

**EFEK EKSTRAK ETANOL AKAR CEPLUKAN (*Physalis
angulata* L.) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP
Escherichia coli (E.coli) SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

FELIX CENDIKIAWAN

NIM: 0910710071

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK ETANOL AKAR CEPLUKAN (*Physalis angulata* L.)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Escherichia coli* (*E.coli*) SECARA IN
VITRO

Oleh :

Felix Cendikiawan

NIM : 0910710071

Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 15 Februari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso Sp.MK
NIP. 19481220 198002 1 002

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

dr. Roekistiningsih MS. Sp.MK
NIP. 19490206 197803 2 00

dr. Rachmad Sarwo Bekti S.Ked
NIP. 19810619 200812 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono DTM&H, M.Sc, Sp.ParK.
NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas kasih karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Tugas Akhir dengan judul “Efek Ekstrak Etanol Akar Ceplukan (*Physalis angulata* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Escherichia coli* (*E.coli*) Secara *In Vitro*”.

Ketertarikan penulis dalam pemilihan topik ini didasari atas mudahnya tanaman ceplukan ini untuk didapatkan serta mudah untuk dibudidayakan di lingkungan sekitar penulis. Diare dan *E.coli* juga merupakan salah satu penyakit yang cukup sering dijumpai oleh penulis dalam proses pembelajarannya dan hal ini mendasari ketertarikan tersendiri bagi penulis untuk membentuk dan membangun pengobatan yang lebih aman dan efektif.

Proses penulisan Tugas Akhir ini merupakan sebuah pengalaman yang sangat berharga bagi penulis dan dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono S. Mintaroem SpPA, selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DMT&H, Msc, Sp.ParK selaku kepala jurusan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Dr. Roekistiningsih MS. Sp.MK selaku dosen pembimbing pertama atas ilmu, bimbingan, saran, dan ketelitiannya yang diberikan dengan penuh kesabaran dari awal hingga akhir sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

4. Dr. Rachmad Sarwo Bakti S.Ked selaku dosen pembimbing kedua atas ilmu, bimbingan dan saran yang diberikan dengan penuh kesabaran dan suka cita dalam proses membimbing penulisan serta analisis data karya ini.
5. Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso Sp.Mk selaku dosen penguji atas kesediaan untuk menguji dan membimbing dengan penuh kesabaran setiap proses yang telah dilakukan
6. Keluarga penulis ayah Thong Khai Lajj dan ibu Linda Gunawan Gomasjaya, kakak dr. Albert Cendikiawan. dan dr. Hans Cendikiawan, adik Reagan Cendikiawan atas doa, semangat, dukungan, dan pengertiannya selama pembuatan Tugas Akhir.
7. Mas Slamet, Mbak Uci, Mbak Puji, Mas Hendri, Bu Yati selaku staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk bantuannya yang sangat berharga dalam penyelesaian Tugas Akhir ini.
8. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya khususnya Dr. Sri Winarsih, Apt. MS. dan dr. Soemardini, MPd. serta Mbak Betty dan Mas Mijan di ruang sekretariat TA.
9. Sahabat penulis Bobby L. D. W, Dyah Lukito, Cendy Prastiwi. Bimo Mubyarto. Adma Febri, dan Nani Maryani Dinata serta rekan - rekan TRR karena semangat dan dukungan kalian penulis bisa segera menyelesaikan Tugas Akhir ini.
10. Teman-teman seperjuangan di laboratorium Mikrobiologi khususnya angkatan 2009 yang selama ini saling membantu dalam mengerjakan Tugas Akhir ini.
11. Teman – teman Komunitas Hope, khususnya sel Dieng yang selama ini mendoakan dan memahami setiap kesibukan penulis dalam proses

pembuatan Tugas Akhir ini.

12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu selama ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, sehingga penulis membuka diri dan sangat mengharapkan untuk segalakritik dan saran yang membangun. Semoga tugas akhir ini dapat diterima dan bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca yang membutuhkannya.

Malang, 15 Februari 2013

Penulis



ABSTRAK

Cendikiawan, Felix. 2012. Efek Antimikroba dari Ekstrak Etanol Akar Ceplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap *Escherichia coli* secara *In Vitro*. Tugas Akhir, Program Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) dr. Roekistiningsih, MS. Sp.MK. (2) dr. Rachmad Sarwo Bekti, S.Ked.

Escherichia coli (*E.coli*) adalah flora normal dalam tubuh kita terutama dalam usus kita. Kondisi ini sering membuat *E.coli* sebagai bakteri yang menyebabkan penyakit menular. Infeksi ini meningkatkan penggunaan antibiotik sebagai pengobatan utama dan akhirnya meningkatkan resisten terhadap antibiotik. Sehingga pengobatan alternatif harus dikembangkan, lebih efektif dan efisien. Ceplukan (*Physalis angulata* L) adalah tanaman herbal yang dikenal di Indonesia. Akar Ceplukan dipahami memiliki aktivitas antimikroba karena kandungannya yaitu flavonoid, polifenol, dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek antimikroba dari ekstrak akar Ceplukan (*Physalis angulata* L) terhadap *E.coli*. Penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental. Efek antimikroba ditentukan dengan metode dilusi tabung (tube dilution test) kemudian dilanjutkan dengan dioleskan pada Nutrient Agar Plate (NAP). Penelitian ini menggunakan *E.coli* yang diisolasi dari feses pasien. Ekstrak akar Ceplukan (*Physalis angulata* L) dibuat menggunakan metode maserasi dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarutnya. Konsentrasi ekstrak akar Ceplukan yang digunakan adalah 10,5%, 10,75%, 11%, 11,25%, 11,50% dan 11,75% yang diulang sebanyak empat kali. Uji statistik Kruskal - Wallis menunjukkan pengaruh yang signifikan antara perubahan konsentrasi ekstrak akar Ceplukan terkait penurunan jumlah koloni ($p < 0,05$). Uji korelasi juga menunjukkan ada korelasi tinggi antara konsentrasi ekstrak yang diberikan dan pertumbuhan bakteri yang bersifat inhibisi dan berbanding terbalik ($R = -0,985$; $p = 0,000$). Berdasarkan hasil penelitian, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak akar Ceplukan tidak dapat dievaluasi secara kualitatif tetapi Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah pada konsentrasi 11,50%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol dari akar Ceplukan (*Physalis angulata* L) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *E.coli*.

Kata kunci: *Escherichia coli* (*E.coli*), Akar Ceplukan (*Physalis angulata* L.), Antimikroba

ABSTRACT

Cendikiawan, Felix. 2012. Antimicrobial Effect of Ceplukan (*Physalis angulata* L.) Roots Ethanol Extract Against *Escherichia coli* In Vitro. Final Assignment, Medical Program Faculty of Medicine of Brawijaya University.
Supervisors: (1) dr. Roekistiningsih, MS. Sp.MK. (2) dr. Rachmad Sarwo Bekti, S.Ked.

Escherichia coli (*E.coli*) are a normal flora in our body especially in our intestine. This condition often makes the *E.coli* as a bacteria that cause infectious disease. This infection increases the usage of antibiotic treatment and also increases the resistant towards the antibiotic. So alternative treatments should be developed, more effectively and efficiently. Ceplukan (*Physalis angulata* L) is a well known herbal plant in Indonesia. Ceplukan's root is understood to have antimicrobial activity because it contains flavonoid, polyphenol, and alkaloid. This research aimed to study Ceplukan (*Physalis angulata* L) roots extract effect as antimicrobial agents against *E.coli*. This study was an experimental research. Antimicrobial effect is determined by using tube dilution test method then continued by streaking on Nutrient Agar Plate (NAP). This research used *E.coli* isolate taken from patient's feses. Ceplukan (*Physalis angulata* L) roots extract is made using maseration method with etanol 96% as solvent. The concentration of Ceplukan extract which used are 10.5%, 10.75%; 11%; 11.25%; 11.50% and 11.75% which were repeated four times. The statistic test showed significant difference between the changes of Ceplukan extract concentration and the decreasing number of colonies ($p < 0,05$). Correlation test shows there is high correlation between extracts and bacteria growth ($R = -0,985$; $p = 0,000$). Based on the research result, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Ceplukan roots extract cannot be evaluated qualitative but Minimum Bactericide Concentration (MBC) concentration is 11.50%. The conclusion of this research is Ceplukan (*Physalis angulata* L) roots ethanol extract has an antimicrobial effect against *E.coli*.

Keywords: *Escherichia coli* (*E.coli*), Ceplukan (*Physalis angulata* L.) Roots, Antimicrobial

DAFTAR ISI

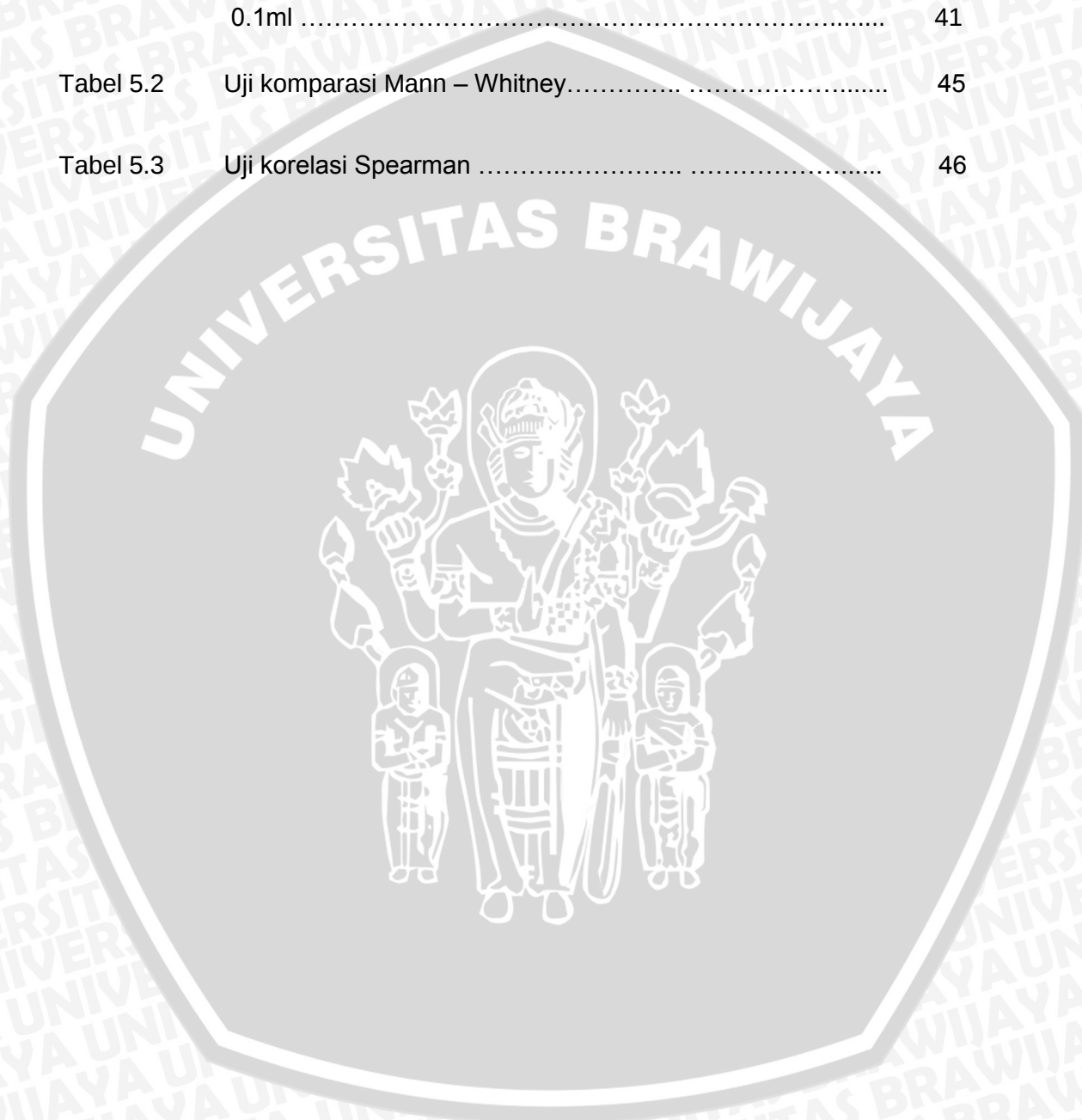
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	lii
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Grafik	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>)	5
2.1.1 Taksonomi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Perbenihan dan Reaksi Kimia	6
2.1.4 Struktur Antigen	6
2.1.5 Penentu Patogenitas	7
2.1.5.1 Faktor Permukaan	7
2.1.5.2 Verotoksin	8
2.1.5.3 Enterotoksin	9
2.1.6 Manifestasi Klinis	10
2.1.6.1 Infeksi Saluran Kemih	10
2.1.6.2 Diare	10
2.1.6.3 Sepsis	12
2.1.6.4 Meningitis	12
2.1.7 Diagnosis Laboratorium	13

2.1.7.1	TSI Agar	13
2.1.7.2	IMVIC MU Test	14
2.2	Ceplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	14
2.2.1	Taksonomi	15
2.2.2	Morfologi	15
2.2.3	Kandungan <i>Physalis angulata</i> L.	16
2.2.4	Manfaat Ceplukan	17
2.2.5	Karakteristik Antimikroba Ceplukan	18
2.2.6	Mekanisme Antimikroba Ceplukan	18
2.3	Cara Pemeriksaan Efektivitas Antimikroba	18
2.3.1	Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal	19
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		
3.1	Kerangka Konsep.....	20
3.2	Hipotesis Penelitian.....	22
BAB 4 METODE PENELITIAN		
4.1	Desain Penelitian	23
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian	23
4.3	Sampel Penelitian	23
4.4	Besar sampel	23
4.5	Variabel Penelitian.....	24
4.5.1	Variabel Bebas	24
4.5.2	Variabel Tergantung	24
4.6	Definisi Operasional	24
4.7	Alat dan Bahan	26
4.7.1	Alat	26
4.7.2	Bahan	28
4.8	Prosedur penelitian	28
4.8.1	Pembuatan Ekstrak Etanol Akar Ceplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	28
4.8.2	Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	30
4.8.3	Suspensi Bakteri Uji	32
4.8.4	Uji Antimikrob Ekstrak Etanol Akar Ceplukan (<i>Physalis angulata</i> L.)	33

4.9 Analisis Data	34
4.9.1 Skema Prosedur	35
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian	36
5.1.1 Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>)	36
5.1.2 Menentukan Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum	37
5.1.2.1 Menentukan Kadar Hambat Minimum	37
5.1.2.2 Menentukan Kadar Bunuh Minimum	39
5.2 Analisa Data	43
5.2.1 Uji Statistik Data	43
5.2.2 Analisis <i>Non Parametrik Kruskal – Wallis</i>	44
5.2.3 Uji Mann – Whitney	44
5.2.4 Pengujian Korelasi dan Regresi	45
BAB 6 PEMBAHASAN	44
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	54
7.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	56
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	60
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri <i>E.coli</i> pada NAP per 0.1ml	41
Tabel 5.2	Uji komparasi Mann – Whitney.....	45
Tabel 5.3	Uji korelasi Spearman	46



DAFTAR GAMBAR

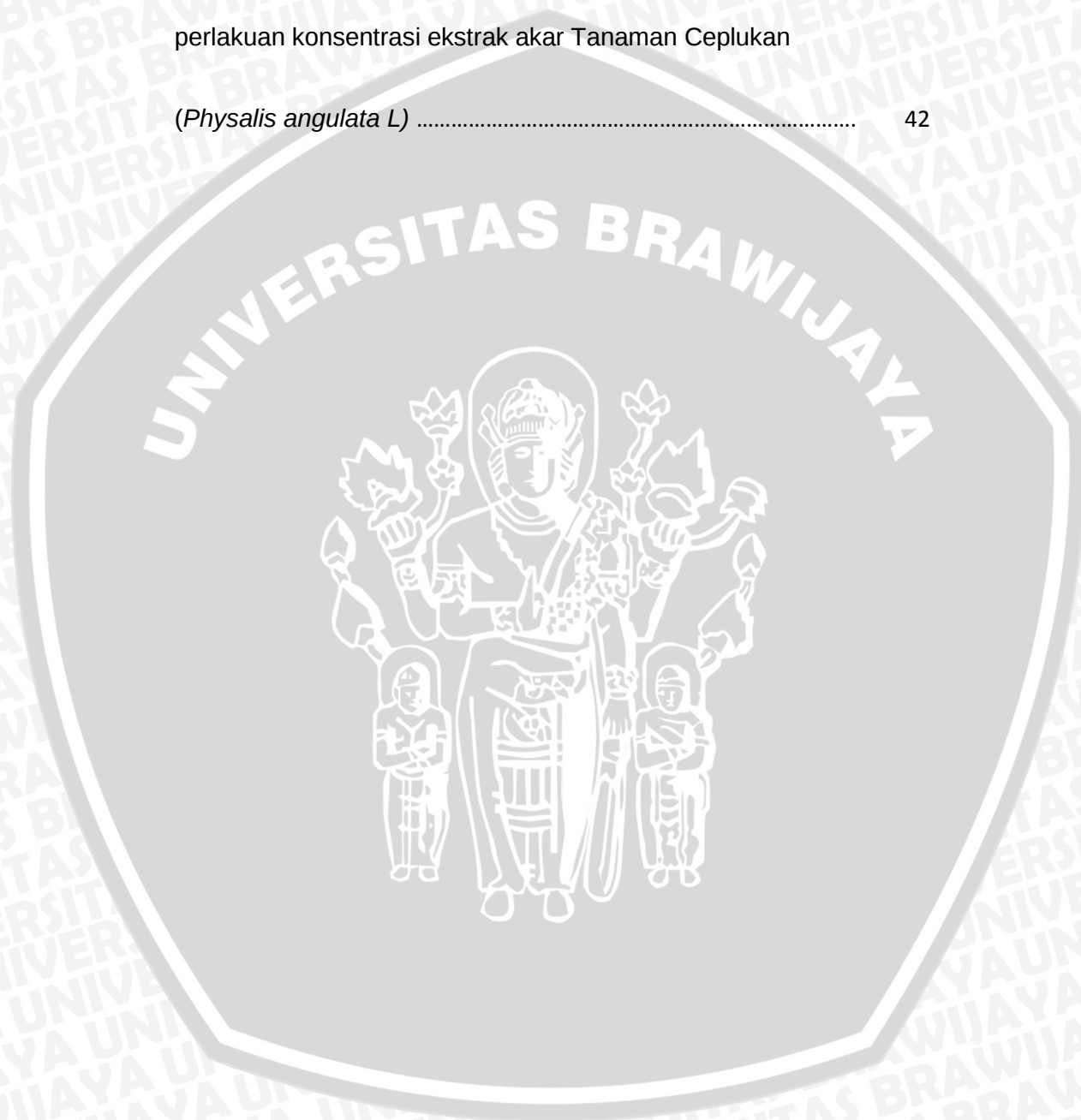
Gambar 2.1 Bakteri <i>E coli</i>	5
Gambar 2.2 Tanaman <i>Physalis angulata L</i>	15
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	20
Gambar 4.1 Skema Prosedur	35
Gambar 5.1 Identifikasi bakteri <i>E.coli</i> menggunakan pengecatan Gram	36
Gambar 5.2 <i>E.coli</i> yang menunjukkan <i>metallic sheen</i> pada media EMB	37
Gambar 5. 3 Identifikasi bakteri <i>E.coli</i> dengan menggunakan IMVIC Test dan TSI Agar	37
Gambar 5.4 Perbandingan tingkat kekeruhan tiap konsentrasi ekstrak pada medium MH Broth	38
Gambar 5.5 Evaluasi jumlah koloni bakteri <i>E.coli</i> pada media NAP dimulai dari dosis 0% sampai 11.75%	40

DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1 Grafik rata-rata jumlah koloni bakteri *E.coli* dalam kelompok

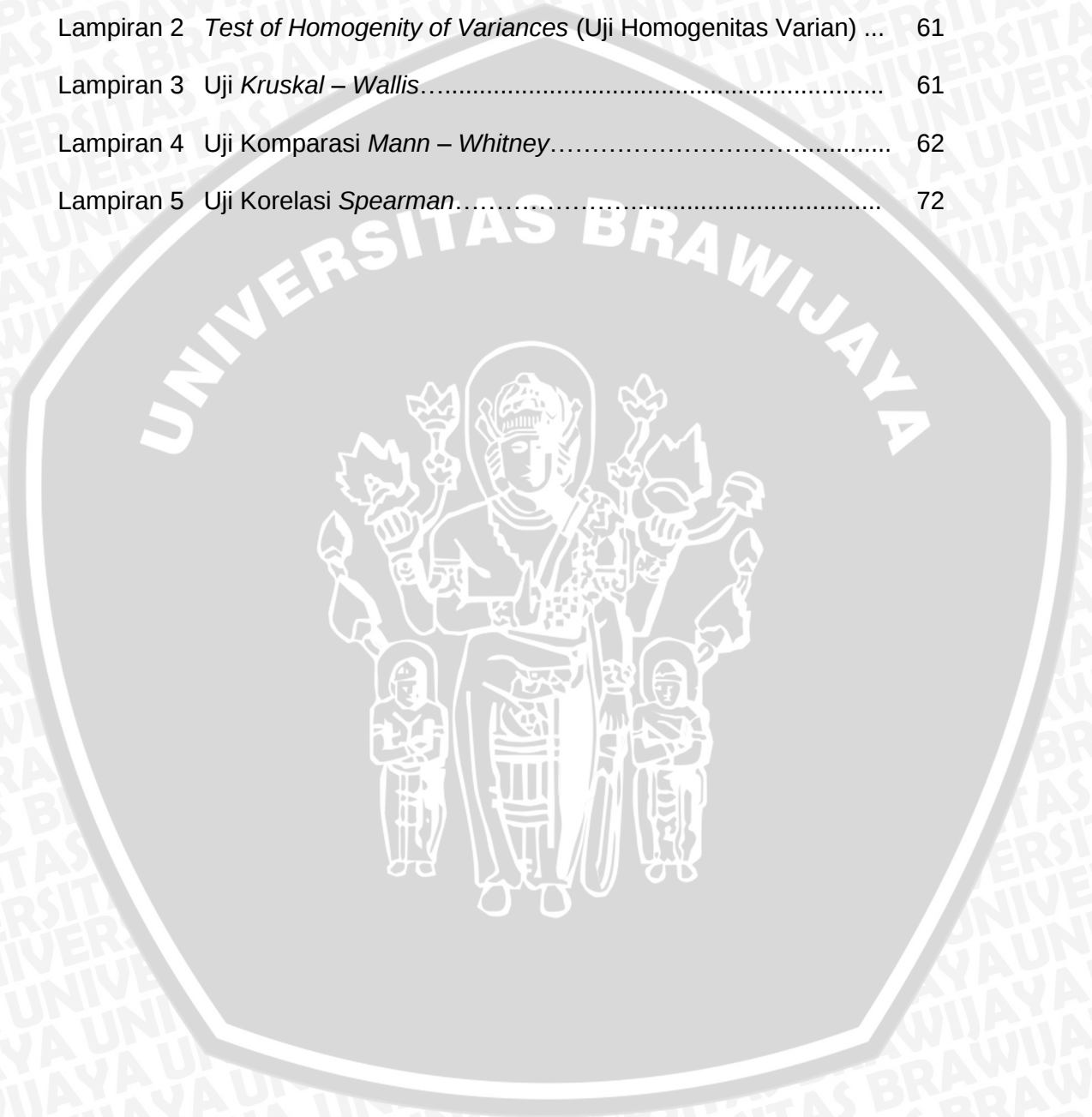
perlakuan konsentrasi ekstrak akar Tanaman Ceplukan

(*Physalis angulata L*) 42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	<i>Test of Normality (Uji Normalitas Data)</i>	61
Lampiran 2	<i>Test of Homogeneity of Variances (Uji Homogenitas Varian) ...</i>	61
Lampiran 3	<i>Uji Kruskal – Wallis</i>	61
Lampiran 4	<i>Uji Komparasi Mann – Whitney</i>	62
Lampiran 5	<i>Uji Korelasi Spearman</i>	72



DAFTAR SINGKATAN

ATP	= Adenosine Triphosphate
BPH	= Benign Prostate Hypertrophy
cAMP	= cyclic Adenosine Monophosphate
DNA	= Deoxyribonucleic Acid
EAEC	= enteroadherent <i>E.coli</i>
EHEC	= enterohemorrhagic <i>E.coli</i>
EIEC	= enteroinvasif <i>E.coli</i>
EMB	= eosin methylene blue
EPEC	= enteropathogenic <i>E.coli</i>
ETEC	= enterotoxigenic <i>E.coli</i>
HIV	= Human Immunodeficiency Virus
HUS	= Haemolytic Uremia Syndrome
IMVIC MU	= Indole production, Methyl red test, Voges – prosakuer test, Citrate production, Motility test, Urease test
KBM	= Kadar Bunuh Minimum
KHM	= Kadar Hambat Minimum
LPS	= Lipopolisakarida
LT	= thermo – labile
MH broth	= Mueller Hinton broth
NAP	= Nutrient Agar Plate
NCAM	= Neural Cell Adhesion Molecules
SLT	= Shigalike Toxin
ST	= thermo – stabil
TSI	= Triple Sugar Iron
VT	= verotoxin

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Berdasarkan pola penyebab kematian semua umur, diare masih merupakan penyebab kematian pada peringkat ke-13. Sedangkan berdasarkan penyakit menular, diare merupakan penyebab kematian peringkat ke-3 setelah Tuberculosis dan Pneumonia. Juga didapatkan bahwa penyebab kematian bayi (usia 29 hari – 11 bulan) yang terbanyak adalah diare. Demikian pula penyebab kematian anak balita (usia 12 – 59 bulan) terbanyak adalah diare (Depkes, 2011)

Diare menyerang anak pada tahun – tahun pertama kehidupannya. Beberapa organisme biasanya menginfeksi saluran pencernaan melalui makanan dan minuman yang telah tercemar oleh organisme tersebut. Beberapa organisme tersebut bisa berupa bakteri maupun virus. Bakteri patogen seperti *E.coli* merupakan contoh bakteri patogen yang sering menyebabkan epidemic diare pada anak di Indonesia. (Depkes, 2011)

E.coli merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia. Walaupun terkesan sebagai suatu flora normal yang aman dan tidak menimbulkan masalah kesehatan, *E. coli* tetap bisa menyebabkan beberapa masalah yang cukup berbahaya seperti diare yang disertai darah, infeksi saluran kemih, sepsis, meningitis. (Dzen dkk, 2010)

Menghadapi infeksi seperti ini, sering kali pengobatan antimikroba per oral dapat menurunkan jumlah populasi bakteri di usus. Tapi tetap ada

kemungkinan terjadinya resistensi, terutama pada penderita yang sebelumnya telah diberi antimikroba berulang. Penggunaan obat – obatan sintetis ini juga cukup berakibat terhadap perekonomian pasien. (Depkes, 2011)

Oleh karena itu dibutuhkan terobosan baru dalam hal pengobatan. Salah satu caranya dengan menggunakan bahan – bahan yang disediakan oleh alam di sekitar kita. Penelitian ini mencoba untuk mengangkat bahan alami yang ada di sekitar kita seperti tanaman ceplukan (*Physallis angulate L*).

Tanaman ini mudah didapatkan di sekitar kita. Di Pulau Jawa, tumbuhan ini tumbuh secara liar di kebun, tepi jalan, maupun di semak. Sayangnya tanaman ini kurang dimanfaatkan, sehingga perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam tentang manfaat dan pengaruhnya terhadap *E. coli*. Akar ceplukan seringkali tidak dimanfaatkan oleh masyarakat bahkan seringkali dibuang begitu saja. Suatu penelitian telah dilakukan di Brazil menunjukkan bahwa keberadaan dari akar tanaman ceplukan ini cukup berguna bagi masyarakat setempat di sana. Oleh karena peneliti tertarik untuk mencari kegunaan – kegunaan lain dari akar ceplukan yang masih belum diketahui yaitu efeknya sebagai antimikroba. (Bastos. *et al*, 2005)

Dengan adanya penelitian ini maka diharapkan masyarakat umum dapat meningkatkan penggunaan tanaman ceplukan sebagai antimikroba alternatif dibandingkan antimikroba sintetis yang telah ada.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak akar ceplukan (*Physallis angulata L*) mempunyai efek antimikroba terhadap kuman *Escherichia coli* secara *in vitro* ?

1.3 Tujuan Penelitian

- Tujuan Umum :

Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol akar ceplukan (*Physalis angulata L*) mempunyai efek antimikroba terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*.

- Tujuan khusus :

1. Untuk mengetahui berbagai konsentrasi ekstrak etanol akar ceplukan (*Physalis angulata L*) terhadap pertumbuhan *E.coli*
2. Untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak etanol akar Ceplukan (*Physallis angulata L.*) terhadap bakteri *E.coli*.
3. Untuk mengetahui korelasi antara konsentrasi ekstrak etanol akar Ceplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah koloni bakteri *E.coli*.

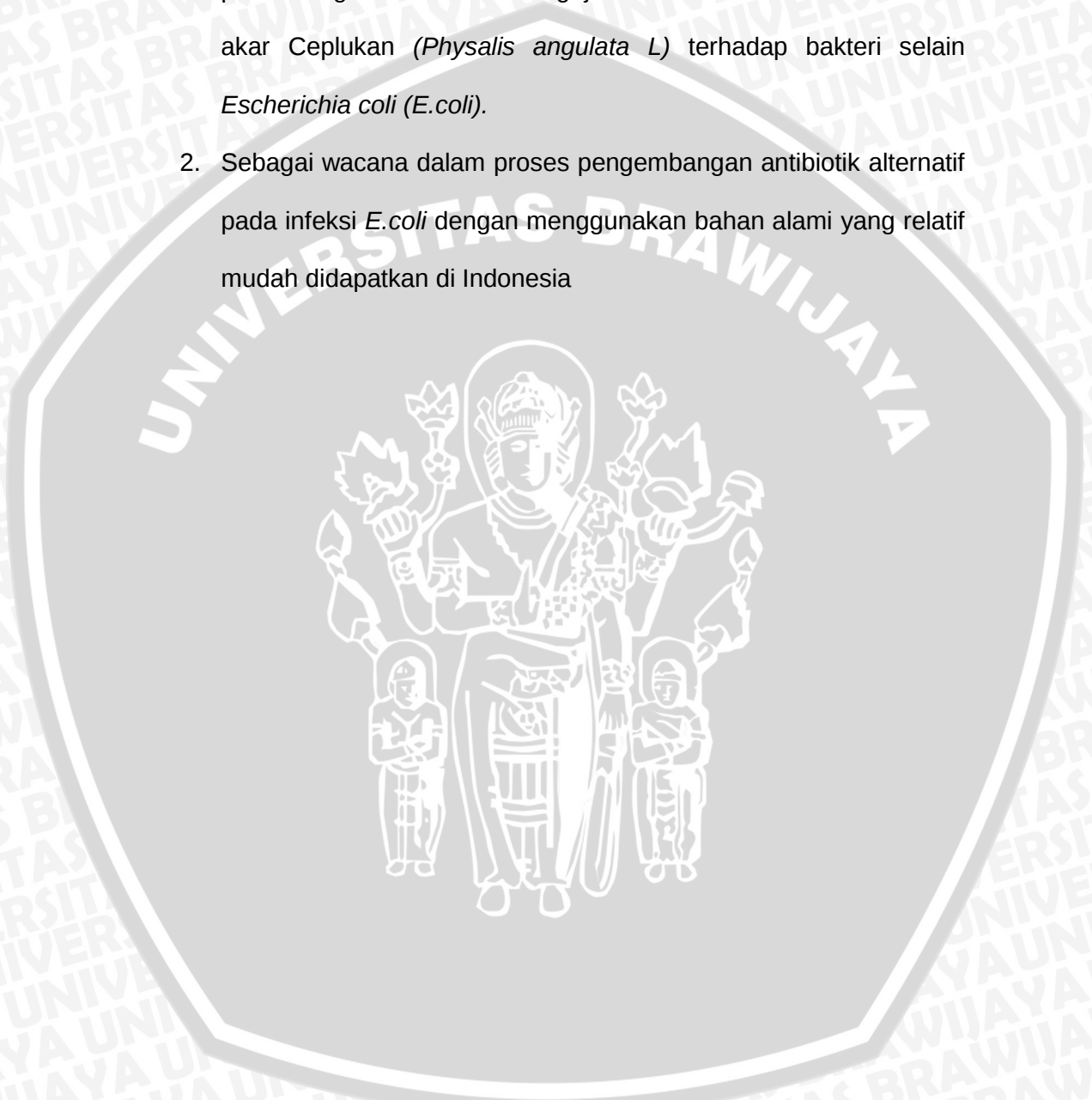
1.4 Manfaat Penelitian

- Manfaat Akademis

1. Mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya mengenai bahan alam yang berguna sebagai antimikroba
2. Memberikan informasi yang telah diuji kebenarannya pada dunia pendidikan dan masyarakat tentang ada tidaknya efek antimikroba dari ekstrak akar Ceplukan (*Physalis angulata L*).
3. Mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak akar ceplukan (*Physalis angulata L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* dan juga konsentrasi yang dapat digunakan sebagai Kadar Hambat Minimal maupun Kadar Bunuh Minimal.

- **Manfaat Praktis**

1. Dapat digunakan sebagai dasar penelitian atau bahan pertimbangan lain untuk menguji efek antimikroba ekstrak etanol akar Ceplukan (*Physalis angulata L*) terhadap bakteri selain *Escherichia coli* (*E.coli*).
2. Sebagai wacana dalam proses pengembangan antibiotik alternatif pada infeksi *E.coli* dengan menggunakan bahan alami yang relatif mudah didapatkan di Indonesia



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Escherichia coli* (*E.coli*)



Gambar 2.1. Bakteri *E.coli* (Ross. 2006)

2.1.1. Taksonomi

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>)

2.1.2. Morfologi

Umumnya bakteri *E.coli* berbentuk batang (basil), berukuran kecil (0,5x3,0µm), bersifat Gram Negatif dan tidak membentuk spora. *E.coli* dapat bergerak (motil) dan pergerakannya itu disebabkan karena memiliki flagella yang khas di seluruh badan disebut peritrikus. (Brooks, *et al.* 2010).

Dinding selnya terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS) dan tersusun pula sebagai lapisan – lapisan. Lapisan murein - liporprotein hanya 20% dan menyebabkan reigiditas seluler dari bakteri ini. Sedangkan sisanya 80% merupakan lapisan *lipid bilayer*. LPS yang merupakan pembentuk dinding sel utama mengandung suatu rantai polisakarida

khusus yang akan menjadi dasar untuk menentukan antigenisitas dan bertanggung jawab untuk aktivitas endotoksinnya. (Brooks *et al*, 2010)

2.1.3. Perbenihan dan Reaksi Biokimia

E.coli mudah tumbuh pada media – media tumbuh yang sudah sering digunakan pada laboratorium. *E.coli* juga memberikan hasil positif pada tes Indol. Selain itu juga pada tes lisin – dekarboksilase dan fermentasi manitol. Selain itu, *E.coli* juga memproduksi gas dari glukosa. (Dzen dkk, 2010)

Kita dapat melakukan pengidentifikasian yang cukup mudah melalui isolat dari feses karena akan memberikan efek β – hemolisis pada *blood agar*. Selain itu dapat kita lihat dengan morfologi koloni yang cukup khas, seperti kilatan logam (*metallic sheen*) apabila kita menggunakan *EMB agar*. Selain itu *E.coli* akan memberikan hasil positif pada β – glukoronidase, terutama dengan substrat 4 - methyl – umbelliferyl – β – glucoronide (MUG) (Brooks *et al*, 2010)

2.1.4. Struktur Antigen

Pembagian kelompok *E.coli* umumnya berdasarkan hasil dari reaksi serologis yang ditemukan. Umumnya yang ditemukan pada dinding sel dari *E.coli* adalah tipe antigen O. (Stenutz *et al*, 2006). Perbandingan jumlah antigen O, H, dan K, menjadi salah satu variasi strain dan akan membedakan dalam mekanisme patogenesis.

Penentuan profil antigen ini berhubungan dengan epidemiologi dan jenis penyakit diare. Contohnya seperti serotipe O157 : H7 yang dapat menyebabkan kolitis hemoragik. Selain itu ada pula O111a, O111b:H2 berhubungan dengan diare infantil. Ada juga O124:H30 yang bersifat entero – invasif dan menyebabkan disentri basiler yang mirip seperti disebabkan oleh *Shigella*. (Dzen, dkk. 2010)

2.1.5. Penentu Patogenisitas

E.coli terdiri dari berbagai macam strain yang pada akhirnya dapat menginfeksi berbagai sistem host dan memproduksi berbagai macam toksin yang dapat diekskresikan. Faktor – faktor ini akan membedakan jenis infeksi maupun tempat infeksi.

2.1.5.1 Faktor Permukaan

E.coli yang menjadi isolat seringkali ditemukan mempunyai kapsul yang lebih dikenal dengan antigen tipe K1. Kapsul K1 memiliki keunikan diantar antigen *E.coli* karena kapsul ini tahan terhadap proses pembunuhan baik oleh neutrofil maupun serum normal manusia. K1 juga bisa membantu kelangsungan hidup mikroorganisme dalam darah dan cairan spinalneonatus karena kemiripannya dengan bentuk embrionik asam polisialat dari *neural cell adhesion molecules (NCAM)*. (Farasat, *et all.* 2012). Selain itu dapat pula kita gunakan suatu proses pengindetifikasian dengan menggunakan tes sensitivitas pada bakterioophage dan tes seroaglutinasi.(United States Department of Agriculture. 2012)

Tipe antigen O juga cukup penting seperti halnya hasil produksi fimbria tipe S yang memiliki predileksi ikatan pada resptor pada endothelium vaskuler dan lapisan epitel di *plexus choroidues* dan *ventriculus*.(United States Department of Agroculture. 2012)

E.coli memproduksi berbagai macam fimbria yang akan digunakan untuk melekat pada jaringan host. Fimbria ini terbagi menjadi 2 kelompok besar yaitu *mannose resistant fimbriae* dan *mannose sensitive fimbriae*. Kelompok fimbria yang sensitif terhadap reseptor yang mengandung manosa pada tubuh sering kali disebut sebagai fimbria tipe I atau *common pili*, karena cukup umum

ditemukan pada jenis *E.coli*. Beberapa pakar meyakini bahwa fimbria ini cukup penting untuk berkolonisasi pada kandung kemih apabila fimbria yang lain tidak ada. Selain itu bisa juga berikatan pada mukosa usus besar, *buccal cavity*, dan vagina. (Brooks, *et al.* 2010). Pelekatan antara fimbria tipe I dengan reseptor pada tubuh kita yang mengandung manosa ini dapat diatasi dengan pemberian D-manosa dan α – *methyl* – D – *mannopyranoside* pada bakteri *E.coli* (Stapleton, 2005).

Fimbria yang satunya mempunyai faktor – faktor yang lebih kompleks dalam hal berikatan dengan reseptor tubuh. Fimbria ini termasuk materi – materi permukaan lainnya yang dapat berpengaruh dalam hal perlekatan dengan reseptor tubuh, disebut dengan adhesin. Salah satu contoh fimbria tipe *mannose resistant* ini adalah fimbria tipe P, disebut demikian karena kemampuannya untuk berikatan dengan *human P blood group antigens*. Antigen ini mengandung berbagai macam gugus seperti gugus *Gal* (α 1-4) *Gal* β yang terdapat pada sejumlah sel manusia seperti sel darah, ginjal, dan kandung kemih. Tampaknya keberadaan dari fimbria ini yang menjadi faktor predisposisi terjadinya *urinary tract infections* (Stapleton, 2005).

Perlekatan dari *E.coli* pada sel target inilah yang menyebabkan perubahan secara struktural pada sel host, termasuk gangguan permeabilitas seluler yang akhirnya berakibat diare. (Food Standards Agency, 2011)

2.1.5.2. Verotoksin (*shigalike toxins*)

E.coli dapat diinfeksi oleh bakteriofaga yang akhirnya menyebabkan produksi sitotoksin yang disebut verotoksin. Awalnya *E.coli* jenis ini lebih dikenal dengan sebutan nama *Verotoxin – producing E.coli (E.coli)*, tapi saat ini telah lebih sering dikenal dengan sebutan *Enteroinvasive E. coli* (EIEC). Strain ini

memproduksi sitotoksin yang cukup mirip dengan shigatoksin sehingga disebut *shigalike toxins* (SLT). Tetapi dapat pula digunakan istilah VT – 1 dan VT – 2. Walaupun memiliki sifat biologis yang hampir sama, tetapi ada perbedaan yang cukup mencolok yaitu VT – 2 tidak dapat dinetralkan dengan antibody yang dapat bereaksi dengan shigatoksin yang sebenarnya. Salah satu contohnya yang cukup terkenal adalah serotype O157:H7 . (Dzen. dkk, 2010)

2.1.5.3. Enterotoksin

Beberapa galur *E.coli* memainkan peranan penting juga dalam penyakit – penyakit gastrointestinal sedangkan pathogenesis diare cukup bervariasi dan kompleks. Salah satu mekanisme pathogenesisnya adalah melalui enterotoksin. Target organ yang diserang adalah usus kecil, dan hasilnya adalah diare akibat pengeluaran cairan dan elektrolit. Beberapa galur *E.coli* memiliki plasmid – plasmid tertentu yang akan menyandi produksi toksin.

Galur *E.coli* yang memiliki plasmid tertentu akan memproduksi *heat – labile enterotoxin* (LT) yang mirip seperti enterotoksin pada *V. cholera*. Enterotoksin merangsang aktivitas adenilsiklase yang akan memperantarai proses perubahan ATP menjadi cAMP pada sel epitel mukosa usus halus, sehingga menyebabkan pengeluaran cairan dan elektrolit. (Zein, dkk. 2004)

Selain LT, *E.coli* juga memproduksi 2 jenis enterotoksin yang tahan panas (ST) yaitu ST – a dan ST – b. ST – a ini larut dalam methanol, memiliki struktur sekunder *tightly coiled* yang tampaknya dibutuhkan untuk aktivitas yang dibuktikan dengan kandungan sistein yang tinggi, inaktivasinya oleh bahan pereduksi dan pH – nya yang alkalis. Sedangkan informasi tentang ST – b masih

belum diketahui, tetapi tidak melibatkan produksi siklik nukleotida. ST – a diduga menyebabkan diare pada manusia. (Yang, *et al.* 2011)

2.1.6. Manifestasi Klinis

Manifestasi klinik infeksi *E.coli* tergantung pada tempat infeksi.

2.1.6.1. Infeksi saluran kemih

E.coli adalah penyebab utama infeksi saluran kemih dan diperkirakan lebih mudah menyerang wanita karena adanya perbedaan struktur anatomis, kematangan seksual, perubahan traktus urogenitalis selama hamil dan melahirkan. Laki – laki setelah umur 45 tahun dengan *Benign Hipertrophy Prostate (BPH)* lebih gampang terserang infeksi saluran kemih. Faktor – factor predisposisi untuk terjadinya infeksi saluran kemih adalah katerisasi, manipulasi mekanikal pada traktus urinarius, obstruksi, diabetes, dan kegagalan untuk mengosongkan kandung kemih selama buang kecil. (Todar. 2007)

Gejala – gejala atau manifestasi klinis nya antara lain poliuria, disuria, hematuria, serta nyeri panggul dapat menjadi tanda – tanda infeksi saluran kemih. Terjadinya gangguan ginjal berhubungan dengan *E.coli* yang bersifat nefropathogenetik. Nefropathogenetik ini ditentukan oleh ada atau tidaknya fimbria – P. (Ehrlich, *et al.* 2005).

2.1.6.2. Diare

E.coli yang menyebabkan diare diklasifikasikan berdasarkan sifat – sifat virulensinya dan setiap group menyebabkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda – beda. Selain itu dibedakan pula dengan berdasarkan pada klasifikasi tempat infeksi maupun gejala – gejala yang timbul. Pengklasifikasian ini dibagi menjadi (Cann, Alan. 2010) :

1. Enterohemorrhagic *E. coli* (**EHEC**) = menyebabkan *haemorrhagic colitis* dan *haemolytic uraemia syndrome*
2. Enteroinvasive *E. coli* (**EIEC**) = menyebabkan diare seperti infeksi *Shigella*
3. Enterotoxigenic *E. coli* (**ETEC**) = penyebab utama dari penyakit *traveller's diarrhea*.
4. Enteropathogenic *E. coli* (**EPEC**) = dapat menyebabkan diare pada bayi
5. Enteroadherent *E. coli* (**EAEC**) = merupakan kategori terbaru

E. coli enterohemoragik (**EHEC**) dan pada galur yang memproduksi verotoxin seringkali menyebabkan sejumlah kejadian luar biasa, colitis hemoragik dan *Haemolytic Uremia Syndrome* (HUS). Kolitis hemoragik maupun HUS merupakan komplikasi dari diare ringan yang dialami oleh anak – anak. Biasanya berupa *food – borne infection* dan biasanya bersumber dari daging dan produk hewan seperti susu dan hamburger. Serotype O157:H7 adalah salah satu serotype penghasil verotoksin yang sering menyebabkan banyak kejadian luar biasa di Amerika Serikat. (Justice, 2006)

E. coli enteroinvasif (**EIEC**) merupakan penyebab penyakit yang mirip dengan shigellosis. EIEC menimbulkan penyakit dengan cara mengadakan invasif ke dalam sel epitel pada mukosa intestinal. Kemudian akan mengadakan fermentasi secara lambat dan tidak bergerak. (Farasat, et al. 2012)

E. coli enteropatogen (**EPEC**) merupakan penyebab utama diare pada bayi, terutama di negara berkembang seperti Indonesia. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil sehingga akan menyebabkan kegundulan dari mikrovilli. Setelah itu, EPEC akan membentuk *filamentous actin pedestal* atau *cup – like structures*. EPEC menyebabkan diare cair (*watery diarrhea*). Umumnya dapat

disembuhkan dengan obat antimikroba. Diare EPEC disebabkan oleh berbagai macam serotype diantaranya O26:H11, O55:H7, O86:H34, O86:H2, O111:H2, O111:H12 O111:H21, O114:H2, dan O158:H23. Serotipe serotype ini penyebab diare pada bayi di Inggris, Kanada, dan Israel. (Dzen dkk. 2010)

E.coli enterotoksigenik (ETEC) merupakan penyebab umum diare pada para turis sehingga sering juga disebut *traveller's diarrhea* dan juga merupakan penyebab diare sangat penting di negara berkembang. ETEC berikatan dengan mukosa usus kecil dan memproduksi eksotoksin yang tidak tahan panas (LT). LT ini dapat merangsang pembentukan antibody pada orang yang telah pernah terserang sebelumnya. Pada beberapa galur, ada juga yang memproduksi enterotoksin yang tahan panas ST - a. Toksin ini akan mengaktifkan guanilatsikalse dan merangsang pengeluaran cairan. Banyak galur yang menghasilkan ST – a juga memproduksi LT, sehingga dengan kedua toksin ini, menimbulkan diare yang lebih berat. (Evans, *et al.* 2001)

E.coli enteroagregatif (EAEC) adalah penyebab diare akut dan kronik yang ditandai dengan pola perlekatan yang khas pada sel manusia, walaupun tergolong dapat menyebabkan diare kronis maupun akut, tapi tetap tergolong baru dan masih sedikit data – data yang membahas tentang factor – factor virulensi dari strain EAEC ini.

2.1.6.3. Sepsis

Dengan daya tahan host yang tidak siap dan tidak adekuat, *E.coli* bisa masuk melalui peredaran darah dan menyebabkan sepsis, terutama pada bayi – bayi yang baru lahir karena tidak memiliki antibody IgG. (Dzen, dkk. 2010)

2.1.6.4. Meningitis

Selain *Streptokokus* group B, *E.coli* merupakan penyebab utama meningitis pada bayi. Sering kali kasus meningitis pada bayi disebabkan oleh *E.coli* yang juga memiliki antigen K1. Antigen ini akan bereaksi silang dengan polisakarida kapsuler group B dari *Neisseria meningitidis*.

2.1.7. Diagnosis Laboratorium

E.coli tumbuh dengan baik pada media yang lazim digunakan untuk enteric. Namun demikian isolasi *E.coli* yang berasal dari specimen yang terkontaminasi seperti sputum atau luka, tidak selalu berarti bahwa keberadaan *E.coli* tersebut menjadi sumber penyebab infeksi. Pertimbangan yang hati – hati harus dilakukan terhadap penyebab infeksi, factor penderita, dan organisme lain yang terisolasi. Pada penderita yang diberi penisilin untuk pneumoni, yang disebabkan oleh pneumokokus akan memberikan hasil positif untuk kultur *E.coli*. Hal ini disebabkan karena penisilin membunuh flora normal sehingga memungkinkan *E.coli* untuk mengkolonisasi saluran nafas atas.

Perkembangan tentang study penyebab diare menunjukkan bahwa apabila tidak ditemukan enteropatogen lain maka *E.coli* akan dipertimbangkan sebagai penyebab. Untuk mendeteksi *E.coli* dapat digunakan beberapa teknik, antara lain pelacak asam nukleat dan antibody monoclonal untuk mendeteksi ETEC dan penggunaan reagen untuk mendeteksi EHEC. EHEC dengan serotype O157:H7 tidak meragikan sorbitol (Tes Sorbitol -). Hal ini dapat digunakan sebagai pendeteksi serotipe ini. Lactosa pada media MacConkey digantikan oleh sorbitol, apabila ditemukan isolat yang tidak meragikan sorbitol, maka isolat tersebut selanjutnya diuji dengan antigen O157:H7.(Dzen, dkk. 2010)

2.1.7.1. TSI Agar

Medium TSI (*Triple Sugar Iron*) adalah kombinasi dari 3 medium yang menjadi parameter yang terdiri dari laktosa, sukrosa, sedikit glukosa (dextrose), *ferrous sulfate* dan phenol sebagai indicator pH. Tes reduksi sulfur dan memfermentasikan karbohidrat merupakan tes yang cukup bagus untuk membedakan organisme enteric. Apabila organisme tersebut dapat memfermentasikan ketiga jenis karbohidrat tersebut maka hasilnya akan berwarna kuning, sedangkan apabila hasil berwarna merah, hal ini menandakan reaksi aerob yang menandakan kondisi yang alkali.(Acumedia. 2010)

2.1.7.2. IMVIC MU Test

Tes IMVIC MU sangat berguna untuk membedakan Enterobacteriaceae, terutama dengan tes urease. Tes ini dapat digunakan untuk membedakan antara *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, dan *Klebsiella pneumonia*. Tes IMVIC MU ini terdiri beberapa tes, *Indole production*, *Methyl red test*, *Voges – proskauer Test*, *Citrate Production*, *Motility Test*, dan *Urease Test*. (Beaver, Rutter, 2010.)

2.2 Ceplukan (*Physalis angulata* L.)

Berdasarkan etimologi, nama Genus *Physalis* berasal dari bahasa Yunani yang mempunyai arti *bladder* yaitu kandung kemih yang menggambarkan keberadaan / bentuk dari daun pelindung / kelopak bunga yang menggelembung. Sedangkan nama spesies berasal dari bahasa Latin *angulata* yang berarti menyudut. (Hall et al.2006).

Physalis angulata merupakan tanaman tahunan yang tersebar merata pada kepulauan Indonesia. Di Pulau Sumatra, dikenal dengan nama leletop. Di Pulau Maluku dikenal dengan nama boba, loto – loto. Di Pulau Sulawesi dikenal

dengan Leletokan. Di Pulau Jawa dikenal dengan nama cecendet, cecindit, ceplokan, ciceplukan, jorjoran, keceplokan. Pada pulau Nusa Tenggara dikenal dengan nama kopok – kopokan, padang rase, kenampok atau lapinonat. Sedangkan di dunia Internasional lebih dikenal dengan nama *Morel berry*, *Cevucevu*, *Polo pa*, *Cape gooseberry*, *Wild tomato*. (Dubinovsky. 2007)

2.2.1 Taksonomi



Gambar 2.2. *Physalis angulata* L. (Hall, et al. 2006)

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Solanales
Famili : Solanaceae
Genus : *Physallis*
Spesies : *Physalis angulata* L.

2.2.2 Morfologi

Habitus : semak, setahun, tinggi sekitar 0,1 – 1m

Batang :

- Besar, beruas, berwarna hijau
- Batang pokok kurang jelas, percabangannya seperti menggarpu, bersudut tajam, beruas, berongga.

Daun :

- Daunnya tunggal bertangkai, bagian bawahnya lebar, berhelai membentuk bulat telur atau lanset dengan ujung runcing.
- Ukurannya sekitar 5 – 15 x 2,5 – 10,5 cm dan berwarna hijau.

Bunga :

- Bunga tunggal di ujung atau di ketiak daun, tangkai bunga tegak dengan ujung yang melekok kebawah seperti tertunduk, langsing, dengan ukuran 8 – 23 mm dan dapat tumbuh sampai 3 cm
- Kelopak berbentuk bel, dengan jumlah cuping sekitar 5, runcin, hijau dengan warna rusuk yang lembayung.
- Mahkota berbentuk lonceng yang lebar, dengan tinggi 6 – 10 mm, panjang 8 – 23 mm kuning terang dengan ada noda – noda coklat atau kekuningan. Di tiap noda terdapat kelompok rambut – rambut pendek yang berbentuk seperti huruf V.
- Tangkai benang sari kuning pucat, kepala sari seluruhnya berwarna biru muda. Putiknya gundul, kepala putik seperti berbentuk tombol dengan bakal buah, daun buah, dan banyak bakal biji.

Buah :

- Buah Ceplukan berbentuk telur, panjangnya sampai 14 mm, diameter 14 – 18 mm, hijau sampai kuning kalau sudah masak, warna rusuk seperti warna lembayung.

Biji : bulat, pipih, kecil, kuning

Akar : tunggang, putih

2.2.3. Kandungan *Physallis angulata* L.

Senyawa aktif yang terkandung dalam Ceplukan antara lain *saponin*, *flavanoid*, *polifenol*, dan *fisalin*. Berikut komposisi berdasarkan bagian – bagian tanamannya (Latifah , 2008) :

- Biji : 12 – 25% protein , 15 – 40% minyak lemak dengan komponen utama asam palmitat dan asam stearat.
- Akar : *alkaloid*, *polifenol*, dan *flavonoid*
- Daun : *glikosida flavonoid* (*luteolin*)
- Tunas : *flavonoid* dan *saponin*

Secara fitokimiawi, akar dan batang ceplukan mengandung saponin dan flavonoid. Daunnya kaya akan polifenol. Kulit buahnya mengandung senyawa $C_{27}H_{44}OH_{20}$. Buah ceplukan mengandung asam sitrun, fisalin, asam malat, alkaloid, tannin, kriptozantin, vitamin C, dan gula (Pramudi, 2003). Penelitian yang lain menyatakan bahwa ceplukan mengandung flavonoid, alkaloid, dan steroid, vitamin A, C, D, E, ayanin, asam klorogenik, kolin, iksokarpanolide, myricetin, physagulin, sitosterol, valmonolide. (TropicsHealth, 2006)

Sejak saat ini, ceplukan sudah menjadi objek penelitian yang menunjukkan keefektifannya dalam menstimulasi system imun. Physalin, suatu kandungan steroid dalam ceplukan, memiliki aktivitas tinggi dalam melawan sel - sel kanker, hal ini nampak pada penelitian Universitas Taiwan pada tahun 1990 dan Universitas Houston pada tahun 2001 terhadap leukemia.(TropicsHealth, 2006). Akar Ceplukan juga mengandung polifenol yang bersifat antimikroba.(Amelia, 2004).

2.2.4. Manfaat akar Ceplukan

Akar tumbuhan ceplukan pada umumnya digunakan sebagai obat cacing dan penurun demam. Daunnya digunakan untuk penyembuhan patah tulang, bisul, borok, penguat jantung, keseleo, nyeri perut, dan kencing nanah. Buah ceplukan sendiri sering dimakan untuk mengobati epilepsi, tidak dapat kencing, dan penyakit kuning (Agoes, 2010).

Penggunaan ceplukan di beberapa Negara internasional adalah untuk pengobatan asma, dermatitis, otitis, gangguan ginjal, icterus, gangguan hati, malaria, nausea, rematik dan gonorrhea. (Taylor, 2005). Ceplukan juga telah menjadi objek penelitian yang menunjukkan aktivitas anti – inflamasi pada makrofag. (Vieira *et al*, 2005.)

2.2.5. Karakteristik Antimikroba Akar Ceplukan

Selain sebagai anti kanker, beberapa penelitian menunjukkan aktivitas antimikroba pada akar ceplukan, antara lain terhadap *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, dan *Streptococcus*. Ceplukan juga dapat menghambat virus polio, herpes simplex, campak, dan HIV. (Taylor, 2005)

2.2.6. Mekanisme Antimikroba Akar Ceplukan

Mekanisme utama terhadap efek anti – mikroba polifenol adalah inhibisi enzim melalui reaksi dengan grup sulfhidril atau melalui interaksi non spesifik dengan protein. (Naim, 2004). Fenol akan berikatan dengan protein dan merusaknya. karena sebagian besar struktur dinding sel dan membrane sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak, fenol dapat merusak membrane membrane sel sehingga dapat membunuh bakteri. (Susanti, dkk. 2008).

Sementara itu, flavonoid akan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler. Flavonoid juga bersifat lipophilik, oleh karena itu dapat berikatan dengan dinding sel dan merusaknya.(Naim, 2004). Alkaloid, senyawa lain yang juga memberikan sumbangan terhadap efek anti – mikroba ceplukan. Mekanisme kerjanya adalah menginterkalasi DNA.(Naim, 2004).

2.3 Cara Pemeriksaan Efektivitas Antimikroba

Efektivitas antimikroba suatu bahan harus diuji dengan berbagai tingkat konsentrasi yang menyebabkan pertumbuhan bakteri tersebut mati atau terhambat. Pengujian efektivitas antimikroba ini biasanya dilakukan secara *in vitro* _dengan menggunakan metode dilusi tabung ataupun dengan difusi cakram. Hasil dari pengujian ini akan berupa suatu konsentrasi yang menjadi kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal.

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

Konsentrasi hambatan minimum (KHM) adalah konsentrasi dari ekstrak ethanol akar Ceplukan yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme tertentu, disini kita menggunakan *E.coli*. Prosedur ini digunakan untuk menentukan konsentrasi dari ekstrak ethanol akar Ceplukan yang masih efektif untuk mencegah pertumbuhan patogen dan mengindikasikan dosis ekstrak yang efektif untuk mengontrol infeksi pada pasien. Inokulum mikroorganisme yang telah distandarisasi ditambahkan ke dalam tabung yang mengandung suatu ekstrak akar ceplukan, dan pertumbuhannya akan termonitor dengan perubahan kekeruhan. Dengan cara ini, KHM ,dari ekstrak akar ceplukan, yang dapat digunakan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme *in vitro* dapat ditentukan. (Harmita, Radji. 2008)

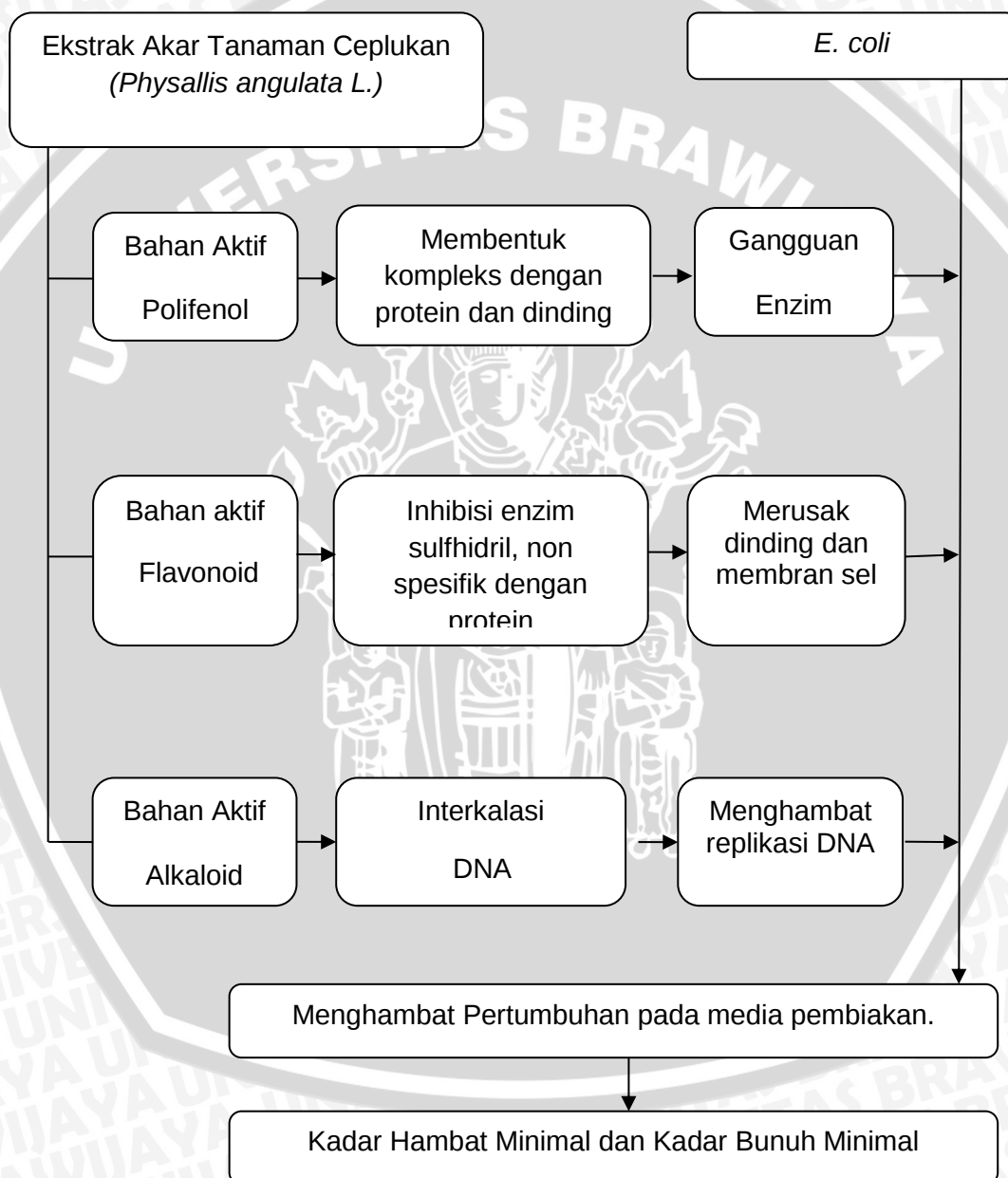
Sedangkan KBM adalah konsentrasi dari ekstrak akar ceplukan yang paling pertama dapat memberikan tanda koloni kuman yang bersih pada media pembenihan yang kita pakai. Dengan pemeriksaan KBM, kita dapat menentukan pada derajat berapa persen ekstrak dari akar ceplukan (*Physalis angulata L.*) ini akan memberikan efek bakterisidal pada bakteri *E.coli*. KBM merupakan suatu penilaian bersifat kuantitatif karena kita akan menilai dari jumlah koloni yang tersisa. Sedangkan KHM lebih bersifat kualitatif karena kita menilainya dari tingkat kejenuhan dari tabung atau media yang kita gunakan. Dalam rancangan ini, untuk penilaian KHM kita akan menggunakan media *broth* sedangkan KBM kita menggunakan media NAP. (Harmita, Radji. 2008)



Bab 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

E.coli merupakan flora normal dalam tubuh manusia dan seringkali memberikan efek positif pada tubuh kita. Walaupun demikian, infeksi yang diakibatkan oleh *E.coli* tetap dapat menjadi ancaman kesehatan. (Depkes, 2011)

E.coli merupakan bakteri pathogen yang sering menyebabkan epidemik diare pada anak di Indonesia. Hal ini membuat *E.coli* menjadi sumber penyebab terjadinya kematian pada anak balita dengan rentang usia 12 – 59 bulan yang disebabkan oleh karena diare. (Depkes, 2011)

E.coli merupakan bakteri Gram Negatif berbentuk batang (basil) yang berukuran kecil dan tidak membentuk spora. *E.coli* juga merupakan bakteri yang dapat bergerak (motil) karena memiliki flagella diseluruh badannya yang disebut dengan peritrikus. (Brooks, et al, 2010)

Sedangkan pada dinding selnya terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS). Lapisan murein dan lipoprotein ini menyebabkan rigiditas seluler dari bakteri ini. Lipopolisakarida yang merupakan pembentuk dinding sel utama mengandung suatu rantai polisakarida khusus yang akan menjadi dasar untuk menentukan antigenisitasnya dan bertanggung jawab untuk aktivitas endotoksinnya. (Brooks, et al, 2010). Keberadaan dinding sel ini yang akan menjadi *target site* pada penelitian ini dengan menggunakan bahan – bahan aktif pada ekstrak akar Ceplukan.

Ceplukan (*Physallis angulata* L.) merupakan tanaman herbal Indonesia yang cukup mudah untuk didapatkan. Kemudahan ini diiringi dengan efektifitasnya sebagai obat herbal.

Ceplukan (*Physallis angulata* L.) sudah menjadi objek penelitian yang menunjukkan keefektifannya dalam menstimulasi system imunitas dalam tubuh kita. Hal ini dimanfaatkan sebagai alternatif dalam pengembangan obat – obatan untuk melawan sel – sel kanker yang dilakukan pada Universitas Taiwan dan Universitas Houston khususnya terhadap leukemia. (TropicsHealth, 2006)

Akar tanaman Ceplukan (*Physallis angulata* L.) pada umumnya digunakan sebagai obat pada infeksi cacing dan sebagai penurun demam. Akar Ceplukan (*Physallis angulata* L.) memiliki bahan aktif seperti polifenol, flavonoid, dan alkaloid. (Latifah, 2008). Bahan – bahan aktif ini memiliki fungsi yang berbeda – beda lokasinya terhadap bakteri *E.coli*.

Kandungan polifenol pada akar Ceplukan (*Physallis angulata* L.) yang akan mengganggu kinerja enzim pada bakteri *E.coli*, khususnya bereaksi dengan grup sulfhidril. Flavonoid yang akan merusak membran sel dengan caranya melakukan pembentukan ikatan kompleks terhadap dinding sel dan merusaknya. Serta alkaloid yang menghambat replikasi DNA dari bakteri dengan cara melakukan interkalasi pada DNA bakteri *E.coli* sehingga menghambat kinerja maupun replikasi bakteri. (Naim, 2004)

3. 2 . Hipotesis Penelitian

Ekstrak akar Ceplukan mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4. 1. Design Penelitian

Penelitian ini menggunakan design penelitian yang bersifat eksperimental dengan menggunakan metode Uji Dilusi Tabung (*tube dilution test*). Metode ini meliputi 2 tahap yaitu, pengujian bahan pada medium kaldu (*medium broth*) untuk menentukan KHM, dan tahap *streaking* pada media *Nutrient Agar Plate* (NAP).

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Februari 2012 hingga Agustus 2012.

4.3. Sample Penelitian

Sample yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang diambil dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang berasal dari isolat feses pasien Rumah Sakit Saiful Anwar Malang.

4.4. Besar Sample

Jumlah pengulangan yang digunakan dalam penelitian ini , menggunakan rumus (Loekito, 1998)

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

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

$$n - 1 \geq 2,1$$

$$n \geq 3,1 \approx 4$$

Keterangan :

P = Jumlah perlakuan

N = jumlah pengulangan

4.5. Variable Penelitian

4.5.1. Variable Bebas

Variable bebas dari penelitian ini adalah ekstrak etanol akar ceplukan dengan konsentrasi tertentu (dalam %).

4.5.2. Variable Tergantung

Variables tergantung dari penelitian ini adalah pertumbuhan koloni *E.coli* sebagaimana yang terlihat dalam kekeruhan media *broth* dalam menentukan KHM dan jumlah koloni *E.coli* pada NAP dalam menentukan KBM.

4.6. Definisi Operasional

- Akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang digunakan akan diekstrak dengan menggunakan ethanol .
- Ekstrak akar ceplukan adalah kadar atau konsentrasi akar ceplukan yang dilakukan ekstraksi dingin (maserasi) dengan menggunakan etanol 96%.

- c. Akar Ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang digunakan di penelitian ini berasal dari Materia Medica di kota Batu, Jawa Timur.
- d. *Escherichia coli* (*E.coli*) yang digunakan berasal dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang berasal dari isolat feses pasien Rumah Sakit Saiful Anwar Malang
- e. Uji daya antimikroba adalah uji untuk menentukan efektif tidaknya ekstrak etanol akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli* melalui hasil KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum).
- f. KHM (Kadar Hambat Minimum) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba *Escherichia coli*.
- g. KBM (Kadar Bunuh Minimum) adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang mampu membunuh mikroba, ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan koloni mikroba pada medium NAP yang telah dilakukan *streaking* dengan satu ose larutan ekstrak etanol akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) atau dengan konfirmasi dari dosis berikutnya yang memiliki jumlah koloni yang lebih sedikit ataupun sama.
- h. Kontrol mikroba (tabung dengan mikroba tanpa larutan ekstrak akar ceplukan) adalah tabung dengan konsentrasi 0% yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah mikroba yang digunakan terkontaminasi dengan bakteri lain.

- i. Kontrol bahan adalah bahan berupa larutan ekstrak etanol akar ceplukan (*Physalis angulata L.*) untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril atau tidak.
- j. Pengamatan kualitatif digunakan untuk menentukan skor pertumbuhan *Escherichia coli* berdasarkan bayangan tiga garis hitam yang tampak di balik tabung. Kriteria skoring adalah sebagai berikut:

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

Semakin rendah skor, menunjukkan keefektifan dari bahan coba.

- k. Pengamatan kuantitatif digunakan untuk menentukan pertumbuhan mikroba *Escherichia coli* secara kuantitatif dengan cara menghitung koloni bakteri dengan *colony counter*.

4.7. Alat dan Bahan

4.7. 1. Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak ethanol akar ceplukan (*Physalis angulata L.*), yaitu:

- Blender
- Penimbang
- Kertas saring
- Tabung ekstraksi

- Pengaduk
- *Rotary evaporator*
- Alat pemanas air
- Labu penampung hasil evaporasi
- Tabung pendingin
- Pompa sirkulasi air dingin
- Bak penampung air dingin
- Pipa plastic
- Pipa vakum
- Penampung hasil penguapan
- Labu penampung ekstraksi

Alat yang digunakan dalam mengidentifikasi *Escherichia coli*, yaitu:

- Bunsen
- *Object glass*
- Mikroskop
- Minyak emersi
- Kertas penghisap

Alat yang digunakan untuk uji ekstrak ethanol akar ceplukan (*Physalis angulata L.*), yaitu:

- Tabung reaksi
- Mikro pipet steril ukuran 1 ml
- Pipet tip
- Incubator
- Vortex
- Pembenihan cair yang distandarisasi

- Bunsen
- Korekapi
- Ose
- Penggaris
- Plate kosong dan steril
- Kertas
- Colony counter

4.7.2 Bahan

- Ekstrak ethanol akar ceplukan (*Physalis angulata L.*)
- Aquades
- Alkohol 96%
- Bakteri *Escherichia coli*
- Bahan pewarna pewarnaan gram: crystal violet, Lugol's iodine, 96% alkohol, safranin
- Media Nutrient Agar Plate

4.8. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi pembuatan ekstrak akar ceplukan (*Physalis angulata L.*) dengan menggunakan bahan ethanol, identifikasi bakteri uji (*Escherichia coli*), persiapan suspensi uji *Escherichia coli*, dan uji antibakteri ekstrak akar ceplukan (*Physalis angulata L.*).

4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Akar Ceplukan (*Physalis angulata L.*)

Proses ekstraksi:

- a. Sampel akar ceplukan (*Physalis angulata L.*) ditimbang
- b. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer.

- c. Kemudian direndam dengan etanol 96%.
- d. Dikocok hingga benar-benar tercampur (± 30 menit).
- e. Didiamkan selama 1 malam sampai mengendap.
- f. Proses ekstraksi ini dilakukan sampai hasil ekstraksi jernih.

Kemudian hasil ekstraksi siap untuk dievaporasi.

Proses Evaporasi:

- a. Diambil lapisan atas campuran etanol 96% dengan zat aktif akar ceplukan (*Physalis angulata L.*) yang sudah terlarut, lalu dimasukkan dalam labu evaporasi.
- b. Labu evaporasi dipasang pada evaporator.
- c. *Water bath* diisi dengan air sampai penuh.
- d. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (diatur sampai suhu 90°C , sesuai dengan titik didih etanol), lalu disambungkan dengan aliran listrik.
- e. Larutan etanol 96% dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
- f. Ditunggu sampai aliran etanol 96% berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu).
- g. Ekstrak kemudian ditimbang dengan neraca analitik.
- h. Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik dan masukkan dalam freezer.

4.8.2. Identifikasi *Escherichia coli*

Sebelum digunakan dalam penelitian, *Escherichia coli* yang akan digunakan harus diidentifikasi ulang. Identifikasi yang dilakukan meliputi pewarnaan Gram, pengecekan TSI Agar, dan pengecekan IMVIC MU.

a. Prosedur pewarnaan Gram

1. Mengambil isolat bakteri yang telah dipreparasi sebelumnya ke atas permukaan objek glass kemudian dikeringkan dan dilakukan fiksasi dengan api.
2. Sediaan ditetesi dengan kristal violet dan ditunggu selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air.
3. Sediaan ditetesi lagi dengan larutan lugol kemudian ditunggu selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
4. Alkohol 96% dituang ke atas sediaan dan dibiarkan selama 5-10 detik. Sisa alcohol dibuang dan dibilas dengan air.
5. Kemudian safranin dituang di atas sediaan dan dibiarkan selama 30 detik. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi minyak emersi dan dapat dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Dicari adanya sel bakteri bersifat Gram negatif, berbentuk batang berwarna merah.

b. Tes TSI

1. Sebelum inoculasi, medium harus dibawa pada suhu ruangan
2. Inoculasikan bakteri dari *original oriculum* dengan menggunakan ose ke dalam media TSI hingga setengah panjang tabung.
3. Tutup tabung TSI

4. Inkubasikan tabung TSI pada suhu 35°C selama 1 hari.
5. Periksa motilitas dan produksi H₂S
6. Hasil tes TSI pada bakteri *E.coli* adalah pada media Siant/Butt = Asam/Asam, H₂S (+), dan gas (+)

c. Tes IMVIC MU

- Tes Indole
 - ❖ Inokulasi *Tryptophane* broth dengan 1 tetes dari 24 jam kultur broth.
 - ❖ Inkubasi pada 37°C pada suhu ruangan selama 48 jam.
 - ❖ Hasil positif jika terbentuk cincin merah pada permukaan *Broth* (Dzen. dkk, 2010)
- Tes Methyl Red
 - ❖ Media MR-VP di inokulasi dengan bakteri yang diperiksa
 - ❖ Media diinkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C
 - ❖ Media ditetesi 5 tetes indikator *Methyl red*
 - ❖ Hasil positif jika warna media berubah jadi merah karena bakteri uji membentuk asam (Dzen. dkk, 2010)
- Tes Voges – *proskauer Test*
 - ❖ Media MR-VP diinokulasidengan bakteri yang diperiksa
 - ❖ Media diinkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C
 - ❖ Media ditetesi Alfa-NAPHTOL dalam alcohol absolute (15 tetes+ KOH 10% 10 tetes)
 - ❖ Hasil positif jika warna media berubah menjadi merah kecoklatan dalam waktu 15-30 menit karena bakteri uji membentuk asetil methyl carbinol. (Dzen dkk, 2010)

- Tes *Citrate*
 - ❖ Media *Simon's citrate* diinokulasi dengan bakteri yang diperiksa menggunakan ose lurus dengan cara menggores garis lurus pada permukaan media
 - ❖ Media diinkubasi semalam pada suhu 37°C
 - ❖ Hasil positif jika media berubah menjadi warna biru-prussi karena bakteri menggunakan citrate sebagai satu-satunya sumber karbon. (Dzen dkk, 2010)
- Tes Motilitas
 - ❖ Media semisolid diinokulasi dengan bakteri yang diperiksa dengan menggunakan ose lurus dengan cara menusuk media
 - ❖ Media diinkubasi semalam dengan suhu 37°C
 - ❖ Bakteri yang motil akan tumbuh menyebar diluar garis bekas tusukan, bakteri yang nonmotil hanya tumbuh pada garis bekas tusukan. (Dzen dkk, 2010)
- Tes Urease
 - ❖ Media cair yang mengandung urea diinokulasi dengan bakteri yang diperiksa
 - ❖ Media diinkubasi semalam pada suhu 37°C
 - ❖ Hasil positif bila warna media berubah merah keunguan artinya bakteri uji dapat memecah urea menjadi ammonia sehingga suasana menjadi alkali. (Dzen dkk, 2010)

4.8.3. Suspensi Bakteri Uji

Bakteri dipindahkan ke dalam tabung yang berisi *NA broth* dan diinkubasi dalam incubator pada suhu optimum 35-37°C selama 24 jam. Setelah itu,

dilakukan pengenceran dengan media kultur cair bakteri sampai konsentrasi bakteri 10^8 / ml didapat. 1 ml kultur (dari konsentrasi bakteri 10^8 / ml) ditambahkan ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan konsentrasi bakteri 10^7 /ml. Lalu proses pengenceran diulang lagi dengan menambahkan 1 ml kultur (dari konsentrasi bakteri 10^7 /ml) ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan pengenceran akhir yang mengandung konsentrasi bakteri 10^6 / ml. Konsentrasi bakteri 10^6 / ml tersebut yang digunakan dalam penelitian.

4.8.4. Uji Antimikroba Ekstrak Etanol Akar Ceplukan (*Physalis angulata* L.)

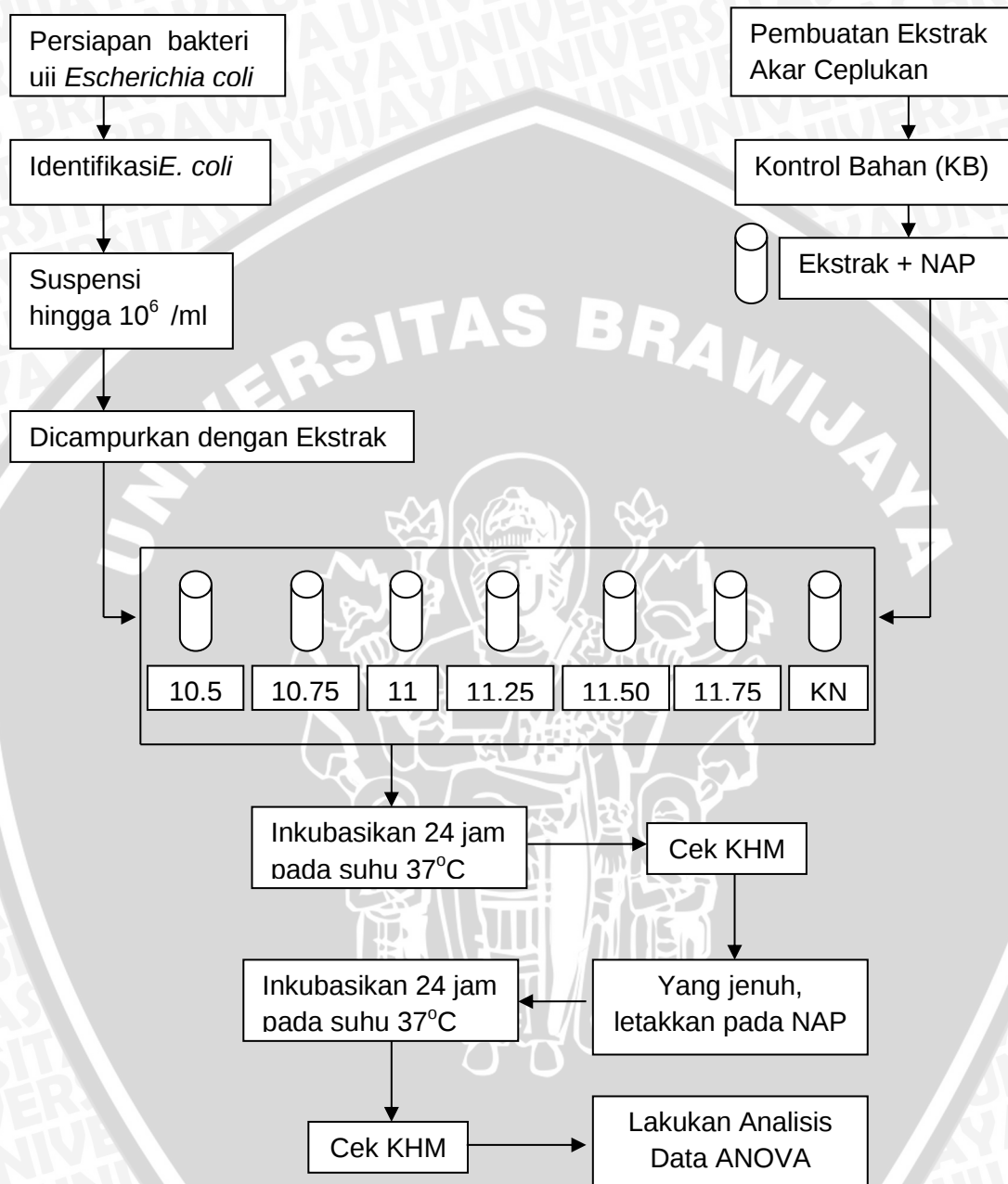
- Menyediakan 7 tabung dan memberi label 21%, 21.5%, 22%, 22.5%, 23%, 23.5% dan 0% untuk masing – masing perlakuan.
- Satu tabung reaksi digunakan sebagai Kontrol bahan (KB) yang kemudian diisi dengan media *broth* + 1ml bahan ekstrak
- Satu tabung reaksi digunakan sebagai Kontrol negatif (KN) yang kemudian diisi dengan media *broth* + 1ml original inoculum
- Pada setiap tabung akan ada 1 ml ekstrak ethanol akar Ceplukan dalam aquades dan 1 ml bakteri *Escherichia coli*.
- Buat larutan ekstrak 21%, 21.5%, 22%, 22.5%, 23%, 23.5%.
- Masing – masing tabung diisi sediaan yang berisi media *broth* + bakteri 1 ml + 1 ml larutan ekstrak sesuai dengan konsentrasi dengan konsentrasi akhir adalah setengah dari konsentrasi awal yaitu 10.5%, 10.75%, 11%, 11.25%, 11.5%, dan 11.75%
- Masing – masing tabung di - vortex dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- Setelah inkubasi, cek KHM sesuai dengan prosedur di atas.

- Dari tabung yang masih menunjukkan pertumbuhan bakteri, dilakukan *streaking* pada NAP dengan ose untuk mengecek KBM. Kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C.
- Setelah inkubasi, cek KBM sesuai dengan prosedur di atas.

4.9. Analisis Data

Data yang diperoleh dikelompokkan sesuai dengan kelompok perlakuan kemudian dianalisis dengan uji statistik Kruskal – Wallis pada taraf kepercayaan 95%. Jika nilai statistic uji $p > 0,05$ maka hipotesa Null ditolak dan hipotesis penelitian berlawanan dengan Hipotesa Null. Uji statistic ini digunakan untuk mengetahui perbedaan efek antara konsentrasi ekstrak akar ceplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap pertumbuhan koloni *Escherichia coli* pada media NAP. Untuk menganalisis kekuatan hubungan antara perlakuan konsentrasi ekstrak dengan pertumbuhan *Escherichia coli* digunakan uji korelasi serta uji regresi pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dengan menggunakan fasilitas statistic SPSS untuk Windows.

4.9.1 Skema Prosedur



Gambar 4.1 Skema Prosedur

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

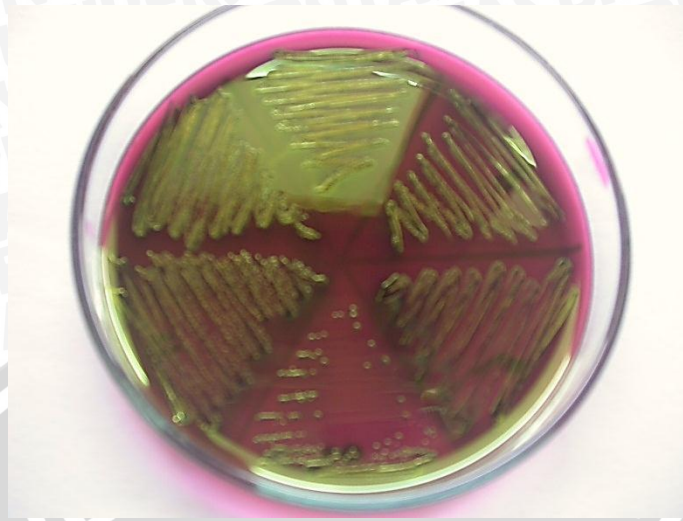
5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Eschericia coli*

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri yang berasal dari *stock culture* yang tersimpan dalam laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Isolat bakteri yang digores ulang pada medium NAP selanjutnya akan diidentifikasi terlebih dahulu dengan pewarnaan gram (Gambar 5.1), perbenihan pada agar EMB didapatkan gambaran koloni bakteri yang mengkilat seperti logam (*metallic sheen*) (gambar 5.2), dan test IMVIC untuk *E.coli* (Gambar 5.3).



Gambar 5.1 Identifikasi bakteri *E.coli* menggunakan pengecatan Gram



Gambar 5.2 *E.coli* yang menunjukkan *metallic sheen* pada media EMB



Gambar 5.3 Identifikasi bakteri *E.coli* dengan menggunakan IMVIC Test dan TSI Agar

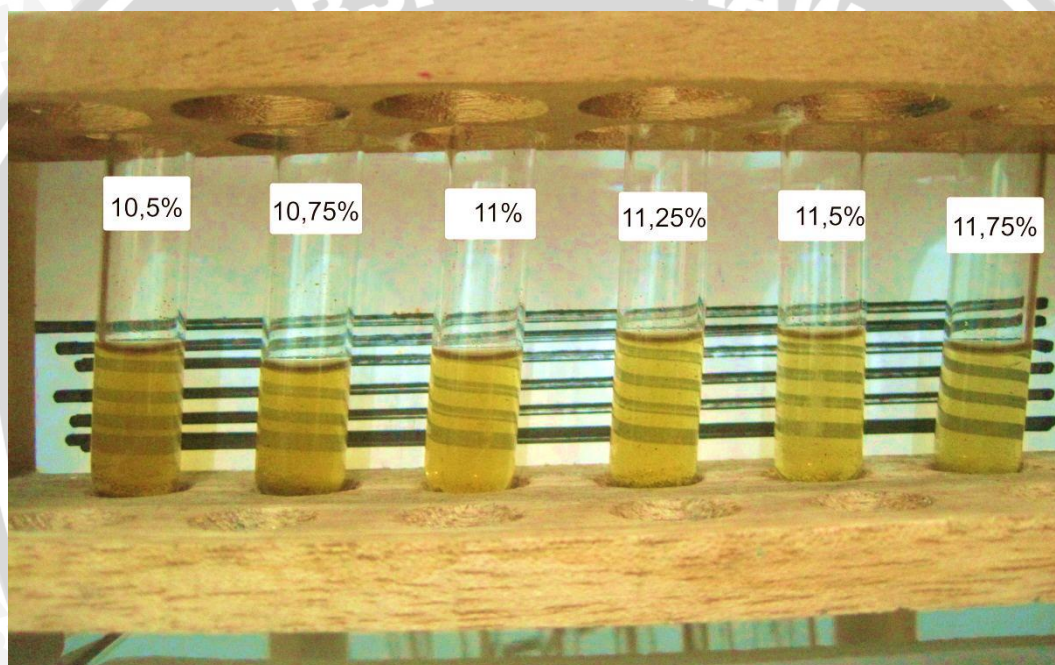
5.1.2 Menentukan Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum

5.1.2.1 Menentukan Kadar Hambat Minimum

Penelitian ini dikerjakan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak akar tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Eschericia coli* , dengan variasi 10.50%; 10.75%; 11.00%; 11.25%; 11.50%; 11,75% dan

konsentrasi 0% (bakteri tanpa ekstrak) serta konsentrasi 100% (bahan ekstrak tanpa bakteri) sebagai kontrol positif dan negatif secara berturut-turut.

Warna dari ekstrak akar tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L.) ini adalah hijau kekuningan cerah berbentuk cair. Setelah ditambahkan bakteri sebanyak 1 ml dan diinkubasikan selama 18 – 24 jam dalam inkubator dan setelah itu akan terdapat perbedaan tingkat kekeruhan pada ekstrak. Hal ini yang akan diamati dan ditentukan sebagai variable Kadar Hambat Minimum (KHM)



Gambar 5.4 Perbandingan tingkat kekeruhan tiap konsentrasi ekstrak pada medium MH Broth

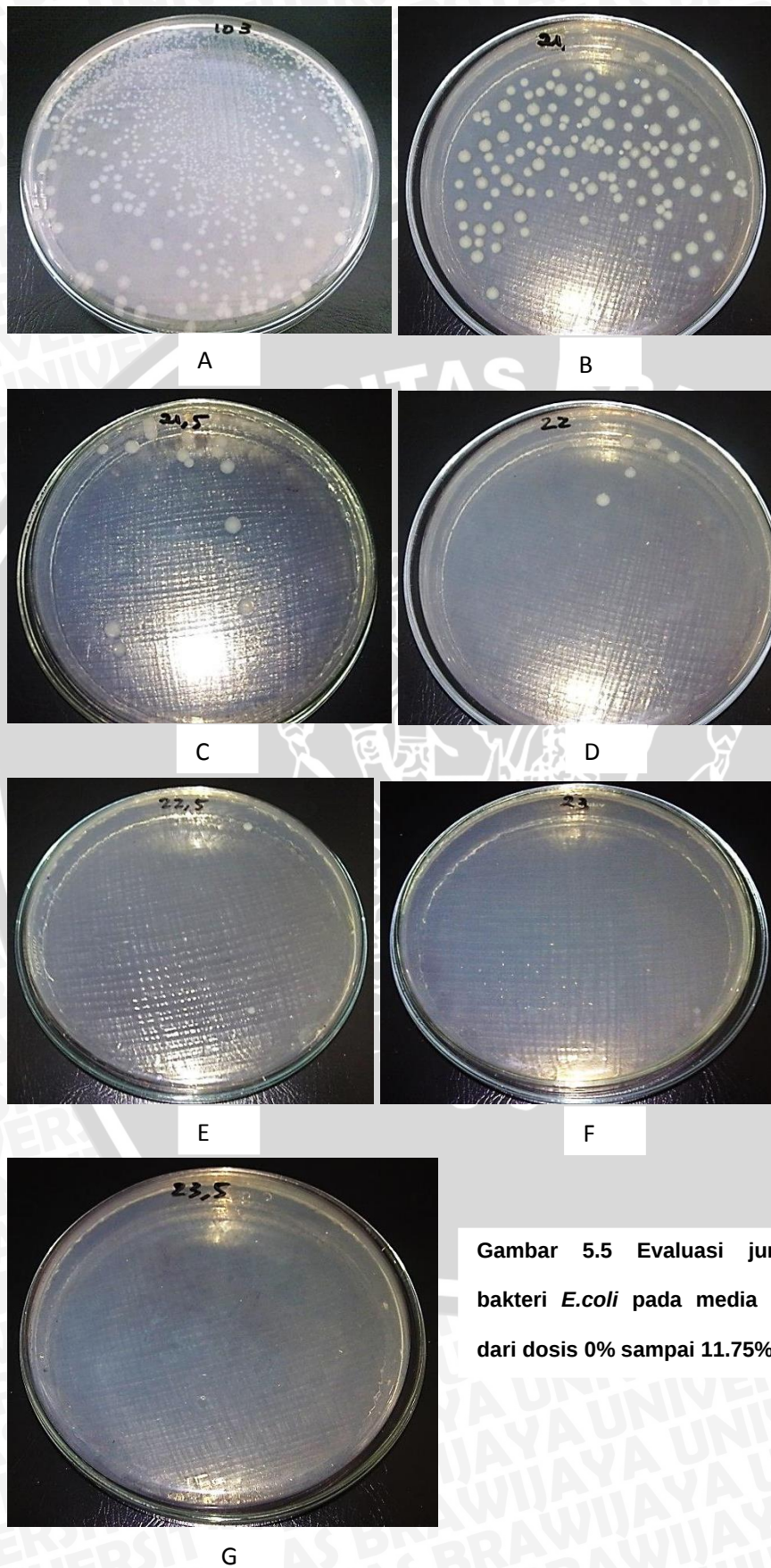
Perbandingan tingkat kekeruhan pada tiap-tiap konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 5.4. Karena warna dan kekeruhan maka KHM tidak dapat dievaluasi dengan baik. Walaupun tetap dapat kita amati semakin jelasnya garis – garis hitam di bagian latar belakang tabung. Seharusnya semakin besar konsentrasi ekstrak, yang ditambahkan bakteri, semakin dapat dibandingkan dengan kejernihan ekstrak tanpa bakteri dan semakin jelas garis – garis hitam di belakangnya terlihat. Hal itu dengan pemikiran semakin mendekati kejernihan

ekstrak dan semakin kelihatannya garis – garis hitam di belakang maka menandakan semakin menurunnya pertumbuhan bakteri. Tetapi walaupun di hasil percobaan dapat dilihat peningkatan tampaknya garis – garis secara gradasi, hal ini karena warna cairan yg berwarna kuning kecerahan bukannya jernih keputihan. Demi mencegah terjadinya penafsiran yang subjektif maka pada penelitian ini Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak akar tanaman ceplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap bakteri *E.coli* tidak dapat dievaluasi dengan menggunakan metode dilusi tabung

5.1.2.2 Menentukan Kadar Bunuh Minimum

Selanjutnya untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) maka hasil dilusi tabung dari tiap-tiap konsentrasi tersebut selanjutnya digoreskan pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*) yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Dari cawan yang telah diinkubasi, diamati pertumbuhan koloni bakteri *E.coli* kemudian dilakukan penghitungan koloni pada masing-masing plate.

Nilai KBM diperoleh dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri *E.coli* dalam plat dengan menggunakan *colony counter*. Pada penelitian ini, jumlah koloni *E.coli* pada setiap dosis ekstrak yang sudah digoreskan di cawan akan dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *E.coli* pada dosis sebelumnya. Berikut hasil dari cawan setelah diinkubasi berurutan dari dosis 10.5% sampai dengan dosis 11.75%.



Gambar 5.5 Evaluasi jumlah koloni bakteri *E.coli* pada media NAP dimulai dari dosis 0% sampai 11.75%.

Gambar di atas merupakan hasil evaluasi jumlah koloni pada NAP dengan pembagian sebagai berikut:

A = Koloni bakteri *E.coli* pada media NAP dengan konsentrasi ekstrak

0%(Kontrol Kuman)

B = Koloni bakteri *E.coli* pada media NAP dengan konsentrasi ekstrak 10.50 %

C = Koloni bakteri *E.coli* pada media NAP dengan konsentrasi ekstrak 10.75 %

D = Koloni bakteri *E.coli* pada media NAP dengan konsentrasi ekstrak 11.00 %

E = Koloni bakteri *E.coli* pada media NAP dengan konsentrasi ekstrak 11.25 %

F = Koloni bakteri *E.coli* pada media NAP dengan konsentrasi ekstrak 11.50 %

G = Koloni bakteri *E.coli* pada media NAP dengan konsentrasi ekstrak 11.75 %

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *E.coli* pada media NAP akan dikaitkan agar dapat melihat apakah ada hubungan yang signifikan antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni. Hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *E.coli* pada NAP per 0.1.ml

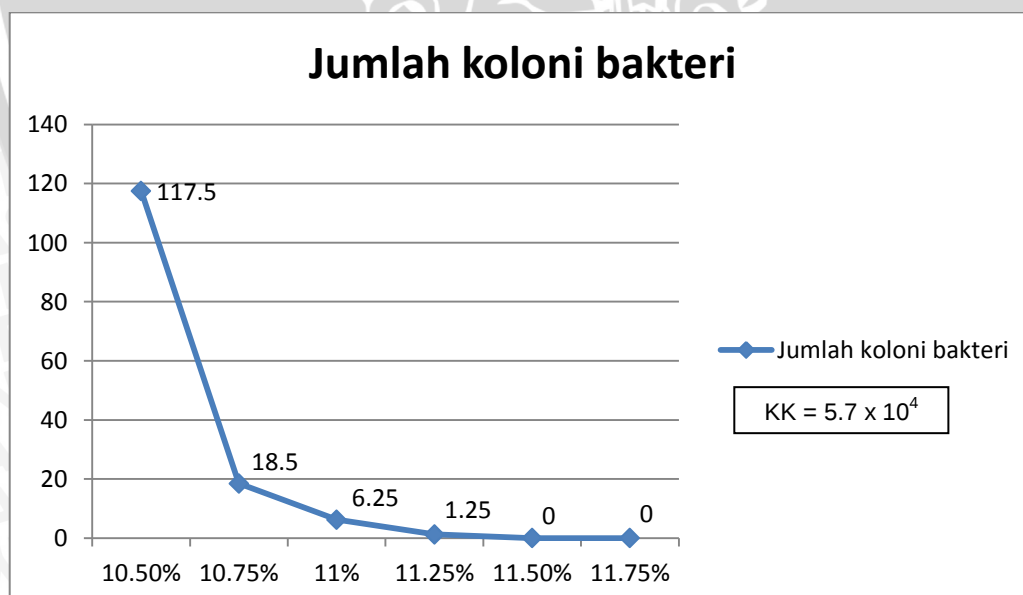
Dosis Ulangan	0%	10.50%	10.75%	11%	11.25%	11.50%	11.75%
1	521397	108	19	8	2	0	0
2	584982	118	19	7	1	0	0
3	610416	117	17	5	1	0	0
4	546831	127	19	5	1	0	0
Rerata	565906.5	117.5	18.5	6.25	1.25	0	0
Standar Deviasi	39538.76	7.767453	1	1.5	0.5	0	0

Koloni yang tumbuh pada konsentrasi 0% (kontrol positif) di medium NAP terlalu rapat sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan perhitungan. Maka hasil tabung pada konsentrasi 0% pada semua pengulangan dilakukan

pengenceran terlebih dahulu dengan larutan NaCl sebanyak 1000x sebelum digoreskan pada medium NAP.

Perhitungan jumlah koloni pada dosis 0% menggunakan perwakilan dari 9 kotak kemudian jumlah koloni ini akan diproses dengan rumus diatas. Pada dosis – dosis selanjutnya tidak dilakukan pengenceran karena jumlah koloni dapat dihitung langsung dengan menggunakan *colony counter*. Hasil dari perhitungan jumlah koloni akan dibandingkan untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Hasil penelitian menunjukkan suatu hasil bahwa adanya perbedaan konsentrasi ekstrak yang diberikan pada tiap perlakuan memberikan efek antimikroba yang berbeda terhadap jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium NAP. Pengaruh ini membentuk pola dimana semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Hal ini Nampak lebih jelas pada table deskripsi berikut.



Grafik 5.1. Grafik rata-rata jumlah koloni bakteri *E.coli* dalam kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak akar Tanaman Ceplukan (*Physalis angulate L.*)

Dari hasil penelitian untuk selanjutnya akan dianalisis dengan menggunakan SPSS 20 dengan analisis *Non Parametrik Kruskal - Wallis* untuk mengetahui perbedaan sensitivitas tiap variasi konsentrasi ekstrak akar tanaman Ceplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *E.coli*, juga pengujian korelasi dan regresi Spearman untuk mengetahui lebih jauh mengenai pengaruh pemberian ekstrak akar tanaman Ceplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *E.coli*.

5.2. Analisis Data

5.2.1. Uji Statistik Data

Sehubungan dengan analisis data yang akan digunakan adalah dengan *One way ANOVA*, maka untuk mengetahui apakah data yang ada dapat dianalisis menggunakan ANOVA atau tidak, perlu dilakukan pemeriksaan dengan uji normalitas dan uji varians untuk memenuhi syarat ANOVA, yakni data harus mempunyai distribusi normal dan mempunyai varian yang homogen.

a. Normalitas Data – Uji Kolmogorov - Smirnov

Untuk menguji apakah sampel memiliki distribusi normal maka digunakan pengujian Kolmogorov-Smirnov Test terhadap masing-masing variabel. Berdasarkan hasil uji normalitas Kolmogorov – Smirnov, angka signifikansi menunjukkan $p = 0.000$, yang berarti distribusi data jumlah koloni bakteri tidak normal.

b. Homogenitas Ragam Data

Untuk mengetahui terdapatnya heterogenitas maka dilakukan pengujian kesamaan ragam yaitu uji Levene (*Levene test homogeneity of variances*). Nilai signifikansi (p) dari uji Levene sebesar $p = 0.000$ dan menunjukkan bahwa nilai $p < 0.05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa varians data tidak homogen

(heterogen). Namun setelah dilakukan transformasi, data tetap tidak memenuhi syarat ($p = 0.000$), sehingga dilakukan uji beda Non Parametrik Kruskal – Wallis sebagai pengganti uji *one-way* ANOVA.

5.2.2. Analisis Non Parametrik Kruskal – Wallis

Seperti uji beda Parametric *one-way* ANOVA, uji beda Non Parametrik Kruskal – Wallis juga dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri setelah diberikan ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda – beda. Dikatakan hal ini terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna apabila $p < 0.05$. Dari hasil uji Kruskal – Wallis, didapatkan hasil nilai signifikansi $p = 0.000$. Hal ini menandakan adanya perbedaan yang bermakna. Hasil ini menunjukkan perbedaan jumlah koloni yang signifikan setelah diberikan ekstrak pada berbagai konsentrasi. Dengan kata lain, perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri yang bermakna. Untuk mengetahui kelompok dosis yang mana yang memberikan perbedaan bermakna ini, maka perlu dilakukan analisis *post hoc*. Analisis *post hoc* untuk uji Kruskal – Wallis adalah uji Mann – Whitney, yang menguji antara konsentrasi 10.5%, 10.75%, 11.00%, 11.25%, 11.50% dan 11.75%.

5.2.3 Uji Mann – Whitney

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi Mann – Whitney guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri di antara dua macam dosis berbeda yang akan dibandingkan. Dikatakan terdapat perbedaan signifikan antar dua dosis yang dibandingkan jika $p < 0.05$. Hasil pengujian menunjukkan $p < 0.05$ pada seluruh dosis yang dibandingkan hal ini berarti terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antara kelompok konsentrasi 0% jika dibandingkan dengan kelompok yang diberikan ekstrak dan terdapat perbedaan jumlah koloni

yang bermakna antar sesama dosis yang dibandingkan ($p < 0.05$). Hal ini menandakan bahwa setiap dosis juga menghasilkan jumlah koloni yang berbeda dan perbedaan bermakna. Kecuali pada perbandingan dosis 11.50% dengan 11.75% didapatkan $p = 1$ yang berarti hasil yang diberikan antara kedua dosis itu adalah sama.

Tabel 5.2 Uji komparasi Mann – Whitney

Dosis	0%	10.5%	10.75%	11.00%	11.25%	11.50%	11.75%
0%	—	0.021*	0.018*	0.020*	0.018*	0.014*	0.014*
10.5%	xxx	—	0.018*	0.020*	0.018*	0.014*	0.014*
10.75%	xxx	xxx	—	0.017*	0.015*	0.011*	0.011*
11%	xxx	xxx	xxx	—	0.017*	0.013*	0.013*
11.25%	xxx	xxx	xxx	xxx	—	0.011*	0.011*
11.50%	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	—	1
11.75%	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	—

Keterangan : * = berbeda signifikan

5.2.4 Pengujian Korelasi dan Regresi

Untuk mengetahui besarnya hubungan pemberian ekstrak akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) sebagai antimikroba terhadap jumlah koloni bakteri *E.coli* yang tumbuh pada medium NAP, dilakukan uji korelasi. Uji korelasi yang berhubungan dengan Mann Whitney adalah uji korelasi Spearman.

Tabel 5.3 Uji Korelasi Spearman

Correlations			
		Koloni	Dosis
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1.000	-.985**
	Koloni Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	28	28
	Correlation Coefficient	-.985**	1.000
	Dosis Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	28	28

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

Dari hasil pengujian didapatkan angka signifikansi sebesar $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang berarti ada hubungan yang bermakna antara konsentrasi ekstrak akar ceplukan terhadap jumlah koloni bakteri *E.coli* . Nilai koefisien korelasi Spearman $R = -0.985$ menunjukkan ada korelasi yang sangat kuat (mendekati 1) dan memiliki hubungan berbanding terbalik antara dosis dan jumlah koloni, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak akar ceplukan yang diberikan maka jumlah koloni bakteri yang tumbuh akan semakin sedikit.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini memiliki tujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak akar tanaman Ceplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *E.coli* secara *in vitro*. Selain itu, juga untuk mengetahui besar pengaruh pemberian ekstrak akar tanaman Ceplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *E.coli*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*) yang dilanjutkan dengan inokulasi pada media *Nutrient Agar Plate* (NAP). Berdasarkan metode ini didapatkan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak akar tanaman Ceplukan (*Physalis angulata L.*) yang ditunjukkan dengan pertumbuhan koloni bakteri pada medium NAP dengan dosis 11.50% sudah mulai menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri. Sedangkan untuk Kadar Hambat Minimal (KHM) tidak dapat ditentukan karena cairan ekstrak yang berwarna kuning cerah mempersulit terjadinya penentuan dibandingkan dengan hasil tabung setelah diberikan bakteri.

Penelitian ini membutuhkan beberapa konsentrasi pelarut dan sebelum mendapatkan konsentrasi perlakuan tersebut, penulis terlebih dahulu melakukan penelitian eksplorasi. Dari hasil penelitian eksplorasi pertumbuhan bakteri tidak didapatkan pada konsentrasi 11.5% akan tetapi masih didapatkan pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 10.5%, sehingga dari rentang tersebut dipilih konsentrasi 10.5% hingga 11.5% sebagai rentang konsentrasi perlakuan dengan interval 0,25%. Dari penelitian eksplorasi juga didapatkan hasil bila rentang konsentrasi lebih jauh, misalnya 0.5% atau 1% maka pertumbuhan koloninya

sangat jauh berbeda, sehingga tidak dapat mengamati Kadar Bunuh Minimal (KBM) dengan seksama dan dapat mempengaruhi homogenitas data. Oleh karena itu, dipilih rentang konsentrasi 0,25% pada penelitian ini. Konsentrasi perlakuan yang digunakan adalah 0% (kontrol positif), 10.5%; 10.75%; 11%; 11.25%, 11.50% dan 11.75%. Pemilihan ini juga berdasarkan dari hasil eksplorasi sebelumnya.

Warna ekstrak akar tanaman Ceplukan (*Physalis angulata* L.) adalah kuning cerah, hal ini mempengaruhi dalam penentuan KHM. Warna dari garis – garis hitam yang diujikan pada setiap tabung sebenarnya menunjukkan peningkatan yang gradual tapi perbandingan dengan warna ekstrak yang sebenarnya berwarna kuning cerah mempersulit untuk menentukan ada tidaknya peningkatan yang semakin cerah. Hal ini menjadi pertimbangan bagi penulis untuk mengambil kesimpulan bahwa KHM dengan metode dilusi tabung tidak dapat dievaluasi secara kualitatif.

Pada proses *streaking* pada medium NAP, nilai KBM terhadap bakteri *E.coli* diperoleh pada konsentrasi ekstrak 11.50% dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *E.coli*. Selain itu dilakukan juga proses konfirmasi untuk memastikan nilai KBM tersebut. Dilakukan *streaking* dengan menggunakan dosis 11.75%. Dan hasilnya menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *E.coli* pada pengulangan 1, pengulangan 2, pengulangan 3, dan pengulangan 4. Sehingga hal ini menjadi konfirmasi bahwa konsentrasi ekstrak 11.50% adalah konsentrasi ekstrak yang menjadi konsentrasi bunuh minimal terhadap bakteri *E.coli*.

Hasil dari penghitungan jumlah koloni bakteri ini kemudian dianalisis dengan menggunakan SPSS 20, menggunakan uji statistik *Non Parametrik*

Kruskal - Wallis, uji Mann – Whitney, dan uji korelasi – regresi Spearman. Dari hasil uji Kruskal – Wallis didapatkan nilai signifikansi sebesar $p = 0.000$ ($p < 0.005$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni bakteri setelah diberikan ekstrak pada berbagai tingkatan konsentrasi ekstrak. Uji ini juga dengan batas kepercayaan 95% yang berarti kemungkinan kesalahan terhadap hasil penelitian dan pengujian ini berkisar 5%. Data – data ini menunjukkan bahwa ekstrak Ceplukan (*Physallis angulata* L) yang diberikan mempengaruhi pertumbuhan dan jumlah dari koloni bakteri.

Setelah melakukan uji Kruskal – Wallis dilakukan pula uji Mann – Whitney tujuannya untuk mengetahui perbandingan terhadap antar masing – masing konsentrasi. Dikatakan terdapat hasil perbedaan yang signifikan antar masing – masing dosis apabila dalam setiap tes ditemukan $p < 0.05$. Pada uji komparasi ini didapatkan bahwa pada setiap perbandingan antar dosis terdapat signifikansi $p < 0.05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antar masing – masing konsentrasi yang dibandingkan. Hal ini menunjukkan bahwa setiap konsentrasi ekstrak akar tanaman Ceplukan memberikan efek terhadap bakteri dan menghasilkan jumlah koloni bakteri yang berbeda – beda setelah pemberian terkait dengan tingkat konsentrasi ekstrak. Setelah ini akan dilakukan uji Korelasi untuk melihat arah korelasi dan seberapa kuat efek korelasi tersebut.

Dari uji Korelasi non parametric Spearman menunjukkan nilai signifikansi $p = 0.000$ dengan *correlation coefficient* -0.985 . Hal ini berarti pemberian ekstrak dari akar tanaman Ceplukan mempunyai korelasi yang signifikan dengan jumlah koloni bakteri *E.coli* dengan arah korelasi negative. Hasil ini menandakan ada korelasi negative yang berarti adanya korelasi yang

berbanding terbalik. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka akan beriringan dengan semakin rendahnya jumlah koloni bakteri. Data – data ini menandakan bahwa Ceplukan (*Physallis angulata L*) memberikan efek antimikroba terhadap bakteri *E.coli* dan bersifat inhibisi terhadap pertumbuhan bakteri.

Efek antimikroba pada ekstrak akar Ceplukan (*Physallis angulata L*) terhadap bakteri *E.coli* diperkirakan diperankan oleh zat-zat aktif yang larut dalam alkohol, sebab metode ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut alkohol. Diperkirakan zat-zat aktif yang larut dalam alkohol adalah *polifenol*, *flavonoid* dan *alkaloid* (Pramudi, 2006). Alkaloid merupakan senyawa heterosiklik yang mengandung basa nitrogen. Mekanisme kerja dari alkaloid dihubungkan dengan kemampuan mereka untuk meletakkan diri di antara DNA (mengkatalasi DNA) (Naim, 2004).

Adanya zat yang berada di antara DNA akan menghambat replikasi DNA yang berujung pada terjadinya kematian sel. Polifenol berfungsi sebagai *growth inhibitor* sehingga dapat mencegah pertumbuhan mikroba. (Susanti, dkk. 2008). Selain itu mekanisme kerja polifenol pada mikroorganisme adalah sebagai *inhibitor* enzim oleh senyawa yang teroksidasi, kemungkinan melalui reaksi dengan grup sulfahidril atau melalui interaksi non spesifik dengan protein. Hambatan pada enzim tersebut mengganggu fungsi enzim dan substratnya yang lambat laun akan menyebabkan kematian sel. Bahan aktif ini yang menyebabkan akar Ceplukan (*Physallis angulata L*) memiliki efek yang dapat digunakan sebagai antimikroba.

Dengan melihat fakta hasil penelitian ini yaitu adanya penurunan jumlah koloni bakteri *E.coli* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan

yang diperkuat dengan data kandungan bahan aktif ekstrak akar Ceplukan (*Physallis angulata* L) yang mampu menghambat pertumbuhan *E.coli*, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak akar Ceplukan (*Physallis angulata* L) terbukti memiliki efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *E.coli*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesa yang telah disusun sebelumnya adalah benar.

Keterbatasan penelitian ini antara lain pada metode kromatografi lapis tipis yang tidak dapat dilaksanakan, sehingga tidak diketahui secara pasti bahan aktif antimikroba apa saja yang terkandung di dalamnya. Selain itu, jumlah pasti masing-masing bahan aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi tidak diketahui secara pasti. Bahan aktif tersebut dapat bekerja sendiri-sendiri ataupun bersama-sama untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Selain itu, tidak ada standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam, sehingga apabila dilakukan pembuatan ekstrak di laboratorium yang berbeda, maka akan didapatkan hasil yang berbeda-beda. Adanya variasi biologis dari masing-masing spesies Ceplukan juga dapat mempengaruhi jumlah bahan aktif antimikroba. Sebagai misal, Ceplukan yang tumbuh di daerah X dapat memiliki kandungan yang berbeda dengan Ceplukan yang tumbuh di daerah Y. Faktor lain yang dapat mempengaruhi adalah lamanya masa penyimpanan ekstrak. Semakin lama disimpan, maka sensitifitas ekstrak biasanya akan menurun. Akan tetapi ada beberapa ekstrak yang mengalami peningkatan efek. Selain faktor – faktor di atas, kekurangan dalam penelitian ini juga adalah jenis strain *E.coli* yang digunakan tidak bervariasi dan tidak berbeda – beda dalam proses pengulangan. Hal ini mempengaruhi dalam proses generalisasi efektivitas ekstrak Ceplukan terhadap strain – strain *E.coli* yang lain. Oleh karena itu, untuk penelitian – penelitian selanjutnya perlu adanya standarisasi, baik dari cara pemilihan bahan

yang digunakan, strain *E.coli* yang digunakan dan lamanya masa penyimpanan sehingga diharapkan apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama. Oleh sebab itu, untuk penerapan langsung di masyarakat, penelitian ini dapat dikatakan masih terlalu dini dan masih membutuhkan banyak penelitian lanjutan agar nantinya kandungan antimikroba yang didapatkan pada tanaman Ceplukan dapat diaplikasikan secara klinis.

Aplikasi klinis yang diharapkan dari penelitian ini adalah penggunaan ekstrak akar Ceplukan yang nantinya mungkin bisa bersifat sistemik, tetapi hal ini juga masih memerlukan penelitian lebih lanjut, yaitu melalui pengujian pada hewan coba maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Sebelum calon obat baru dapat dicobakan pada manusia, dilakukan penelitian terlebih dahulu untuk menentukan farmakodinamik, farmakokinetik dan efek toksiknya pada hewan coba. Dalam studi farmakokinetik ini tercakup pengembangan teknik analisis untuk mengukur kadar senyawa tersebut dan metabolitnya dalam cairan biologis. Semuanya dilakukan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil resiko yang merugikan pada penelitian terhadap manusia. Studi toksikologi pada hewan umumnya dilakukan 3 tahap yaitu penelitian toksisitas akut bertujuan mencari besarnya dosis tunggal yang membunuh 50% sekelompok hewan coba (LD50), penelitian toksisitas jangka panjang bertujuan meneliti efek toksik pada hewan coba setelah pemberian obat dalam jangka panjang, penelitian toksisitas khusus meliputi penelitian terhadap sistem reproduksi termasuk teratogenitas, uji karsinogenitas, dan mutagenisitas, serta uji ketergantungan. Sedangkan pengujian pada manusia (uji klinik) terdiri dari uji fase I sampai IV (Setiawati,2007). Pada dasarnya uji klinik tersebut bertujuan untuk memastikan

efikasi, keamanan, dan gambaran efek samping yang sering timbul pada manusia akibat pemberian suatu obat (Setiawati,2007), dalam hal ini adalah obat yang berasal dari Ceplukan (*Physalis angulata L.*).



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan telah dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol akar tanaman Ceplukan memiliki daya antimikroba terhadap bakteri *Eschericia coli* (*E.coli*) secara *in vitro*.
2. Kadar Hambat Minimal (KHM) dari penelitian ini tidak dapat ditentukan karena tingkat kekeruhan bakteri yang relatif berwarna kuning cerah, kurang mampu untuk dibandingkan dengan control bakteri
3. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak akar tanaman Ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang dapat membunuh bakteri *E.coli* adalah pada konsentrasi 11.50%.
4. Konsentrasi ekstrak etanol akar tanaman Ceplukan yang diberikan memiliki efek inhibisi yang berbanding terbalik terhadap tingkat pertumbuhan bakteri *E.coli*.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah:

1. Perlu penelitian lebih lanjut melalui metode kromatografi lapis tipis untuk mengetahui persentase masing-masing bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak akar tanaman Ceplukan.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bahan aktif apa yang paling berperan sebagai antimikroba pada ekstrak akar tanaman Ceplukan.
3. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek antimikroba akar tanaman Ceplukan pada bakteri lain maupun fungi dan virus.

4. Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat efektivitas ekstrak akar tanaman Ceplukan secara *in vivo* (hewan coba dan uji klinik) sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.
5. Perlu ada standardisasi dalam pembuatan ekstrak akar tanaman Ceplukan maupun dalam pemilihan bahan serta lama masa simpan ekstrak yang masih dapat digunakan sebagai antimikroba.
6. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain, misalnya dengan dilusi agar (*plate dilution*) untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak akar tanaman Ceplukan sebagai antimikroba terhadap bakteri *E.coli*.
7. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap bagian lain dari tanaman Ceplukan (*Physalis angulata L.*) untuk bahan antimikroba.
8. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut efektivitas ekstrak Ceplukan terhadap strain – strain *E.coli* yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Acumedia Manufactures. 2001. *Triple Sugar Iron agar* (7162). Neogen Corporation. 620 Lesher Place, Lansing MI 48912
- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia Buku 3*. Salemba medika, Jakarta. Hlm. 67-70.
- Amelia, 2004. Fito-kimia Komponen Ajaib Cegah PJK, DM, dan Kanker, Bogor : Putlitbang Gizi, (Online). (<http://www.kompas.co.id/> diakses tanggal 7 Januari 2012)
- American Academy of Pediatrics . 2012. Healthy Children. *Escherichia coli Diarrhea*. (Online), <http://www.healthychildren.org/English/health/issues/condition/abdominal/pages/Escherichia,coli,Diarrhea.aspx?nfstatus=401&nftoken=00000000-0000-0000-0000-000000000000&nftatusdescription=ERROR%3a+No+local+token>, diakses 7 Januari 2012)
- Bastos, G. N. T., 2005, Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. on mice, *Journal of Ethnopharmacology* 103 (2006) 241–245
- Beaver, L., Rutter, M., 2010. *IMViC MU Test*. (Online). (<http://www.austincc.edu/microbugz/imvic.php> diakses tanggal 7 Januari 2012)
- Brooks BF., Butel JS., dan Morse SA., 2010. *Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 25th Ed*. USA : The McGraw-Hill Companies inc.
- Cann, Alan. 2010. *Escherichia coli* (Online). <http://www.microbiologybytes.com/video/Ecoli.html> (diakses tanggal 7 Januari 2012)
- Departemen Kesehatan Indonesia. 2011. *Situasi Diare di Indonesia*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Jakarta.

Dubinovsky, M., Anderson T. 2007. *Fruits of Asia: Local Name Index*. Florida.

USA.(Online)(http://toptropicals.com/html/toptropicals/articles/fruit/asian_fruit.html) (diakses tanggal 8 Januari 2012)

Dzen SM, Roekistiningsih, Santoso S, Winarsih S, Sumarno, Islam S, AS N, Murwani S, Santosaningsih D. 2010. *Bakteriologi Medik* . Edisi ke - 1. Malang: Bayumedia Publishing

Ehrlich G., et al. 2005. Bacterial plurality as a general mechanism driving persistence in chronic infection. (Online),(<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid16056021> diakses tanggal 7 Januari 2012)

Evans Jr., Colores G.E., 2001. *Escherichia coli in Diarrhea Diseases*. Medical Microbiology Foruth Edition. USA.

Farasat. T, Bilal Z., Yunus FN., 2012. Isolation and Biochemical Identification of *Escherichia coli* From Wastewater Effluents of Food and Beverage Industry. Lahore College for Women University, Lahore, Pakistan

Food Standards Agency. 2011. *E.coli O157 Control of cross – contamination*. Aviation House, 125 Kingsway. London

Hall DW., Vandiver W., dan Sellers BA., 2006. Cutleaf Ground-cherry, *Physalis angulata* L.,(Online) . (<http://www.rain-tree.com/Plant-Images/mullacapic.htm> diakses tanggal 7 Januari 2012)

Harmita, Radji, M., 2008, Buku Ajar Analisis Hayati, (online), (http://books.google.co.id/books?id=ac3xoxKVzWIC&printsec=front,cover&dq=analisis+hayati&hl=id&ei=rPvsTcCbKYK8sQPc8NT0DQ&sa=X,oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCcQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false , diakses pada tanggal 7 Januari 2012)

- Justice S., Hunstad D., Seed P., Hultgren S., 2006. *Filamentation of Escherichia coli subverts innate defenses during urinary tract infection*. Proc Natl Acad Sci USA 103 (52): 19884-9. Doi:10.1073/pnas.0606329104 PMID. 17172451
- Klemm P, 1985. Fimbrial adhesions of e.coli. **Reviews of Infectious Disease** Vol. 7, No. 3 May – Jun., 1985), pp. 321-340
- Latifah, N., Hidayati, AA., Rossano, S., dan Sulistyorini, E., 2008. *Ciplukan*, (Online)(<http://ccrcfarmasiugm.wordpress.com/ensiklopedia,tanaman,anti,kanker/c/ciplukan/> diakses tanggal 7 Januari 2012)
- Loekito, H.H., 1998. *Rancangan Percobaan*. Malang: IKIP
- Naim, Rochman. 2004. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. (Online). (<http://www.kompas.com> diakses tanggal 8 Januari 2012)
- Ross. 2006. *Enteric Demonstration*. Mdeicla Microbiology. USA. (Online) (<http://spiceisle.com/zross/Enteric%20Demo.html> diakses tanggal 8 Januari 2012)
- Setiawati A, Suyatna FD, Gan S. 2007. Farmakologi dan Terapi Edisi 5 Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penerbit Gaya Baru, Jakarta. Hal. 24-25.
- Stapleton A., 2005. Novel Mechanism of P-Fimbriated *Escherichia coli* Virulence in Pyelonephritis. J Am Soc Nephrol 16: 3458-3460
- Stenutz R., Weintraub A., Widmalm G. 2006. *The structures of Escherichia coli O-polysaccharide antigens*. FEMS Microbiol. Rev. 30:382-403.
- Susanti, A., Rimyanti, I., Sukamanadi, M. 2008. *Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (Pluchea indica less) Terhadap Eschericia coli Secara In Vitro*. Jurnal Universitas Airlangga, (Online), (http://journal.unair.ac.id/detail_jurnal.php?id=2258&med=28&bid=5) diakses tanggal 8 Januari 2012

Taylor, L. 2005. *MULLACA (Physalis angulata)*, (Online),
(<http://www.raintree.com/book2.htm>. diakses tanggal 7 Januari 2012)

Todar, K., 2007. *Bacteriology*. Department of Bacteriology. University of
Winconsin-Madison

Tropicshealth. 2006. *Physalis*, (Online), (<http://www.tropicshealth.com> diakses
tanggal 7 Januari 2012)

UNICEF. 2009 . UNICEF and WHO launch report on diarrhea, the second
greatest killer of children. (Online)
(<http://www.unicefusa.org/news/releases/unicef-and-who-launch-report.html> diakses tanggal 7 Januari 2012)

United States Department of Agroculture. 2012. *Detection, Isolation and
Identification of Escherichia coli O157:H7 from Meat Products*. Laboratory
QA/QC Division. Athens

Vieira, A.T., Pinho, V., Lepsch, L., et a, 2005. Mechanisms of the anti-
inflammatory effects of the natural secosteroids physalins in a model of
intestinal ischaemia and reperfusion
injury. *British Journal of Pharmacology* (2005) 146, 244-251.

Yang, L. et al. 2011. Photocleavable Protein Interaction Reporter Strategy
Reveals in vivo Protein Interaction of E.coli. University of Washington.
Seattle. WA

Zein, U. Sagala K.H., Ginting J., 2004. *Diare Akut Disebabkan Bakteri*. Fakultas
Kedokteran Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi Bagian Ilmu Penyakit
Dalam Universitas Sumatera Utara. (Online)
(<http://library.usu.ac.id/modules.php> diakses tanggal 8 Januari 2012)

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Felix Cendikiawan

NIM : 0910710071

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 Februari 2013

Yang membuat pernyataan

(Felix Cendikiawan)

NIM. 0910710071

LAMPIRAN

Lampiran 1: *Test of Normality* (Uji Normalitas Data)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Koloni
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	94341.6667
	Std. Deviation	215898.75474
	Absolute	.502
Most Extreme Differences	Positive	.502
	Negative	-.331
Kolmogorov-Smirnov Z		2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran 2: *Test of Homogeneity of Variances* (Uni Homogenitas Varian)

Test of Homogeneity of Variances

Koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
18.748	5	18	.000

Lampiran 3: Uji *Kruskal – Wallis*

Ranks			
	Dosis	N	Mean Rank
Koloni	0%	4	26.50
	10,5%	4	22.50
	10,75%	4	18.50
	11%	4	14.50
	11,25%	4	10.50
	11,5%	4	4.50
	11,75%	4	4.50
	Total	28	

Test Statistics^{a,b}

	Koloni
Chi-Square	26.689
df	6
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Dosis

Lampiran 4: Uji Komparasi *Mann – Whitney*

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
Koloni	10,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
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: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
Koloni	10,75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
Koloni	11%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
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: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
Koloni	11,25%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
Koloni	11,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
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: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6.50	26.00
Koloni	11,75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
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: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,5%	4	6.50	26.00
Koloni	10,75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,5%	4	6.50	26.00
Koloni	11%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
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: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,5%	4	6.50	26.00
Koloni	11,25%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,5%	4	6.50	26.00
Koloni	11,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
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: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,5%	4	6.50	26.00
Koloni	11,75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
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: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,75%	4	6.50	26.00
Koloni	11%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,75%	4	6.50	26.00
Koloni	11,25%	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.428
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,75%	4	6.50	26.00
Koloni	11,5%	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	10,75%	4	6.50	26.00
Koloni	11,75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	11%	4	6.50	26.00
Koloni	11,25%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.381
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	11%	4	6.50	26.00
Koloni	11,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	11%	4	6.50	26.00
Koloni	11,75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	11,25%	4	6.50	26.00
Koloni	11,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	11,25%	4	6.50	26.00
Koloni	11,75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	11,5%	4	4.50	18.00
Koloni	11,75%	4	4.50	18.00
Total		8		

Test Statistics^a

	Koloni
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Lampiran 5: Uji Korelasi *Spearman*

Correlations

		Koloni	Dosis
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1.000	-.985**
	Koloni Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	28	28
	Correlation Coefficient	-.985**	1.000
	Dosis Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	28	28

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