

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK ETANOL BUAH DELIMA
(*Punica granatum*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP
Shigella dysenteriae SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR

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



Oleh :
Yuriska Mayda Sumantri
NIM : 0910713039

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

2013

HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK ETANOL BUAH DELIMA (*Punica granatum*)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Shigella dysenteriae* SECARA IN
VITRO

Oleh:

Yuriska Mayda Sumantri

NIM. 0910713039

Telah diuji pada :

Hari : Rabu

Tanggal : 02 Januari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Sudjari, DTM&H, M.Si, Sp.Par.K
NIP. 19510421 198002 1 003

Penguji II / Pembimbing I
Pembimbing II

dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc, Sp.M
NIP.19770601 200312 1 005

Penguji III /

dr. Rita Rosita, M.Kes
NIP. 19730811 200501 2 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardiono, DTM&H.,M.Sc.,SpPark
NIP. 19520410 198 002 1 001

KATA PENGANTAR

Puji Syukur saya ucapkan kepada Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberi petunjuk, berkah, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Tugas Akhir yang berjudul “Uji Efektifitas Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro”. Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

Dalam proses penulisan Tugas Akhir ini, penulis juga banyak didukung oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc, Sp.M selaku Dosen Pembimbing pertama yang telah banyak meluangkan waktu ditengah kesibukan beliau untuk membimbing dan mengarahkan penulis dengan sabar dan selalu memberi semangat selama penulisan Tugas Akhir ini.
3. dr. Rita Rosita, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktu ditengah kesibukan beliau untuk membimbing dan mengarahkan penulis dengan sabar dan selalu memberi semangat selama penulisan Tugas Akhir ini.
4. dr. Sudjari, DTM&H, M.Si, Sp.Par.K selaku tim penguji Tugas Akhir atas segenap masukan demi tersusunnya Tugas Akhir ini dengan baik.
5. Mas Slamet, Mbak Uci, Mas Hendri, Bu Yati selaku staf Laboratorium

Mikrobiologi FKUB untuk keahlian dan ketelatenannya dalam membantu pelaksanaan penelitian.

6. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya khususnya Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. dan dr. Soemardini, MPd., yang telah memberikan banyak informasi, bantuan dan dukungan.
7. Terimakasih kepada mama papa tercinta Sutantri & Sumantri, adikku tercinta Zulfikar Bintang P.S. serta seluruh keluargaku yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan terus-menerus agar karya tulis ini cepat selesai.
8. Sahabat-sahabatku : Isha, Asa, Raras, Trisna, Mega, Jul, Ela, Dinar, Leli, Dita, Dina dan teman-teman lain yang telah memberi semangat yang luar biasa dalam pengerjaan Tugas Akhir ini.
9. Teman-teman pendidikan dokter angkatan 2009 yang selalu kompak dan memberikan suasana yang menyenangkan dalam menuntut ilmu, semoga tetap kompak sampai kita semua lulus menjadi dokter.
10. 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 kesempurnaan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga Tugas Akhir ini dapat diterima dan akan bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca yang membutuhkannya.

Malang, 23 Desember 2012

Penulis

ABSTRAK

Sumantri, Yuriska Mayda. 2013. **Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Shigella dysenteriae* secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc, Sp.M. (2) dr. Rita Rosita, M.Kes.

Shigella dysenteriae adalah bakteri penyebab utama *Shigellosis* yang merupakan penyakit infeksi yang tersebar di seluruh dunia. *Shigella dysenteriae* bersifat multi resisten terhadap beberapa antimikroba tertentu, sehingga menimbulkan masalah terapi yang sulit. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan antimikroba alternatif dari bahan alam, salah satunya adalah buah delima yang memiliki kandungan *flavonoid*, *tannin*, dan *asam fenolik*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas ekstrak etanol buah delima sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah dilusi tabung yang terdiri dari tahap penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Ekstrak etanol buah delima dibuat dengan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut *etanol* 96%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 7,5%; 10%; 12,5%; 15%; 17,5% dan 20%. Hasil statistik *one-way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak *etanol* 96% buah delima terhadap jumlah koloni *Shigella dysenteriae* ($p=0,000$). Uji korelasi menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni (Korelasi, $R = -0,899$; $p=0,000$). Kadar Hambat Minimum (KHM) dari penelitian ini tidak dapat ditentukan karena ekstrak etanol buah delima berwarna gelap. Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol buah delima terhadap *Shigella dysenteriae* adalah 15%. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak *etanol* buah delima mempunyai efek antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.

Kata kunci: antimikroba, *Shigella dysenteriae*, buah delima.

ABSTRACT

Sumantri, Yuriska Mayda. 2013. **Effectiveness Testing on Pomegranate Ethanol Extract (*Punica granatum*) as the In Vitro Antimicrobial of *Shigella dysenteriae***. Final Project, Doctoral Education Department, Medical Faculty, Brawijaya University. Advisors: (1) dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc, Sp.M. (2) dr. Rita Rosita, M.Kes.

Shigella dysenteriae is the main cause of *Shigellosis*. It is an infection that has already spread out around the world. One characteristic of *Shigella dysenteriae* is being resistant with some certain antimicrobials that make it difficult in term of the therapy. Furthermore, it is necessary to conduct a research in order to discover the alternative antimicrobials taken from the nature source. One of the sources that can be used is pomegranate which has a high content of *flavonoid*, *tannin* and *fenolic acid*. The aim of this study is to find out the effectiveness of pomegranate ethanol extract used as the in vitro antimicrobial of *Shigella dysenteriae*. The method used in this study is tube dilution which consists of two steps. The first step is determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the second step is determining the Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The sample of this study is *Shigella dysenteriae*, which is taken from Microbiology Laboratory of Medical Faculty in Brawijaya University, Malang. The pomegranate ethanol extract is derived from maceration extraction by using 96% ethanol solvent. The concentrations of the pomegranate extract that used in this research are 7.5%; 10%; 12.5%; 15%; 17.5%; 20%. The statistic result, by using ANOVA one-way, shows a significant difference in the concentration change of the pomegranate 96% ethanol extract toward the quantity of the *Shigella dysenteriae* colony ($p=0.000$). The correlation test reveals that there is a correlation between the extract concentration and the quantity of the colony (Correlation, $R = -0.899$; $p = 0.000$). The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) cannot be measured since the color of the pomegranate ethanol extract is dark. The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the pomegranate ethanol extract toward *Shigella dysenteriae* is 15%. Thus, based on this research, it can be concluded that the pomegranate ethanol extract has an in vitro antimicrobial effect toward *Shigella dysenteriae*.

Keywords: antimicrobial, *Shigella dysenteriae*, pomegranate

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Mengenai <i>Shigella dysenteriae</i>	5
2.1.1 Morfologi dan Identifikasi	5
2.1.2 Taksonomi	5
2.1.3 Struktur Dinding Sel	6
2.1.4 Struktur Antigen	7
2.1.5 Daya Tahan	7
2.1.6 Patogenesis dan Patologi	8
2.1.7 Faktor-faktor Patogenesis	8
2.1.7.1 Faktor Permukaan	8

2.1.7.2	Daya Invasi	9
2.1.7.3	Toksin.....	9
2.1.8	Manifestasi Klinis.....	10
2.1.9	Diagnosis Laboratorium	10
2.1.10	Terapi.....	11
2.1.11	Epidemiologi	12
2.1.12	Pencegahan	12
2.2	Tinjauan Tanaman Delima	13
2.2.1	Klasifikasi dan Morfologi	13
2.2.2	Habitat dan Distribusi Geografis	15
2.2.3	Kandungan Tanaman Delima	15
2.2.3.1	Kandungan Nutrisi	15
2.2.3.2	Kandungan Non-Nutrisi.....	16
2.2.4	Pemakaian Dalam Pengobatan	16
2.2.5	Komponen Antimikroba dalam Buah Delima	18
2.2.5.1	Tanin	18
2.2.5.2	Flavonoid	19
2.2.5.3	Asam Fenolik	19
2.3	Terapi Antimikroba	20
2.3.1	Spektrum Antimikroba	20
2.3.2	Mekanisme Kerja Obat Antimikroba	21
2.3.3	Mekanisme Resistensi Mikroba terhadap Obat	21
2.3.3.1	Mekanisme Resistensi Mikroba terhadap Obat secara umum	21
2.3.3.2	Mekanisme Resistensi <i>Shigella</i> sp. Terhadap Obat	22
2.3.4	Uji Kepekaan terhadap Antimikroba In Vitro	23
2.3.4.1	Metode Dilusi Tabung	23
2.3.4.2	Metode Difusi Cakram	24
2.3.5	Metode Ekstraksi	25

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konsep	27
-----	-----------------------	----



3.2 Hipotesis Penelitian	28
--------------------------------	----

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian	29
-----------------------------	----

4.2 Sampel dan Besar Sampel	29
-----------------------------------	----

4.2.1 Sampel Penelitian	29
-------------------------------	----

4.2.2 Sampel dan Estimasi Jumlah Pengulangan	30
--	----

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	30
---------------------------------------	----

4.4 Variabel Penelitian	31
-------------------------------	----

4.4.1 Variabel Bebas	31
----------------------------	----

4.4.2 Variabel Tergantung	31
---------------------------------	----

4.5 Definisi Operasional	31
--------------------------------	----

4.5.1 Ekstrak Etanol Buah Delima	31
--	----

4.5.2 <i>Shigella dysenteriae</i>	31
---	----

4.5.3 Kadar Hambat Minimal (KHM)	31
--	----

4.5.4 Kadar Bunuh Minimal (KBM)	32
---------------------------------------	----

4.5.5 Kontrol Bakteri (Kontrol Positif)	32
---	----

4.5.6 Kontrol Bahan (Kontrol Negatif)	32
---	----

4.5.7 <i>Original Inoculum</i>	32
--------------------------------------	----

4.5.8 Pengamatan Kualitatif	33
-----------------------------------	----

4.5.9 Pengamatan Kuantitatif	33
------------------------------------	----

4.6 Alat dan Bahan Penelitian	33
-------------------------------------	----

4.6.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Delima ...	33
---	----

4.6.2 Alat dan Bahan Untuk Pewarnaan Gram Bakteri	34
---	----

4.6.3 Alat dan Bahan Untuk Uji Dilusi Tabung	34
--	----

4.7 Rancangan Operasional Penelitian	35
--	----

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Delima	35
--	----

4.7.2 Identifikasi <i>Shigella dysenteriae</i>	37
--	----

4.7.2.1 Pewarnaan Gram	37
------------------------------	----

4.7.2.2 Sistem <i>Microbact</i>	38
---------------------------------------	----

4.7.3 Pembuatan Suspensi <i>Shigella dysenteria</i>	39
---	----

4.7.4 Uji Sensitivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Buah Delima	41
--	----

4.8 Analisis Data	44
-------------------------	----

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian	45
5.1.1 Identifikasi Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	45
5.1. 2 Hasil Penentuan KHM	46
5.1.3 Hasil Penentuan KBM	48
5.2 Analisis Data	50

BAB 6 PEMBAHASAN 54

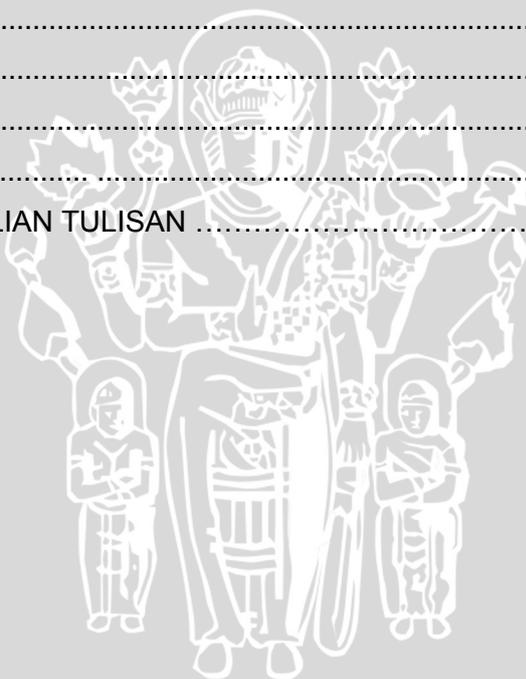
BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan	60
7.2 Saran	60

DAFTAR PUSTAKA 62

LAMPIRAN 67

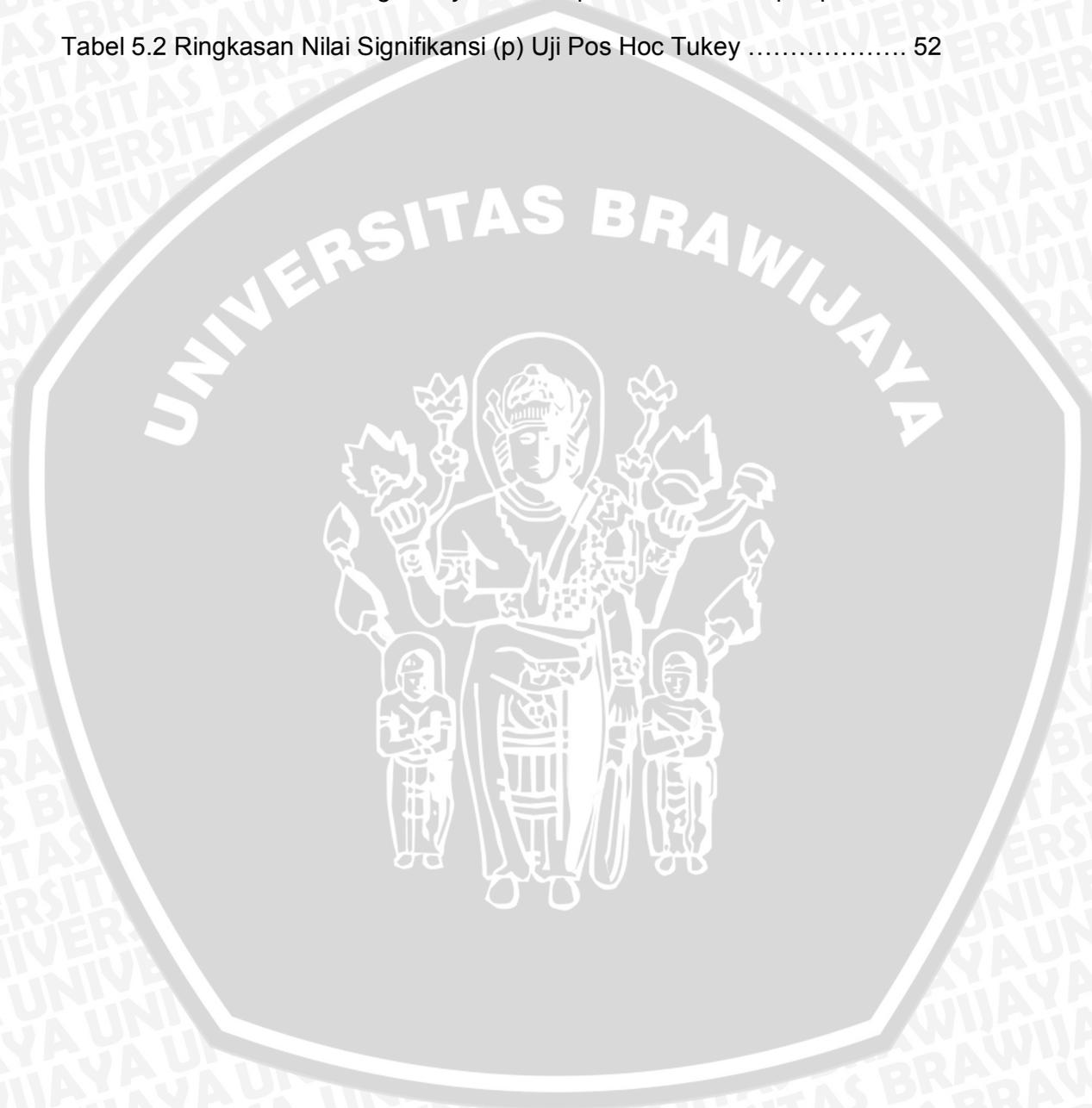
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN 73



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Jumlah Koloni *Shigella dysenteriae* pada Media NAP per plate.... 48

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Pos Hoc Tukey 52



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Pohon Delima	14
Gambar 2.2	Daun dan Buah Delima	15
Gambar 3.1	Kerangka konsep penelitian	27
Gambar 4.1	Skema prosedur penelitian	43
Gambar 5.1	Hasil Pewarnaan Gram	45
Gambar 5.2	Hasil Scan <i>Microbact Test</i>	46
Gambar 5.3	Dilusi Tabung dengan Beberapa Konsentrasi Ekstrak Buah Delima terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>S. dysenteriae</i>	47
Gambar 5.4	Hasil <i>Streaking S. dysenteriae</i> pada Medium NAP untuk uji KBM	48
Gambar 5.5	Kurva Regresi Linier Jumlah Koloni untuk Masing-Masing Konsentrasi Ekstrak Buah Delima Dimulai dari Konsentrasi Rendah ke Konsentrasi Tinggi	50

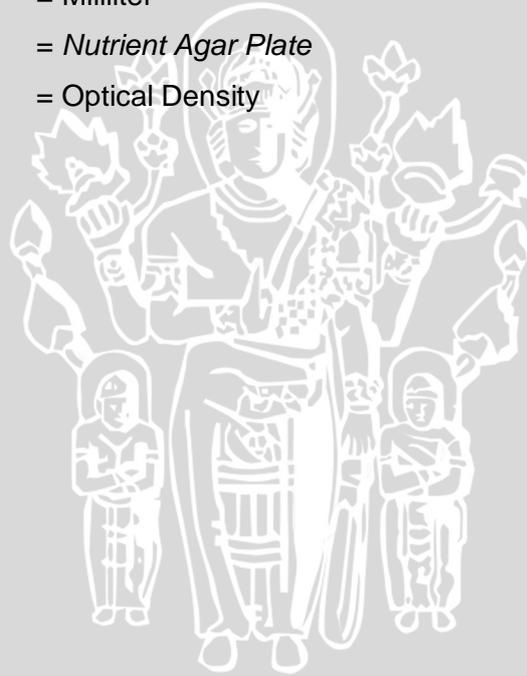
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Uji Homogenitas Data.....	67
Lampiran 2	Uji Normalitas Data.....	67
Lampiran 3	Uji Beda One Way Anova.....	67
Lampiran 4	Uji Multi Komparasi Pos Hoc Tukey.....	68
Lampiran 5	Uji Regresi Linier Sederhana.....	68
Lampiran 6	Alat Penelitian.....	70



DAFTAR SINGKATAN

CFU	= Colony Forming Unit
EMB	= Eosin Methylene Blue
OI	= Original Inoculum
KBM	= Kadar Bunuh Minimum
KHM	= Kadar Hambat Minimal
KP	= Kontrol Positif
KN	= Kontrol Negatif
MHB	= Mueller Hinton Broth
mL	= Mililiter
NAP	= Nutrient Agar Plate
OD	= Optical Density



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Shigellosis merupakan salah satu penyakit infeksi yang tersebar diseluruh dunia. Di dunia sekurang-kurangnya 200 juta kasus dan 650.000 kematian terjadi setiap tahun akibat *shigellosis* pada anak-anak di bawah umur 5 tahun. *Shigellosis* kebanyakan ditemukan di negara-negara berkembang, yang kesehatan lingkungannya masih kurang karena lingkungan yang jelek akan menyebabkan mudahnya penularan penyakit (Sya'roni, 2006). Penyebaran *shigellosis* dari manusia ke manusia melalui *oral-fecal route*. Karena *oral habits*, anak-anak dibawah 5 tahun merupakan separuh penderita dari semua kasus dan anak-anak di bawah 10 tahun dua pertiga dari semua kasus yang dilaporkan (M.Dzen dkk., 2003).

Shigella sp adalah penyebab utama *shigellosis* atau disentri basiler, suatu penyakit yang ditandai dengan nyeri perut hebat, diare yang sering dan sakit dengan volume tinja sedikit disertai lendir dan darah. Di negara-negara berkembang, yang higien dan sanitasinya jelek *S.dysenteriae* dan *S.boydii* lebih sering diisolasi, diikuti *S.flexneri* dan *S.sonnei*. Bila *shigellosis* menyerang populasi anak-anak, kematian paling banyak terjadi akibat infeksi *S.dysenteriae* (M.Dzen dkk., 2003), karena *shigellosis* yang disebabkan infeksi *S.dysenteriae*, biasanya berat dan masa penyembuhan lama. Sedangkan *shigellosis* karena infeksi *S.flexneri* mempunyai angka kematian yang rendah (Sya'roni, 2006).

Prinsip dalam melakukan tindakan pengobatan adalah istirahat, mencegah atau memperbaiki dehidrasi dan pada kasus yang berat diberi antibiotika. Menurut WHO pasien diberi pengobatan antibiotika bila telah terdiagnosis *shigellosis* (Sya'roni, 2006). Sekitar 50% galur spesies *Shigella* pada berbagai belahan dunia bersifat multi resisten (resisten terhadap beberapa obat) (Brooks *et al.*, 2005). Di negara-negara berkembang, *S.dysenteriae tipe 1* (memiliki *cytotoxin* protein, dikenal sebagai *Shiga toxin*) telah multi resisten terhadap obat-obatan. Berdasarkan penelitian, *Shigella dysenteriae* menunjukkan resistensi tinggi terhadap *co-trimoxazole* dan *ampicillin* (>86%) (Pourakbari *et al.*, 2010). Di Bangladesh dilaporkan *S.dysenteriae* (100%) resisten terhadap asam nalidiksik (Subekti *dkk.*, 2001).

Umumnya penyebab resistensi antibiotika di negara berkembang adalah pemakaian yang berlebihan dan penyalahgunaan antibiotika. Dan penyebaran resistensi ini karena kurang diberlakukannya peraturan dan kebijakan (Subekti *dkk.*, 2001). Selain adanya permasalahan resistensi antibiotika, adanya efek samping dari penggunaan antibiotika untuk pengobatan *shigellosis* tentunya juga menjadi kendala utama penatalaksanaan penyakit *shigellosis*. Hampir semua pilihan antibiotika untuk pengobatan *shigellosis* memiliki efek samping, mulai dari yang ringan sampai yang mengancam jiwa. Seperti antibiotika Norfloxacin dan Ciprofloxacin memiliki efek samping yang ringan yaitu pusing, hipotensi dan dyspepsia. Untuk antibiotika ampicillin dan ceftriaxone dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas, sedangkan antibiotika Co-trimoxazole atau trimethoprim-sulphamethoxazole dapat menyebabkan *Stevens-Johnson syndrome* (Christopher *et al.*, 2010). Oleh karena itu, untuk mengatasi permasalahan

pengobatan penyakit *shigellosis* diperlukan suatu penelitian terhadap bahan alam yang berpotensi sebagai antimikroba.

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang luas. Dari sekian banyak keanekaragaman tersebut banyak diantaranya yang berpotensi sebagai antimikroba, salah satunya adalah delima (*Punica granatum L.*). Sejak dahulu di Asia, Amerika, Afrika dan Eropa, delima telah banyak digunakan untuk pengobatan tradisional. Di Mesir tumbuhan ini digunakan untuk pengobatan bermacam-macam penyakit, diantaranya disentri, infeksi mikroba, diare dan pendarahan. Kandungan buah delima yang berfungsi sebagai antimikroba adalah flavonoids, tannin dan asam fenolik (Martos *et al.*, 2009).

Di Indonesia, penelitian mengenai aktivitas ekstrak etanol buah delima sebagai antimikroba masih jarang dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah buah delima memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae*, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan penyakit karena infeksi *Shigella dysenteriae*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol buah delima menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah delima terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Untuk mengetahui hubungan berbagai konsentrasi ekstrak etanol buah delima terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.

1.3.2.2 Untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal dari ekstrak etanol buah delima terhadap *Shigella dysenteriae*.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademis

- Menambah wawasan ilmu pengetahuan bidang Kedokteran khususnya mengenai buah delima (*Punica granatum*)
- Memberi informasi untuk penelitian lebih lanjut manfaat buah delima sebagai antibakteri

1.4.2 Manfaat praktis

- Memberi alternatif pengobatan infeksi, khususnya *Shigella dysenteriae*.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Mengenai *Shigella dysenteriae*

2.1.1 Morfologi dan Identifikasi

Shigella sp. merupakan bakteri batang gram negatif yang tipis, tidak berkapsul, tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Bersifat fakultatif anaerob, tetapi pada kultur tumbuh paling baik secara aerob. Koloni berbentuk konveks, bulat, transparan dengan tepi yang utuh dan mencapai diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam. Sifat kultur semua *Shigella* memfermentasikan glukosa, kecuali *Shigella sonnei*. *Shigella* tidak memfermentasikan laktosa, ketidakmampuan ini membedakan *Shigella* dalam media diferensial. *Shigella* membentuk asam dari karbohidrat tetapi jarang memproduksi gas. Hal tersebut yang membedakan genus *Shigella* dari *Salmonella*. Kebalikan dari *E.coli*, *Shigella* tidak memproduksi lisin dekarboksilase dan tidak menggunakan asetat sebagai sumber karbon. *Shigella* sp juga dapat dibedakan berdasarkan kemampuan memfermentasikan mannitol (Brooks *et al.*, 2007 ; Dzen *dkk.*, 2003).

2.1.2 Taksonomi

Klasifikasi ilmiah :

Kerajaan : Bakteria

Filum : Proteobakteria

Kelas : Gamma Proteobakteria

Ordo	: Enterobakteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Shigella
Spesies	: <i>S.boydii</i> , <i>S.dysenteriae</i> , <i>S.flexneri</i> , <i>S.sonnei</i>

Genus *Shigella* mempunyai empat spesies, yaitu :

- *Shigella dysenteriae* : jarang ditemukan di Amerika Serikat kecuali kasus impor.
- *Shigella flexneri* : sering ditemukan di Amerika Serikat.
- *Shigella boydii* : jarang ditemukan di Amerika Serikat.
- *Shigella sonnei* : penyebab tersering penyakit shigellosis di Amerika Serikat (Jhonson *et al.*, 1994).

Secara genetik, bakteri shigella tidak dapat dibedakan dengan *E.coli*. Namun, kebanyakan galur *Shigella* menyebabkan disentri basiler, sedangkan *E.coli* tidak. Semua *Shigella* dapat menyebabkan disentri basiler, tetapi beratnya penyakit, mortalitas dan epidemiologinya, bervariasi pada masing-masing spesies (Dzen *dkk.*, 2003).

2.1.3 Struktur DindingSel

Dinding sel adalah struktur bakteri yang berfungsi untuk mempertahankan bentuk bakteri, menentukan sifat pewarnaan, antigenitas maupun patogenitas bakteri (Dzen *dkk.*, 2003). Dinding sel juga berfungsi sebagai proteksi terhadap tekanan osmotik, sehingga begitu kuat karena lapisannya tersusun dari murein, mukopeptida dan peptidoglikan. Dinding sel juga berperan penting dalam pembelahan sel dan merupakan bahan primer untuk biosintesisnya sendiri (Brooks *et al.*, 2007). Secara kimiawi, dinding sel bakteri terdiri atas peptidoglikan

yang tersusun dari N-asetil glukosamin dan N-asetil asam muramat (Dzen *dkk.*, 2003).

Pada dinding sel bakteri gram negatif kandungan peptidoglikan lebih sedikit dibanding pada bakteri gram positif. Oleh karenanya, bakteri gram negatif lebih peka terhadap pengaruh mekanik. Selain peptidoglikan dinding sel gram negatif juga mengandung lipopolisakarida, fosfolipid dan lipoprotein yang berperan dalam proses masuknya bahan-bahan dari luar sel ke dalam sel serta menentukan sifat pewarnaan cara Gram. Selain itu, lipopolisakarida tersebut juga menghalangi terjadinya proses fagositosis dan juga bersifat toksik (Dzen *dkk.*, 2003).

2.1.4 Struktur Antigen

Shigella dibagi menjadi empat serogrup berdasarkan antigen O mayor yang diberi tanda A (*S.dysenteriae*), B (*S.flexneri*), C (*S.boydii*), D (*S.sonnei*). Saat ini, ada 12 tipe serologis dari grup A, 6 tipe serologis dari grup B, 18 serotipe dari grup C dan 1 serotipe dari grup D. Beberapa galur memiliki antigen K, yang tidak penting untuk serotyping, tetapi dapat mengganggu reaksi serologis dari antigen O. Gangguan ini dapat dihilangkan dengan memanaskan suspensi bakteri sebelum dilakukan reaksi. Fimbria terdapat pada serotipe 1 sampai 5 dari serogrup B tetapi tidak pada serotipe 6 atau *Shigella* yang lain. Semua antigen fimbrial secara imunologis identik. Karena semua *Shigella* nonmotil maka bakteri ini tidak memiliki antigen H (Dzen *dkk.*, 2003)

2.1.5 Daya Tahan

Shigella kurang tahan terhadap agens fisis dan kimia dibandingkan bakteri enterik yang lain, dan disinfektan pada umumnya dapat membunuh mikroorganisme ini pada konsentrasi yang lazim digunakan. Konsentrasi asam

yang tinggi akan mengganggu pertumbuhan bakteri ini, sehingga diperlukan media yang didapat dengan baik untuk transpor bahan pemeriksaan dan untuk menumbuhkan mikroorganisme. *Shigella* dapat beradaptasi dengan suhu rendah jika kelembabannya cukup dan dapat lebih dari 6 bulan dalam air pada suhu kamar (Dzen *dkk.*, 2003).

2.1.6 Patogenesis dan Patologi

Infeksi *Shigella* hampir selalu terbatas pada sistem *gastrointestinal*, penyebaran ke dalam aliran darah sangat jarang. *Shigella* sangat mudah menular, dan dosis infeksiusnya untuk menular yaitu lebih kecil dari 200 organisme. Peristiwa terjadinya disentri basiler sangat kompleks dan pada level molekular tidak sepenuhnya diketahui. Mikroorganisme harus tetap hidup dalam perjalanannya melalui saluran cerna bagian atas. Proses patologik yang penting adalah invasi sel epitelial mukosal (misalnya sel M) yang diinduksi oleh *fagositosis*, lolos dari vakuola fagositik, pelipatgandaan dan pengembangan dalam sel epitelial sitoplasma, dan melintas ke sel yang berdekatan. Pelipatgandaan bakteri menyebabkan reaksi inflamasi, mikroabses di dinding terminal ileum dan *intestine* yang besar mengarah pada nekrosis dari membran mukous, ulserasi superfisial, pendarahan dan pembentukan pseudomembran di area ulserasi. Hal ini terdiri dari fibrin, leukosit, sel debris, membran mulous nekrotik dan bakteri. Sehingga terjadi gangguan absorpsi cairan pada kolon, akibatnya tinja yang dikeluarkan bercampur darah, mukus dan pus. Saat proses penyakit reda, jaringan granula akan mengganti borok dan terbentuk jaringan parut (Brooks *et al.*, 2007 ; Dzen *dkk.*, 2003).

2.1.7 Faktor – faktor Patogenitas

2.1.7.1 Faktor Permukaan

Kemampuan untuk tetap hidup dalam perjalanannya melawan pertahanan hospes kemungkinan karena adanya antigen O. Struktur LPS menyebabkan bentuk koloni yang halus, disebut tipe koloni fase I, dimiliki oleh *S.sonnei* dan *S.flexneri*. Organisme ini memiliki plasmid besar 120 – 140 kb yang menyandi *O-specific side chains*. Apabila plasmid ini hilang, akan menjadi tipe koloni fase II atau koloni yang kasar dan menjadi organisme yang *avirulen* (Dzen *dkk.*, 2003).

2.1.7.2 Daya Invasi

Shigella yang virulen mampu mengadakan penetrasi ke dalam mukosa dan sel epitel, tetapi jarang bisa menembus lamina propria. Perlekatan bakteri pada sel epitel melibatkan kation bivalent dua yaitu kalsium. Internalisasi bakteri merupakan hasil dari endositosis yang diperantarai oleh reseptor atau karena beberapa produk bakteri yang menyebabkan respon hospes. Baik sel hospes maupun sel bakteri harus dalam keadaan metabolisme aktif untuk terjadinya internalisasi shigella (Dzen *dkk.*, 2003).

2.1.7.3 Toksin

Shigella memiliki dua macam toksin yaitu endotoksin dan eksotoksin. Endotoksin berasal dari lipopolisakarida dinding sel bakteri Gram negatif yang bersifat toksik. Bila bakteri mengalami kerusakan sel atau autolisis maka endotoksin ini akan dilepaskan. Endotoksin ini mungkin berpengaruh pada iritasi dinding usus. Sedangkan eksotoksin diproduksi oleh *Shigella dysenteriae* tipe 1 yang memiliki shigatoksin. Eksotoksin ini tidak tahan panas yang mempengaruhi usus dan susunan saraf pusat. Eksotoksin ini adalah protein yang bersifat antigenik (merangsang produksi antitoksin) dan mematikan pada binatang percobaan. Sebagai enterotoksin, zat ini menimbulkan diare seperti verotoksin *E.coli*, mungkin dengan mekanisme yang sama. Pada manusia, enterotoksin juga

menghambat penyerapan gula dan asam amino pada usus halus. Sebagai neurotoksin, materi ini menyebabkan infeksi *S.dysenteriae* yang sangat berat dan fatal serta menimbulkan reaksi susunan saraf pusat yang berat (misalnya meningismus, koma). Pasien yang menderita infeksi *Shigella flexneri* atau *Shigella sonnei* membentuk antitoksin yang menetralkan toksin *S.dysenteriae* secara in vitro. Aktivitas yang bersifat toksik ini berbeda dengan sifat invasif *Shigella* pada disentri. Keduanya dapat bekerja berurutan, toksin menyebabkan diare awal yang tidak berdarah, encer dan banyak kemudian invasi usus besar mengakibatkan disentri lanjut dengan feses yang disertai dengan darah dan nanah (Brooks *et al.*, 2007).

2.1.8 Manifestasi klinis

Shigellosis atau yang disebut disentri basiler adalah kolitis radang menular akut yang disebabkan oleh salah satu genus *Shigella*. Genus ini ditandai dengan kemampuannya menginvasi sel epitel usus halus dan menghasilkan toksin protein yang sangat poten untuk menghambat sintesis protein sel eukariotik secara ireversibel melalui kerja enzimatis spesifik. Disentri ditandai oleh volume feses yang kecil dan sering (biasanya 10 sampai 30 kali per hari), yang mengandung darah, mukus dan pus, ditambah kram perut dan tenesmus, mencejan yang nyeri waktu buang air besar yang dapat menyebabkan prolapsus rektum, terutama pada anak muda. Kemungkinan disentri berat paling besar disebabkan *S.dysenteriae* type 1 dan *S.flexneri*, dan paling jarang *S.sonnei*. Pada penyakit yang ringan, pasien umumnya sembuh tanpa terapi spesifik dalam beberapa hari sampai satu minggu. Shigellosis berat dapat berlanjut menjadi dilatasi toksik dan perforasi usus yang dapat berakibat fatal (Iseelbacher., 1999).

2.1.9 Diagnosis Laboratorium

Untuk menegakkan diagnosis Shigellosis bisa digunakan biakan bahan pemeriksaan pada media perbenihan. Bahan pemeriksaan dapat berupa tinja yang mengandung darah, lendir, dan potongan jaringan atau swab rektum. Pada pemeriksaan langsung secara mikroskopis akan tampak sejumlah besar leukosit dan eritrosit. Bila menginginkan bahan pemeriksaan serum, harus diambil setelah 10 hari perjalanan penyakitnya untuk menunjukkan kenaikan titer antibodi aglutinin (Dzen *et al.*, 2003).

Bahan pemeriksaan diinokulasikan pada medium deferensial (misalnya agar MacConkey's atau EBM) dan pada media selektif (agar enterik Hektoen atau agar *Salmonella-Shigella*) yang dapat menekan Enterobacteriaceae yang lain dan organisme gram positif. Koloni yang tidak berwarna (*lactose-negative fermenter*) selanjutnya diinokulasikan ke medium agar TSI. Organisme ini memproduksi asam tanpa gas pada *butt* dan alkali pada *slant*, tidak memproduksi H₂S dan tidak bergerak. Sebaiknya juga dilakukan reaksi aglutinasi pada gelas objek menggunakan antisera spesifik terhadap *Shigella sp.* Identifikasi isolat *Shigella* yang dicurigai, berdasarkan reaksi biokimia dan penggolongan serologis (M.Dzen *dkk.*, 2003).

2.1.10 Terapi

Seperti penyakit diare pada umumnya, perhatian yang harus ditujukan pada penderita shigellosis adalah keadaan hidrasi penderita (Dzen *dkk.*, 2003). Pada shigellosis dehidrasi ringan sampai sedang dapat teratasi dengan larutan rehidrasi oral (Iseelbacher, 1999). Sedangkan pada kasus-kasus dimana terjadi dehidrasi yang berat, cairan infus diberikan dengan cepat (cairan isotonik 20-30 ml/kg berat badan dalam waktu 1jam) (Dzen *dkk.*, 2003).

Antibiotik digunakan pada kasus lebih berat disertai diare berdarah atau disentri. Antibiotik tersebut akan mengurangi lama kesakitan dan dapat memperpendek lama keadaan karier. *Shigella sp.* telah resistensi terhadap beberapa antibiotik, seperti sulfonamida, streptomisin, kloramfenikol, dan tetrasiklin yang hampir resisten universal, dan kini juga resisten terhadap ampicillin dan trimetropin-sulfametoksazol (Iseelbacher, 1999).

2.1.11 Epidemiologi

Diperkirakan bahwa sekurang-kurangnya 140 juta kasus dan hampir 600.000 kematian disebabkan oleh shigellosis terjadi setiap tahun pada anak-anak dibawah 5 tahun, terutama di negara berkembang. Kuman ini ditemukan dimana-mana di seluruh dunia tetapi paling sering di tempat dengan sanitasi lingkungan yang buruk dan padat penduduk yang memudahkan penularan dari orang-ke-orang. Di Amerika Serikat, penyakit ini paling sering di saerah kumuh perkotaan, pada bayi di tempat penitipan harian, dan pada anak yang terbelakang di panti asuhan. Satu kelompok beresiko tinggi juga telah diidentifikasi adalah homoseksual laki-laki yang menularkan infeksi melalui praktek seksual anus-mulut (Iseelbacher, 1999).

2.1.12 Pencegahan

Karena manusia merupakan reservoir dari *Shigella sp.*, sanitasi yang adekuat, deteksi dan pengobatan karier merupakan pencegahan yang paling efektif (Dzen dkk., 2003). Penularan kontak langsung dapat dicegah dengan hygiene dan sanitasi yang baik. Cuci tangan dengan sabun dan air, dekontaminasi pasokan air, penggunaan kakus dan perlindungan penyiapan makanan dapat mencegah penularan primer maupun sekunder infeksi *Shigella*

(Iseelbacher, 1999). Pemberian air susu ibu sampai usia dua tahun juga efektif mengurangi shigellosis pada anak-anak (Dzen dkk., 2003).

2.2 Tinjauan Tanaman Delima

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Dalam dunia tumbuhan, delima diklasifikasikan sebagai berikut (Suranto, 2011) :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Myrtales
Familia	: Lythraceae / Punicaceae
Genus	: Punica
Spesies	: <i>Punica granatum</i>

Di Indonesia terdapat tiga jenis buah delima yaitu delima merah, putih dan hitam atau ungu. Delima merah memiliki bunga berwarna merah tua dan bersusun. Buah mudanya berwarna hijau kemerahan dan menjadi oranye kecokelatan setelah tua. Daging buahnya merah bening dengan rasa yang manis. Sebaik-baik jenis delima adalah yang warnanya paling merah, berkulit halus, dan banyak mengandung air. Delima putih bunganya berwarna putih, buahnya berwarna hijau kekuningan dan mengandung butiran biji putih kemerahan yang mengkilap bak mutiara. Rasanya kurang manis dan agak kelat. Sedangkan delima hitam atau ungu mempunyai bunga berwarna oranye. Buah mudanya berwarna hitam dan menjadi hitam kemerahan setelah tua. Butiran daging buahnya berwarna merah muda dan rasanya manis. Dari ketiga jenis

buah delima yang paling dikenal adalah delima merah karena rasanya yang manis, sedangkan delima putih memiliki rasa kurang manis, sepat dan agak kesat (Suranto, 2011).

Tanaman delima merupakan tanaman tahunan yang mempunyai akar tunggang dan sistem perakaran yang cukup dalam. Batang tanaman berkayu keras, tegak lurus, dan dapat tumbuh setinggi 2 m – 4 m atau lebih. Tanaman memiliki banyak percabangan dan kadang-kadang ditumbuhi duri-duri yang agak besar.



Gambar 2.1 Pohon Delima (Haskins, 2010)

Daun-daun tanaman berukuran kecil, berbentuk memanjang, dan berwarna hijau muda sampai hijau tua. Tanaman delima dapat berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Warna bunga delima tergantung jenisnya. Buah delima berbentuk bulat sampai bundar dan bergelantungan dalam tandan. Buah muda berwarna hijau sampai hijau kemerah-merahan, namun setelah tua berubah menjadi hijau kekuning-kuningan atau hijau kemerah-merahan hampir kecoklatan, tergantung jenisnya. Daging buah merupakan kulit biji yang menebal

dan tersusun secara padat. Daging buah ini dikonsumsi bersama biji-bijinya (Rukmana, 2003)



Gambar 2.2 Daun dan Buah Delima (Haskins, 2010)

2.2.2 Habitat dan Distribusi Geografis

Buah delima merupakan tanaman asli dari daerah Persia dan Himalaya (India Selatan). Tanaman ini bisa sampai ke Indonesia dibawa oleh pedagang Persia tahun 1416. Tumbuhan ini tersebar di daerah subtropik sampai tropik dan dataran rendah sampai ketinggian 1000 m dpl. Tumbuhan ini sangat cocok di tanah yang gembur dan tidak terendam air dengan air tanah yang tidak dalam. Di Indonesia, buah delima merah sering ditanam di pekarangan rumah sebagai tanaman hias (Hakimah, 2010).

2.2.3 Kandungan Tanaman Delima

2.2.3.1 Kandungan Nutrisi

Delima adalah buah dengan kandungan fitonutrien yang tinggi. Kandungan buah delima per 100 g bagian yang dapat dimakan mengandung 78 g air, 1.6 g protein, 0.1 g lemak, 4.5 g karbohidrat, 5.1 g serat dan 0.7 g mineral. Delima juga mengandung gula inversi sebanyak 20 % dengan komposisi 5-10% berupa glukosa, 0.5-3.5% asam sitrat, asam elagik dalam jumlah besar, asam

malat, asam borat dalam jumlah sedikit sekalo, vitamin B₁, vitamin B₃, dan vitamin C sebanyak 4 mg/100 g. Delima yang sudah masak banyak mengandung gula inversi, sedangkan yang muda banyak mengandung fruktosa. Biji delima juga kaya akan serat (Suranto, 2011).

2.2.3.2 Kandungan Non-Nutrisi

Bunga, buah, kulit buah, kulit batang dan akar delima mengandung saponin dan flavonoid. Sedangkan bunga, buah dan kulit batang mengandung tanin. Jenis flavonoids yang terkandung dalam buah delima adalah antosianin. Bunga delima mengandung senyawa polifenol yang termasuk dalam golongan antioksidan. Salah satu jenis polifenol yang ditemukan dalam bunga delima adalah pomegranate. Kulit buah delima kering mengandung banyak tanin hingga 26% dan asam punicotannik yang agak tinggi, yaitu sebanyak 22%. Selain itu mengandung granatin, asam betulik, asam ursolik, isoquercitrin, elligatanin, resin, triterpenoid, kalsium oksalat dan pati. Kulit batang mengandung alkaloid yang termasuk dalam golongan piridina. Kandungan alkaloid delima terdiri peleterina (C₈H₁₄NO), metilpeleterina (C₈H₁₄NO.CH₃), pseudopeleterina (C₉H₁₅NO), isopeleterina (C₈H₁₅NO), dan tanin. Kulit akar delima mengandung berbagai macam alkaloid, kadar tanin yang tertinggi yaitu sebanyak 28% dan akarnya mengandung polifenol. Biji delima mengandung minyak tak jenuh dan mikronutrien. Dan daun delima mengandung alkaloid, tanin, kalsium oksalat, lemak, sulfur dan peroksidase (Suranto, 2011 ; Dalimartha dan Adrian, 2011).

2.2.4 Pemakaian dalam Pengobatan

Seluruh bagian tanaman delima bisa digunakan sebagai obat, mulai dari buah, biji, bunga, kulit buah, kulit batang hingga kulit akar. Seluruh bagian tanaman juga mempunyai sifat bermacam-macam, seperti astringent, antivirus,

antibakteri, antioksidan antiseptik dan lain-lain. Kulit buah dan kulit kayu delima digunakan sebagai obat tradisional untuk diare, disentri, dan parasit usus. Kulit buah delima rasanya asam, pahit dan sifatnya hangat. Pengolahan kulit buah bisa langsung dipakai segar atau setelah dikeringkan. Kulit akar dan kulit batang umumnya dikeringkan terlebih dahulu untuk dipakai sebagai obat. Kulit akar dan kulit batang digunakan untuk cacingan, terutama cacing pita, batuk dan diare (Suranto, 2011). Pemakaian kulit akar untuk membersihkan cacing, potongan-potongan kulit akar dididihkan lalu diminum setiap hari (Muhammad, 2006).

Biji dan sari buah delima merupakan tonik untuk jantung dan tenggorokkan. Rebusan biji delima digunakan untuk pengobatan sifilis. Sari bunga delima, kulit buah dan kulit kayu bersifat astringent sehingga bermanfaat untuk mengobati berbagai penyakit, seperti mimisan, gusi berdarah, mengencangkan kulit dan mengobati ambeien. Bubuk kering bunga delima dipakai sebagai obat tradisional bronkhitis (Suranto, 2011). Dan bila bunga delima dididihkan bisa digunakan untuk mengobati gusi (Muhammad, 2006) Sedangkan biji delima dipakai sebagai obat-obatan demam, batuk keracunan, dan cacingan (Suranto, 2011).

Dari segi rasa, buah delima memiliki rasa manis yang bersifat panas dan lembab. Sari buah delima bisa memberikan asupan nutrisi tubuh dan membantu meningkatkan stamina tubuh (Suranto, 2011). Daging buah berkhasiat sebagai penyejuk dan peluruh kentut (Hakimah, 2010). Selain itu manfaat buah delima untuk mengobati penyakit jantung koroner, kanker, alzheimer, anemia, diabetes melitus dan diare. Juga dapat digunakan untuk mengurangi pembentukan plak gigi, mencegah kerusakan tulang rawan dan radang sendi. Konsumsi delima oleh

ibu hamil dapat melindungi otak neonatus dari kerusakan pasca cedera (Suranto, 2011).

2.2.5 Komponen Antimikroba dalam Buah Delima

Penelitian mengenai kandungan buah delima sebagai antimikroba sudah banyak dilakukan, salah satunya yang dilakukan oleh Duman et al., (2009). Dalam jurnal, Duman et al. melaporkan bahwa kandungan ekstrak buah delima senyawa flavonoid, fenolik dan asam organik, memiliki aktivitas tinggi sebagai antibakterial dan antifungal. Aktivitas antibakterial ekstrak buah delima salah satunya mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan aktivitas antifungal ekstrak buah delima salah satunya mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Dahham et al., (2010) melaporkan phytochemicals pada ekstrak buah delima meliputi fenol, tanin dan flavonoids memiliki aktivitas antimikroba.

2.2.5.1 Tanin

Tanin merupakan turunan dari substansi fenolik. *Tanin* berikatan dengan polisakarida dan larut dalam air (Cowan, 1999).

Tanin mempunyai berat molekul 500-5000 Da, mengandung grup hidroksifenol dan membutuhkan *orto-dihidroksifenol*. *Tanin* terdapat dalam banyak buah dan sayur. Berdasarkan tipe struktur dasar, *tanin* dibagi menjadi 2 grup, yaitu:

1. *Tanin* terhidrolisis mengandung inti glukosa yang dieterfisai oleh *gallic acid* (disebut sebagai galotannins) atau *hexahydroxyphenic acid* (*ellagitannins*) (Deshpande, 2002).
2. *Tanin* terkondensasi lebih banyak ditemukan daripada *tanin* terhidrolisa. *Tanin* terkondensasi disebut juga *procyanidins* atau

leucoanthocyanidins karena banyak terdapat bentuk *cyaniding* didalamnya (Deshpande, 2002).

2.2.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau kecuali alga. *Flavonoid* termasuk senyawa *fenolik* alam potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. *Flavonoid* dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah. Senyawa-senyawa ini berwarna merah, ungu dan biru dan sebagian zat berwarna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Arifin, 1986)

Flavonoid memiliki efek anti mikroba karena kemampuannya berikatan dengan protein ekstraseluler dan membran sitoplasma dari bakteri. Semakin lipofilik suatu *flavonoid*, maka semakin kuat daya rusak *flavonoid* tersebut terhadap membran sitoplasma bakteri (Tsuchiya *et al*, 1996).

2.2.5.3 Asam Fenolik

Asam fenolik merupakan bahan metabolik sekunder yang terkandung dalam tanaman dan bagian subkelas dari fenol. Fenol sendiri merupakan senyawa aromatik yang mempunyai satu gugus hidroksil. Biasanya asam fenolik dapat diekstraksi dengan pelarut etanol, methanol, acetone, etil asetat, maupun air panas (Robbins R.J., 2003)

Kemampuan asam fenolik sebagai antimikroba sudah banyak dilaporkan, hal tersebut berkaitan dengan kemampuannya untuk merubah permeabilitas membran sel bakteri sehingga menghambat transport aktif dan kehilangan bahan-bahan metabolite. Adanya gugus hidroksil dalam senyawa fenolik juga mampu mengikat enzim dan merubah metabolisme bakteri sehingga berpotensi sebagai antimikroba (Salawu *et al.*, 2011)

2.3 Terapi Antimikroba

2.3.1 Spektrum Antimikroba

Agen antimikroba yang ideal memperlihatkan prinsip toksisitas selektif, yang berarti bahwa obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Prinsip toksisitas selektif adalah perbedaan antara struktur sel mikroba dengan sel hospes. Toksisitas selektif juga bersifat relatif, dapat berupa reseptor spesifik untuk perlekatan atau hambatan proses biokimia obat antimikroba terhadap mikroba tetapi tidak terhadap hospes. Obat antimikroba mempunyai selektif toksisitas yang tinggi oleh karena sel manusia dengan sel bakteri (prokariot) berbeda dalam hal dinding sel, komponen membran sel, struktur ribosom, dan metabolismenya (Dzen *dkk.*, 2003).

Secara umum, obat-obat antimikroba mempunyai sifat-sifat sebagai berikut (Dzen *dkk.*, 2003):

- Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak hospes;
- Bersifat bakterisidal dan bukan bakteriostatik;
- Tidak menyebabkan resistensi pada kuman;
- Berspektrum luas
- Tidak bersifat alergenik atau tidak menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu yang lama;
- Tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh atau eksudat;
- Larut di dalam air dan stabil;
- Kadar bakterisidal di dalam tubuh cepat tercapai dan bertahan untuk waktu lama.

2.3.2 Mekanisme Kerja Obat Antimikroba

Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda antara obat satu dengan yang lainnya. Antimikroba mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka yaitu dinding sel, membran sel, protein, asam nukleat, dan metabolit intermedier.

Obat antimikroba dapat menghambat pembentukan dinding sel yang efektif pada saat bakteri sedang aktif membelah. Dengan adanya kerusakan pada dinding sel bakteri maka sel bakteri tersebut akan lisis. Obat antimikroba juga bersifat merusak membran sel yang dapat menyebabkan metabolit penting di dalam sel lolos keluar sel dengan akibat kematian sel. Selain itu antimikroba juga berpotensi menghambat sintesis protein dan menghambat sintesis asam nukleat (Dzen *dkk*, 2003).

2.3.3 Mekanisme Resistensi Mikroba terhadap Obat

2.3.3.1 Mekanisme Resistensi Mikroba terhadap Obat secara umum

Ada beberapa mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap obat antimikroba.

- Mikroba memproduksi enzim yang merusak obat
Contoh : Stafilokokus memproduksi enzim β -laktamase yang memecah cincin β -laktam dari obat penisilin. Bakteri Gram negatif dapat menghasilkan enzim adenilase, asetilase, fosforilase yang merusak obat aminoglikosida, atau menghasilkan enzim asetiltransferase yang merusak kloramfenikol (Dzen *dkk.*, 2003).
- Mikroba mengubah permeabilitas membran selnya

Resistensi mikroba terhadap obat yang bekerja menghambat sintesis protein, karena golongan obat tersebut perlu menembus membran sel bakteri untuk mencapai titik tangkap kerjanya, yaitu ribosom (Dzen *dkk.*, 2003).

- Mikroba mengubah struktur target obat terhadap mikroba
Resistensi bakteri terhadap obat aminoglikosida, eritromisin oleh karena terjadi perubahan pada struktur ribosom (Dzen *dkk.*, 2003).
- Mikroba mengembangkan jalan metabolisme baru
Bakteri yang resisten terhadap sulfonamid mampu mengambil asam folat dari luar selnya (Dzen *dkk.*, 2003).
- Mikroba mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya, tetapi tidak dipengaruhi oleh obat
Pada bakteri yang resisten trimetoprim, asam dihidrofolat reduktase sedikit dihambat secara efisien daripada bakteri yang peka terhadap trimetoprim (Jawetz *et al.*, 2005)
- Mikroba memperbesar produksi bahan metabolit
Bakteri yang resisten terhadap sulfonamid mampu menghasilkan PABA dalam jumlah besar. Keadaan ini justru mengakibatkan bakteri-bakteri tergantung terhadap sulfonamid untuk kelangsungan hidupnya. Mekanisme ini disebut dengan '*drug dependence*' (Dzen *dkk.*, 2003).

2.3.3.2 Mekanisme Resistensi *Shigella* sp. terhadap Obat

Mekanisme terjadinya resistensi *Shigella* sp. terhadap kombinasi obat Trimetoprim-Sulfametoksazol dikarenakan adanya pembentukan enzim baru. *Shigella* mampu menghasilkan enzim *dihidrofolate reduktase* (DHFR) dan enzim *dihidrofolate sintetase* (DHPS) baru, sehingga kombinasi obat Trimetoprim-Sulfametoksazol tidak dapat menghambat sintesis asam nukleat dan asam folat

pada *Shigella*. Kemampuan *Shigella* untuk membentuk enzim baru tersebut tergantung dari ada tidaknya plasmid pada *Shigella* tersebut (Nafianti dan Sinunhaji, 2005). Target antibiotik β -laktam adalah *penicillin-binding proteins* (PBPs), dengan terjadinya mutasi pada *Shigella* menyebabkan afinitas β -laktam terhadap PBPs menjadi berkurang sehingga timbul resistensi terhadap β -laktam. Namun secara umum mekanisme resistensi golongan obat β -laktam terhadap bakteri gram negatif dikarenakan produksi enzim β -laktamase yang mampu menghambat cincin β -laktam. Di negara berkembang, resistensi terhadap fluoroquinolone semakin meningkat. Hal ini disebabkan kemampuan *Shigella* untuk melakukan mutasi kromosom sehingga mempengaruhi DNA gyrase (topoisomerase II bakteri) maupun penyerapan terhadap quinolones (Sack DA. *et al.*, 2001).

2.3.4 Uji Kepekaan terhadap Antimikroba *In Vitro*

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi. Dengan penggunaan bakteri standar dan obat pembanding yang telah diketahui, metode ini dapat dipergunakan untuk mengukur potensi antibiotik lain dalam sampel atau kepekaan mikroba (Jawetz *et al.*, 2005).

2.3.4.1 Metode Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antimikroba (Dzen *dkk.*, 2003). Prinsip dari metode dilusi adalah sebagai berikut. Menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang diuji. Dikatakan media cair bila ke dalam medium tidak ditambahkan bahan pematat pada umumnya digunakan untuk membiakkan alga, bakteri, dan ragi. Kemudian masing-masing

tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada larutan dalam tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak bahan dan suspensi bakteri (diasumsikan pertumbuhan bakteri mulai terhambat) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam, kemudian diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen *dkk.*, 2003).

2.3.4.2 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah sebagai berikut. Obat dijenuhkan kedalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasikan $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Dzen *dkk.*, 2003).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat bakteri sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dua cara sebagai berikut (Dzen *dkk.*, 2003):

- Cara *Kirby Bauer*, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan

tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet, dan resisten.

- Cara *Joan Stokes*, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara *Joan Stokes*, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar.

2.3.5. Metode Ekstraksi

Beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang umum dilakukan adalah dengan cara maserasi, perkolasi, sokletasi dan destilasi uap.

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan seperti daun, biji serta kulit pohon akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan luar sel sehingga metabolit sel yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Selain itu, ekstraksi senyawa dengan metode ini akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Sofia, 2006).

b. Perkolasi

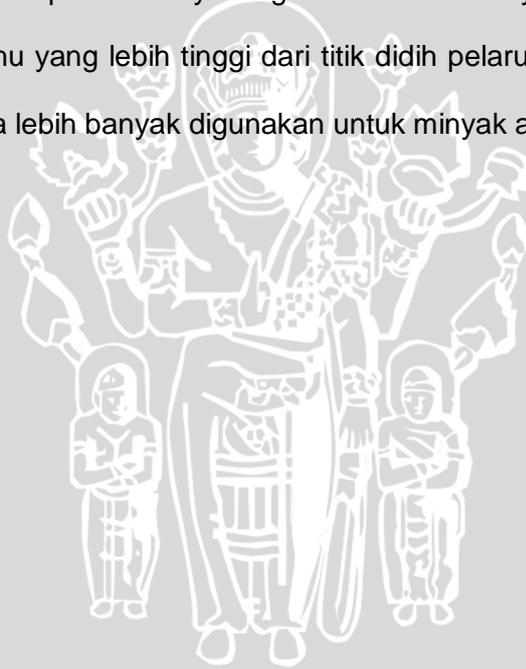
Merupakan proses melewati pelarut organik pada sampel sehingga pelarut akan membawa senyawa organik bersama-sama pelarut. Tetapi efektifitas dalam proses ini hanya akan lebih besar untuk senyawa organik yang mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Sofia, 2006).

c. Sokletasi

Menggunakan alat soklet dengan pemanasan dan pelarut akan dapat dihemat karena terjadinya sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas (Sofia, 2006).

d. Destilasi uap

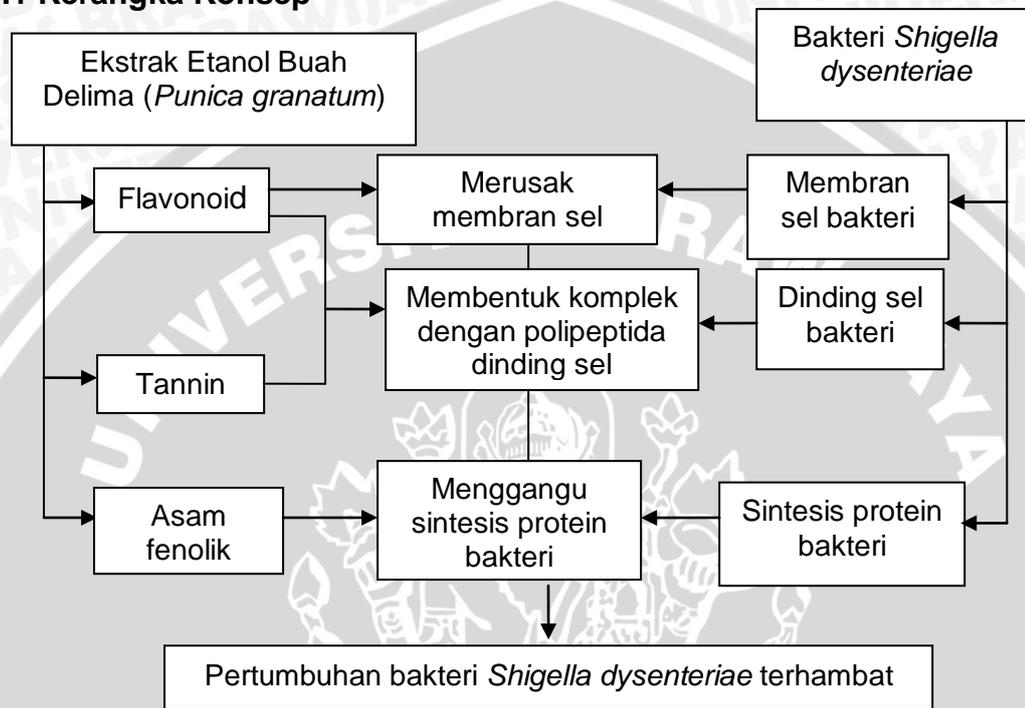
Proses destilasi uap lebih banyak digunakan untuk senyawa organik yang tahan pada suhu yang lebih tinggi dari titik didih pelarut yang digunakan. Pada umumnya lebih banyak digunakan untuk minyak asiri (Sofia, 2006).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Kandungan dari buah delima diperkirakan berperan sebagai antimikroba terutama adalah *flavonoid*, *tannin* dan *asam fenolik* (Martos *et al.*, 2009). Aktivitas *flavonoids* kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat adhesin pada permukaan sel mikroba, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut dan membentuk kompleks dengan polipeptida dinding sel bakteri, serta sifat lipofilik yang dapat merusak membran mikroba (Cowan *et al.*, 1999). Tannin dan flavanoid merupakan persenyawaan polifenol yang sama-sama mempunyai gugus hidroksil, namun struktur kimia keduanya tidaklah sama. Aktivitas Tannin sebagai antibakteri mempunyai kemiripan



dengan flavonoids, kemungkinan berhubungan dengan kemampuannya menginaktivasi adhesin mikroba, transport protein dan membentuk kompleks dengan polisakarida dinding sel bakteri (Cowan *et al.*, 1999). Asam fenolik juga merupakan persenyawaan polifenol. Aktivitas asam fenolik sebagai antimikroba kemungkinan berhubungan dengan kemampuannya untuk berinteraksi dengan protein mikroba sehingga terjadi gangguan dalam sintesis protein yang mengakibatkan denaturasi protein mikroba (Cowan *et al.*, 1999).

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol buah delima (*Punica granatum*) menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Uji antimikroba dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan *tube dilution test* untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol buah delima (*Punica granatum*) sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae*. Proses pengekstrakan buah delima menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, sedangkan pengujian ekstrak etanol buah delima sebagai antimikroba menggunakan metode dilusi tabung (*Tube dilution test*). *Tube dilution test* meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada medium *broth* untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan tahap *streaking* (penggoresan) pada media NAP (Nutrient Agar Plate) untuk mengetahui KBM (Kadar Bunuh Minimal). Besarnya konsentrasi yang digunakan ditetapkan melalui eksperimen pendahuluan.

4.2 Sampel dan Besar Sampel

4.2.1 Sampel penelitian

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak buah delima (*Punica granatum*) dan menggunakan sampel bakteri uji *Shigella dysenteriae* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya. Buah Delima yang digunakan adalah buah delima yang didapatkan di daerah Surabaya.

4.2.2 Sampel dan Estimasi Jumlah Pengulangan

Pada penelitian ini, digunakan 6 macam dosis konsentrasi perlakuan berbeda serta 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif, sehingga jumlah pengulangan yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus estimasi pengulangan sebagai berikut (Lukito H., 1998) :

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

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

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

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 20/5$$

$$r \geq 4$$

keterangan: r = jumlah pengulangan

t = jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak buah delima)

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

$$\begin{aligned} \text{Jumlah pengulangan} \times \text{jumlah perlakuan} &= 4 \times 6 \\ &= 24 \end{aligned}$$

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada Tahun 2012.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol buah delima yang dibuat dengan konsentrasi kadar ekstrak antara lain : 7,5%; 10%; 12,5%; 15%; 17,5%; 20% berdasarkan uji eksplorasi awal atau penelitian pendahuluan.

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yaitu dengan melihat kekeruhan pada tabung uji untuk menentukan KHM dan jumlah koloni *Shigella dysenteriae* pada medium agar padat (NAP) untuk menentukan KBM.

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Ekstrak Etanol Buah Delima

Ekstrak etanol buah delima didapatkan melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi dan dilarutkan dengan pelarut ethanol 96%.

4.5.2 *Shigella dysenteriae*

Bakteri *Shigella dysenteriae* yang digunakan merupakan bakteri yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang didapatkan Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya.

4.5.3 Kadar Hambat Minimal (KHM)

Kadar hambat minimal adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol buah delima yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak etanol buah delima dan suspensi bakteri tersebut dalam tabung

setelah diinkubasikan selama 18-24 jam. Definisi ini tidak berlaku jika ada reaksi antara bahan aktif ekstrak dengan media *Nutrient Broth* yang menyebabkan kekeruhan pada seluruh tabung.

4.5.4 Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Kadar bunuh minimal adalah konsentrasi minimal ekstrak etanol buah delima yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Hal ini ditandai oleh jumlah koloni pada medium NAP yang telah dilakukan *streaking* (penggoresan) dengan satu ose larutan ekstrak buah delima dengan bakteri uji tersebut, dengan jumlah koloni kurang dari 0,1% original inokulum.

4.5.5 Kontrol Bakteri (Kontrol Positif)

Kontrol bakteri (kontrol positif) adalah konsentrasi ekstrak 0 % yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah bakteri yang digunakan terkontaminasi dengan bakteri lain. Kontrol positif berasal dari larutan bakteri uji yang telah distandardisasi dengan standar *Mc Farland* 0,5 sebanyak 2 ml.

4.5.6 Kontrol Bahan (Kontrol Negatif)

Kontrol bahan (kontrol negatif) adalah konsentrasi yang digunakan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril. Kontrol negatif dibuat dengan cara mencampurkan antara ekstrak etanol buah delima sebanyak 1 ml dengan aquades sebanyak 1 ml.

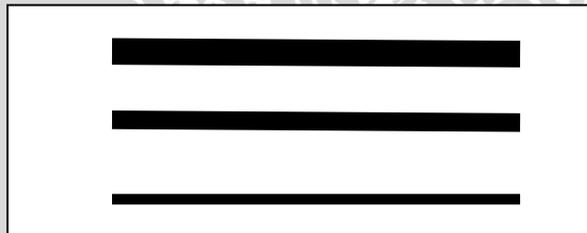
4.5.7 *Original inoculum*

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

4.5.8 Pengamatan Kualitatif

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

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



Semakin rendahnya skor, menunjukkan semakin efektifnya bahan coba.

4.5.9 Pengamatan Kuantitatif

Pengamatan kuantitatif digunakan untuk menentukan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara kuantitatif dengan cara menghitung koloni bakteri dengan *colony counter*.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Buah Delima :

- Oven
- Timbangan

- Gelas Erlenmeyer
- Kertas saring
- Pendingin spiral/*rotator evaporator*
- Corong gelas
- Labu penampang *etanol*
- Labu evaporator
- Selang water pump
- Water pump
- Water bath
- Vacum pump
- Buah delima
- *Etanol 96%*
- Aquades

4.6.2 Alat dan Bahan Untuk Pewarnaan Gram Bakteri :

- Gelas objek
- Kertas penghisap
- Mikroskop
- Bakteri *Shigella dysenteriae*
- Lugol
- Kristal violet
- Alkohol 96%
- Sarfarin
- Air

4.6.3 Alat dan Bahan Untuk Uji Dilusi Tabung :

- Tabung reaksi

- Pipet steril ukuran 1 ml
- Inkubator
- Ekstrak etanol buah delima
- Karet penghisap
- NAP
- Korek api
- Alat penjepit (*scalpel*) steril
- Vortex
- Pembenihan cairan yang distandarisasikan (NaCl, *broth*)
- Bunsen (lampu spritus)
- Gelas objek
- Plate kosong dan steril
- *Colony counter*
- Kipas

4.7 Rancangan Operasional Penelitian

Rancangan operasional penelitian meliputi pembuatan ekstrak etanol buah delima, identifikasi bakteri uji (*Shigella dysenteriae*), persiapan suspensi bakteri uji *Shigella dysenteriae*, dan uji sensitivitas antimikroba.

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Buah Delima

- 1) Buah delima utuh dibersihkan, kulit buah dikupas dan disisakan bagian buah yang bisa dimakan. Kemudian dikeringkan dan dihaluskan dengan blender dan timbang sebanyak 100 gram (sample kering). Ini bertujuan agar senyawa aktif yang terkandung dalam buah delima dapat larut dalam *etanol* 96%.

- 2) Masukkan 100 gram hasil blenderan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter lalu rendam dengan hasil *etanol* 96% sampai volume 1000cc.
- 3) Kocok sampai benar-benar tercampur kurang lebih 30 menit dan diamkan 1 malam sampai mengendap.
- 4) Setelah itu, lapisan paling atas dari larutan campuran *etanol* 96% dan buah delima diambil dan diletakkan dalam gelas ekstraksi kemudian di evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*.
- 5) Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30-40° terhadap meja percobaan, dengan susunan dari bawah ke atas : Alat pemanas air, labu penampung hasil, *rotatory evaporator*, dan tabung pendingin.
- 6) Tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin dengan bak penampung air dingin melalui pipa plastik, tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan penampung hasil penguapan.
- 7) Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstraksi, kemudian dirangkai kembali.
- 8) *Rotatory evapotaror*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum dinyalakan.
- 9) Pemanas aquades dinyalakan juga sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi ikut mendidih dan pelarut *etanol* mulai menguap.

- 10) Hasil penguapan *etanol* akan dikondensasikan menuju labu penampung *etanol* sehingga tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap lain tersedot pompa vakum.
- 11) Setelah kental maka proses evaporasi dihentikan dan hasil evaporasi diambil.
- 12) Setelah evaporasi selesai, ekstrak dioven kembali dengan suhu 80°C selama 2 jam karena titik didih *etanol* adalah 78°C. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa-sisa *etanol* 96% yang mungkin masih tersisa dalam ekstrak.

4.7.2 Identifikasi *Shigella dysenteriae*

4.7.2.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk menyaring bakteri *Shigella dysenteriae* yang termasuk di dalam famili *Enterobacteriaceae* yang bersifat gram negatif.

Prosedur pewarnaan gram:

- 1) Gelas obyek dibersihkan dengan kapas steril, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak. Lalu dibiarkan dingin.
- 2) Satu tetes aquades steril atau larutan salin steril ditetaskan pada gelas obyek.
- 3) Dengan ose jarum yang steril, diambil sedikit koloni *Shigella dysenteriae* yang tumbuh pada medium padat kemudian disuspensikan dengan satu tetes aquades steril atau larutan salin steril yang sudah ditetaskan terlebih dahulu pada gelas obyek. Hapusan sebaiknya dibuat tipis.
- 4) Hapusan dibiarkan kering di udara. Setelah kering, hapusan difiksasi dengan cara melewatkan sediaan diatas api sebanyak tiga kali. Sediaan siap diwarnai.

- 5) Sediaan dituangi kristal violet selama 1 menit, kemudian sisa kristal violet dibuang, lalu sediaan dibilas dengan air.
- 6) Sediaan dituangi lugol selama 1 menit, kemudian sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
- 7) Sediaan dituangi alkohol 96 % selama 5 - 10 detik atau sampai warna cat luntur, kemudian sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
- 8) Sediaan dituangi safranin selama 30 detik, kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
- 9) Sediaan hapusan dikeringkan dengan kertas penghisap.
- 10) Setelah kering, dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa obyektif 100 kali, ditambahkan juga minyak imersi.
- 11) Hasil positif: bakteri *Shigella dysenteriae* berbentuk batang dan tercat merah (Gram negatif).

4.7.2.2 Sistem *Microbact*

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

4) *Microbact* yang telah diinkubasi diambil kemudian diteteskan 2 tetes reagen Nitrat A dan B pada sumur 7, pada sumur nomor 8 dengan *Indol Kovact* sebanyak 2 tetes, sumur nomor 10 dengan VP I dan VP II masing-masing satu tetes, dan sumur 12 dengan TDA sebanyak satu tetes.

5) Untuk uji fermentasi karbohidrat pada *microbact* 12B, tanpa ada penambahan reagen yaitu hasil dari sumuran langsung bisa dibaca hasilnya, yaitu jika fermentasi positif menunjukkan warna kuning, sedangkan hasil negatif tidak ada perubahan warna tetap biru.

6) Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan table warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*.

7) Angka-angka *oktaf* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka *oktaf*).

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

4.7.3 Pembuatan Suspensi *Shigella dysenteriae*

Cara membuat larutan *Shigella dysenteriae* dengan kepadatan akhir 10^6 CFU/ml yaitu:

- 1) Koloni diambil dari lempeng agar *Mac Conkey*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *Nutrient Broth*.
- 2) Tabung reaksi lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 37^\circ\text{C}$ selama 18 - 24 jam.

- 3) Setelah itu dilakukan spektrofotometri pada tabung reaksi di atas dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui OD (Optical Density) dari suspensi tersebut.
- 4) Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 CFU/ml (sesuai standar McFarland 0,5) yang setara dengan OD=0,1, maka dilakukan perhitungan sebagai berikut :

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

Keterangan :

N_1 = Nilai absorbansi suspense (Hasil spektrofotometri)

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

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

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

Dari hasil perhitungan tersebut diperoleh volume bakteri (x ml) yang akan ditambah pengencer sampai total volume 10 ml untuk mendapatkan konsentrasi 10^8 CFU/ml.

- 5) Dilakukan pengenceran suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml sebanyak 100 kali untuk mendapatkan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml, caranya: Dari 10 ml bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml *Nutrient broth* sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^7 CFU/ml. Lalu dari larutan dengan konsentrasi bakteri 10^7 CFU/ml tersebut diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml *Nutrient broth* sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^6 CFU/ml. Delanjutnya bakteri telah siap untuk digunakan dalam penelitian (Dzen dkk, 2003).

4.7.4 Uji Sensitivitas Antimikroba Ekstrak Buah Delima

- 1) Siapkan suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi 10^6 bakteri/ml.
- 2) Sediakan 8 tabung reaksi steril, 5 tabung reaksi masing-masing diberi tanda 7,5%; 10%; 12,5%; 15%; 17,5% 20% sebagai konsentrasi uji bakteri, 1 tabung sebagai kontrol positif (KP) berisi biakan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml saja, dan 1 tabung sebagai kontrol negatif (KN) yaitu kontrol bahan ekstrak etanol buah delima saja.
- 3) Masukkan 0,85 mL aquades steril ke dalam tabung 1 yang bertanda 7,5%, lalu tambahkan 0,15 mL ekstrak etanol buah delima.
- 4) Masukkan 0,8 mL aquades steril ke dalam tabung 2 yang bertanda 10%, lalu tambahkan 0,2 mL ekstrak etanol buah delima.
- 5) Masukkan 0,75 ml aquades steril ke dalam tabung 3 yang bertanda 12,5%, lalu ditambahkan 0,25 mL ekstrak etanol buah delima.
- 6) Masukkan 0,7 mL aquades steril ke dalam tabung 4 yang bertanda 15%, lalu ditambahkan 0,3 mL ekstrak etanol buah delima.
- 7) Masukkan 0,65 mL aquades steril ke dalam tabung 5 yang bertanda 17,5%, lalu ditambahkan 0,35 mL ekstrak etanol buah delima.
- 8) Masukkan 0,6 mL aquades steril ke dalam tabung 6 yang bertanda 20%, lalu ditambahkan 0,4 mL ekstrak etanol buah delima.
- 9) Masukkan 1 mL ekstrak etanol buah delima ke dalam tabung KN dan masukkan 1 mL suspensi bakteri saja ke dalam tabung KP.
- 10) Tambahkan 1 ml suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/mL ke dalam tabung 1-6 kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C .

11) Ambil bakteri dari tabung bertanda KP sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada NAP sebagai *original inoculum* kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

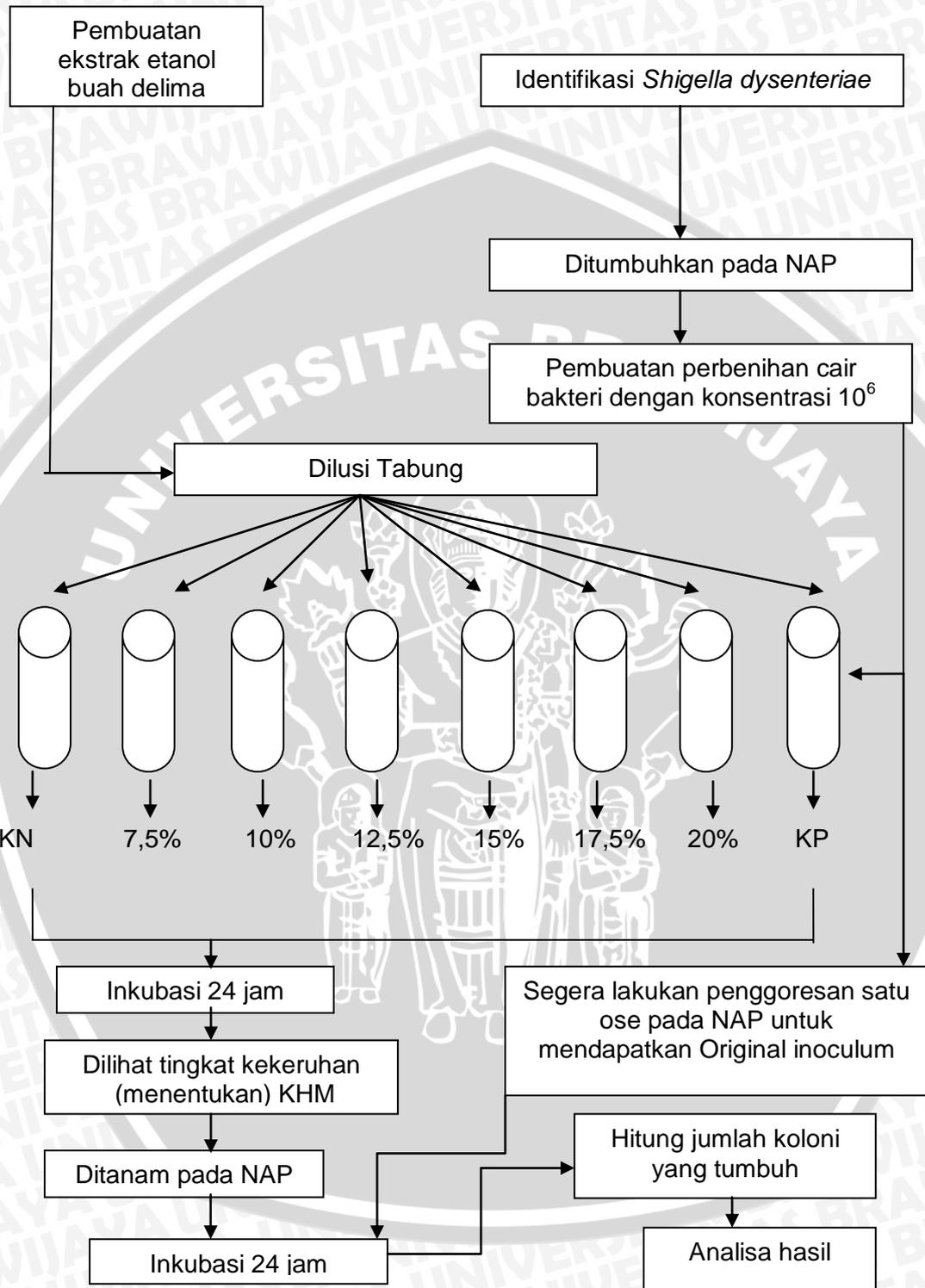
12) Setelah 18-24 jam, diperhatikan dan dicatat derajat kekeruhan pada semua tabung. Cara membaca derajat kekeruhan adalah dengan meletakkan sebuah kertas putih dibelakang tabung, dimana sebelumnya pada kertas tersebut digambar sebuah garis hitam, kemudian garis hitam tersebut diperhatikan dari depan tabung. Konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan kekeruhan adalah KHM.

13) Jumlah koloni pada *original inoculum* dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

14) Untuk mengetahui KBM, lakukan penggoresan dari seluruh tabung kemudian diinokulasikan pada media NAP yang berbeda, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°-37,5° C selama 18-24 jam.

15) Setelah 18-24 jam hitung jumlah koloni *Shigella dysenteriae* yang tumbuh dengan *colony counter*. KBM ditentukan dari tidak adanya jumlah koloni yang tumbuh pada NAP atau jumlah koloninya kurang dari 0,1% inokulum OI.

Secara sistematis, alur kerja dapat dilihat pada Gambar 4.1. halaman berikutnya :



Gambar 4.1 Skema Prosedur Penelitian

4.8 Analisa Data

Penelitian ini menggunakan variable numerik dengan satu faktor yang ingin diketahui yaitu perbedaan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* yang dihasilkan pada media NAP berdasarkan faktor perlakuan pemberian ekstrak etanol buah delima, sehingga uji statistik yang digunakan adalah *One-Way ANOVA* dengan program SPSS 15, dengan taraf signifikansi 0,05 (5%).

Langkah-langkah dalam *One-Way ANOVA* adalah sebagai berikut (Dahlan, 2008) :

1. Memeriksa syarat uji ANOVA untuk > 2 kelompok yaitu :
 - Sebaran data harus normal
 - Varian data harus sama
2. Melakukan analisi *One-Way ANOVA*, untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* pada setiap perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol buah delima.

Kemudian untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol buah delima terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* maka digunakan uji statistik Kolerasi Pearson-Regresi Linier. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (Statistical Product of Service Solution) for Windows versi 15.0.

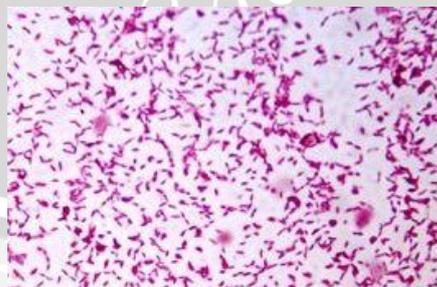
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

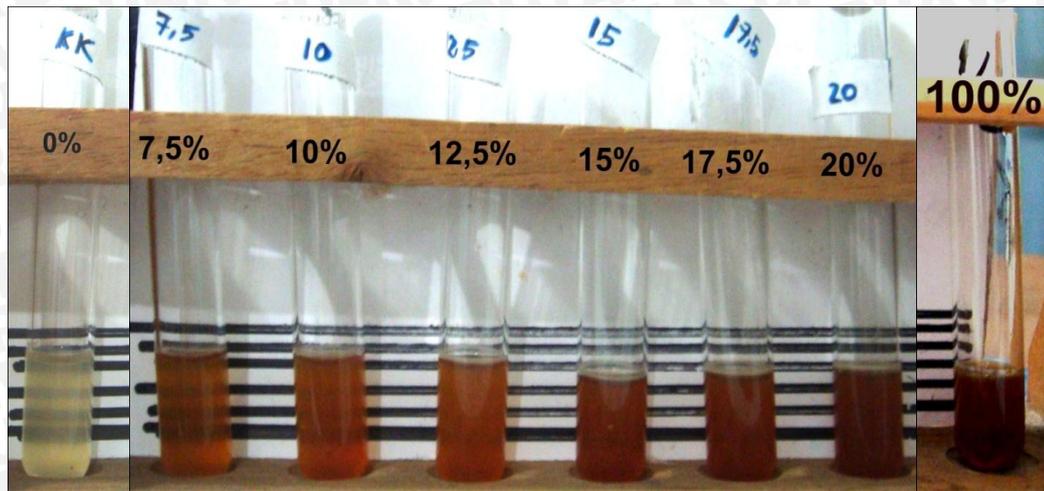
5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Shigella dysenteriae*

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Shigella dysenteriae* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya. Sebelum melakukan penelitian, dilakukan identifikasi ulang bakteri yang meliputi pewarnaan gram dan uji biokimiawi dengan menggunakan *microbact identification kit*. Sebelum dilakukan uji *microbact*, bakteri diuji oksidase dengan menggoreskan koloni bakteri pada stick oksidase dan dibiarkan 5 menit. Hasilnya menunjukkan oksidase negative, yaitu dengan tidak adanya perubahan warna stick menjadi biru tua. Setelah itu dilanjutkan uji *microbact* dengan memasukkan suspensi bakteri ke dalam 12A/E sumuran *microbact* system dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Hasil identifikasi bakteri dapat dilihat pada Gambar 5.1 dan Gambar 5.2



Gambar 5.1 Pewarnaan Gram
(bentuk batang, gran negatif dan berwarna merah)



Gambar 5.3 Dilusi tabung dengan beberapa konsentrasi ekstrak buah delima terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* untuk uji KHM.

Gambar 5.3 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi tabung yang berisi campuran ekstrak etanol buah delima dan bakteri dengan konsentrasi 0% (Kontrol Kuman / KK), 7.5%, 10%, 12.5%, 15%, 17.5%, dan 20%. Tabung akan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian dilihat tingkat kekeruhannya menggunakan kertas bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat di belakang tabung.

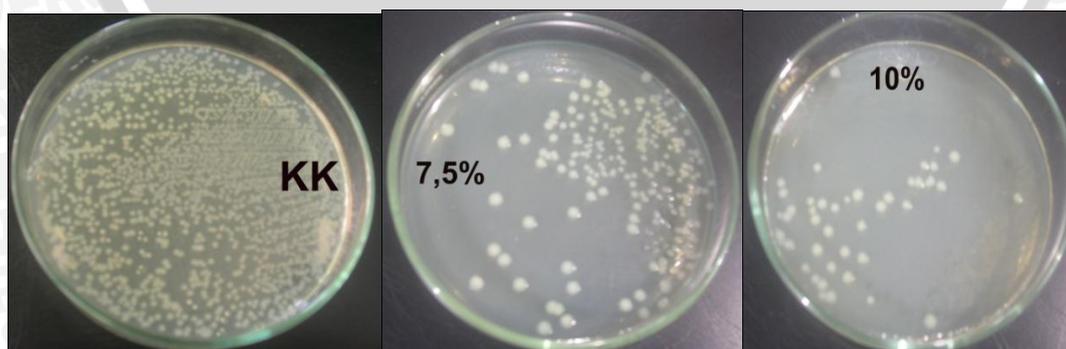
Hasil pengamatan pada tabung (Gambar 5.3) setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam penentuan konsentrasi KHM tidak dapat ditentukan. Hal ini dikarenakan ekstrak dari buah delima berwarna gelap dan larutan yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan sangat keruh, sehingga tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung konsentrasi karena pertumbuhan bakteri sulit untuk diamati.

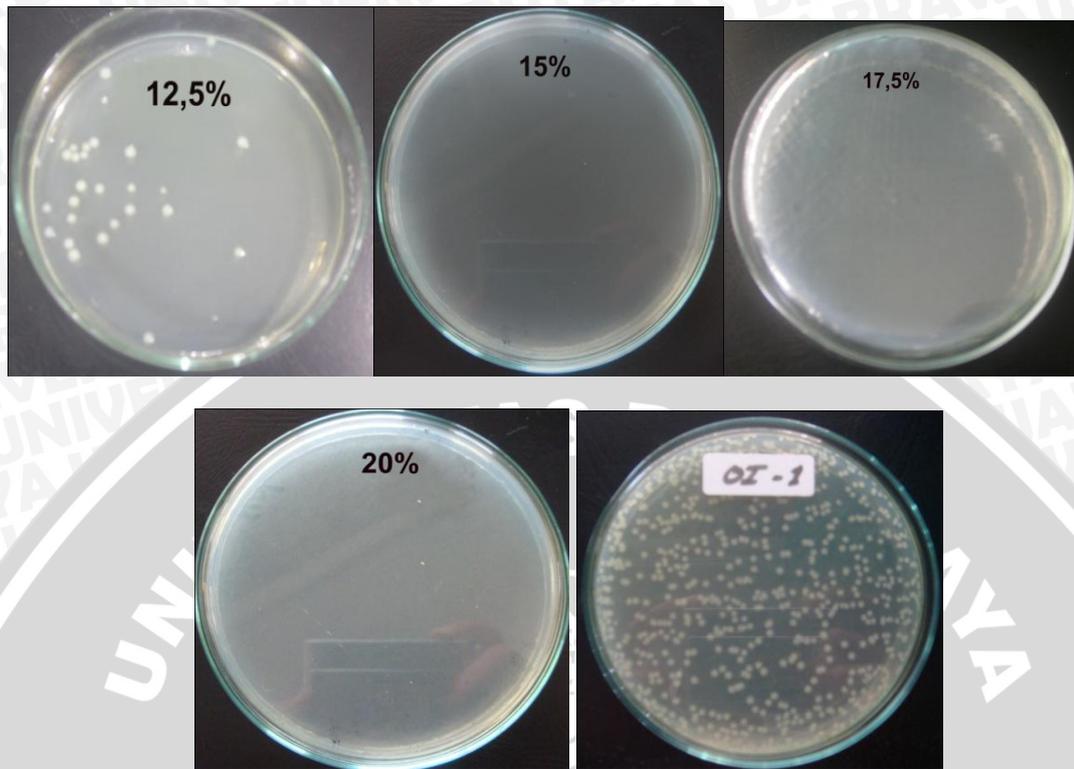
5.1.3 Hasil Penentuan KBM

Dari hasil uji dilusi dilakukan penanaman dengan metode *streaking* pada media NAP (*Natrium Agar Plate*) kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM). setelah itu dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi dan perulangan dengan alat *colony counter*. Berikut tabel dan gambar hasil penanaman pada masing-masing konsentrasi :

Tabel 5.1 Jumlah Koloni *Shigella dysenteriae* pada Media NAP per plate

Konsentrasi	Pengulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0%	301.10 ³	295. 10 ³	317.10 ³	309.10 ³	1220. 10 ³	305. 10 ³
7,5%	250	262	189	127	825	206
10%	51	42	57	43	193	48
12,5%	15	19	23	29	86	21
15%	0	0	0	0	0	0
17,5%	0	0	0	0	0	0
20%	0	0	0	0	0	0

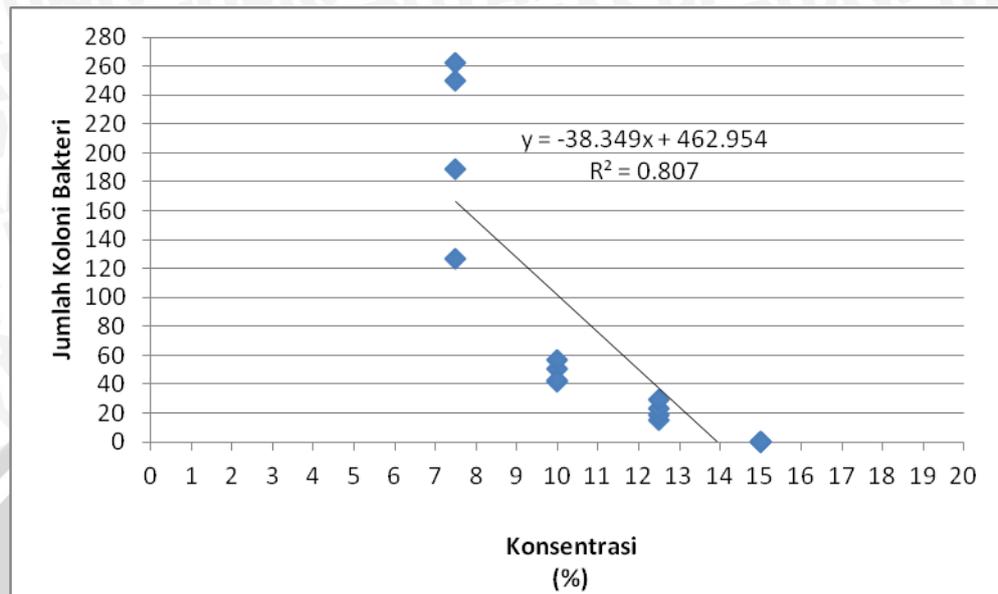




Gambar 5.4 Hasil *Streaking Shigella dysenteriae* pada Medium NAP untuk uji KBM.

Pada plate konsentrasi 7,5% banyak koloni bakteri yang tumbuh dibandingkan pada konsentrasi 10%. Pada konsentrasi 10% jumlah koloni bakteri yang tumbuh mulai berkurang kemudian berkurang lagi pada konsentrasi 12,5% dan pada konsentrasi 15% sama sekali tidak tumbuh koloni bakteri.

Berdasarkan Gambar 5.4 dan Tabel 5.1 diperoleh nilai KBM pada konsentrasi 15% dimana pada konsentrasi ini tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri sama sekali. Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Hal ini nampak lebih jelas pada gambar berikut :



Gambar 5.5 Kurva Regresi Linier jumlah koloni untuk masing-masing konsentrasi Ekstrak Buah Delima dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi

5.2 Analisa Data

Data jumlah koloni bakteri terlebih dahulu diuji untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji pra-syarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *One way anova*. Jika dari hasil uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ($p > 0.05$) dan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0.05$), maka dapat dilakukan uji beda parametrik *One way anova*. Untuk uji homogenitas menggunakan uji *homogeneity of variance* (uji levene) dengan tujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama. Pada hasil pengujian menunjukkan nilai dari levene test sebesar 1,124 dengan nilai signifikansi sebesar 0,341 yang lebih besar dari alpha 0,05. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen.

Selain uji kehomogenan ragam juga dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan uji *kolmogorof smirnof test*. Dari hasil pengujian normalitas menunjukkan nilai dari *kolmogorof smirnof test* dengan nilai signifikansi (p) sebesar 0,835. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal. Dengan demikian data bisa diolah dengan menggunakan uji beda parametrik *one way anova* karena kedua asumsi terpenuhi.

Uji beda parametrik *one way anova* dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* setelah terpapar oleh ekstrak etanol buah delima dengan berbagai konsentrasi. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna jika $p < 0,05$. Dari uji beda One Way Anova, terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan jumlah koloni bakteri setelah terpapar oleh ekstrak etanol buah delima pada berbagai konsentrasi ($p = 0,000$) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri.

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi *Pos Hoc Tukey* guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam tabel dibawah ini:

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Pos Hoc Tukey

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Sig.	Keterangan
7,5%	10%	0.612	0.000	Berbeda nyata
	12,5%	0.961	0.000	Berbeda nyata
10%	7,5%	-0.612	0.000	Berbeda nyata
	12,5%	0.348	0.005	Berbeda nyata
12,5%	7,5%	-0.961	0.000	Berbeda nyata
	10%	-0.348	0.005	Berbeda nyata

Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan (lihat tabel di atas, $p < 0.05$ sehingga dapat dikatakan signifikan). Dengan kata lain terdapat penurunan jumlah koloni bakteri yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak.

Uji korelasi parametrik Pearson menunjukkan nilai signifikansi ($P\text{-value}$) = 0.000 ($p < 0.05$) dan *correlation coefficient* -0.899 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara variable konsentrasi ekstrak dengan variabel jumlah koloni bakteri yang termasuk korelasi sangat kuat ($r > 0.799$). *Spearman correlation coefficient* (r) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri.

Note : r = *correlation coefficient*, shows the strength of correlation. *Weak correlation* ($r < 0.500$), *moderate correlation* ($r = 0.500-0.599$), *strong correlation* ($r = 0.600-0.799$), *very strong correlation* ($r > 0.799$).

Uji regresi linier merupakan uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh variable independen (ekstrak dengan berbagai konsentrasi) terhadap variable dependen (jumlah koloni bakteri). Hasil persamaan garis regresi linier yang di dapat adalah :

$$Y = 3756,8 - 112,458 X$$

dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* sedangkan X adalah perlakuan pemberian ekstrak etanol buah delima. Dapat diartikan bahwa tanpa dipengaruhi oleh pemberian ekstrak etanol buah delima, maka jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* akan cenderung meningkat secara konstan sebesar 3756,8 koloni bakteri. Namun jika mempertimbangkan pengaruh dari perlakuan pemberian ekstrak etanol buah delima, akan didapatkan setiap peningkatan 1% konsentrasi ekstrak akan menurunkan bakteri *Shigella dysenteriae* sebanyak 112,458 koloni bakteri. Sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah delima yang diberikan, maka akan berpengaruh signifikan dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae*. Adapun bentuk kurva dari persamaan regresi di atas telah ditampilkan sebelumnya (lihat Gambar 5.5).

Nilai koefisien determinasi ($R^2 = R \text{ square}$) digunakan untuk menghitung besarnya pengaruh ekstrak etanol buah delima terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysenteriae*. Nilai koefisien determinasi dari tabel *Model summary* didapatkan sebesar 0,87 yang berarti kontribusi pemberian ekstrak etanol buah delima dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar 80,7% sedangkan sisanya 19,3% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan bakteri *Shigella dysenteriae* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya. Sebelum bakteri digunakan untuk penelitian, dilakukan beberapa uji identifikasi ulang terhadap *Shigella dysenteriae*. Dari hasil pewarnaan gram didapatkan bakteri gram negatif, sel berbentuk batang pendek dan berwarna merah. Sedangkan dari hasil uji *Microbact* 12A/E didapatkan akurasi bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar 87,2% artinya bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 87,2% benar-benar *S.dysenteriae*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah delima yang diekstrak dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pada penelitian Arifin, H., *dkk* (2006) didapatkan ekstrak etanol daun juwet (*Eugenia Cumini* Merr.) lebih banyak mengandung flavonoid dan fenolik, bila diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dibanding bila menggunakan pelarut air. Hal ini menunjukkan, senyawa aktif yang terkandung dalam buah delima seperti flavonoid, tannin, dan asam fenolik dapat larut dalam etanol 96%.

Pada penelitian ini, efek anti mikroba yang didapatkan bukan berasal dari etanol 96%, yang digunakan sebagai pelarut. Hal ini dikarenakan pada proses ekstraksi, etanol 96% telah mengalami proses evaporasi (penguapan) dengan oven pada suhu 80⁰ celcius selama 2 jam, sedangkan titik didih Etanol 78⁰

celcius. Sehingga diharapkan dengan proses evaporasi tersebut *etanol* 96% yang mungkin tersisa didalam ekstrak telah hilang (Siswandono, 1995).

Sebelum mendapatkan konsentrasi perlakuan, penulis melakukan tiga tahap penelitian pendahuluan. Dari ketiga tahap tersebut didapatkan konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5% dan 20% sebagai konsentrasi perlakuan pada metode dilusi tabung. Dari keenam konsentrasi perlakuan tersebut diamati tingkat kekeruhan tabung untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM). Namun sayangnya, ekstrak etanol buah delima berwarna gelap dan larutan yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan sangat keruh sehingga pengamatan tingkat kekeruhan tabung karena pertumbuhan bakteri tidak dapat diamati dan KHM tidak dapat ditentukan. Disarankan menggunakan metode dilusi agar supaya dapat menentukan KHM.

Kemudian keenam konsentrasi dilusi tabung digoreskan pada NAP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penggoresan pada NAP digunakan untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Pada NAP Nampak pertumbuhan koloni bakteri semakin berkurang dari konsentrasi 7,5% sampai 12,5% dan tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri sama sekali pada konsentrasi 15%. Sehingga konsentrasi 15% ditentukan sebagai KBM.

Penelitian mengenai bahan alam lain yang digunakan sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae*, ternyata telah banyak dilakukan. Pada penelitian Hasniah Harun (2009) yang menggunakan ekstrak etanol mengkudu sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae* dengan metode dilusi tabung, diperoleh KBM pada konsentrasi 25%. Namun, KHM tidak dapat ditentukan karena ekstrak etanol mengkudu berwarna keruh kecoklatan.

Penelitian lainnya dilakukan oleh Adnyana I.K., dkk (2004) yang meneliti tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji daging buah putih dan daun jambu biji daging buah merah (*Psidium guajava* L., Myrtaceae) terhadap *Shigella dysenteriae* dengan metode dilusi agar. Pada penelitian ini diperoleh KHM ekstrak etanol daun jambu putih sebesar 30 mg/ml dan KHM ekstrak etanol daun jambu merah sebesar 70 mg/ml. Hasil penelitian lain ditunjukkan oleh Nurhayati (2009) yang menggunakan ekstrak buah majapahit sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae*. Penelitian ini diperoleh KHM sebesar 20% dan KBM sebesar 100%. Dari hasil penelitian diatas dapat menunjukkan bahwa pertumbuhan *Shigella dysenteriae* tidak hanya dihambat oleh ekstrak etanol buah delima saja tetapi ekstrak bahan alam yang lain.

Ekstrak etanol buah delima ternyata tidak hanya mampu bersifat antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*, tetapi juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif yang lain, gram positif dan jamur. Berdasarkan penelitian Duman et all (2009) menyebutkan bahwa ekstrak buah delima memiliki potensi sebagai antimikroba dan antijamur, yaitu mampu menghambat pertumbuhan tujuh macam bakteri, diantaranya *P. aeruginosa*, *Bacillus megaterium*, *S. aureus*, *E. coli*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus* dan sebagai anti jamur mampu menghambat pertumbuhan *Kluwyeromyces marxianus*, *Rhodotorula rubra* dan *Candida albicans*.

Kemampuan antimikroba delima tidak hanya dari buah delima saja, tetapi juga dari bagian pohon delima yang lain seperti daun delima dan kulit buah delima. Dalam penelitiannya R. Chaitra H., et all (2012) menyebutkan ekstrak methanol daun delima mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* dan *Proteus mirabilis*.

Selain itu ekstrak methanol daun delima juga memiliki aktivitas antijamur terhadap *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans* dan *Cryptococcus* sp. Al-Zoereky (2009) melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak methanol 80% kulit buah delima. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak methanol kulit buah delima mampu menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Escherichia coli* dan *Yersinia enterocolitica*. Hal ini menunjukkan, bahwa setiap bagian dari delima memiliki kemampuan antijamur dan antibakteri dikarenakan mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, fenolik, dan tannin (Elfalleh W., et all, 2012).

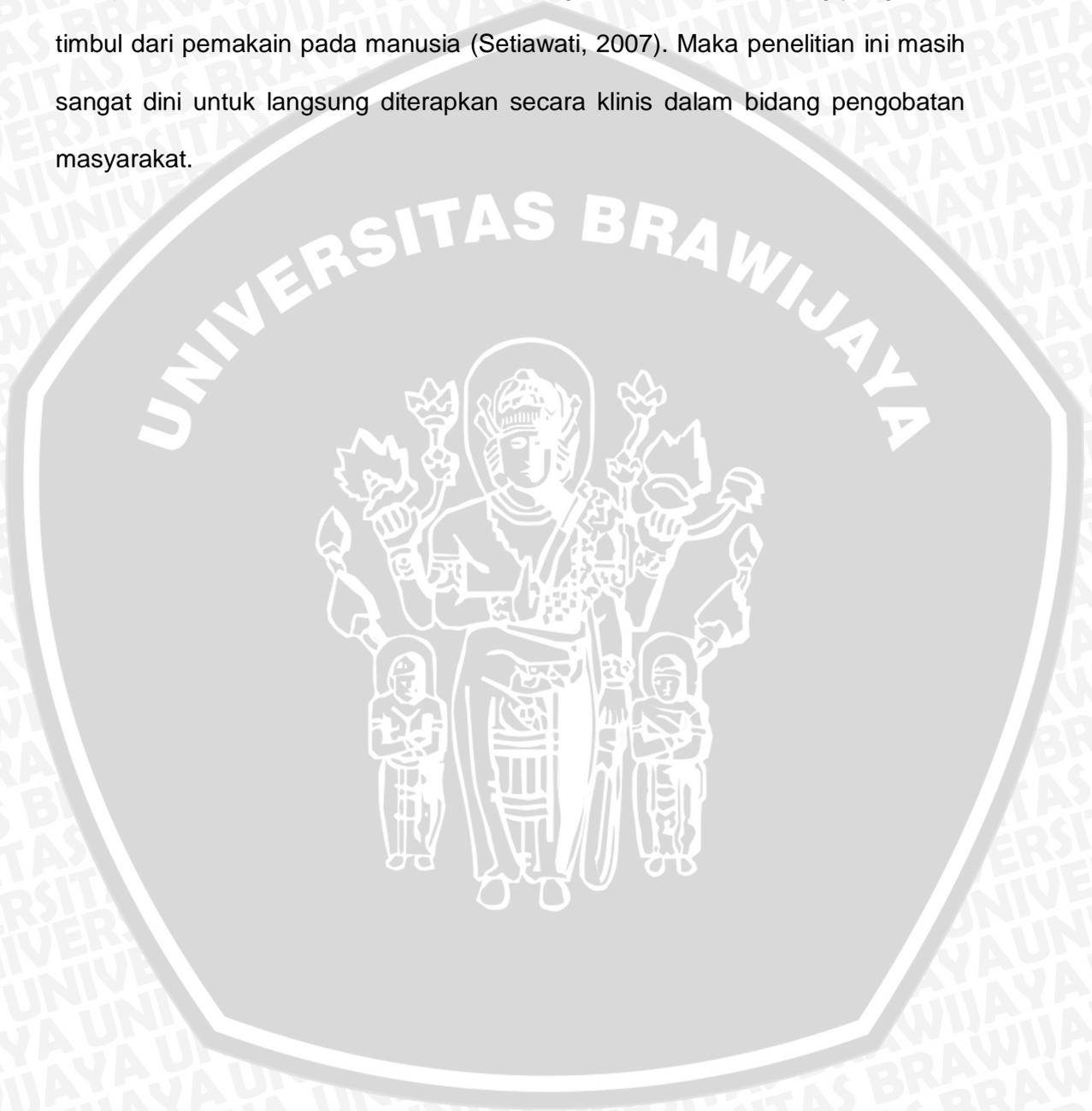
Pada penelitian ini, efek antimikroba buah delima terhadap bakteri *Shigela dysenteriae* disebabkan oleh zat-zat aktif yang terkandung dalam buah delima, diantaranya adalah *flavonoid*, *tanin* dan *asam fenolik*. Flavonoid telah diketahui bahwa disintesis oleh tanaman dalam responnya terhadap infeksi mikroba. Mekanisme *Flavonoid* sebagai antimikroba kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat adhesin pada permukaan sel mikroba, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut dan membentuk kompleks dengan polipeptida dinding sel bakteri, serta sifat lipofilik dari flavonoid dapat merusak membrane bakteri sehingga menyebabkan bakteri lisis. Aktivitas tanin sebagai antimikroba memiliki kemiripan dengan flavonoid, kemungkinan berhubungan dengan kemampuannya menginaktivasi adhesin mikroba, transport protein dan membentuk kompleks dengan polisakarida dinding sel bakteri. Dan peran *asam fenolik* sebagai antimikroba kemungkinan berhubungan dengan kemampuannya untuk berinteraksi dengan protein mikroba sehingga terjadi gangguan dalam sintesis protein yang menyebabkan denaturasi protein mikroba (Cowan, 1999).

Berdasarkan pemaparan diatas, dapat ditarik kesimpulan bahwa *Shigella dysenteriae* dapat dihambat pertumbuhannya oleh berbagai macam ekstrak bahan alam, seperti buah delima, daun jambu biji dan buah majapahit. Selain itu delima dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri gram negatif, bakteri gram positif dan jamur. Tidak hanya buah delima saja yang berpotensi sebagai antimikroba, tapi bagian lain dari delima juga, seperti daun dan kulit buahnya.

Keterbatasan pada penelitian ini antara lain pada metode pembuatan ekstrak etanol buah delima yang bersifat sederhana, sehingga proporsi jumlah bahan aktif, bahan aktif apa saja yang berperan besar dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* tidak diketahui secara pasti. Selain itu, tidak adanya standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam mengakibatkan ada kemungkinan apabila dilakukan di laboratorium yang berbeda, maka ekstrak yang dihasilkan kemungkinan memiliki efek yang berbeda. Variasi biologis dari masing-masing buah delima yang ditanam di suatu daerah mungkin efeknya tidak sama dengan yang ditanam di daerah lainnya. Lamanya penyimpanan ekstrak, kemungkinan efek antimikrobanya dapat menurun ataupun meningkat. Oleh karena itu, untuk penelitian-penelitian selanjutnya perlu adanya standarisasi, baik dari pemilihan bahan yang digunakan (buah delima), alat ekstraksi serta lamanya masa simpan (jangka waktu ekstrak masih dapat digunakan sebagai antimikroba) sehingga apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama.

Aplikasi klinis ekstrak buah delima masih memerlukan penelitian lebih lanjut dengan pengujian pada hewan coba (in vivo) maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Penelitian in vivo pada hewan coba bertujuan untuk meneliti

sifat farmakodinamik, farmakokinetik, efek toksiknya, dosis infeksi dan memperkecil resiko penelitian pada manusia. Pengujian pada manusia (uji klinik) bertujuan untuk memastikan keamanan, dan gambaran efek samping yang dapat timbul dari pemakaian pada manusia (Setiawati, 2007). Maka penelitian ini masih sangat dini untuk langsung diterapkan secara klinis dalam bidang pengobatan masyarakat.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol buah delima terbukti memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Hal ini ditunjukkan dengan seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak, semakin sedikit koloni bakteri yang tumbuh.
2. Kadar Hambat Minimal (KHM) dari penelitian ini tidak dapat ditentukan.
3. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak etanol buah delima (*Punica granatum*) yang dapat membunuh bakteri *Shigella dysenteriae* adalah pada konsentrasi 15%

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk penelitian lebih lanjut sebaiknya menggunakan metode dilusi agar sehingga Kadar Hambat Minimal (KHM) dapat ditentukan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui presentase masing-masing bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak buah delima (*Punica granatum*).
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba buah delima (*Punica granatum*) pada bakteri lain, *fungi* ataupun virus.

4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat efektivitas ekstrak buah delima (*Punica granatum*) secara *in vivo* (pada hewan coba dan uji klinik) sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.
5. Perlu ada standarisasi dalam pembuatan ekstrak buah delima (*Punica granatum*), 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 cara dekok ataupun perasan untuk mengetahui buah delima (*Punica granatum*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.



DAFTAR PUSTAKA

- Adnyana I.K., Yulinah E., Sigit JI., K. Fisheri N., Insanu M. 2004. Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji Daging Buah Merah Sebagai Antidiare (Online), (http://acta.fa.itb.ac.id/pdf_dir/issue_29_1_3.pdf, diakses 9 Desember 2012).
- Arifin H., AnggrainiN., Handayani D., Rasyid R. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr, (Online), (http://repository.unand.ac.id/872/1/7_helmi.doc, diakses 8 Desember 2012).
- Arifin, A. S. 1986. Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta : Karunia.
- Al-Zoreky. 2009. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels, (Online), (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160509003316>, diakses 8 Desember 2012).
- Brooks GF., Butel JS., Morse SA. 2001. *Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology*, (Ed) 2001. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (penterjemah). 2005. Salemba Medika, Jakarta, hal 362-364.
- Brooks, G.F., Butel, J.S, Morse, S.A. 2004. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 23rd Ed. San Francisco: McGrawHill. Hartanto H., Rachman C., Dimanti A., Diani A. (penterjemah). 2007. Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Christopher PRH, David KV, John SM, Sankarapandian V. 2010. Antibiotic therapy for Shigella dysentery (Review), (Online), (<http://www.thecochranelibrary.com/userfiles/ccoch/file/Water%20safety/CD006784.pdf>, diakses 10 Januari 2013).
- Cowan MM. 1999. Plants Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviev.* Vol. 12, No. 4, (Online), (<http://www.emersonhemp.com/Documents/AntimicrobialHemp.pdf>, diakses 25 Desember 2011).
- Dahham SS, Ali MN, Tabassum H, and Khan M. 2010. Studies on Antibacterial and Antifungal Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *Am-Euras. J. Agric & Envirom. Sci.*, 9(3): 273-281, (Online), ([http://idosi.org/aejaes/jaes9\(3\)/8.pdf](http://idosi.org/aejaes/jaes9(3)/8.pdf), diakses 7 Desember 2011).

Dahlan, M. S. 2008. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.

Dalimartha S, Adrian F. 2011. *Khasiat Buah dan Sayuran*. Penebar Swadaya, Depok.

Deshpande, S.S. 2002. *Handbook of Food Toxicology*. New York: Marcel Dekker Inc.

Duman AD, Ozgen M, Dayisoğlu KS, Erbil N, and Durgac C. 2009. Antimicrobial Activity of six Pomegranate (*unica granatum L.*) Varieties and Their Relation to Some of Their Pomological and Phytonutrient Characteristics. *Molecules*, 2009, 14, (Online), (<http://www.mdpi.com/1420-3049/14/5/1808/pdf>, diakses 12 Desember 2011).

Dzen MS., Roekistiningsih, Santosa S., Sumarno, Islam S., Muwarni S., dkk. 2003. *Bakteriologi Medik Cetakan Pertama*, Bayumedia Publishing, Malang.

Elfalleh W., Hannachi H., Tlili N., Yahia Y., Nasri N. dan Ferchichi A. 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower, (Online), (<http://www.academicjournals.org/jmpr/PDF/pdf2012/22Aug/Elfalleh%20et%20al.pdf>, diakses 8 Desember 2012).

Hakimah IA. 2010. *81 Macam Buah Berkhasiat Istimewa*. Syura Media Utama, Bantul, Yogyakarta.

Hasniah H. 2009. Daya Antimikroba Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, (Online), (<http://www.researchgate.net/50414611>, diakses tanggal 23 November 2012).

Haskins P. 2010. *Plant Life*, (Online), (<http://pattihaskins.wordpress.com/category/plant-life/>, diakses 6 Januari 2013).

Iseelbacher KJ., Braunwald E., Wilson JD., Martin JB., Fauci AS., Kasper DL. 1994. *Harrison's Principles Of Internal Medicine*. McGraw-Hill. *Harrison prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam Edisi 13, Shigellosis*. Ahmad H. Asdie (Penterjemah). 1999. Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta, hal 761-764.

Jhonson AG, Ziegler R, Fitzgerald TJ, Lukasewycz O, Hawley L. 1993. *Mikrobiologi dan Immunologi*. ES Yulius. 1994. Binarupa Aksara, Jakarta.

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

Martos MV, Lopez JF, Alvarez JAP. 2010. Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Comprehensivereviews in Food Science and Food Safety*, 2010, Vol. 9, (Online), (www.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.00131.x/pdf, diakses 3 Desember 2001).

Muhammad AB. 1997. Ghoffar A, Muthalib YA. 2006. *Pola Makan Rasulullah. Almahira*, Jakarta Timur.

Nafianti S, Sinunhaji Atan B. 2005. Resistensi Trimetoprim – Sulfametoksazol terhadap Shigellosis. *Sari Pediatri*, Vol. 7, No. 1, Juni 2005: 39-44, (Online), (<http://www.idai.or.id/saripediatri/pdf/7-1-7.pdf>, diakses 8 Januari 2013).

Nurhayati. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro, (Online), (<http://digilib.its.ac.id/ITS-Undergraduate-3100009034281/4498>, diakses tanggal 9 Desember 2012).

Pourakbari B, Mamishi S, Mashoori N, Mahboobi N, Ashtiani MH, Afsharpaiman S, et al. 2010. Frequency and Antimicrobial Susceptibility of Shigella Species Isolated in Children Medical Center Hospital, Tehran, Iran, 2001-2006. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2010, Vol 14, No.2., (Online), (http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-86702010000200007&script=sci_arttext, diakses 3 Desember 2011).

Robbins RJ. 2003. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51 (10), 2866-2887 • DOI: 10.1021/jf026182t, (Online), (<http://naldc.nal.usda.gov/download/26716/PDF>, diakses 6 Januari 2013).

R. Chaitra H., M. Madhuri, Nishitha S. T., Arijit D., Sourav B., and Rohit K.C. 2012. Evaluation of Antimicrobial Properties, Phytochemical Contents and Antioxidant Capacities of Leaf Extracts of *Punica granatum L.*, (Online), (<http://www.isca.in/IJBS/Archive/v1i2/6.ISCA-JBS-2012-052%20Done.pdf>, diakses 8 Desember 2012).

Rukmana R. 2003. Delima. Kanisius, Yogyakarta, (Online), (http://books.google.co.id/books?id=zaloMTYELZoC&pg=PA11&lpg=PA11&dq=taksonomi+buah+delima&source=bl&ots=ID5QoZ9md1&sig=Z04aJ4-mzmp6tugcL6M0Jazel4&hl=id&ei=VL7ITrT8JYHRrQfxxpjyBw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6&ved=0CEEQ6AEwBQ#v=onepage&q=taksonomi%20buah%20delima&f=false, diakses 7 Desember 2011).

Sack DA., Lyke C., McLaughlin C., Suwanvanichkij V. 2001. Antimicrobial Resistance in Shigellosis, Cholera and Campylobacteriosis. WHO/CDS/CSR/ DRS/2001.8: 27-28 , (Online), (<http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/shigellosis.pdf>, diakses 8 Januari 2013).

Salawu So., Ogundare AO., Ola-Salawu BB., Akindahunsi AA. 2011. Antimicrobial Activities of Phenolic Containing Extracts of Some Tropical Vegetables. African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 5(4), pp. 486-492, April 2011 , (Online), (<http://www.academicjournals.org/ajpp/pdf/pdf2011/Apr/Salawu%20et%20al.pdf>, diakses 6 Januari 2013).

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

Siswandono. Soekarjo, B. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press. Surabaya. Hlm 257-259. (Online). (<http://isjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/72096168.pdf>, diakses 25 Desember 2011).

Sofia. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktifitas kandungan kimia utama pada pudding merah dengan Metode Uji Brine Shrimp. (Online), (<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/1844/1/06000441.pdf>, diakses 9 Januari 2013).

Suranto A. 2011. *Terbukti Pome Tumpas Penyakit*. Pustaka Bunda, Jakarta.

Subekti D, Oyofa BA, Tjaniadi P, Corwin AL, Larasati W, Putri M, et al. 2001. Shigella spp. Surveillance in Indonesia: the Emergence or Reemergence of S. Dysenteriae. Emerging Infectious Disease, 2001, Vol.7, No.1, (Online), (<http://library.itd.unair.ac.id/files/disk1/2/itdunair—decysubekt-100-1-shigella-e.pdf>, diakses 3 Desember 2011).

Sya'roni A. 2006. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalama, Edisi Keempat, Jilid III, Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohshima, M., Tanaka, T., Inuma, M. 1996. *Comparative Study on the Antibacterial Activity of Phytochemical Flavones against MRSA*. J. Ethnopharmacol, (Online), (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8778504>, diakses tanggal 6 Januari 2013).

Lampiran 1. Uji Homogenitas Data

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Koloni

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
1.214	2	9	.341

Lampiran 2. Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah Koloni
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.7770
	Std. Deviation	.42708
Most Extreme Differences	Absolute	.179
	Positive	.179
	Negative	-.130
Kolmogorov-Smirnov Z		.621
Asymp. Sig. (2-tailed)		.835

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran 3. Uji Beda One Way ANOVA

Oneway

Descriptives

Jumlah Koloni

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
7,5%	4	2.3014	.14368	.07184	2.0728	2.5300	2.11	2.42
10%	4	1.6891	.06172	.03086	1.5909	1.7873	1.63	1.76
12,5%	4	1.3406	.11605	.05802	1.1560	1.5253	1.20	1.48
Total	12	1.7770	.42708	.12329	1.5057	2.0484	1.20	2.42

ANOVA

Jumlah Koloni					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.893	2	.946	74.864	.000
Within Groups	.114	9	.013		
Total	2.006	11			

Lampiran 4. Uji Multi Komparasi Pos Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Koloni

Tukey HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
7,5%	10%	.61231*	.07950	.000	.3903	.8343
	12,5%	.96078*	.07950	.000	.7388	1.1827
10%	7,5%	-.61231*	.07950	.000	-.8343	-.3903
	12,5%	.34847*	.07950	.005	.1265	.5704
12,5%	7,5%	-.96078*	.07950	.000	-1.1827	-.7388
	10%	-.34847*	.07950	.005	-.5704	-.1265

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

Homogeneous Subsets

Jumlah Koloni

Tukey HSD^a

Konsentrasi	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
12,5%	4	1.3406		
10%	4		1.6891	
7,5%	4			2.3014
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Lampiran 5. Uji Regresi Linier Sederhana

Regression

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Jumlah Koloni	92.2500	91.59806	12
X	9.6667	2.14617	12

Correlations

		Jumlah Koloni	X
Pearson Correlation	Jumlah Koloni	1.000	-.899
	X	-.899	1.000
Sig. (1-tailed)	Jumlah Koloni	.	.000
	X	.000	.
N	Jumlah Koloni	12	12
	X	12	12

Variables Entered/Removed^a

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

- a. All requested variables entered.
- b. Dependent Variable: Y

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.899 ^a	.807	.788	42.16723

- a. Predictors: (Constant), X

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	74511.493	1	74511.493	41.906	.000 ^a
	Residual	17780.757	10	1778.076		
	Total	92292.250	11			

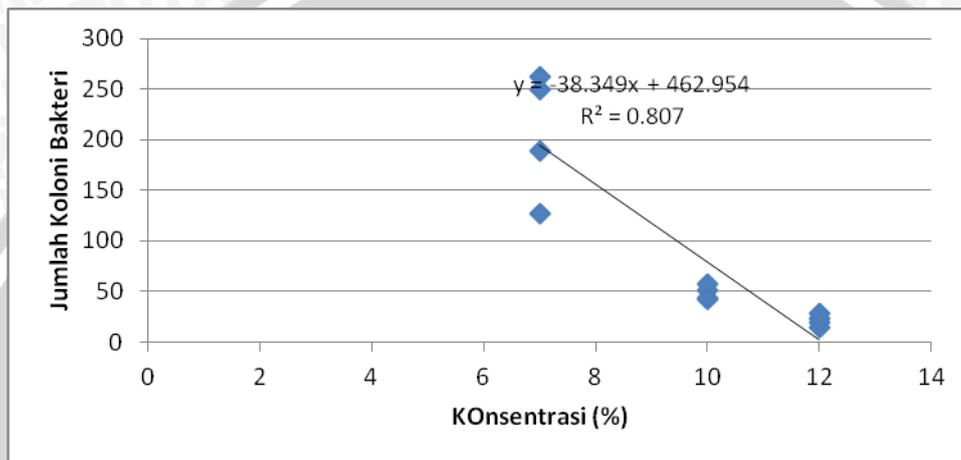
- a. Predictors: (Constant), X
- b. Dependent Variable: Y



Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	462.954	58.545		7.908	.000
	X	-38.349	5.924	-.899	-6.473	.000

a. Dependent Variable: Y



Lampiran 6. Alat Penelitian



A. Vortex, Bunzen, Pipet ml, Ose, Tabung, Rak tabung, Pemantik



B. Colony Counter

(untuk menghitung koloni bakteri yang tumbuh pada media lempeng agar)



C. Bahan untuk Pewarnaan Gram: Alkohol 96%, Safranin, Lugol, Crystal Violet; bunzen, pipet



D. Inkubator
(Untuk inkubasi kultur bakteri)



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yuriska Mayda Sumantri

NIM : 0910713039

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 aku 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, 23 Desember 2012

Yang membuat pernyataan

Yuriska Mayda S.
NIM. 0910713039