

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI BUAH KAPULAGA (*Amomum cardamomum*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* SECARA *IN VITRO***

**TUGAS AKHIR**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :  
Ruri Istifarini  
NIM : 0910711018

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

**MALANG**

**2012**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI BUAH KAPULAGA (*Amomum cardamomum*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

Ruri Istifarini

NIM: 0910711018

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 11 Desember 2012

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Umi Kalsum, M.Kes

NIP. 19550512 198701 2 001

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

dr. Aulia Abdul Hamid, MBIomedSc, SpM

NIP. 19770601 200312 1 005

dr. Onggung MH Napitupulu, M.Kes

NIP. 19490123 198003 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Pendidikan Dokter FKUB

Prof.Dr.dr.Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, Sp.ParK

NIP. 19520410 198002 1 001

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur bagi Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Biji Buah Kapulaga (*Amomum cardamomum*) sebagai Antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*”.

Ketertarikan penulis pada topik ini didasari oleh karena penyakit akibat infeksi *Pseudomonas aeruginosa* semakin berkembang khususnya infeksi nosokomial di beberapa fasilitas kesehatan karena meningkatnya resistensi bakteri ini terhadap berbagai macam antibiotik sehingga pengobatannya memerlukan obat-obat golongan baru untuk mencegah perluasan bakteri. Hal ini didukung dengan semakin berkembangnya pemanfaatan bahan alam sebagai tanaman obat, khususnya buah kapulaga yang ketersediaannya cukup banyak, murah, dan mudah ditemukan di lingkungan masyarakat. Oleh karena itu, penulis ingin mengetahui apakah biji buah kapulaga dapat digunakan sebagai antimikroba.

Dalam proses penulisan Tugas Akhir ini, penulis juga didukung oleh berbagai pihak . Oleh karena itu melalui kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

- a. Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- b. dr. Aulia Abdul Hamid, MBiomedSc, SpM, selaku dosen pembimbing pertama atas segala bimbingan, masukan, dukungan, dan kesabarannya sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
- c. dr. Onggung MH Napitupulu, M.Kes, selaku dosen pembimbing kedua

atas segala bimbingan dan kesabarannya sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.

- d. dr. Umi Kalsum, M.Kes, selaku dosen penguji atas kesediaannya memberikan masukan dan penilaiannya untuk menyempurnakan Tugas Akhir ini.
- e. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. Msi dan dr. Soemardini, M.Pd. atas informasi, bantuan, dan dukungannya.
- f. Yang tercinta ibunda Hj. Ruhaniyah dan ayahanda H. Surip atas segala doa, pengertian, cinta, kasih sayang, semangat, dan dukungan yang tiada henti dalam bentuk moral maupun materi sehingga Tugas Akhir ini berjalan lancar.
- g. Kakak tersayang Ruri Wahyu Desiarti, S.IP, Msi dan kakak ipar Taslim Abraham, S.H, serta adik Rafli Priambudi yang selalu memberikan semangat dan doa dalam proses penyelesaian Tugas Akhir ini.
- h. Keluarga besar Bapak Drs. H. Hidayat, Msi., yang selalu memberi kasih sayang, semangat, doa, dan dukungan dalam pendidikan dan proses penyelesaian Tugas Akhir ini.
- i. Sahabat tersayang Ira Maya Yudhaningtyas, Rindu Rahmatika, Qashastia Sukma Paripurna, Andita Gustria Caesary, Fairuz Hasan Alboneh, dan Nani Maryani yang selalu ada untuk menghibur, memberikan doa, dukungan positif, dan semangat dalam proses penyelesaian Tugas Akhir ini.
- j. Teman-teman Pendidikan Dokter angkatan 2009 khususnya teman-teman PDB 2009 atas persahabatan selama ini dan suasana yang

menyenangkan dalam menuntut ilmu, semoga kita bisa terus menjaga komunikasi dan kekompakan.

- k. Segenap Staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, terutama untuk Mas Slamet, Mbak Uci, Mas Hendri, dan Bu Yati atas bantuannya dalam proses penelitian Tugas Akhir ini.
- l. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan Tugas Akhir ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima segala saran dan kritik yang membangun guna kesempurnaan dari Tugas Akhir ini. Semoga Tugas Akhir ini dapat menambah wawasan dan memberikan sumbangsih dalam ilmu pengetahuan khususnya ilmu kedokteran.

Malang, 11 Desember 2012

Penulis

## ABSTRAK

Istifarini, Ruri. 2012. **Uji Efektivitas Ekstrak Biji Buah Kapulaga (*Amomum cardamomum*) sebagai Antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Aulia Abdul Hamid, M.BiomedSc, SpM (2) dr. Onggung MH Napitupulu, M.Kes

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi nosokomial yang cukup banyak terutama di Indonesia. *Pseudomonas aeruginosa* cepat menjadi resisten terhadap banyak obat antimikroba sehingga menimbulkan masalah terapi yang sulit. Salah satu alternatif terapi adalah dengan bahan alami, yaitu biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*). Kandungan aktif biji buah kapulaga yang diduga bermanfaat sebagai antimikroba adalah *terpenoid*, *saponin*, *flavonoid*, dan *polifenol*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris murni dengan *post test only control group design*, menggunakan metode dilusi tabung. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 0%; 2,5%; 5,0%; 7,5%; 10%; dan 12,5% dengan empat kali perulangan. Hasil uji statistik Kruskal Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ( $p < 0,05$ ). Uji statistik *multiple comparisons* Mann Whitney menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*). 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 biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) mempunyai pengaruh sebagai antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) 7,5% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) 12,5%.

**Kata kunci:** *Pseudomonas aeruginosa*, ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*), antimikroba.

**ABSTRACT**

Istifarini, Ruri. 2012. **Test the Effectiveness of Cardamom Fruit Seed (*Amomum cardamomum*) Extract as an Antimicrobial Against *Pseudomonas aeruginosa* In Vitro.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Aulia Abdul Hamid, MBiomedSc, SpM (2) dr. Onggung MH Napitupulu, M.Kes

*Pseudomonas aeruginosa*, one of the bacteria that cause nosocomial infections, quite a lot in Indonesia. *Pseudomonas aeruginosa* is quickly becoming resistant to many antimicrobial drugs and lead to a difficult therapeutic problems. One natural alternative therapy that can be used is cardamom fruit seed (*Amomum cardamomum*). The active compositions of cardamom fruit seed (*Amomum cardamomum*) which allegedly useful as antimicrobial are terpenoid, saponin, flavonoid, and polifenol. This study aims to determine the effectiveness of cardamom fruit seed (*Amomum cardamomum*) extract on the growth of bacteria *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. This study is an experimental research laboratory using post test only control group design, done by tube dilution method. Samples used in this study were *Pseudomonas aeruginosa* obtained from Microbiology Laboratory of Medical Faculty Brawijaya University, Malang. Concentration of the extract used were 0%; 2,5%; 5,0%; 7,5%; 10%; and 12,5% with four repetitions. Kruskal Wallis test results showed statistically significant difference in changes in the concentration of cardamom fruit seed (*Amomum cardamomum*) extract on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* ( $p < 0,05$ ). Statistical test multiple comparisons Mann Whitney showed that there was a significant decreasing amount of *Pseudomonas aeruginosa* colonies together with the increasing dose of cardamom fruit seed (*Amomum cardamomum*) extract. Spearman correlation test showed a close relationship between the concentration of the extract with bacterial growth (correlation,  $r = -0,989$ ;  $p < 0,05$ ). The conclusion of this research is cardamom fruit seed (*Amomum cardamomum*) extract has effect as an antimicrobial against *Pseudomonas aeruginosa* which the level of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) is 7,5% and Minimal Bactericidal Concentration (MBC) is 12,5%.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, cardamom fruit seed (*Amomum cardamomum*) extract, antimicrobial.

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul .....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Abstrak .....	vi
Abstract .....	vii
Daftar Isi .....	viii
Daftar Tabel .....	xiii
Daftar Gambar .....	xiv
Daftar Lampiran .....	xv
Daftar Singkatan.....	xvi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis .....	5
1.4.2 Manfaat Praktik .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	6
2.1.1 Taksonomi .....	6
2.1.2 Morfologi dan Identifikasi .....	7





2.1.3 Daya Tahan Bakteri .....	8
2.1.4 Struktur Antigenik .....	9
2.1.5 Penentu Patogenitas .....	9
2.1.5.1 Faktor Kolonisasi .....	9
2.1.5.2 Hemolisin .....	9
2.1.5.3 Protease .....	10
2.1.5.4 Eksotoksin .....	10
2.1.5.5 Enterotoksin .....	11
2.1.6 Temuan Klinis .....	11
2.1.7 Uji Laboratorium Diagnostik .....	12
2.1.8 Terapi .....	12
2.1.9 Epidemiologi dan Pengendalian .....	13
2.2 Kapulaga .....	14
2.2.1 Uraian Tanaman .....	14
2.2.2 Taksonomi Kapulaga .....	15
2.2.3 Morfologi dan Identifikasi Tanaman Kapulaga.....	15
2.2.4 Kandungan Senyawa Kimia .....	17
2.2.4.1 Terpenoida .....	17
2.2.4.2 Saponin .....	18
2.2.4.3 Flavonoida .....	19
2.2.4.4 Polifenol .....	20
2.2.5 Manfaat .....	20
2.3 Mekanisme Kerja Obat Antimikroba .....	21
2.3.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel .....	21
2.3.2 Merusak Membran Sel .....	22

2.3.3 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri .....	22
2.3.4 Menghambat Sintesis Protein .....	23
2.3.5 Denaturasi Protein .....	23
2.3.6 Menghambat Sintesis Asam Nukleat .....	23
2.3.7 Antagonisme Kimiawi .....	24
2.4 Resistensi Mikroba Terhadap Obat Antimikroba .....	24
2.5 Uji Kepekaan Antimikroba .....	25
2.5.1 Metode Dilusi Tabung .....	25
2.5.2 Metode Difusi Cakram .....	26
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	28
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep .....	29
3.2.1 Kapulaga .....	29
3.2.2 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	29
3.2.3 Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri dari Antimikroba .....	29
3.3 Hipotesis Penelitian .....	31
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Desain Penelitian .....	32
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	32
4.3 Sampel Penelitian .....	32
4.4 Sampel dan Estimasi Jumlah Pengulangan .....	33
4.5 Variable Penelitian .....	33
4.5.1 Variable Bebas .....	34
4.5.2 Variable Tergantung .....	34

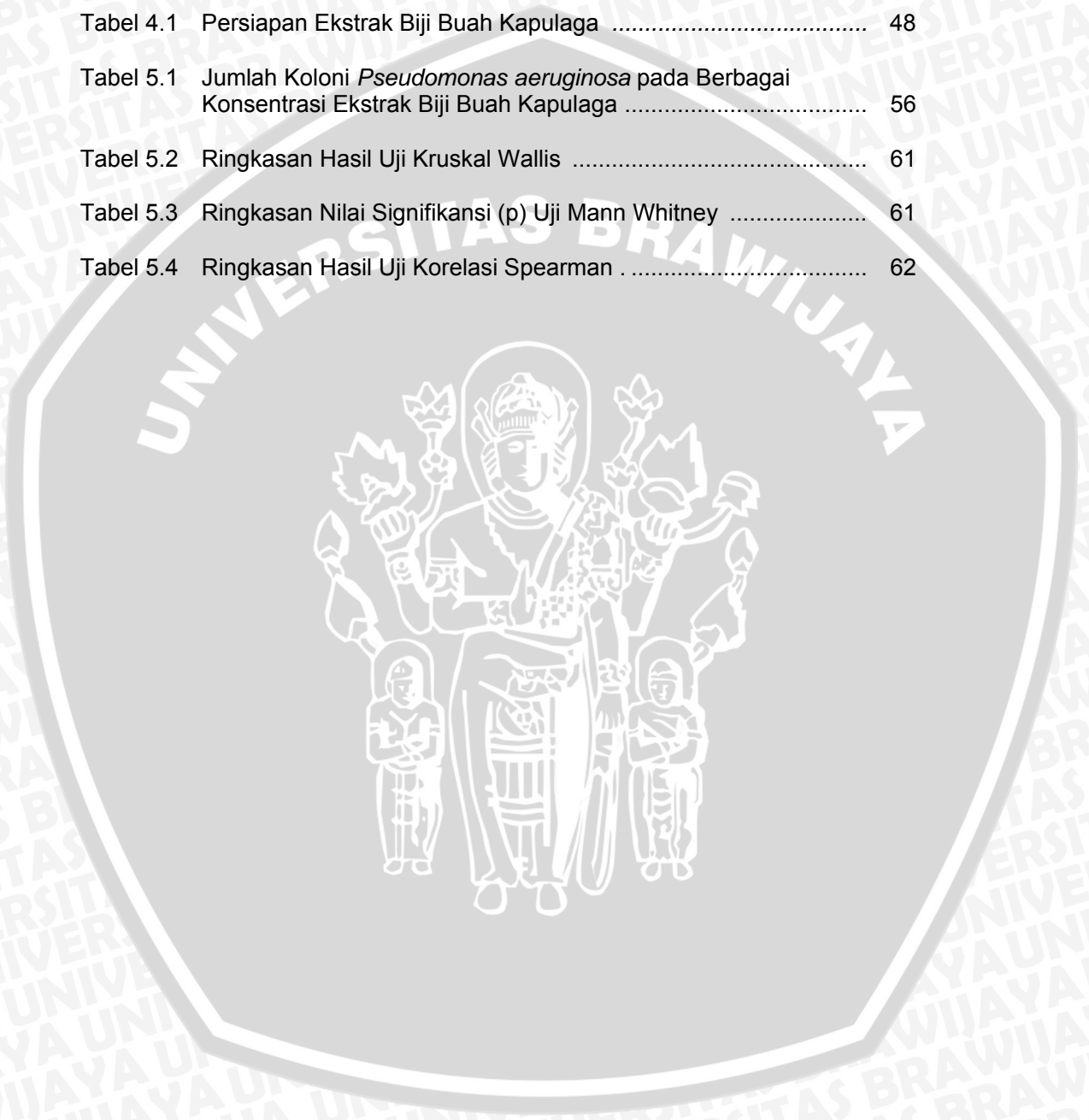
4.6 Definisi Operasional .....	34
4.6.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	34
4.6.2 Ekstrak Biji Buah Kapulaga .....	34
4.6.3 Kadar Hambat Minimal (KHM) .....	35
4.6.4 Kadar Bunuh Minimal (KBM) .....	35
4.6.5 Kontrol Bakteri (Kontrol Positif) .....	35
4.6.6 Kontrol Bahan (Kontrol Negatif) .....	36
4.6.7 <i>Original Inoculum</i> .....	36
4.6.8 Pengamatan Kualitatif .....	36
4.6.9 Pengamatan Kuantitatif .....	37
4.7 Alat dan Bahan Penelitian .....	37
4.7.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Biji Buah Kapulaga ...	37
4.7.2 Alat dan Bahan Untuk Identifikasi Bakteri .....	38
4.7.2.1 Inokulasi Bakteri Uji .....	38
4.7.2.2 Pewarnaan Gram .....	38
4.7.2.3 Uji Tes Oksidase dan <i>Microbact Test</i> .....	39
4.7.3 Alat dan Bahan Untuk Uji Dilusi Tabung .....	39
4.8 Rancangan Operasional Penelitian .....	40
4.8.1 Pembuatan Ekstrak Biji Buah Kapulaga .....	40
4.8.2 Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	41
4.8.2.1 Inokulasi Bakteri Uji .....	41
4.8.2.2 Pewarnaan Gram .....	42
4.8.2.3 Tes Oksidase .....	43
4.8.2.4 <i>Microbact 12A/E-24E</i> .....	43
4.8.3 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan 10 <sup>6</sup>	

Bakteri / ml .....	44
4.8.4 Uji Sensitivitas Antimikroba .....	46
4.8.5 Alur Kerja Penelitian .....	49
4.9 Analisis Data .....	50
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</b>	
5.1 Data Hasil Penelitian .....	52
5.1.1 Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	52
5.1.2 Hasil Penentuan KHM .....	54
5.1.3 Hasil Penentuan KBM .....	56
5.2 Analisis Data .....	59
5.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas .....	59
5.2.2 Uji Beda Non Parametrik Kruskal Wallis .....	60
5.2.3 Uji Multi Komparasi Non Parametrik Mann Whitney .....	61
5.2.4 Uji Korelasi Non Parametrik Spearman .....	62
5.2.5 Uji Regresi Linier .....	63
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b> .....	65
<b>BAB 7 PENUTUP</b> .....	73
7.1 Kesimpulan .....	73
7.2 Saran .....	73
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	75
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	79
<b>LAMPIRAN</b> .....	80



### DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Persiapan Ekstrak Biji Buah Kapulaga .....	48
Tabel 5.1 Jumlah Koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Kapulaga .....	56
Tabel 5.2 Ringkasan Hasil Uji Kruskal Wallis .....	61
Tabel 5.3 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney .....	61
Tabel 5.4 Ringkasan Hasil Uji Korelasi Spearman .....	62



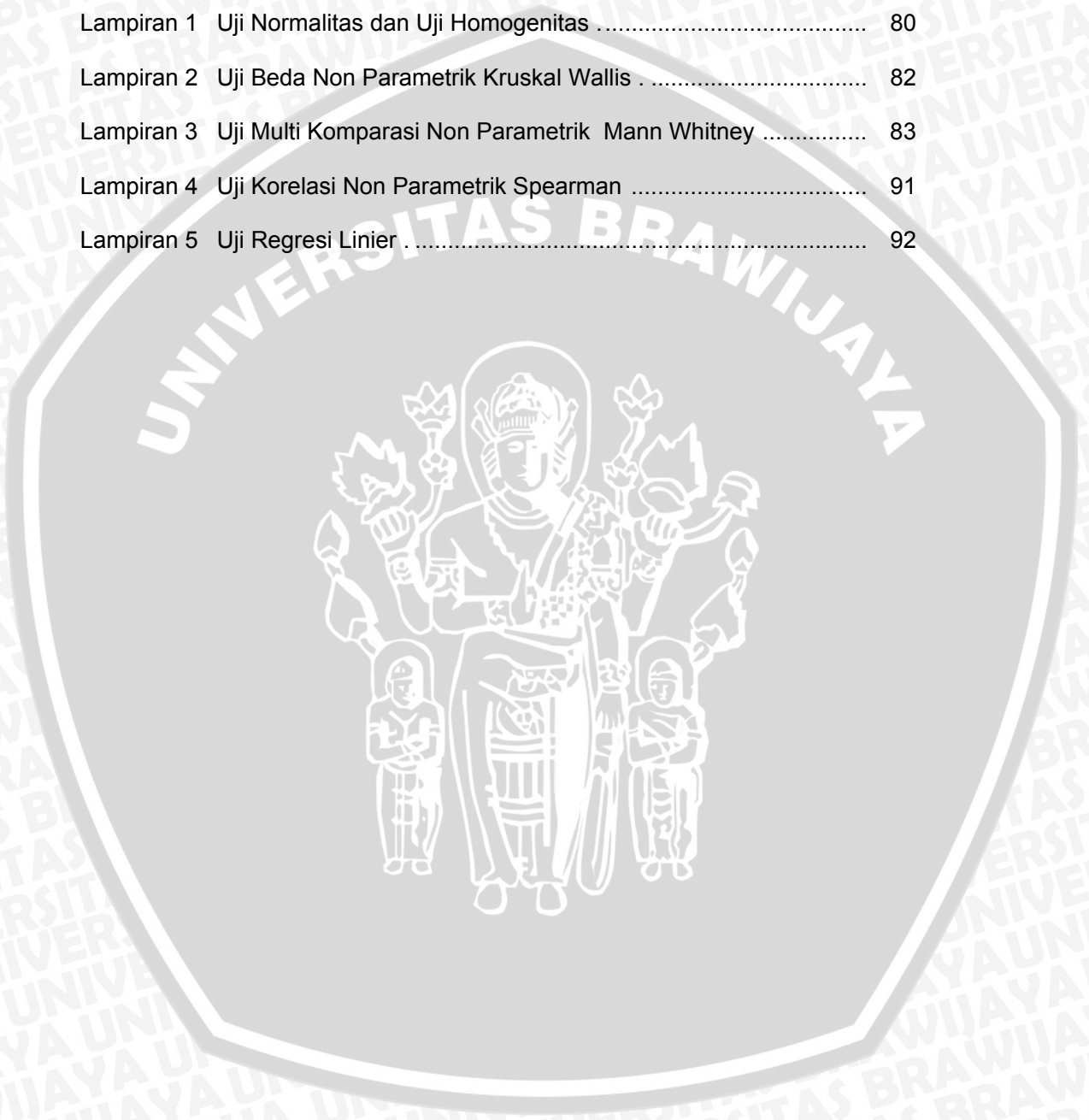
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	7
Gambar 2.2 Buah dan Biji Buah Kapulaga .....	15
Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep Penelitian .....	28
Gambar 4.1 Skema Alur Uji Antimikroba Ekstrak Biji Buah Kapulaga ( <i>Amomum cardamomum</i> ) Terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	49
Gambar 5.1 Inokulasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada medium McConkey .....	52
Gambar 5.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan Pengecatan Gram .....	53
Gambar 5.3 Gambar Sumuran <i>Microbact System</i> dan Hasil Scan <i>Microbact Test</i> .....	54
Gambar 5.4 Dilusi Tabung dengan Beberapa Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Kapulaga terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> untuk Uji KHM .....	55
Gambar 5.5 Hasil Streaking <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Medium NAP untuk Uji KBM .....	57
Gambar 5.6 Grafik Penurunan Jumlah Rata-Rata Koloni Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> terhadap Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Kapulaga .....	59
Gambar 5.7 Kurva Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Kapulaga ( <i>Amomum cardamomum</i> ) terhadap Jumlah Koloni Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	64



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas .....	80
Lampiran 2 Uji Beda Non Parametrik Kruskal Wallis .....	82
Lampiran 3 Uji Multi Komparasi Non Parametrik Mann Whitney .....	83
Lampiran 4 Uji Korelasi Non Parametrik Spearman .....	91
Lampiran 5 Uji Regresi Linier .....	92

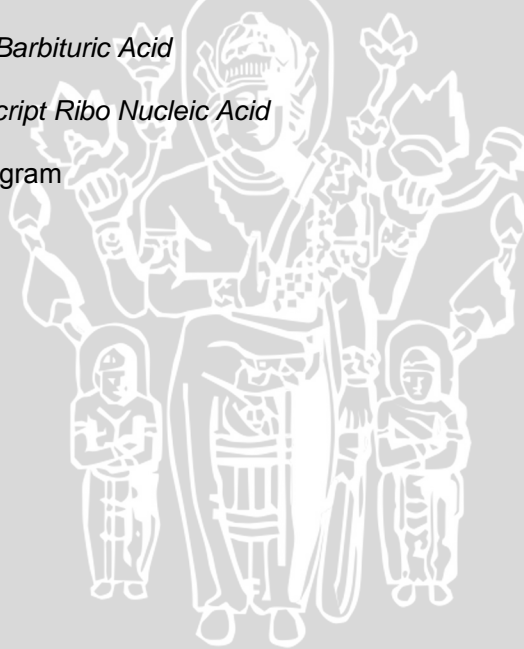


## DAFTAR SINGKATAN

ADP	: <i>Adenosine Diphosphat</i>
AIDS	: <i>Acquired Immuno Deficiency Syndrome</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
cm	: centimeter
CO	: <i>Carbon Monoxide</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EMB	: <i>Eosin Methylene Blue</i>
g	: gram
HCN	: <i>Hydrogen Cyanide</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IC50	: <i>Inhibitory Consentraction 50</i>
KBM	: Kadar Bunuh Minimal
KDO	: Keto Deoksi asam Oktonat
KHM	: Kadar Hambat Minimal
KN	: Kontrol Negatif
KP	: Kontrol Positif
LPS	: Lipo Poli Sakarida
MBC	: <i>Minimal Bactericidal Concentration</i>
mg	: miligram
MHB	: <i>Mueller Hinton Broth</i>
MIC	: <i>Minimal Inhibitory Concentration</i>
ml	: milliliter
mRNA	: <i>messanger Ribo Nucleic Acid</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>



- NAD : Nikotinamid Adenin Dinukleotida
- NAP : *Nutrient Agar Plate*
- NCBI : *National Centre for Biotechnology Information*
- NCCLS : *National Committee Centre for Laboratory Study*
- OD : *Optical Density*
- OI : *Original Inoculum*
- PABA : *Para Amino Benzoic Acid*
- RNA : *Ribo Nucleic Acid*
- SPSS : *Statistical Product of Service Solution*
- TBA : *Thio Barbituric Acid*
- tRNA : *transcript Ribo Nucleic Acid*
- µg : mikrogram



**BAB 1****PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Infeksi adalah multiplikasi agen infeksius di dalam tubuh (Brooks *et al.*, 2005). Menurut kamus kedokteran Dorland (1998), infeksi mengandung pengertian yaitu invasi dan pembiakan mikroorganisme pada jaringan tubuh, terutama yang menyebabkan cedera selular lokal akibat toksin, replikasi intraseluler, atau respon antigen - antibodi host. Penyakit infeksi sebenarnya sudah dikenal sejak zaman dahulu (Sujudi, 1994). Penyakit infeksi adalah penyakit yang ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, riketsia, jamur, dan protozoa (Gibson, 1996). Salah satu infeksi yang masih memerlukan perhatian khusus yaitu infeksi nosokomial.

Infeksi nosokomial adalah Infeksi yang terjadi atau didapat oleh pasien di rumah sakit setelah 3 x 24 jam pasien dirawat di rumah sakit. Infeksi nosokomial ini disebabkan oleh 2 faktor, yaitu faktor intrinsik meliputi umur pasien, jenis kelamin, penyakit yang diderita, serta status kekebalan pasien dan faktor ekstrinsik meliputi banyaknya pasien, banyaknya pengunjung, kontak langsung dengan petugas rumah sakit yang terkontaminasi kuman, serta penggunaan alat-alat kedokteran yang tidak steril (Hermanto, 2007). Infeksi nosokomial merupakan problem klinis yang sangat penting pada saat ini, terbukti dari banyaknya laporan tentang kejadian infeksi nosokomial di rumah sakit - rumah sakit, baik di luar maupun di dalam negeri, dengan konsekuensi meningkatnya angka kesakitan dan kematian. Di negara maju seperti Amerika Serikat dan

negara - negara Eropa, infeksi nosokomial ini telah lama dikenal, tetapi baru mendapat perhatian serius pada 20 tahun terakhir ini. Di rumah sakit dengan fasilitas adanya suatu tim yang secara aktif mengontrol penyakit infeksi, kejadian infeksi nosokomial masih dapat dijumpai sebanyak 5 - 10% (Lubis, 2003).

Salah satu bakteri penyebab infeksi nosokomial yang telah menyebar luas adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini merupakan bakteri batang gram negatif, motil, *aerobic*, dan beberapa galur memproduksi pigmen larut air. *Pseudomonas* tersebar secara luas pada tanah, air, tanaman, dan binatang. *Pseudomonas aeruginosa* sering ada dalam jumlah sedikit pada flora normal usus dan kulit manusia serta merupakan patogen utama dari kelompoknya. Infeksi klinis oleh *Pseudomonas aeruginosa* sebaiknya tidak diterapi dengan obat tunggal karena biasanya sulit sembuh dengan cara ini dan karena bakteri dapat dengan cepat menjadi resisten jika menggunakan obat tunggal (Brooks *et al.*, 2005).

*Pseudomonas aeruginosa* adalah patogen oportunistik yaitu memanfaatkan kerusakan mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Bakteri ini menjadi patogenik hanya jika berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya di selaput lendir dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih jika masuk melalui kateter dan instrumen atau karena larutan irigasi, infeksi saluran pernapasan, dermatitis, infeksi jaringan lunak, bakterimia, infeksi tulang dan sendi, infeksi saluran pencernaan, dan bermacam-macam infeksi sistemik, terutama pada penderita luka bakar berat, kanker, dan penderita AIDS yang mengalami penurunan sistem imun. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* menjadi masalah serius pada pasien di rumah sakit yang menderita kanker, kistik

fibrosis, dan luka bakar. Angka fatalitas pada kasus pasien - pasien tersebut adalah 50%. Bakteri ini merupakan penyebab sepsis yang umum dijumpai pada pasien di unit perawatan intensif (Todar K. dan Brooks *et al.*, 2005).

Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan memanfaatkan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun - temurun telah diwariskan oleh nenek moyang kita sejak berabad - abad yang lalu dari satu generasi ke generasi berikutnya. Penggunaan obat tradisional secara umum oleh sebagian masyarakat dinilai lebih aman daripada penggunaan obat modern karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif sedikit asalkan penggunaan dosisnya yang tepat. Namun, jika penggunaan dosisnya tidak tepat ataupun melebihi dosis yang ditentukan, maka akan menimbulkan efek yang lebih berbahaya daripada efek yang ditimbulkan oleh obat modern yang biasa dipakai pada saat ini (Kumala S., 2006).

Kapulaga (*Amomum cardamomum*) merupakan salah satu jenis tumbuhan obat yang cukup prospektif untuk dikembangkan karena selain teknik budidayanya yang relatif mudah dan banyak dimengerti oleh masyarakat terutama di Jawa dan Sumatra, prospek harga maupun peluang pasarnya baik untuk tingkat lokal (domestik) maupun internasional masih terbuka lebar (Suharti, 2007).

Dalam buah, biji, dan rimpang kapulaga terdapat minyak kardamomi yang mengandung terpineol, terpinylasetat, sineol, borneol dan sabinen, zat putih telur, calcium-oksalat dan silisium. Selain itu juga mengandung minyak atsiri (alfaborneol dan betakamfer), saponin, polifenol, dan flavonoida yang berkhasiat

untuk mengencerkan dahak, memudahkan pengeluaran angin dari perut, menghangatkan, membersihkan darah, menghilangkan rasa sakit, dan mengharumkan nafas (Hemawati, 2009).

Sejauh ini belum ada penelitian yang menyebutkan bahwa ekstrak biji buah kapulaga efektif sebagai antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* maupun bakteri lainnya. Namun telah diteliti bahwa flavonoid, eugenol, curcumin (*polifenol*) efektif sebagai antimikroba terhadap kuman *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nyoman Indra Bayu (2007).

Oleh karena itu, berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini dimaksudkan untuk menguji efektivitas antimikroba ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.

## 1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) memiliki pengaruh antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
2. Berapakah Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum :

Mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

### 1.3.2 Tujuan khusus :

Mengetahui konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang mampu menghambat (KHM) dan membunuh (KBM) pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat penelitian dalam bidang ilmiah (teoritis) :

Dasar penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

#### 1.4.2 Manfaat penelitian dalam aplikasi sehari-hari (praktik) :

1. Memberi alternatif bahan alami yang dapat mengendalikan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Memberi alternatif antimikroba untuk pengendalian infeksi, terutama infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*.

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu spesies dari genus *Pseudomonas* yang dapat menimbulkan penyakit infeksi pada manusia. Genus *Pseudomonas* mempunyai habitat normal di tanah dan air. Bakteri - bakteri tersebut berperan dalam proses dekomposisi bahan - bahan organik. *Pseudomonas aeruginosa* dalam jumlah kecil seringkali merupakan flora normal pada intestin dan kulit manusia. Beberapa spesies *Pseudomonas* bersifat patogen terhadap tumbuh - tumbuhan dan binatang. Meskipun pada umumnya bakteri tersebut tidak menginfeksi manusia, tetapi *Pseudomonas* merupakan patogen oportunistik penting yang sering menginfeksi hospes dengan daya tahan tubuh yang menurun atau kurang baik. Infeksi pada manusia sering kali didapatkan di rumah sakit dan biasanya cukup berat serta sulit diobati (Dzen *et al.*, 2003).

## 2.1.1 Taksonomi (NCBI, 2011)

Berdasarkan *National Centre for Biotechnology Information*,

*Pseudomonas aeruginosa* digolongkan dalam taksonomi sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Kelas	: $\gamma$ -Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

### 2.1.2 Morfologi dan Identifikasi (Brooks et al., 2005)



**Gambar 2.1 *Pseudomonas aeruginosa***

Keterangan : Diambil menggunakan Scanning Electron Micrograph (SEM) dengan perbesaran 5500 kali (Sumber gambar : <http://www.sciencephoto.com>)

*Pseudomonas aeruginosa* dapat bergerak dan berbentuk batang, ukurannya sekitar  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ . *Pseudomonas aeruginosa* merupakan gram negatif dan terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda, dan kadang-kadang dalam rantai pendek. Bakteri ini bersifat aerobik obligat yang tumbuh dengan cepat pada berbagai tipe media, kadang memproduksi bau manis, seperti anggur atau seperti jagung (*corn taco-like odor*). Beberapa galur dapat menghemolisis darah.

*Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni bulat, halus dengan warna fluoresen kehijauan, juga sering memproduksi pigmen kebiruan dan tidak fluoresen yang disebut piosianin (*pyocyanin*) yang larut dalam agar. Beberapa galur *Pseudomonas aeruginosa* juga menghasilkan pigmen fluoresen pioverdin (*pyoverdin*) yang memberi warna kehijauan pada agar. Beberapa galur menghasilkan pigmen merah gelap piorubin atau pigmen hitam piomelanin.

*Pseudomonas aeruginosa* pada biakan dapat memproduksi berbagai kelompok koloni. *Pseudomonas aeruginosa* dari bentuk koloni berbeda mungkin



juga mempunyai aktifitas biokimia dan enzimatik yang berbeda dan memberi profil kepekaan yang berbeda terhadap antimikroba. Biakan dari pasien dengan kistik fibrosis sering menghasilkan organisme *Pseudomonas aeruginosa* yang membentuk koloni mukoid sebagai hasil dari kelebihan produksi alginat, sebuah eksopolisakarida.

*Pseudomonas aeruginosa* tumbuh baik pada suhu 37-42°C. Pertumbuhan pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies pseudomonas pada kelompok fluoresen, bersifat oksidase positif. *Pseudomonas aeruginosa* tidak meragikan karbohidrat, tetapi berbagai galur mengoksidasi glukosa. Identifikasi biasanya berdasar pada bentuk koloni, oksidasi positifnya, adanya pigmen yang khas, dan tumbuh pada 42°C. Pembeda pada *Pseudomonas aeruginosa* dari *Pseudomonas* lainnya berdasarkan pada aktifitas biokimianya yang membutuhkan tes dengan substrat yang banyak.

### 2.1.3 Daya Tahan Bakteri

*Pseudomonas aeruginosa* lebih tahan terhadap disinfektans dan antiseptika dibandingkan dengan bakteri batang gram negatif lainnya. Pada suasana lembab bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh dengan baik pada berbagai tempat dan alat, misalnya pada lantai, kamar mandi, alat bantu pernapasan, *bed-pans*, dan alat kedokteran lainnya. Tindakan sederhana yang dapat dilakukan untuk mematikan bakteri tersebut adalah dengan pendidihan terhadap alat yang dicurigai terkontaminasi (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.1.4 Struktur Antigenik (Dzen *et al.*, 2003)

Susunan dinding sel *Pseudomonas aeruginosa* mirip dengan anggota famili Enterobacteriaceae lainnya, yaitu mengandung lipopolisakarida (LPS) yang terdiri atas 2-keto-3-deoksi-asam oktonat (KDO) dan lipid A. LPS dari *Pseudomonas* dapat dibagi dua, yaitu :

- Polisakarida inti yang terdapat pada semua galur, dan
- Polisakarida rantai samping yang bersifat spesifik untuk setiap galur.

Atas dasar antigen O, *Pseudomonas aeruginosa* dibagi menjadi 17 serotipe. Selain antigen O atau antigen somatik dan antigen H atau antigen flagella, bakteri ini memiliki *slime layer* yang juga bersifat antigenik dan adanya *slime layer* ini mempersulit fagositosis.

Untuk membedakan galur yang satu dengan yang lainnya dapat dengan melakukan reaksi serologis terhadap antigen O dengan *phage typing* dan produksi piosianin. Pemindahan materi genetik diantara galur *Pseudomonas aeruginosa* dapat terjadi melalui proses konjugasi dan transduksi.

### 2.1.5 Penentu Patogenitas (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005)

#### 2.1.5.1 Faktor Kolonisasi

*Pseudomonas aeruginosa* yang bersifat patogen memiliki pili (fimbriae) menonjol dari permukaan sel dan *slime layer* untuk melekatkan diri pada sel epitel inang dan mengadakan kolonisasi.

#### 2.1.5.2 Hemolisin

*Pseudomonas aeruginosa* memproduksi dua macam hemolisin, yang satu merupakan enzim fosfolipase dan yang lain adalah glikolipid. Fosfolipase

menyebabkan rusaknya jaringan paru sehingga membuat lebih mudah dalam proses invasi.

#### 2.1.5.3 Protease

Adanya enzim protease bertanggung jawab atas terjadinya perdarahan pada kulit tempat terjadinya infeksi dan berperan dalam menyebabkan infeksi pada kornea.

#### 2.1.5.4 Eksotoksin

*Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan dua macam eksotoksin yaitu eksotoksin A dan eksotoksin S.

- a. Eksotoksin A yang bersifat letal terhadap binatang percobaan. Angka kematian binatang percobaan akibat infeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* yang menghasilkan eksotoksin A lebih tinggi daripada yang tidak menghasilkan eksotoksin A. Eksotoksin A yang aktif memiliki aktivitas *Adenosine Diphosphate (ADP)-ribose transferase* menyebabkan inaktivasi faktor elongasi dan hambatan sintesis protein dari sel eukariotik. Toksin memblok sintesis protein dengan sebuah mekanisme yang identik dengan toksin difteria, meskipun struktur kedua toksin tidak identik. Antitoksin terhadap eksotoksin A ditemukan di beberapa serum manusia, termasuk pada pasien yang sembuh dari infeksi *Pseudomonas aeruginosa*.
- b. Eksotoksin S juga mengkatalisir pemindahan bagian ADP-ribose dari NAD (Nikotinamid Adenin Dinukleotida) kepada sejumlah protein yang berbeda pada sel eukariotik. Namun demikian, peranan eksotoksin S dalam menimbulkan penyakit pada manusia masih belum jelas.

### 2.1.5.5 Enterotoksin

*Pseudomonas aeruginosa* juga menghasilkan enterotoksin yang bertanggung jawab pada terjadinya diare.

### 2.1.6 Temuan Klinis

Infeksi klinis oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terjadi pada seseorang yang mengalami gangguan pada sistem pertahanan tubuh, misalnya pada orang yang menderita luka bakar, degenerasi keganasan, pada orang-orang dengan penyakit gangguan metabolisme atau pada penderita yang mendapatkan tindakan invasif, pada penderita yang mendapatkan obat-obatan immunosupresif, serta pada penderita yang mendapatkan pengobatan radiasi (Dzen *et al.*, 2003). Infeksi juga dapat terjadi pada saluran nafas khususnya respirator yang tercemar mengakibatkan pneumonia nekrotika, ditemukan juga pada otitis eksterna ringan pada perenang (Brooks *et al.*, 2005).

Pada orang-orang usia lanjut infeksi *Pseudomonas* sering menyebabkan infeksi saluran kemih. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menginfeksi hampir semua jaringan tubuh. Bakteri masuk melalui lesi lokal yang ada pada permukaan tubuh. Selanjutnya bakteri akan memasuki pembuluh darah yang menyebabkan terjadinya septisemia serta menyebar ke jaringan tubuh yang lain. Pada orang yang mengalami septisemia, angka kematian sekitar 80% (Dzen *et al.*, 2003).

Kelainan klinis yang ditimbulkan antara lain : infeksi sekunder pada luka bakar, infeksi saluran kemih, endokarditis, gastroenteritis, pneumonia, dan lain sebagainya (Dzen *et al.*, 2003). Sebagian besar infeksi *Pseudomonas*

*aeruginosa* gejala dan tandanya tidak spesifik dan berkaitan dengan organ yang terserang (Brooks *et al.*, 2005).

### 2.1.7 Uji Laboratorium Diagnostik

Bahan pemeriksaan untuk diagnosis etiologis disesuaikan dengan kelainan klinis yang terjadi. Dari bahan pemeriksaan tersebut dilakukan pemeriksaan langsung menggunakan pewarnaan gram, pembiakan pada medium yang biasa digunakan untuk bakteri enterik, selanjutnya dilakukan reaksi biokimia untuk identifikasi (Dzen *et al.*, 2003).

Spesimen diambil dari luka kulit, nanah, darah, cairan spinal, sputum, dan bagian lain diambil sesuai tempat infeksi. Pada pewarnaan gram terlihat bakteri batang gram negatif pada hapusan. Tidak ada karakteristik morfologi spesifik yang membedakan *Pseudomonas* dari enterik atau batang gram negatif lain. Pada pembiakan spesimen ditanam pada lempeng agar darah dan media deferensial yang biasa digunakan untuk membiakkan bakteri batang gram negatif enterik. *Pseudomonas* tumbuh cepat pada sebagian besar media tersebut, tetapi mungkin tumbuh lebih pelan dibanding enterik. *Pseudomonas aeruginosa* tidak meragikan laktosa dan mudah dibedakan dari bakteri peragi laktosa. Pembiakan merupakan tes spesifik dari diagnosis infeksi *Pseudomonas aeruginosa* (Brooks *et al.*, 2005).

### 2.1.8 Terapi

Umumnya *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap bermacam-macam antimikroba, tetapi masih ada beberapa antimikroba yang efektif untuk mengatasi infeksi oleh bakteri tersebut, antara lain sebagai berikut :

- Golongan aminoglikosida : amikasin, gentamisin, dan tobramisin.
- Golongan sefalosporin generasi ketiga : sefotaksim dan sefoperazon. Sefalosporin yang baru yaitu seftasidim dan sefoperazon aktif melawan *Pseudomonas aeruginosa* yang mana seftasidim digunakan sebagai pilihan utama pada terapi infeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa*.
- Golongan penisilin semisintetik : piperasilin, mezlosilin, dan azlosilin. Terhadap karbenesilin dan tikarsilin telah memberikan tingkat resistensi sekitar 50%.
- Untuk penggunaan topikal misalnya pada luka bakar dapat digunakan turunan sulfonamid yaitu sulfamilon.

Pengobatan yang lain yang dapat digunakan untuk penderita infeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* adalah vaksin, antara lain : suatu vaksin heptavalen, PEV-01, dan *hyperimmune gamma globulin* (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

### 2.1.9 Epidemiologi dan Pengendalian

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu patogen nosokomial utama dan metode untuk mengontrol infeksi mirip dengan patogen nosokomial lain. Karena *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh cepat dalam lingkungan yang lembab, perhatian khusus seharusnya diberikan pada bak cuci, bak mandi, penangas air, *shower* dan area basah lainnya. Penyebaran dari *Pseudomonas aeruginosa* akan meluas bila cara kerja kita ceroboh, juga pencucian tangan yang kurang sempurna, desinfektan, dan cara pemakaian kateter dan alat-alat pernapasan yang kurang disterilkan dengan baik (Brooks *et al.*, 2005).

Untuk tujuan epidemiologik, galur bisa dibedakan berdasar piosianin dan serotipe lipopolisakarida. Vaksin dari tipe yang tepat pada pasien dengan resiko tinggi dapat mencegah sepsis akibat pseudomonas. Pengobatan seperti itu sudah digunakan sebagai percobaan pada pasien dengan leukemia, luka bakar, kistik fibrosis, dan imunosupresi (Brooks *et al.*, 2005).

## 2.2 Kapulaga

### 2.2.1 Uraian Tanaman

Indonesia merupakan negara yang kaya dengan tanaman obat. Salah satu diantaranya adalah kapulaga (*Amomum cardamomum*) dari famili Zingiberaceae. Bagian dari kapulaga yang biasa digunakan adalah buahnya. Secara empiris buah kapulaga digunakan sebagai obat batuk, obat kembung, pembersih darah, penambah nafsu makan dan bumbu masak (Dinata, 2008).

Kapulaga (*Amomum cardamomum*) merupakan tanaman asli Indonesia, sedangkan tanaman kapulaga sabrang (*Elettaria cardamomum*) merupakan hasil introduksi dari India pada medio abad ke-18. Kenyataannya banyak orang yang menyamakan antara kedua kapulaga tersebut, padahal keduanya berbeda. Kapulaga sabrang pada umumnya memiliki dua kultivar, yaitu Malabar dan Mysore. Namun sebagian besar yang diusahakan petani Indonesia adalah kapulaga lokal atau biasa disebut dengan kapulaga (*Amomum cardamomum*) saja (Hieronymus, 1989).

Tanaman kapulaga pada umumnya tumbuh di hutan-hutan yang masih lebat. Kapulaga hanya mau tumbuh baik di bawah pohon naungan karena kapulaga menghendaki intensitas cahaya yang tidak terlalu tinggi, yaitu berkisar antara 30 – 70%. Komoditas ini cocok untuk dikembangkan sebagai tanaman

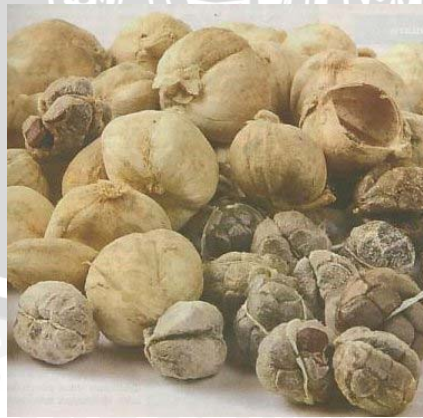
tumpang Sari pada kebun-kebun beberapa tanaman, misalnya di hutan jati, kebun kopi, kakao, petai, jeruk dan lain sebagainya yang bagian bawah tegakannya masih menerima sedikit sinar matahari (Hieronymus, 1989).

### 2.2.2 Taksonomi Kapulaga (Dalimartha, 2008)

Tanaman kapulaga digolongkan dalam taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Divisi	: Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae (biji berkeping satu)
Sub Kelas	: Zingiberidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Amomum
Spesies	: <i>Amomum cardamomum</i>

### 2.2.3 Morfologi dan Identifikasi Tanaman Kapulaga



**Gambar 2.2 Buah dan Biji Buah Kapulaga**

(Sumber gambar : <http://tiesnovyta.multiply.com/>)



Morfologi tanaman kapulaga mirip dengan tanaman jahe-jahean lainnya. Kapulaga berdaun tunggal, bertangkai pendek dan letak daun pada batang tersebar berhadapan. Daunnya berbentuk lunset, panjang 20 - 55 cm dan lebar 2,5 - 11 cm dengan tepi daun rata, pangkal daun meruncing dan ujung daun runcing, penebalan daun menyirip. Batangnya semu, terbungkus oleh pelepah daun yang berwarna hijau, berbentuk bulat, tumbuh tegak, tinggi sekitar 1 - 3 meter dan tumbuh dari rhizome (rimpang) yang berada di bawah permukaan tanah. Kapulaga lokal bunganya tersusun rapat berbentuk bulir kerucut, tangkai bunga berbuku rapat, mempunyai pelindung tersusun seperti sisik dan bunga yang diujung biasanya tidak menjadi buah. Buah kapulaga lokal tersusun rapat berupa tandan yang terdiri 5 - 18 buah setiap tandan. Bentuk buahnya bulat panjang sampai agak lonjong, beruang tiga, setiap buah terdapat 14 - 16 biji, warna kulit buah hijau atau hijau muda (Falah, 2008).

Jenis tanah yang baik untuk kapulaga dalam pertumbuhannya yaitu tanah yang liat dan berpasir, dengan derajat keasaman (pH) tanah 5 - 6,8 dengan bahan organik tinggi. Pada dasarnya tanaman kapulaga dapat tumbuh pada dataran rendah maupun pada dataran tinggi. Kapulaga lokal dapat hidup pada ketinggian 200 - 1000 meter di atas permukaan laut, dan kapulaga sabrang pada 750 - 1500 meter. Namun kapulaga lokal khususnya menghendaki ketinggian optimum antara 300 - 500 meter di atas permukaan laut, karena pada ketinggian ini kapulaga dapat menghasilkan buah yang baik. Ketinggian tempat berkaitan erat dengan kondisi suhu udara setempat. Kapulaga memerlukan suhu 10 - 35°C dengan udara yang sedikit lembab. Apabila di daerah yang curah hujan nya sedikit atau musim kemaraunya berkepanjangan, tanaman kapulaga menjadi kurang produktif (Hieronymus, 1989).

## 2.2.4 Kandungan Senyawa Kimia

Buah kapulaga mengandung minyak atsiri yang terutama mengandung sineol, terpineol, dan borneol. Kadar sineol dalam buah lebih kurang 12 %. Disamping itu buah kapulaga banyak mengandung saponin, flavonoida, dan senyawa-senyawa polifenol, serta mangan, pati, gula, lemak, protein, silikat dalam jumlah yang sedikit. Biji mengandung 3 - 7 % minyak atsiri yang terdiri atas terpineol, terpinil asetat, sineol, alfa borneol, dan beta kamfer yang termasuk golongan terpenoida. Di samping itu biji juga mengandung minyak lemak, protein, kalsium oksalat dan asam kersik. Dengan penyulingan dari biji diperoleh minyak atsiri yang disebut *Oleum Cardamomi* yang digunakan sebagai stimulan dan pemberi aroma (Sinaga, 2004).

### 2.2.4.1 Terpenoida

Terpenoida merupakan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan. Umumnya mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Terpenoida merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan yang disebut sebagai minyak atsiri (Lenny, 2006).

Minyak atsiri bukanlah senyawa murni akan tetapi merupakan senyawa campuran organik yang kadangkala terdiri dari lebih dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan. Sebagian besar komponen minyak atsiri adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen atau karbon, hidrogen dan oksigen yang bersifat aromatik yang secara umum disebut terpenoid. Sineol, terpineol, dan borneol termasuk golongan monoterpenoid dan banyak

dimanfaatkan sebagai antiseptik, ekspektoran, sedatif, dan bahan pemberi aroma makanan (Lenny, 2006). Beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa terpenoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu monoterpenoid, diterpenoid, triterpenoid saponin, dan triterpenoid glikosida (Grayson, 2000; Bigham *et al.*, 2003).

#### 2.2.4.2 Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan tidak diketahui, mungkin sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangan serangga karena saponin yang terdapat pada makanan yang dikonsumsi serangga dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan (Nio, 1989).

Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin memberikan rasa pahit pada bahan pangan nabati. Sumber utama saponin adalah biji-bijian khususnya kedele. Saponin dapat menghambat pertumbuhan kanker kolon dan membantu kadar kolesterol menjadi normal. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. Saponin bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. Saponin yang bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai Sapotoksin (Tsuchiya *et al.*, 1996 ; Bernhard Watzl, 2004).

Saponin diklasifikasikan menjadi 2 yaitu : saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat (Tsuchiya *et al.*, 1996). Steroid saponin dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Tipe saponin ini memiliki efek anti jamur. Pada binatang menunjukkan penghambatan aktifitas otot polos. Saponin steroid diekskresikan setelah konjugasi dengan asam glukoronida dan digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis dari obat kortikosteroid. Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antibakteri. Senyawa ini akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel bakteri (Arsyi, 2008).

#### **2.2.4.3 Flavonoida**

Istilah flavonoid diberikan untuk senyawa-senyawa fenol yang berasal dari kata flavon, yaitu nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dalam tumbuhan. Flavonoid adalah salah satu jenis senyawa yang bersifat racun/aleopati, yang merupakan persenyawaan glukosida yang terdiri dari gula yang terikat dengan flavon. Flavonoid yang tidak ada rasanya disebut hesperidin, sedangkan limonin menyebabkan rasa pahit (Dinata, 2008; Lenny, 2006).

Flavonoid adalah salah satu golongan senyawa fenol alam terbesar dan merupakan kandungan khas tumbuhan hijau, kecuali alga. Penyebaran flavonoid yang terbesar yaitu pada angiospermae (Markham, 1988). Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktifitas sebagai obat. Flavonoid dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah. Senyawa-senyawa ini berwarna merah, ungu dan biru dan sebagian zat berwarna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Rohyami, 2008). Manfaat Flavonoid diantaranya sebagai anti tumor, anti HIV, immunostimulant, antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antivirus, antifungal, antidiare,

antihepatotoksik, antihiperqlikemik, dan sebagai vasodilator (de Padua *et al.*, 1999).

Efek flavonoid sebagai anti mikroba diduga karena kemampuannya berikatan dengan protein ekstraseluler dan membran sitoplasma dari bakteri. Semakin lipofilik suatu flavonoid, maka semakin kuat daya rusak flavonoid tersebut terhadap membran sitoplasma bakteri (Tsuchiya *et al.*, 1996). Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar dkk., 1986).

#### **2.2.4.4 Polifenol**

Polifenol adalah asam fenolik dan flavonoid. Polifenol banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran serta biji-bijian. Rata-rata manusia bisa mengkonsumsi polifenol dalam sehari-hari sampai 23 mg. Khasiat dari polifenol adalah sebagai antimikroba dengan mendenaturasi dan merusak membran sel bakteri (Amelia, 2002).

#### **2.2.5 Manfaat**

Kapulaga (*Amomum cardamomum*) selama ini dikenal sebagai rempah untuk masakan dan juga lebih banyak digunakan untuk campuran jamu. Kapulaga memiliki aroma bau sedap dan memiliki sifat rasa agak pahit, namun ia ternyata mampu memberi efek kehangatan. Beberapa pabrik bumbu juga mengekstrakkan minyak asiri dari biji kapulaga menjadi *oil of cardamom* yang kemudian dikemas dalam botol (Nuraini, 2010).

Di kalangan penggemar herbal, kapulaga terkenal sebagai ekspektoran sekaligus antibakteri. Beberapa penelitian mengungkapkan rahasia khasiat itu ternyata berasal dari kandungan minyak atsiri sineol. Sineol yang serupa, tetapi

tak sama dengan eukaliptol kayu putih ini lebih pedas. Namun, bila dijadikan obat kumur, terasa sejuk. Bahkan, biasa digunakan untuk membuat pepermin palsu. (Hemawati, 2009).

Ekstrak dari seluruh tanaman kapulaga dipakai sebagai obat terhadap flatulensi atau meteorismus (penimbunan gas dalam usus), kolik dan kelemahan. Tumbuhan kapulaga yang ditumbuk halus bersama air dipakai sebagai obat gosok untuk penyakit encok dan rematik. Air rebusan seluruh bagian tanaman kapulaga digunakan untuk obat kuat bagi orang yang merasa lemas atau lemah akibat kecapaian. Air rebusan batang (rimpang) digunakan sebagai obat menurunkan panas (antipiretikum). Rimpang yang dikeringkan, digiling, lalu direbus dapat menjadi minuman penghangat bagi orang yang kedinginan, terutama bagi yang tinggal di pegunungan, di daerah beriklim dingin, atau di hutan yang sangat lembab. Minuman ini sekaligus dapat mengobati sakit panas dalam. Buahnya dipergunakan untuk bahan penyedap dan penyegar makanan dan minuman. Buah dan bijinya juga berkhasiat menghilangkan rasa gatal pada tenggorokan, kesulitan bernapas, mulut berbau (futor exore), sebagai obat batuk, dan obat sakit perut (Sinaga, 2004).

### **2.3 Mekanisme Kerja Obat Antimikroba**

Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda antara obat satu dengan obat yang lainnya. Antimikroba mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka, yaitu dinding sel, protein, asam nukleat, dan metabolit intermedier (Dzen *et al.*, 2003).

#### **2.3.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel**

Dasar toksisitas selektif dari golongan antimikroba ini terletak pada perbedaan struktur dinding sel prokariot yang terdiri atas peptidoglikan, sedangkan pada sel eukariot tidak memiliki peptidoglikan sehingga golongan obat ini relatif aman sebagai obat antibakteri tetapi tidak mempunyai pengaruh terhadap fungi, parasit, maupun sel hospes. Obat antimikroba yang menghambat pembentukan dinding sel efektif pada saat bakteri sedang aktif membelah (Dzen *et al.*, 2003).

### **2.3.2 Merusak Membran Sel**

Membran sel adalah lapisan tipis yang terletak di sebelah dalam dinding sel, tersusun oleh 60% protein dan 40% lipid yang umumnya berupa fosfolipid. Membran sel merupakan barier yang fungsinya mengatur keluar masuknya bahan-bahan dari dalam sel atau dari luar sel dan hanya bahan-bahan tertentu saja yang dapat melewatinya. Rusaknya membran sel dapat menyebabkan metabolit penting di dalam sel lolos keluar sel dengan akibat kematian sel (Dzen *et al.*, 2003).

### **2.3.3 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri**

Enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme sering dihambat oleh senyawa-senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa ini bergabung dengan enzim tersebut sehingga mencegah kombinasi substrat-enzim dan reaksi-reaksi katalitik. Sulfonamid berkompetisi dengan PABA (*Para Amino Benzoic Acid*) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kelangsungan hidup bakteri terganggu (Cowman, 1999).

### 2.3.4 Menghambat Sintesis Protein

Dasar toksisitas selektif dari antimikroba yang menghambat sintesis protein adalah struktur ribosom sel prokariot (ribosom 70S) berbeda dengan sel eukariot (ribosom 80S). Namun demikian, perlu diingat bahwa mitokondria sel eukariot berisi ribosom 70S.

Ribosom 70S bakteri tersusun dari unit 50S dan 30S. Antimikroba yang berkerja pada unit ribosom 50S adalah kloramfenikol dan linkomisin dengan cara menghambat perpanjangan rantai polipeptida, serta eritromisin yang mekanisme kerjanya mencegah perjalanan ribosom di sepanjang mRNA. Antimikroba yang bekerja pada unit ribosom 30S adalah streptomisin dengan cara mengubah bentuk ribosom sehingga bentuk kodon juga berubah, mengakibatkan *misreading* oleh antikodon pada tRNA. Tetrasiklin bekerja pada unit ribosom 30S dengan cara mengganggu perlekatan tRNA pada kompleks mRNA-ribosom (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.3.5 Denaturasi Protein

Sifat fungsional dari protein karena bentuk tiga dimensinya. Bentuk ini dipertahankan oleh ikatan-ikatan kimia, kovalen, disulfida, dan sejumlah ikatan non-kovalen seperti ikatan ionik, hidrofobik, dan hidrogen. Ikatan - ikatan kimia ini disebut struktur tersier dari protein. Rusaknya struktur tersier ini baik karena pemanasan atau bahan kimia tertentu akan menyebabkan denaturasi protein (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.3.6 Menghambat Sintesis Asam Nukleat



Antimikroba ini dapat bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi misalnya rifampisin atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel. Rifampisin bekerja dengan cara mengikat kuat enzim *DNA-dependent RNA polymerase*. Setiap zat yang mengganggu sintesa ini akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme sel bakteri (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.3.7 Antagonisme Kimiawi

Gangguan oleh suatu bahan kimia terhadap reaksi antara enzim dengan substratnya disebut antagonisme kimiawi. Bahan antagonis bereaksi dengan bagian esensial dari enzim (apoenzim, koenzim, atau activator mineral) atau memiliki struktur senyawa yang menyerupai (analog) substrat. Ada dua kelompok bahan antagonis, yaitu :

- a. Antagonis pada proses produksi energi, misalnya racun enzim pernapasan (CO, HCN) dan racun pada proses fosforilasi oksidatif (*dinitrofenil*).
- b. Antagonis pada proses biosintesis, misalnya *5-metiltryptofan* yang menghambat penggabungan triptofan ke dalam protein dan *p-fluorofenilalanin* yang menghambat penggabungan *fenilalanin* ke dalam protein (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.4 Resistensi Mikroba terhadap Obat Antimikroba

Timbulnya resistensi mikroba terhadap obat antimikroba pada dasarnya merupakan usaha mikroba supaya dapat tetap bertahan hidup. Ada beberapa

mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap obat antimikroba antara lain (Dzen *et al.*, 2003):

- a. Mikroba memproduksi enzim yang merusak obat,
- b. Mikroba mengubah permeabilitas membran selnya,
- c. Mikroba mengubah struktur target terhadap obat,
- d. Mikroba mengembangkan jalan metabolisme baru,
- e. Mikroba mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya, tetapi tidak dipengaruhi oleh obat, dan
- f. Mikroba memperbesar produksi bahan metabolit.

## 2.5 Uji Kepekaan Antimikroba

Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Uji kepekaan terhadap obat antimikroba pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara yaitu, metode dilusi tabung dan metode difusi cakram (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.5.1 Metode Dilusi Tabung (*Tube Dilution Test*)

Metode dilusi tabung digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari obat antimikroba. KHM (Kadar Hambat Minimal) atau MIC (Minimal Inhibitory Concentration), yaitu kadar terendah dari antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. KBM (Kadar Bunuh Minimal) atau MBC (Minimal Bactericidal Concentration), yaitu kadar terendah dari antimikroba yang dapat membunuh bakteri (Santoso S. *et al.*, 2008).

Prinsip metode dilusi tabung adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu mikroba yang 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 dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji. Untuk menentukan KHM obat dapat juga dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode *E test* (Dzen *et al.*, 2003).

### 2.5.2 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah obat dijenuhkan ke dalam kertas saring atau cakram kertas. Cakram kertas yang mengandung obat tertentu kemudian ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *et al.*, 2003).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolate mikroba sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dua cara seperti cara Kirby Bauer dan cara Joan-Stokes (Dzen *et al.*, 2003).

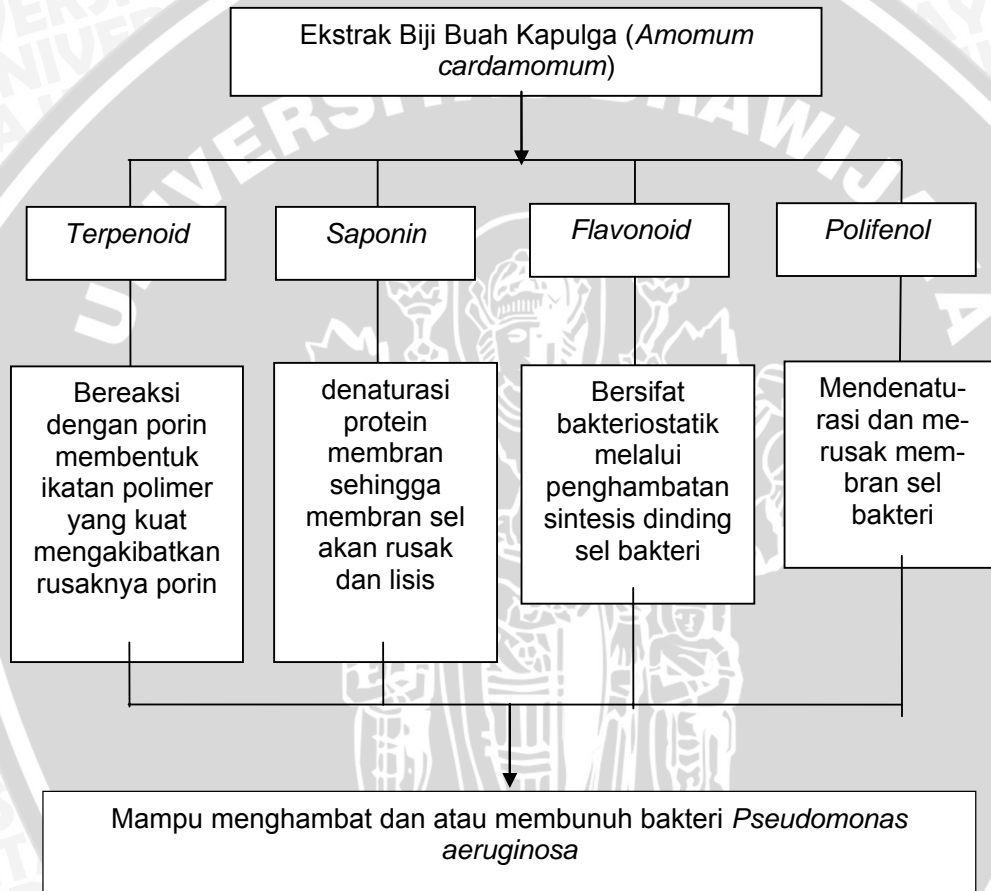
- a. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambat) disekitar cakram dengan tabel standart yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Study*). Dengan table NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediate dan resisten.
- b. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri control dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *et al.*, 2003).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep Penelitian

### 3.2. Deskripsi Kerangka Konsep

#### 3.2.1 Kapulaga (*Amomum cardamomum*)

Senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman kapulaga (*Amomum cardamomum*) adalah *saponin*, *flavonoid*, *terpenoid*, *polifenol*, dan minyak atsiri. Kegunaan dari kapulaga sendiri adalah sebagai rempah-rempah dalam masakan dan digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit tertentu serta zat-zat aktif tersebut berkhasiat sebagai antibakteri, antibiotik, antiinflamasi, dan lain sebagainya.

#### 3.2.2 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri penyebab utama pada infeksi nosokomial. Pada saat ini, infeksi nosokomial merupakan problem klinis yang sangat penting. Terbukti dari banyaknya laporan tentang kejadian infeksi nosokomial di rumah sakit - rumah sakit, baik di luar maupun di dalam negeri, dengan konsekuensi meningkatnya angka kesakitan dan kematian. Hal ini terjadi karena bakteri dapat dengan cepat menjadi resisten sehingga membutuhkan pengobatan yang spesifik.

#### 3.2.3 Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri dari Bahan Antimikroba

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa *terpenoid* adalah diduga senyawa *terpenoid* akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya substansi, akan mengurangi permeabilitas

dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Gunawan, 2008).

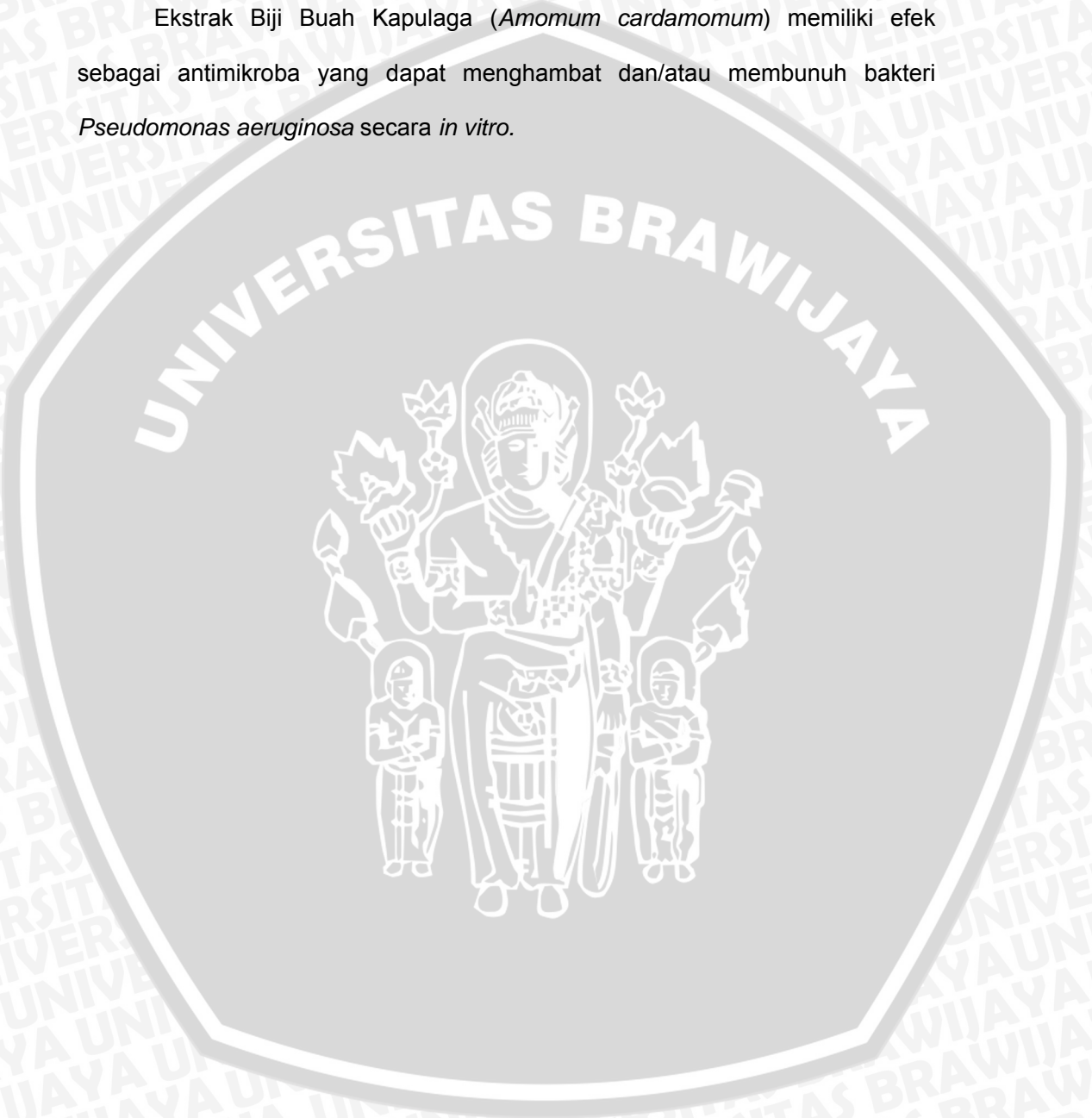
*Saponin* adalah senyawa aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis. *Saponin* memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran kuman (Siswandono dan Soekarjo, 1995).

*Flavonoid* merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. *Flavonoid* bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktifkan sistem enzim bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel (Volk dan Wheller, 1993). *Flavonoid* juga bersifat bakteriostatik yang bekerja melalui penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Trease dan Evans, 1978).

Mekanisme kerja senyawa *polifenol* yaitu bekerja dengan mendenaturasi sel dan merusak membran sel bakteri, maka senyawa-senyawa tersebut merupakan komponen aktif yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Erwiyani, 2009).

### 3.3. Hipotesis Penelitian

Ekstrak Biji Buah Kapulaga (*Amomum cardamomum*) memiliki efek sebagai antimikroba yang dapat menghambat dan/atau membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.





## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik (*True Experimental Post Test Only Control Group Design*). Uji antimikroba dilakukan secara *in vitro* untuk mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Proses pengekstrakan biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, sedangkan pengujian ekstrak biji buah kapulaga sebagai antimikroba menggunakan metode dilusi tabung (*Tube Dilution Test*). *Tube dilution test* meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada media *Mueller Hinton Broth* dan tahap penanaman pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*) dengan metode *streaking* (penggoresan) yang bertujuan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal). Besarnya konsentrasi yang digunakan, ditetapkan melalui eksperimen pendahuluan.

#### 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan April 2012 sampai bulan Juni 2012.

#### 4.3 Sampel Penelitian

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) dan menggunakan sampel bakteri uji

*Pseudomonas aeruginosa* dengan kepadatan bakteri  $10^8$  bakteri/ml yang diambil dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

#### 4.4 Sampel dan Jumlah Pengulangan

Pada penelitian ini digunakan 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif serta 5 macam dosis konsentrasi perlakuan berbeda sehingga jumlah pengulangan yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus estimasi pengulangan sebagai berikut (Lukito H., 1998) :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(7-1)(r-1) \geq 15$$

$$6(r-1) \geq 15$$

$$6r \geq 21$$

$$r \geq 21/6$$

$$r \geq 3,5 \rightarrow 4$$

keterangan: r = jumlah pengulangan yang diperlukan

t = jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga)

Jadi pengulangan yang dilakukan pada penelitian tersebut adalah 4 kali pengulangan, sedangkan jumlah sampel yang diperlukan dihitung dengan rumus:

$$\text{Jumlah pengulangan} \times \text{jumlah perlakuan} = 4 \times 6$$

$$= 24$$

#### 4.5 Variable Penelitian

Variable penelitian terdiri atas variable bebas dan variable tergantung.

##### 4.5.1 Variable Bebas

Variable bebas pada penelitian ini adalah ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang dibuat dengan konsentrasi kadar ekstrak antara lain : 0%; 2,5%; 5,0%; 7,5%; 10%; dan 12,5% berdasarkan eksplorasi awal atau penelitian pendahuluan.

#### 4.5.2 Variable Tergantung

Variable tergantung pada penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu dengan melihat kekeruhan pada tabung untuk menentukan KHM dan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada media agar padat (NAP) untuk menentukan KBM.

#### 4.6 Definisi Operational

##### 4.6.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Isolat bakteri yang digunakan adalah isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang berasal dari penderita di Rumah Sakit Saiful Anwar (RSSA) Malang.

##### 4.6.2 Ekstrak Biji Buah Kapulaga

Ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) adalah hasil ekstraksi biji buah kapulaga yang berasal dari perkebunan Matera Medika, Batu dan menggunakan pelarut etanol 96%. Pembuatan ekstrak menggunakan 250 gram buah kapulaga kering yang dibuang kulit buahnya sehingga menghasilkan 150 gram biji buah kapulaga yang bila diekstrak dengan pelarut etanol 96% akan

didapatkan 500 mg ekstrak atau 30 ml ekstrak yang setara dengan konsentrasi 100% ekstrak.

#### 4.6.3 Kadar Hambat Minimal (KHM)

Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) dan suspensi bakteri *P.aeruginosa* tersebut dalam tabung setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Kejernihan larutan ini dikonfirmasi dengan larutan kontrol bahan yang terdiri dari ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) sebanyak 1 ml (Dzen *et al.*, 2003).

#### 4.6.4 Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Kadar Bunuh Minimal adalah konsentrasi minimal ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang mampu membunuh bakteri uji (*P.aeruginosa*). Hal ini ditandai oleh tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri setelah biakan larutan ekstrak yang dicampur dengan bakteri tersebut diinokulasikan pada medium agar padat (NAP) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam, atau pertumbuhan koloni bakterinya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni *Original Inoculum* (OI) pada medium agar padat (NAP) yang telah dilakukan streaking dengan satu ose bakteri uji (Dzen *et al.*, 2003).

#### 4.6.5 Kontrol Bakteri (Kontrol Positif)

Kontrol Bakteri (kontrol positif) adalah konsentrasi ekstrak 0 % yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah bakteri yang digunakan terkontaminasi dengan bakteri lain atau tidak. Kontrol positif berasal dari larutan bakteri uji yang telah distandardisasi dengan standar *Mc Farland* 0,5 sebanyak 1 ml bakteri uji dicampur dengan 1 ml aquades.

#### 4.6.6 Kontrol Bahan (Kontrol Negatif)

Kontrol bahan (kontrol negatif) adalah larutan ekstrak biji buah kapulaga dengan konsentrasi 100% sebanyak 1 ml yang digunakan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril.

#### 4.6.7 Original Inoculum

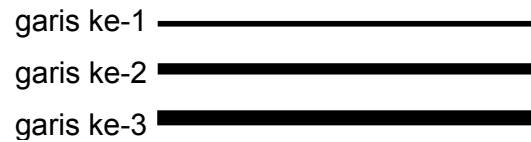
*Original Inoculum* adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi  $10^6$  CFU/ml yang diinokulasikan pada media agar padat (NAP) kemudian diinkubasi dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18 – 24 jam dan digunakan untuk mencari kategori KBM.

#### 4.6.8 Pengamatan Kualitatif

Pengamatan kualitatif digunakan untuk menentukan skor pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan bayangan tiga garis hitam yang tampak dibalik tabung. Kriteria skoring sebagai berikut :

- 0 : jernih (ketiga garis tampak jelas)
- 1 : agak keruh (garis pertama & kedua tampak, garis ketiga tidak tampak)
- 2 : keruh (garis pertama tampak, garis kedua dan ketiga tidak tampak)

3 : sangat keruh (ketiga garis tidak tampak jelas)



Semakin rendahnya skor, menunjukkan semakin efektifnya bahan coba.

#### 4.6.9 Pengamatan Kuantitatif

Pengamatan kuantitatif digunakan untuk menentukan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara kuantitatif dengan cara menghitung koloni bakteri dengan *colony counter*. Untuk koloni bakteri yang bergerombol, penghitungan dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$\frac{n}{9} \times \pi r^2$$

Keterangan : n : jumlah koloni bakteri di 9 kotak arsiran pada colony counter

$$n : 22/7$$

r : jari-jari NAP, yaitu 4,5 cm

#### 4.7 Alat dan Bahan Penelitian

##### 4.7.1 Alat-alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Biji Buah Kapulaga:

- Oven
- Timbangan
- Gelas Erlenmeyer
- Kertas saring
- Pendingin spiral / *rotator evaporator*
- Corong gelas

- Labu penampung *etanol*
- Labu evaporator
- Selang water pump
- Water pump
- Water bath
- Vacum pump
- Biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*)
- Etanol 96%
- Aquades

#### 4.7.2 Alat dan Bahan Untuk Identifikasi Bakteri :

##### 4.7.2.1 Inokulasi Bakteri Uji

- a. Medium McConkey
- b. Ose
- c. Pembakar Bunsen
- d. Vortex
- e. Bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*

##### 4.7.2.2 Pewarnaan Gram

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

2. Bahan

- a. Suspensi bakteri *P.aeruginosa* dari *Mueller Hinton Broth*
- b. Bahan pewarnaan Gram : Kristal violet, Lugol, Alkohol 96%, Safranin
- c. Aquades steril
- d. Kertas penghisap atau tissue

**4.7.2.3 Uji Tes Oksidase dan *Microbact Test***

- a. Ose lurus
- b. Kertas filter
- c. Larutan reagen tetramethyl p-phenylene-diamine dihydrochloride 1%
- d. Alat *Microbact Test* dan reagenya
- e. Formulir *Patent Record*

**4.7.3 Alat dan Bahan Untuk Uji 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 (lampu spirtus)
  - g. Korek api
  - h. Objek glass
  - i. Plate kosong dan steril
  - j. Alat penjepit (*scalpel*) steril
  - k. *Colony counter*



1. Kapas
2. Bahan
  - a. Ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*)
  - b. Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari MH Broth

#### 4.8 Rancangan Operasional Penelitian

Rancangan operasional penelitian meliputi pembuatan ekstrak biji buah kapulaga, identifikasi bakteri uji (*Pseudomonas aeruginosa*), persiapan suspensi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, dan uji sensitivitas antimikroba.

##### 4.8.1 Pembuatan Ekstrak Biji Buah Kapulaga

- 1) Biji buah kapulaga dipotong kecil-kecil dan dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender dan timbang sebanyak 150 gram (sample kering). Ini bertujuan agar senyawa aktif yang terkandung dalam biji buah kapulaga dapat larut dalam etanol 96%.
- 2) Masukkan 150 gram hasil blenderan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter lalu rendam dengan etanol 96% sampai volume 1000 cc.
- 3) Kocok sampai benar-benar tercampur kurang lebih 30 menit dan diamkan 1 malam sampai mengendap.
- 4) Setelah itu, lapisan paling atas dari larutan campuran *etanol 96%* dan biji buah kapulaga diambil dan diletakkan dalam gelas ekstraksi kemudian di evaporasi dengan menggunakan *rotatory evaporator*.
- 5) Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30 - 40° terhadap meja percobaan, dengan

susunan dari bawah ke atas : Alat pemanas air, labu penampung hasil, *rotatory evaporator*, dan tabung pendingin.

- 6) Tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin dengan bak penampung air dingin melalui pipa plastik, tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan penampung hasil penguapan.
- 7) Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstraksi, kemudian dirangkai kembali.
- 8) *Rotatory evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum dinyalakan.
- 9) Pemanas aquades dinyalakan juga sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi ikut mendidih dan pelarut etanol mulai menguap.
- 10) Hasil penguapan etanol akan dikondensasikan menuju labu penampung *etanol* sehingga tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap lain tersedot pompa vakum.
- 11) Setelah kental maka proses evaporasi dihentikan dan hasil evaporasi diambil.
- 12) Setelah evaporasi selesai, ekstrak dioven kembali dengan suhu 80°C selama 2 jam karena titik didih etanol adalah 80°C. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa-sisa etanol 96% yang mungkin masih tersisa dalam ekstrak.

#### 4.8.2 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

##### 4.8.2.1 Inokulasi Bakteri Uji

Inokulasikan atau *streaking* pembedihan cair bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada medium McConkey dan diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu 37°C sehingga akan diperoleh koloni bakteri yang berwarna hijau kebiruan berbentuk batang (*bacillus*).

#### 4.8.2.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui *Pseudomonas aeruginosa* termasuk bakteri gram positif atau gram negatif. Prosedur pewarnaan gram:

- 1) Gelas obyek dibersihkan dengan kapas steril, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak. Lalu dibiarkan dingin
- 2) Satu tetes aquades steril atau larutan saline diteteskan pada gelas obyek.
- 3) Dengan ose jarum yang steril, diambil sedikit koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada medium padat kemudian disuspensikan dengan satu tetes aquades steril atau larutan saline yang sudah diteteskan terlebih dahulu pada gelas obyek. Hapusan sebaiknya dibuat tipis.
- 4) Hapusan dibiarkan kering di udara. Setelah kering, hapusan difiksasi dengan cara melewatkan sediaan sebanyak 3x di atas api. Sediaan siap diwarnai.
- 5) Sediaan hapusan dituangi Kristal violet selama 1 menit, kemudian sisa Kristal violet dibuang dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.
- 6) Sediaan hapusan dituangi lugol selama 1 menit, kemudian sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.

- 7) Sediaan hapusan dituangi alkohol 96% selama 5 - 10 detik atau sampai warna cat luntur kemudian sisa alkohol 96% dibuang dan bilas dengan air.
- 8) Sediaan hapusan dituangi safranin selama 30 detik kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
- 9) Sediaan hapusan dikeringkan menggunakan kertas penghisap
- 10) Setelah kering, diamati dibawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 1000x dan sediaan ditetesi dengan minyak *emersion*.
- 11) Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang teramati di bawah mikroskop berupa bakteri basil (batang) gram negatif.

#### 4.8.2.3 Tes Oksidase

Biakan pada McConkey diambil satu ose, kemudian dilakukan tes oksidase. Prosedur tes oksidase adalah sebagai berikut :

- Pada penelitian ini dilakukan tes oksidase metode kertas filter.
- Kertas filter dibasahi dengan larutan reagen tetramethyl p-phenylene-diamine diidrochloride 1 %.
- Koloni kuman yang diperiksa digoreskan dengan ose platina / batang gelas pada kertas tersebut.
- Tes positif apabila warna goresan tersebut menjadi ungu sampai hitam dalam waktu  $\frac{1}{2}$  - 1 menit.

Pada *Pseudomonas aeruginosa* hasilnya adalah positif.

#### 4.8.2.4 *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 3 - 5 ml garam fisiologis dalam tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen.
- 3) Larutan bakteri yang telah homogen dimasukkan kedalam sumur *microbact* sebanyak 100 µl atau 4 tetes untuk sumur Lysin, Omitin, dan H<sub>2</sub>S ditambahkan larutan *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 tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patent Record*.
- 7) Angka-angka oktaf didapatkan dari penjumlahan reaksi positif dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktaf).

- 8) Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktaf yang keluar.

#### 4.8.3 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan $10^8$ bakteri / ml

- 1) Koloni dengan karakteristik sama diambil dari lempeng medium *MH Broth*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *Nutrient Broth*.
- 2) Tabung reaksi lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18 - 24 jam.
- 3) Dilakukan spektrofotometri pada tabung reaksi di atas dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 625 nm untuk mengetahui OD (Optical Density) dari suspensi.
- 4) Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar  $10^8$  CFU/ml (sesuai standar McFarland 0,5) yang setara dengan  $\text{OD}=0,1$  maka dilakukan perhitungan sebagai berikut :

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

Keterangan :

$N_1$  = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

$V_1$  = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

$N_2$  = OD (0,1 setara dengan  $10^8$  CFU/ml)

$V_2$  = Volume suspense bakteri uji (10 ml)

Dari hasil perhitungan tersebut diperoleh volume bakteri (ml) yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/ml sebanyak 10 ml.

- 5) Dari konsentrasi bakteri  $10^8$  CFU/ml dilakukan pengenceran suspensi bakteri dengan konsentrasi sebanyak 100 kali untuk mendapatkan konsentrasi bakteri  $10^6$  CFU/ml, caranya: Dari 10 ml bakteri dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/ml diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml NaCl sehingga konsentrasi bakteri menjadi  $10^7$  CFU/ml. Lalu dari larutan dengan konsentrasi bakteri  $10^7$  CFU/ml tersebut diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml NaCl sehingga akhirnya didapatkan konsentrasi bakteri yang diinginkan yaitu sebesar  $10^6$  CFU/ml. Selanjutnya bakteri telah siap untuk digunakan dalam penelitian (Dzen *et al.*, 2003).

#### 4.8.4 Uji Sensitivitas Antimikroba

Rangkaian uji aktivitas antimikroba ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) adalah sebagai berikut :

- 1) Ekstrak biji buah kapulaga diaduk dengan menggunakan vortex dengan kecepatan 3500 rpm selama 1 - 2 menit agar larutan ekstrak menjadi homogen dan tidak mengendap. Untuk perlakuan yang diambil adalah larutannya.
- 2) Sediakan 7 tabung reaksi steril, beri tanda 2,5%; 5,0%; 7,5%; 10%; 12,5% sebagai uji antibakteri, 1 tabung sebagai kontrol positif (KP) yaitu konsentrasi ekstrak 0% adalah biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi  $10^6$  CFU/ml, dan 1 tabung sebagai kontrol negatif (KN) yaitu kontrol bahan adalah ekstrak biji buah kapulaga saja.

- 3) Masukkan 0,95 ml aquades steril ke dalam tabung 1 yang bertanda 2,5%, lalu tambahkan 0,05 ml ekstrak biji buah kapulaga.
- 4) Masukkan 0,90 ml aquades steril ke dalam tabung 2 yang bertanda 5,0%, lalu tambahkan 0,10 ml ekstrak biji buah kapulaga.
- 5) Masukkan 0,85 ml aquades steril ke dalam tabung 3 yang bertanda 7,5%, lalu ditambahkan 0,15 ml ekstrak biji buah kapulaga.
- 6) Masukkan 0,80 ml aquades steril ke dalam tabung 4 yang bertanda 10%, lalu ditambahkan 0,20 ml ekstrak biji buah kapulaga.
- 7) Masukkan 0,75 ml aquades steril ke dalam tabung 5 yang bertanda 12,5%, lalu ditambahkan 0,25 ml ekstrak biji buah kapulaga.
- 8) Masukkan 1 ml ekstrak biji buah kapulaga ke dalam tabung KN dan masukkan 1 ml suspensi bakteri saja ditambah 1 ml aquades ke dalam tabung KP.
- 9) Tambahkan 1 ml suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi bakteri  $10^6$  CFU/mL ke dalam tabung 1 - 5 kemudian diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
- 10) Ambil bakteri dari tabung bertanda KP sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada NAP sebagai *original inoculum* kemudian diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
- 11) Setelah 18 - 24 jam, semua tabung dikeluarkan dari inkubator, diperhatikan dan dicatat derajat kekeruhan pada semua tabung. KHM didapatkan dengan cara melihat kejernihan tabung. Cara membaca derajat kekeruhan adalah dengan meletakkan sebuah kertas putih dibelakang tabung, dimana sebelumnya pada kertas tersebut digambar garis - garis hitam, kemudian garis - garis hitam tersebut



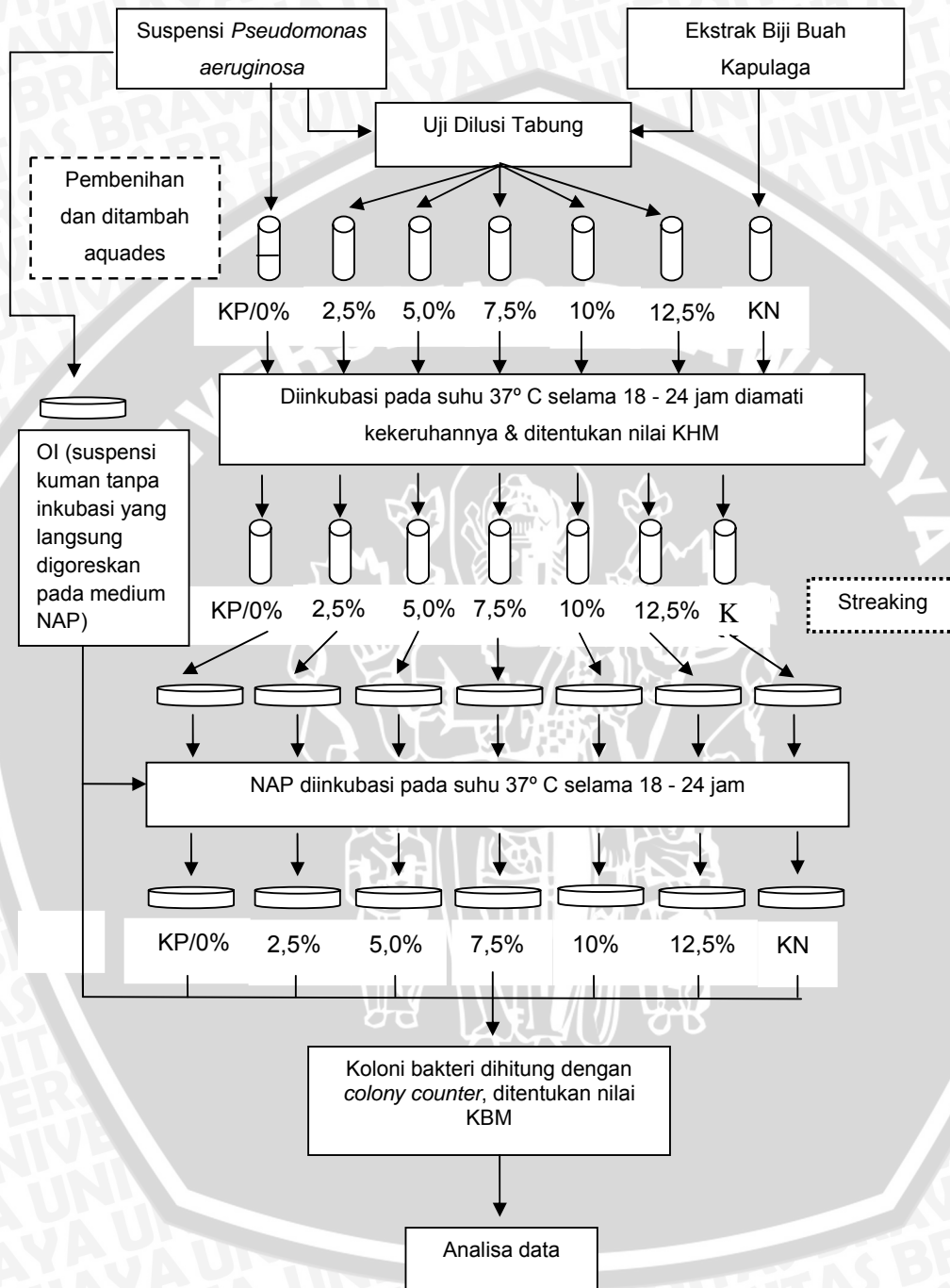
diperhatikan dari depan tabung. Konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan kekeruhan adalah KHM. Selain itu membandingkan kejernihan tabung 1 - 5 dengan tabung KN.

- 12) Jumlah koloni pada *Original Inoculum* dihitung dengan menggunakan *colony counter*.
- 13) Untuk mengetahui KBM, lakukan penggoresan dari seluruh tabung kemudian diinokulasikan pada media NAP yang berbeda, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam.
- 14) Setelah 18 - 24 jam hitung jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh 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 Biji Buah Kapulaga**

Tabung	konsentrasi (%)	ekstrak (ml)	aquades (ml)	total (ml)
1	2,5	0,05	0,95	1
2	5,0	0,10	0,90	1
3	7,5	0,15	0,85	1
4	10	0,20	0,80	1
5	12,5	0,25	0,75	1
KP	0	0	1	1
KN / KB	100	1	0	1

#### 4.8.5 Alur Kerja Penelitian



**Gambar 4.1** Skema Alur Uji Antimikroba Ekstrak Biji Buah Kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Keterangan : KP : Kontrol Positif  
KN : Kontrol Negatif  
NAP : *Nutrient Agar Plate*

KHM : Kadar Hambat Minimum  
KBM : Kadar Bunuh Minimal  
OI : Original Inoculum

#### 4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh untuk uji statistik adalah data konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) dan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa*. Jika sebaran data normal dan varians sama maka dipilih uji *One Way ANOVA*. Jika tidak memenuhi syarat, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya sebaran menjadi normal dan varian menjadi sama. Jika variabel hasil transformasi tidak berdistribusi normal atau varians tetap tidak sama, maka dipilih uji *Kruskal-Wallis*.

Analisis statistik dilakukan dengan program *SPSS (Statistical Product of Service Solution) for windows* versi 20.00 dengan signifikansi 0,05 (5%). Hipotesis dilakukan melalui  $H_0$  diterima bila nilai signifikansi yang diperoleh  $p > 0,05$ , sedangkan  $H_0$  ditolak bila nilai signifikansi yang diperoleh  $p < 0,05$ . Adapun  $H_0$  dari penelitian ini adalah tidak ada perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak biji buah kapulaga antara setiap perlakuan terhadap jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan pada medium NAP. Sedangkan  $H_1$  memiliki arti bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri pada pemberian ekstrak biji buah kapulaga antara setiap perlakuan terhadap jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan pada medium NAP.

Langkah-langkah dalam *One-Way ANOVA* adalah sebagai berikut:

- a. Memeriksa syarat uji *ANOVA* untuk  $> 2$  kelompok yaitu,
  - Sebaran data harus normal,
  - Varian data harus sama.

- b. Melakukan Analisis *One-Way* ANOVA, untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada masing-masing perlakuan khususnya yang diakibatkan pemberian ekstrak biji buah kapulaga (Dahlan, 2008).

Bila pada uji ANOVA atau Kruskal-Wallis menghasilkan nilai  $p < 0,05$ , dilanjutkan dengan analisis *post hoc*. Analisis *post hoc test* untuk ANOVA adalah uji Tukey, sedangkan untuk Kruskal-Wallis adalah uji Mann Whitney. Analisis *post hoc test* bertujuan untuk mengetahui perlakuan mana yang menyebabkan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan perbedaan yang bermakna dan tidak bermakna.

Setelah itu diteruskan dengan uji korelasi regresi menggunakan uji Spearman atau uji Pearson. Uji Korelasi bertujuan mengetahui keeratan hubungan pemberian perlakuan ekstrak biji buah kapulaga dengan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu dilakukan juga uji regresi linier untuk mengetahui arah hubungan tersebut.

## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Identifikasi bakteri *P.aeruginosa* dilakukan dengan cara inokulasi pada media McConkey, pewarnaan gram, tes oksidase, dan *Microbact Test*.

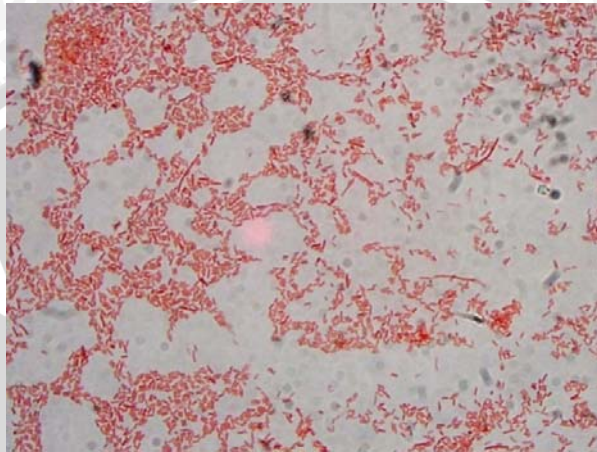
Hasil inokulasi pada media McConkey didapatkan pertumbuhan koloni bakteri yang berwarna kehijauan dan berbau khas yang disebut dengan *grape like odor* atau *corn taco like odor*.



**Gambar 5.1 Inokulasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Medium McConkey**

Keterangan : Tampak koloni berwarna kehijauan menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah *Pseudomonas aeruginosa*

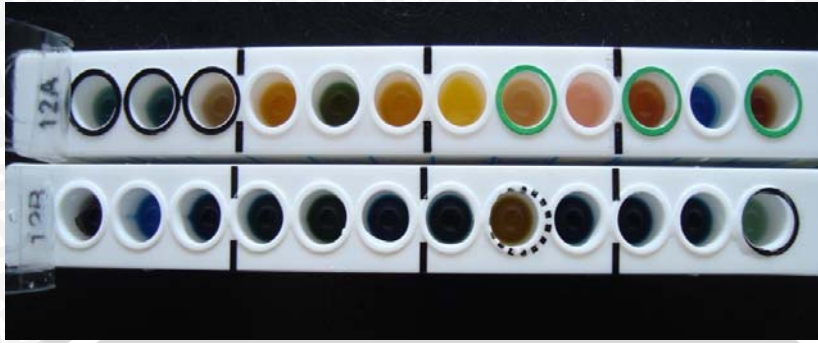
Pada pewarnaan gram akan terlihat bakteri berbentuk batang (basil) berwarna merah (gram negatif). Dapat ditemukan sendiri, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora.



**Gambar 5.2 *Pseudomonas aeruginosa* dengan Pengecatan Gram**

Keterangan : Tampak bakteri gram negatif berbentuk batang berwarna merah yang menandakan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Setelah pewarnaan gram, bakteri dilakukan uji oksidase dengan menggoreskan koloni bakteri pada *stick* oksidase dan dibiarkan  $\frac{1}{2}$  - 1 menit. Hasilnya menunjukkan oksidase positif, yaitu dengan adanya perubahan warna *stick* menjadi ungu kebiruan. Setelah itu dilanjutkan uji *microbact* untuk memastikan bakteri yang digunakan tersebut adalah benar merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan memasukkan suspensi bakteri ke dalam 24E sumuran *microbact system* dan diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C. Dari tes Microbact™ yang dilakukan dapat dilihat bahwa bakteri tersebut terbukti 87,29% merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.



850 B

**OXOID**  
**MICROBACT™**  
 IDENTIFICATION KITS

**MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E**

	GNB 24E											GNB 12B															
	GNB 12A / 12E											GNB 12B															
	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
Result / Resultado / Ergebnis / Risultat / Risultato / Risultat / Resultat / Resultado / AmortAkoyaj	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	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 / Apoyaj	5			7			6			0			3			0			0			0			1		

Identification / Identificación / Identifikation / Identifikation / Identificação / Identifying / Identificação / Taxonomiyaj

*P. aeruginosa* 87,29%

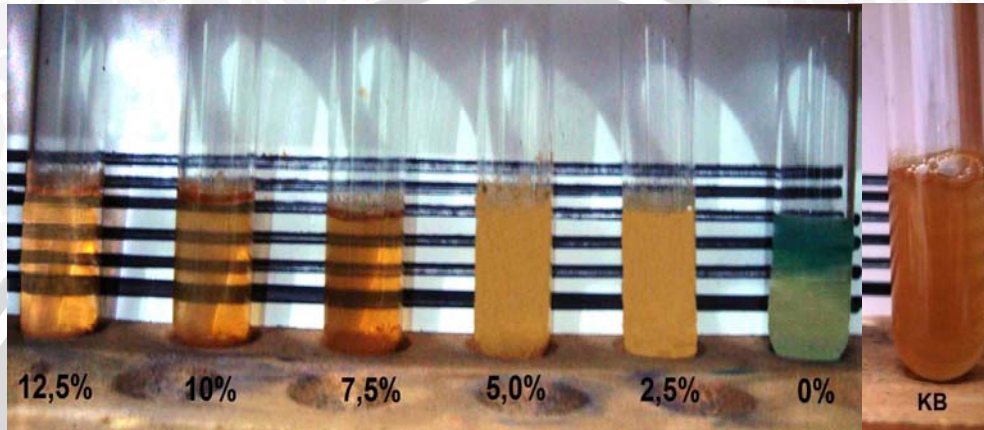
**Gambar 5.3** Gambar Sumuran *Microbact System* dan Hasil Scan *Microbact Test*

Keterangan : Berdasarkan angka-angka oktaf pada gambar di atas, bakteri yang digunakan diyakini 87,29% sebagai *Pseudomonas aeruginosa*.

### 5.1.2 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang diperoleh dari penelitian pendahuluan sebelumnya. Konsentrasinya adalah 0%; 2,5%; 5,0%; 7,5%; 10%; dan 12,5%. 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 yang menandakan bahwa banyak bakteri yang tumbuh pada tabung tersebut.



**Gambar 5.4 Dilusi Tabung dengan Beberapa Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Kapulaga terhadap Pertumbuhan Bakteri *P.aeruginosa* untuk Uji KHM**

Keterangan : Dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, pertumbuhan bakteri semakin berkurang. Hal ini tampak dari tabung yang semakin jernih dibandingkan dengan KB. Pada penelitian ini diperoleh KHM pada konsentrasi 7,5%.

Gambar 5.4 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi tabung yang berisi campuran ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 0% (Kontrol Bakteri/ KP); 2,5%; 5,0%; 7,5%; 10%; dan 12,5%. Tabung diinkubasikan selama 18 - 24 jam kemudian dilihat tingkat kekeruhannya menggunakan kertas bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat di belakang tabung.

Hasil pengamatan pada tabung (Gambar 5.4) setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang diberikan, semakin sedikit bakteri *P.aeruginosa* yang tumbuh dan garis-garis hitam yang semakin jelas (bandingkan dengan tabung KP atau konsentrasi 0%).



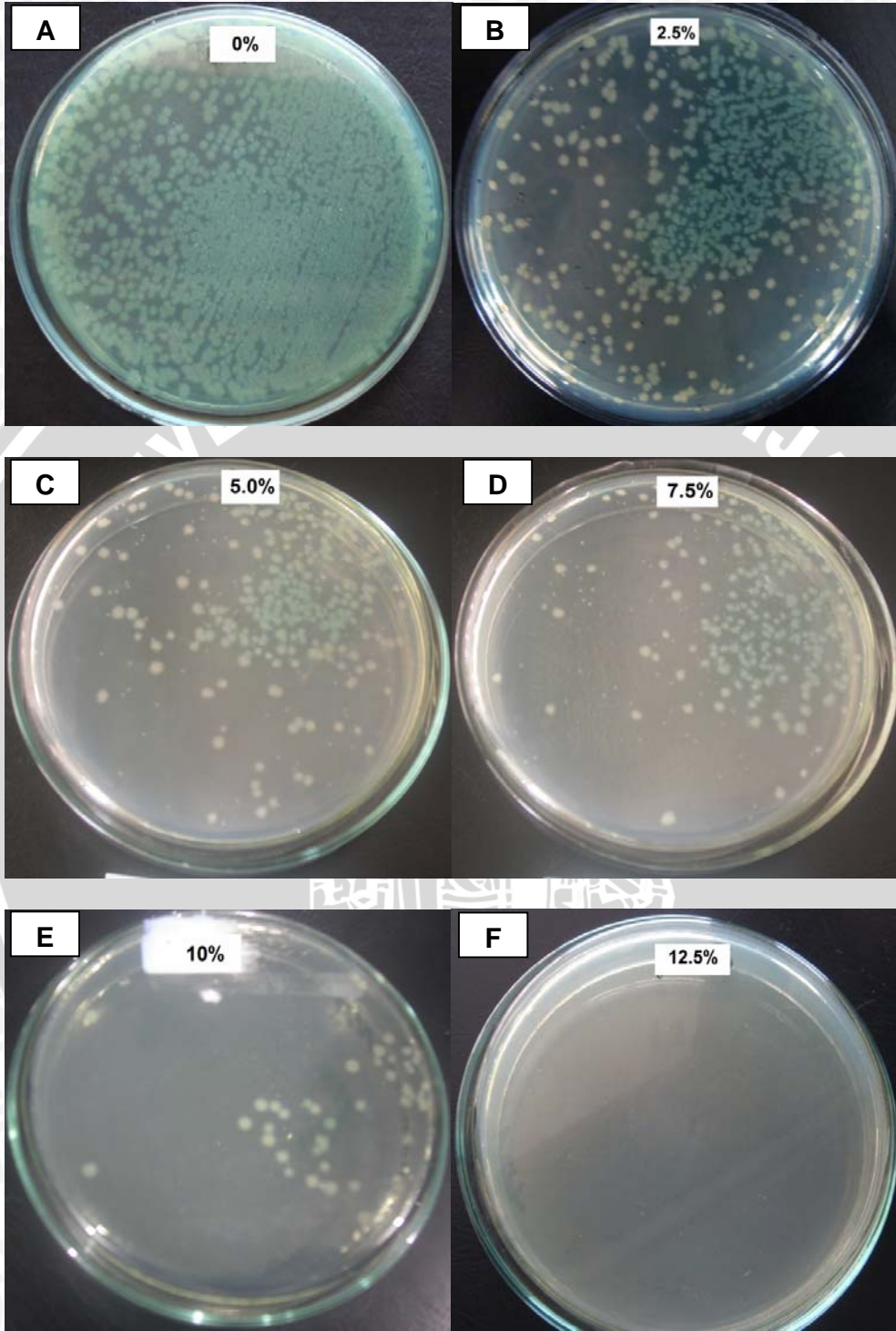
Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) sebagai antimikroba. Berdasarkan Gambar 5.4, penulis menetapkan konsentrasi 7,5% sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dapat dilihat dari mulai berkurangnya kekeruhan tabung dan garis-garis hitam mulai tampak.

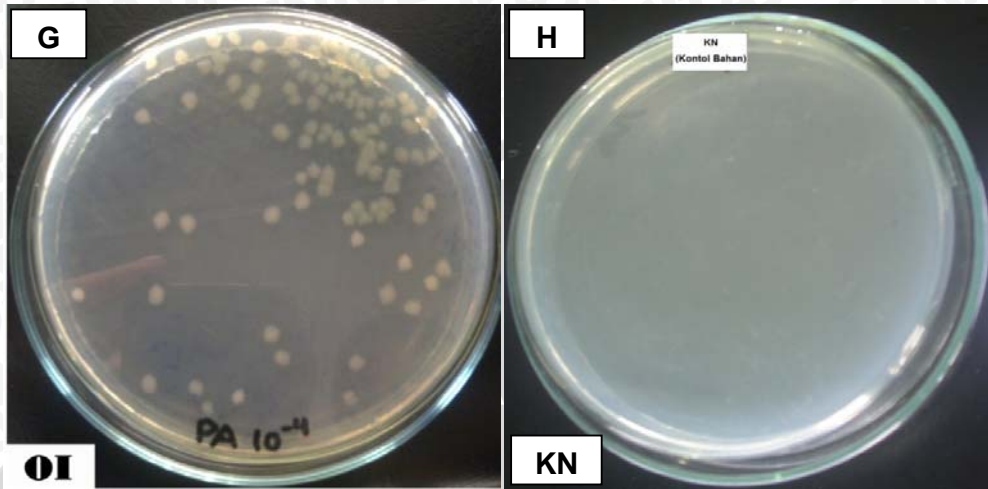
### 5.1.3 Hasil Penentuan KBM

Dari hasil uji dilusi tabung dilakukan inokulasi dengan metode *streaking* pada media NAP (*Natrium Agar Plate*) dan diinkubasi selama 18 – 24 jam dengan suhu 37°C untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM). Setelah diinkubasi dilakukan penghitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi dan pengulangan pada NAP dengan alat *colony counter*. Berikut tabel dan gambar hasil inokulasi pada masing-masing konsentrasi :

**Tabel 5.1 Jumlah Koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Kapulaga**

Konsentrasi	Jumlah Koloni ( $\times 10^3$ CFU/plate)					
	1	2	3	4	total	rata-rata
0% (KP)	678.24	791.28	734.76	642.90	2829.19	711.7975
2.5%	274	248	322	400	1244	311
5.0%	211	185	220	190	806	204.5
7.5%	162	172	168	105	607	151.75
10%	24	15	22	23	84	21
12.5%	0	0	0	0	0	0
100% (KN)	0	0	0	0	0	0

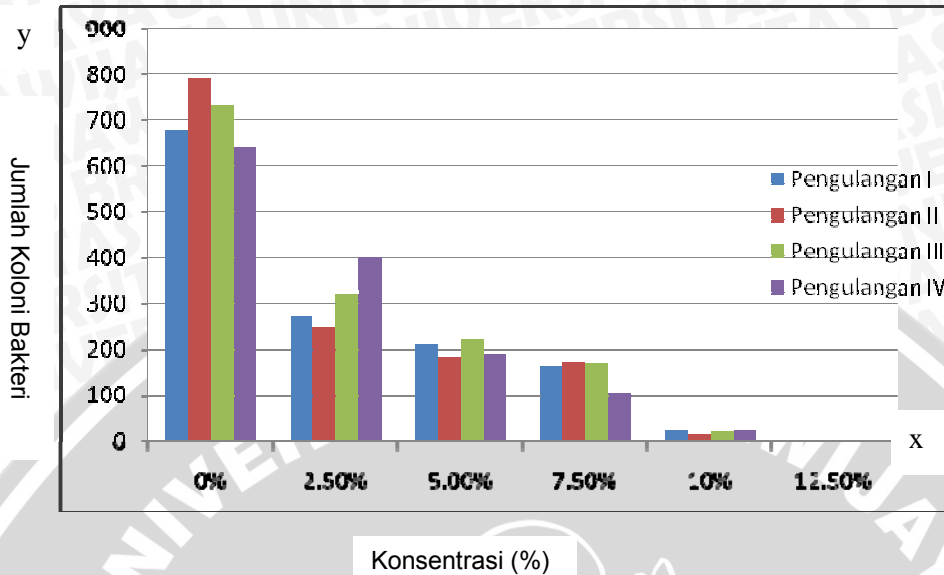




**Gambar 5.5 Hasil *Streaking Pseudomonas aeruginosa* pada Medium NAP untuk Uji KBM**

Keterangan : A : *P.aeruginosa* di goreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 0%. Tampak koloni yang tumbuh berupa bulatan kecil berwarna kehijauan yang tumbuh sangat banyak dan rapat; B : Pada konsentrasi 2,5% koloni bakteri lebih sedikit dibandingkan dengan konsentrasi 0%; C, D, E : konsentrasi 5,0%; 7,5%; dan 10%. Koloni bakteri tumbuh banyak pada konsentrasi 5,0% namun mulai berkurang pada konsentrasi 7,5% dan jauh berkurang pada konsentrasi 10%; F : Pada konsentrasi 12,5% bakteri sudah tidak tumbuh sama sekali dan *plate* bersih; G : *Original Inoculum* (OI) yang digoreskan pada *plate*, digunakan sebagai acuan dalam menghitung KBM; H : Kontrol Bahan (KN)

Berdasarkan Gambar 5.5 dan Tabel 5.1 diperoleh nilai KBM pada konsentrasi 12,5% dimana pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa* pada konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu  $< 0,1\%$  dari OI (*Original Inoculum* :  $108 \times 10^3$  CFU/*plate*). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Hal ini nampak lebih jelas pada gambar berikut:



**Gambar 5.6 Grafik Penurunan Jumlah Rata-Rata Koloni Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Kapulaga (*Amomum cardamomum*)**

Keterangan : dimulai dari Konsentrasi Rendah ke Konsentrasi Tinggi; y= jumlah koloni bakteri, x= perlakuan dengan ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*).

## 5.2 Analisis Data

Hasil Penelitian dianalisis dengan software SPSS versi 20.00 dan output hasil analisis dapat dilihat pada lembar lampiran. Adapun penjelasan dari hasil pengujian dapat dibahas sebagai berikut.

### 5.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

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 normal ( $p = 0,368$ ) dan berdasarkan hasil uji homogenitas, data tidak homogen ( $p = 0,003$ ). Sehingga data jumlah koloni bakteri tidak dapat dianalisis dengan uji beda parametrik *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 ( $p = 0,036$ ) dan distribusinya tidak normal (Kolmogorov-Smirnov,  $p = 0,028$ ). 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*.

### 5.2.2 Uji Beda Non Parametrik Kruskal Wallis

Sama halnya dengan uji beda parametrik *One Way Anova*, uji beda non parametrik Kruskal Wallis dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah terpapar oleh ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) 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 pada jumlah koloni bakteri *P.aeruginosa* setelah terpapar oleh ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) pada berbagai konsentrasi ( $p = 0,000$ ) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri.

**Tabel 5.2 Ringkasan Hasil Uji Kruskal Wallis**

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	jumlahkoloni
Chi-Square	22.498
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: konsentrasi

**5.2.3 Uji Multi Komparasi Non Parametrik Mann Whitney**

Uji perbandingan berganda (*multiple comparison*) Mann Whitney digunakan untuk melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Adapun ringkasan dari uji perbandingan berganda ini dapat dilihat pada Tabel 5.3 sebagai berikut :

**Tabel 5.3 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney**

P	0%	2.5%	5.0%	7.5%	10%	12.5%
0%		0.029	0.029	0.029	0.029	0.029
2.5%	0.029		0.029	0.029	0.029	0.029
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	

Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan (lihat tabel di atas,  $p < 0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*).

### 5.2.4 Uji Korelasi Non Parametrik Spearman

Uji korelasi non parametrik Spearman digunakan untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil Uji Korlasi Spearman dapat dilihat pada Tabel 5.4 sebagai berikut :

**Tabel 5.4 Ringkasan Hasil Uji Korelasi Spearman**

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

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

Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 5.4 diatas dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) sebagai antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ( $r = -0,989$ ;  $p = 0,000$ ) mempunyai hubungan yang signifikan karena  $p < 0,05$  dengan arah korelasi negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) cenderung akan menurunkan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan pada agar plate. Nilai korelasi sebesar  $-0,989$  dapat menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat antara pemberian ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) dan penurunan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. 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 ( $r > 0,799$ ).

### 5.2.5 Uji Regresi Linier

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 82,0% ( $0.820 \times 100\%$ ) dari variabel jumlah koloni bakteri, dalam hal ini koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dipengaruhi oleh variable independen yakni paparan ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*). Atau persamaan garis regresi menggunakan metode kuadrat terkecil (*least square method*) yang di dapat adalah :

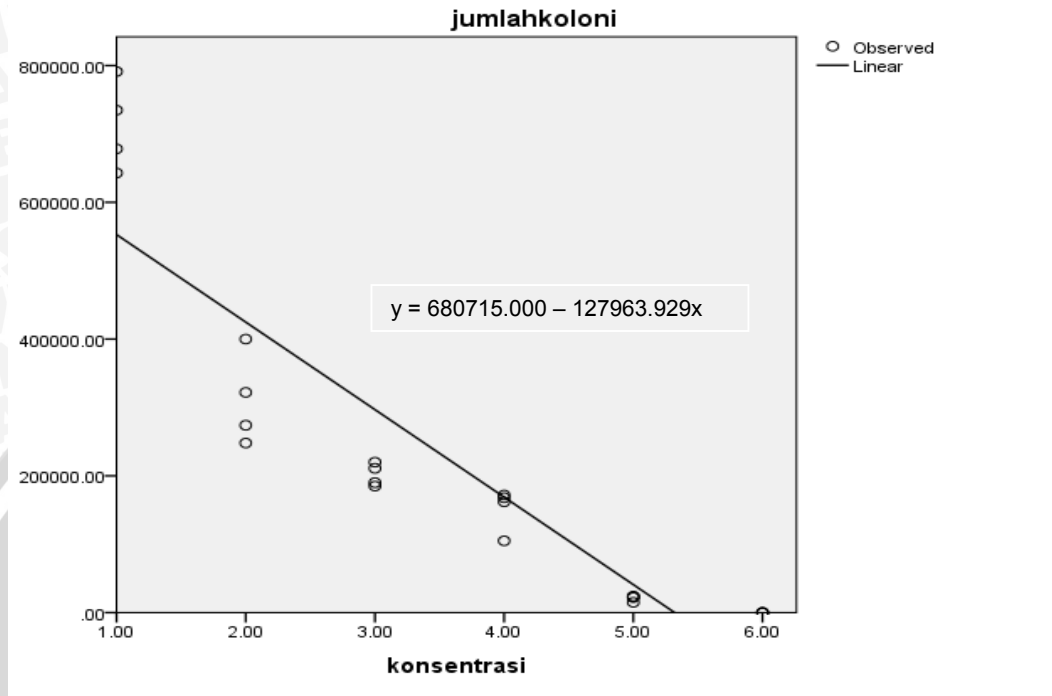
$$y = 680715,000 - 127963,929x$$

Keterangan :  $y$  = jumlah koloni bakteri

$X$  = perlakuan dengan ekstrak

Adapun bentuk kurva dari persamaan regresi di atas adalah sebagai berikut :





**Gambar 5.7 Kurva Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak Biji Buah Kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap Jumlah Koloni Bakteri *Pseudomonas aeruginosa***

## BAB 6

## PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Pemilihan biji buah kapulaga ini didasarkan karena banyaknya tanaman kapulaga yang tersedia di Indonesia namun banyak orang yang masih belum bisa memanfaatkan tanaman ini sebagai obat. Disamping itu, *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi nosokomial yang cukup banyak terutama di Indonesia.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*). Dengan metode ini dapat ditentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini, berasal dari *stock culture* bakteri yang disimpan di laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sampel bakteri diidentifikasi terlebih dahulu untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Beberapa tes identifikasi yang dilakukan adalah dengan inokulasi pada media MacConkey, pewarnaan gram, tes oksidase, dan tes *Microbact* 24E. Dari hasil beberapa tes yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah benar-benar merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan hasil ketepatan atau akurasi sebesar 87,29%.

Agar dapat memperoleh zat aktif yang terkandung dalam biji buah kapulaga dengan maksimal, maka proses ekstraksi menggunakan metode *maserasi* dengan pelarut etanol 96%. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut karena

zat aktif yang terkandung dalam biji buah kapulaga bersifat larut etanol. Namun efek antimikroba biji buah kapulaga terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diperkirakan bukan disebabkan oleh etanol karena etanol pada proses ekstraksi telah mengalami proses evaporasi (penguapan) dengan oven pada suhu 80° Celcius sehingga diharapkan dengan penguapan tersebut yang tersisa adalah ekstrak yang murni tanpa campuran etanol.

Sebelum mendapatkan konsentrasi perlakuan, penulis terlebih dahulu melakukan penelitian eksplorasi sebanyak empat tahap. Dari keempat tahap tersebut didapatkan konsentrasi 0%; 2,5%; 5,0%; 7,5%; 10%; dan 12,5% sebagai konsentrasi perlakuan. Pada keenam konsentrasi perlakuan didapatkan pertumbuhan koloni bakteri yang semakin berkurang secara signifikan dari konsentrasi 0% sampai 10% dan tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri sama sekali pada konsentrasi 12,5%.

Kadar Hambat Minimal (KHM) pada penelitian ini ditentukan dengan melihat tingkat kekeruhan pada tabung dari masing-masing konsentrasi perlakuan. Pada penelitian ini diperoleh KHM pada konsentrasi 7,5% dimana tingkat kekeruhan pada tabung mulai berkurang. Kemudian masing-masing tabung perlakuan diinokulasi pada medium NAP dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Setelah itu dilakukan penghitungan menggunakan *colony counter* terhadap bakteri yang tumbuh pada medium NAP dari masing-masing konsentrasi perlakuan. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media agar padat (NAP) dan juga ditandai dengan pertumbuhan koloni bakteri pada NAP < 0,1% dari *Original Inoculum* pada rata-rata jumlah koloni dari pengulangan 1, 2, 3, dan 4. Sedangkan *Original Inoculum* bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah 108.000

CFU/plate sehingga dapat ditentukan besar KBM adalah pada konsentrasi 12,5% (0,1% dari 108.000 adalah 108; konsentrasi ekstrak yang memenuhi adalah 12,5%) dimana pada konsentrasi tersebut sudah tidak didapatkan pertumbuhan bakteri.

Hasil dari penghitungan jumlah koloni bakteri ini kemudian dianalisis dengan software SPSS versi 20.00, menggunakan metode uji statistik *Kruskal Wallis*, Uji perbandingan berganda, Uji korelasi, dan Uji regresi. Dari uji *Kruskal Wallis*, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) antar perlakuan terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan analisis perbandingan berganda (*multiple comparisons*) *Mann Whitney*, didapatkan perbandingan yang menunjukkan perbedaan jumlah koloni bakteri yang bermakna ( $p < 0,05$ ) pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan.

Dari Uji korelasi *Spearman* didapatkan nilai signifikansi 0,000 dan koefisien korelasi -0,989 yang berarti pemberian ekstrak biji buah kapulaga mempunyai hubungan (korelasi) yang signifikan dengan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan arah korelasi negatif, artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga cenderung akan menurunkan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Kemudian dari Uji Regresi dapat diketahui seberapa besar pengaruh pemberian ekstrak biji buah kapulaga terhadap jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil persamaan regresi liniernya adalah  $Y = 680715,000 - 127963,929X$ , di mana Y adalah jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan pada medium NAP, sedangkan X adalah perlakuan pemberian ekstrak biji buah kapulaga. Nilai

koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang didapatkan sebesar 0,820 mempunyai arti bahwa kontribusi pemberian ekstrak biji buah kapulaga dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 82,0% sedangkan sisanya 18% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti (Dahlan, 2008).

Efek antimikroba biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diperkirakan diperankan oleh zat-zat aktif yang terkandung dalam biji buah kapulaga yaitu *terpenoid*, *saponin*, *flavonoida*, dan *polifenol*. *Terpenoid* akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya substansi akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri akan kekurangan nutrisi dan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. *Saponin* adalah senyawa aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis. *Flavonoid* merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma dan bersifat desinfektan dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti dan mengakibatkan kematian sel karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim yang merupakan protein. Mekanisme kerja senyawa *polifenol* yaitu sebagai *inhibitor* enzim oleh senyawa yang teroksidasi melalui interaksi non spesifik dengan protein sehingga dapat mendenaturasi sel dan merusak membran sel bakteri dan akhirnya menyebabkan kematian bakteri (Erwiyani, 2009).

Penelitian mengenai tanaman kapulaga (*Amomum cardamomum* Willd.) yang dilakukan oleh Wijayanti TEB (2012) menyebutkan bahwa buah kapulaga mengandung senyawa antioksidan diantaranya flavonoida, polifenol, dan saponin berguna untuk melawan radikal bebas. Uji aktivitas antioksidan kapulaga menggunakan metode TBA. Benar adanya dugaan bahwa di dalam buah kapulaga terdapat aktivitas antioksidan dibuktikan dengan konsentrasi inhibisi (IC50) buah kapulaga sebesar 3,6 mg/ml dibandingkan dengan asam askorbat sebesar 18,5 mg/ml. Semakin besar nilai IC50, maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal yang lebih baik, sehingga aktivitas antioksidan buah kapulaga lebih tinggi dibanding asam askorbat. Hal ini menunjukkan bahwa potensi buah kapulaga tidak hanya bermanfaat untuk senyawa antimikroba yang penulis teliti, namun juga berpotensi untuk menangkap radikal bebas.

Selain itu, penelitian lain dilakukan oleh Candra Aditiarso (2011) tentang uji efektivitas ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Daun pandan wangi mengandung bahan-bahan antimikroba diantaranya alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan polifenol yang mirip dengan bahan-bahan antimikroba yang dikandung oleh biji buah kapulaga. Pada penelitian ini didapatkan Kadar Hambat Minimal (KHM) pada konsentrasi 16% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) pada konsentrasi 18%. Sedangkan untuk ekstrak biji buah kapulaga sendiri mempunyai kemampuan Kadar Hambat Minimal (KHM) pada konsentrasi yang lebih rendah yaitu 7,5% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) pada konsentrasi 12,5% terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Hal tersebut terjadi kemungkinan karena adanya kandungan bahan dalam daun pandan wangi yang menghambat potensi bahan

lain sehingga ekstrak biji buah kapulaga lebih efektif karena bahan-bahan yang dikandungnya saling mendukung kerja satu sama lain (efek synergisme) dan menghasilkan efek hambat dan bunuh yang lebih rendah konsentrasinya daripada ekstrak daun pandan wangi.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis yang dikhususkan pada biji buah kapulaga, didapatkan bahwa ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) dengan kandungan bahan aktif terpenoid, saponin, flavonoid, dan polifenol mempunyai efek antimikroba yang cukup kuat terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini makin diperkuat dengan adanya bukti – bukti tentang penelitian terkait yang telah dilakukan sebelumnya. Hasil validitas internal penelitian tinggi menunjukkan hubungan yang kuat antar variabel saat dilakukan uji statistik.

Dengan melihat fakta hasil penelitian bahwa adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan data kandungan bahan aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak biji buah kapulaga terbukti efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesa yang telah disusun sebelumnya adalah benar.

Keterbatasan penelitian ini antara lain pada metode pembuatan ekstrak biji buah kapulaga yang bersifat sederhana sehingga proporsi jumlah bahan aktif yang terkandung didalamnya juga tidak diketahui secara pasti. Selain itu, tidak adanya standardisasi pembuatan ekstrak bahan alam mengakibatkan adanya kemungkinan apabila dilakukan di laboratorium yang berbeda, maka ekstrak yang dihasilkan memiliki efek yang berbeda pula. Kemungkinan yang lain adalah

adanya variasi biologis dari masing-masing biji buah kapulaga yang ditanam di suatu daerah mungkin memiliki efek yang tidak sama dengan yang ditanam di daerah lainnya. Faktor lain yang mempengaruhi adalah lamanya penyimpanan. Semakin lama disimpan, sensitivitas ekstrak kemungkinan efek antimikrobanya dapat menurun ataupun meningkat. Disamping itu ketersediaan sumber cahaya yang cukup saat pengambilan gambar atau foto pada tabung dan plate merupakan salah satu hal penting yang perlu diperhatikan. Sebaiknya disediakan tempat khusus yang memiliki pencahayaan yang bagus untuk pengambilan gambar tabung dan plate eksperimen sehingga kualitas gambar yang dihasilkan baik dan tidak membingungkan pembaca. Oleh karena itu, untuk penelitian - penelitian selanjutnya perlu adanya standarisasi, baik dari pemilihan bahan yang digunakan (biji buah kapulaga), alat ekstraksi, lamanya masa simpan (jangka waktu ekstrak masih dapat digunakan sebagai antimikroba) serta pencahayaan saat pengambilan gambar hasil percobaan sehingga apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama.

Aplikasi klinis yang memungkinkan dari penelitian ini adalah penggunaan ekstrak biji buah kapulaga secara oral untuk pengobatan infeksi akibat *Pseudomonas aeruginosa*. Sedangkan untuk penggunaan secara sistemik, masih memerlukan penelitian lebih lanjut dengan pengujian pada hewan coba (*In vivo*) maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Sebelum calon obat baru dicobakan pada manusia, dibutuhkan waktu untuk meneliti sifat farmakodinamik, farmakokinetik, dan efek toksiknya pada hewan coba (secara *In vivo*). Dalam studi farmakodinamik ini tercakup pengembangan teknik analisis untuk mengukur kadar senyawa tersebut dan metabolitnya dalam cairan biologis. Semuanya diperlukan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil resiko penelitian



pada manusia. Studi toksikologi pada hewan umumnya dilakukan 3 tahap yaitu penelitian toksisitas akut bertujuan mencari dosis tunggal yang membunuh 50% sekelompok hewan coba (Lethal Dose 50), penelitian toksisitas jangka panjang bertujuan meneliti efek toksisitas khusus meliputi penelitian terhadap system reproduksi termasuk teratogenitas, uji karsinogen dan uji mutagenesis, serta uji fase I sampai IV. Pada dasarnya uji klinik tersebut bertujuan untuk memastikan keamanan dan gambaran efek samping yang sering timbul pada manusia akibat pemberian suatu obat (Setiawati, 2007), dalam hal ini adalah obat yang berasal dari kandungan zat pada biji buah kapulaga.



## BAB 7

## PENUTUP

## 7.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) maka semakin rendah tingkat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 7,5%.
4. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) yang dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 12,5%.

## 7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui prosentase masing-masing bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*).
2. Diharapkan dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) pada bakteri lain.

3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat efektivitas ekstrak biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) secara *in vivo* (pada hewan coba dan uji klinik) sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain, misalnya dengan cara dekok ataupun perasan untuk mengetahui kemampuan biji buah kapulaga (*Amomum cardamomum*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aditiarso, Candra. 2011. Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang : Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Amelia. 2002. *Fito-kimia Komponen Ajaib Cegah PJK, DM dan Kanker*. Puslitbang Gizi Bogor. (online). <http://www.kimianet.lipi.go.id/utama.cgi?artikel&1100397943&2>. Diakses pada 11 Desember 2011. Pukul 22.00 WIB.
- Arsyi, I.A. 2008. Uji aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Dan Arbenan (*Duchesnea Indica* Andr.Focke) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas Aeruginosa* Multiresisten Antibiotik beserta Profil Kromatografi Lapisan Tipisnya. (online). <http://etd.eprints.ums.ac.id/1517/1/K100040115.pdf>. Diakses pada 10 Desember 2011. Pukul 22.00 WIB.
- Bayu, N.I. 2007. Efek Antimikroba Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang : Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Berger, Juergen. 2010. Pictures of *Pseudomonas aeruginosa* SEM. (online). [http://www.sciencephoto.com/image/11561/350wm/B2200983Pseudomonas\\_aeruginosa\\_bacteria-SPL.jpg](http://www.sciencephoto.com/image/11561/350wm/B2200983Pseudomonas_aeruginosa_bacteria-SPL.jpg). Diakses pada Desember 2011. Pukul 22.00 WIB
- Bigham, A. K., Munro, A. T., Rizzacasa, M. A., Roy, M., and Browne, R. 2003. *Divinatorins A-c, New Neoclerodane Diterpenoid from the controlled sage Silvia divinorum*. Melbourn University. Victoria. 3010. Australia.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., Morse, S.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Buku 1*. 22<sup>nd</sup> Ed. Terjemahan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Cowman, M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, (Online), 12(4): 564-582. <http://www.pubmedcentral.com>. Diakses pada 11 Desember 2011. Pukul 19.00 WIB.
- Dalimartha, S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta: Penerbit Trubus Agriwidya.
- Dahlan, M. S. 2008. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.

- De Padua, L.S., N. Bunyaphatsara & R.H.M.S. Lemmens.1999. Plant Resources of South East Asia. Medical and Poisonous Plants. Printed in Bogor Indonesia (PROSEA). Leiden, the Netherlands : Backhuys Publishers. Hal 36.
- Dinata, C.S. 2008. Pemisahan Minyak Atsiri Buah Kapulaga (*Amomum Cardamomum*) Secara Kromatografi Lapis Tipis Dan Aktivitasnya Terhadap *Malassezia furfur* In Vitro. (online). <http://eprints.undip.ac.id/24395/1/Cipta.pdf>. Diakses pada 6 Desember 2011. Pukul 20.00 WIB.
- Dorland. 1998. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. 25<sup>th</sup> Ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Dzen, S.M., Roekistiningsih, Santoso, S., Winarsih, S. 2003. *Bakteriologi Medik*. 1<sup>st</sup> Ed. Malang: Bayumedia Publishing.
- Erwiyani, Agitya Resti. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Ceremai (*Phyllanthus Acidus* (L.) Skeels) terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* dan Bioautografinya*. Skripsi Thesis tidak diterbitkan. Surakarta: Univerversitas Muhammadiyah Surakarta.
- Falah, R.N. 2008. *Budidaya Kapulaga*. (online). [http://www2.bbpp-lembang.info/index.php?option=com\\_content&view=article&id=246&Itemid=304](http://www2.bbpp-lembang.info/index.php?option=com_content&view=article&id=246&Itemid=304). Diakses pada 6 Desember 2011. Pukul 21.00 WIB.
- Gibson. 1996. *Infectious disease*. (online). <http://cid.oxfordjournals.org/content/33/3/289.full>. Diakses pada 2 Desember 2011. Pukul 18.00 WIB.
- Grayson, D. H., 2000, *Monoterpenoid*. University Chemical Laboratory. Trinity College. Dublin 2. Ireland.
- Gunawan. 2008. *Antibakteri pada herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn)*. Jurnal Kimia. Vol II (22), hal. 31-39. (online). Diakses pada 14 Desember 2011. Pukul 23.00 WIB.
- Hemawati, R. 2009. *Ragam Manfaat Kapulaga*. (online). <http://www.mediaindonesia.com/mediahidupsehat/index.php/read/2009/08/07/1466/9/Ragam-Manfaat-Kapulaga>. Diakses pada 3 Desember 2011. Pukul 19.00 WIB.
- Hermanto, Ade. 2007. *Hubungan Tingkat Pengetahuan Dan Sikap Dengan Praktek Perawat Dalam Pencegahan Infeksi Nosokomial Pada Pasien Pasca Operasi Di Rumah Perawatan Bedah RSUD Dr.Achmad Diponegoro Putussibau*. (online). <http://eprints.undip.ac.id/20192/1/3060.pdf>. Diakses pada 2 Desember 2011. Pukul 18.30 WIB.
- Hieronymus B.S. 1989. *Kapulaga*. Yogyakarta: Penerbit Kanisus.

Kumala, Lusia R.S. 2006. *Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat Dan Keamanannya.* [jurnal.farmasi.ui.ac.id/pdf/2006/v03n01/lusia0301.pdf](http://jurnal.farmasi.ui.ac.id/pdf/2006/v03n01/lusia0301.pdf). Diakses pada 2 Desember 2011. Pukul 18.45 WIB.

Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoida Dan Steroida.* (online). <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/1860/1/06003488.pdf>. Diakses pada 7 Desember 2011. Pukul 22.00 WIB.

Lubis, Chairuddin P. 2003. *Infeksi Nosokomial Pada Neonatus.* (online). <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/2006/1/anak-chairuddin3.pdf>. Diakses pada 2 Desember 2011. Pukul 18.15 WIB.

Lukito H. 1998. *Rancangan Percobaan Suatu Pengantar*, Malang: Penerbit IKIP

Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.* Terjemahan oleh Kosasih Patmawinata. Bandung: Penerbit ITB.

NCBI. 2011. *Taxonomy of Pseudomonas aeruginosa.* (online). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=287>. Diakses pada 14 Desember 2011. Pukul 23.45 WIB.

Nio, Oey Kam. 1989. *Zat-Zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati.* *Cermin Dunia Kedokteran*: Vol. 58: 24.

Nuraini, A.S. 2010. *Bumbu Nusantrara.* (online). [http://file.upi.edu/Direktori/FPTK/JUR.\\_PEND.\\_KESEJAHTERAAN\\_KE-LUARGA/196002251988032-ATAT\\_SITI\\_NURANI/Bumbu\\_nusantara\\_1.pdf](http://file.upi.edu/Direktori/FPTK/JUR._PEND._KESEJAHTERAAN_KE-LUARGA/196002251988032-ATAT_SITI_NURANI/Bumbu_nusantara_1.pdf). Diakses pada 11 Desember 2011. Pukul 22.30 WIB.

Novyta, Ties. 2009. *Manfaat Kapulaga.* (online). <http://tiesnovyta.multiply.com/>. Diakses pada 22 Desember 2011. Pukul 22.00 WIB.

Pelczar, M.J dan Chan E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 1. Terjemahan oleh Hadioetomo, R.S. dkk. Jakarta: UI Press.

Rohyami, Y. 2008. *Penentuan Kandungan Flavonoid Dari Ekstrak Methanol Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria Macocarpa Scheff Boerl).* (online). <http://data.dppm.uui.ac.id/jurnal/uploads/I050101%20Yuli.pdf>. Diakses pada 9 Desember 2011. Pukul 23.00 WIB.

Santoso, S. 2008. *Buku Statistik Multivariat.* Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo.

Setiawati A, Suyatna FD, Gan S. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5 Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.* Jakarta : Penerbit Gaya Baru. Hal. 24-25.

- Sinaga, E. 2004. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tumbuhan Obat UNAS/ P3TO UNAS Amomum Cardamomum Willd. (Online). [http://kambing.ui.ac.id/bebas/v12/artikel/ttg\\_tanaman\\_obat/unas/Kapulaga.pdf](http://kambing.ui.ac.id/bebas/v12/artikel/ttg_tanaman_obat/unas/Kapulaga.pdf). Diakses pada 7 Desember 2011. Pukul 21.30 WIB.
- Siswandono. Soekarjo, B. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press. Surabaya. hlm 257-259. (online). <http://isjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/72096168.pdf>. Diakses pada 14 Desember 2011. Pukul 22.00 WIB.
- Suharti, S. 2007. *Pemanfaatan IPTEK Untuk Kesejahteraan Masyarakat*. (online). [http://library.forda-mof.org/libforda/data\\_pdf/2526.pdf](http://library.forda-mof.org/libforda/data_pdf/2526.pdf). Diakses pada 2 Desember 2011. Pukul 18.40 WIB.
- Sujudi. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Sukri, Y., Saepudin. 2000. *Aktivitas Penghambatan Kejadian Kanker Ekstrak Ethanol Buah Mahkota Dewa (Phaleria Marcocapra Boerl.) pada Mencit yang Diinduksi 7,12-Dimetibenz(A)Antrase*. (online). <http://isjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/51081014.pdf>. Diakses pada 14 Desember 2011. Pukul 22.30 WIB.
- Todar, Kenneth. 2005. *Pseudomonas aeruginosa*. USA: University of Wisconsin-Madison Departement of Bacteriology.
- Trease, G. E., and Evans., 1978. W. C. *Pharmacognocy*. Bailer Tindal. London. 402 404.
- Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., Iinuma, M. 1996. Comparative Study on the Antibacterial Activity of Phytochemical Flavones against MRSA. *J. Ethnopharmacol*, (Online), 50(1), p. 27-34. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses pada 10 Desember 2011. Pukul 20.30 WIB.
- Volk.W.A and M.F Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Terjemahan oleh Markham. Jakarta: PT. Gelora Aksara Pratama.
- Wijayanti TEB. 2012. Etnobotani Buah Kapulaga (Amomum Cardamomum Willd.) Yang Dimanfaatkan Oleh Masyarakat Di Desa Kaliwuluh Kecamatan Bawang Kabupaten Banjarnegara. (online). <http://bio.unsoed.ac.id/en/1570-etnobotani-buah-kapulaga-amomum-cardamomum-willd-dimanfaatkan-oleh-masyarakat-di-desa-kaliwuluh>. Diakses pada 17 November 2012. Pukul 19.00 WIB.

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ruri Istifarini

NIM : 0910711018

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, 30 November 2012

Yang membuat pernyataan,

Ruri Istifarini

0910711018



**Lampiran 1 : Uji Normalitas dan Uji Homogenitas**

1. Uji Normalitas Sebelum Transformasi

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		konsentrasi	jumlahkoloni
N		24	24
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.5000	232841.2500
	Std. Deviation	1.74456	246592.33361
Most Extreme Differences	Absolute	.138	.187
	Positive	.138	.187
	Negative	-.138	-.173
Kolmogorov-Smirnov Z		.678	.918
Asymp. Sig. (2-tailed)		.748	.368

a. Test distribution is Normal.

Uji Normalitas Setelah Transformasi

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		konsentrasi	koloni
N		24	24
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.5000	4.3546
	Std. Deviation	1.74456	2.04618
Most Extreme Differences	Absolute	.138	.299
	Positive	.138	.225
	Negative	-.138	-.299
Kolmogorov-Smirnov Z		.678	1.463
Asymp. Sig. (2-tailed)		.748	.028

a. Test distribution is Normal.

2. Uji Homogenitas Varian Sebelum Transformasi

**Test of Homogeneity of Variances**

jumlahkoloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.658	5	18	.003

Uji Homogenitas Varian Setelah Transformasi

Test of Homogeneity of Variances

Koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.056	5	18	.036

Descriptives

jumlahkoloni

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					0%	4		
2.5%	4	311000.0000	66783.23143	33391.61571	204732.9759	417267.0241	248000.00	400000.00
5%	4	201500.0000	16703.29309	8351.64654	174921.3333	228078.6667	185000.00	220000.00
7.5%	4	151750.0000	31436.44382	15718.22191	101727.6028	201772.3972	105000.00	172000.00
10%	4	21000.0000	4082.48290	2041.24145	14503.8587	27496.1413	15000.00	24000.00
12.5%	4	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	24	232841.2500	246592.33361	50335.44932	128714.4397	336968.0603	.00	791280.00



Lampiran 2 : Uji Beda Non Parametrik Kruskal Wallis

Ranks			
	konsentrasi	N	Mean Rank
	0%	4	22.50
	2.5%	4	18.50
	5%	4	14.50
jumlahkoloni	7.5%	4	10.50
	10%	4	6.50
	12.5%	4	2.50
	Total	24	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	jumlahkoloni
Chi-Square	22.498
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

konsentrasi



Lampiran 3 : Uji Multi Komparasi Non Parametrik Mann Whitney

Mann-Whitney Test

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	2.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlahkoloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309

Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	7.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlahkoloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309

Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

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

**Mann-Whitney Test**

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

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

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	2.5%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlahkoloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309

Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	2.5%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	7.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	2.5%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlahkoloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309

Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	2.5%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	12.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	5%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	7.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlahkoloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309



Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	5%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	5%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	12.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlahkoloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460

Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

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

**Mann-Whitney Test**

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	7.5%	4	6.50	26.00
jumlahkoloni	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

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

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

**Mann-Whitney Test**

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

Test Statistics <sup>a</sup>	
	jumlahkoloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460

Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

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

**Mann-Whitney Test**

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

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

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



Lampiran 4 : Uji Korelasi Non Parametrik Spearman

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

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



Lampiran 5 : Uji Regresi Linier

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.905 <sup>a</sup>	.820	.811	107099.19484

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

ANOVA<sup>a</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1146233691080.357	1	1146233691080.357	99.931	.000 <sup>b</sup>
	Residual	252345225782.143	22	11470237535.552		
	Total	1398578916862.500	23			

a. Dependent Variable: jumlahkoloni

b. Predictors: (Constant), konsentrasi

Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	680715.000	49851.962		13.655	.000
	konsentrasi	-127963.929	12800.802	-.905	-9.997	.000

a. Dependent Variable: jumlahkoloni

