

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK METANOL DAUN PARE (*Momordica charantia* L.) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *Shigella flexneri* SECARA IN VITRO

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :

Ira Maya Yudhaningtyas

NIM : 0910714037

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

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK METANOL DAUN PARE (*Momordica charantia* L.) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *Shigella flexneri* SECARA *IN VITRO*

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :

Ira Maya Yudhaningtyas

NIM : 0910714037

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

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK METANOL DAUN PARE (*Momordica charantia* L.) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *Shigella flexneri* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

Ira Maya Yudhaningtyas

0910714037

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 20 Desember 2012

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Soemardini Mpd
NIP. 110446417

Penguji II

Penguji III

Prof.Dr.dr.Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK
NIP. 19501110 1980021 001

Husnul K. Ssi. M.Kes
NIP. 19751125 200501 2 001

Mengetahui :

Ketua Program Studi

Prof.Dr.dr.Teguh Wahyu S., DTM&H., MSc., Sp.Par(K)
NIP. 195204101980021001

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur bagi Allah SWT atas segala rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* L.) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri *Shigella flexneri* secara *in vitro*”

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

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

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

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

3. Ibu Husnul K. Ssi. M,Kes. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan dukungan sehingga TA ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. dr. Soemardini, MPd selaku dosen penguji atas saran dan kritik yang telah diberikan sehingga dapat menyempurnakan TA ini.
5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, dr. Soemardini, MPd. dan Dra. Sri Winarsih, Apt. Msi yang telah memberikan banyak informasi, bantuan, dan dukungan.
6. Yang tersayang, Ayahanda Letkol Cpl Suranto, Ibunda Rusmini Amd.Keb, kakakku Delynda Sari Novianti Amd.Keb , kakak iparku Kapten Caj Sigit Aspriyanto S.E, Adik-adikku Sertar Inf. Rizki Akbar Ganianto, dan Ayu Febrianti yang telah memberikan dukungan, doa, perhatian, dan semangat yang tidak pernah berhenti dalam bentuk moril maupun materi sehingga TA ini berjalan lancar.
7. Yang terkasih, M. Januar Alimin S.E dan keluarga yang tiada hentinya memberikan dukungan, doa, perhatian serta semangat selama proses pembuatan TA ini.
8. Sahabatku ijem'z tersayang Ruri Istifarini, Ashas Paripurna, Rindu Rahmatika, Andita Gustria, Fairuz Alboneh, dan Nani Maryani atas segala kebersamaan, bantuan, dorongan, saran, dan kritik selama proses pembuatan TA ini.
9. Teman-teman jurusan Pendidikan Dokter angkatan 2009 khususnya pendidikan dokter B 2009 atas dukungannya selama ini.

10. Adik-adik kostku tersayang Bella, Yasmin, Tia, Luki, dan Trisya atas dukungannya selama ini.

11. Segenap staf Laboratorium Mikrobiologi, terutama Mas Slamet, Bu Yati, dan Mba Uci yang telah banyak memberikan informasi dan bantuan dalam proses penelitian TA ini.

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

Malang, Desember 2012

Penulis



ABSTRAK

Yudhaningtyas, I.M. 2012. *Uji Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Pare (Momordica charantia L.) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri Shigella flexneri secara in Vitro*. Tugas akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Prof.Dr.dr.Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK. (2) Husnul K. Ssi, M.Kes.

Shigella flexneri adalah salah satu patogen penyebab disentri pada anak maupun dewasa. *Shigella flexneri* cepat menjadi resisten terhadap banyak obat antimikroba sehingga menimbulkan masalah terapi yang sulit. Salah satu alternatif terapi adalah dengan bahan alami, yaitu daun pare (*Momordica charantia L.*). Kandungan aktif daun pare yang diduga bermanfaat sebagai antimikroba adalah flavonoid, saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antimikroba ekstrak daun pare (*Momordica charantia L.*) terhadap *Shigella flexneri*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris murni dengan *post test only control group design*, menggunakan metode dilusi tabung. Konsentrasi ekstrak metanol daun pare yang digunakan yaitu 0%, 15%, 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5% dengan empat kali pengulangan. Ekstrak daun pare (*Momordica charantia L.*) secara signifikan dapat menghambat pertumbuhan *Shigella flexneri* ($p < 0.05$) dan terdapat hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak daun pare dengan penurunan jumlah pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*. Dari studi ini didapatkan KHM sebesar 17.5% dan KBM 20% serta dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pare (*Momordica charantia L.*) memiliki potensi antimikroba terhadap *Shigella flexneri* secara *in vitro*.

Kata kunci : daun pare (*Momordica charantia L.*), antimikroba, *Shigella flexneri*.

ABSTRACT

Yudhaningtyas, I.M. 2012. Test the Effectiveness Leaf of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Extract Metanol as an Antimicrobial Againsts *Shigella flexneri* In Vitro. Final Assignment, Medical Program, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof.Dr.dr.Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK. (2) Husnul K. Ssi, M.Kes.

Shigella flexneri is one of the bacteria that cause dysentery especially an children and adults. *Shigella flexneri* is quickly becoming resistant to many antimicrobial drugs and lead to a difficult therapeutic problems. One natural alternative therapy that can be used is bitter melon leaf (*Momordica charantia* L.). The active compositions leaf of bitter melon (*Momordica charantia* L.) which useful as antimicrobial are flavonoid, saponin, alkaloid and triterpenoid. The aim of this study was to determine the potential effect leaf of bitter melon (*Momordica charantia* L.) extract on the growth of bacteria *Shigella flexneri* in vitro. This study is an experimental research laboratory using post test only control group design, using tube dilution method. Concentration of the extract metanol were 0%, 15%, 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, and 27.5% with four repetitions. The extract of bitter melon leaf significantly inhibits the growth of *Shigella flexneri* ($p < 0.05$) and there is a relationship between the increasing concentrations of extract leaf of bitter melon (*Momordica charantia* L.) with reducing number of bacteria growth of *Shigella flexneri*. The result shared, that the MIC and MBC were 17.5% and 20% respectively are effective doses it can be concluded that extract leaf of bitter melon (*Momordica charantia* L.) has antimicrobial effects on *Shigella flexneri* in vitro.

Keywords: leaf of bitter melon (*Momordica charantia* L.), antimicrobial, *Shigella flexneri*.

DAFTAR ISI

Halaman

Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Gambar	xiv
Daftar Tabel	xv
Daftar Lampiran	xvi
Daftar Singkatan	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan umum.....	4
1.3.2 Tujuan khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademis.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman pare (<i>Momordica Charantia</i> L.)	6
2.1.1 Taksonomi	7

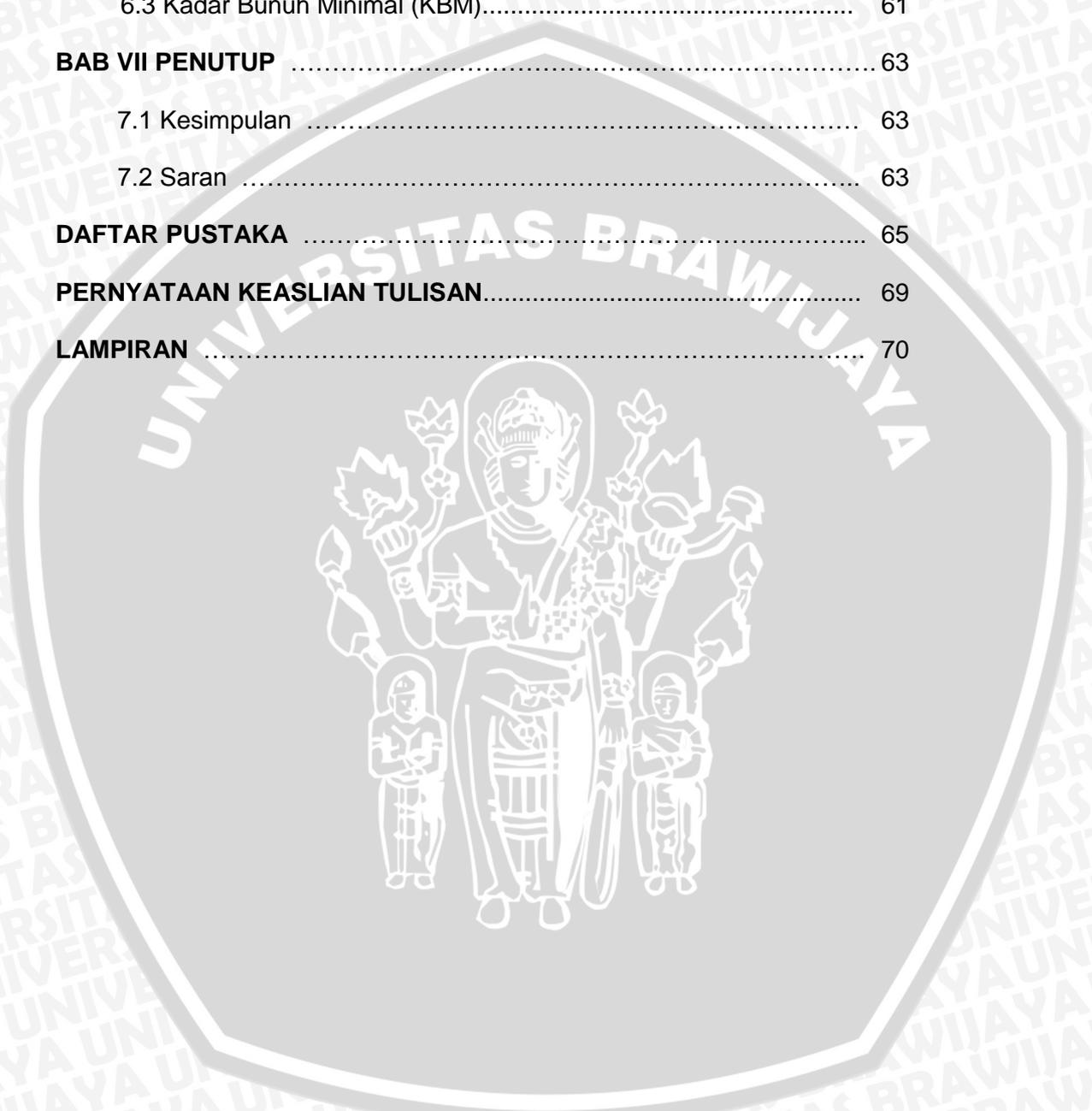


2.1.2 Morfologi dan Identifikasi.....	7
2.1.3 Kandungan Tanaman Pare	8
2.1.3.1 Flavonoid.....	9
2.1.3.2 Alkaloid.....	10
2.1.3.3 Triterpenoid.....	11
2.1.3.4 Saponin.....	12
2.1.4 Manfaat Tanaman Pare	13
2.2 Bakteri <i>Shigella flexneri</i>	14
2.2.1 Taksonomi	14
2.2.2 Morfologi dan Identifikasi	14
2.2.3 Struktur Antigenik	15
2.2.4 Daya Tahan Bakteri	15
2.2.5 Penentu Patogenesitas.	16
2.2.5.1 Faktor Permukaan.....	16
2.2.5.2 Daya Invasi.....	17
2.2.5.3 Toksin.....	17
2.2.6 Manifestasi Klinis.....	18
2.2.6.1 Epidemiologi.....	18
2.2.6.2 Patogenitas dan Patologi.....	19
2.3 Diagnosa Laboratorium.....	20
2.3.1 Spesimen.....	20
2.3.2 Kultur.....	21
2.3.3 Serologi.....	21
2.3.4 Terapi.....	21
2.3.5 Pencegahan dan Kontrol.....	22

2.4 Antimikroba.....	23
2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	23
2.5.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel.....	23
2.5.2 Merusak Membran Sel.....	24
2.5.3 Menghambat Sintesis Protein.....	24
2.5.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat.....	25
2.5.5 Antagonis Metabolit.....	25
2.6 Resistensi <i>Shigella</i> terhadap Obat.....	26
2.7 Uji Kepekaan terhadap Antimikroba secara <i>In Vitro</i>	26
2.7.1 Metode Dilusi Tabung.....	26
2.7.2 Metode Difusi Cakram.....	27
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	29
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	29
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep	30
3.2.1 Tanaman Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	30
3.2.2 Mekanisme penghambatan pertumbuhan Bakteri dari bahan Antimikroba.....	30
3.3 Hipotesis Penelitian	31
BAB IV METODE PENELITIAN.....	32
4.1 Rancangan Penelitian	32
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	32
4.3 Sampel Penelitian.....	32
4.4 Pengulangan	33
4.5 Variabel Penelitian	33
4.5.1 Variabel Bebas.....	33

4.5.2 Variabel Tergantung.....	33
4.6 Definisi Operational	34
4.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	35
4.7.1 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Daun Pare.....	35
4.7.2 Alat dan Bahan untuk Kultur Bakteri.....	36
4.7.3 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan Gram.....	36
4.7.4 Alat dan Bahan untuk Dilusi Tabung.....	37
4.8 Prosedur Penelitian	38
4.8.1 Identifikasi Bakteri.....	38
4.8.2 Pembuatan Ekstrak Daun Pare.....	42
4.8.3 Uji Sensitivitas Antimikroba.....	43
4.8.4 Alur Kerja Penelitian.....	46
4.9 Analisis Data	47
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	48
5.1 Data Hasil Penelitian	48
5.1.1 Identifikasi Bakteri <i>Shigella flexneri</i>	48
5.1.2 Hasil Penentuan KHM	49
5.1.3 Hasil Penentuan KBM.....	51
5.2 Analisis Data	53
5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas	54
5.2.2 Uji Kruskal-Wallis	54
5.2.3 Uji Mann Whitney	55
5.2.4 Uji Korelasi Spearman	55
5.2.5 Uji Regresi Linier	56
BAB VI PEMBAHASAN	57

6.1 <i>Shigella flexneri</i>	57
6.2 Kadar Hambat Minimal (KHM).....	57
6.3 Kadar Bunuh Minimal (KBM).....	61
BAB VII PENUTUP	63
7.1 Kesimpulan	63
7.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	65
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	69
LAMPIRAN	70

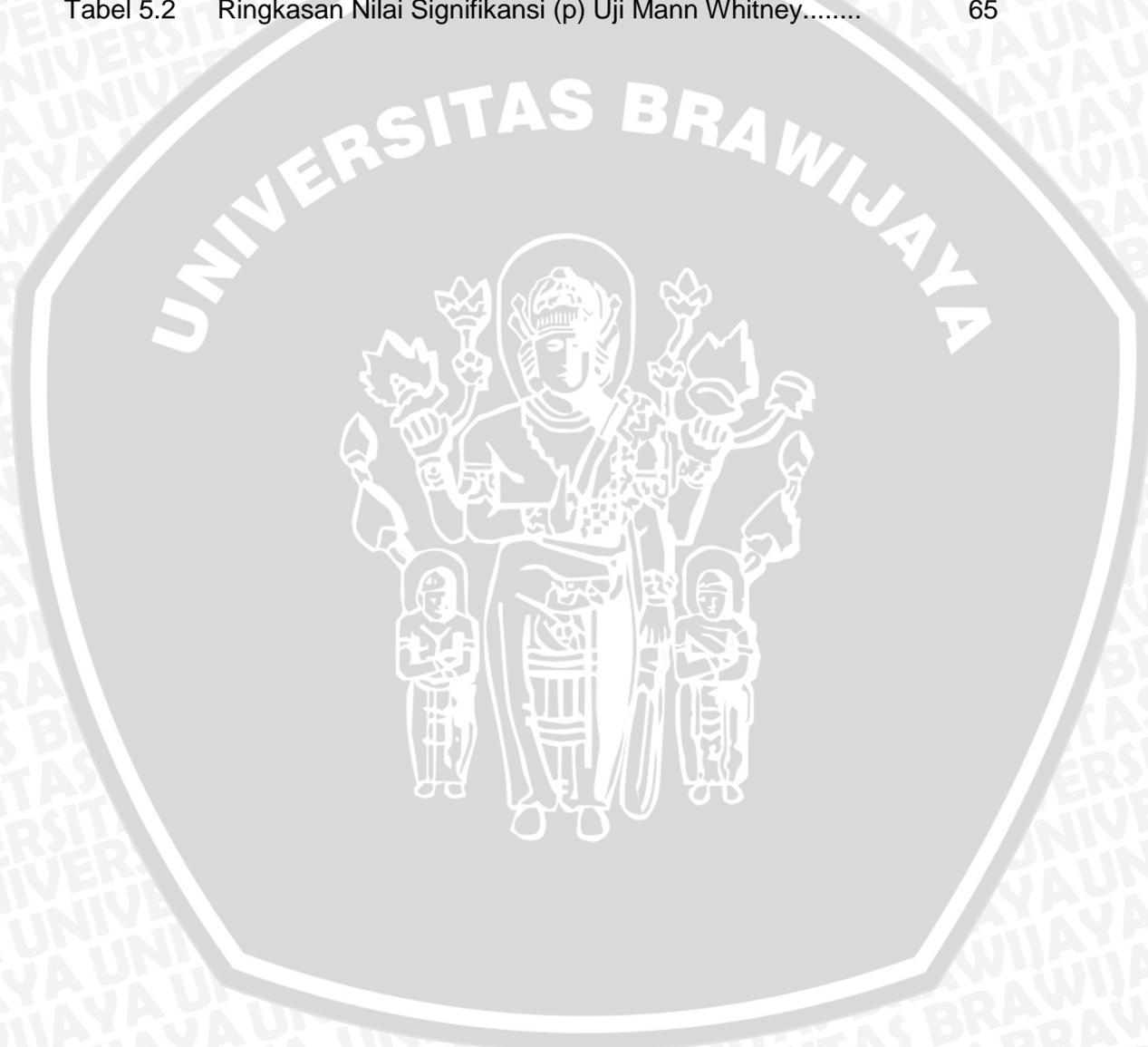


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	8
Gambar 2.2 Morfologi <i>Shigella flexneri</i>	15
Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep Penelitian	29
Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian Uji Antimikroba Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> L.) Terhadap <i>Shigella flexneri</i>	46
Gambar 5.1 <i>Shigella flexneri</i> dengan Pengecatan Gram	48
Gambar 5.2 Gambar Sumuran <i>Microbact</i> System dan Hasil Scan <i>Microbact</i> Test	49
Gambar 5.3 Dilusi Tabung dengan Beberapa Konsentrasi Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella flexneri</i> untuk Uji KHM	50
Gambar 5.4 Hasil Streaking <i>Shigella flexneri</i> pada Medium NAP untuk Uji KBM.....	52
Gambar 5.5 Grafik Penurunan Jumlah Rata-Rata Bakteri <i>Shigella flexneri</i> terhadap Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	53
Gambar 5.6 Kurva Regresi Linier Konsentrasi Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> L.) terhadap Jumlah Bakteri <i>Shigella flexneri</i>	53

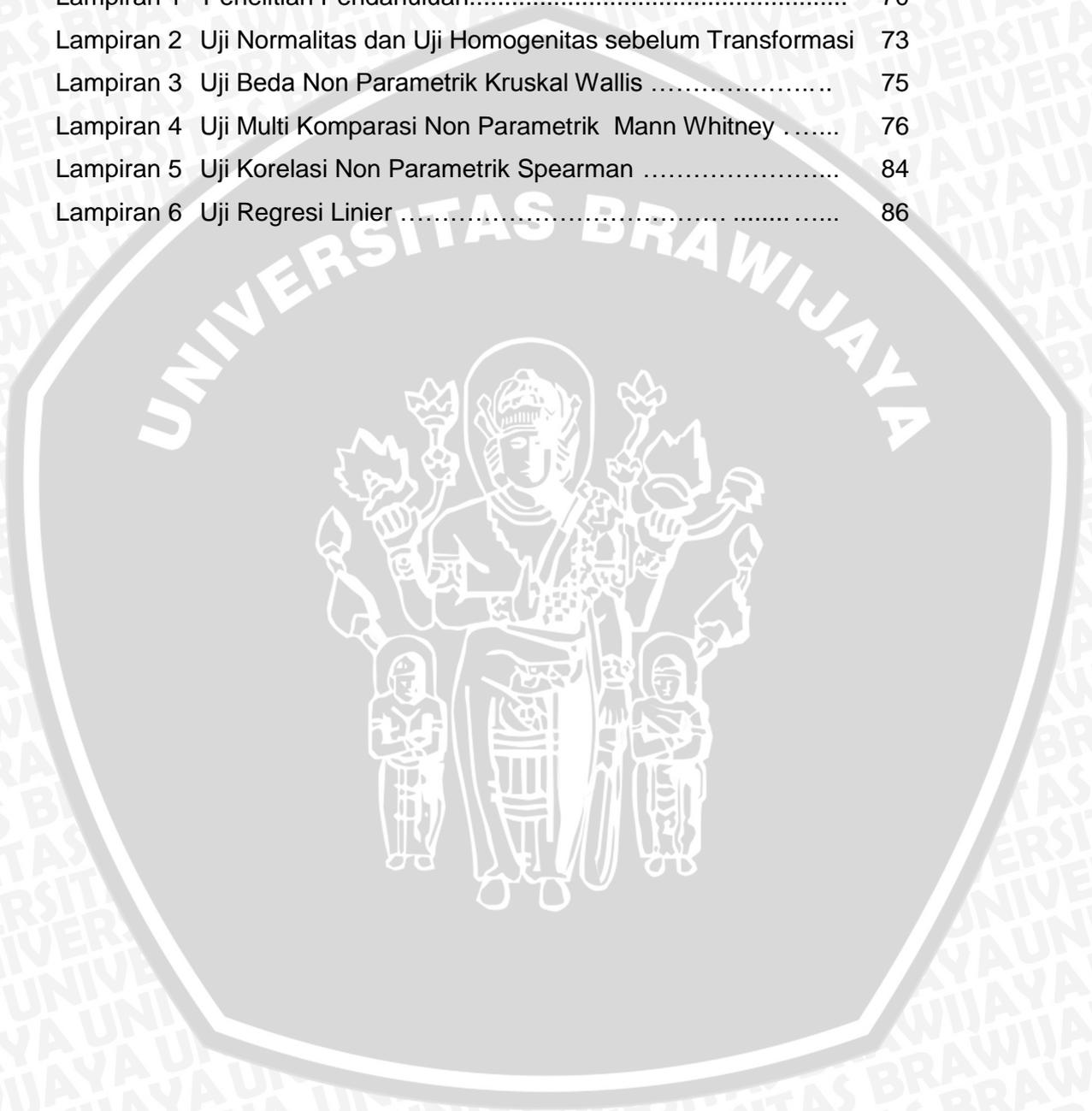
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Persiapan Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> L.).....	47
Tabel 5.1	Jumlah Bakteri <i>Shigella flexneri</i> pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)...	51
Tabel 5.2	Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney.....	65



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Penelitian Pendahuluan.....	70
Lampiran 2	Uji Normalitas dan Uji Homogenitas sebelum Transformasi	73
Lampiran 3	Uji Beda Non Parametrik Kruskal Wallis	75
Lampiran 4	Uji Multi Komparasi Non Parametrik Mann Whitney	76
Lampiran 5	Uji Korelasi Non Parametrik Spearman	84
Lampiran 6	Uji Regresi Linier	86



DAFTAR SINGKATAN

CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
cm	: centimeter
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EMB	: <i>Eosin Methylene Blue</i>
gr	: gram
H ₂ S	: dihidro sulfat
INH	: <i>isonicotinic acid hydrazid</i>
KBM	: Kadar Bunuh Minimal
KB	: Kontrol Bahan
KHM	: Kadar Hambat Minimal
KK	: Kontrol Kuman
L	: Linn
LPS	: Lipo Poli Sakarida
MBC	: <i>Minimal Bactericidal Concentration</i>
mg	: miligram
MHB	: Mueller Hinton Broth
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	: <i>Nutrient Agar Plate</i>
NCCLS	: <i>National Committee Centre for Laboratory Study</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
OI	: <i>Original Inoculum</i>
RNA	: <i>Ribo Nucleic Acid</i>
sp	: <i>Spesies</i>
SPSS	: <i>Statistical Product of Service Solution</i>
tRNA	: <i>transcript Ribo Nucleic Acid</i>
µg	: mikrogram

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG MASALAH

Penyakit infeksi saluran pencernaan dapat disebabkan oleh virus, bakteri dan protozoa. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dikenal sebagai disentri basiler yang disebabkan oleh bakteri *Shigella sp*, khususnya *Shigella flexneri* dan *Shigella dysenteriae*. Laporan epidemiologi menunjukkan bahwa 600.000 dari 140 juta pasien shigellosis meninggal setiap tahun di seluruh dunia. Data di Indonesia memperlihatkan 29% kematian diare terjadi pada umur 1 – 4 tahun disebabkan oleh disentri basiler, tingginya insidens dan mortalitas dihubungkan dengan status sosial ekonomi yang rendah, kepadatan penduduk, dan kebersihan yang kurang (Nafianti dan Sinuhaji, 2005). Hasil survei pada balita di Rumah Sakit di Indonesia menunjukkan proporsi spesies *shigella* sebagai etiologi diare. *S.dysentery* 5,9 %, *S.flexneri* 70,6 %, *S.boydii* 5,9%, dan *S.sonnei* 17,6 % Dari laporan surveilan terpadu tahun 1989 jumlah kasus disentri didapatkan 13,3 % di Puskesmas, di rumah sakit didapat 0,45% pada penderita rawat inap, dan 0,05 % pada pasien rawat jalan (Nor, 2008).

Shigellosis merupakan penyakit infeksi saluran pencernaan yang ditandai dengan diare cair akut dan/ atau disentri (tinja bercampur darah, lendir, dan nanah), pada umumnya disertai demam, nyeri perut, dan tenesmus. Pada shigelosis berat dapat mengakibatkan komplikasi yang menjadi fatal yaitu perforasi usus, megakolon toksik, prolapsus rekti, kejang, anemia septik, sindrom hemolitik uremia, dan hiponatremi. Penyakit ini ditularkan melalui rute fekal-oral

dengan masa inkubasi 1 – 7 hari, untuk terjadinya penularan tersebut diperlukan dosis minimal penularan 200 bakteri *shigella* (Nafianti dan Sinuhaji, 2005).

Shigella tetap menjadi bakteri patogen yang paling sering menyebabkan infeksi disentri. *Shigella* adalah bakteri tidak bergerak, gram negatif, bersifat fakultatif anaerobik yang tidak meragikan laktosa tetapi meragikan karbohidrat yang lainnya, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Habitat alamiah *Shigella* terbatas pada saluran pencernaan manusia dan primata lainnya dimana sejumlah spesies *shigella* dapat menimbulkan disentri basiler. Infeksi *Shigella* selalu terbatas pada saluran pencernaan, invasi dalam darah sangat jarang. *Shigella* menimbulkan penyakit yang sangat menular. Dosisnya infeksiif kurang dari 10^3 organisme (Dzen *et al.*, 2003).

Bakteri *Shigella* melakukan invasi melalui membran basolateral sel epitel usus. Di dalam sel terjadi multiplikasi di dalam fagosom dan menyebar ke sel epitel sekitarnya. Invasi dan multiplikasi intraselluler menimbulkan reaksi inflamasi serta kematian sel epitel. Reaksi inflamasi terjadi akibat dilepaskannya mediator seperti leukotrien, interleukin, kinin, dan zat vasoaktif lain. Bakteri *Shigella flexneri* juga memproduksi toksin shiga yang menimbulkan kerusakan sel. Proses patologis ini akan menimbulkan gejala sistemik seperti demam, nyeri perut, rasa lemah, dan gejala disentri (Zein *et al.*, 2004).

Resistensi bakteri *Shigella* terhadap antibiotik dengan segala aspeknya bukanlah merupakan suatu hal yang baru. Pemberian antimikroba disesuaikan dengan pola resistensi *Shigella* di daerah tersebut karena beberapa penelitian, melaporkan telah terjadi resistensi terhadap antibiotik seperti trimetoprim-sulfametoksazol pada shigellosis. Laporan mengenai resistensi trimetoprim-sulfametoksazol dijumpai di Asia, Afrika, Amerika Tengah, dan Eropa. Terjadinya

resistensi akan meningkatkan resiko epidemi shigellosis, tidak terkecuali di Indonesia (Nafianti dan Sinuhaji, 2005).

Berdasarkan uraian di atas dapat dikembangkan alternatif pengobatan baru yang lebih praktis dan alami serta dapat menurunkan biaya kesehatan, tanpa melupakan standar mutu pelayanan medis. Salah satu tanaman yang telah dikenal dan digunakan oleh masyarakat Indonesia adalah tanaman pare (*Momordica charantia* L.). Dalam pengobatan tradisional, tanaman pare (*Momordica charantia* L) memberikan andil yang cukup besar bagi masyarakat. Selain kandungan gizinya yang tinggi, tanaman pare juga mengandung khasiat sebagai obat, sehingga sering dimanfaatkan sebagai bahan ramuan jamu (Subahar *et al.*, 2004).

Seluruh bagian tanaman pare dipakai sebagai obat, mulai dari akar, daun, buah, dan bijinya. Akarnya dipakai untuk mengobati penyakit mata, daunnya untuk memperlancar buang air besar, disentri, kulit terbakar, obat cacung, memperbanyak air susu ibu, menambah nafsu makan dan sebagai obat luar untuk menyuburkan rambut. Buahnya dipakai untuk pencuci darah, anti diabetes, asma, dan rematik. Bijinya untuk mengatasi gangguan lever dan limpa. Tanaman pare juga dimanfaatkan sebagai anti virus, untuk mengobati penyakit hepatitis, demam, dan campak. Salah satu contoh adalah daun pare, yang memiliki kandungan kimia diantaranya vitamin A,B, dan C, saponin, flavonoid, asam fenolat dan alkaloid (Subahar *et al.*, 2004).

Senyawa saponin yang terkandung dapat bekerja sebagai antibakteri. Senyawa ini akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel bakteri (Arsyi, 2008). 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).

Penelitian tentang uji efektivitas ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella flexneri*, sejauh ini belum dibuktikan kebenarannya secara ilmiah. Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti merasa perlu melakukan penelitian mengenai uji pemberian ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella flexneri*.

1.2. Rumusan Masalah

1.2.1. Apakah ekstrak metanol daun pare (*Momordica charantia* L.) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Shigella flexneri* secara *in vitro* ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk membuktikan efektifitas ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella flexneri* secara *in vitro*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1 Untuk menganalisa hubungan antara konsentrasi ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*.

1.3.2.2 Untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) terhadap *Shigella flexneri*.

1.4 Manfaat Penelitian

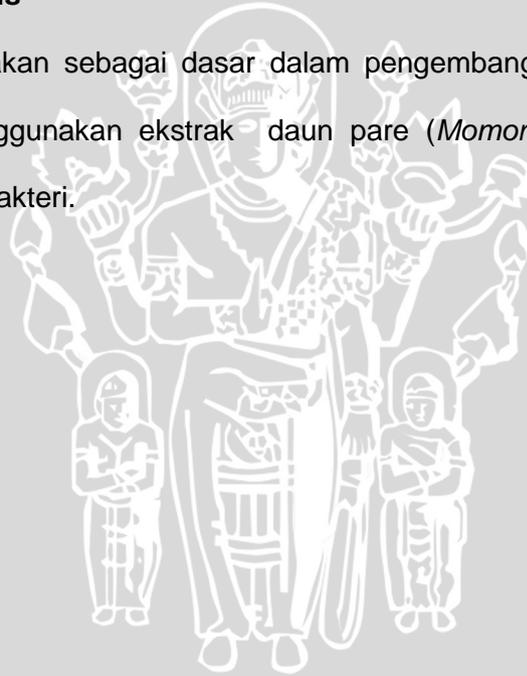
1.4.1 Manfaat Akademis

1.4.1.1 Menambah wawasan ilmu pengetahuan bidang Kedokteran khususnya mengenai manfaat daun pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antibakteri.

1.4.1.2 Sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang manfaat daun pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antibakteri.

1.4.2 Manfaat Praktis

1.4.2.1 Dapat digunakan sebagai dasar dalam pengembangan aplikasi terapi dengan menggunakan ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antibakteri.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pare (*Momordica charantia* L.)

Tanaman pare (*Momordica charantia* L.) termasuk tumbuhan berumur tahunan yang tidak memerlukan banyak sinar matahari. Tanaman pare (*Momordica charantia* L.) banyak terdapat di daerah tropis, dan tumbuh baik di dataran rendah maupun di perkarangan. Jika ditanam di dataran tinggi, hasilnya kurang baik, yaitu buahnya kecil-kecil dan pertumbuhan buah tidak normal. Tanaman pare (*Momordica charantia* L.) menghasilkan buah yang terkenal dengan rasanya yang pahit, namun dibalik kepahitannya terdapat banyak manfaat bagi kesehatan tubuh. Selain dijadikan sebagai sayuran, tanaman ini juga dapat berfungsi sebagai obat herbal (Syamsuhidayat, 1991).

Tanaman pare terbagi menjadi 3 jenis, yaitu pare gaji, pare kodok dan pare hutan. Pare gaji berdaging tebal, warnanya hijau muda atau keputihan, bentuknya besar dan panjang dan rasanya tidak begitu pahit. Pare kodok buahnya bulat pendek, rasanya pahit. Pare hutan adalah pare yang tumbuh liar, buahnya kecil-kecil dan rasanya pahit. Untuk memperoleh buah yang panjang dan lurus, biasanya pada ujung buah yang masih kecil digantungkan batu. Daun dari pare yang tumbuh liar, dinamakan daun tunding. Daun ini dikatakan lebih berkhasiat bila digunakan untuk pengobatan. Daun dan buahnya yang masih muda dapat dimakan sebagai lalapan mentah atau setelah dikukus terlebih dahulu, lalu dimasak sebagai sayuran, tumis, sambal goreng, serta gado-gado. Tanaman ini juga dapat digunakan untuk membunuh serangga. Perbanyakan atau pembudidayaan tanaman pare dilakukan dengan biji. Beberapa sinonim

tanaman pare antara lain *M.balsamina*, Blanco. *M.balsamina*, Descourt. *M.cylindrica*, Blanco. *M.jagorana* C.Koch. *M.operculata*, Vell. *Cucumis africanus* (Subahar *et al.*, 2004).

2.1.1 Taksonomi

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Division	: <i>Spermatopyta</i>
Sub Division	: <i>Angyospermae</i>
Class	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Cucurbitales</i>
Familia	: <i>Cucurbitaceae</i>
Genus	: <i>Momordica</i>
Spesies	: <i>Momordica charantia</i> L. (Subahar <i>et al.</i> , 2004)

2.1.2 Morfologi dan Identifikasi

Pare gajih adalah sejenis tumbuhan merambat dengan buah yang panjang dan runcing pada ujungnya serta permukaan bergerigi. Pare gajih tumbuh baik di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar, tegalan, dibudidayakan, atau ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar. Tanaman ini tumbuh merambat atau memanjat dengan sulur berbentuk spiral, banyak bercabang, serta batangnya segi lima. Daun tunggal, bertangkai dan letaknya berseling, berbentuk bulat panjang, dengan panjang 3,5 - 8,5 cm, lebar 4 cm, berbagi menjari 5-7, pangkalnya berbentuk jantung, serta warnanya hijau tua. Bunga merupakan bunga tunggal, berkelamin dua dalam satu pohon, bertangkai panjang, mahkotanya berwarna kuning. Buahnya bulat memanjang, dengan 8-10 rusuk memanjang, berbintil-bintil tidak beraturan, panjangnya 8-30 cm, rasanya pahit, warna buah hijau, bila masak menjadi warna oranye yang terbagi tiga (Rukmana, 1997).



Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Pare Gajih sejenis tumbuhan yang merambat dengan buah panjang serta runcing pada ujungnya serta permukaan bergerigi dan tampak daun pare tunggal, bertangkai, dengan panjang 3.5 – 8.5 cm, lebar 4 cm, dan berbagi jari 5-7 (Fitri, 2012).

2.1.3 Kandungan Tanaman Pare

Bagian-bagian dari tanaman pare mempunyai kandungan kimia masing-masing. Kandungan kimia daun pare adalah momordisin, saponin, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, vitamin A, B, dan C, dan karotonoid. Kandungan kimia buah pare mengandung momordisin, karbohidrat, saponin, flavonoid, triterpenoid, alkaloid (Subahar *et al*, 2004). Kandungan kimia biji pare mengandung saponin, alkaloid, triterpenoid, asam momordial. Kandungan kimia akar pare mengandung asam momordial, asam okanolat (Soedibyo, 1998).

2.1.3.1 Flavonoid

Istilah flavonoida diberikan untuk senyawa – senyawa fenol yang berasal dari kata flavon, yaitu nama dari salah satu jenis flavonoida yang terbesar jumlahnya dalam tumbuhan. Senyawa – senyawa flavon ini mempunyai kerangka 2-fenilkroman, dimana posisi orto dari cincin A dan atom karbon yang terikat pada cincin B dari 1,3-diarilpropana dihubungkan oleh jembatan oksigen sehingga membentuk cincin heterosiklik yang baru yaitu cincin C (Markham, 1988).

Flavon, flavonol dan antosianidin adalah jenis flavonoida yang banyak ditemukan di alam sehingga sering disebut sebagai flavonoida utama. Banyaknya senyawa flavonoida ini disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, atau glikosilasi dari struktur tersebut. Sebagian besar senyawa flavonoida alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoida terikat pada suatu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida. Flavonoida dapat ditemukan sebagai mono-, di-, atau triglikosida yang satu, dua, atau tiga gugus hidroksil dalam molekul flavonoid terikat oleh gula. Poliglikosida larut dalam air dan sedikit larut dalam pelarut organik seperti eter, benzene, kloroform dan aseton (Markham, 1988).

Senyawa flavonoid yang dapat diidentifikasi dalam ekstrak daun pare adalah kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa kelompok flavonoid terbesar dengan jumlah sekitar 60-75% yang berfungsi sebagai antibakteri, antitusif, dan antiinflamasi (Zhou *et al.*, 2003). Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Senyawa flavonoid akan difokuskan dengan menggunakan pelarut metanol, karena metanol memiliki struktur molekul lebih kecil yang mampu menembus semua jaringan tanaman untuk menarik senyawa aktif keluar. Metanol dapat melarutkan hampir semua senyawa organik, baik senyawa polar maupun non-polar, metanol mudah menguap sehingga mudah dipisahkan dari ekstrak (Waji dan Sugrani, 2009).

Menurut Markham (1988) untuk mendapatkan ekstrak flavonoid sebaiknya dilakukan ekstraksi soxhletasi menggunakan pelarut metanol : air (9:1). Senyawa flavonoid pada umumnya mudah larut dalam air, terutama bentuk

glikosidanya. Senyawa tersebut dapat diekstrak menggunakan pelarut air. Senyawa yang sedikit larut dalam air bersifat semi polar dapat diekstraksi dengan pelarut metanol 80%, aseton, dan etanol (Robinson, 1991).

Mekanisme flavonoid, khususnya isoflavan sebagai antimikroba adalah dengan cara menurunkan kekentalan membran sel di dalam dan luar sehingga fungsi membran sitoplasma terganggu serta menghambat metabolisme energi yang mengakibatkan terganggunya sintesis DNA, RNA, protein, dan dinding sel. Semua mekanisme tersebut mengakibatkan matinya bakteri-bakteri patogen (Lewis, *et al.*, 1999; Tim and Andrew, 2005).

2.1.3.2 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloida berasal dari tumbuh – tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloida mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).

Hampir semua alkaloida yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang berguna dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin, striknin adalah alkaloida yang terkenal dan mempunyai efek fisiologis dan psikologis. Alkaloida dapat ditemukan dalam bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting, dan kulit batang. Alkaloida umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (Lenny, 2006).

Kebanyakan alkaloida berupa padatan kristal dengan titik lebur yang tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi (Solomon, 1983). Dapat juga

berbentuk amorf dan beberapa seperti nikotin dan koniin berupa cairan (Cordell, 1981). *Alkaloid* memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1991).

2.1.3.3 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan (unit) isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Lebih dari 4000 jenis triterpenoid telah diisolasi dengan lebih dari 40 jenis kerangka dasar yang sudah dikenal dan pada prinsipnya merupakan proses siklisasi dari skualen. Senyawa ini tak berwarna, berbentuk kristal, sering kali bertitik leleh tinggi dan aktif optik (Harbone, 1987).

Triterpenoid yang terpenting adalah triterpenoid pentasiklik. Senyawa ini ditemukan dalam tumbuhan berbiji, bebas, dan glikosida. Triterpenoid nonglikosida sering ditemukan sebagai ekskresi dan kutikula bekerja sebagai pelindung atau menimbulkan ketahanan terhadap air. Beberapa macam aktivitas fisiologi dari triterpenoid yang merupakan komponen aktif dari tumbuhan telah digunakan sebagai tumbuhan obat untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria (Robinson, 1991).

Triterpenoid mempunyai rasa yang sangat pahit terutama terdapat dalam tumbuhan *Rutaceae*, *Meliceae*, dan *Simaroubeaceae* seperti limonin dalam buah jeruk dan kukurbitasin D dalam tumbuhan *Cucurbitaceae* dan diosgonin. Beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa terpenoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu monoterpenoid, diterpenoid, triterpenoid saponin, dan

triterpenoid glikosida (Grayson, 2000; Bigham *et al.*, 2003). *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 (Erwiyani, 2009).

2.1.3.4 Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. 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).

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 glikon 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 glukonida 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).

2.1.4 Manfaat Tanaman Pare

Pare dapat digunakan untuk anti inflamasi dan antelmintik. Buah digunakan untuk demam, disentri, kencing manis, radang tenggorokan. Daunnya berkhasiat sebagai obat cacingan, batuk, abses, penurun demam, peluruh haid, sembelit, menambah nafsu makan, melancarkan pengeluaran ASI, dan penyakit disentri. Biji pare digunakan untuk obat cacing, obat luka, impotensi, dan kanker (Subahar *et al.*, 2004). Akar digunakan untuk mengobati disentri amuba. Pare bersifat pahit, mendinginkan masuk meridian jantung, hati dan paru, membersihkan darah (Soediby, 1998).

2.2 Bakteri *Shigella flexneri*

Spesies *Shigella* adalah penyebab utama disentri basiler, yaitu suatu penyakit yang ditandai dengan nyeri perut hebat, diare yang sering, dan sakit dengan volume tinja sedikit disertai lendir dan darah. Kebanyakan penyakit ini terjadi pada anak – anak usia 1 – 10 tahun. Di Amerika Serikat, diduga sekitar 15% kasus diare pada anak disebabkan oleh *Shigella sp.*, sementara di negara – negara yang sedang berkembang seperti Indonesia, mikroorganismenya ini merupakan penyebab utama dari diare infantil (Dzen *et al.*, 2003)

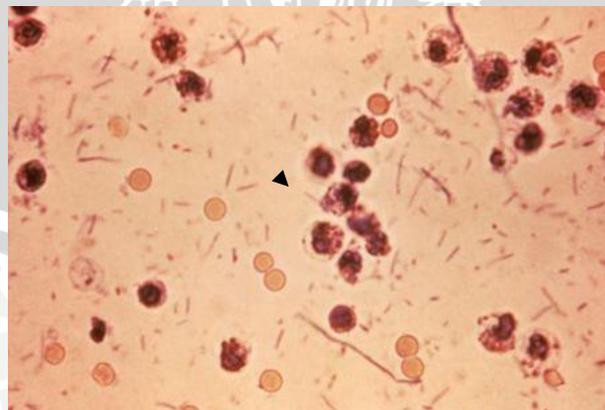
2.2.1 Taksonomi

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Shigella</i>
Species	: <i>Shigella flexneri</i> (Brooks <i>et al.</i> ,2005)

2.2.2 Morfologi dan Identifikasi

Shigella merupakan berbentuk batang, ramping, tidak berkapsul, tidak bergerak, tidak membentuk spora, gram negatif. Bentuk cocobasil dapat terjadi pada biakan muda. *Shigella* adalah fakultatif anaerob tetapi paling baik tumbuh secara aerobik. Bakterinya konveks, bulat, transparan dengan pinggir-pinggir utuh mencapai diameter kira-kira 2mm dalam 24 jam (Dzen *et al.*, 2003).

Shigella biasanya tidak bisa memfermentasikan laktosa tetapi memfermentasikan karbohidrat lain, memproduksi asam tetapi tanpa gas. *Shigella* tidak memproduksi H₂S. Empat spesies *Shigella* berhubungan erat dengan *Escherichia coli*. Banyak yang mempunyai antigen yang sama diantara sesamanya dan dengan bakteri enterik yang lain (Brooks *et al.*,2005).



Gambar 2.2 Morfologi Bakteri *Shigella* sp. didapat dari pengambilan spesimen tinja yang merupakan agen penyebab disentri dengan perwarnaan gram negatif, berbentuk batang berwarna merah yang tampak pada ujung petunjuk (Nathania, 2008).

2.2.3 Struktur Antigenik

Shigella mempunyai bentuk antigenik yang kompleks. Ada tumpang tindih dari sifat serologik dari spesies yang berbeda, dan kebanyakan dari mereka mempunyai antigen O yang sama dengan basil enterik lainnya. Bagian tubuh antigen O *Shigella* adalah polisakarida. Kekhususan serologik mereka tergantung pada polisakarida. Ada lebih dari 40 serotipe. Klasifikasi *Shigella* tergantung pada karakteristik biokimia dan antigenik (Brooks *et al.*,2005)

2.2.4 Daya Tahan Bakteri

Shigella kurang tahan terhadap agens fisis dan kimia dibandingkan bakteri enterik yang lain, dan disinfektan pada umumnya dapat membunuh mikroorganisme ini pada konsentrasi yang lazim digunakan. Konsentrasi asam yang tinggi akan mengganggu pertumbuhan bakteri ini, sehingga diperlukan media yang didapat dengan baik untuk transport bahan pemeriksaan dan untuk menumbuhkan mikroorganisme. *Shigella* dapat beradaptasi dengan suhu rendah jika kelembabannya cukup, dan dapat hidup lebih dari 6 bulan dalam air pada suhu kamar (Dzen *et al.*,2003).

2.2.5 Penentu Patogenisitas

2.2.5.1 Faktor Permukaan

Kemampuan untuk tetap hidup dalam perjalanannya melawan pertahanan hospes kemungkinan karena adanya antigen O. Struktur lipopolisakarida menyebabkan bentuk bakteri yang halus, disebut tipe bakteri fase I, dimiliki oleh *Shigella sonnei* dan *Shigella flexneri*. Organisme ini memiliki plasmid besar 120-140 kb yang menyandi O-specific side chains. Apabila plasmid ini hilang, akan

menjadi tipe bakteri fase II atau bakteri yang kasar dan menjadi organisme yang virulen. Penentu keganasan pada *Shigella* adalah plasmid, bukti lebih lanjut akan kepentingan *specific side chains* ini didapat dari penelitian yang melibatkan *hybrid* (penggabungan) antara *Shigella* dan *Escherichia coli* dimana akan virulen apabila *Shigella O side chains* diekspresikan. Belum diketahui secara pasti apakah rantai samping dari antigen O ini hanya diperuntukkan saat perjalanan mikroorganisme melewati pertahanan pada saluran cerna hospes atau juga bertanggung jawab pada perlekatan bakteri pada reseptor sel hospes yang spesifik (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

2.2.5.2 Daya Invasi

Shigella yang virulen mampu mengadakan penetrasi ke dalam mukosa dan sel epitel, tetapi jarang bias menembus lamina propia. Pada awalnya, bakteri berada dalam fagosom, namun organism virulen merusak fagosom dan berkembang biak dalam sitoplasma. *Shigella* kemungkinan merusak membran fagosom dengan *plasmid-encoded contact hemolysin*, suatu komponen hemolitik yang membutuhkan kontak langsung antara bakteri dengan membran sel hospes (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005). *Shigella* mampu menginvasi permukaan sel epitel kolon, jarang menembus sampai melewati mukosa, sehingga tidak ditemukan pada biakan darah walaupun ada gejala hiperpireksia dan toksemia (Nafianti dan Sinuhaji, 2005).

2.2.5.3 Toksin

Shigella menghasilkan sitotoksin yang disebut Shiga toksin, yang menyebabkan terjadinya sindrom hemolitik uremik dan trombotik trombositopenik purpura. Kejadian tersebut sering dihubungkan dengan reaksi silang akibat infeksi serotipe *E.coli* yang juga dapat menghasilkan toksin mirip Shiga toksin.

Toksin ini memiliki efek multiple, yaitu enterotoksik dan eksotoksin (Nafianti dan Sinuhaji, 2005).

a) Enterotoksin

Peranan Shiga toksin pada disentri klasik belum semuanya jelas, karena mutan yang menghasilkan toksin tetapi noninvasif ternyata avirulen. Disentri basiler tampaknya melibatkan usus kecil maupun usus besar, biasanya enterotoksin ditandai dengan diare cair yang tampak pada tahap awal penyakit dari kebanyakan penderita. *Shigella* mengadakan multiplikasi tanpa invasi di dalam jejunum kemudian memproduksi toksin; toksin selanjutnya berikatan dengan reseptor dan akhirnya menyebabkan terjadinya aktivasi proses sekresi. Efek enterotoksik dari Shigatoksin adalah lebih ditujukan untuk menghambat absorpsi elektrolit, glukosa, dan asam amino dari lumen intestinal, daripada meningkatkan sekresi ion klorida (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

b) Eksotoksin

Pasien dengan infeksi *Shigella* membentuk antitoksin *in vitro*. Aktifitas toksin langka daripada sifat invasif disentri *Shigella*. Toksin yang tidak mengakibatkan perdarahan awal, diare sangat berat, dan penyerangan usus besar mengakibatkan disentri dengan nanah dalam tinja, serta menimbulkan reaksi susunan saraf pusat (meningitis, koma) (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

2.2.6 Manifestasi Klinis

2.2.6.1 Epidemiologi

Infeksi klinis oleh *Shigella* biasanya terjadi di lingkungan tertutup, seperti keluarga, rumah sakit jiwa, dan biasanya terjadi pada daerah yang didapati

sanitasi dan kebersihan perorangannya buruk. Infeksi ini menyebar melalui makanan dan air yang terkontaminasi. Penularannya secara fecal-oral kontak atau orang ke orang dan juga kontak orang dengan alat rumah tangga (Nor, 2008). Anak – anak di bawah umur 1 tahun sangat peka dan memiliki resiko infeksi 60% dibandingkan dengan umur yang lain yang hanya 20% (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

2.2.6.2 Patogenesis dan Patologi

Organ manusia yang terinfeksi oleh *Shigella flexneri* adalah invasi sel-sel epitel mukosa pada daerah dan proliferasi ileosekal, diikuti dengan invasi dan menghancurkan terusan sel-sel epitel mukosa. Menyebar ke daerah inflamasi ulceratif dan menyebabkan rusaknya pembuluh kapiler pada lamina propia. Menyebabkan colitis ulceratif akut dan perdarahan pada mucus. Invasi *Shigella sp.* ke sel-sel epitel organisme lalu menyebabkan hilang virulensi (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

Terjadinya ulkus pada usus disebabkan karena absorpsi dari toksin yang dikeluarkan oleh basil ini melalui dinding usus (Flexner dan Sweet, 1906; Felsen, 1945). Penelitian oleh La Brec, Formal (1961) dan Takeuchi dengan menggunakan mikroskop elektron menunjukkan bahwa basil disentri yang virulen dapat menembus sel-sel epitel sampai ke lamina propia. Mekanisme bagaimana basil disentri dapat menembus epitel sampai ke lamina propia belum diketahui (Abbas, 2007).

Disentri basiler atau shigellosis adalah suatu infeksi lokal yang terutama mengenai usus besar. Dapat pula mengenai ileum bagian bawah, dimana biasanya kerusakannya lebih ringan. Mukosa usus menebal, hiperemis, beradang dan edematous dapat tertutup oleh eksudat yang fibrino-purulen.

Terdapat ulkus-ulkus yang dangkal dan ukurannya besar. Ulkus-ulkus ini menembus ke dalam submukosa, jarang terjadi perforasi. Penyembuhan ulkus biasanya sempurna. Kelenjar mesentrium dapat membesar, tetapi limpa tidak (Nor,2008).

Gejala khas pada penderita dimulai dengan demam dan diare cair yang kemudian berubah pada hari kedua menjadi buang air besar lebih tetapi volume tinja sedikit disertai darah dan lendir. Sesudah masa inkubasi yang pendek (1-2 hari), ada serangan tiba – tiba berupa sakit perut, demam, dan diare cair. Diare terjadi akibat pengaruh eksotoksin dalam usus kecil. Sehari atau berikutnya, ketika infeksi sudah mencapai usus bawah dan usus besar, tinja semakin banyak, dengan cairan sedikit tetapi sering berisi lendir dan darah (Dzen *et al.*, 2003).

Setiap gerakan usus disertai dengan ketegangan dan tenesmus (rectal spasm), yang mengakibatkan sakit perut menjadi sedikit berkurang. Lebih dari setengah kasus, demam dan diare reda secara spontan dalam 2-5 hari. Meskipun begitu, pada anak – anak dan orang yang lebih tua, kehilangan air dan elektrolit dapat menyebabkan dehidrasi, asidosis, dan mungkin kematian. Angka kematian bergantung pada keadaan dan tindakan pengobatan. Perkembangan penyakit ini selanjutnya dapat membaik secara perlahan-lahan tetapi memerlukan waktu penyembuhan yang lama (Sya'roni dan Hoesadha, 2006).

2.3 Diagnosa Laboratorium

2.3.1 Spesimen

Spesimen yang digunakan adalah tinja, bintik – bintik lendir pada kulit, dan kain penyeka anus. Sejumlah besar leukosit anus dan beberapa sel darah

merah sering dilihat dengan mikroskop. Contoh serum, bila diinginkan, harus diberikan dalam 10 hari untuk melihat reaksi dalam titer aglutinasi dari antibodi yang meningkat (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.2 Kultur

Spesimen ditanam diatas media diferensial (misalnya *McConkey's* atau agar EMB) dan diatas media selektif (agar *Hektoen enteric* atau agar *Salmonella Shigella*), yang dapat menekan *Enterobacteriaceae* dan organisme lain. Bakteri tak berwarna (laktose negatif) di tanamkan pada *triple sugar iron agar*. Organisme yang tidak memproduksi H₂S, yang memproduksi asam tetapi tranpa gas di bagian ujung dan di bagian miring lakalin pada medium *triple sugar iron agar*, dan yang tidak bergerak seharusnya dilakukan slide aglutinasi menggunakan antiserum *Shigella* spesifik (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.3 Serologi

Orang normal sering mempunyai aglutinin untuk melawan beberapa spesies *Shigella*. Meskipun begitu, beberapa penentuan antibodi titer memperlihatkan sebuah reaksi dalam spesifik antibodi. Serologi tidak digunakan untuk mendiagnose infeksi *Shigella* (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.4 Terapi

Seperti penyakit diare pada umumnya, penderita shigellosis mengalami dehidrasi. Pada dehidrasi ringan sampai sedang cukup diberi rehidrasi oral. Pada dehidrasi yang berat, cairan infus diberikan dengan cepat (cairan isotonik 20-30 ml/kg berat badan dalam waktu 1 jam) (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

Antibiotik yang baik adalah ampisilin diberikan pertama kali 50mg/kgBB/oral, diikuti dengan 100mg/kgBB/hari dibagi dalam 4 dosis selama 5-7 hari. Sebaiknya dilakukan test sensitivitas terlebih dahulu terhadap penderita. Pengobatan dengan trimethoprim-sulfamethoxazole juga memberikan hasil yang baik untuk shigellosis. Shigellosis dinyatakan telah resisten terhadap tetracycline dan cloramphenicol. Penggunaan opioids seharusnya dihindari dalam disentri *Shigella* (Nor, 2008; Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

2.3.5 Pencegahan dan Kontrol

Karena manusia merupakan *reservoir* dari *Shigella*, sanitasi yang adekuat, deteksi dan pengobatan karier merupakan pencegahan yang paling efektif. Karier diobati dan tidak diperkenankan menangani makanan. Pembuangan limbah yang layak dan klonisasi air merupakan cara yang penting untuk mencegah penyebaran *Shigella*. Pemberian ASI sampai umur 2 tahun juga efektif mengurangi shigellosis pada anak – anak. Sampai saat ini belum ada vaksin yang efektif untuk mencegah shigellosis (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

Ketika manusia menjadi *host pathogenic Shigella*, kontrol harus diarahkan pada pengurangan organism pada tendon air dengan cara:

1. Kontrol sanitasi air, makanan, dan susu; pembuangan sampah; dan kontrol terhadap lalat;
2. Pengisolasian pasien dan desinfektan;
3. Pendeteksian kasus subklinis dan penyebab, khususnya pembawa makanan;

4. Pengobatan antibiotik pada individu yang terinfeksi (Dzen *et al.*, 2003; Brooks *et al.*, 2005).

2.4 Antimikroba

Ada beberapa jenis golongan antimikroba yaitu sintetis, alamiah, dan semisintetis. Antimikroba sintetis ini disebut juga kemoterapeutika yang secara kimiawi dibuat di laboratorium. Sebagai contoh obat golongan sulfonamid, INH (*isonicotinic acid hydrazid*) dan golongan kuinolon. Di dalam antimikroba alamiah terdapat bahan metabolit yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme lain yang disebut antibiotika dan cara kerjanya disebut antibiosis. Contoh antibiotika adalah penisilin, tetrasiklin, eritromisin. Sedangkan antimikroba semisintetis diperoleh dengan cara melakukan modifikasi rumus kimia dari senyawa alamiah. Tujuannya adalah untuk memperluas spektrum, menurunkan toksisitas, meningkatkan stabilitas atau memperbaiki farmakokinetik. Sebagai contoh ampisilin, dan metisilin (Dzen *et al.*, 2003).

2.5. Mekanisme Kerja Antimikroba

2.5.1 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).

2.5.2 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 barrier 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. Sebagai contoh, antimikroba yang merusak membran sel adalah polimiksin-B, golongan poliene (amfoterisin-B), golongan azol (klotrimazol, mikonazol, ketokonazol, itrakonazol) (Dzen *et al.*, 2003).

2.5.3 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 (Dzen *et al.*, 2003).

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).

2.5.4 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).

2.5.5 Antagonis Metabolit

Aktivitas enzim seringkali dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa penghambat ini bergabung dengan enzim sedemikian rupa sehingga dapat mencegah reaksi enzim dengan substrat dan reaksi enzim dengan substrat dan reaksi – reaksi katalitik. Kebanyakan senyawa penghambat tersebut bersifat analog dengan faktor – faktor pertumbuhan bakteri, misalnya vitamin, asam amino, purin, dan pirimidin. Senyawa penghambat seperti ini disebut senyawa anti metabolit yang cara kerjanya adalah dengan menghambat secara kompetitif terhadap sintesis metabolit esensial (Dzen *et al.*, 2003).

2.6 Resistensi *Shigella* terhadap Obat

Timbulnya resistensi mikroba contohnya *Shigella* 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 membrane 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 (Dzen *et al.*, 2003).

2.7 Uji Kepekaan terhadap Antimikroba secara *In Vitro*

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).

2.7.1 Metode Dilusi Tabung

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 bakteri yang tumbuh. Konsentrasi

terendah obat pada biakan ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri 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).

2.7.2 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah obat ditunjukkan 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 Comitte for Clinical Laboratory Standart*). 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 kontrol

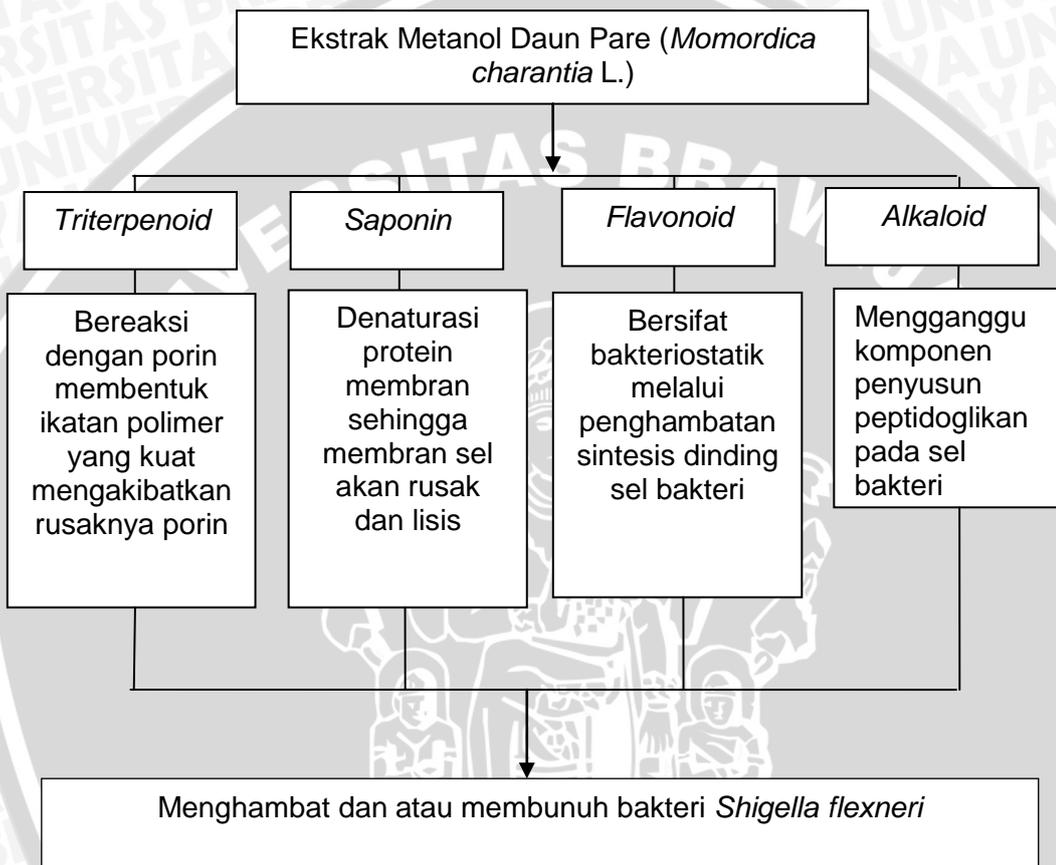
dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *et al.*, 2003).



BAB III

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 Tanaman Pare (*Momordica charantia* L.)

Senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman pare (*Momordica charantia* L.) khususnya daun pare adalah saponin, flavonoid, triterpenoid, dan alkaloid.

3.2.2 Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri dari Bahan

Antimikroba

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 (Siswandono dan Soekarjo, 1995).

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. (Volk dan Wheller, 1993). Flavonoid juga bersifat bakteristatik yang bekerja melalui penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Trease dan Evans, 1978).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1991).

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh golongan senyawa *triterpenoid* yaitu diduga 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 (Salni *et.al.*, 2011).

3.3. Hipotesis Penelitian

Ekstrak Metanol Daun Pare (*Momordica charantia* L.) memiliki efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella flexneri* secara *in vitro*.



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium (*True experiment-post test only control group design*) dan metode dilusi tabung untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antimikroba terhadap *Shigella flexneri*. Metode dilusi tabung meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada media *Mueller Hinton Broth* untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan tahap penanaman pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*) dengan metode *streaking* (penggoresan) untuk mengetahui KBM (Kadar Bunuh Minimal).

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Ekstraksi bahan penelitian diekstrak di Politeknik Negeri Malang pada bulan April 2012 dan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan April – July 2012.

4.3 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun pare didapatkan dari pembenihan Materia Medika Batu, Malang dan sampel bakteri uji *Shigella flexneri* yang diambil dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4 Pengulangan

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

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

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

$$6n - 1 \geq 21$$

$$6 \geq 21$$

$$n \geq 3.5$$

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

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun pare dengan konsentrasi 0% , 15% , 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, dan 27,5%. Konsentrasi tersebut didapatkan melalui penelitian pendahuluan.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

4.6 Definisi Operasional

- 4.6.1** Daun pare yang digunakan sebagai ekstrak adalah jenis daun pare gajah.
- 4.6.2** Ekstrak daun pare menggunakan pelarut metanol 96% yang diproses dengan cara ekstraksi *soxhlet*.
- 4.6.3** *Shigella flexneri* yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- 4.6.4** KHM (Kadar Hambat Minimal) atau MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak daun pare yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak daun pare dan suspensi bakteri tersebut dalam tabung setelah diinkubasikan 18-24 jam (Finegold *et al.*, 1986). Definisi ini tidak berlaku jika ada reaksi antara bahan aktif ekstrak dengan media *Nutrient Broth* yang menyebabkan kekeruhan pada seluruh tabung.
- 4.6.5** KBM (Kadar Bunuh Minimal) adalah konsentrasi minimal ekstrak daun pare yang mampu membunuh bakteri uji *Shigella flexneri*. KBM merupakan konsentrasi terendah yang memungkinkan pertumbuhan hanya < 0.1% dari jumlah inokulum. Jumlah inokulum adalah setara dengan jumlah bakteri yang diterima pada subkultur *original inoculum* (OI) pada NAP segera setelah suspensi inokulum.
- 4.6.6** *Original inoculum* adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml yang diinokulasikan pada media agar padat sebelum diinkubasi, dan digunakan untuk mencari kategori KBM.

4.6.7 Kontrol Bahan adalah ekstrak daun pare murni yang tidak dicampur bakteri *Shigella flexneri* dan digunakan untuk mengetahui apakah bahan yg digunakan steril di mana nilai kontrol bahan adalah 0 (tidak terdapat pertumbuhan bakteri jenis apapun).

4.6.8 Kontrol Kuman adalah biakan bakteri murni yang tidak dicampur dengan ekstrak daun pare dan digunakan untuk mengetahui apakah bakteri yang digunakan kontaminasi dengan bakteri lain.

4.6.9 Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%, 15%, 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5%.

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

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Pare

1. Alat

- a. Seperangkat ekstrator *soxhlet*

2. Bahan

- a. Daun pare yang telah dikeringkan dan menjadi serbuk halus sebanyak 100 gram.
- b. Metanol 96%

4.7.2 Alat dan Bahan untuk Kultur Bakteri

1. Alat

- a. Tabung reaksi

- b. Ose
- c. Spektrofotometer
- d. Inkubator
- e. Lampu spiritus atau Bunsen
- f. Korek api
- g. Label

2. Bahan

- a. *Shigella flexneri*
- b. Medium EMB (*Eosin Methylene Blue*)

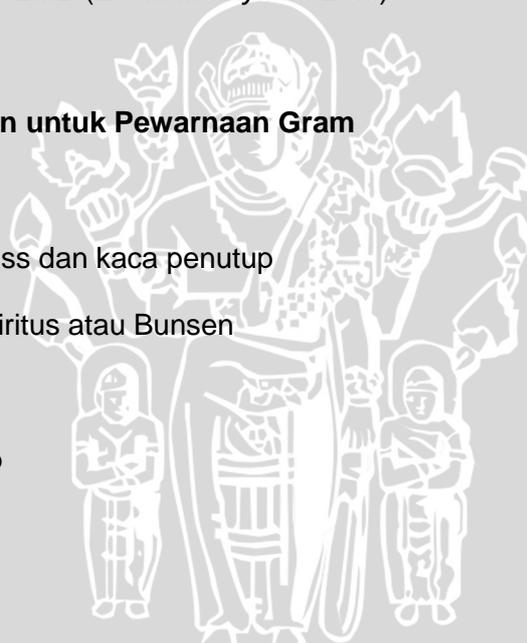
4.7.3 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan Gram

1. Alat

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

2. Bahan

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



4.7.4 Alat dan Bahan untuk Dilusi Tabung

1. Alat
 - a. Tabung reaksi
 - b. Pipet steril ukuran 1 mL dan 10 mL
 - c. Karet penghisap
 - d. Inkubator
 - e. Vortex
 - f. Bunsen
 - g. Korek api
 - h. Objek glass
 - i. Plate kosong dan steril
 - j. Alat penjepit (skalpel) steril
 - k. *Colony counter*
 - l. Kapas
2. Bahan
 - a. Ekstrak Daun Pare
 - b. Suspensi bakteri dari *MH Broth*

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Identifikasi Bakteri *Shigella flexneri*

- a. Pewarnaan Gram (Baron and Fenebold, 1994)

Pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui *Shigella flexneri* 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 ditetaskan pada gelas obyek.

- 3) Dengan ose jarum yang steril, diambil sedikit bakteri *Shigella flexneri* yang tumbuh pada medium padat kemudian disuspensikan dengan satu tetes aquades steril atau larutan saline yang sudah ditetaskan 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 diatas 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 *Shigella flexneri* yang teramati di bawah mikroskop berupa bakteri basil (batang) gram negatif.

b. Tes Oksidase

Biakan pada *McConkey* diambil satu ose, kemudian dilakukan tes oksidase.

Prosedur tes oksidase adalah sebagai berikut :

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

Pada *Shigella flexneri* hasilnya adalah positif.

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

1. Sebelum ditentukan menggunakan 12A/12E atau 24E, bakteri dilakukan uji oksidase, jika hasil oksidase negatif artinya menggunakan *Microbact system* 12A/12E saja, sedangkan jika hasil oksidasenya positif maka menggunakan 24E saja.
2. Satu bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan kedalam 5 mL NaCl 0,9% pada tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen.
3. Larutan bakteri yang telah homogen diteteskan ke dalam sumur *Microbact* sebanyak 100 UI (4 tetes), untuk sumur Lysin, Omitin, dan H₂S ditambah dengan tetesan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Setelah itu *Microbact* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
4. *Microbact* yang telah diinkubasi diambil kemudian diteteskan 2 tetes reagen Nitrat A dan B pada sumur 7, pada sumur nomor 8 dengan *Indol Kovact* sebanyak 2 tetes, sumur nomor 10 dengan VP I dan VP II masing-masing satu tetes, dan sumur 12 dengan TDA sebanyak satu tetes.

5. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan table warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*.
6. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka *oktal*).
7. Nama spesies bakteri dilihat dengan *software microbact system* di komputer berdasarkan angka *oktal* yang didapat.

c. Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan 10^6 CFU/ml

- 1) Bakteri 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°C selama 18-24 jam.
- 3) Dilakukan spektrofotometri pada tabung reaksi di atas dengan panjang gelombang (λ) 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 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).

4.8.2 Pembuatan Ekstrak Daun Pare

Pembuatan ekstrak daun pare melalui pemilihan jenis daun pare gajah dengan daun yang berwarna hijau cerah. Daun pare yang telah dipilih dicuci bersih dengan air kemudian dikeringkan dengan cara dijemur. Setelah kering daun pare dihaluskan sampai berubah menjadi serbuk dan kemudian dilakukan proses ekstraksi menggunakan alat *soxhlet*.

Proses ekstraksi sebagai berikut:

- a. Unit ekstraksi *soxhlet* ini disusun sesuai urutan mulai dari bawah yaitu labu, *soxhlet*, dan kondensor. Ketiga alat ini digabungkan berdasarkan sambungan yang ada pada masing-masing alat dan disusun berdiri dengan bantuan klem dan statif.

- b) Bagian *soxhlet* sebelum digabungkan dengan bagian kondensor pada bagian atasnya, dimasukkan sampel daun pare sebanyak 100 gr yang telah dibungkus kertas saring Whatman no.41.
- c) Saat alat telah siap, bagian bawah labu kemudian dimasukkan ke dalam penangas air hingga terendam $\frac{3}{4}$ bagiannya.
- d) Penangas air dipasang pada *setting* pemanasan 80°C dan kran air yang terpasang pada bagian kondensor yang terhubung dengan selang yang dinyalakan sehingga terbentuk aliran air dari bawah menuju ke atas kondensor yang selanjutnya keluar dari pipa yang terpasang di bagian atas kondensor.
- e) Pada ekstraktor *soxhlet*, pelarut dipanaskan dalam labu didih hingga menghasilkan uap. Uap tersebut kemudian masuk ke kondensor melalui pipa kecil dan keluar dalam fasa cair.
- f) Kemudian pelarut masuk ke dalam selongsong berisi padatan. Pelarut akan membasahi sampel dan tertahan di dalam selongsong sampai tinggi pelarut dalam pipa sifon sama dengan tinggi pelarut di selongsong. Kemudian pelarut seluruhnya akan masuk kembali ke dalam tabung didih dan begitu seterusnya.
- g) Ekstraksi dijalankan selama 7 jam dan setelah itu hasil ekstraksi didestilasi untuk memisahkan pelarut dari sampel dan kemudian diangin-anginkan.

4.8.3 Uji Sensitivitas Antimikroba

Rangkaian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) adalah sebagai berikut:

- a) Ekstrak daun pare divortex selama 10 sampai 15 menit agar larutan ekstrak menjadi homogen dan tidak mengendap. Untuk perlakuan yang diambil adalah larutannya.
- b) Sediakan 8 tabung steril, 6 tabung sebagai uji antibakteri, 1 tabung sebagai kontrol bahan (KB), dan 1 tabung sebagai kontrol kuman (KK).
- c) Masukkan 1 ml ekstrak daun pare saja ke dalam tabung KB tanpa menambahkan suspensi bakteri (100%).
- d) Masukkan 0.85 ml aquades steril ke dalam tabung 2 lalu tambahkan 0.15 ml ekstrak daun pare (15%).
- e) Masukkan 0.825 ml aquades steril ke dalam tabung 3 lalu tambahkan 0.175 ml ekstrak daun pare (17.5%).
- f) Masukkan 0.80 ml aquades steril ke dalam tabung 4 lalu ditambahkan 0.20 ml ekstrak daun pare (20%).
- g) Masukkan 0.775 ml aquades steril ke dalam tabung 5 lalu ditambahkan 0.225 ml ekstrak daun pare (22.5%).
- h) Masukkan 0.75 ml aquades steril ke dalam tabung 6 lalu ditambahkan 0.25 ml ekstrak daun pare (25%).
- i) Masukkan 0.725 ml aquades steril ke dalam tabung 7 lalu ditambahkan 0.275 ml ekstrak daun pare (27.5%).
- j) Masukkan 1 ml suspensi bakteri *Shigella flexneri* saja ke dalam tabung KK tanpa menambahkan ekstrak daun pare (0%).
- k) Masukkan 1 ml suspensi bakteri *Shigella flexneri* dengan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml ke dalam tabung 1-6.

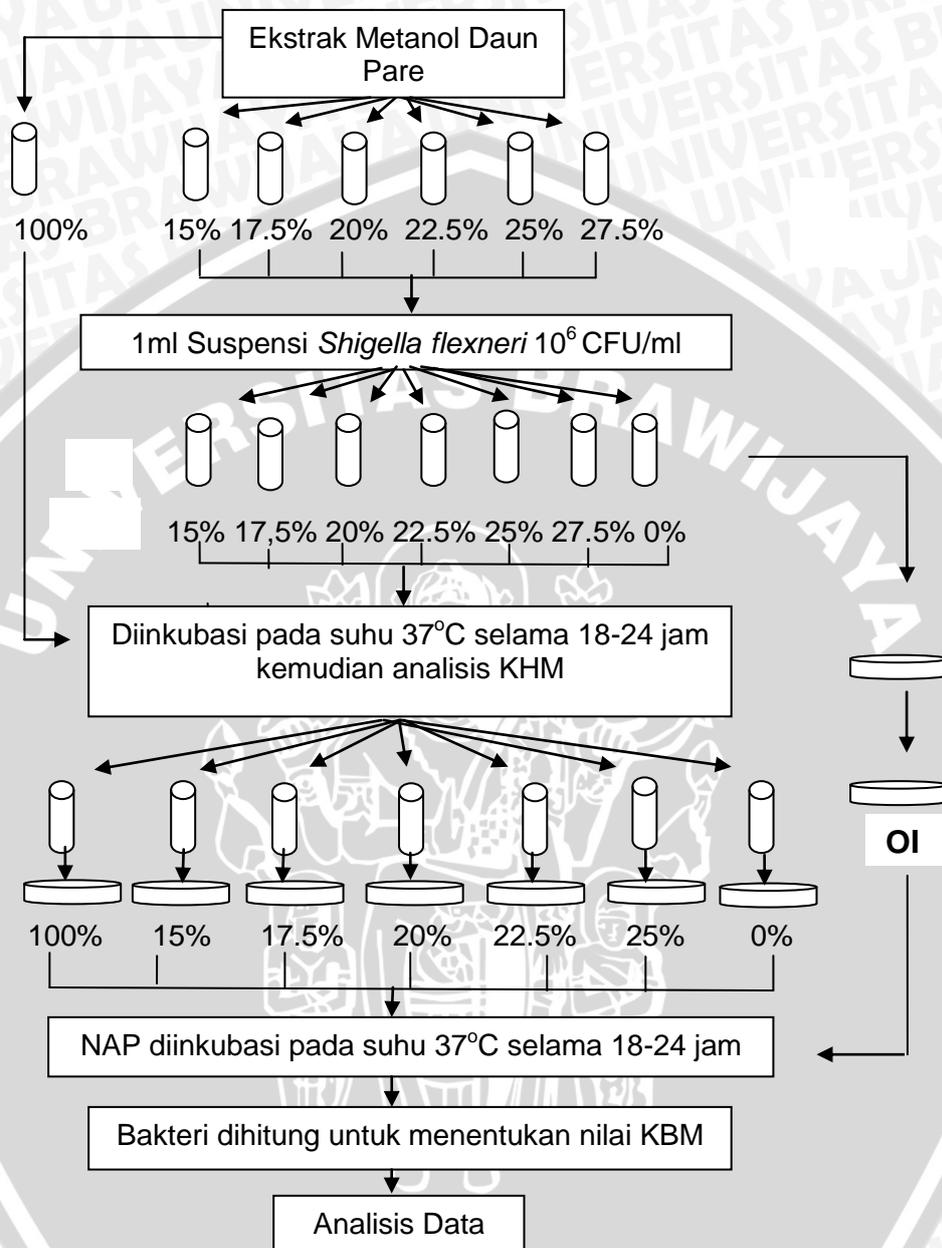
- l) Ambil bakteri dari tabung bertanda 0% / KK sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada NAP sebagai *original inoculum* kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C
- m) Pada hari kedua, semua tabung dikeluarkan dari inkubator. KHM didapatkan dengan cara melihat kejernihan tabung. Cara membaca derajat kekeruhan dengan membandingkan kejernihan tabung 1-6 dengan tabung KB dan KK.
- n) Kemudian dari masing-masing tabung dilusi diambil satu ose kemudian diinokulasikan pada NAP yang berbeda. Kemudian diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C.
- o) Pada hari ketiga didapatkan data KBM dan dilakukan pengamatan kuantitatif pada masing-masing konsentrasi dengan cara menghitung jumlah bakteri dengan *colony counter*. KBM ditentukan dari tidak adanya jumlah bakteri yang tumbuh pada NAP atau jumlah bakteri tersebut < 0,1% inokulum OI.

Tabel 4.1 Persiapan Ekstrak Daun Pare

Tabung	konsentrasi (%)	ekstrak (ml)	aquades (ml)	volume total (ml)
1	0 (KK)	0	1	1
2	15	0.15	0.85	1
3	17.5	0.175	0.825	1
4	20	0.20	0.80	1
5	22.5	0.225	0.775	1
6	25	0.25	0.75	1
7	27.5	0.275	0.725	1
8	100 (KB)	1	0	1

Ket : KK : Kontrol Kuman; KB : Kontrol Bahan

4.8.4 Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Skema Alur Uji Antimikroba Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap *Shigella flexneri*

Ket: KBM : Kadar Bunuh Minimal
NAP : Nutrient Agar Plate
CFU : Colony Forming Unit

KHM : Kadar Hambat Minimum
OI : Original Inoculum

4.9 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan variabel numerik dengan satu faktor yang ingin diketahui yaitu perbedaan jumlah bakteri *Shigella flexneri* yang dihasilkan pada NAP berdasarkan faktor perlakuan pemberian ekstrak daun pare (*Momordica charantia L.*). Uji statistik yang digunakan adalah uji beda non parametrik *Kruskal Wallis* dengan program SPSS 15.0, dengan nilai signifikansi 0.05 (5%).

Langkah-langkah dalam uji *Kruskal Wallis* adalah sebagai berikut:

1. Memeriksa syarat uji *one way anova* untuk > 2 kelompok yaitu:
 - a) Sebaran data harus normal
 - b) Varian data harus sama (homogen)
2. Karena data penelitian tidak homogen, maka uji *one way anova* tidak dapat digunakan, sehingga menggunakan metode *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan jumlah bakteri *Shigella flexneri* pada setiap perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak daun pare. Kemudian untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak daun pare terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri* maka digunakan uji statistik korelasi *Spearman-Regresi Linier*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) untuk windows versi 15.0 (Dahlan, 2008).

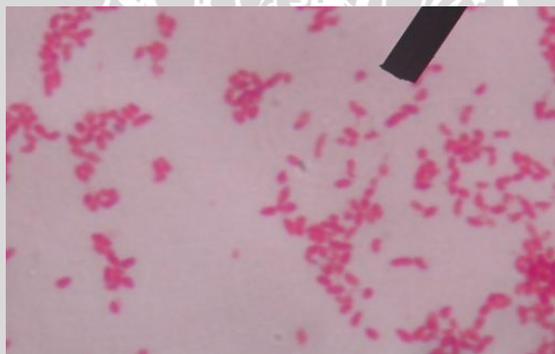
BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Shigella flexneri*

Penelitian ini menggunakan sampel bakteri *Shigella flexneri* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum melakukan penelitian, dilakukan identifikasi ulang yang meliputi pewarnaan Gram dan *microbact test*. Dari pewarnaan Gram didapatkan sel bakteri berbentuk batang, gram negatif berwarna merah.



Gambar 5.1 Gambaran mikroskopik *Shigella flexneri* dengan pengecatan Gram. Tampak pada ujung petunjuk bakteri gram negatif berbentuk batang berwarna merah.

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

OXOID MICROBACT™ IDENTIFICATION KITS		MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E													MICROBACT™ GNB 12B													
		GNB 12A / 12E										GNB 12B																
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine		
+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-														
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1		
Sum / Suma / Summa / Somme / Soma / Αθροισμα			0					5					0					0										
Result / Resultado / Ergebnis / Risultat / Risultato / Risultat / Risultat / Amortkuzja		Identification / Identificación / Identification / Identifikation / Identificazione / Identificação / Identifizierung / Identificação / Ταυροποίηση <i>Shigella flexneri</i> 76.51%																										

Gambar 5.2 Hasil Scan *Microbact Test*. Berdasarkan angka-angka oktal pada gambar di atas, bakteri yang digunakan diyakini 76,51% sebagai *Shigella flexneri*.

5.1.2 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak daun pare yang diperoleh dari penelitian pendahuluan sebelumnya. Konsentrasinya adalah 0%, 15%, 17.5 %, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5%. Pengamatan pertumbuhan bakteri untuk menentukan KHM menggunakan metode dilusi tabung dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung yang dibantu dengan kertas putih bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat dibelakang tabung. Bila semakin jernih maka garis hitam semakin terlihat, menandakan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, bila semakin keruh maka garis hitam akan semakin tidak tampak, ini menandakan banyak bakteri yang tumbuh pada tabung tersebut.



Gambar 5.3 Dilusi tabung dengan beberapa konsentrasi ekstrak daun pare terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* untuk uji KHM. Dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, pertumbuhan bakteri semakin berkurang. Hal ini tampak dari tabung yang semakin jernih, diperoleh KHM 17,5%.

KK : Kontrol Kuman; KB : Kontrol Bahan.

Gambar 5.3 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi tabung yang berisi campuran ekstrak daun pare dan bakteri dengan konsentrasi 0% (Kontrol Kuman / KK), 15%, 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, 27.5%, dan 100% (Kontrol Bahan / KB). Tabung akan diinkubasikan selama 24 jam kemudian dilihat tingkat kekeruhannya menggunakan kertas bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat di belakang tabung.

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

Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan ekstrak daun pare sebagai antimikroba. Berdasarkan Gambar 5.3, penulis menetapkan konsentrasi 17.5%

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.

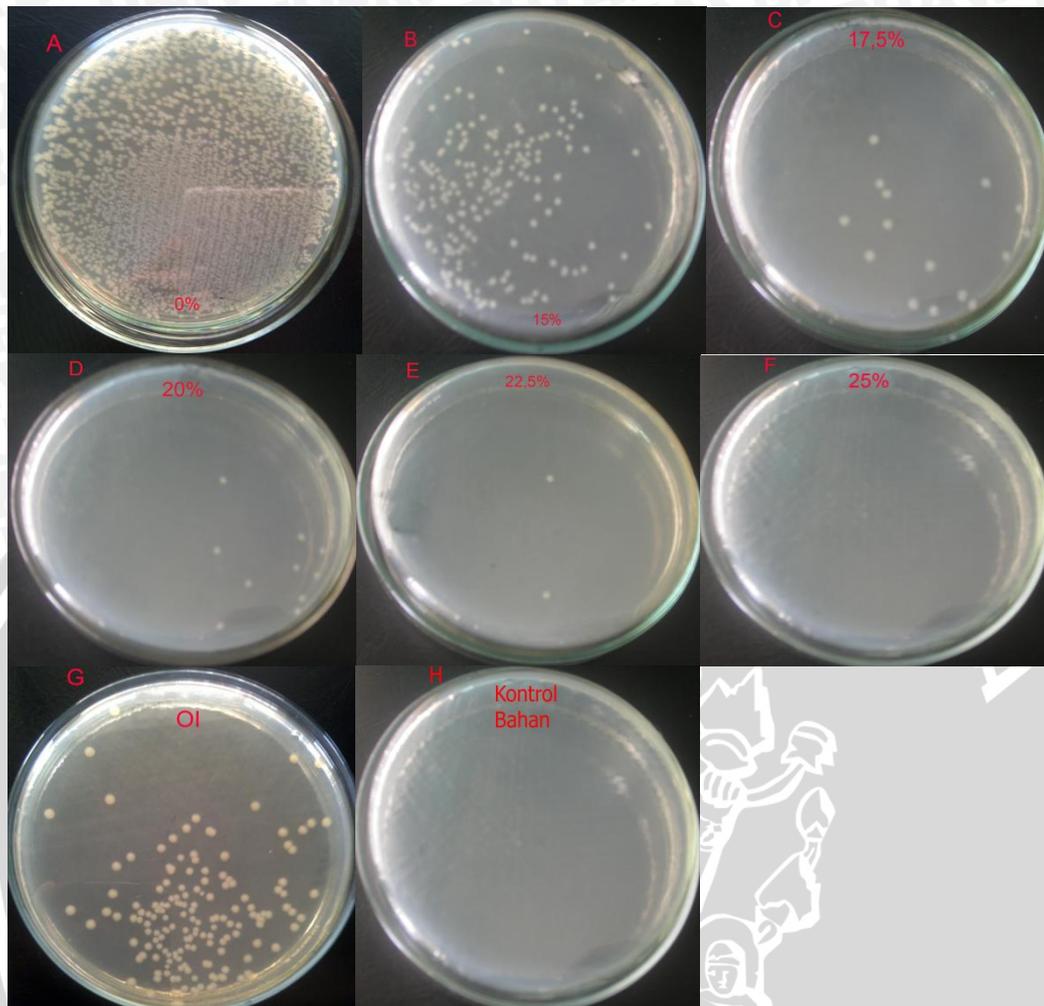
5.1.3 Hasil Penentuan KBM

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

Tabel 5.1 Jumlah Bakteri *Shigella flexneri* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Pare.

Konsentrasi	Jumlah Bakteri CFU/ml						
	1	2	3	4	total	rata-rata	SD
0% (KK)	678000	791000	734000	642000	2845000	711250	65265.48348
15%	204000	118000	187000	90000	599000	149750	54493.88435
17.5%	1400	1800	1700	2000	6900	1725	250.00000
20%	6	9	8	7	30	7,5*	1.29099
22.5%	2	1	2	1	6	1,5	57735
25%	0	0	0	0	0	0	0000
100% (KB)	0	0	0	0	0	0	0
OI	15400	14300	14900	13000	57600	14400	0

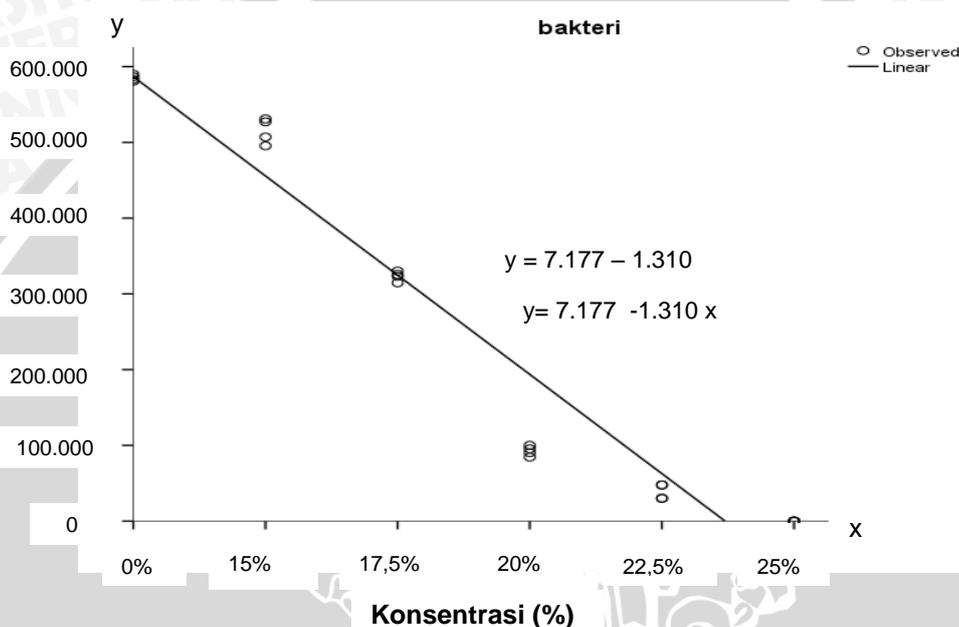
Ket : * = Menunjukkan hasil perolehan KBM yaitu pada konsentrasi 20%.



Gambar 5.4 Hasil *Streaking Shigella flexneri* pada Medium NAP untuk uji KBM

Ket: A : *Shigella flexneri* digoreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 0%; dan B : *Shigella flexneri* digoreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 15%. Tampak bakteri yang tumbuh (berupa bintik-bintik putih) pada konsentrasi 0% lebih banyak dibandingkan 15%; C : *Shigella flexneri* dengan konsentrasi ekstrak 17,5%; dan D : *Shigella flexneri* digoreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 20%. Bakteri tumbuh banyak pada konsentrasi 17.5 % daripada konsentrasi 20%; E dan F : *Shigella flexneri* dengan konsentrasi 22.5% masih tampak beberapa bakteri yang tumbuh sedangkan pada konsentrasi 25% sama sekali tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri; G : *Original Inoculum* (OI) yang digoreskan pada *plate*, digunakan sebagai acuan dalam menghitung KBM; H : Kontrol bahan yaitu 100% murni ekstrak daun pare tanpa pemberian bakteri *Shigella flexneri*. Diperoleh KBM 20%.

Berdasarkan Gambar 5.4 dan Tabel 5.1 diperoleh nilai KBM pada konsentrasi 20% dimana konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu $< 0.1\%$ dari OI (*Original Inoculum* : 14400 CFU/ml). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah bakteri semakin berkurang. Hal ini nampak lebih jelas pada gambar kurva 5.5



Gambar 5.5 Kurva Penurunan Jumlah Rata-Rata Bakteri *Shigella flexneri* terhadap Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* L.); dimulai dari Konsentrasi Rendah ke Konsentrasi Tinggi; y= jumlah bakteri, x= perlakuan dengan daun pare (*Momordica charantia* L.)

5.2 Analisis Data

Hasil Penelitian dianalisis dengan software SPSS versi 15.0 dan output hasil analisis dapat dilihat pada lembar lampiran. Adapun penjelasan dari hasil pengujian dapat dibahas sebagai berikut.

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Berdasarkan hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi data jumlah bakteri tidak normal ($p = 0.003$) dan berdasarkan hasil uji homogenitas,

data tidak homogen ($p = 0.000$), sehingga data jumlah bakteri tidak dapat dianalisis dengan uji beda *one way anova*.

Kemudian data jumlah ditransformasi dan dilakukan uji normalitas dan homogenitas kembali. Hasil uji normalitas dan homogenitas data transformasi jumlah bakteri masih menunjukkan tidak homogen ($p = 0.000$), meskipun distribusinya normal (*Kolmogorov-Smirnov*, $p = 0.090$). 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 Kruskal Wallis

Sama halnya dengan uji beda parametrik *one way anova*, uji non parametrik *Kruskal Wallis* dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah bakteri setelah terpapar oleh ekstrak daun pare dengan berbagai konsentrasi. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah bakteri yang signifikan jika $p < 0.05$. Dari uji beda *Kruskal Wallis*, terdapat perbedaan yang signifikan jumlah bakteri setelah terpapar oleh ekstrak daun pare pada berbagai konsentrasi ($p = 0.000$) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah bakteri.

5.2.3 Uji Mann Whitney

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi *Mann Whitney* guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam tabel 5.2

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney

Konsentrasi	0%	15%	17.5%	20%	22.5%	25%
0%	-	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029
15%	0.029	-	0.029	0.029	0.029	0.029
17.5%	0.029	0.029	-	0.029	0.029	0.029
20%	0.029	0.029	0.029	-	0.029	0.029
22.5%	0.029	0.029	0.029	0.029	-	0.029
25%	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	-

Ket : p <0,05 pada setiap kelompok perlakuan.

Terdapat perbedaan jumlah bakteri yang signifikan pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan (lihat tabel di atas, p <0.05). Dengan kata lain terdapat penurunan jumlah bakteri yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.).

5.2.4 Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi non parametrik *Spearman* digunakan untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*. Berdasarkan hasil analisis dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antimikroba terhadap *Shigella flexneri* ($r=-0.989$, $p=0.000$) mempunyai hubungan yang signifikan karena $p<0.05$ dengan arah korelasi negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) cenderung akan menurunkan pertumbuhan

bakteri *Shigella flexneri* yang dihasilkan pada agar plate. Nilai korelasi sebesar -0.989 dapat menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat antara pemberian ekstrak daun pare (*Momordica charantia* L.) dan penurunan pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*. Catatan : r = koefisien korelasi, menunjukkan kekuatan korelasi. Korelasi kuat ($r < 0.500$), korelasi sedang ($r = 0.500-0.599$), korelasi kuat ($r = 0.600-0.799$), korelasi sangat kuat ($r > 0.799$).

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 bakteri). Nilai R^2 (*R square*) dari tabel *Model summary* menunjukkan bahwa 93.9% ($0.939 \times 100\%$) dari variabel jumlah bakteri dipengaruhi oleh variable independen yakni paparan ekstrak. Atau persamaan garis regresi menggunakan metode kuadrat terkecil (*least square method*) yang di dapat adalah :

$$y = 7.177 - 1.310 x$$

Keterangan

y = jumlah bakteri;

x = perlakuan dengan ekstrak

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 *Shigella flexneri*

Penelitian ini menggunakan bakteri *Shigella flexneri* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum bakteri digunakan untuk penelitian, dilakukan beberapa uji identifikasi ulang terhadap *Shigella flexneri*. Dari uji pewarnaan Gram, didapatkan sel bakteri berbentuk batang gram negatif dan berwarna merah, sedangkan dari uji *Microbact Test* diperoleh hasil 76.51% artinya bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 76.51% benar-benar *Shigella flexneri*.

6.2 Kadar Hambat Minimal (KHM)

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisa ada atau tidaknya efek ekstrak metanol daun pare sebagai antimikroba terhadap *Shigella flexneri* secara *in vitro*. Ekstrak daun pare diperoleh melalui proses ekstraksi *soxhlet* dengan pelarut metanol 96%. Konsentrasi ekstrak daun pare yang digunakan adalah 0%, 15%, 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5%. Kisaran konsentrasi ini didapatkan melalui hasil penelitian pendahuluan terlampir.

Penelitian ini, didapatkan KHM dari ekstrak daun pare terhadap *Shigella flexneri* yaitu sebesar 17.5%, karena pada konsentrasi 17.5% kejernihan tabung mulai tampak dan ditandai dengan terlihatnya garis hitam dibelakang tabung, meskipun tidak sejernih konsentrasi 20%. Konsentrasi 17.5% menunjukkan kekeruhan yang mulai berkurang jika dibandingkan dengan konsentrasi 15%

yang sama keruhnya dengan kontrol kuman (0%), artinya pada konsentrasi 17.5% sudah mulai tampak aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri.

Beberapa penelitian tentang tanaman lain terhadap *Shigella flexneri* yang memiliki KHM yang berbeda yaitu minyak atsiri daun inggu menggunakan metode difusi agar yaitu sebesar 1% (Wulandari, 2011), dan penelitian lain dilakukan oleh Kurniati *et al.*, yaitu ekstrak etanol daun jambu biji merah, ekstrak etanol daun nilam, dan gambir dengan perolehan KHM sebesar 0.1% (Kurniati *et al.*, 2003). Perbedaan nilai KHM tersebut kemungkinan dapat disebabkan oleh rendahnya bahan kimia dalam daun pare yang terlarut oleh metanol 96% (sehingga dapat ditarik kesimpulan sementara bahwa bahan alam selain daun pare juga dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap *Shigella flexneri*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pare yang diekstrak dengan ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut metanol 96% terhadap *Shigella flexneri*. Pelarut metanol merupakan jenis pelarut terbanyak yang digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan hampir seluruh golongan metabolit sekunder baik polar (larut air) maupun non-polar (tidak larut air), seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin. Faktor ekstraksi penting adalah pelarut memiliki kepolaran yang sesuai dengan kepolaran senyawa yang akan diekstrak (Lenny, 2006; Rispaal *et al.*, 2005; Tiwari *et al.*, 2011).

Flavonoid merupakan salah satu antimikroba 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 bakteristatik yang bekerja melalui penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Trease dan Evans, 1978).

Saponin termasuk dalam fitokimia yang memiliki spektrum aktivitas sebagai antijamur dan antimikroba. Hal ini didasarkan pada kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein dan dinding sel sehingga terjadi denaturasi protein dan rusaknya dinding sel yang berakibat sel menjadi lisis (Davidson, 2005). RIPs (*Ribosome Inactivating Proteins*) merupakan sekelompok sitotoksin yang mempunyai aktifitas menghambat sintesis protein, antimikroba dan memodulasi aktivitas sistem imun (Rianawati, 1999).

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa triterpenoid diduga akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri 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 (Salni *et al*, 2011). *Alkaloid* memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1991).

Berdasarkan penelitian pendahuluan (terlampir), didapatkan konsentrasi perlakuan ekstrak daun pare terhadap *Shigella flexneri* yaitu 15%, 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5% untuk metode dilusi tabung sedangkan pada media NAP hanya menggunakan konsentrasi 15%, 17.5%, 20%, 22.5%, dan 25%. Konsentrasi 27.5% tidak dilakukan penggoresan pada media NAP karena kejernihan yang ditunjukkan pada tabung sama dengan konsentrasi 25%, sehingga peneliti hanya mengambil konsentrasi terkecil yaitu 25% untuk menghemat waktu, tenaga, dan biaya. Semakin jernih tabung berarti semakin sedikit jumlah bakteri yang tumbuh di dalamnya, ini menunjukkan adanya aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak daun pare sedangkan tabung yang keruh menunjukkan tidak adanya aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri.

Pada konsentrasi 15% dapat dilihat pertumbuhan bakteri yang sangat banyak, sedangkan konsentrasi 17.5% jumlah bakteri menurun secara signifikan. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 17.5% ekstrak daun pare baru bisa bekerja dengan baik pada dinding sel yang mengakibatkan lisisnya dinding sel dan berakhir pada lisisnya bakteri itu sendiri. Pada konsentrasi 15%, aktivitas senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun pare belum maksimal mempengaruhi dinding sel bakteri.

6.3 Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Setelah menentukan KHM, dilanjutkan dengan menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) secara kuantitatif dengan perhitungan bakteri *Shigella flexneri* pada NAP. Hasil dilusi tabung digoreskan pada NAP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penggoresan digunakan untuk menentukan KBM

(Kadar Bunuh Minimal). KBM ditentukan dengan melihat pertumbuhan bakteri < 0.1% dari OI (*original inoculum*). Dari penanaman pada NAP, didapatkan KBM 20% di mana masih didapatkan beberapa pertumbuhan atau jumlah bakteri < 0.1% dari OI (*original inoculum* = 14400 CFU/ml). Sebelum menentukan KBM, telah dilakukan perhitungan jumlah bakteri pada masing-masing konsentrasi.

Berdasarkan hasil analisis data uji regresi linier terlampir, pengaruh ekstrak daun pare terhadap jumlah bakteri *Shigella flexneri* sebesar 93.9%, sedangkan 6.1% keragaman jumlah bakteri *Shigella flexneri* yang dihasilkan pada medium NAP tersebut dipengaruhi oleh faktor lain seperti waktu penyimpanan ekstrak yang lama sehingga menurunkan daya kerjanya, resistensi bakteri terhadap ekstrak, atau suhu pada saat penyimpanan ekstrak saat penelitian.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun pare dengan bahan pelarut metanol 96% memiliki efek sebagai antimikroba terhadap bakteri gram negatif khususnya *Shigella flexneri*, sama halnya dengan ekstrak tanaman lain yang menggunakan bahan pelarut etanol (pada tanaman pare tidak hanya daunnya saja, tetapi bagian lain dari tanaman pare juga, seperti biji pare juga memiliki efek sebagai antimikroba dengan perbedaan kadar hambat pada penelitian yang telah disebutkan). Perbedaan kadar hambat tersebut dapat disebabkan oleh jenis tanaman pare yang digunakan, faktor tanah dan iklim di mana tanaman pare tumbuh, serta nutrisi yang diperoleh. Dari uraian di atas, dapat diketahui bahwa daun pare ternyata dapat bermanfaat bagi kesehatan. Dengan pembuktian bahwa kandungan kimia daun pare dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap *Shigella flexneri* secara *in vitro*.

Penelitian ini memiliki validitas internal yang tinggi sebab menunjukkan korelasi yang sangat kuat antar variabel saat dilakukan uji statistik. Namun, penelitian ini memiliki kelemahan yaitu validitas eksternal yang masih rendah, oleh sebab itu masih sulit diaplikasikan secara klinis. Uji lanjutan mengenai farmakologi, farmakokinetik, toksisitas, juga uji secara *in vivo* ekstrak ini perlu dilakukan. Perbedaan geografis alam antar negara dan antar daerah dalam suatu negara juga perlu diperhitungkan serta penentuan metode ekstraksi yang lebih efektif perlu dicari. Selain itu, pengujian terhadap efek samping jangka pendek dan jangka panjang juga perlu dilakukan dan diperhatikan. Maka, penelitian ini masih sangat dini untuk langsung diterapkan secara klinis dalam bidang pengobatan masyarakat.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa :

- a. Ekstrak metanol daun pare terbukti memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Shigella flexneri* secara *in vitro*. Hal ini ditunjukkan dengan seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak, semakin sedikit bakteri yang tumbuh.
- b. Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak daun pare terhadap *Shigella flexneri* didapatkan pada konsentrasi 17.5%.
- c. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak daun pare terhadap *Shigella flexneri* didapatkan pada konsentrasi 20%.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan pada penelitian ini adalah :

- a. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui prosentase bahan aktif flavonoid, saponin, alkaloid, dan triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak daun pare.
- b. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba ekstrak daun pare pada bakteri lain, fungi, maupun virus.
- c. Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat efektifitas ekstrak daun pare secara *in vivo* (hewan coba dan uji klinis) sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.

- d. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain, misalnya dengan cara dekok ataupun perasan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun pare sebagai antimikroba terhadap *Shigella flexneri*.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, N. *Diare Berdarah : Shigellosis*. Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNHAS. Makassar; 2007, halaman 1-7.
- Alfiyah. 2008. *Efektivitas Berbagai Konsentrasi Filtrat Daun Pare (Momordica charantia) sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri Pertumbuhan Bakteri Shigella dysenteriae secara In Vitro*. Malang.
- Arsyi, IA. 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.
- Baron, E.J and Fenegold, S.M. 1994. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 7th Ed.* USA : Mosby Company, p: 156-158.
- 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*. 22nd Ed. Terjemahan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Cordell, G.A., 1981, *Introduction to Alkaloids, Awiley-Interscience Publication, N.Y.* [online] <http://isjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/22979699.pdf>. Diakses pada tanggal 7 Desember 2011 pukul 7.55 WIB
- Dahlan, M. S. 2008. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Davidson. 2005. *Tanaman herbal*. (Online), <http://www.deherba.com/index.php>, diakses tanggal 28 Januari 2011.
- Dorland. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*, edisi 29, Alih bahasa: Huriawati Hartanto dkk, editor: Huriawati Hartanto dkk. Jakarta: EGC, halaman: 846; 1940.
- Dzen, S.J., Roekistiningsih, Santoso, S., Winarsih, S. 2003. *Bakteriologi Medik: Edisi Pertama*. Malang: Bayumedia Publishing, halaman: 216-223.
- 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.

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

Fitri, Y.M., 2012. *Manfaat Buah Pare (Momordica charantia L.)*. Kebumen.

Grayson, D. H., 2000, *Monoterpenoid*. University Chemical Laboratory. Trinity College. Dublin 2. Ireland.

Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Jilid II. Bandung: Penerbit ITB, halaman 4-5.

Kurniati, N.F., Elin, Y.S., Sigit, J.I. *Uji Efek Antidiare Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Merah (Psidium guajava L.), Ekstrak Etanol Daun Nilam (Pogostemon cablin Benth.), dan Gambir (Uncaria gambier Roxb.)*, (Online), Sekolah Farmasi ITB <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>, diakses 5 Februari 2013.

Lenny, S. 2006. *Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp*. *USU Repository*, (Online), <http://www.pdfsearcher.org/metanol-ekstraksi.html>, diakses 5 Mei 2012.

Lewis, D.A., Fields, W.N., Shaw, G.P. A Natural Flavonoid Present in Unripe Plantain Banana Pulp (*Musa sapientum L. var. paradisiaca*) Protects the Gastric Mucosa from Aspirin-Induced Erosions. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999; 65: 283-288.

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

Notobroto, H.B. 2005. *Metode Rata-rata Bergerak (Moving Average) dan Pemulusan Eksponensial (Exponential Smoothing)*. Materi Pelatihan Pemodelan Time Series, Angkatan I. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga. Surabaya.

Nafianti, S., Sinuhaji, B.A. 2005. *Resistensi Trimetoprim – Sulfametoksazol terhadap Shigellosis*. Medan: Sari Pediatri, Vol 7, No.1, halaman 39.

Nathania, D., 2008. *Shigella dysenteriae*. <http://mikrobia.files.wordpress.com/.../devi-nathania-0781141271.pdf> diakses tanggal 28-12-2011.

Nor, SMD. 2008. *Shigellosis*. Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Makassar.

Rianawati, T., Nurhadi, W. 1999. *Uji Kandungan Ribosome Inactivating Proteins (RIPs) pada Biji, Daun, dan Buah Pare (Momordica charantia L.) dengan*

Metode Pemotongan DNA supercoil. Buletin Penalaran Mahasiswa UGM, Vol.5, No.1, halaman 6-11.

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

Robinson, T., 1991, *The Organic Constituents of Higher Plants*, 6th Ed., Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.

Rukmana, R. 1997. *Budidaya Pare*. Yogyakarta: Kanisius.

Salni. Marisa, H. Mukti, R.W. 2011. *Isolasi Senyawa Antibakteri dari Daun Jengkol (Pithecolobium lobatum Bent) dan Penentuan Nilai KHM-nya*. Universitas Sriwijaya : Sumatera Selatan.

Siswandono dan Soekarjo, B. 1995. *Kimia Medisinal*. Cetakan Pertama. Surabaya: Penerbit Airlangga University Press, halaman 550-552.

Soedibyo, M., 1998, *Alam Sumber Kesehatan*. Jakarta: Balai Pustaka, halaman 257-258.

Solomon, 1983, *General Organic and Biological Chemistry*, McGraw-Hill, Inc., USA <http://isjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/22979699.pdf>. Diakses pada tanggal 13 Desember 2011 pukul 12.13 WIB.

Sudarsono., Gunawan, D dkk., 2002. *Tumbuhan Obat II*. Jogjakarta: Pusat Studi Obat Tradisional, halaman 114-8.

Subahar, Tati S., Lentera, tim. 2004. *Khasiat & Manfaat Pare: Si Pahit Pembasmi Penyakit*. Penerbit: Agromedia Pustaka

Sya'roni A., Hoesadha Y., 2006. *Disentri Basiler*. Buku Ajar Penyakit Dalam. FKUI: Jakarta.

Syamsuhidayat S.S., & Hutapea JR., 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jilid I*. Departemen kesehatan R.I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan : Jakarta.

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

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

Trease, G. E., and Evans., 1978. W. C. *Pharmacognocny*. Bailler Tindal. London. p:402 404.

Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., Inuma, 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.

Waji, R.A., Sugrani, A. 2009. *Makalah Ilmiah Organik Bahan Alam Flavonoid (Quercetin)*. Makassar.

Wulandari, R., 2011. *Isolasi, Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Ingg*. Universitas Sebelas Maret: Solo.

Zein ,U., Sagala, K.H., Ginting. J., 2004, *Diare Akut Disebabkan Bakteri*, [online] <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/3371/1/penydalam-umar5.pdf>. Diakses pada tanggal 6 Desember 2011 pada pukul 20.00 WIB.



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ira Maya Yudhaningtyas

NIM : 0910714037

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

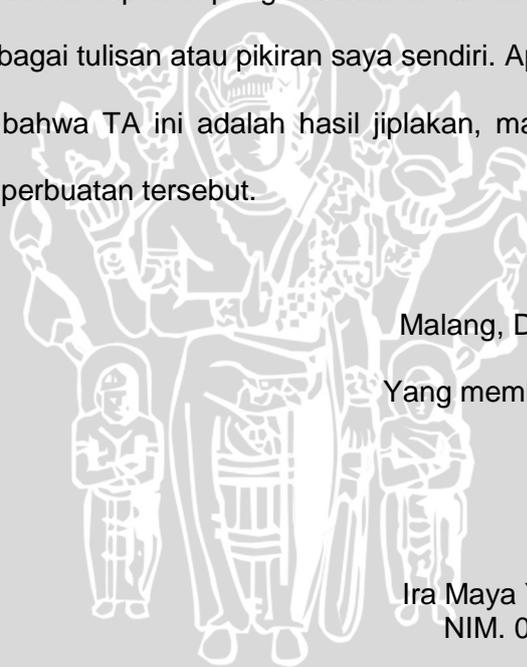
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa TA 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 TA ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Desember 2012

Yang membuat pernyataan

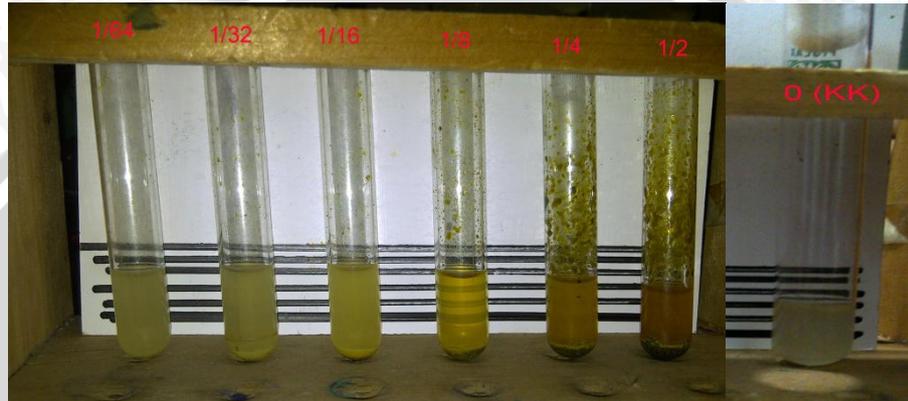
Ira Maya Yudhaningtyas
NIM. 0910714037



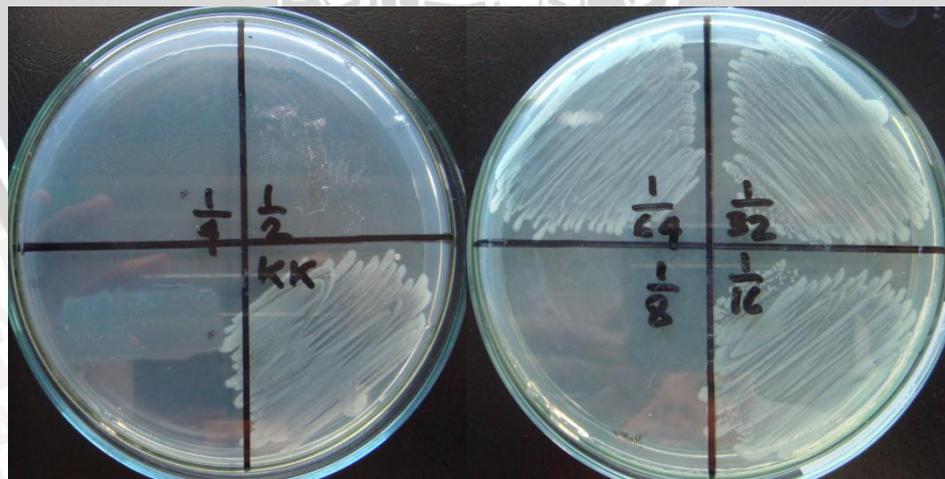
LAMPIRAN

Lampiran 1. Penelitian Pendahuluan

A. Pencarian Dosis



Ket: Metode Dilusi Tabung. Tabung terdiri dari 7 konsentrasi. Tabung 0% adalah tabung kontrol kuman sebagai pembanding kekeruhan dan penentuan nilai KHM. Tabung konsentrasi 1/2 dan 1/4 menunjukkan kekeruhan seperti kontrol bahan. Konsentrasi 1/8 sudah menunjukkan kejernihan 1/16, 1/32, dan 1/64 menunjukkan warna yang sama dengan tabung kontrol dibandingkan dengan tabung lainnya. Tabung 1/8 sudah menunjukkan kejernihan walaupun masih sedikit keruh. Nilai KHM didapat pada tabung konsentrasi 1/8.



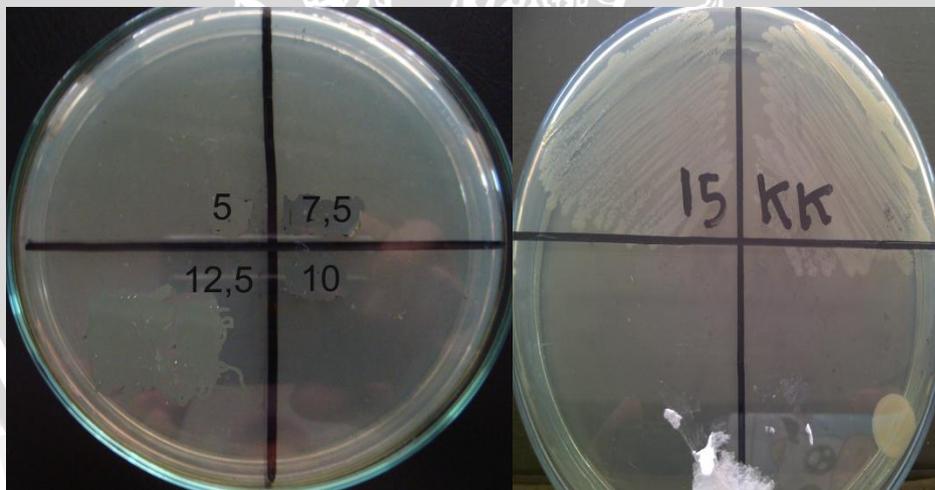
Ket: Metode pada Medium NAP melihat pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi. Pada konsentrasi $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, dan $\frac{1}{8}$ tidak didapatkan pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{32}$, dan $\frac{1}{64}$ masih terdapat pertumbuhan bakteri.

Nilai KBM didapat pada konsentrasi 1/8.

B. Perapatan Dosis 1



Ket: Metode Dilusi Tabung. Tabung terdiri dari 6 konsentrasi. Tabung 0% adalah tabung kontrol kuman sebagai pembandingan kekeruhan dan penentuan nilai KHM. Tabung 5%, 7,5%, 10%, dan 12,5% masih menunjukkan kekeruhan dibandingkan dengan tabung lainnya. Tabung 15% sudah menunjukkan kejernihan walaupun masih sedikit keruh. Nilai KHM didapat pada tabung konsentrasi 10%.

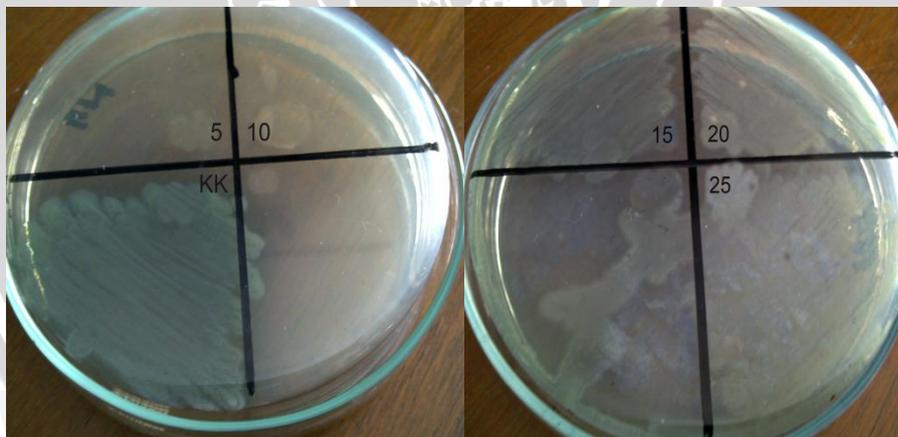


Ket: Metode pada Medium NAP melihat pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi. Pada konsentrasi 5%, 7.5%, 10% dan 12.5% tidak didapatkan pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 15% masih terdapat pertumbuhan bakteri. Nilai KBM didapat pada konsentrasi 5%.

C. Perapatan Dosis 2



Ket: Tabung terdiri dari 6 konsentrasi. Tabung 0% adalah tabung kontrol kuman sebagai pembanding kekeruhan dan penentuan nilai khm. Tabung 5% masih menunjukkan kekeruhan dibandingkan dengan tabung lainnya. Tabung 10% sudah menunjukkan kejernihan diikuti tabung 15%, 20%, dan 25%. Nilai KHM didapat pada tabung konsentrasi 10%.

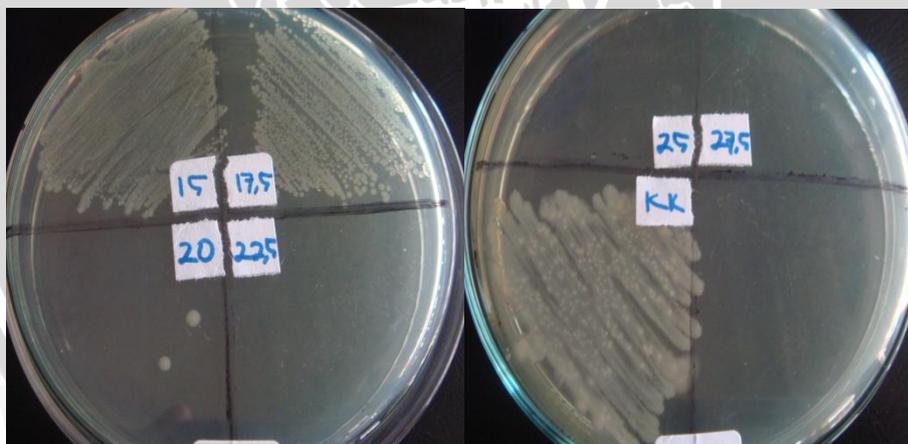


Ket: Metode pada Medium NAP melihat pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi. Pada konsentrasi 5% dan 10% tidak didapatkan pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 15%, 20%, dan 25% masih terdapat pertumbuhan bakteri. Nilai KBM didapat pada konsentrasi 5%.

D. Perapatan Dosis 3



Ket: Tabung terdiri dari 8 konsentrasi. Tabung 0% (KK) dan 100% (KB) adalah tabung pembanding kekeruhan dan penentuan nilai KHM. Tabung 15% masih menunjukkan kekeruhan dibandingkan dengan tabung lainnya. Tabung 17,5% sudah menunjukkan kejernihan diikuti tabung 20%, 22,5%, 25% dan 27,5%. Nilai KHM didapat pada tabung konsentrasi 17,5%.



Ket: Metode pada Medium NAP melihat pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi. Pada konsentrasi 15% dan 17,5% masih didapatkan banyak pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 20% didapatkan lebih sedikit pertumbuhan bakteri, dan pada konsentrasi 22,5, 25%, dan 27,5% tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Nilai KBM didapat pada konsentrasi 20%.

LAMPIRAN STATISTIK

Lampiran 2. Uji Normalitas dan Homogenitas sebelum Transformasi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi	jumlahbakteri
N		24	24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.5000	143789.0000
	Std. Deviation	1.74456	266922.8397
Most Extreme Differences	Absolute	.138	.369
	Positive	.138	.369
	Negative	-.138	-.295
Kolmogorov-Smirnov Z		.678	1.808
Asymp. Sig. (2-tailed)		.748	.003

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas Data sebelum Transformasi

Test of Homogeneity of Variances

jumlahbakteri			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
16.126	5	18	.000



Uji Normalitas dan Homogenitas sesudah Transformasi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi	bakteri
N		24	24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.5000	2.5918
	Std. Deviation	1.74456	2.35790
Most Extreme Differences	Absolute	.138	.250
	Positive	.138	.250
	Negative	-.138	-.175
Kolmogorov-Smirnov Z		.678	1.226
Asymp. Sig. (2-tailed)		.748	.099

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas Data sesudah Transformasi

Test of Homogeneity of Variances

bakteri

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.706	5	18	.000

Lampiran 3. Uji Beda Non Parametrik Kruskal-Wallis

Ranks			
	konsentrasi	N	Mean Rank
jumlahbakteri	0%	4	22.50
	15%	4	18.50
	17,5%	4	14.50
	20%	4	10.50
	22,5%	4	6.50
	25%	4	2.50
	Total		24

Test Statistics ^{a,b}	
	jumlahbakteri
Chi-Square	22.517
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
konsentrasi



Lampiran 4. Uji Multi Komparasi Non Parametrik Mann Whitney

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

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	0%	4	6.50	26.00
hbakt	17,5%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics ^a	
	jumlahbakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	0%	4	6.50	26.00
hbakt	20%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	0%	4	6.50	26.00
hbakt	22,5%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

	jumlahbakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.327
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.



Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	0%	4	6.50	26.00
hbakt	25%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	15%	4	6.50	26.00
hbakt	17,5%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

	jumlahbakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.391
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.



Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	15%	4	6.50	26.00
hbakt	20%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	15%	4	6.50	26.00
hbakt	22,5%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

	jumlahbakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.327
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.



Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	15%	4	6.50	26.00
hbakt	25%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	17,5%	4	6.50	26.00
hbakt	20%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.



Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	17,5%	4	6.50	26.00
hbakt	22,5%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

	jumlahbakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	17,5%	4	6.50	26.00
hbakt	25%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.



Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	20%	4	6.50	26.00
hbakt	22,5%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

	jumlahbakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	20%	4	6.50	26.00
hbakt	25%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.



Ranks

	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah	22,5%	4	6.50	26.00
hbakt	25%	4	2.50	10.00
eri	Total	8		

Test Statistics^a

	jumlahbakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: konsentrasi

b. Not corrected for ties.

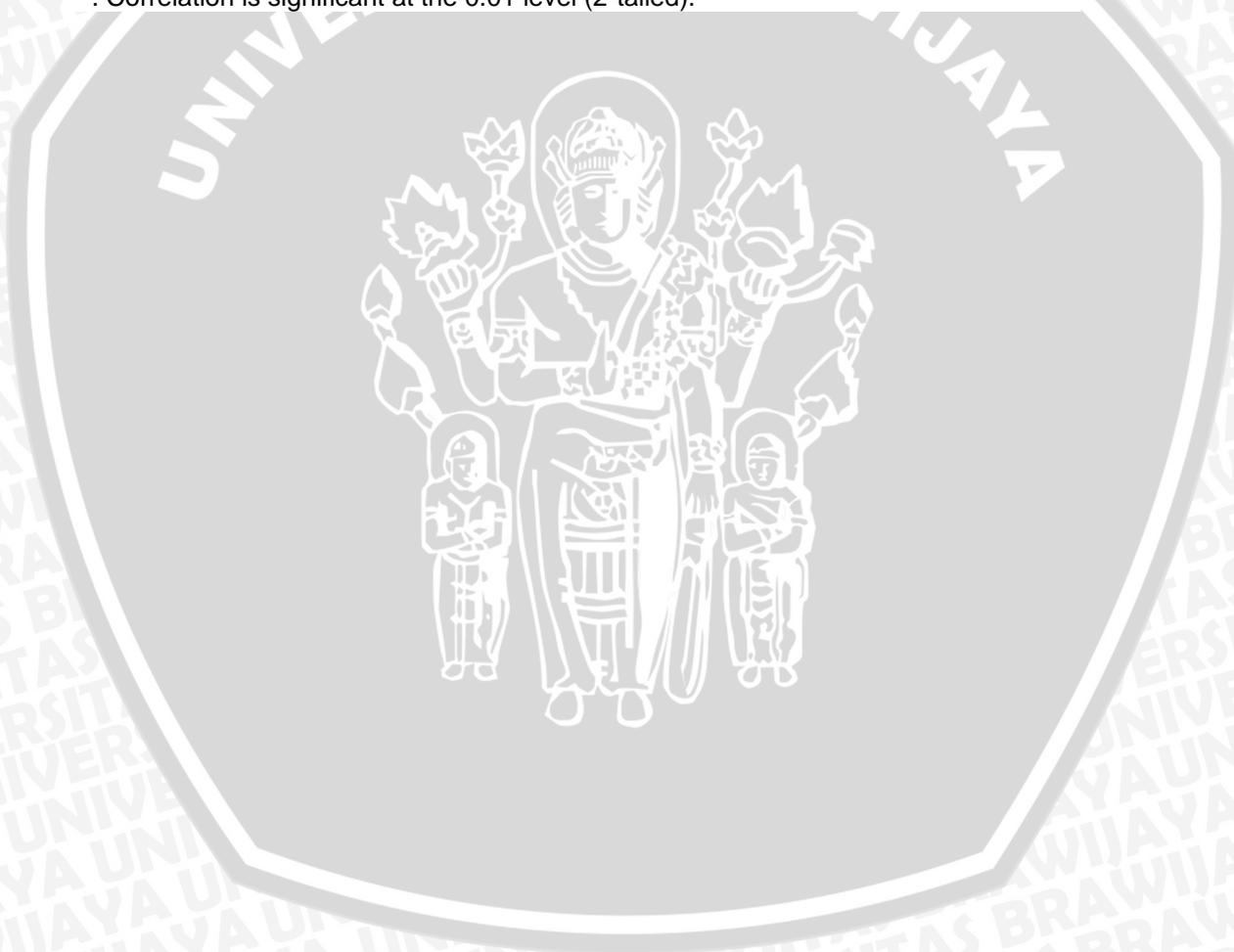


Lampiran 5. Uji Korelasi Non Parametrik Spearman

Correlations

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

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



Lampiran 6. Uji Regresi Linier

Variables Entered/Removed^a

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

a. Dependent Variable: bakteri

b. All requested variables entered.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.969 ^a	.939	.937	.59345

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	120.125	1	120.125	341.091	.000 ^b
	Residual	7.748	22	.352		
	Total	127.873	23			

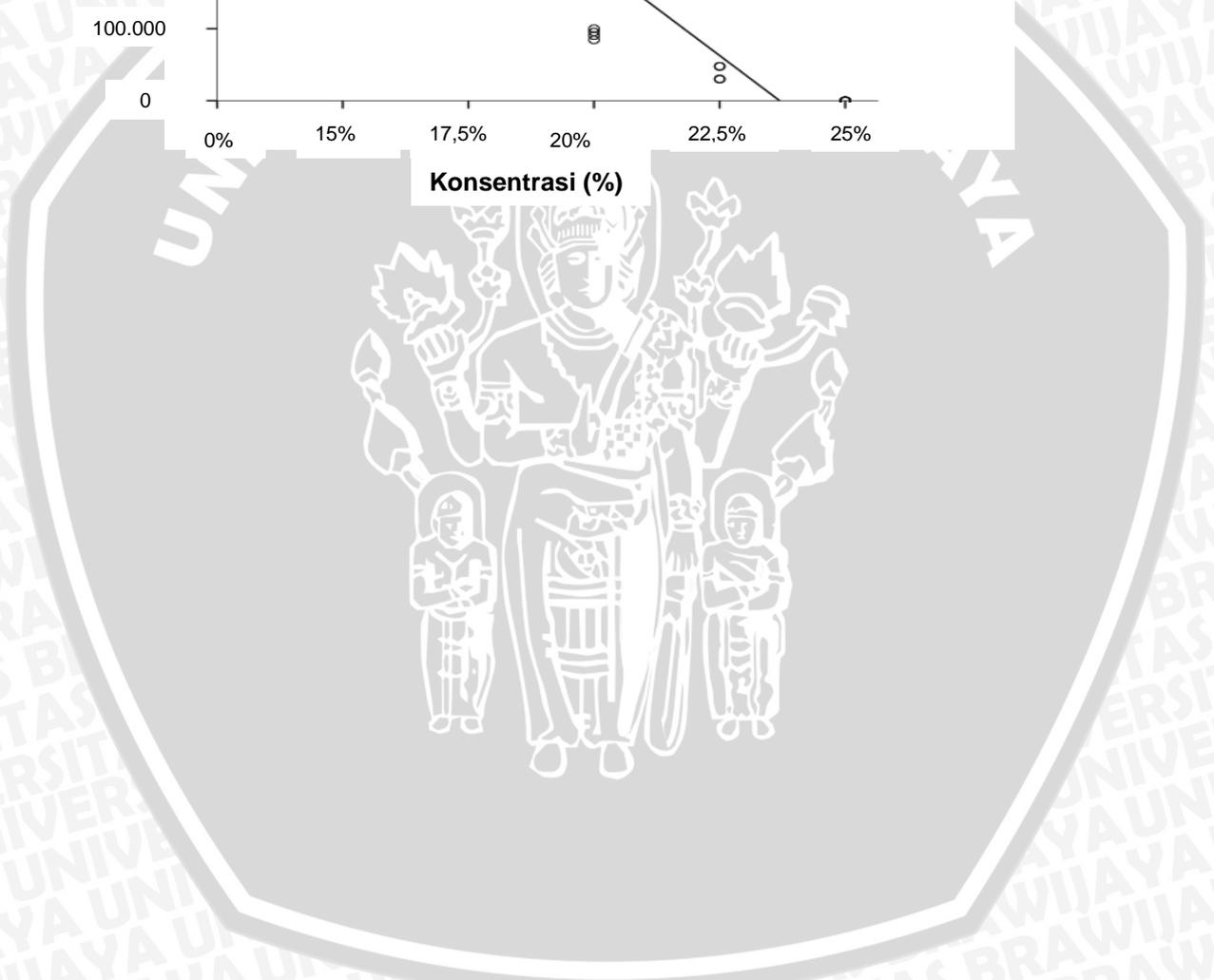
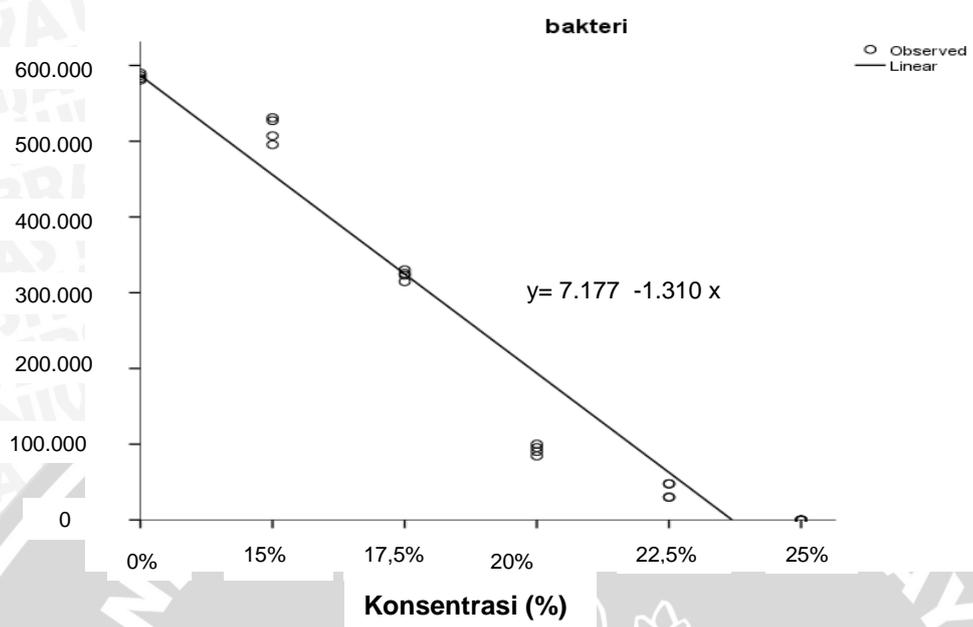
a. Dependent Variable: bakteri

b. Predictors: (Constant), konsentrasi

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	7.177	.276		25.981	.000
	konsentrasi	-1.310	.071	-.969	-18.469	.000

a. Dependent Variable: bakteri



Lampiran 7. Grafik Standart Deviasi

