaksin demam tifoid, vaksin *Shigella*, vaksin *Vibrio cholerae*, vaksin ETEC dan vaksin rotavirus.

Prevensi diare pada mereka yang suka bepergian sangat penting guna mencegah *travellers' diarrhea*. Pemberian profilaksis seperti antimotilitas (loperamid), adsorben (polycarbophyl), antimikroba (bismuth subsalisilat), atau probiotik / *Lactobacillus GG*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces boulardii* (Ericsson, 2005; Thomas 2003).

2.2 *Escherichia coli*

2.2.1 Taksonomi

Escherichia coli adalah jenis bakteri gram negatif berbentuk batang dari famili Enterobacteriaceae dengan genus *Escherichia*. Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri heterogen yang habitat alaminya adalah di saluran pencernaan manusia dan hewan. Contoh lain dari famili Enterobacteriaceae adalah kelompok *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia* dan lainnya. Dalam genus *Escherichia* terdapat enam jenis species dan lima di antaranya berhubungan dengan penyakit pada manusia. *Escherichia coli* bertanggung jawab pada semua infeksi klinis yang disebabkan oleh genus *Escherichia*, sementara species lainnya menyebabkan infeksi klinis kurang dari 1% (Brooks et al., 2004).

Escherichia vulneris dahulu dimasukkan dalam *enteric group 21*, juga dapat diisolasi dari infeksi luka. *Escherichia adecarboxylata* adalah isolat manusia yang jarang ditemukan dan dikelompokkan ke dalam *enteric group 41* oleh CDC (Centers of Disease Control) dan diklasifikasikan sebagai *Enterobacter agglomerans* oleh center lainnya. *Escherichia hermani* dahulu diklasifikasikan sebagai *enteric group 11*, bisa diperoleh dari isolat darah dan cairan spinal. *Escherichia ergusoni* dahulu merupakan *enteric group 10*, dapat diisolasi dari darah dan saluran kemih tetapi pada awalnya hanya dapat diperoleh dari tinja dan hewan. *Escherichia blattae* tidak dapat diisolasi dari manusia, tetapi dari usus kecoak (Dzen, dkk., 2003).

Escherichia coli adalah spesies bakteri yang sering diisolasi dari spesimen klinik, lebih sering digunakan sebagai objek dalam penelitian ilmiah dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya, juga telah digunakan sebagai organisme indikator dalam menilai kualitas air. Organisme ini merupakan penghuni utama usus besar dan merupakan isolat penyebab utama infeksi saluran kemih dan luka infeksi,

pneumonia, meningitis dan septisemia. Penelitian-penelitian baru menyatakan bahwa galur tertentu dari *Escherichia coli* juga merupakan patogen intestinal dan menyebabkan berbagai penyakit gastrointestinal (Power *et al.*, 2005; Greenwood, 1992).

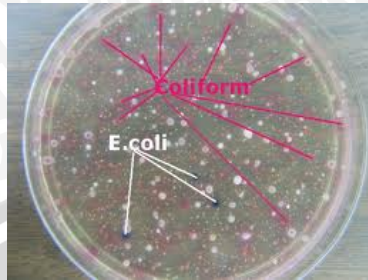
2.2.2 Morfologi

Escherichia coli yang merupakan bakteri Enterobacteriaceae gram negatif berbentuk batang (basil), berukuran kecil (0.5 x 3.0 mikrometer) dan tidak membentuk spora (Greenwood, 1992). Memiliki fimbria atau pili yang bertanggung jawab pada perlekatan antar bakteri, perlekatan antar sel hospes dan bakteriofaga. Dinding sel terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS), semuanya tersusun menjadi lapisan-lapisan. Lapisan murein-lipoprotein merupakan 20% dari dinding sel dan bertanggung jawab pada rigiditas seluler. Sisanya 80% berkaitan dengan lipid dari lipoprotein untuk membentuk *lipid bilayer*. LPS mengandung rantai polisakarida khusus yang menentukan antigenitas dari berbagai spesies dan bertanggung jawab pada aktifitas endotoksik (Elena *et al.*, 2005; Dzen, dkk., 2003).

2.2.3 Gambar



Gambar 2.1 Bakteri *Escherichia coli* dengan mikroskop (Farmer and Davis, 2006)



Gambar 2.2 Koloni *Escherichia coli* (Gunasekera and Paliy, 2007)



Gambar 2.3 *Escherichia coli* di bawah mikroskop (Farmer and Davis, 2006)

2.2.4 Struktur Antigen

Enterobacteriaceae memiliki struktur antigen yang kompleks termasuk *Escherichia coli* (Brooks *et al.*, 2004). Pembagian antigen *Escherichia coli* berdasarkan reaksi serologis terutama ditentukan atas tipe antigen O (lipopolisakarida), tipe antigen H (flagela), dan tipe antigen K (kapsuler). Terdapat lebih dari 164 antigen O, 100 antigen K, dan 50 antigen H untuk *Escherichia coli*. antigen H selanjutnya akan dibagi menjadi subgrup L, A, dan B. Penentuan profil antigen dari berbagai galur berguna untuk penelitian epidemiologi dan beberapa penelitian menyangkut penyakit diare. Contohnya serotipe O157:H7 memproduksi *Shigalike toxin* yang bertanggung jawab pada kolitis hemoragik sedangkan serotipe

O78:H11 dan O78:H12 hampir semuanya adalah enterotoksigenik (Dzen, dkk., 2003).

Antigen O adalah antigen di bagian terluar dari dinding sel lipopolisakarida dan terdiri atas unit-unit polisakarida berulang (oligosakarida). Beberapa antigen O mengandung gugus gula yang unik, tahan panas, dan alkohol dan biasanya dapat dideteksi dengan aglutinasi bakteri. Antigen ini tersusun atas senyawa LPS yang terdiri atas tiga region:

- Region I: antigen dinding sel, merupakan polimer dari unit-unit oligosakarida yang telah dijelaskan sebelumnya.
- Region II: melekat pada dinding antigen O, terdiri atas *core polysaccharide* yang konstan terdapat dalam genus tertentu tetapi berbeda antar spesies.
- Region III: lipid A, melekat pada region II melalui 2-keto-3-deoksioktanat (KDO). Unit dasar lipid A adalah disakarida yang melekat pada lima atau enam asam lemak. Secara struktural lipid A meningkatkan asam lemak murein-lipoprotein dinding sel.

Selain digunakan sebagai tanda serologik, LPS juga berperan sebagai faktor virulensi penting oleh toksik (endotoksin). Di samping itu, antigen O dapat meningkatkan perlekatan organisme pada hospes (Brooks *et al.*, 2004; Dzen, dkk., 2003).

Antigen K (kapsuler) terletak lebih eksternal dibandingkan antigen O. Antigen K dari spesies *Klebsiella* tampak dengan jelas membentuk kapsul yang besar mengelilingi antigen O dan H (somatik). Pada genus bakteri lain, antigen K hanya merupakan lapisan tipis mengelilingi sel bakteri. Antigen K dari *Escherichia coli*

berupa senyawa protein (bukan polisakarida) dan membentuk suatu fimbria. Antigen H (berlokasi di flagela) adalah protein yang dapat didenaturasi dengan pemanasan atau alkohol. Antigen H dapat diaglutinasikan oleh anti-H antibodi terutama IgG. Faktor penentu dari antigen ini adalah fungsi rantai asam amino pada protein flagelata yang disebut flagelin. Dalam serotipe tunggal, antigen H bisa berada dalam satu atau dua bentuk yang disebut antigen H fase 1 dan antigen H fase 2. Dua bentuk antigen ini terjadi karena ada mikroorganisme yang cenderung berubah dari fase satu ke fase lain. Antigen ini bisa mengganggu aglutinasi oleh antibodi terhadap antigen O (Dzen, dkk., 2003; Brooks *et al.*, 2004; Anonymous^d, 2009).

2.2.5 Penentu Patogenisitas

Escherichia coli terdiri atas beragam grup mikroorganisme yang dapat menginfeksi berbagai sistem hospes dan memproduksi sejumlah besar faktor virulensi mulai dari bentuk struktural sampai toksin yang dieksresikan. Berikut ini adalah beberapa faktor yang menentukan patogenisitas dari *Escherichia coli* (Dzen, dkk., 2003):

a. Faktor Permukaan

Sekitar 80% *Escherichia coli* yang diisolasi dari penderita meningitis memproduksi kapsul asam polisialat (antigen K1). Kapsul K1 memiliki keunikan diantara antigen kapsuler *Escherichia coli*, karena kapsul ini tahan terhadap proses pembunuhan baik oleh neutrofil maupun serum normal manusia. Kapsul K1 juga bisa membantu kelangsungan hidup mikroorganisme dalam darah dan cairan spinal neonatus karena

kemiripannya dengan bentuk embrionik asam polisialat dari *neural cell adhesion molecule* (NCAM).

Escherichia coli memproduksi berbagai macam fimbria, yang dibagi menjadi dua kelompok, yaitu *mannose resistant fimbriae* dan *mannose sensitive fimbriae*. Fimbria I (sensitif manosa) disebut juga common pili karena ditemukan pada hampir semua *Escherichia coli*, fimbria ini berperan penting pada kolonisasi dengan mengikatkan diri pada mukosa usus besar, *buccal cavity* dan vagina. Pada *mannose resistant fimbriae*, faktor-faktor perlekatan yang terlibat di permukaan lebih kompleks (adhesin), disebut fimbria tipe P karena mampu melekat pada *human P blood group antigens*. *Mannose-resistant-fimbriae* dan adhesin adalah faktor perlekatan penting pada infeksi intestinal yang disebabkan *Escherichia coli*. Fimbria CFA1 dan CFA2 menunjukkan fungsi yang sama pada ETEC, EPEC, EAEC, sedangkan VTEC memproduksi adhesin non-fimbrial. Beberapa adhesin ini merupakan protein permukaan bakteri (Oyofu *et al.*, 2001).

b. Enterotoksin

Salah satu mekanisme patogenik *Escherichia coli* dalam menyebabkan penyakit gastrointestinal adalah dengan memproduksi berbagai macam enterotoksin, organ sasarannya adalah usus kecil, dan hasilnya berupa diare sebagai akibat pengeluaran cairan dan elektrolit. Kemampuan produksi toksin bergantung oleh adanya plasmid yang menyandi produksi toksin. Plasmid tertentu akan memproduksi *heat-labile enterotoxin* (LT) yang mirip dengan enterotoksin *Vibrio cholera*. Selain itu, *Escherichia coli* juga

memproduksi enterotoksin yang tahan panas (ST-I dan ST-II). ST-I berikatan kuat dengan reseptor intestinal spesifik kemudian mengaktifkan guanilatsiklase pada sel mukosa intestinal, menyebabkan respon sekresi terutama menghambat absorpsi Na dan Cl oleh membran *brush border*. Mekanisme ST-II masih belum diketahui, tapi tidak melibatkan produksi siklik nukleotida (Mittehuemer *et al.*, 2010).

c. Verotoksin (*shigalike toxins*)

Escherichia coli yang diinfeksi bakteriofaga dapat memproduksi sitotoksin yang disebut verotoksin. Disebut demikian, karena efek sitotoksinnya menetap pada kultur sel dan jaringan Vero, yaitu lapisan sel ginjal kera. Verotoksin terbagi menjadi dua jenis, yaitu VT-1 dan VT-2. VTEC berhubungan dengan tiga sindrom, yaitu diare, kolitis hemoragik dan HUS (*Hemolytic Uremic Syndrome*). Karena kemiripan dengan shigatoxin, maka toksin ini juga disebut *shigalike toxin* (SLT). Timbulnya penyakit oleh VTEC berhubungan dengan kadar toksin. *High level* VTEC memproduksi sejumlah besar toksin dalam cairan supernatan dari biakan dan berhubungan dengan kolitis hemoragik, diare dan HUS (Dzen, dkk., 2003; Kappeli *et al.*, 2011).

2.2.6 Medium Perbenihan

Escherichia coli bisa tumbuh dengan baik pada media yang lazim digunakan. Bakteri ini dapat tumbuh pada medium yang minimal yang mengandung komponen karbon seperti glukosa, garam mineral yang merupakan sumber nitrogen, fosfor, dan

zat besi. Namun *Escherichia coli* akan tumbuh lebih cepat pada medium yang mengandung asam amino, prekursor nukleotida, vitamin, dan metabolit lain. *Escherichia coli* memberikan reaksi positif pada tes indol, lisin-dekarboksilase dan fermentasi manitol serta memproduksi gas dari glukosa. Isolat dari urin dapat dengan mudah diidentifikasi sebagai *Escherichia coli* karena kemampuannya memberikan hemolisis tipe beta pada agar darah, morfologi koloni seperti kilatan logam (*metallic sheen*) pada media diferensiasi agar EMB dan tes *spot indole* yang positif (Dzen, dkk., 2003; Elbing and Brent, 2002).

Famili Enterobacteriaceae termasuk *Escherichia coli* memiliki karakteristik dapat tumbuh pada media pepton atau media ekstrak daging tanpa penambahan NaCl atau suplemen lain, bertumbuh baik pada media agar MacConkey, dapat tumbuh secara aerob maupun anaerob (anaerob fakultatif), lebih banyak mengalami reaksi fermentasi daripada oksidasi glukosa, dan memberikan tes positif katalase *Escherichia coli* dan mayoritas bakteri enterik lainnya membentuk koloni yang halus, sirkuler, konveks dengan batas jelas (Brooks *et al.*, 2004).

2.2.7 Klasifikasi *Escherichia coli*

Escherichia coli yang menyebabkan diare pada umumnya diklasifikasikan berdasarkan karakteristik sifat virulensinya, jenis-jenisnya adalah sebagai berikut:

- EPEC (*Escherichia coli* enteropatogenik), merupakan jenis *Escherichia coli* yang menyebabkan diare pada bayi di negara-negara berkembang. EPEC melekat erat pada sel mukosa usus kecil, menyebabkan rusaknya mikrovili (membentuk *cup-like structures* pada mukosa) bisa juga masuk ke dalam sel mukosa. Infeksi oleh EPEC menyebabkan diare berair (*watery diarrhea*) yang

bisa sembuh sendiri (*self limited*), tetapi bisa juga menimbulkan infeksi berkepanjangan (kronis). Diare EPEC disebabkan oleh berbagai serotipe *Escherichia coli* yang diidentifikasi melalui tipe antigen O dan antigen H, diantaranya adalah O26:H11, O86:H2, O114:H2, dan O111:H12.

- ETEC (*Escherichia coli* enterotoksigenik), adalah jenis *Escherichia coli* yang menjadi penyebab umum diare para pelancong (*travellers' diarrhea*) dan penyebab diare di negara yang sedang berkembang. Faktor kolonisasi ETEC spesifik untuk manusia menyebabkan terjadinya adhesi ETEC pada sel epitel usus kecil.
- EHEC (*Escherichia coli* enterohemoragik) dan galur yang memproduksi VTEC (*verotoxin*), merupakan jenis *Escherichia coli* penyebab kejadian luar biasa diare dan kolitis hemoragik yang bersifat akut dan sembuh spontan. EHEC juga menyebabkan HUS (*Hemolytic Uremic Syndrome*) yang ditandai dengan gagal ginjal akut, trombositopenia, dan *microangiopathic hemolytic anemia*. Kolitis hemoragik dan HUS merupakan komplikasi dari diare ringan yang pertama kali tampak pada anak-anak umur pra-sekolah dan penderita dewasa. Serotipe O157:H7 adalah penghasil utama verotoksin dan merupakan subtipe yang paling sering ditemukan serta paling mudah diidentifikasi dari spesimen (Anonymous^d, 2009; Nelson, 2008; Philpot and Ebel, 2009).
- EIEC (*Escherichia coli* enteroinvasif), menyebabkan penyakit yang mirip dengan *shigellosis*. EIEC menimbulkan penyakit dengan cara menginvasi sel epitel mukosa intestinal.

- EAEC (*Escherichia coli* enteroagregatif), menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat yang berada di negara-negara berkembang. *Escherichia coli* jenis ini memiliki pola perlekatan yang khas pada sel-sel manusia dan memproduksi *ST-like* toksin dan hemolisin (Brooks *et al.*, 2004; Yokoyama *et al.*, 2011; ASM, 2004).

2.2.8 Infeksi *Escherichia coli* lainnya

Selain menjadi agen penyebab diare, *Escherichia coli* juga terkenal sebagai agen penyebab penyakit infeksi lainnya seperti:

- Infeksi saluran kemih. Diperkirakan sekitar 90% ISK pada wanita disebabkan oleh *Escherichia coli*, berkisar dari sistitis sampai pielonefritis. Gejala-gejala ISK berupa poliuria, disuria, hematuria, piuria serta nyeri panggul berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas.
- Meningitis. *Escherichia coli* merupakan penyebab utama meningitis bayi di samping streptokokus grup B. Sekitar 75% *Escherichia coli* memiliki antigen-K1 yang bisa bereaksi silang dengan polisakarida kapsuler grup B *Neisseria meningitidis*.
- Sepsis. Bila pertahanan tubuh tidak adekuat, kuman bisa masuk ke dalam peredaran darah dan menyebabkan sepsis. Bayi baru lahir sangat peka terhadap sepsis oleh *Escherichia coli* karena mereka belum memiliki IgM. Sepsis juga bisa terjadi sebagai efek sekunder ISK.
- Selulitis/Infeksi muskuloskeletal. *Escherichia coli* berkontribusi menyebabkan infeksi pada ulkus dekubitus dan tidak jarang menginfeksi ulkus dan luka pada ekstremitas bawah pasien diabetes.

- Infeksi abdomen/pelvis. Pelvis dan abdomen menempati urutan kedua sebagai tempat infeksi tersering setelah usus halus (infeksi ekstraintestinal). Sindrom klinis yang muncul sangat beragam, seperti peritonitis akut sekunder oleh karena kontaminasi feces, peritonitis bakteri spontan, dan peritonitis dikaitkan dengan dialisis (Kasper, 2010; Brooks *et al.*, 2004; Laroche et al., 2010; Miller, 2004).

2.3 Antimikroba

Antibiotika adalah golongan senyawa, baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi bakteri. Antimikroba adalah golongan senyawa yang digunakan untuk terapi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri, parasit, virus, dan jamur. Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja berbeda antara obat satu dan obat yang lainnya (Brooks *et al.*, 2004).

Antimikroba mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka, yaitu:

- Menghambat sintesis dinding sel
- Bekerja langsung pada membran sel dengan mempengaruhi kekentalan membran sel
- Menghambat sintesis protein melalui ikatan dengan subunit ribosom 30S dan mengubah sintesis protein atau mempengaruhi fungsi ribosom 30S/50S yang menyebabkan hambatan sintesis protein secara reversibel.
- Menghambat sintesis asam nukleat
- Antagonis metabolit (Dzen, dkk., 2003; Hardman and Limbird, 2008).

Antibiotika sering disebut bakteriostatik atau bakterisidal. Istilah bakteriostatik menggambarkan suatu obat yang sewaktu-waktu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Keberhasilan pengobatan ini sering bergantung pada partisipasi mekanisme pertahanan tubuh inang. Istilah bakterisidal digunakan untuk obat yang menyebabkan kematian organisme (Balows *et al.*, 1991). Berikut beberapa jenis antibiotik yang sering digunakan sebagai terapi penyakit infeksi oleh bakteri :

a. Penisilin

Penisilin merupakan salah satu kelompok antibiotik yang paling penting dan dapat disebut juga antibiotik beta laktam karena strukturnya memiliki cincin beta laktam. Penisilin alamiah dihasilkan oleh jamur *Penicillium notatum*, kemudian untuk memperbaiki kelemahan penisilin alamiah, dikembangkan penisilin semisintetik yang tahan asam lambung, yaitu ampisilin dan amoksisilin. Mekanisme kerja penisilin adalah dengan menghambat sintesis dinding sel. Antibiotik beta laktam sekarang sudah mulai mengalami resistensi karena enzim beta laktamase yang dimiliki oleh bakteri yang dapat merusak cincin beta laktam dengan menghidrolisis penisilin menjadi asam penisiloat yang tidak aktif lagi sebagai antibiotik.

b. Streptomisin

Antibiotik ini termasuk dalam golongan aminoglikosida, penggunaannya sudah jarang, biasanya dalam bentuk kombinasi dengan antibiotik lainnya. Antibiotik golongan aminoglikosida memiliki beberapa efek samping yang tidak diinginkan, seperti ototoksisitas, nefrotoksisitas, dan blokade neuromuskular. Mekanisme kerja streptomisin dengan menghambat sintesis

protein dan menurunkan derajat translasi ribosom RNA. Streptomisin bersifat bakterisidal.

c. Tertrasiklin

Senyawa golongan tertrasiklin bersifat bakteriostatik dan berspektrum luas.

Mekanisme kerjanya yaitu menghambat sintesis protein bakteri dengan berikatan pada ribosom bakteri 30S . ekskresi tetrasiklin melalui ginjal dan resistensi bakteri terhadap golongan ini terjadi karena obat tidak dapat terkonsentrasi di dalam sitoplasma (Dzen, dkk., 2003;Hardman and Limbird, 2008).

2.3.1 Uji Kepekaan terhadap Antimikroba *in Vitro*

Penentuan aktifitas bahan antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode dasar, yaitu:

a. Metode dilusi, yang terdiri atas:

- Dilusi Tabung

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah sel bakteri tertentu yang akan diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. 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 (Kadar Hambat Minimal) dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan, dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni

bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan pada yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat terhadap bakteri uji. Untuk menentukan KHM obat dapat juga dilakukan dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test* (Dzen, dkk., 2003).

- Dilusi agar

Uji kepekaan antimikroba yang lain adalah dengan menggunakan metode dilusi agar. Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi minimum yang dibutuhkan suatu bahan antimikroba untuk membunuh atau menghambat mikroorganisme. Cara ini memiliki kelebihan dibanding metode lain karena fleksibilitasnya. Fleksibilitasnya antara lain adalah format hasilnya dapat berupa kuantitatif (KHM dalam satuan mikrogram per mililiter) maupun dalam bentuk kategori (*susceptible*, *moderately susceptible* atau *resistant*) atau dapat menggunakan keduanya. Keuntungan lain metode ini adalah kemampuannya untuk mendeteksi berbagai pola resistensi yang mungkin tidak terdeteksi oleh metode difusi cakram (Balows *et al.*, 1991).

b. Metode difusi

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan cahaya kerta saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter are hambatan dihitung sebagai daya hambat obat terhadap bakteri uji. Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak

memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri disekitar cakram kertas saring (Brooks *et al.*, 2004).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut, apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat, dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini:

- Cara Kirby Bauer, yaitu dengan membandingkan diameter area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Commitee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteri sensitif, sedang, atau resisten.
- Cara Joan-Stokes, yaitu dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Dengan cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen, dkk., 2003).

2.4 Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Keefektifan antimikroba terhadap bakteri berhubungan dengan konsep KHM. KHM adalah konsentrasi antimikroba terendah yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri. KBM adalah konsentrasi antimikroba terendah yang bisa membunuh bakteri. Bakteri dikatakan mati apabila tidak tumbuh pada inokulasi ke dalam medium kultur yang secara normal mendukung pertumbuhannya (Greenwood, 1992).

KHM sangat penting dalam diagnosis laboratoris untuk mengkonfirmasi resistensi mikroorganisme terhadap bahan antimikroba dan juga untuk memonitor aktivitas bahan antimikroba baru. KHM biasanya berkenaan dengan pengukuran

laboratoris dasar dari aktivitas bahan antimikroba yang melawan mikroba (Brooks *et al.*, 2004).

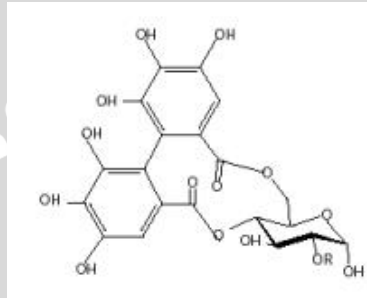
2.5 Tannin dan Flavonoid

2.5.1 Tannin

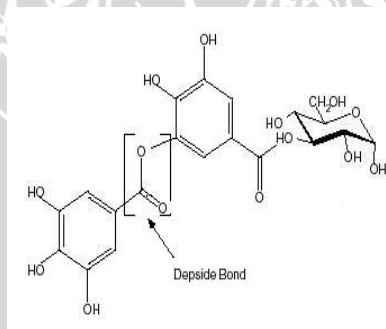
Tannin adalah suatu senyawa polifenol yang umumnya banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan (akar, daun, buah, dan biji) dan tanaman berkayu dengan konsentrasi tinggi, merupakan metabolit sekunder tumbuhan, non-nitrogen dan fenolik di alam. Fungsi tannin adalah sebagai sistem pertahanan tumbuhan melawan serangan mikroba dan hewan-hewan melalui kemampuan mereka mengkonstriksikan jaringan lunak dan membentuk kompleks bersama protein dan polisakarida (Aguilera *et al.*, 2007). Tannin dikelompokkan menjadi tiga kategori yaitu *hydrolysable* (larut air), *non-hydrolysable/condensed* (tidak larut air) dan *pseudo-tannin* (Klemm, 2009; Okuda, 2011). *Hydrolysable* tannin ketika dipanaskan dengan *hydrochloric* atau asam sulfur akan menghasilkan asam gallotannin atau asam ellagitannin, sedangkan *non-hydrolysable* tannin jika dipanaskan dengan asam sulfur akan menghasilkan *phlobaphenes* seperti *phloroglucinol*. Yang dimaksud *pseudo-tannin* adalah molekul dengan berat rendah dihubungkan dengan molekul yang lain, seperti kopi dan teh (Perez *et al.*, 2007).

Asam tannin adalah salah satu kelompok gallotannin, sedangkan *catechin* adalah kelas *condensed tannin*. Asam fenolik dari ester dan poliol (biasanya glukosa) termasuk dalam tannin jenis *hydrolysable* (Akiyama *et al.*, 2001; Alnicolsa, 2003). Dalam dunia medis, tannin memiliki banyak manfaat diantaranya berperan

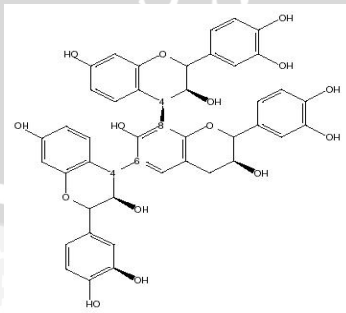
dalam meringankan cedera oksidatif renal dan hepar (*arsenic-induced toxicity*, khususnya tannin yang terkandung dalam teh hijau), tannin, khususnya *condensed* tannin berperan dalam melawan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri / antimikroba (Min *et al.*, 2008; Chandronita *et al.*, 2010).



Gambar 2.4 Struktur Kimia Ellagitannin (Alnicolsa, 2003)



Gambar 2.5 Struktur Kimia Gallotannin (Alnicolsa, 2003)

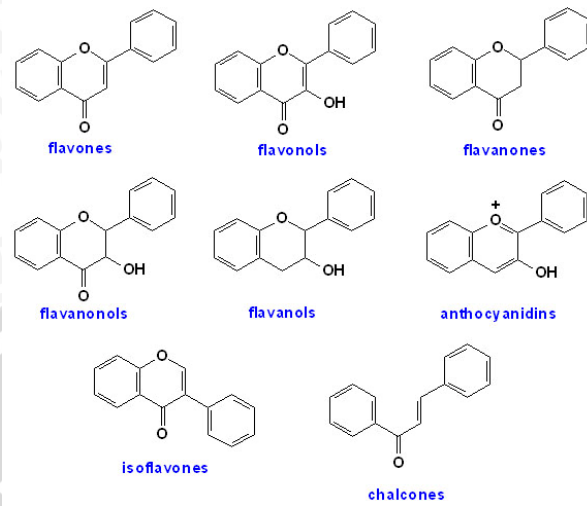


Gambar 2.6 Struktur Kimia *Condensed Tannin* (Alnicolsa, 2003)

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa yang tergabung dalam kelompok komponen fenolik (*polyphenol*) senyawa polar. Flavonoid dapat ditemukan dalam sel tumbuhan yang berfotosintesis, pada umumnya terdapat dalam buah-buahan, sayuran, kacang, biji-bijian, teh, dan madu. Fungsi flavonoid pada bunga untuk memberikan warna yang menarik, pada daun atau kulit buah sebagai pertahanan terhadap patogen seperti jamur dan sinar matahari. Senyawa ini juga berperan dalam fotosintesis, transfer energi, mengaktifkan hormon pertumbuhan dan mengatur pertumbuhan tanaman (Tim and Andrew, 2005). Flavonoid terdiri atas 6 subfamili, antara lain: flavon, isoflavon, flavanon, flavonol, antosianin, dan *chalcone*, namun kandungan yang terbanyak dalam tumbuhan adalah isoflavon (Michalak, 2006).

Senyawa antosianin dapat diperoleh dari anggur merah dan ungu, flavonol dapat diperoleh dari teh, coklat, buah apel, anggur, sedangkan flavanon diperoleh dari jus buah seperti jeruk, lemon, dan nenas. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang menangkap radikal bebas secara efektif, selain itu flavonoid dapat memperbaiki fungsi endotel sehingga dapat mencegah penyakit kardiovaskular (Linus Pauling Institute, 2012).



Gambar 2.7 Struktur Kimia Macam-macam Flavonoid (Lineus Pauling Institute, 2012)

2.5.3 Isoflavon

Isoflavon adalah golongan senyawa fenolik yang merupakan subfamili dari flavonoid. Senyawa isoflavon yang banyak ditemukan adalah genistein dan daidzein. Isoflavon bisa bekerja sebagai fitoestrogen yang sangat berguna dalam mengobati penyakit kanker, juga dikatakan sebagai antioksidan yang kuat. Isoflavon adalah senyawa polar yang larut dengan metanol pada saat ekstraksi (Andersen and Markham, 2006).

2.5.4 Peranan *Condensed* Tannin dan Flavonoid (Isoflavon) sebagai Antimikroba

Diperkirakan lebih dari 60% infeksi bakteri erat dikaitkan dengan pembentukan biofilm. Infeksi yang diperantarai biofilm seringkali menimbulkan masalah, karena biofilm dari bakteri dapat menimbulkan toleransi terhadap sistem imun. Toleransi instrisik biofilm bakteri sering mengakibatkan resistensi terhadap

pengobatan penyakit infeksi dengan menggunakan agen antimikroba (Mahami *et al.*, 2010; Khan *et al.*, 2008; Klausen *et al.*, 2003).

Mekanisme dari tannin sebagai antimikroba adalah dengan menghambat adhesin dan menghambat sintesis protein yang menyebabkan sel bakteri lisis. Selain itu, tannin dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan *DNA topoisomerase* yang selanjutnya akan menghambat replikasi DNA (Akiyama *et al.*, 2001; Hentzer *et al.*, 2003). Tannin yang bereaksi bersama protein mikroorganisme atau polisakarida akan membentuk kompleks ireversibel di mana bakteri tidak dapat melanjutkan pertumbuhannya (*bacteriostatic*) atau dapat pula bersifat *bactericidal* (Hart and Min, 2003; Hancock *et al.*, 2009).

Flavonoid dapat ditemukan pada pisang yang belum matang dan juga pada kulitnya. Telah banyak penelitian yang mengamati peran flavonoid sebagai antimikroba. Mekanisme flavonoid, khususnya isoflavon sebagai antimikroba adalah dengan cara menurunkan kekentalan membran sel di dalam dan luar sehingga fungsi membran sitoplasma terganggu serta menghambat metabolisme energi yang mengakibatkan terganggunya sintesis DNA, RNA, protein, dan dinding sel. Semua mekanisme tersebut mengakibatkan matinya bakteri-bakteri patogen (Lewis, *et al.*, 1999; Tim and Andrew, 2005).

Tannin dan flavonoid (isoflavon) diekstraksi menggunakan pelarut metanol karena merupakan jenis pelarut terbanyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam sebab dapat melarutkan hampir seluruh golongan metabolit sekunder baik polar (larut air), seperti isoflavon maupun non-polar (tidak larut air), seperti alkaloid, saponin, dan tannin. Namun, zat aktif yang paling banyak

diekstraksi adalah isoflavon karena merupakan senyawa polar, di mana metanol yang bertindak sebagai pelarutnya juga merupakan senyawa polar. Faktor ekstraksi penting adalah pelarut memiliki kepolaran yang sesuai dengan kepolaran senyawa yang akan diekstrak (Dewi dkk., 2007; Lenny, 2006; Rispaill *et al.*, 2005; Tiwari *et al.*, 2011).

Meskipun metanol adalah pelarut yang bersifat polar, namun memiliki keunggulan dibandingkan pelarut lainnya, yaitu molekulnya memiliki rantai hidrokarbon yang sangat pendek yang menempel pada ion negatif hidroksil sehingga memiliki kemampuan ekstraksi lebih baik dibandingkan pelarut lain (Philip, *et al.*, 2009). Selain itu, Tiwari *et al.* 2011 melaporkan bahwa metanol merupakan pelarut terbaik dalam ekstraksi senyawa dalam tumbuhan sebagai antimikroba dan metanol telah digunakan untuk ekstraksi polifenol, flavon, antosianin, saponin, dan tannin dan juga jenis pelarut ini lebih banyak digunakan (Bendiabdellah *et al.*, 2012; Gopinath *et al.*, 2012; Nazck and Shahidi, 2004).

2.6 Pisang (*Musa paradisiaca*)

2.6.1 Taksonomi

Kingdom	<u>Plantae</u>
Division	<u>Spermatophyta</u>
Subdivision	<u>Angiospermae</u>
Class	<u>Monocotil</u>
Order	<u>Zingiberales</u>

Family Musaceae
Genus Musa
Species Musa paradisiaca (Lewis, 1999).

2.6.2 Gambar



Gambar 2.8 Buah Pisang Ambon, cirinya berwarna hijau pada saat belum matang dan akan berwarna hijau sampai hijau kekuningan dengan bintik-bintik hitam ketika matang. Daging buahnya berwarna putih kekuningan, rasanya manis, agak asam, dan lunak (Wieby, 2011)



Gambar 2.9 Pohon *Musa paradisiaca* (Wieby, 2011)

2.6.3 Deskripsi *Musa paradisiaca*

Pisang (*Musa paradisiaca*) adalah tanaman tropis yang dapat tumbuh dengan baik di tempat lembab dan panas. Tanaman ini biasanya tumbuh di tanah hingga tingginya mencapai 500 m di atas permukaan laut. Pisang sangat cocok hidup di tanah bertekstur empuk yang subur dan mengandung banyak humus. Tanaman ini tersebar sangat luas di seluruh Indonesia, seperti Lampung, Pulau Jawa, Jambi, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Bali dan NTB, di mana distribusinya didominasi oleh Pulau Jawa sebanyak 60% (Maldonado *et al.*, 2008; Imam and Akter, 2011).

Pisang berdaun tunggal, memanjang dan sangat mudah rusak oleh terpaan angin kuat karena tidak adanya tulang daun yang menyangga pada ujung helai daunnya. Berukuran 1,5-3 x 0,3-0,8 m, berwarna hijau dengan permukaan atas yang halus dan permukaan bawah dilapisi lilin. Batang pisang yang sebenarnya adalah bagian yang tertanam di tanah sedangkan bagian yang terlihat oleh manusia disebut *pseudostem*. *Pseudostem* dapat mencapai ketinggian 3,5-7,5 m bergantung pada jenisnya. Batang pisang tumbuh lurus ke atas dan tidak bercabang. Akar pisang berupa rhizoma dan tidak bercabang, tumbuh mencapai kedalaman 75-150 cm (Ploetz *et al.*, 2007; Bohm, 2009).

Pisang dibagi menjadi 4 jenis:

- Pisang yang dimakan buahnya tanpa dimasak yaitu *M. paradisiaca* var *Sapientum*, *M. nana* atau disebut juga *M. cavendishii*, *M. sinensis*. Misalnya pisang ambon, susu, raja, cavendish, barangan, dan mas.

- Pisang yang dimakan setelah buahnya dimasak yaitu *M. paradisiaca* forma *typica* atau disebut juga *M. paradisiaca normalis*. Misalnya pisang nangka, tanduk dan kepok.
- Pisang berbiji yaitu *M. brachycarpa* yang di Indonesia dimanfaatkan daunnya. Misalnya pisang batu dan klutuk.
- Pisang yang diambil seratnya misalnya pisang manila/abaca (Anonymous^e, 2011; Orhan, 2001).

2.6.3 Deskripsi Pisang Ambon

Pisang ambon putih pada saat matang berwarna kuning keputihan dengan warna daging buah putih sampai putih kekuningan. Rasa daging buahnya manis sedikit asam dan aromanya kuat. Selain sebagai buah meja, pisang ambon digunakan sebagai makanan pada bayi (Supandi, 2009; Mohapatra *et al.*, 2010).

2.6.4 Kandungan Pisang dan Kulit Pisang Ambon

Pisang telah dikenal oleh masyarakat luas sebagai buah yang bernutrisi tinggi, memiliki nilai energi dengan kombinasi yang unik, terdiri dari elemen protein, vitamin, dan mineral (Osman *et al.*, 2007; Ramli *et al.*, 2009). Selain sebagai penambah nutrisi, pisang juga mengandung banyak properti yang dapat menyembuhkan penyakit (*curative properties*). Pisang dapat meredakan atau mengurangi ulkus dengan tekstur lembut, halus, dan kandungan seratnya. Serat ini juga dapat mengembalikan fungsi saluran pencernaan tanpa efek samping, pisang juga dapat menetralkan asam lambung dan mengurangi iritasinya dengan cara melapisi permukaan lambung (Yusoff, 2008; Seng *et al.*, 2010).

Tabel 2.5 Vitamin yang Terkandung dalam Pisang Ambon (Yoshiki *et al.*, 2002)

Nutrien	% / 100 gram
Vitamin A	3,8
Asam Askorbat	13,3
Vitamin B	25
Thiamin	3,3
Riboflavin	3,8
Niasin	4,7

Kulit pisang sangat kaya akan komponen fenolik seperti tannin dan flavonoid (Mokbel and Hashinaga, 2005). Tannin dan flavonoid (isoflavon) yang terkandung dalam kulit pisang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba dalam mengatasi resistensi antibiotika yang sekarang ini marak terjadi. Kulit pisang juga memiliki kandungan serotonin yang tinggi yang berperan sebagai antioksidan, komponen hormonal dan imunoaktif (Rayne, 2010; Lee, 2010). Selulosa, lignin, hemiselulosa, dan pektin juga terdapat dalam kulit pisang (Wanlapa *et al.*, 2009). Kandungan tannin dan flavonoid (isoflavon) tertinggi ada pada kulit pisang yang masih hijau dan belum matang, kandungannya akan berkurang seiring dengan matangnya pisang tersebut (Hiraga and Surojanamethakul, 1994; Singh *et al.*, 2004; Emaga *et al.*, 2011).

2.7 Hubungan Antara Diare, *Escherichia coli*, Tannin, Flavonoid (Isoflavon), dan Kulit Pisang Ambon Muda

Diare adalah frekuensi pengeluaran dan kekentalan feses yang tidak normal (Dorland, 2002). Dapat juga diartikan sebagai pengeluaran feses cair atau kental lebih dari tiga kali sehari atau lebih dibandingkan individu normal, biasanya merupakan gejala infeksi gastrointestinal yang dapat disebabkan oleh beragam jenis bakteri, virus dan parasit yang menyebar melalui makanan atau minuman yang

terkontaminasi atau kontak langsung dengan manusia (Karsten *et al.*, 2009). Diare oleh karena bakteri dapat disebabkan oleh *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Shigella dysenteriae*, dll.

Mekanisme kerja bakteri *Escherichia coli* adalah dengan menempelkan tubuhnya pada sel epitel atau mukosa pencernaan (adhesi), invasi mukosa dan selanjutnya memproduksi sitotoksin yang akan merusak permukaan mukosa (Zein, 2007; Girardin, 2010). Bakteri EHEC menempel pada ligan spesifik permukaan epitel dengan pili atau fimbria kemudian memproduksi toksik yang bersifat sitotoksik. Bakteri jenis ini juga memiliki karakteristik khusus yaitu kemampuan menggunduli epitel usus halus sehingga bakteri dapat menempel erat pada tempat lesi, menyebabkan destruksi mikrovili (Nelson, 2008; Philpot, 2009; Shill *et al.*, 2011).

Pengobatan diare yang paling utama adalah dengan rehidrasi, namun diare yang disebabkan oleh bakteri dilakukan dengan pemberian antibiotik. Namun, saat ini resistensi bakteri terhadap antibiotik semakin meningkat. Banyak alasan yang dapat menimbulkan resistensi terhadap antibiotik, seperti pada mereka yang sering mengkonsumsi antibiotik sebelumnya (konsumsi berlebihan), penggunaan dengan dosis yang tidak tepat atau tidak menyelesaikan pengobatan hingga tuntas. *Escherichia coli* yang sebelumnya dikenal sebagai patogen yang sensitif terhadap antibiotik, mulai mengalami resistensi sejak lebih dari satu dekade ini. Dengan adanya resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik tertentu, angka morbiditas dan mortalitas juga turut meningkat (Ahmad and Beg, 2001; Wakansi and Yabefa, 2011; Karadi *et al.*, 2011).

Bertolak dari kelemahan antibiotik yang telah banyak mengalami resistensi maka perlu dikembangkan suatu alternatif lain yang dapat mengobati diare selain dengan menggunakan antibiotik. Tannin adalah suatu senyawa polifenol non-polar pada tumbuh-tumbuhan (akar, daun, buah, biji, dan kulit), fungsinya sebagai sistem pertahanan tumbuhan melawan serangan mikroba dan hewan-hewan dengan membentuk kompleks bersama protein dan polisakarida (Aguilera *et al.*, 2007).

Flavonoid adalah senyawa polar yang terbagung dalam kelompok komponen fenolik (*polyphenol*). Flavonoid dapat ditemukan dalam sel tumbuhan yang berfotosintesis, pada umumnya terdapat dalam buah-buahan, sayuran, kacang, biji-bijian, teh, dan madu (Lewis, *et al.*, 1999; Tim and Andrew, 2005). Mekanisme tannin sebagai antimikroba adalah dengan menghambat sintesis protein, adhesin, dan enzim *reverse transcriptase* dan *DNA topoisomerase* sedangkan mekanisme flavonoid dengan menghambat fungsi membran sitoplasmik dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme-mekanisme tersebut akan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Akiyama *et al.*, 2001; Hentzer, 2003;).

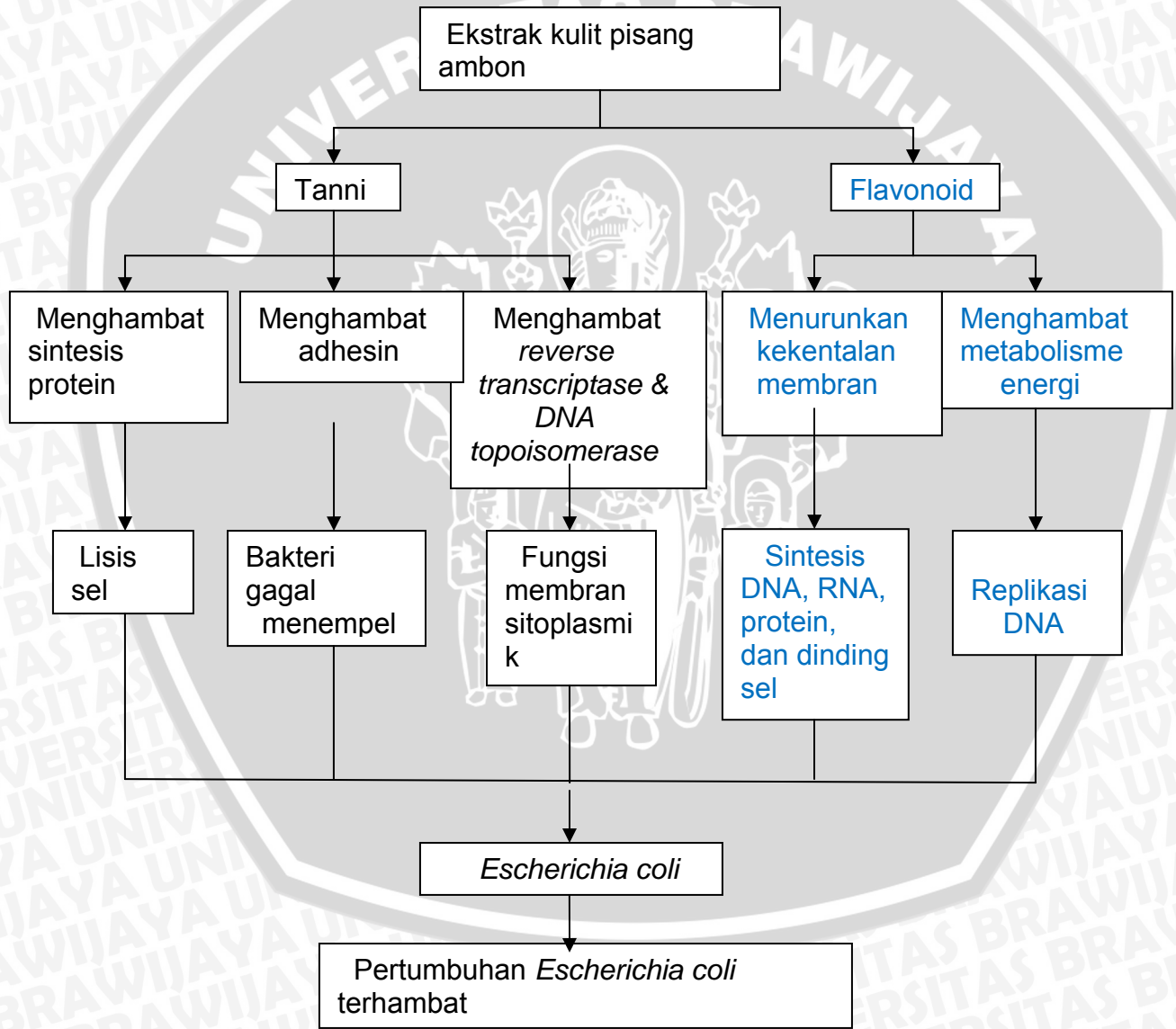
Dilihat dari kegunaan tannin dan flavonoid yang sangat berpotensi mencegah terjadinya diare melalui mekanismenya sekaligus mengatasi resistensi yang terjadi, maka dikembangkan penelitian tentang bahan-bahan yang mempunyai kandungan tersebut. Namun, mekanisme kerja sebagai antimikroba yang dominan berasal dari flavonoid (isoflavon) karena merupakan senyawa aktif polar dan pelarut metanol juga merupakan senyawa polar, sehingga isoflavon dapat diekstrak dengan maksimal dan jumlahnya lebih banyak jika dibandingkan dengan tannin yang bersifat non-polar. Tingkat kepolaran suatu zat dan pelarutnya sangat penting dalam proses

ekstraksi. Kulit pisang ambon merupakan salah satu tanaman yang mempunyai kandungan tannin dan flavonoid (isoflavon) cukup bermakna sehingga dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* (Salah, 2010). Penelitian menggunakan kulit pisang ambon muda karena kandungan tannin dan flavonoid terbanyak terdapat pada kulit pisang yang masih muda (berwarna hijau) dan integritas dinding sel terbaik didapatkan pada kulit pisang muda (Hiraga *et al.*, 1994; Ratule *et al.*, 2007). Peneliti akan menggunakan metode dilusi tabung dan *streaking* pada NAP dalam menilai efek antimikroba ekstrak kulit pisang ambon.



BAB 3
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

Keterangan :

Ekstrak kulit pisang mengandung tannin, flavonoid (isoflavon), melantonin, serotonin, pektin, selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang cukup bermakna, namun tannin dan flavonoid (isoflavon) merupakan unsur terbanyak dalam kulit pisang (Rayne, 2010; Lee, 2010; Wanlapa, 2009). Tannin bekerja dengan menghambat sintesis protein yang menyebabkan lisisnya sel bakteri, menghambat adhesin sehingga bakteri gagal melekat pada permukaan membran sel target (*host*), menghambat kerja enzim *reverse transcriptase* dan *DNA topoisomerase* sehingga replikasi DNA terhambat. Mekanisme flavonoid (isoflavon) adalah dengan menurunkan kekentalan membran baik di luar maupun di dalam sehingga fungsi membran sitoplasmik terhambat dan menghambat metabolisme energi yang menyebabkan gagalnya sintesis DNA, RNA, protein, dan dinding sel. Mekanisme flavonoid (isoflavon) lebih dominan sebagai antimikroba (tulisan berwarna biru) daripada tannin. Kelima mekanisme kerja di atas mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang dapat diukur dengan cara mengamati nilai KHM dan KBM.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep di atas, maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

* Ekstrak metanol kulit pisang ambon muda (*Musa paradisiaca L.*) memiliki efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* *

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Dalam penelitian digunakan rancangan penelitian dengan desain eksperimental laboratorium (*True experiment-post test only control group design*) dengan menggunakan metode dilusi tabung untuk mengetahui aktivitas ekstrak kulit pisang sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli*. Metode dilusi tabung meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada media *broth* untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan tahap penanaman pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*) dengan metode *streaking* (penggoresan) untuk mengetahui KBM (Kadar Bunuh Minimal).

4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

4.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari – Mei 2012.

4.2.2 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa bakteri *Escherichia coli* yang didapatkan dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4 Estimasi Jumlah Sampel Minimal

Dalam penelitian ini terdapat 6 perlakuan, maka jumlah bakteri untuk masing-masing perlakuan dapat dicari dengan rumus $[(np - 1) - (p - 1)] \geq 16$ dengan n = jumlah pengulangan tiap perlakuan; p = jumlah perlakuan. Dari sejumlah sampel ini akan diuji dengan level signifikansi 95%.

$$[(6n - 1) - (6 - 1)] \geq 16$$

$$(6n - 1) - 5 \geq 16$$

$$6n - 1 \geq 21$$

$$6n \geq 22$$

$$n \geq 3.6$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka besar sampel atau strain bakteri yang diperlukan dalam penelitian ini paling sedikit adalah 4.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit pisang dengan konsentrasi 0%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan 17,5%. Konsentrasi tersebut didapatkan melalui eksplorasi (penelitian pendahuluan).

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM)

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Kulit pisang ambon muda yang digunakan sebagai ekstrak adalah kulit pisang ambon berwarna hijau cerah dan belum matang. Pisang ambon muda diperoleh dari perkebunan pisang di daerah Sukoanyar, Wajak.

4.6.2 Ekstrak kulit pisang menggunakan pelarut diklorometana dan metanol dengan perbandingan 1:1 yang diproses dengan cara ekstraksi soxhlet (Karadi *et al.*, 2011).

4.6.3 *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.6.4 KHM (Kadar Hambat Minimal) atau MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) konsentrasi minimal larutan ekstrak kulit pisang yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak kulit pisang dan suspensi bakteri tersebut dalam tabung setelah diinkubasikan 18-24 jam (Finegold *et al.*, 1986). Definisi ini tidak berlaku jika ada reaksi antara bahan aktif ekstrak dengan media *Nutrient Broth* yang menyebabkan kekeruhan pada seluruh tabung.

4.6.5 KBM (Kadar Bunuh Minimal) adalah konsentrasi minimal ekstrak kulit pisang yang mampu membunuh bakteri uji (*Escherichia coli*). KBM merupakan konsentrasi terendah yang memungkinkan pertumbuhan hanya < 0,1% dari jumlah inokulum. Jumlah inokulum adalah setara dengan jumlah koloni yang

diterima pada subkultur *original inoculum* (OI) pada NAP segera setelah suspensi inokulum.

4.6.6 *Original inoculum* adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml yang diinokulasikan pada media agar padat sebelum diinkubasi, dan digunakan untuk mencari kategori KBM.

4.6.7 Kontrol positif adalah ekstrak kulit pisang murni yang tidak dicampur bakteri *Escherichia coli* yang digunakan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril di mana nilai kontrol positif adalah 0 (tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri jenis apapun).

4.6.8 Kontrol negatif adalah biakan bakteri murni yang tidak dicampur dengan ekstrak kulit pisang yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah bakteri yang digunakan kontaminasi dengan bakteri lain.

4.6.9 Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, dan 17,5%.

4.6.10 Tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung dievaluasi menggunakan kertas putih bergaris-garis hitam yang di posisikan tepat di belakang tabung.

4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Alat dan Bahan untuk Kultur Bakteri

1. Alat

- a. Tabung reaksi
- b. Ose
- c. Lampu spiritus atau Bunsen

- d. Inkubator
- e. Spektrofotometer
- f. Korek api

2. Bahan

- a. *Escherichia coli*
- b. Medium EMB (*Eosin Methylene Blue*)

4.7.2 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan Gram

1. Alat

- a. Obyek glass dan kaca penutup
- b. Lampu spiritus atau Bunsen
- c. Ose
- d. Mikroskop
- e. Minyak emersi
- f. Korek api

2. Bahan

- a. Suspensi bakteri dari *Muller Hinton Broth*
- b. Bahan pewarnaan Gram : Kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin
- c. Aquades steril
- d. Kertas penghisap atau tissue

4.7.3 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang

1. Alat

Seperangkat ekstraktor soxhlet

2. Bahan

- a. Kulit pisang ambon yang telah dikeringkan dan menjadi serbuk halus sebanyak 80 g.
- b. Pelarut metanol dan diklorometana (masing-masing 250 ml).

4.7.4 Alat dan Bahan untuk Dilusi Tabung

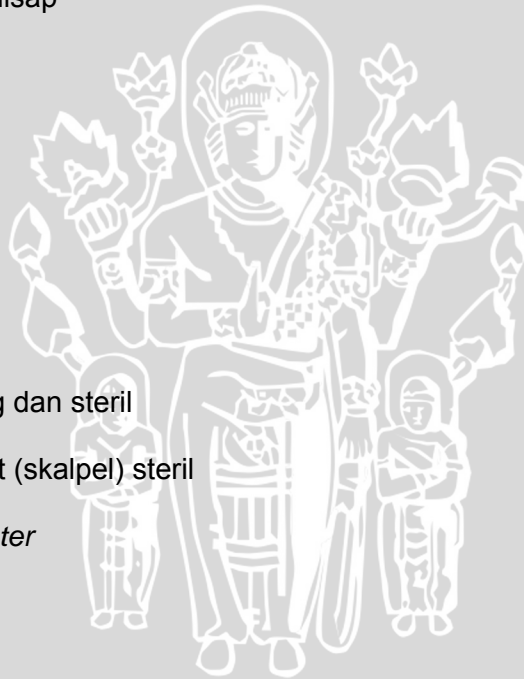
1. Alat

- a. Tabung reaksi
- b. Pipet steril ukuran 1 ml dan 10 ml
- c. Karet penghisap
- d. Inkubator
- e. Vortex
- f. Bunsen
- g. Korek api
- h. Objek glass
- i. Plate kosong dan steril
- j. Alat penjepit (skalpel) steril
- k. *Colony counter*

l. Kapas

2. Bahan

- a. Ekstrak kulit pisang
- b. Suspensi bakteri dari *MH Broth*



4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Identifikasi Bakteri

a. Pewarnaan Gram (Baron and Fenegold, 1994)

Pada hari kedua, sampel bakteri *E.coli* diidentifikasi dengan pewarnaan Gram. Kemudian beberapa ose ditanam pada medium EMB dan diinkubasi pada suhu 37°–37,5°C selama 18-24 jam. Prosedur pewarnaan Gram:

1. Satu ose aquadest steril diteteskan pada gelas objek, kemudian diambil sedikit bakteri untuk disuspensikan dengan aquadest yang telah diteteskan di atas gelas objek. Kemudian dibiarkan kering di udara.
2. Suspensi bakteri yang telah kering difiksasi dengan cara melewatkannya di atas api beberapa kali dan sediaan siap untuk diwarnai.
3. Sediaan ditetesi dengan kristal violet dan ditunggu selama satu menit. Kemudian kristal violet dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.
4. Sediaan ditetesi dengan lugol dan ditunggu selama satu menit, lalu lugol dibuang dan dibilas dengan air.
5. Sediaan ditetesi dengan alkohol 96% dan ditunggu 5-10 detik, kemudian alkohol segera dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan ditetesi safranin dan ditunggu selama 30 detik, kemudian safranin dibuang dan dibilas dengan air.
7. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap dan siap untuk dilihat di bawah mikroskop.

b. *Microbact* 12A/E-24E

1. Sebelum ditentukan menggunakan 12A/12E atau 24E, koloni bakteri dilakukan uji oksidase, jika hasil oksidase negative menggunakan

Micorbact system 12A/12E saja, sedangkan jika hasil oksidasenya positif maka menggunakan 24E.

2. Satu koloni bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan kedalam 5 mL NaCl 0,9% pada tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen.
3. Larutan bakteri yang telah homogen diteteskan ke dalam sumur *Microbact* sebanyak 100 UI (4 tetes), untuk sumur Lysin, Omitin, dan H₂S ditambah dengan tetesan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Setelah itu *Microbact* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
4. *Microbact* yang telah diinkubasi diambil kemudian diteteskan 2 tetes reagen Nitrat A dan B pada sumur 7, pada sumur nomor 8 dengan *Indol Kovact* sebanyak 2 tetes, sumur nomor 10 dengan VP I dan VP II masing-masing satu tetes, dan sumur 12 dengan TDA sebanyak satu tetes.
5. Untuk uji fermentasi karbohidrat pada *microbact* 12B, tanpa ada penambahan reagen yaitu hasil dari sumuran langsung bisa dibaca hasilnya, yaitu jika fermentasi positif menunjukkan warna kuning, sedangkan hasil negatif tidak ada perubahan warna tetap biru.
6. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan table warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*.
7. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka *oktal*).

8. Nama spesies bakteri dilihat dengan *software microbact system* di komputer berdasarkan angka *oktal* yang didapat.

c. Perbenihan

Pada hari kedua, koloni bakteri *Escherichia coli* ditanam pada *MH Broth* dan diinkubasikan pada suhu 37°–37,5° C selama 18-24 jam.

4.8.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Perbenihan cair bakteri dari *MH broth* dinilai absorbansinya dengan spektrofotometer pada gelombang cahaya 610 nm. Dari nilai absorbansi dapat diperkirakan jumlah kuman pada perbenihan cair dengan kalibrasi yang sudah diketahui yaitu absorbansi 0,1 ekuivalen dengan jumlah kuman sebesar 10⁸ CFU/ml. Dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N_1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

N_2 = Optical density (0,1= setara dengan 10⁸/ml)

N_1 sama dengan nilai absorbansi yang didapat sedangkan N_2 adalah absorbansi 0,1 yang ekuivalen dengan jumlah kuman 10⁸ CFU/ml. V adalah volume suspensi kuman. Sehingga diperoleh volume (ml) bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi 10⁸/ml sebanyak 10 ml.

Dari konsentrasi bakteri 10^8 CFU/ml dilakukan pengenceran dengan menambahkan 1 ml perbenihan (10^8 CFU/ml) ke dalam 9 ml *MH broth* untuk mendapatkan konsentrasi sebesar 10^7 CFU/ml. Kemudian dilakukan pengenceran lagi dengan mengambil 1 ml perbenihan cair (10^7 CFU/ml) untuk ditambahkan pada 9 ml *MH broth* sehingga akhirnya didapatkan konsentrasi bakteri yang diinginkan yaitu sebesar 10^6 CFU/ml. Kini suspensi bakteri telah siap digunakan untuk penelitian.

4.8.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang

Pembuatan ekstrak kulit pisang melalui pemilihan pisang ambon muda dengan kulit yang masih berwarna hijau cerah. Kulit pisang yang telah dipilih dicuci bersih dengan air kemudian dikeringkan dengan oven suhu 50°C selama sekitar 2 hari. Setelah kering kulit pisang dihaluskan sampai berubah menjadi serbuk menggunakan blender. Berat basah yang diperoleh dari kulit pisang per buahnya adalah 60,364 gr dan berat keringnya 9,260 g, kadar airnya 84,66%. Untuk memperoleh 80 g serbuk pisang berarti memerlukan sekitar 9 biji kulit pisang ambon, setelah itu dilakukan proses ekstraksi menggunakan alat Soxhlet.

Proses ekstraksi sebagai berikut:

Pertama-tama unit ekstraksi Soxhlet ini disusun sesuai urutan mulai dari bawah yaitu labu yang berisi pelarut metanol dan diklormetana (masing-masing 125 ml), Soxhlet, dan kondensor. Ketiga alat ini digabungkan berdasarkan sambungan yang ada pada masing-masing alat dan disusun berdiri dengan bantuan klem dan statif. Bagian Soxhlet sebelum digabungkan dengan bagian kondensor pada bagian atasnya, dimasukkan sampel kulit pisang sebanyak 40 g (untuk 1 kali proses ekstraksi soxhlet) yang telah dibungkus kertas saring Whatman no.41. Saat alat

telah siap, bagian bawah labu kemudian dimasukkan ke dalam penangas air hingga terendam $\frac{3}{4}$ bagiannya. Penangas air dipasang pada *setting* pemanasan 60-70°C dan kran air yang terpasang pada bagian kondensor yang terhubung dengan selang yang dinyalakan sehingga terbentuk aliran air dari bawah menuju ke atas kondensor yang selanjutnya keluar dari pipa yang terpasang di bagian atas kondensor. Pada ekstraktor Soxhlet, pelarut dipanaskan dalam labu didih hingga menghasilkan uap. Uap tersebut kemudian masuk ke kondensor melalui pipa kecil dan keluar dalam fasa cair. Kemudian pelarut masuk ke dalam selongsong berisi padatan. Pelarut akan membasahi sampel dan tertahan di dalam selongsong sampai tinggi pelarut dalam pipa sifon sama dengan tinggi pelarut di selongsong. Kemudian pelarut seluruhnya akan masuk kembali ke dalam tabung didih dan begitu seterusnya. Ekstraksi dijalankan selama 7 jam dan setelah itu hasil ekstraksi dievaporasi dengan oven vakum pada suhu 50°C untuk memisahkan pelarut dari sampel dan kemudian diangin-anginkan. Hasil akhir diperoleh ekstrak kulit pisang ambon sebanyak 10 ml (Anonymous⁹, 2011).

4.8.4 Uji Sensitivitas Antimikroba

Rangkaian uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak kulit pisang disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit agar larutan ekstrak menjadi homogen dan tidak mengendap. Untuk perlakuan yang diambil adalah larutannya.
2. Sediakan 8 tabung steril, 6 tabung sebagai uji antibakteri, 1 tabung sebagai kontrol positif (KP), dan 1 tabung sebagai kontrol negatif (KN).

3. Masukkan 1 ml aquades steril ke dalam tabung 1 tanpa menambahkan ekstrak kulit pisang (0%).
4. Masukkan 0,925 ml aquades steril ke dalam tabung 2 lalu tambahkan 0,75 ml ekstrak kulit pisang (5%).
5. Masukkan 0,9 ml aquades steril ke dalam tabung 3 lalu tambahkan 0,1 ml ekstrak kulit pisang (10%).
6. Masukkan 0,875 ml aquades steril ke dalam tabung 4 lalu tambahkan 0,125 ml ekstrak kulit pisang (12,5%).
7. Masukkan 0,85 ml aquades steril ke dalam tabung 5 lalu tambahkan 0,15 ml ekstrak kulit pisang (15%).
8. Masukkan 0,825 ml aquades steril ke dalam tabung 6 lalu tambahkan 0,175 ml ekstrak kulit pisang (17,5%).
9. Masukkan 1 ml ekstrak kulit pisang saja ke dalam tabung KP dan masukkan 1 ml suspensi bakteri saja ke dalam tabung KN.
10. Masukkan 1 ml suspensi bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml ke dalam tabung 1-6.
11. Ambil bakteri dari tabung bertanda KN sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada NAP sebagai *original inoculum* kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.
12. Pada hari kedua, semua tabung dikeluarkan dari inkubator. KHM didapatkan dengan cara melihat kejernihan tabung. Cara membaca derajat kekeruhan dengan membandingkan kejernihan tabung A-E dengan tabung KP.

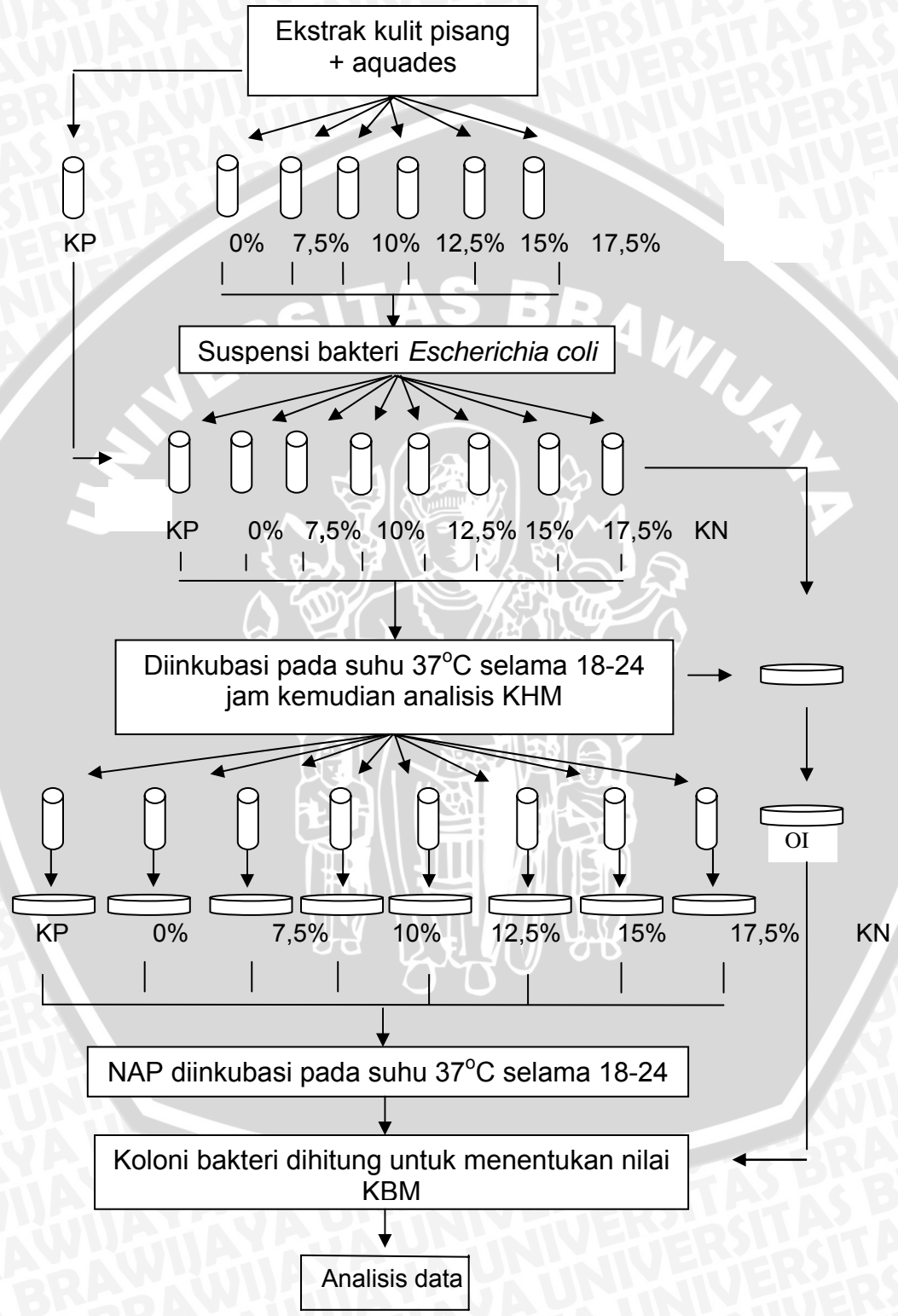
13. Kemudian dari masing-masing tabung dilusi diambil satu ose kemudian diinokulasikan pada NAP yang berbeda. Kemudian diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C.

14. Pada hari ketiga didapatkan data KBM dan dilakukan pengamatan kuantitatif pada masing-masing konsentrasi dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*. KBM ditentukan dari tidak adanya jumlah koloni yang tumbuh pada NAP atau jumlah koloninya kurang dari 0,1% inokulum OI.

Tabel 4.1 Persiapan Ekstrak Kulit Pisang Ambon

Tabung	konsentrasi (%)	ekstrak (ml)	aquades (ml)	total (ml)
1	0	0	1	1
2	7,5	0,075	0,925	1
3	10	0,10	0,90	1
4	12,5	0,125	0,875	1
5	15	0,15	0,85	1
6	17,5	0,175	0,825	1
KP	kontrol bahan	1	0	1
KN	kontrol bakteri	0	0	1





Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian

4.9 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan variabel numerik dengan satu faktor yang ingin diketahui yaitu perbedaan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang dihasilkan pada media NAP berdasarkan faktor perlakuan pemberian ekstrak kulit pisang. Uji statistik yang digunakan adalah uji beda non parametrik Kruskal Wallis dengan program SPSS 15, dengan taraf signifikansi 0,05 (5%).

Langkah-langkah dalam uji Kruskal Wallis adalah sebagai berikut:

1. Memeriksa syarat uji ANOVA untuk > 2 kelompok yaitu:
 - Sebaran data harus normal
 - Varian data harus sama (homogen)
2. Karena data penelitian tidak homogen, maka uji one way anova tidak dapat digunakan, sehingga menggunakan metode Kruskal Wallis untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* pada setiap perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian kulit pisang. Kemudian untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak kult pisang terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* maka digunakan uji statistik Kolerasi Spearman-Regresi Linier. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for windows versi 15,0.

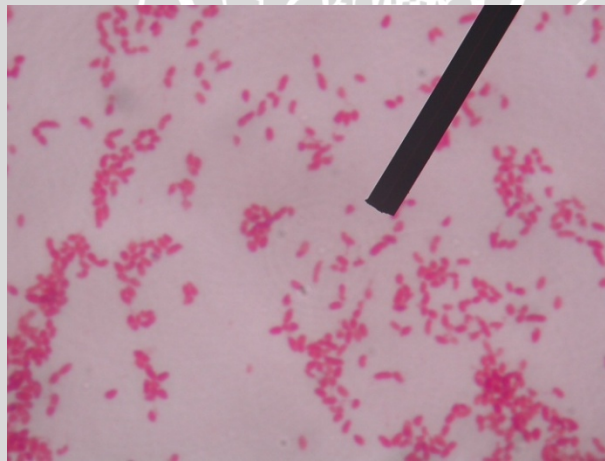
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Escherichia coli*

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum melakukan penelitian, dilakukan identifikasi ulang yang meliputi pewarnaan Gram dan *microbact test*. Dari pewarnaan Gram didapatkan sel bakteri berbentuk batang, gram negatif berwarna merah.



Gambar 5.1 *Escherichia coli* dengan pengecatan Gram perbesaran 1000x. Tampak pada ujung petunjuk bakteri gram negatif berbentuk batang berwarna merah yang menandakan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Escherichia coli*.

Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia, dalam penelitian ini digunakan *Microbact System test*. Sebelum dilakukan uji *microbact* ini, bakteri diuji oksidase

dengan menggosokkan koloni bakteri pada *stick* oksidase dan dibiarkan 5 menit. Hasilnya menunjukkan oksidase negatif, yaitu dengan tidak adanya perubahan warna *stick* menjadi biru tua. Setelah itu dilanjutkan uji *microbact* dengan memasukkan suspensi bakteri ke dalam 12A/E sumuran *microbact system* dan diinkubasi 18 jam pada suhu 37°C. Berikut adalah hasil *microbact test* :

16/1B/U

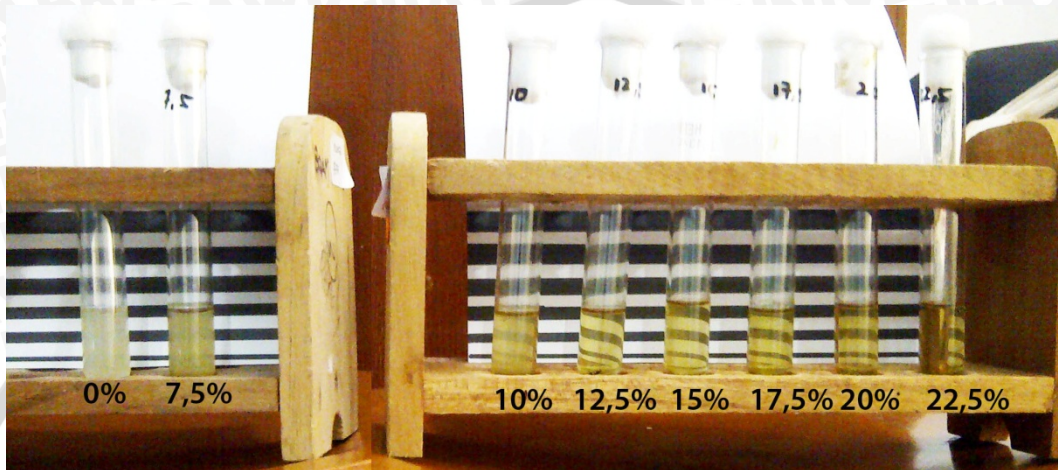
OXOID MICROBACT™ IDENTIFICATION KITS		MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E																								
		GNB 12A / 12E										GNB 12B														
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
			+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-													
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum / Suma / Summe / Somme / Somma / Sum / Summa / Soma / Somma			6			7			6			0														
Identification / Identificación / Identifikation / Identifikation / Identificazione / Identifikation / Identifizierung / Identificatio / Toumnoirapm		E. coli 96,39%																								

Gambar 5.2 Hasil Scan *Microbact Test*. Berdasarkan angka-angka oktal pada gambar di atas, bakteri yang digunakan diyakini 96,39% sebagai *Escherichia coli*.

5.1.2 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak kulit pisang yang diperoleh dari penelitian pendahuluan sebelumnya. Konsentrasinya adalah 0%, 7,5 %, 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20% dan 22,5%. Pengamatan pertumbuhan bakteri untuk menentukan KHM menggunakan metode dilusi tabung dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung yang dibantu dengan kertas putih bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat dibelakang tabung. Bila semakin jernih maka garis hitam semakin terlihat, menandakan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, bila semakin keruh maka garis

hitam akan semakin tidak tampak, ini menandakan banyak bakteri yang tumbuh pada tabung tersebut.



Gambar 5.3 Dilusi tabung dengan beberapa konsentrasi ekstrak kulit pisang terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* untuk uji KHM. Dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, pertumbuhan bakteri semakin berkurang. Hal ini tampak dari tabung yang semakin jernih, diperoleh KHM 10%.

Gambar 5.3 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi tabung yang berisi campuran ekstrak kulit pisang dan bakteri dengan konsentrasi 0% (Kontrol Kuman / KK), 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, dan 22,5%. Tabung akan diinkubasikan selama 24 jam kemudian dilihat tingkat kekeruhannya menggunakan kertas bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat di belakang tabung.

Hasil pengamatan pada tabung (Gambar 5.3) setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit pisang yang diberikan, semakin sedikit bakteri yang tumbuh (bandingkan dengan tabung KK atau konsentrasi 0% dan garis-garis hitam semakin jelas).

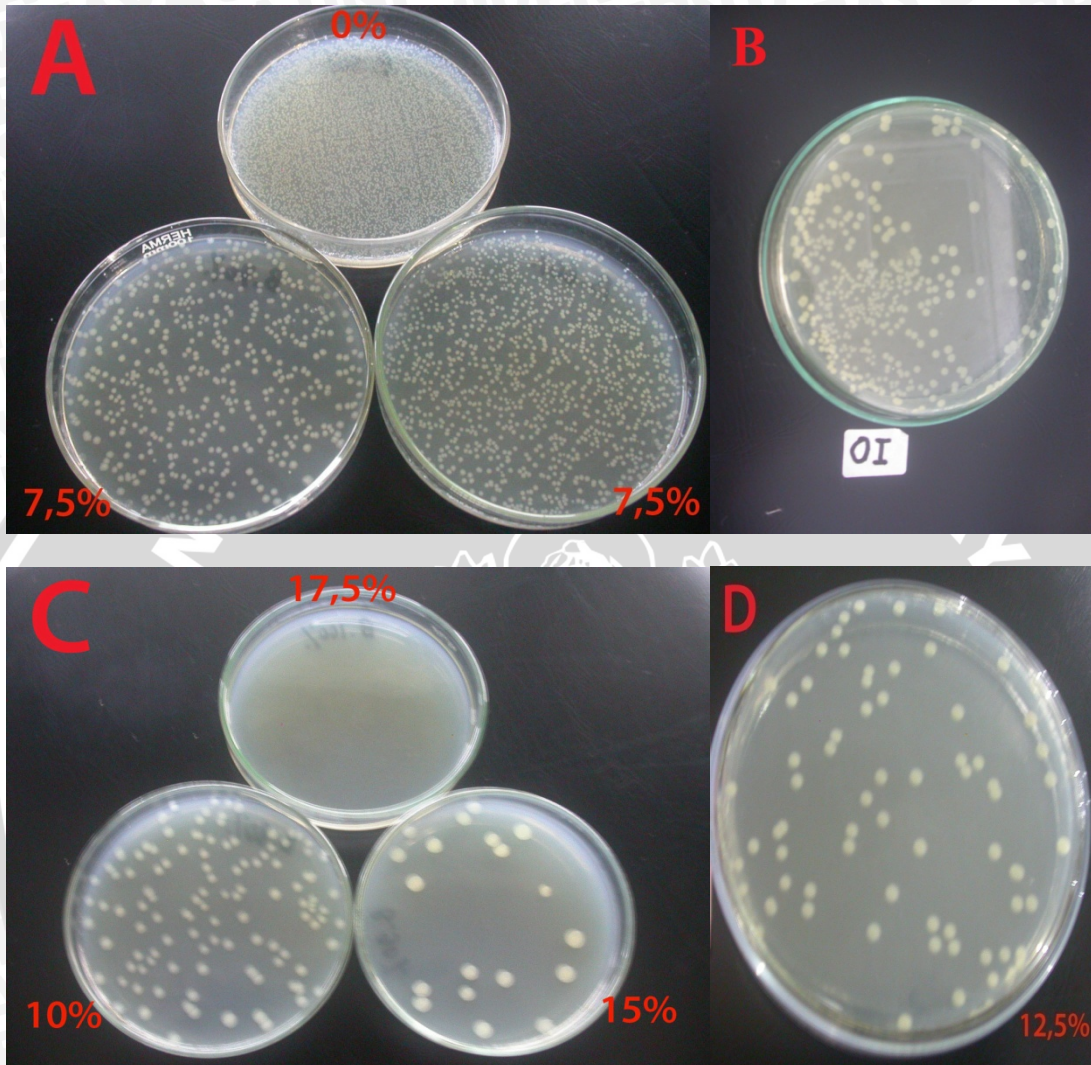
Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai kadar hambat minimal (KHM) ekstrak kulit pisang sebagai antimikroba. Berdasarkan Gambar 5.3, penulis menetapkan konsentrasi 10% sebagai kadar hambat minimal (KHM) karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dapat dilihat dari mulai berkurangnya kekeruhan tabung dan garis-garis hitam mulai tampak.

5.1.3 Hasil Penentuan KBM

Hasil uji dilusi dilakukan penanaman dengan metode *streaking* pada media NAP (*Sodium Agar Plate*) untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM). Setelah itu dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi dan perulangan dengan alat *colony counter*. Berikut tabel dan gambar hasil penanaman pada masing-masing konsentrasi :

Tabel 5.1 Jumlah Koloni *Escherichia coli* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Kulit Pisang Ambon

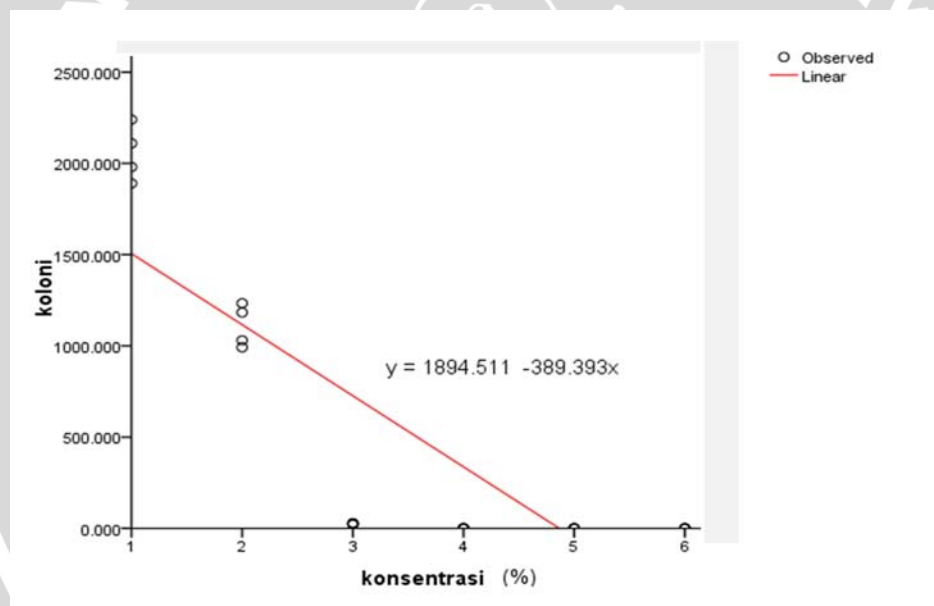
Konsentrasi	Jumlah Koloni ($\times 10^5$ CFU/mL)					rata-rata
	1	2	3	4	total	
0% (KN)	1890	2240	2110	1980	8220	2055
7,5%	1234	1030	992	1182	4438	1110
10%	21	24	28	27	100	25
12,5%	0,033	0,048	0,047	0,029	0,157	0,039
15%	0,01	0,017	0,011	0,015	0,053	0,013
17,5%	0	0	0	0	0	0
100% (KP)	0	0	0	0	0	0



Gambar 5.4 Hasil *Streaking Escherichia coli* pada Medium NAP untuk uji KBM. A : *Escherichia coli* digoreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 0% dan 7,5%. Tampak koloni yang tumbuh (berupa bintik-bintik putih) pada konsentrasi 0% lebih banyak dibandingkan 7,5%; B : *Original Inoculum* (OI) yang digoreskan pada *plate*, digunakan sebagai acuan dalam menghitung KBM; C : *Escherichai coli* dengan konsentrasi ekstrak 10%, 15%, dan 17,5%. Koloni bakteri tumbuh banyak pada konsentrasi 10% namun mulai berkurang pada konsentrasi 15% dan sama sekali

tidak tumbuh koloni bakteri pada *plate* 17,5%; D : *Escherichia coli* pada *plate* 12,5%, jumlah koloni yang tumbuh lebih sedikit dibandingkan pada *plate* 10%, tetapi lebih banyak jika dibandingkan dengan *plate* 15%. Diperoleh KBM 17,5%

Berdasarkan Gambar 5.4 dan Tabel 5.1 diperoleh nilai KBM pada konsentrasi 17,5% dimana konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu $< 0,1\%$ dari OI (*Original Inoculum* : 257×10^3 CFU/mL). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Hal ini nampak lebih jelas pada gambar berikut :



Gambar 5.5 Kurva Regresi Linier Jumlah Koloni untuk Masing-masing Konsentrasi Ekstrak Kulit Pisang dimulai dari Konsentrasi Rendah ke Konsentrasi Tinggi; y= jumlah koloni bakteri, x= perlakuan dengan ekstrak kulit pisang.

5.2 Analisis Data

Data jumlah koloni bakteri terlebih dahulu diuji untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji pra-syarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *One way anova*. Jika dari hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan distribusi

data yang normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ($p > 0,05$), maka dapat dilakukan uji beda parametrik *One way anova*. Berdasarkan hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, distribusi data jumlah koloni bakteri tidak normal ($p = 0,001$) dan berdasarkan hasil uji homogenitas, data tidak homogen ($p = 0,000$), sehingga data jumlah koloni bakteri tidak dapat dianalisis dengan uji beda *one way anova*.

Kemudian data jumlah koloni ditransformasi dan dilakukan uji normalitas dan homogenitas kembali. Hasil uji normalitas dan homogenitas data transformasi jumlah koloni bakteri masih menunjukkan tidak homogen ($p = 0,000$), meskipun distribusinya normal (Kolmogorov-Smirnov, $p = 0,207$). Dengan demikian data tidak bisa diolah dengan menggunakan uji beda parametrik *one way anova*, sehingga dilakukan uji beda non parametrik Kruskal Wallis sebagai pengganti uji *one way anova*.

Sama halnya dengan uji beda parametrik *one way anova*, uji non parametrik Kruskal Wallis dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri setelah terpapar oleh ekstrak kulit pisang dengan berbagai konsentrasi. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna jika $p < 0,05$. Dari uji beda Kruskal Wallis, terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan jumlah koloni bakteri setelah terpapar oleh ekstrak kulit pisang pada berbagai konsentrasi ($p = 0,000$) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri.

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi Mann Whitney guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang

berbeda. Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam Tabel 5.2 dibawah ini:

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney

Konsentrasi	0%	7,5%	10%	12,5%	15%	17,5%
0%		0,029	0,029	0,029	0,029	0,029
7,5%	0,029		0,029	0,029	0,029	0,029
10%	0,029	0,029		0,029	0,029	0,029
12,5%	0,029	0,029	0,029		0,029	0,029
15%	0,029	0,029	0,029	0,029		0,029
17,5%	0,029	0,029	0,029	0,029	0,029	

Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan (lihat tabel di atas, $p < 0,05$). Dengan kata lain terdapat penurunan jumlah koloni bakteri yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak.

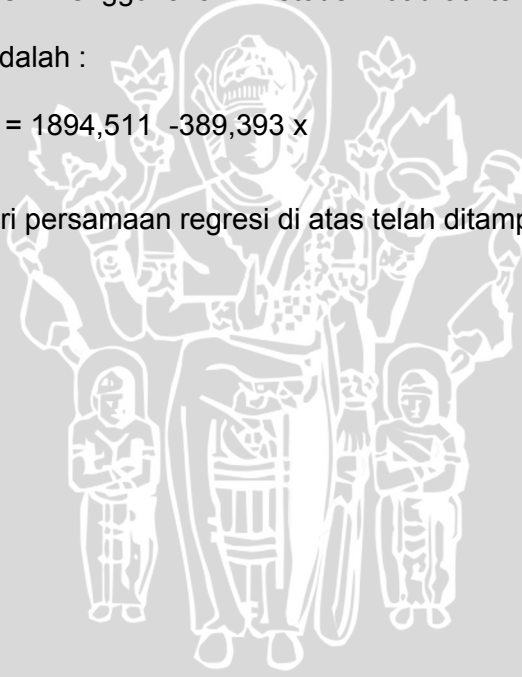
Uji korelasi non parametrik Spearman menunjukkan nilai signifikansi (P -value) = 0,000 ($p < 0,05$) dan *correlation coefficient* -0,989 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). *Spearman correlation coefficient* (r) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi dosis/konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri, serta menunjukkan korelasi yang sangat kuat ($r > 0,799$). Note : r = *correlation coefficient*, shows the strength of correlation. Weak

correlation ($r < 0,500$), moderate correlation ($r = 0,500-0,599$), strong correlation ($r = 0,600-0,799$), very strong correlation ($r > 0,799$).

Uji regresi linier merupakan uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui besar pengaruh variable independen (ekstrak dengan berbagai konsentrasi) terhadap variable dependen (jumlah koloni bakteri). Nilai R^2 (*R square*) dari tabel *Model summary* menunjukkan bahwa 70,1% ($0,701 \times 100\%$) dari variabel jumlah koloni bakteri dipengaruhi oleh variable independen yakni paparan ekstrak. Atau persamaan garis regresi menggunakan metode kuadrat terkecil (*least square method*) yang di dapat adalah :

$$y = 1894,511 - 389,393 x$$

Adapun bentuk kurva dari persamaan regresi di atas telah ditampilkan sebelumnya (lihat Gambar 5.6).



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 *Escherichia coli*

Penelitian ini menggunakan bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum bakteri digunakan untuk penelitian, dilakukan beberapa uji identifikasi ulang terhadap *Escherichia coli*. Dari uji pewarnaan Gram, didapatkan sel bakteri berbentuk batang gram negatif dan berwarna merah, sedangkan dari uji *Microbact Test* diperoleh hasil 96,39% artinya bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 96,39% benar-benar *Escherichia coli*.

6.2 Kadar Hambat Minimal (KHM)

Penelitian menggunakan bahan pisang ternyata telah cukup banyak dilakukan. Karadi *et al.*, (2011) telah membandingkan efek kulit pisang (*Musa paradisiaca*) yang mengandung tannin dan efek akar *Cocos nucifera* (kelapa) dengan ekstraksi soxhlet, pelarut metanol 96%, dan metode *disk diffusion* terhadap pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*), gram negatif (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) dan jamur (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*). Hasil penelitian menyatakan bahwa *Cocos nucifera* dengan konsentrasi 80 μ L dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan

konsentrasi 65 μ L dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* lebih baik, sedangkan *Musa paradisiaca* menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan yang lebih baik pada bakteri gram negatif pada konsentrasi 85 μ L (Karadi *et al.*, 2011). Pada penelitian ini, diperoleh nilai KHM 10% yang berarti konsentrasi 10% adalah konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Dengan demikian, diduga pisang merupakan antimikroba yang poten dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif maupun gram positif.

Penelitian Valamarthy (2010) mengenai studi aktivitas antimikroba ekstrak etanol yang menggunakan berbagai macam jenis tumbuhan, salah satunya meneliti daun pisang dengan metode *disc diffusion*. Bakteri yang diteliti adalah jenis gram negatif, yaitu *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio cholerae* dan *Klebsiella pneumoniae*. Valamarthy menyebutkan bahwa ekstrak etanol dari pisang memberikan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri yang diteliti, tetapi tidak mencantumkan nilai KHMnya (Valamathry, *et al.*, 2010). Pada penelitian ini digunakan ekstrak metanol dengan menggunakan kulit pisang. Kesimpulan sementara adalah baik kulit maupun daun pisang dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri gram negatif, khususnya *Escherichia coli* maupun bakteri gram positif.

Biswas *et al.*, (2011) juga meneliti tentang aktivitas antimikroba ekstrak etanol akar *Musa paradisiaca* (pisang) terhadap bakteri gram negatif (*Escherichia coli*, *P.aeruginosa*, *S.dysenteriae*, *S.typhi*, *Vibrio cholerae*, dan *S.flexneri*) dan gram positif (*S.aureus* dan *B.subtilis*). Berdasarkan penelitian tersebut diperoleh dugaan sementara bahwa akar tanaman pisang dapat digunakan sebagai antimikroba

terhadap bakteri gram negatif dan positif (Biswas, *et al.*, 2011). Jika dibandingkan dengan penelitian ini, dapat dikatakan bahwa hampir seluruh bagian pisang baik akar, daun, maupun kulitnya dapat digunakan sebagai antimikroba.

Al-Naama (2009) meneliti tentang efek antimikrobal madu terhadap beberapa jenis bakteri, salah satunya adalah *Escherichia coli*, dengan metode dilusi tabung. Penelitian tersebut memperoleh KHM sebesar 6,25 mg/ml. Penelitian lain dilakukan oleh Costa *et al.*, (2010) mengenai aktivitas antimikrobal ekstrak daun pare (*Momordica charantia*) terhadap *Escherichia coli* dan *S.aureus*. Pada akhir penelitian tersebut, diperoleh nilai KHM terhadap *Escherichia coli* sebesar 32 µg/ml dan *S.aureus* sebesar 128 µg/ml (Al-Naama, 2009; Costa *et al.*, 2011).

Chanda *et al.*, (2011) menyebutkan dalam penelitiannya bahwa kulit buah-buahan, seperti *Mangifera indica* (mangga), *Cynodon dactylon* (grinting/kakawatan), *Moringa oleifera* (kelor), dan *Azardiratica indica* (naam, tanaman dari India), merupakan sumber antimikroba natural yang sangat poten (Chanda *et al.*, 2011). Min *et al.*, 2008 juga melakukan penelitian mengenai aktivitas antimikroba dari beberapa tanaman yang memiliki kandungan tannin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella pneumoniae*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tannin dapat menghambat pertumbuhan ketiga bakteri tersebut secara signifikan (Min *et al.*, 2008).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit pisang yang diekstrak dengan ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut metanol 96%. Metanol telah terbukti sebagai pelarut terbaik dalam mengekstraksi tannin dan flavonoid (isoflavon) hal ini tampak dari jumlah tannin dan flavonoid terbanyak mampu diekstrak oleh metanol

dibandingkan dengan etanol, aseton, dan aquades. Flavonoid (isoflavon) yang berhasil peroleh jumlahnya lebih banyak/dominan dibandingkan tannin oleh karena sifatnya yang sama dengan pelarut metanol, yaitu bersifat polar. Metanol lebih banyak menarik flavonoid karena sama-sama bersifat polar, sedangkan tannin yang non-polar juga berhasil diekstraksi, hanya saja jumlahnya tidak sebanyak isoflavon. Mekanisme tannin dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* adalah menghambat sintesis protein, adhesin, dan enzim *reverse transcriptase* dan *DNA topoisomerase*, sedangkan mekanisme dari flavonoid (isoflavon) adalah dengan menurunkan kekentalan membran dan menghambat metabolisme. Seluruh mekanisme di atas akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. dalam hal ini, mekanisme kerja isoflavon lebih dominan sebagai antimikroba (Akiyama *et al.*, 2001; Hentzer, 2003; Dewi dkk., 2007).

Berdasarkan penelitian pendahuluan, pada metode dilusi tabung didapatkan pengurangan jumlah bakteri pada konsentrasi 12,5% yang ditandai dengan mulai jernihnya tabung dan garis-garis hitam mulai kelihatan. Pada metode NAP, didapatkan hasil yang sama, yaitu pada konsentrasi 12,5% koloni bakteri berkurang secara signifikan dan konsentrasi 25% sudah tidak ada koloni yang tumbuh. Berdasarkan penelitian pendahuluan, diduga bahwa konsentrasi efektif ekstrak kulit pisang terhadap *Escherichia coli* berkisar antara 12,5% hingga 20%. Kemudian dilakukan perapatan konsentrasi sebesar 2,5% pada tiap perlakuan, yaitu 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20% dan 22,5% (metode dilusi tabung) sedangkan pada NAP hanya menggunakan konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, dan 17,5%. Konsentrasi 20% dan 22,5% tidak dilihat pada NAP karena kejernihan yang

ditunjukkan pada tabung sama dengan konsentrasi 17,5% sehingga peneliti hanya mengambil konsentrasi terkecil yaitu 17,5% untuk menghemat waktu, tenaga, dan biaya.

Semakin jernih tabung berarti semakin sedikit jumlah bakteri yang tumbuh di sana, ini menunjukkan adanya aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak kulit pisang ambon dengan cara menghambat sintesis protein, adhesin, enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase*, metabolisme energi, dan menurunkan kekentalan membran, sedangkan tabung yang keruh menunjukkan tidak adanya aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri. KHM merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga peneliti menetapkan konsentrasi 10% sebagai KHM karena kejernihan tabung mulai tampak pada konsentrasi ini meskipun tidak sejernih konsentrasi 12,5% atau 15%. Konsentrasi 10% menunjukkan kekeruhan yang mulai berkurang jika dibandingkan dengan konsentrasi 7,5% yang sama keruhnya dengan kontrol bakteri (0%), artinya pada konsentrasi 10% sudah mulai tampak aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri.

Pada konsentrasi 7,5% dapat dilihat pertumbuhan koloni yang sangat banyak, sedangkan konsentrasi 10% jumlah koloni menurun secara signifikan. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 10% ekstrak kulit pisang ambon baru bisa bekerja dengan baik pada dinding sel yang mengakibatkan lisisnya dinding sel dan berakhir pada lisisnya bakteri itu sendiri. Pada konsentrasi 7,5%, aktivitas senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak kulit pisang ambon belum maksimal mempengaruhi dinding sel bakteri.

Berdasarkan pemaparan di atas, dapat ditarik kesimpulan bahwa pisang dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif, tidak hanya kulitnya saja, tapi bagian lain dari pisang juga, seperti akar dan daunnya memiliki potensi sebagai antimikroba. Namun, dapat ditemukan perbedaan KHM dan KBM pada penelitian-penelitian yang telah disebutkan. Perbedaan-perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh jenis galur pisang yang digunakan, faktor tanah dan iklim di mana pisang tumbuh, serta nutrisi yang diperoleh.

Selain itu, tidak hanya tanaman pisang yang memiliki efek antimikroba melainkan beberapa tanaman lain juga dapat digunakan, seperti kelapa, grintangan, dan kelor. Pertumbuhan *Escherichia coli* ternyata tidak hanya dapat dihambat dengan ekstrak pisang, tetapi ekstrak dari tanaman atau buah lain juga dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

6.3 Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Setelah menentukan KHM, dilanjutkan dengan menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) secara kuantitatif dengan perhitungan koloni *Escherichia coli* pada NAP. Hasil dilusi tabung digoreskan pada NAP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penggoresan digunakan untuk menentukan KBM (Kadar Bunuh Minimal). KBM ditentukan dengan melihat pertumbuhan koloni < 0,1% dari OI (*original inoculum*). Dari penanaman pada NAP, didapatkan KBM 17,5% di mana tidak didapatkan pertumbuhan koloni sama sekali atau jumlah koloni < 0,1% dari OI (*original inoculum* = 257×10^3 CFU/ml). Sebelum menentukan KBM, telah dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi.

Penelitian Ferdinand *et al.*, (2009) mengenai ekstrak etanol pisang yang belum matang dengan metode difusi agar sebagai antimikroba terhadap *S.aureus*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella flexnerii*, dan *Escherichia coli* menyimpulkan bahwa ekstrak tersebut memiliki efek antimikroba terhadap bakteri-bakteri yang diteliti. Diameter hambat 31 mm untuk *S.aureus*, 26 mm untuk *Salmonella paratyphi*, 26 mm untuk *Shigella flexnerii*, dan 14 mm untuk *Escherichia coli*, dimana diameter hambat dikatakan menghambat pertumbuhan secara signifikan jika >12 mm. Dari penelitian tersebut diperoleh rata-rata MIC 32 mg/ml dan MBC 32 mg/ml (Ferdinand, *et al.*, 2009). Penelitian dengan ekstrak kulit pisang terhadap pertumbuhan *E.coli* memperoleh MIC (KHM) 10 % dan MBC (KBM) 17,5%. Dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak pisang memberikan efek antimikroba terhadap bakteri gram positif dan negatif, khususnya *Escherichia coli*.

Data jumlah koloni yang diperoleh dengan 4 kali pengulangan kemudian dianalisis dengan uji statistik menggunakan *software* SPSS 15,0. Pada tiap pengulangan didapatkan jumlah koloni yang berbeda-beda. Hal ini mungkin saja terjadi pada saat pemindahan bakteri dari tabung ke *plate* untuk ditanam, mungkin saja konsentrasi ekstraknya kurang tepat. Untuk menghindari atau memperkecil bias tersebut, maka dilakukan perulangan. Uji statistik yang digunakan meliputi uji Kruskal Wallis, Mann Whitney, korelasi Spearman, dan uji regresi linier. Semua analisis dihitung berdasarkan batas kepercayaan 95%, artinya kemungkinan kesalahan hasil penelitian berkisar 5%. Berdasarkan uji Kruskal Wallis didapatkan nilai signifikansi yaitu $p = 0,000$ ($p < 0,05$), menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri.

Uji multi-komparasi Mann Whitney guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Dengan kata lain terdapat penurunan jumlah koloni bakteri yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak.

Uji korelasi non-parametrik Spearman menunjukkan adanya korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri) di mana korelasinya berbanding terbalik, artinya semakin tinggi dosis/konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri dan korelasinya sangat kuat.

Uji regresi linier memberikan nilai R^2 70,1% menunjukkan bahwa sebanyak 70,1% jumlah koloni bakteri dipengaruhi oleh paparan ekstrak, sedangkan 29,9% dipengaruhi oleh faktor lain, seperti waktu penyimpanan ekstrak yang lama sehingga menurunkan daya kerjanya, resistensi bakteri terhadap ekstrak, suhu pada saat penyimpanan ekstrak, atau adanya kesalahan lain yang dilakukan saat penelitian. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit pisang ambon muda dengan kandungan tannin dan flavonoid mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri, khususnya *Escherichia coli*.

Dari uraian di atas, dapat diketahui bahwa kulit pisang ternyata dapat bermanfaat bagi kesehatan, tidak hanya menjadi sampah. Kandungan tannin dan flavonoid (isoflavon) kulit pisang ambon muda berpotensi sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*. Uji lanjutan mengenai farmakologi, farmakokinetik, toksisitas, juga uji secara *in vivo* ekstrak ini perlu dilakukan.

Perbedaan geografi antar negara dan antar daerah dalam suatu negara juga perlu diperhitungkan. Selain itu, pengujian terhadap efek samping jangka pendek dan jangka panjang juga perlu dilakukan. Maka, penelitian ini masih sangat dini untuk langsung diterapkan secara klinis dalam bidang pengobatan masyarakat.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa :

- Ekstrak metanol kulit pisang ambon muda terbukti memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Hal ini ditunjukkan dengan seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak, semakin sedikit koloni bakteri yang tumbuh.
- Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak metanol kulit pisang ambon muda terhadap *Escherichia coli* didapatkan pada konsentrasi 10%.
- Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak metanol kulit pisang ambon muda terhadap *Escherichia coli* didapatkan pada konsentrasi 17.5%.
- Ekstrak metanol kulit pisang ambon muda memiliki efek antimikroba yang cenderung ke arah bakteristatik. Hal ini dapat dilihat dari kurva regresi linier yang garisnya tidak terlalu curam.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan pada penelitian ini adalah :

- a. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui presentasi masing-masing bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak kulit pisang ambon.
- b. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba ekstrak kulit pisang ambon pada bakteri lain, fungi, maupun virus.
- c. Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat efektifitas ekstrak kulit pisang ambon secara *in vivo* (hewan coba dan uji klinik) sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.
- d. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain, misalnya dengan cara dekok ataupun perasan untuk mengetahui kemampuan kulit pisang ambon sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli*.
- e. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bagian dari pisang lainnya, seperti daun atau akar pisang sebagai antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Naama, R.T. Evaluation of *in vitro* Inhibitory Effect of Honey on Some Microbial Isolate. *Journal of Bacteriology Research*, 2009; 1(6): 064-067.
- Aguilera, A., Augur, C., Prado, L.A., Torres, E.F., Aguilar, C.N. Microbial Production of Ellagic Acid and Biodegradation of Ellagitannins. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007; 78: 189-199.
- Ahmad, I and Beg, A.Z. Antimicrobial and Phytochemical Studies on 45 Indian Medical Plants Against Multi-Drug Resistant Human Pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001; 74: 113-123.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Onoo, T., Iwatsuki, K. Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Derma Dis*, 2001; 7(2): 356-370.
- Alnicolsa, S.A.C. 2003. Direct Analysis of Complex Tannin Mixtures. *Tannin*, (Online), <http://taninos.tripod.com/hidrolisables.htm> , accessed 10 November 2011.
- Andersen, M and Markham, K.R. eds. 2006. *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. CRC Press: Florida, p: 2-10.
- Anhwange, B.A. Chemical Composition of *Musa sapientum* (Banana) Peels. *Journal of Food Technology*, 2009; 6(6): 263-266.
- ASM. Antibiotic Resistance and Distribution of Tetracycline Resistance Genes in *Escherichia coli* O157:H7 Isolates from Humans and Bovines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004; 48(3): 1066-1067.
- Anonymous^a. 2006. Low-Level Use of Antibiotics In Livestock and Poultry. *Antibiotics*, (Online), <http://www.fmi.org/docs/media/bg/antibiotics.pdf>, accessed 10 November 2011.
- Anonymous^b. 2009. Infectious Diarrhea- Guideline for Ordering Stool Specimens. *Guideline & Protocols*, (Online), http://www.bcguidelines.ca/guideline_diarrhea.html, accessed 18 November 2011.
- Anonymous^c. 2003. Diarrhea. *FitFacts*, (Online), <http://digestive.niddk.nih.gov/diseases/pubs/diarrhea/> , accessed 10 November 2011.

- Anonymous^d. 2009. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infections. Iowa State University, (Online), <http://www.cfsph.iastate.edu/msds-ftss/index-eng.php>, accessed 15 November 2011.
- Anonymous^e. 2011. Pisang / *Musa spp.*, (Online), <http://warintek.ristek.go.id/pisang.pdf>, diakses 12 November 2011.
- Anonymous^f. 2008. Guidelines for the Management of Acute Diarrhea. Disaster Safety, (Online), <http://www.bt.cdc.gov/disasters/hurricanes/dguidelines.asp>, accessed 19 November 2011.
- Anonymous^g. 2011. Soxhlet Extraction Procedure, (Online), <http://www.behr-labor.com/pdf/app-extraktion-gb.pdf>, accessed 5 October 2012.
- Bailen, L.S. 2007. Pathophysiology of Diarrhea. Tufts University, (Online), <http://www.continuingeducation.com/tufts/diarrhea/patho/pdf>, accessed 25 November 2011.
- Balows, A., Hausler, W.J., Herman, K.L., Isenberg, H.R., Shadomy, H.J. 1991. *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press: Washington DC, p: 167-169.
- Baron, E.J and Tenenbaum, S.M. 1994. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 7th Ed.* USA : Mosby Company, p: 156-158.
- Bendiabdellah, A., Dib, M.E.A., Meliani, N., Djabou, N., Allali, H. Preliminary Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Solvent Extracts from *Daucus crinitus* Desf., from Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2012; 02(07): 92-95.
- Biswas, S.K., Chowdhury, A., Das, J., Raihan, S.Z., Shill, C., Karmakar, U.K. Investigation of Antibacterial Activities of Ethanol Extracts of *Musa paradisiaca* Lam. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*, 2011; 01(06): 133-135.
- Bohm, R. 2009. Antimicrobial Activity of Thai Traditional Medicinal Plants Extract Incorporated Alginate-Tapioca Starch Based Edible Films against Food Related Bacteria Including Foodborne Pathogens. PhD Dissertation. University of Hoenheim. Pattani, Thailand
- Brooks, G.F., Butel, J.S, Morse, S.A. 2004. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 23rd Ed. San Francisco: McGrawHill, p: 248-254.
- Chanda, S., Baravalia, Y., Kaneria, M., Rakholiya, R. Fruit and Vegetable Peels – Strong Natural Source of Antimicrobics. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011; 67: 239-243.

Carlos C.C and Saniel M.C. 2006. Etiology and Epidemiology of Diarrhea. Research Institute for Tropical Medicine, Metro Manila. <http://www.nhlbi.nih.gov/health/prof/other/etio.pdf>, accessed 29 November 2011.

Chandronita,C., Ananthi, S., Ramakrishnan, G., Lakshmisundaram, R., Gayathri, V., Vasanthi, H.R. Protective Role of Tannin-Rich Fraction of *Camellia sinensis* in Tissue Arsenic Burden in Sprague Dawley Rats. *Original Papers*, 2010; 29(9): 705-719.

Costa, J.G.M., Nascimento, E.M.M., Campos, A.R., Rodrigues, F.F.G. Antibacterial Activity of *Momordica charantia* (Curcubitaceae) Extracts and Fractions. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 2011; 02: 45-51.

Dewi, J.R., Teti, E., Erni, S.M. Aktivitas Antioksidan Dedak Lokal Varietas Coklat (*Sorghum bicolor*) Hasil Ekstraksi Berbagai Pelarut. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 2007; 8(3): 188-197.

Dorland, W.A.N. 2002. Kamus Kedokteran Dorland. 29th Ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, p: 607.

Dzen,S.M., Roekistningsih, Santoso, S., Winarsih, S. eds. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publishing, p: 197-206.

Elbing, K and Brent, R. 2002. *Current Protocols in Molecular Biology*. Massachusetts: John Wiley & Sons, Inc. p: 58-63.

Elena, S.F., Whittam, T.S., Winkworth, C.L., Riley, M.A., Lensky, R.E. Genomic Divergence of *Escherichia coli* strains: Evidence for Horizontal Transfer and Variation in Mutation Rates. *Internal Microbiology*, 2005; 8: 271-278.

Emaga, T.H., Bindelle, J., Agneesens, R., Buldgen, A., Wathelet, B., Paquot, M. 2011. Ripening Influences Banana and Plantain Peels Composition and Energy Content. *Trop. Anim Health Prod*. In Press.

Ericsson, C.D. Non-antimicrobial Agents in Prevention and Treatment of Traveler's Diarrhea. *Clinical Infectious Disease*, 2005; 41: 557-563.

Farthing, M., Lindberg, G., Dite, P., Khalif, I., Thomson, A *et al*. 2008. Acute Diarrhea. *WGO Practice Guidelines*,(Online), http://www.omge.org/assets/downloads/en/pdf/guidelines/01_acute_diarrhea.pdf, accessed 1 December 2011.

Farmer, J and Davis, R. H7 Antiserum-Sorbitol Fermentation Medium. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007; 22(4): 620-625.

Fauci, A.S., Kasper, D.L., Braunwald, E., Hauser, S.L., Jameson, J.L et al. eds. 2008. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th Ed. United States: McGraw-Hill Companies, Inc. p: 881-887.

Ferdinand, J., Ugoji, E., Adenipekun, T., Adelowotan, O. *Evaluation of the Antimicrobial Properties of Unripe Banana (Musa sapientum), Tumeric (Curcuma longa L.) and Lemon Grass (Cymbopogon citratus S.) on Pathogens. African Journal of Biotechnology*, 2009; 8(7): 1176-1182.

Finegold, S.M., George, W.L., Mullgan, M.E. 1986. *Anaerobic Infections*. Chicago: Year Book Publishers Inc. p: 11-14.

Girardin, S.E and Philpot, D.J. Gut Microbes Extend Reach to Systemic Innate Immunity. *Nature Medicine*, 2010; 16(2): 160-162.

Gopinath, S.M., Rakesh, C.K., Murthy, T.P.N, Dayananda, K.S. Preliminary Phytochemical Evaluation of Leaf Extracts of *Gymnema sylvestre*, *Phyllanthus amarus*, *Phyllanthus reticalatus* of Siddarabetta, Tumkur District, Karnataka. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 2012; 4(3):109-111.

Greenwood, D., Slack, R.C.B., Peutherer, J.F. 1992. 14th Ed. *Medical Microbiology*. UK: Longman Group (FE) Ltd, p: 326-333.

Guerrant, R.L., Gilder, T.V., Steiner, T.S., Thielman, N.M., Slutsker, L et al. Practice Guidelines for the Management of Infectious Diarrhea. *Clinical Infectious Disease*, 2001; 32: 331-350.

Gunasekera, T.S., Paliy, O. Growth of *E.coli* BL21 in Minimal Media with Different Gluconeogenic Carbon Source and Salt Contents. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2007; 73(5): 1169-1172.

Hancock, V., Dahl, M., Vejborg, R.M. Dietary Plant Components Ellagic Acid and Tannic Acid Inhibit *Escherichia coli* Biofilm Formation. *J Med Microbiol*, 2009; 59(4): 496-498.

Hardman, J.G and Limbird, L.E. eds. 2008. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* 10th Ed. The McGraw-Hill Companies, Inc, p: 1164-1214.

Hart, S.P., Min, B.R. Tannins for Suppression of Internal Parasites. *J Anim Sci*, 2003; 81(2): 102-109.

Henderson, G.M. 1996. *Gastrointestinal Pathophysiology*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, p: 71-72.

Hentzer, M., Wu, H., Andersen J.B., Riedel, K., Rasmussen T.B *et al.* Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* Virulence by Quorum Sensing Inhibitors. *The EMBO Journal*, 2003; 22: 3803-3815.

Herbst, K.L. 2009. *Chronic Diarrhea*. University of Washington, (Online), <http://www.physicianeducation.org/downloads/pdf%20for%20website/Chronicdiarrhea.pdf>, accessed 7 November 2011.

Hiraga, C and Surojanamethakul, V. Extraction Tannin from Banana Peel. *Kasetsart Journal*, 1994; 28(4): 578-586.

Imam, M.Z and Akter, S. *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L.: A Phytochemical and Pharmacological Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2011; 1(5): 14-20.

Kappeli, U., Hachler, H., Giezendanner, N., Cheasty, T. Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 Associated with Human Infecitous in Switzerland, 2000-2009. *Epidemiology Infection*, 2011; 139: 1097-1104.

Karadi, R.V., Shah, A., Parekh, P., Azmi, P. Antimicrobial Activities of *Musa paradisiaca* and *Cocos nucifera*. *International Journal of research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2011; 2(1): 264-267.

Karsten, C., Baumgarte, M., Friedrich, A.W., Becker, K., Huppertz, H.I *et al.* Incidence and Risk Factors for Community-acquired Acute Gastroenteritis in North-West Germany in 2004. *Eur J Clin Microbial Infect Dis*, 2009; 28: 935-943.

Kasper, D.L., Fauci, A.S. eds.2010. *Harrison's Infectious Diseases*. 17th Ed. United States: McGraw-Hill Companies, Inc. p: 497-501.

Kaufman, C.E and MacKee, P.A. 1996. *Essential of Pathophysiology*. 1st Ed. USA: Little Brown and Company (Inc.), p: 191-194.

Khan, R., Islam, B., Akram, M., Shakil, S., Ahmad, A., Ali, M. Antimicrobial Activity of Five Herbal Extracts Against Multi Drug Resistant (MDR) Strains of Bacteria and Fungus of Clinical Origin. *Molecules*, 2008; 14: 568-597.

Klausen, M., Heydorn, A., Lambertsen, L., Ragas, P., Jorgensen, A.A., Molin, S. Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa* Wild Type, Flagella and Type IV Pili Mutants. *Moleculer Microbiology*, 2003; 48(6): 1511-1524.

Klemm, P. 2009. Tannins, (Online), <http://www.pharmaxchange.info/tann.pdf>, accessed 24 November 2011.

- Kuntaman, K., Lestari, E.S., Johnson, J.R., Belkum, A.V., Verbrugh, H.A., Purwanta, M. 2005. Fluoroquinolone-Resistant *Escherichia coli*, Indonesia. *Emerging Infectious Disease*. 11(9): 1363-1369.
- Larochelle, A., Lamberd, S., Epp, A., Saskatoon. Recurrent Urinary Tract Infection. *SOGC Clinical Practical Guideline*, 2010; 250: 1082-1090.
- Lee, E.H., Yeom, H.J., Ha, M.S., Bae, D.H. Development of Banana Pell Jelly and Its Antioxidant and Textural Properties. *Food Science and Biotechnology*, 2010; 19(2): 449-455.
- Lee, H., Han, O., Prak, J., Suwandono, J., Sjarurachman, A., Campbell, J.R. The Burden of Diarrhoea, Shigellosis, and Cholera in North Jakarta. *Infectious Disease*, 2005; 94: 542-549.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp. *USU Repository*, (Online), <http://www.pdf-searcher.org/metanol-ekstraksi.html>, diakses 4 Juni 2012.
- Lewis, D.A., Fields, W.N., Shaw, G.P. A Natural Flavonoid Present in Unripe Plantain Banana Pulp (*Musa sapientum L. var. paradisiaca*) Protects the Gastric Mucosa from Aspirin-Induced Erosions. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999; 65: 283-288.
- Linus Pauling Institute. 2012. Flavonoid Summary, *Micronutrient Information Center*, Oregon State University (Online), <http://www.lpi.oregonstate.edu/infocenter/phytochemicals/flavonoid/>, accessed 5 October 2012.
- Mahami, T., Adu-Gyamfi, A., Owulah, C. Comparative Susceptibility of *in vitro* Biofilm and Planktonic Cells of *Staphylococcus aureus* to Antimicrobials. *African Journal of Microbiology Research*, 2010; 4(12): 1209-1214.
- Maldonado, R., Perez, E., Schroeder, M. Production and Characterization of Unripe Plantain Flours. *Food Chem*, 2008; 33(4): 290-296.
- Michalak, A. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish J. of Environ. Stud*, 2006; 15(4): 523-530.
- Miller, L.G. Treatment of Uncomplicated Urinary Tract Infections in an Era of Increasing Antimicrobial Resistance. *Mayo Clin Proc*, 2004; 79(8): 1048-1054.
- Min, B.R., Pinchak, W.E., Merkel, R., Walker, S., Tomita, G., Anderson, R.C. Comparative Antimicrobial Activity of Tannin Extracts from Perennial Plants on Mastitis Pathogens. *Scientific Research and Essay*, 2008; 3(2): 066-073.

Mitterhuemer, S., Krebs, S., Klanner, A., Wolf, E., Blum, H *et al.* Escherichia coli Infection Induces Distinct Local and Systemic Transcriptome Response in the Mammary Gland. *Bioinformatics*, 2010; 17(2): 126-136.

Mohaptara, D., Mishra, S., Sutar, N. *Banana and Its By-Product Utilisation: An Overview.* *Journal of Scientific and Industrial Research*, 2010; 69: 323-329.

Mokbel, M.S., Hashinaga, F. *Antibacterial and Antioxidant of Banana (Musa, AAA cv. Cavendish) Fruits Peel.* *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2005; 1(3): 126-132.

Nazck, M., Shahidi, F. *Extraction and Analysis of Phenolics in Food.* *Journal of Chromatography A*, 2004; 1054:95-111.

Nelson, T. 2008. *E.coli (Escherichia coli)*, (Online), <http://www.bettyjung.net/pch202fs.htm>, accessed 18 November 2011.

Okuda, T. *Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants-Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins.* *Molecule*, 2011; 16: 2191-2217.

Orhan, I. *Biological Activities of Musa Species.* *J. Fac. Pharm.* 2001; 30(1): 39-50.

Osman, A., Saad, S., Mohamed, S. *Comparing the Physico-chemical Characteristics of Mas, Rastali and Berangan Bananas at 3 Stages of Maturity.* *Journal of Nutritional Sciences*, 2007; 16(2) : 157 - 163.

Oyofe, B.A., Subekti, D.S., Campbell, J.R., Corwin, A.L., Lesmana, M *et al.* *Toxins and Colonization Antigens of Enterotoxigenic Escherichia coli Among Residents of Jakarta Indonesia.* *Tropical Medicine*, 2001; 65(2): 120-124.

Perez, M., Gracia, M., Bluestein, G., Stupak, M. *Tannin and Tannate From the Quebracho Tree: an Eco-Friendly Alternative for Controlling Marine Biofouling.* *Biofouling*, 2007; 23(3/4): 151-159.

Philip, K., Malek, S.N.A., Sani, W., Shin, S.K and Kumar, S. *Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants from Malaysia.* *Am J Applied Science*, 2009; 6: 1613-1617.

Philpot, D., Ebel, F. eds. 2009. *E.coli: Shiga Toxin Methods and Protocols.* New Jersey: Humana Press, Inc. p: 1-5.

Ploetz, R.C., Keppler, A.K., Daniels, J., Nelson, S.C. 2007. *Banana and Plantain— an Overview with Emphasis on Pacific Island Cultivars.* *Overview*, (Online), <http://www.traditionaltree.org/banana.pdf>, accessed 25 November 2011.

Power, M.L., Wyer, J.L., Gordon, D.M., Veal, D.A., Slade, M.B. Phenotypic and Genotypic Characterization of Encapsulated *Escherichia coli* Isolated from Blooms in Two Australian Lakes. *Environmental Microbiology*, 2005; 7(5): 631-640.

Ramli, S., Alkarkhi, A.F.M., Yong, Y.S., Tze, L.M., Easa, E.M. Effect of Banana Pulp and Peel Flour on Physicochemical Properties and *in vitro* Starch Digestibility of Yellow Alkaline Noodles. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2009; 60(S4): 32.

Ratule, M.T., Osman, A., Ahmad, S.H. Microstructure of Peel Cell Wall and Selected Physico-chemical Characteristics of 'Berangan' Banana (*Musa cv. Berangan* [AAA]) Ripened at High Temperature. *Asia Pacific Journal of Molecular and Biology*, 2007; 15(1): 9-13.

Rayne, S. Concentrations and Profiles of Melatonin and Serotonin in Fruits and Vegetables during Fruit Ripening: A Mini-Review. *Journal of Biochemistry*, 2010; 4(2): 132-139.

Rispail, N., Morris, P., Webb, K.J. 2005. Phenolic Compounds: Extraction and Analysis. *Lotus japonicus Handbook*, p: 349-355.

Salah, M.S. Antibacterial Activity and Ultraviolet (UV) Protection Property of Some Egyptian Cotton Fabrics Treated with Aqueous Extract from Banana Peel. *Journal of Chemistry*, 2010; 3(6): 89-92.

Seng, T.H., Padam, B.S., Yee, C.F., Abdullah, M.I. 2010. Study on the Potential of Antimicrobial Compounds from Banana/Plantain by Products Against Foodborne Pathogens. *School of Food Science and Nutrition, Universiti Malaysia Sabah*, (Online), <http://www.fychye@ums.edu.my/banana.pdf>, accessed 20 September 2011.

Shill, M.C., Joysree, D., Kumar, S.B., Chowdhury, A. Investigation of Antibacterial Activities of Ethanol Extracts of *Musa paradisiaca* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2011; 1(6): 133-135.

Singh, D., Saikrishnan, K., Kumar, P., Dauter, Z., Surolia, A et al. Purification, Crystallization and Preliminary X-ray Structure and Analysis of the Banana Lectin from *Musa paradisiaca*. *Acta Cryst*, 2004; 60(4): 2104-2106.

Sudarmadji, S. 1997. *Prosedur Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi ke 3. Yogyakarta: Liberty, p: 67-69.

Supandi, A. 2009. Jenis-jenis Pisang di Indonesia. *Universitas Malaysia Sabah*, (Online), <http://etd.eprints.ums.ac.id/15165/3.-BAB-I.pdf>, diakses 20 September 2011.

Surawicz, C.M., Ochoa, B et al. 2007. *Diarrheal Diseases*. University of Washington School of Medicine, (Online), <http://s3.gi.org/patients/gihealth/pdf/diarrheal.pdf>, accessed 28 September 2011.

Thomas, P.D . 2003. *Guidelines for the Investigation of Chronic Diarrhea, 2nd Edition*. Guidelines. http://gut.bmj.com/content/52/suppl_5/v1.full.pdf, accessed 28 September 2011.

Tim, C and Andrew J.L. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005: 343-356.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Int. Pharm. Sci*, 2011; 1: 98-106.

Torresi, J., Leder, K. Defining Infections in International Travellers Through the GeoSentinel Surveillance Network. *Microbiology*, 2009; 7: 895-901.

Valamarthy, K., Gokulakrishnan, M., Kausar, S., Paul, K. A Study of Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts of Various Plant Leaves Against Selected Microbial Species. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 2010; 1(8): 293-295.

Van Niel, C.W., Feudtner, C., Garrison, M.M., Christakis, D.A. *Lactobacillus* Therapy for Acute Infectious Diarrhea in Children: A Meta-Analysis. *American Academy of Pediatrics*, 2002; 109: 678-684.

Verma, S and Singh, S.P. Current and Future Status of Herbal Medicines. *Veterinary World*, 2008; 1(11): 347-350.

Wakansi, D and Yabefa, J.A. *Furfural Production from The Peels of Ripe Banana (Musa sapientum) and Ripe Plantain (Musa paradisiaca L) by Acid Catalyzed Hydrolysis*. *EJEAFChe*, 2011; 10(5): 2199-2205.

Wanlapa, S., Wachirasiri, P., Julakarangka, S. The Effects of Banana Peel Preparations on the Properties of Banana Peel Dietary Fibre Concentrate. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 2009; 31(6): 605-611.

Wieby, L. 2011. *Manfaat Pohon Pisang*, (Online), www.wiebydr.com/2011/04/06/manfaat-pohon-pisang/, diakses 27 September 2011.

Yokoyama, E., Etoh, Y., Ichihara, S., Horikawa, K. Emergence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Serovar O157 Strains in Clade 8 with Highly Similar Pulsed-Field Gel Electrophoresis Patterns. *Journal of Food Protection*, 2011; 74(8): 1324-1328.

Yoshiki, Y., Someya, S., Okubo, K. Antioxidant Compounds from Bananas (*Musa cavendish*). *Journal of Food Chemistry*, 2002; 79(3): 351-354.

Yusoff, Nur. 2008. *Correlation Between Total Phenolics and Mineral Content with Antioxidant Activity and Determination of Bioactive Compounds in Various Local Bananas (Musa sp.)*. Master of Science Thesis. Universiti Malaysia Sabah. Sabah, Malaysia.

Zein, U., Sagala, K.H., Ginting, J. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. *USU Repository*, (Online), <http://www.pdf-searcher.org/DIARE-INFEKSI-BAKTERI.html>, diakses 20 November 2011.

Zein, Umar. 2007. Diare Akut Infeksius pada Dewasa. *USU Repository*, (Online), <http://library.usu.ac.id/download/fk/penydalam-umar4.pdf>, accessed 20 November 2011.



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Annie Minerva

NIM : 0910714026

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

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 di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 25 Agustus 2012

Yang membuat pernyataan

Annie Minerva
NIM. 0910714026

LAMPIRAN

Lampiran 1. Penelitian Pendahuluan



Lampiran 2. Kebun Pisang Sukoanyar, Wajak



**Lampiran 3. Uji Normalitas dan Homogenitas
Uji Normalitas Jumlah Koloni sebelum Transformasi**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		koloni
N		24
Normal Parameters ^a	Mean	5.31634
	Std. Deviation	8.115154
Most Extreme Differences	Absolute	.399
	Positive	.399
	Negative	-.256
Kolmogorov-Smirnov Z		1.955
Asymp. Sig. (2-tailed)		.001
a. Test distribution is Normal.		

Uji Homogenitas Jumlah Koloni sebelum Transformasi

Test of Homogeneity of Variances

koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
15.834	5	18	.000

Uji Normalitas Jumlah Koloni setelah Transformasi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		trans_koloni
N		20
Normal Parameters ^a	Mean	.8899
	Std. Deviation	2.23941
Most Extreme Differences	Absolute	.238
	Positive	.238
	Negative	-.227
Kolmogorov-Smirnov Z		1.064
Asymp. Sig. (2-tailed)		.207
a. Test distribution is Normal.		

Uji Homogenitas Jumlah Koloni setelah Transformasi

Test of Homogeneity of Variances

trans_koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.667	4	15	.000

Lampiran 4. Uji Beda Non Parametrik Kruskal Wallis

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank
koloni	0%	4	22.50
	7.5%	4	18.50
	10%	4	14.50
	12.5%	4	10.50
	15%	4	6.50
	17.5%	4	2.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	koloni
Chi-Square	22.498
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
konsentrasi



Lampiran 5. Uji Multi Komparasi Non Parametrik Mann Whitney

Ranks



	konse ntrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	7.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konse ntrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021



Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a
--------------------------------	-------------------

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	12.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^b	
	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^b	
------------------------------	--

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	17.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^b	
	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks			
	konsentrasi	N	Sum of Ranks



koloni	7.5%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	7.5%	4	6.50	26.00
	12.5%	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a



- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks				
	konse ntrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	7.5%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^b	
	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks				
	konsen trasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	7.5%	4	6.50	26.00
	17.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^b	
	koloni
Mann-Whitney U	.000



Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni 10%	4	6.50	26.00
12.5%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni 10%	4	6.50	26.00
15%	4	2.50	10.00

Ranks

	konse ntrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	10%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konsen trasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	10%	4	6.50	26.00
	17.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460



Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	12.5%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics ^b	
	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	12.5%	4	6.50	26.00
	17.5%	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	15%	4	6.50	26.00
	17.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 6. Uji Korelasi Non Parametrik Spearman

Correlations				
			konsentrasi	koloni
Spearman's rho	konsentrasi	Correlation Coefficient	1.000	-.989**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	24	24
		Correlation Coefficient	-.989**	1.000
	koloni	Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 7. Uji Regresi Linier

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	konsentrasi ^a		. Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: koloni

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.837 ^a	.701	.687	453.917701

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1.061E7	1	1.061E7	51.514	.000 ^a
	Residual	4532908.135	22	206041.279		

Total	1.515E7	23			
-------	---------	----	--	--	--

- a. Predictors: (Constant), konsentrasi
- b. Dependent Variable: koloni

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	1894.511	211.287		8.967	.000
	konsentrasi	-389.393	54.254	-.837	-7.177	.000

- a. Dependent Variable: koloni

