

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL TUMBUHAN LUMUT HATI
(*Marchantia polymorpha*) TERHADAP PERTUMBUHAN
KOLONI *Salmonella* Typhi SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :

R. ANANDA NURIMAN

0910711016

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEK EKSTRAK ETANOL TUMBUHAN LUMUT HATI (*Marchantia polymorpha*) TERHADAP PERTUMBUHAN KOLONI *Salmonella Typhi* SECARA *IN VITRO*

Oleh:

R. Ananda Nuriman

NIM : 0910711016

Telah diuji pada :

Hari : Jum'at

Tanggal : 8 Februari 2013

Dan dinyatakan **LULUS** oleh :

Penguji I

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

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

Dr.Dra. Sri Winarsih. Apt., MSi
NIP. 19540823 198103 2 001

Dr.dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes., Sp Park
NIP. 19641013 199103 2 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardiono, DTMH, M.Sc, Sp. Park(K)

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul Uji Efek Ekstrak Etanol Tumbuhan Lumut Hati (*Marchantia polymorpha*) Terhadap Pertumbuhan Koloni *Salmonella Typhi* Secara *In Vitro*. Ketertarikan penulis pada topik ini didasari oleh jarangnyanya penelitian – penelitian yang memakai sumber baru alternatif lumut hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah lumut hati mempunyai efek antimikroba.

Proses penulisan Tugas Akhir ini merupakan sebuah pengalaman yang sangat berharga. Pengalaman yang memberikan tantangan dalam segi keilmuan dan juga sarat ujian mental dan fisik yang mungkin akan sangat berat jika tidak ada pihak-pihak yang bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk membantu. Melalui kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Dr.dr. Karyono Mintaroem, SpPA, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTMH, M.Sc, Sp. Park(K), Ketua Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Sebagai dosen pembimbing pertama Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., MSi dan Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.kes., SpPark sebagai dosen pembimbing kedua

yang dengan sabar membimbing penulis untuk bisa menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.

5. Selaku dosen penguji dr. Rita Rosita, M.Kes terima kasih atas saran dan kritik yang telah diberikan sehingga dapat menyempurnakan tugas akhir ini.
6. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., MSi, dr Soemardini M.Pd dan segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB yang telah memberikan banyak informasi, bantuan dan dukungan.
7. Staf di Mikro, Mas Slamet, Mbak Uci yang tidak lelah memberikan masukan dan selalu membantu penulis dalam menjalani penelitian di laboratorium.
8. Yang tercinta ayahanda dr. Syarif Hidayat, SpOg, Ibunda Dyah Wahjuni Sulistyowati, SH, Bude-bude, Pakde-pakde, Adik Shefa, Ruben, Adit, Serly, Krisana, Rahma, Riski. Sahabat hidupku Widya Ayu Permata Sari. Sahabat karibku Risky, Dyah Lukito, Nathan, Yosafat, Beny, Ivan, Mas Harvey, Rama, Waropen, Aristoteles, Ayik, Mucis, Harry Pratama, Mas Eko, Mas Galuh, Mbak Rina, dan Mbak Tina, terima kasih atas segala pengertian, dukungan moral dan kasih sayangnya selama ini.
9. Teman-teman jurusan Pendidikan Dokter angkatan 2009 khususnya PDB 2009 atas persahabatannya selama ini.
10. Teman - teman seangkatan yang sama-sama mengerjakan tugas akhir di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya terimakasih telah mendukung satu sama lain selama proses pembuatan tugas akhir ini.

ABSTRAK

Nuriman, Ananda R. 2013. **Uji Efek Ekstrak Etanol Tumbuhan Lumut Hati (*Marchantia polymorpha*) Terhadap Pertumbuhan Koloni *Salmonella* Typhi Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., Msi (2) Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes., SpParK

Demam tifoid masih menjadi penyakit endemik di Indonesia sampai saat ini. Demam tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella* Typhi. Salah satu terapi pilihan untuk demam tifoid adalah menggunakan antibiotika, tetapi kasus resistensi *Salmonella* Typhi terhadap antibiotika semakin banyak dilaporkan tiap tahunnya. Lumut hati (*Marchantia polymorpha*) diketahui memiliki berbagai kandungan bioaktif, diantaranya adalah senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid yang diketahui memiliki aktifitas antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol lumut hati terhadap pertumbuhan koloni *Salmonella* Typhi. Penelitian ini menggunakan empat isolat bakteri *Salmonella* Typhi. Metode penelitian ini adalah eksperimental *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi agar. Konsentrasi ekstrak etanol lumut hati yang digunakan adalah 0%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah koloni *Salmonella* Typhi seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak lumut hati. Pada penelitian ini juga didapatkan (Kadar Hambat Minimal) KHM ekstrak etanol lumut hati terhadap pertumbuhan koloni *Salmonella* Typhi yaitu pada konsentrasi 15%. Dengan menggunakan uji Kruskal Wallis didapatkan nilai signifikansi 0,002 yang berarti bahwa perubahan jumlah koloni dapat disebabkan oleh konsentrasi pada ekstrak perlakuan. Analisis menggunakan uji korelasi Spearman menunjukkan bahwa korelasi antara konsentrasi ekstrak etanol lumut hati dan pertumbuhan koloni *Salmonella* Typhi adalah bermakna ($p = 0,000$) dengan p -value kurang dari 0,05 dan menunjukkan korelasi yang sangat kuat ($r = 0,845$). Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak etanol lumut hati memiliki efek antimikroba terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella* Typhi dengan KHM pada konsentrasi 15%.

Kata kunci: *Salmonella* Typhi, ekstrak etanol lumut hati, KHM, kemampuan antimikroba

ABSTRACT

Nuriman, Ananda R. 2013. **The Study of Ethanol Extract from Liverwort (*Marchantia polymorpha*) against Colony Growth of *Salmonella* Typhi In Vitro**. Final Paper, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., Msi (2) Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes., SpParK

Typhoid fever is one of major endemic disease in Indonesia. Typhoid fever is caused by *Salmonella* Typhi. One of the treatment for typhoid fever is antibiotic drug. However, more resistancy case of *Salmonella* to antibiotics was reported every year. *Marchantia polymorpha* is abundant of bioactive compound, some of them are phenolic compound, flavonoid, and terpenoid, which has antimicrobial properties. The aim of this study was to learn the antimicrobial effect of *Marchantia polymorpha* ethanol extract against the colony of *Salmonella* Typhi. Four isolates of *Salmonella* typhi were used in this study. The method of this study was an in vitro experimental research using agar dillution method. The concentration of *Marchantia polymorpha* extract used in this study were 0%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, and 15%. The results showed a declining tendency of *Salmonella* Typhi colony number along with the increasing of *Marchantia polymorpha* ethanol extract. The (*Minimum Concentration Inhibitor*) MCI of *Marchantia polymorpha* ethanol extract against *Salmonella* Typhi in this study was 15% concentration. Analysis using Kruskal Wallis test showed that the change in *Salmonella* Typhi colony number can be caused by *Marchantia polymorpha* extract with significance value of 0,002. Another analysis using Spearman correlation test has shown a correlation between concentration of *Marchantia polymorpha* ethanol extract and colony number of *Salmonella* typhi with ($p = 0,000$) value of less than 0,05 and ($r = 0,845$). It can be concluded that *Marchantia polymorpha* ethanol extract has an antimicrobial properties against *Salmonella* typhi with MCI at 15% concentration.

Keywords: *Salmonella* Typhi, *Marchantia polymorpha* ethanol extract, MCI, antimicrobial properties

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	1
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 Ilmu Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Salmonella</i> Typhi	5
2.1.1 Taksonomi dan morfologi <i>Salmonella</i> Typhi	5

2.1.2 Struktur Antigen	7
2.1.3 Epidemiologi Demam Tifoid.....	8
2.1.4 Patogenesis dan Manifestasi klinik.....	10
2.1.5 Diagnosis Laboratorium	11
2.1.5 Pengobatan.....	12
2.1.6 Pencegahan.....	12
2.2 Lumut Hati	12
2.2.1 Taksonomi Lumut Hati	12
2.2.2 Morfologi Lumut Hati	13
2.2.3 Habitat Lumut Hati	14
2.2.4 Kandungan Senyawa Aktif Lumut Hati	14
2.2.5 Manfaat Lumut Hati.....	15
2.2.6 Komponen Antimikroba Lumut Hati	15
2.2.7 Mekanisme Kerja Senyawa Aktif Lumut Hati	16
2.2.8 Metode Ekstraksi Senyawa Aktif Dari Bahan Alam.....	16
2.3 Uji Kepekaan Bakteri Terhadap Antimikroba	18
2.3.1 Metode Dilusi	18
2.3.2 Metode Difusi Cakram.....	19
2.3.3 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	20
2.3.3.1 Penghambatan terhadap Sintesis Dinding Sel.....	20
2.3.3.2 Penghambatan terhadap Fungsi Membran Sel.....	20
2.3.3.3 Penghambatan terhadap Sintesis Protein.....	21
2.3.3.4 Penghambatan terhadap Sintesis Asam Nukleat	21

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian	23
3.2 Hipotesis Penelitian	24

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian	25
4.2 Sampel Penelitian	24
4.3 Tempat dan Waktu	25
4.4 Variabel Penelitian	25
4.4.1 Variabel Bebas	25
4.4.2 Variabel Tergantung	26
4.5 Besar Sampel	26
4.6 Alat dan Bahan Penelitian	27
4.7 Definisi Operasional	27
4.8 Prosedur Penelitian	28
4.8.1 Persiapan Bakteri Uji	28
4.8.1.1 Kultur Pada Medium Diferensial Mc Conkey	28
4.8.1.2 Uji TSI	29
4.8.1.3 Pewarnaan Gram	29
4.8.1.4 Kultur pada Medium Selektif BSA	30
4.8.1.5 Preparasi Bakteri	30
4.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Lumut Hati	31
4.8.2.1 Proses Ekstraksi	31
4.8.2.2 Proses Evaporasi dengan Rotavapor	31

4.8.3 Uji antimikroba Ekstrak Etanol Lumut Hati.....	32
4.9 Bagan Alur Penelitian.....	33
4.10 Pengumpulan Data	34
4.11 Analisis Data	35

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian	36
5.1.1 Gambaran Ekstrak Etanol Lumut Hati.....	36
5.1.2 Identifikasi <i>Salmonella</i> Typhi	34
5.1.3 Hasil Penelitian Pendahuluan.....	38
5.1.4 Hasil Penentuan KHM	39
5.2 Analisis Data.....	42
5.2.1 Uji Kruskal Wallis.....	43
5.2.2 Uji Mann Whitney	43
5.2.3 Uji Korelasi Spearman.....	45

BAB 6 PEMBAHASAN	46
-------------------------------	-----------

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	51
7.2 Saran.....	51

DAFTAR PUSTAKA.....	53
----------------------------	-----------

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	55
--	-----------

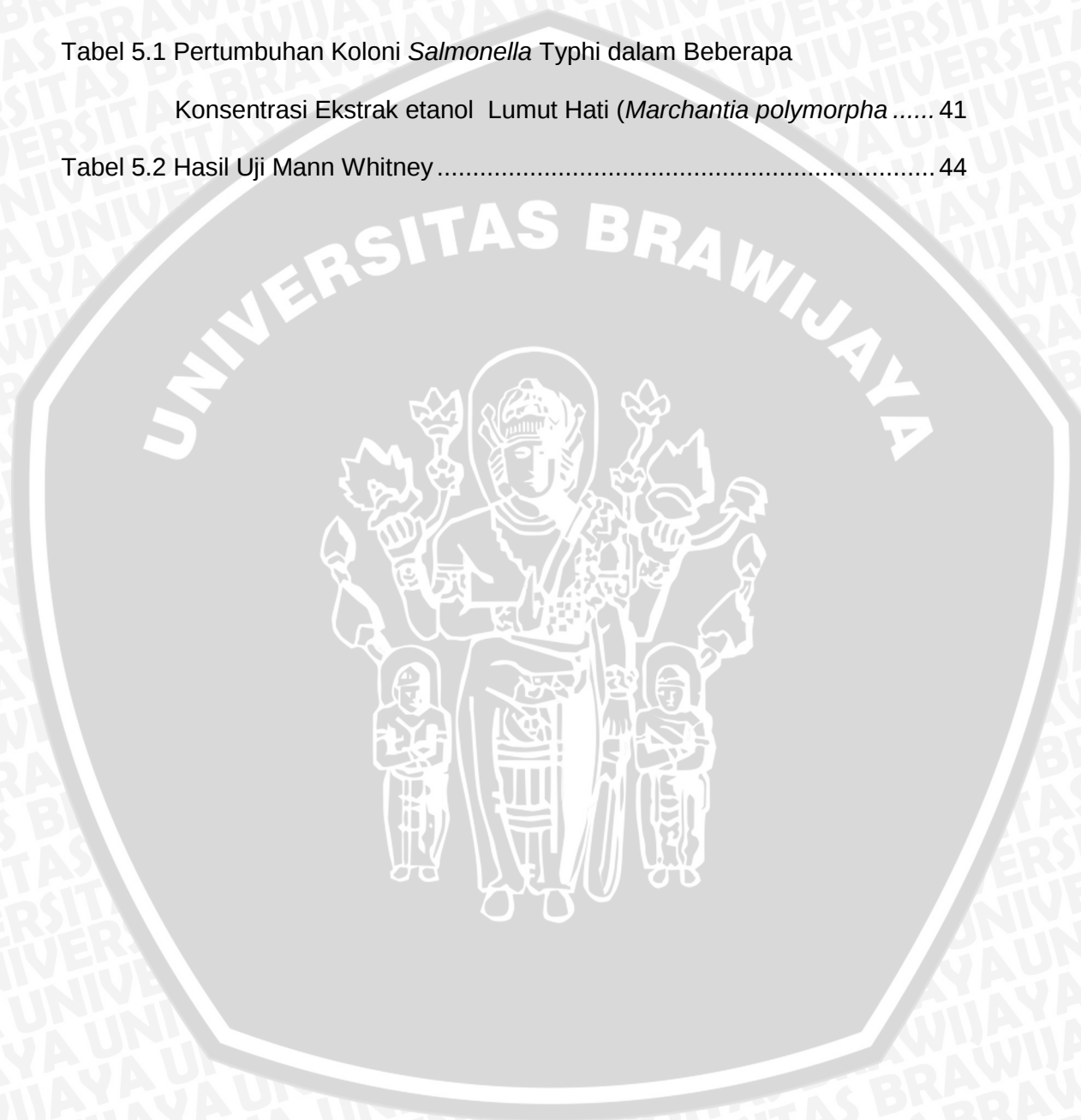
LAMPIRAN.....	56
----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi <i>Salmonella</i> Typhi	6
Gambar 2.2 Insiden Demam Tifoid di Dunia	8
Gambar 2.3 <i>Marchantia polymorpha</i>	12
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	22
Gambar 4.1 Proses Pembuatan Ekstrak Lumut Hati dan Preparasi Bakteri	
Uji Hari Pertama	33
Gambar 4.2 Perlakuan Pada Hari Kedua	34
Gambar 5.1 Hasil Identifikasi <i>Salmonella</i> Typhi	38
Gambar 5.2 Beberapa Konsentrasi Ekstrak Etanol Lumut Hati	
pada penelitian pendahuluan	38
Gambar 5.3 Koloni Bakteri <i>Salmonella</i> Typhi dengan Beberapa	
Perbedaan Konsentrasi Ekstrak	40

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Pertumbuhan Koloni <i>Salmonella</i> Typhi dalam Beberapa Konsentrasi Ekstrak etanol Lumut Hati (<i>Marchantia polymorpha</i> 41	41
Tabel 5.2 Hasil Uji Mann Whitney	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pertumbuhan koloni <i>Salmonella</i> Typhi dalam beberapa konsentrasi ekstrak etanol lumut hati (<i>Marchantia polymorpha</i>)	57
Lampiran 2 Uji Kruskal-Wallis	58
Lampiran 3 Uji Mann-Whitney	59
Lampiran 4 Uji Korelasi Spearman	70
Lampiran 5 Uji Hasil Fitokimia Ekstrak Etanol Lumut Hati	71
Lampiran 6 Uji Hasil Fitokimia Ekstrak Kemangi	73
Lampiran 7 Uji Hasil Fitokimia Ekstrak Bawang Putih	75



DAFTAR SINGKATAN

BSA	: <i>Bismuth Sulfit Agar</i>
CDC	: <i>Center for Disease Control and Prevention</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency virus</i>
KBM	: <i>Kadar Bunuh Minimum</i>
KHM	: <i>Kadar Hambat Minimum</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
MC	: <i>Mc Conkay</i>
NCCLS	: <i>National Commite for Clinical Laboratory Standart</i>
OMP	: <i>Outer Membrane Protein</i>
Rotavapor	: <i>Rotary Evaporator Vacuum</i>
RSSA	: <i>Rumah Sakit Saiful Anwar</i>
SPSS	: <i>Statistical Product of Service Solution</i>
TSI	: <i>Triple Sugar Iron</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Salmonella* Typhi

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi

Salmonella sp. pertama ditemukan (diamati) pada penderita demam tifoid pada tahun 1880 oleh Eberth dan dibenarkan oleh Robert Koch dalam budidaya bakteri pada tahun 1881 (Todar, 2008). Taksonomi *Salmonella* sangat kompleks karena perkembangan dan penggunaan beberapa nomenklatur yang berbeda selama bertahun-tahun (Dzen *et al.*, 2003). Anggota genus *Salmonella* pada dasarnya diklasifikasikan menurut epidemiologi, distribusi hospes, reaksi biokimia, dan struktur antigen O, H, dan Vi (jika ada) (Brooks *et al.*, 2004).

Skema antigenetik Kauffmann-White memberikan lebih dari 2000 spesies *Salmonella*, karena setiap tipe antigenetik baru yang ditemukan diberi nama spesies tersendiri, misalnya *Salmonella* typhimurium, sedangkan Ewing dkk. Menyatakan hanya ada tiga spesies *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, dan *Salmonella typhi*. Semua spesies atau serotipe yang lain dimasukkan sebagai serotipe dari *S. enteritidis*. Tiga nama spesies ini digunakan oleh *National Salmonella Center* pada *Enteric Reference Laboratory* dari *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) (Dzen *et al.*, 2003).

Penelitian genetik menunjukkan bahwa dipandang dari segi genetik, filogenik dan evolusi semua genus *Salmonella* dan organisme yang dulu diklasifikasikan dalam genus *Arizona* adalah milik dari satu spesies. Setiap

perbedaan tipe antigenik, reaksi biokimia, dan distribusi hospes serta geografis karena sebaran dari satu spesies, yaitu *Salmonella enterica* (Dzen et al., 2003).

Studi mengenai hibridasi (*Deoxyribonucleic acid*) DNA telah menunjukkan bahwa terdapat 6 group evolusi. Hampir semua serotipe *Salmonella* yang menginfeksi manusia adalah group I yaitu *Salmonella enterica* subspesies *enterica* (berdasar hibridasi DNA) dan jarang oleh infeksi group IIIa dan IIIb (*Salmonella enterica* subspesies *arizone* dan *diarizoneae*) (Brooks et al., 2004). (Center for Disease Control and Prevention) CDC dan laboratorium-laboratorium klinik lebih suka melaporkan serotipe, misalnya *Salmonella* serotipe *thypimurium* daripada menggunakan taksonomi yang benar tapi bertele-tele seperti *Salmonella enterica* subspesies *enterica* serotipe *typhimurium* (Dzen et al., 2003).



Gambar 2.1 Morfologi *Salmonella Typhi* (Todar,2008)

(dengan perbesaran mikroskop 1000x, tampak bersifat Gram negatif)

Salmonella Typhi adalah bakteri yang selnya berbentuk batang berukuran $0,7-1,5 \mu\text{m} \times 2,0-5,0 \mu\text{m}$, bersifat Gram negatif sehingga mempunyai komponen *outer layer* (lapisan luar) yang tersusun dari (*lipopolisakariada*) LPS dan dapat berfungsi sebagai endotoksin, bergerak dengan flagel peritrik, tidak membentuk spora. Pada media Mc Conkey koloni transparan karena bakteri tidak

memfermentasikan laktosa, dengan diameter koloni 2 - 4 mm (Darmawati, 2009).

Salmonella Typhi adalah bakteri yang berdasarkan kebutuhan oksigen bersifat fakultatif anaerob, membutuhkan suhu optimal 37°C untuk pertumbuhannya, memfermentasikan D - glukosa menghasilkan asam tetapi tidak membentuk gas, oksidase negatif, katalase positif, tidak memproduksi indol karena tidak menghasilkan enzim tryptophanase yang dapat memecah tryptophan menjadi indol, methyl red positif menunjukkan bahwa fermentasi glukosa menghasilkan sejumlah asam yang terakumulasi di dalam medium sehingga menyebabkan pH medium menjadi asam (pH = 4,2), dengan penambahan indikator Metyl Red maka warna medium menjadi merah. Voges-Proskauer negatif, citrat negatif, menghasilkan H₂S yang dapat ditunjukkan pada media (*Triple Sugar Iron*) TSI (Darmawati, 2009).

2.1.2 Struktur Antigen

Salmonella Typhi mempunyai beberapa antigen, yaitu (Wardhani dkk., 2005):

a. Somatik (O) atau Antigen Dinding Sel

Antigen O merupakan somatik yang terletak di lapisan luar tubuh bakteri. Struktur kimianya terdiri dari lipopolisakarida. Antigen ini tahan terhadap pemanasan 100° C selama 2-5 jam, alkohol dan asam yang encer.

b. Antigen Vi

Antigen Vi terletak di lapisan terluar *S. Typhi* (kapsul) yang melindungi bakteri dari fagositosis dengan struktur kimia glikolipid, Antigen ini akan rusak

bila dipanaskan selama 1 jam pada suhu 60° C atau dengan pemberian asam dan fenol. Antigen ini digunakan untuk mengetahui adanya karier.

c. Antigen H

Antigen H merupakan antigen yang terletak di flagela, fimbrae atau ili S. Typhi dan berstruktur kimia protein. S. Typhi mempunyai antigen H phase-1 tunggal yang juga dimiliki beberapa *Salmonella* lain. Antigen ini tidak aktif pada pemanasan di atas suhu 60° C.

d. Outer Membrane Protein (OMP)

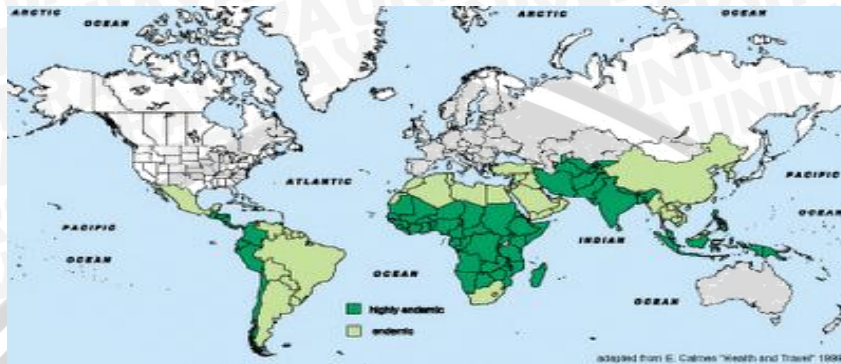
Antigen Outer Membrane Protein S. Typhi merupakan bagian dinding sel yang terletak di luar membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan yang membatasi sel terhadap lingkungan sekitarnya. Outer Membrane Protein ini terdiri dari 2 bagian yaitu protein dan protein nonporin. Porin merupakan komponen utama OMP, sifatnya resisten terhadap proteolisis dan denaturasi pada suhu 85-100° C. Protein nonporin bersifat sensitif terhadap protease, tetapi fungsinya masih belum diketahui dengan jelas.

Terdapat beberapa variasi, *Salmonella* mungkin kehilangan antigen H dan menjadi tidak bisa bergerak, kehilangan antigen berkaitan dengan perubahan permukaan koloni dan halus menjadi kasar, dan mungkin kehilangan antigen Vi sebagian atau total. Antigen didapat atau hilang dalam proses transduksi (Brooks *et al.*, 2004).

2.1.3 Epidemiologi Demam Tifoid

Demam tifoid dan paratifoid merupakan salah satu penyakit infeksi endemik di Asia, Afrika, Amerika Latin Karibia dan Oceania, termasuk Indonesia.

Penyakit ini tergolong penyakit menular yang dapat menyerang banyak orang melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (Wulandari *dkk.*, 2008).



Gambar2.2 Insiden Demam Tifoid di Dunia (Wulandari *dkk.*, 2008)

Besarnya angka pasti kasus demam tifoid di dunia sangat sulit ditentukan karena penyakit ini dikenal mempunyai gejala dengan spektrum klinis yang sangat luas. Data *World Health Organization* (WHO) tahun 2003 memperkirakan terdapat sekitar 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun. Di negara berkembang, kasus demam tifoid dilaporkan sebagai penyakit endemis dimana 95% merupakan kasus rawat jalan sehingga insidensi yang sebenarnya adalah 15-25 kali lebih besar dari laporan rawat inap di rumah sakit (Prasetya *dkk.*, 2012).

Di Indonesia demam tifoid jarang dijumpai secara epidemik, tetapi lebih sering bersifat sporadik, terpencar-pencar disuatu daerah, dan jarang menimbulkan lebih dari satu kasus pada orang-orang serumah. Sumber penularannya biasanya tidak dapat ditemukan. Ada dua sumber penularan *Salmonella Typhi* : pasien dengan demam tifoid dan yang lebih sering *carrier*. Orang-orang tersebut mengekskresi 10⁹ sampai 10¹¹ kuman pergram tinja. Didaerah endemik transmisi terjadi melalui air yang tercemar. Makanan yang tercemar oleh *carrier* merupakan sumber penularan yang paling sering di daerah

nonendemik. *Carrier* adalah orang yang sembuh dari demam tifoid dan masih terus mengekskresi *S. Typhi* dalam tinja dan air kemih selama lebih dari satu tahun. Disfungsi kandung empedu merupakan predisposisi untuk terjadinya *carrier*. Bakteri-bakteri *S. Typhi* berada didalam batu empedu atau dalam dinding kandung empedu yang mengandung jaringan ikat, akibat radang menahun (Harna, 2008).

2.1.4 Patogenesis dan Manifestasi Klinik

Salmonella Typhi, *Salmonella choleraesuis*, dan mungkin *Salmonella paratyphi* A serta *Salmonella Paratyphi* B yang terutama menginfeksi manusia dan infeksi ini berasal dari manusia itu sendiri. Bakteri hampir selalu masuk via oral, biasanya melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Dosis infeksi yang menyebabkan infeksi subklinik dan klinik pada manusia $10^5 - 10^8$ bakteri, tetapi lebih sedikit yaitu 10^3 bakteri (Brooks *et al.*, 2004).

Manifestasi klinik klasik yang umum ditemui pada penderita demam typhoid biasanya disebut febris remitter atau demam yang bertahap naiknya dan berubah-ubah sesuai dengan keadaan lingkungan dengan perincian (Soedarto, 2007) :

- Minggu pertama, demam lebih dari 40°C , nadi yang lemah bersifat dikrotik, dengan denyut nadi 80-100 per menit.
- Minggu kedua, suhu tetap tinggi, penderita mengalami delirium, lidah tampak kering mengkilat, denyut nadi cepat, tekanan darah menurun dan limpa dapat diraba.
- Minggu ketiga, jika keadaan membaik: suhu tubuh turun, gejala dan keluhan berkurang. Atau jika keadaan memburuk: penderita mengalami delirium, stupor, otot-otot bergerak terus, terjadi inkontinensia

alvi dan urine. Selain itu terjadi meteorisme dan timpani, dan tekanan perut meningkat, disertai nyeri perut. Penderita kemudian kolaps, dan akhirnya meninggal dunia akibat terjadinya degenerasi mikardial toksik.

- d. Minggu keempat, bila keadaan membaik, penderita akan mengalami penyembuhan meskipun pada awal minggu ini dapat dijumpai adanya pneumonia lobar atau tromboflebitis vena femoralis.

2.1.5 Diagnosis Laboratorium

Bahan pemeriksaan bisa berupa darah, tinja, urin, atau sumsum tulang. Bahan pemeriksaan berupa darah harus diambil secepatnya. Kultur darah sering positif pada minggu pertama penyakit pada kasus demam enterik dan septisemia. Kultur susmsum tulang mungkin juga berguna. Kultur urin positif setelah minggu kedua (Brooks *et al.*, 2004)

Bahan pemeriksaan berupa tinja juga harus diambil secepatnya tinja menunjukkan hasil positif pada minggu kedua atau ketiga penyakit pada kasus demam enterik, sedangkan pada kasus enterokolitis selama minggu pertama. Kultur positif dari duodenal drainage menunjukkan adanya Salmonella dalam salurn empedu karier (Brooks *et al.*, 2004)

2.1.6 Pengobatan

Penggunaan antimikroba untuk pengobatan demam enterik dan bakterimia dengan lesi fokal diperbolehkan, tetapi tidak pada kasus enterokolitis. Antimikroba pada enterokolitis. Antimikroba pada pengobatan salmonella enteris pada neonatus adalah penting. Terapi dengan antimikroba pada neonatus adalah penting. Terapi dengan antimikroba pada enterokolitis dapat

memperpanjang gejala klinis dan ekskresi dari Salmonella. Penggantian cairan elektrolit merupakan terapi yang esensial untuk diare berat (Brooks *et al.*, 2004).

Ampisilin atau kloramfenikol merupakan obat pilihan pada kasus demam atau septimia. Tahun 1972 terjadi epidemi di Meksiko yang disebabkan oleh galur dari basil tifoid yang resisten terhadap kloramfenikol. Kotrimoksazol terbukti juga efektif untuk pengobatan demam tifoid. Ampisilin merupakan obat pilihan untuk karier kronik dari serotipe Typhi tetapi resistensi ampisilin juga terjadi pada beberapa isolat. Kholesistektomi juga dibutuhkan untuk menuntaskan pengobatan karier kronik. Ampisilin disertai operasi akan memberikan angka kesembuhan 85% pada karier jika terdapat batu empedu atau penyakit kandung empedu (Dzen *et al.*, 2003).

2.1.7 Pencegahan

Kebersihan lingkungan harus dijaga untuk menjaga kontaminasi makanan dan minuman dari rodent atau hewan lain yang mengekskresi Salmonella. Unggas, daging, dan telur yang terinfeksi harus dimasak terlebih dahulu. Karier juga diperbolehkan menjadi pekerja pembuat makanan dan harus menjaga kebersihannya (Brooks *et al.*, 2004).

2.2 Lumut Hati (*Marchantia polymorpha*)

2.2.1 Taksonomi Lumut Hati

Marchantia adalah genus dalam suku Marchantiaceae dari ordo Marchantiales, sekelompok lumut hati. Mereka adalah tumbuhan sederhana tanpa akar dan tidak memiliki sistem pengangkut. Mereka termasuk lumut dan

dulunya merupakan bagian dari divisio Bryophyta, tapi sekarang mereka termasuk divisionya sendiri, Marchantiophyta. (Yagami ,2009).

Taksonomi Marchantia Polymorpha :

Kerajaan: Plantae
Divisi : Marchantiophyta
Kelas : Marchantiopsida
Ordo : Marchantiales
Famili : Marchantiaceae
Genus : Marchantia
Spesies : *Marchantia polymorpha*
Nama Daerah: Lumut Hati



Gambar 2.3 (Tanaman Lumut Hati) (Li Zhang, 2007)

2.2.2 Morfologi Lumut hati

Lumut hati tubuhnya berbentuk lembaran, menempel di atas permukaan tanah, pohon atau tebing. Terdapat rizoid berfungsi untuk menempel dan menyerap zat-zat makanan. Tidak memiliki batang dan daun. Reproduksi secara vegetatif dengan membentuk gemma (kuncup), secara generatif dengan

membentuk gamet jantan dan betina. Contohnya: Ricciocarpus, Marchantia dan lunularia.

Tubuhnya terbagi menjadi dua lobus sehingga tampak seperti lobus pada hati. Siklus hidup lumut ini mirip dengan lumut daun. Di dalam spongaria terdapat sel yang berbentuk gulungan disebut alatera. Elatera akan terlepas saat kapsul terbuka, sehingga membantu memencarkan spora. Lumut ini juga dapat melakukan reproduksi dengan cara aseksual dengan sel yang disebut gemma, yang merupakan struktur seperti mangkok dipermukaan gametofit. Contoh lumut hati adalah *Marchantia polymorpha* dan porella. (Rachmawati, 2011)

2.2.3 Habitat Lumut hati

Pada tempat-tempat yang basah, untuk struktur tubuh yang himogrof. Pada tempat-tempat yang kering, untuk struktur tubuh yang xeromorf (alat penyimpan air). Sebagai epifit umumnya menempel pada daun-daun pepohonan dalam rimba di daerah tropika (Rachmawati, 2011).

2.2.4 Kandungan Senyawa Aktif Lumut Hati

Berbagai penelitian telah mempublikasikan bahwa kandungan utama dari liverwort ini adalah senyawa golongan terpenoid dan beberapa senyawa aromatic yang lipofilik. Secara garis besarnya kandungan kimia dari tumbuhan lumut hati adalah : senyawa terpenoid, monoterpenoids, tris-normonoterpenoid, homomonoterpenoid, tris-norsesquiteroenoid, sesquiterpenoid, diterpenoid, steroid dan triterpenoid, senyawa fenolik, lipid, Senyawa yang mengandung atom sulphur, dan karbohidrat (Ismiarni, 2010).

2.2.5 Manfaat Lumut Hati

Dalam bidang medis, pemanfaatan tumbuhan lumut sebagai obat tradisional telah lama digunakan masyarakat di negara Cina, Eropa, dan Amerika Utara. Di Indonesia, penelitian-penelitian terkait kandungan bioaktif lumut masih sangat kurang. Padahal dari segi letak geografisnya Indonesia berada di iklim tropis yang memiliki beragam jenis tumbuhan lumut. Sejak awal ditemukannya bakteri-bakteri resisten antibiotik, eksplorasi terhadap sumber-sumber baru antibakteri terus dilakukan. Hal ini disebabkan bahwa bakteri resisten antibiotik tidak dapat diinaktifkan menggunakan antibiotik yang ada (komersil), walaupun diberikan dalam dosis tinggi. Eksplorasi-eksplorasi yang dilakukan diantaranya adalah dengan mengekstrak berbagai bahan alami asal tumbuhan, salah satunya yaitu tumbuhan lumut. Tumbuhan lumut diketahui memiliki kandungan senyawa bioaktif dengan beragam aktivitas biologis. Beberapa aktivitas biologis yang teramati antara lain adalah bersifat sebagai antitumor, antikanker, antivirus, antipanggang, dan antibakteri. Potensi ini perlu untuk dikembangkan, terutama sebagai sumber alternatif baru antibakteri (Fadhila, 2011).

2.2.6 Komponen Antimikroba Lumut hati

Beberapa penelitian melaporkan bahwa kandungan bioaktif lumut sebagian besar teridentifikasi sebagai senyawa fenolik dan terpenoid. Senyawa fenolik adalah substansi yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil sehingga sifatnya mudah larut dalam pelarut polar. Beberapa contoh dari senyawa fenolik adalah fenolik sederhana, asam fenolik, quinon, flavonoid, flavon, flavonol, dan tanin. Berbeda halnya dengan senyawa terpenoid, senyawa ini merupakan senyawa utama penyusun fraksi minyak atsiri dalam

tumbuhan. Senyawa terpenoid terdiri dari monoterpenoid, sesquiterpenoid, diterpenoid, dan triterpenoid (Fadhila, 2011). Penelitian uji hasil fitokimia yang dilakukan di LPPT-UGM juga melaporkan bahwa kandungan senyawa aktif dari lumut hati teridentifikasi sebagai flavonoid (lampiran 5). Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat tajam, sebagian besar merupakan pigmen warna kuning, dapat larut dalam air dan pelarut organik, mudah terurai pada temperatur tinggi (Melderren, 2002).

2.2.7 Mekanisme Kerja senyawa Aktif Lumut Hati

Senyawa fenolik dan terpenoid secara umum mekanisme antibakteri kedua senyawa tersebut adalah dengan merusak struktur dinding sel dan mengubah permeabilitas membran sitoplasma sel. Perubahan dan kerusakan yang terjadi selanjutnya akan menyebabkan kebocoran bahan-bahan intraseluler dan terganggunya sistem metabolisme sel. (Fadhila, 2011).

Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya adalah mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel mikroba tanpa dapat diperbaiki lagi (Arsyi, 2008). Flavonoid diketahui telah disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba. Aktivitas tersebut kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel flavonoid yang bersifat lipofilik mungkin juga akan merusak membran mikroba (Melderren, 2002).

2.2.8 Metode Ekstraksi Senyawa Aktif dari Bahan Alam

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan zat dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat

mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Salah satu teknik ekstraksi adalah menggunakan air untuk mengambil pigmen alami dari tumbuhan. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi suatu bahan atau zat, yaitu : (1) tipe persiapan sampel; (2) waktu ekstraksi; (3) Kuantitas pelarut; (4) suhu pelarut; dan (5) tipe pelarut (Utami, 2009).

1. Metode Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk mencari simplisia yang mengandung komonen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin. Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya sederhana, sedangkan kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks dan lilin (Luthana, 2009).

2. Metode Rotavapor

Proses pemisahan ekstrak dari cairan penyarinya dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu alas bulat, cairan penyari dapat menguap 5-10° C di bawah titik didih pelarutnya disebabkan oleh karena adanya penurunan tekanan. Dengan bantuan pompa vakum, uap larutan penyari akan

menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang ditampung dalam labu alas bulat penampung (Luthana, 2009).

2.3 Uji Kepekaan Bakteri terhadap Antimikroba

Uji kepekaan bakteri terhadap antimikroba secara *in vitro* pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara yaitu metode dilusi dan metode difusi cakram (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.1 Metode Dilusi

Uji dilusi ada dua, yaitu dilusi tabung dan dilusi agar:

a. Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan (Kadar Hambat Minimal) KHM dan (Kadar Bunuh Minimal) KBM dari obat mikroba. Prinsip dari metode dilusi yaitu, menggunakan satu seri tabung reaksi dan sejumlah tertentu sel mikroba (1 ml bakteri atau 10^6 CFU/ml) yang di uji, kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah di encerkan secara serial, selanjutnya seri tabung di inkubasi pada suhu 37° C selama 18-34 jam dan di amati terjadi keruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang di tunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Biakan dari semua tabung yang jernih di inokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya adanya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang di tunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri Uji (Dzen *et al.*, 2003; Baron., *et al* 1994).

KHM menggambarkan efek bakteriostatik suatu antibiotik terhadap suatu kuman (Levison, 2004). KBM dari antimikroba adalah konsentrasi antimikroba terendah yang mampu membunuh kuman yang ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan koloni kuman pada media agar (Dzen *et al*, 2003). KBM menggambarkan efek bakterisidal suatu antibiotik terhadap suatu kuman (Levison, 2004).

b. Dilusi Agar

Cara lain untuk menentukan nilai KHM adalah dengan menggunakan metode dilusi agar. Pada metode tersebut berbagai konsentrasi agen antimikroba dicampurkan pada media agar padat (NAP), sedangkan bakteri ditetaskan pada permukaan agar padat sejumlah $\pm 0,001$ ml. Nilai KHM adalah agar plate dengan konsentrasi terendah yang ditumbuhi oleh < 3 CFU (Kuszaldi, 2008).

2.3.2 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram merupakan suatu tes kepekaan antimikroba yang menggunakan cakram kertas saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram tersebut kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter area hambatan dihitung sebagai daya hambat terhadap bakteri uji. Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring (Dzen *et al*, 2003).

Analisis hasil uji kepekaan tersebut dapat dilakukan melalui 2 cara, sebagai berikut:

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan table standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan table NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet, dan resisten.
2. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolate bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar. Kriteria metode Joan-Stokes adalah sebagai berikut:
 - a. Sensitif: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih luas , sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm terhadap kontrol.
 - b. Intermediet: yaitu radius zona inhibis kuman tes lebih besar dari 3 mm, tetapi disbanding kontrol lebih kecil dari 3 mm.
 - c. Resisten: yaitu radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.3 Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme aksi obat antimikroba dapat dikelompokkan dalam 4 kelompok utama menurut Brooks *et al.*, 2004 :

2.3.3.1 Penghambatan terhadap Sintesis dinding Sel

Bakteri merupakan lapisan luar yang rigid, yakni dinding sel, berfungsi mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri, yang mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi. Trauma pada dinding sel (misal, oleh lisozim) atau penghambatan pembentukannya, menimbulkan lisis

pada sel. Semua obat β -lactam menghambat sintesis dinding sel bakteri dan oleh karena itu aktif melawan pertumbuhan bakteri, Obat β -lactam misalnya basitrasin, sefalosporin, sikloserin, penisilin, vankomisin (Brooks et al., 2004).

2.3.3.2 Penghambatan terhadap Fungsi Membran Sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai barier permeabilitas selektif, membawa fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas membran sitoplasma di rusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian. Obat yang termasuk dalam golongan ini misalnya amfoterisin β , kolisin, imidasol, triasol, polien polimiksin (Brooks et al., 2004).

2.3.3.3 Penghambatan terhadap Sintesis Protein

Telah diketahui bahwa eritromisin, limkomisin, tetrasiklin, aminoglikosida, dan kloramfenikol dapat menghambat sintesis protein pada bakteri. Mekanisme yang tepat tidak seluruhnya di ketahui. Bakteri mempunyai 80S ribosom. Sub unit masing-masing tipe ribosom, komposisi kimianya, dan spesifikasinya fungsinya berbeda, bisa untuk menerangkan mengapa antimikroba dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia (Brooks et al., 2004).

2.3.3.4 Penghambatan terhadap Sintesis Asam Nukleat

Obat yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat misalnya kuinolon, asam nalidiksat, dan rifampin. Rifampin menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara berikatan kuat dengan DNA-dependent RNA polymerase

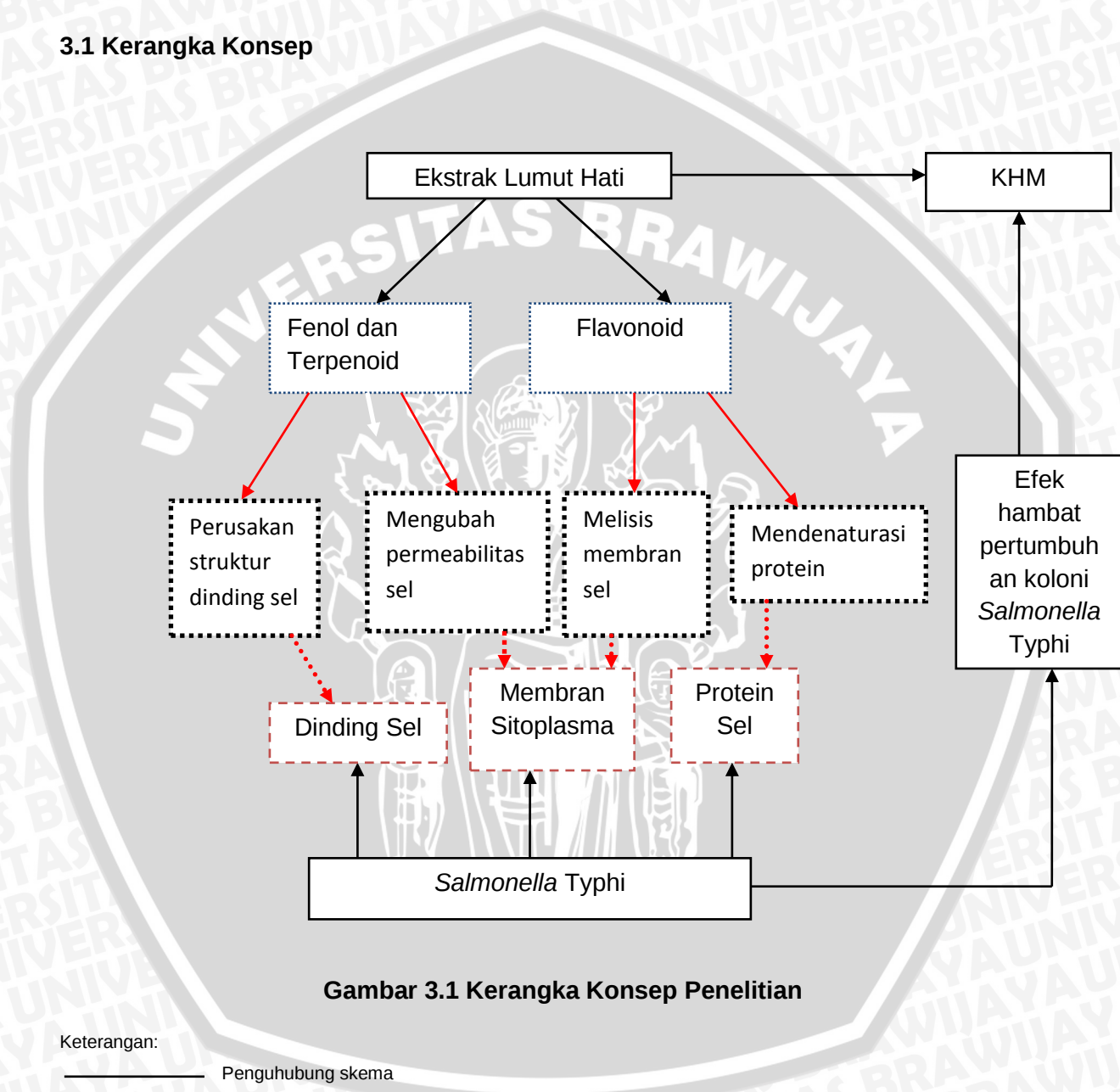
dari bakteri, sehingga sintesis RNA bakteri terhambat. Semua kuinolon dan fluorokuinolon menghambat sintesis DNA mikroba dengan memblok DNA gyrase yang berperan pada proses replikasi DNA (Dzen *dkk.*, 2003; Brooks *et al.*, 2004).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep

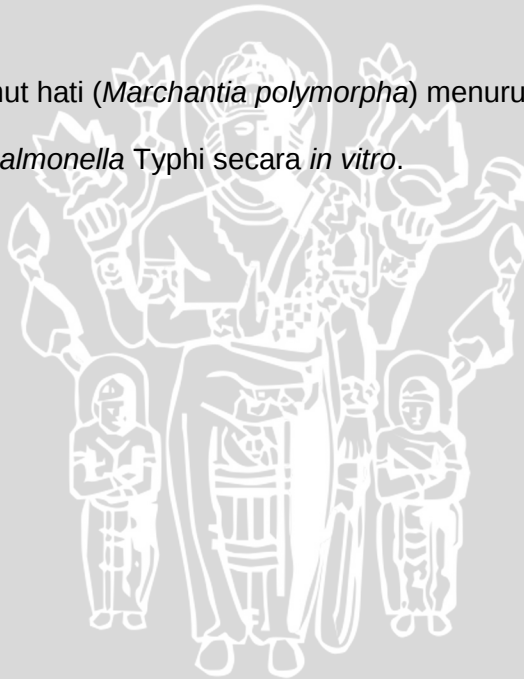


Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Ekstrak etanol lumut hati mempunyai daya antimikroba terhadap *Salmonella* Typhi melalui mekanisme Senyawa fenolik dan terpenoid dengan merusak struktur dinding sel dan mengubah permeabilitas membran sitoplasma sel. Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya adalah mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel mikroba tanpa dapat diperbaiki lagi. Kemampuan antimikroba pada ekstrak etanol lumut hati menyebabkan efek hambatan dan penurunan jumlah koloni *Salmonella* Typhi yang ditunjukkan adanya KHM (*Kadar Hambat Minimal*) pada dilusi agar.

3.2 Hipotesis

Ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) menurunkan jumlah pertumbuhan koloni *Salmonella* Typhi secara *in vitro*.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini digunakan menggunakan desain penelitian eksperimental *in vitro*. Dalam penelitian ini dilakukan uji laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui dan membuktikan efek antimikroba dari ekstrak lumut hati terhadap pertumbuhan koloni *Salmonella* Typhi secara *in vitro*. Adapun uji kepekaan antimikroba yang dipakai untuk menentukan (*Kadar Hambat Minimal*) KHM adalah uji kepekaan antimikroba dengan metode dilusi agar. Metode dilusi agar ini digunakan untuk mengetahui KHM karena pada penelitian terdahulu KHM tidak dapat ditentukan dengan metode dilusi tabung dikarenakan keruh walaupun ekstrak sudah disaring.

4.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan empat isolat bakteri *Salmonella* Typhi yang diperoleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Waktu penelitian Agustus-Desember 2012.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol lumut hati 0%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%. Perolehan konsentrasi diperoleh dari penelitian pendahuluan eksplorasi dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% yang dilakukan sebelumnya terhadap bakteri *Salmonella Typhi*.

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* untuk menentukan KHM.

4.5 Besar Sampel

Estimasi besar sample menurut (Notobroto, 2005) dihitung berdasarkan rumus:

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

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

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14 \approx 4$$

Keterangan: p = jumlah perlakuan, n = jumlah sampel (isolat bakteri), 15 = nilai konstanta

Berdasarkan perhitungan di atas, maka perlakuan menggunakan empat galur *Salmonella Typhi* yang berbeda.

4.6 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan:

Tabung reaksi, korek api, penyaring vakum, blender, spektrofotometer, inkubator, otoklaf, mikropipet dan pipet tip, vortex, gelas obyek, corong, penggoyang (shaker), timbangan analitik, bunsen (lampu spirtus), mikroskop, rotavapor (*Rotary Evaporator Vacuum*), plate, penggaris, ose.

Bahan- bahan yang di gunakan :

Lumut hati, Alkohol 96%, aquades steril, etanol 96%, Nacl Steril, larutan bakteri standar Mc Farland 0,5, Bahan pewarna: Kristal violet, lugol, safranin, agar Mc Conkey, agar (*Triple Sugar Iron*) TSI, (*Bismuth Sulfit Agar*) BSA, Nutrient broth, kertas penghisap, minyak emersi, media dilusi agar.

4.7 Definisi Operasional

- a. Penelitian ini menggunakan bakteri *Salmonella Typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini menggunakan empat Isolat bakteri *Salmonella Typhi*. Isolat 1 kode 314-d, isolat 2 kode 444-d, isolat 3 kode 729-d, isolat 4 kode 1023-d. Isolat bakteri diperoleh dari pasien RSSA, dan bakteri *Salmonella Typhi* didapatkan melalui darah pasien.
- b. Penelitian ini menggunakan lumut hati (*Marchantia polymorpha*) diperoleh dari daerah Batu Jl. Raya Selekt.

- c. Ekstrak etanol lumut hati diperoleh dengan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Konsentrasi ekstrak lumut hati yang digunakan adalah 0%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15% yang diperoleh dari penelitian pendahuluan (eksplorasi). Pembuatan ekstrak dilakukan di laboratorium Politeknik Negeri Malang..
- d. Hasil penelitian dinyatakan dalam bentuk scoring, yaitu +4, +3, +2, +1, 0, yang berarti +4 adalah koloni tumbuh sangat tebal, dan tidak terhitung, +3 adalah koloni tumbuh tebal dan tidak terhitung, +2 adalah koloni tumbuh sedang dan tidak terhitung, +1 adalah koloni tumbuh tipis dan terhitung, dan 0 berarti tidak ada pertumbuhan.
- e. Nilai KHM adalah agar plate dengan konsentrasi terendah yang ditumbuhi oleh bakteri < 3 CFU (Kusaldi, 2008).

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Persiapan Uji Bakteri

Isolat bakteri diidentifikasi dengan beberapa cara yaitu kultur pada medium diferensial Mc Conkey, kultur pada medium selektif BSA, pewarnaan gram, dan Uji TSI. Selanjutnya dilakukan uji preparasi bakteri uji.

4.8.1.1 Kultur pada Medium Diferensial Mc Conkey

Bakteri diinokulasikan ke agar Mc Conkey kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. *Salmonella Typhi* membentuk koloni tidak berwarna (pucat).

4.8.1.2 Uji TSI

Satu koloni bakteri yang terpisah diambil dari biakan pada Mc Conkey menggunakan ose lurus, kemudian bakteri ditanam pada TSI agar dengan cara menggoreskan ose tersebut secara zig-zag pada permukaan media. Tabung diinkubasi selama 18-24 jam, hasil harus dibaca dalam waktu 18-24 jam.

Slant/ bagian miring : Alkali (merah)

Butt/pangkal : Asam (kuning)

Salmonella Typhi akan menunjukkan reaksi di atas.

4.8.1.3 Pewarnaan Gram

Gelas obyek dibersihkan dengan kapas, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak, setelah itu dibiarkan dingin. Sediaan apusan bakteri *Salmonella Typhi* dibuat pada gelas obyek dengan ketebalan yang cukup (tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis). Sediaan dibiarkan kering diudara, kemudian difiksasi dengan cara melewati sediaan di atas api bunsen sebanyak 3x. Sediaan dituangi dengan kristal violet selama 1 menit, sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air. Sediaan dituangi dengan Lugol selama 1 menit dan sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air. Sediaan dituangi dengan alkohol 96% selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur, sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air. Sediaan dituangi dengan Safranin selama $\frac{1}{2}$ menit, sisa Safranin dibuang dan dibilas dengan air. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi minyak emersi dan dilihat dibawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 97-100x.

4.8.1.4 Kultur pada Medium Selektif BSA

Bakteri ditanam pada medium BSA kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. *Salmonella* Typhi akan membentuk koloni berwarna hitam (*black jet colony*).

4.8.1.5 Preparasi Bakteri

Sehari sebelum pelakuan dilakukan penamaan bakteri yang telah teruji pada nutrient broth dengan cara:

Beberapa koloni *Salmonella* Typhi diambil dan ditanamkan pada tabung nutrient broth dengan volume 9 ml. Tabung diinkubasi selama 18-24 jam. Keesokan harinya biakan tersebut diukur dengan spektrofotometer untuk mengetahui nilai absorbansinya, absorbansi pada panjang gelombang 600nm. Dengan estimasi nilai absorbansi sebesar 0,1 mempunyai nilai sebesar 10^8 CFU/ml, maka nilai absorbansi yang diperoleh dapat dikonversikan menjadi absorbansi yang diperoleh dapat dikonversikan menjadi absorbansi yang diinginkan (0,1). Setelah memperoleh 10^8 CFU/ml, selanjutnya akan diencerkan dengan cara:

Diambil 1 ml larutan bakteri 10^8 CFU/ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml NaCl. Konsentrasi bakteri sekarang 10^7 CFU/ml. Diambil 1 ml larutan bakteri 10^7 CFU/ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml nutrient broth. Konsentrasi bakteri sekarang menjadi 10^6 CFU/ml, dan bakteri siap digunakan.

4.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Lumut Hati

4.8.2.1 Proses Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan terhadap sampel lumut hati. Sampel dalam bentuk segar dibersihkan dengan air. Pengeringan dilakukan pada suhu ruang (dibiarkan selama 14 hari). Sampel yang kering selanjutnya diblender dan disaring sehingga didapatkan sampel dalam keadaan bubuk kering. Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan menimbang sebanyak 330 gram sampel, menggunakan 300ml pelarut etanol selama 3 x 24 jam dan digoyang dengan penggoyang (*shaker*). Selanjutnya campuran disaring dengan penyaring vakum menggunakan Whatman 42. Filtrat yang didapat disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm. Diperoleh supernatan dalam proses ini, supernatan adalah cairan bening yang terletak di atas endapan.

4.8.2.2 Proses Evaporasi dengan Rotavapor (*rotary evaporator vacum*)

Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat di gantung dengan kemiringan 30-40° terhadap meja, hasil supernatan dimasukkan dalam labu ekstrasi. Satu set evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstrasi terendam aquades pada *water bath*. *Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan disesuaikan suhunya sampai 78,5°C. Ditunggu proses bedalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstrasi. Sisa pelarut dihilangkan dengan N₂ hasil evaporasi berupa cairan kental dan diperoleh ekstrak etanol lumut hati.

4.8.3 Uji Antimikroba Ekstrak Etanol Lumut Hati

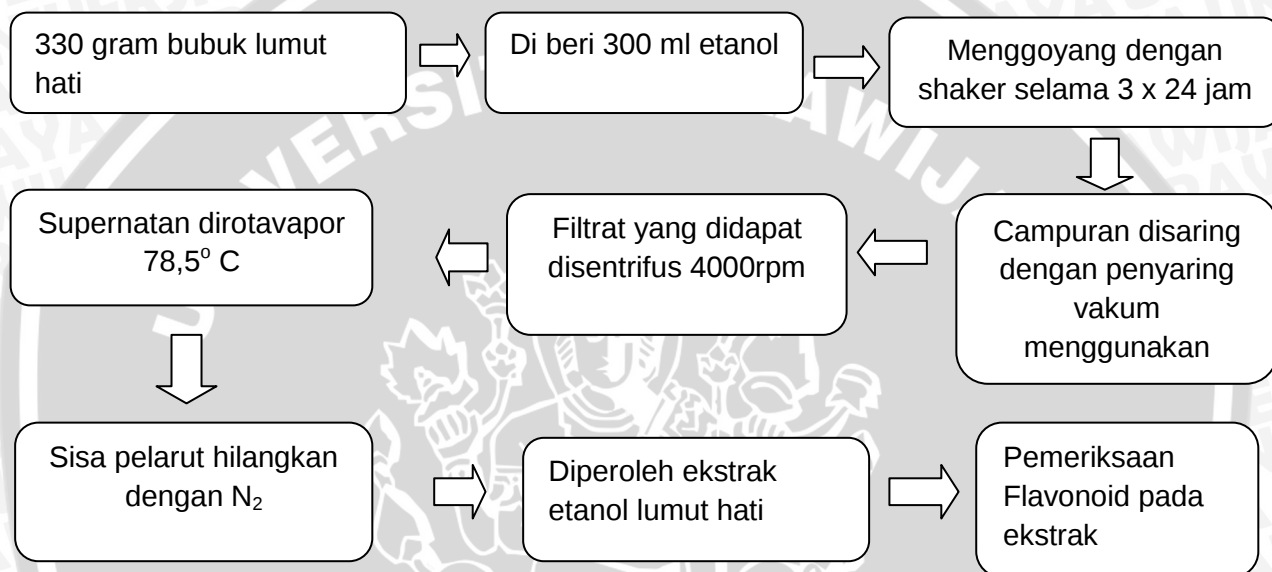
Disediakan 6 plate steril berdiameter 9 cm dan telah diberi tanda berdasarkan persentase larutan ekstrak yang dicampur dalam dilusi agar, yaitu 0%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, dan 15%. Setelah dicampur larutan ekstrak agar kemudian dipanaskan, lalu ditunggu hingga agarnya dingin. Volume yang dipakai dalam setiap plate untuk mencampur agar adalah 20 ml, jadi volume ekstrak yang dimasukkan ke dalam plate 0%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, dan 15% adalah berturut-turut 0 ml, 2 ml, 2,2 ml, 2,4 ml, 2,6 ml, 2,8 ml, 3 ml. Sedangkan sisanya adalah volume agar yang telah dipanaskan.

Bakteri yang dipakai untuk menguji adalah bakteri yang diencerkan sampai 10^6 CFU/ml. Setelah agar dingin, setiap plate tersebut ditandai menjadi 4 bagian isolat 1, isolat 2, isolat 3, isolat 4 yang pada setiap bagian ditetesi bakteri uji sebanyak 10^4 bakteri CFU/ml atau 10 μ l. Kemudian semua plate diinkubasikan selama 18-24 jam. Setelah itu koloni yang tumbuh pada agar plate dibaca, konsentrasi ekstrak pada dilusi agar plate yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni dapat disebut sebagai KHM larutan ekstrak.

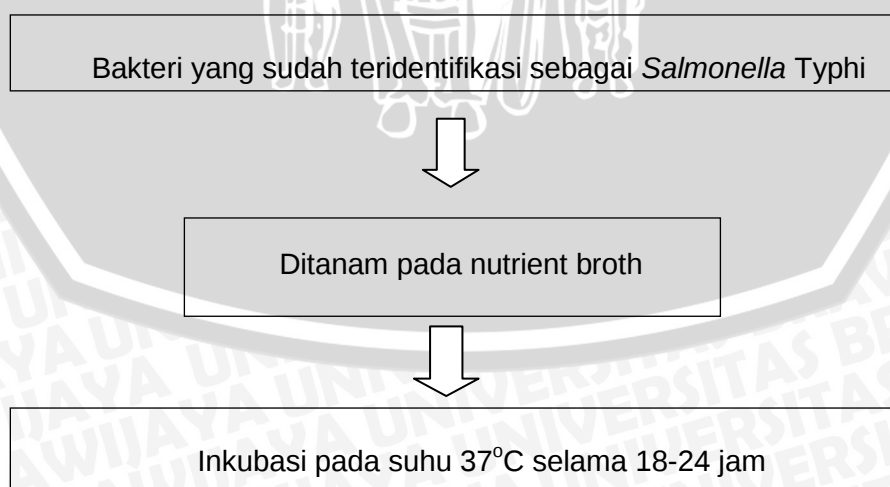
4.9 Bagan Alur Penelitian

Sebelum pembuatan ekstrak, dilakukan identifikasi bakteri.

Pembuatan ekstrak lumut hati

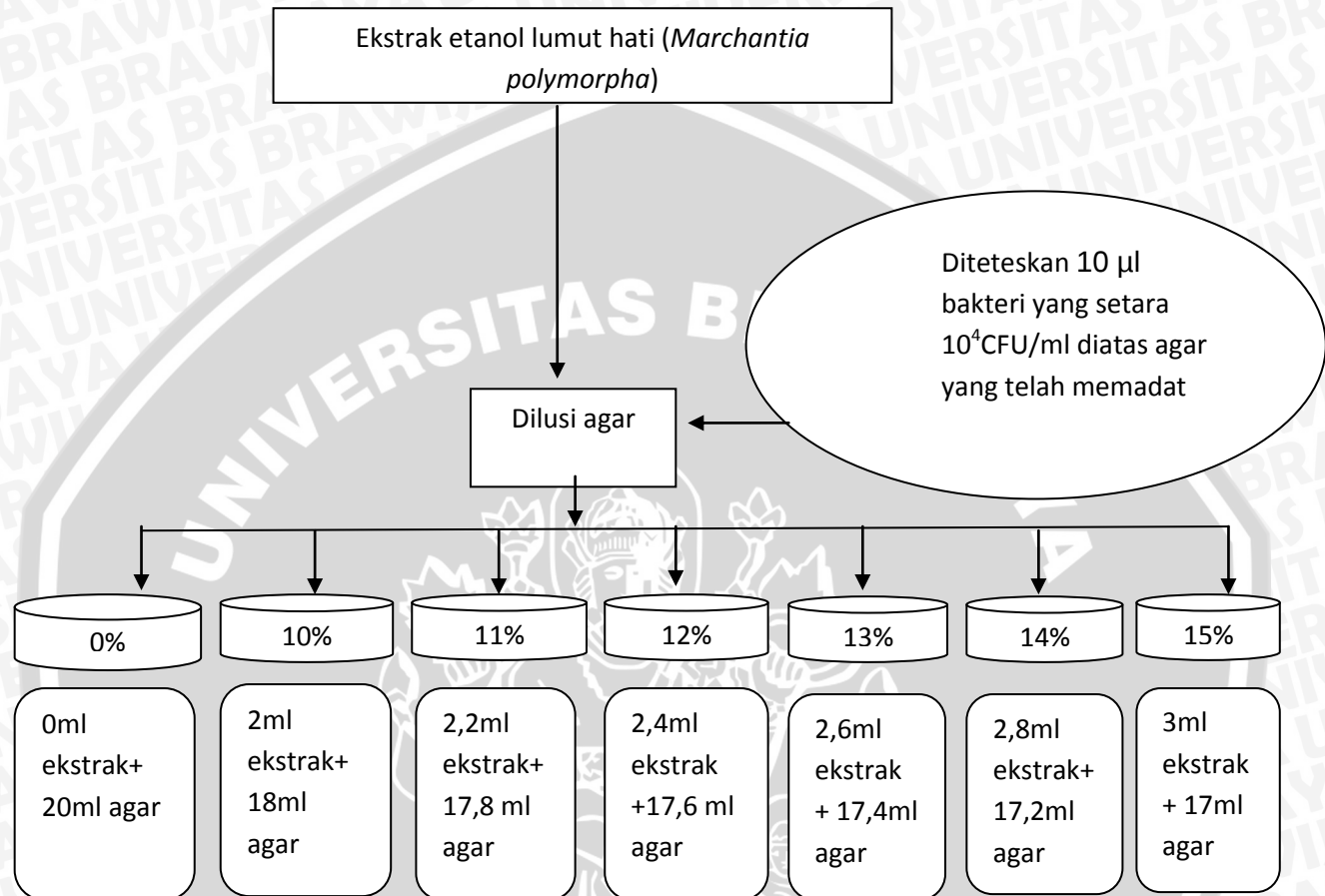


Hari 1: Preparasi bakteri uji



Gambar 4.1 Proses Pembuatan Ekstrak Lumut Hati dan Preparasi Bakteri Uji Hari Pertama

Hari 2:



Gambar 4.2 Perlakuan pada hari ke dua

4.10 Pengumpulan Data

Data yang diperoleh adalah data kualitatif dari hasil pertumbuhan koloni *Salmonella* Typhi pada agar plate yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam berupa data konsentrasi ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) dan pertumbuhan koloni bakteri.

4.11 Analisis Data

Analisis yang digunakan adalah uji statistik Kruskal Wallis untuk mengetahui perbedaan pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak lumut hati terhadap *Salmonella* Typhi sehingga dapat disimpulkan apakah ekstrak etanol lumut hati mempunyai pengaruh antimikroba yang signifikan terhadap *Salmonella* Typhi, uji Mann Whitney yang digunakan untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak etanol lumut hati sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella* Typhi pada setiap konsentrasi yang diberikan, dan uji korelasi Spearman untuk mengetahui besarnya keeratan hubungan pemberian perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol lumut hati dengan pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella* Typhi. Dalam penelitian ini, besar kepercayaan yang dipakai adalah 0,95 untuk tingkat signifikansi (α) = 0,05. Serangkaian uji statistik ini diproses dengan komputer SPSS 13,00 windows.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

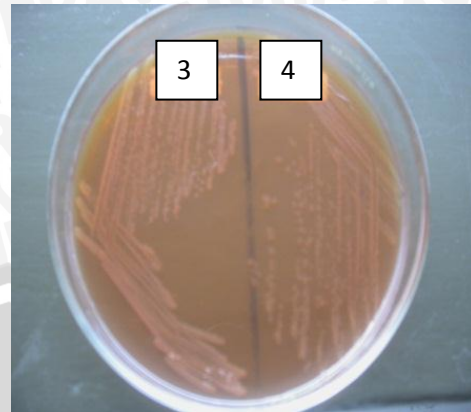
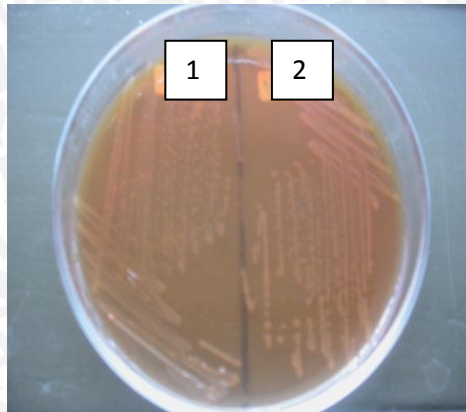
5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Gambaran Ekstrak Etanol Lumut hati

Ekstrak etanol lumut hati diperoleh dengan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan menimbang 330 gram bubuk lumut hati kering dan diperoleh 40,3 ml ekstrak etanol lumut hati. Pembuatan ekstrak dilakukan di Politeknik Negeri Malang. Hasil pemeriksaan fitokimia flavonoid di LPPT – UGM adalah 0,27 %.

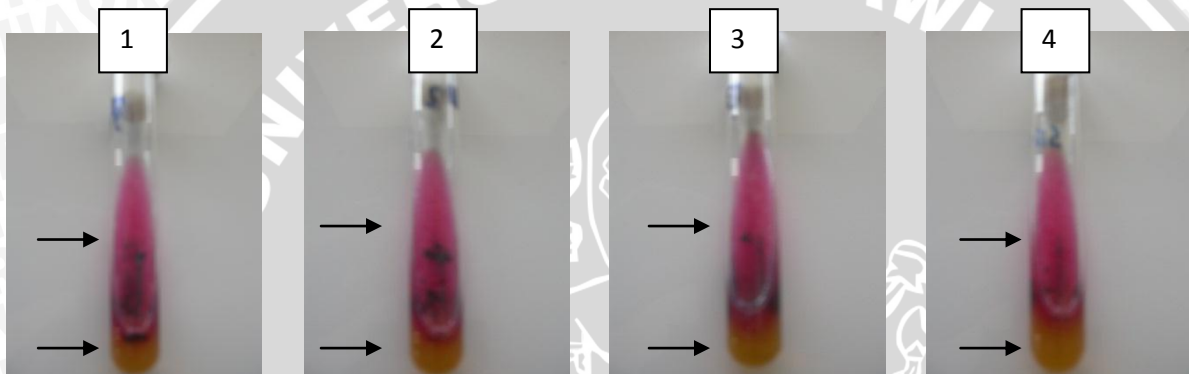
5.1.2 Identifikasi *Salmonella Typhi*

Penelitian ini menggunakan empat sampel isolat bakteri *Salmonella Typhi* yang dimiliki Laboratorium Faklutas Kedokteran Universitas Brawijaya, Isolat 1 kode 314-d, isolat 2 kode 444-d, isolat 3 kode 729-d, isolat 4 kode 1023-d. Sebelum melakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan identifikasi terhadap bakteri *Salmonella Typhi* tersebut. Identifikasi dilakukan dengan beberapa cara, yaitu kultur pada medium diferensial Mc Conkey, uji (*Triple Sugar Iron*) TSI, pewarnaan gram, dan kultur pada medium selektif (*Bismuth Sulfit Agar*) BSA. Hasil Identifikasi tersebut dapat dilihat pada gambar 5.1.



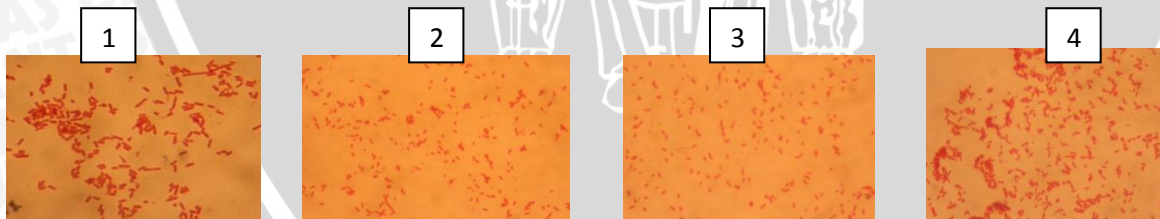
Keterangan : Hasil identifikasi bakteri *S. Typhi* menunjukkan koloni tidak berwarna (pucat).

a. Koloni *Salmonella Typhi* pada medium Mc Conkey



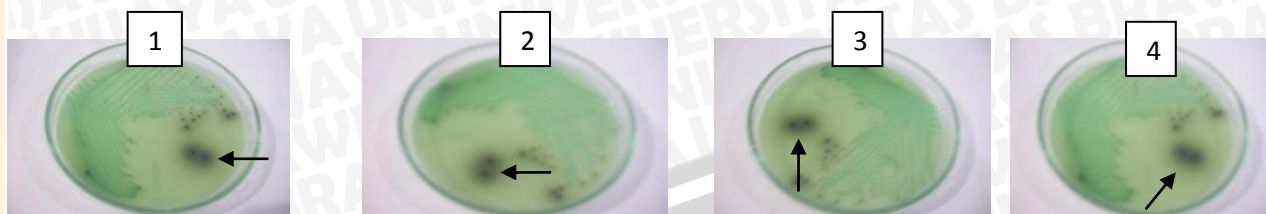
Keterangan: Arah panah atas menunjukkan hasil reaksi Slant berwarna merah (Alkali) dan pada arah panah bawah menunjukkan warna Butt / pangkal berwarna kuning (Asam), serta di bagian tengah arah panah atas bawah ditemukan warna hitam pada tempat tusukan dan goresan karena pembentukan H_2S .

b. Koloni *Salmonella Typhi* pada uji TSI



Keterangan: Pewarnaan gram menunjukkan Gram negatif dan berberbentuk batang

c. *Salmonella Typhi* pada pewarnaan Gram (pembesaran mikroskop 1000x)

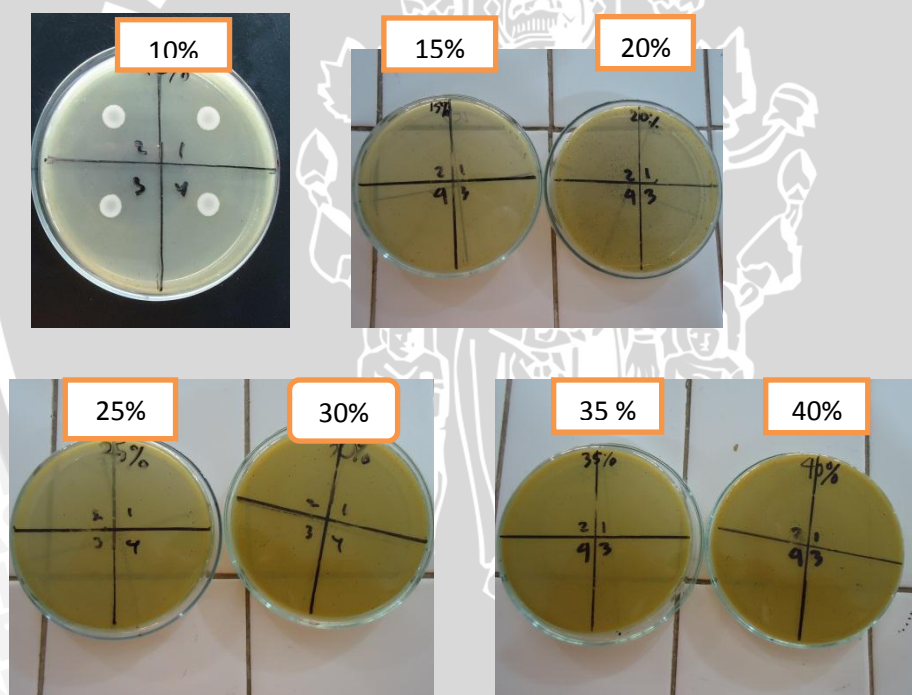


Keterangan: Arah panah menunjukkan bakteri membentuk koloni berwarna hitam (black jet colony)

d. Koloni *Salmonella* Typhi pada medium selektif BSA

Gambar 5.1 Hasil Identifikasi *Salmonella* Typhi

5.1.3 Hasil Penelitian Pendahuluan

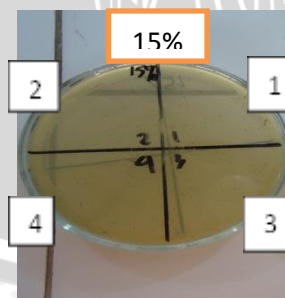
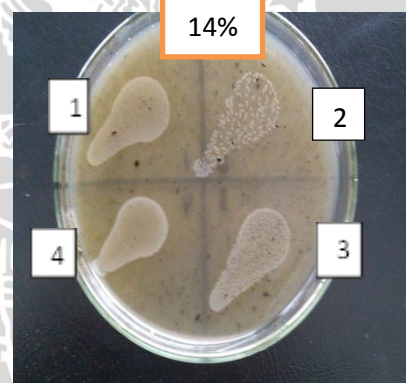
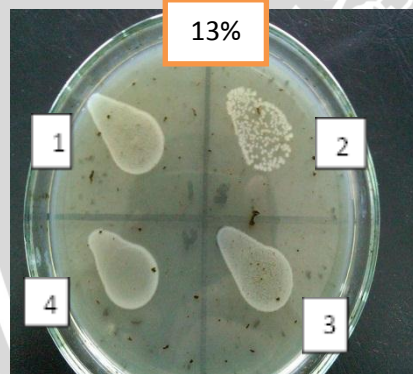
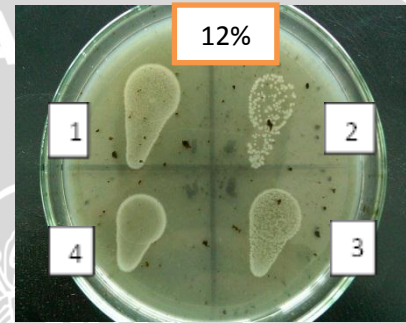
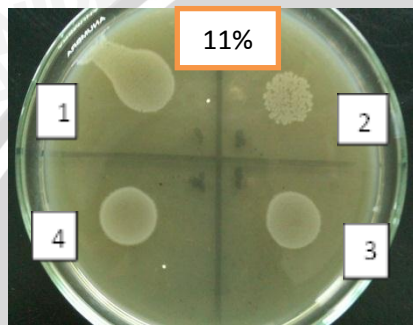
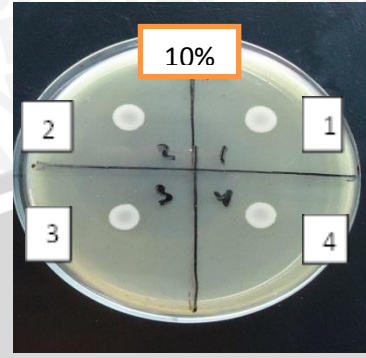
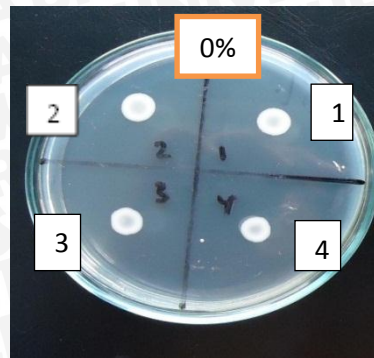


Gambar 5.2 Beberapa Konsentrasi Ekstrak Etanol Lumut Hati pada penelitian pendahuluan

Dari gambar di atas dapat disimpulkan bahwa pada penelitian pendahuluan konsentrasi ekstrak etanol lumut hati, pada konsentrasi 10% masih didapatkan pertumbuhan koloni *Salmonella Typhi*. Pada konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% sudah tidak didapatkan pertumbuhan koloni *Salmonella Typhi*. KHM pada penelitian pendahuluan adalah 15%, kemudian untuk penelitian selanjutnya dilakukan perapatan konsentrasi antara 10% - 15%.

5.1.4 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini menggunakan empat isolat bakteri tanpa dilakukan pengulangan dan menggunakan beberapa macam konsentrasi ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) dari hasil eksplorasi dengan variasi konsentrasi 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 % serta 1 kelompok kontrol (0 %) tanpa diberi konsentrasi ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*). Manfaat menggunakan empat isolat bakteri karena setiap isolat mempunyai tingkat sensitifitas dan resistansi yang berbeda-beda dan kerugiannya biayanya cukup tinggi. Pengamatan pertumbuhan koloni untuk menentukan KHM dilakukan secara langsung dengan mata telanjang. Konsentrasi ekstrak terendah yang dilarutkan pada medium agar dengan (skor 0) menunjukkan (*Kadar Hambat Minimal*) KHM dari ekstrak lumut hati terhadap *Salmonella Typhi*. Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Koloni bakteri *Salmonella* Typhi dengan beberapa perbedaan konsentrasi ekstrak

Keterangan : 1 = Isolat kode 314-d
2 = Isolat kode 444-d
3 = Isolat kode 729-d
4 = Isolat kode 1024-d

Pada gambar 5.2 terlihat bahwa koloni bakteri tumbuh paling tebal pada kontrol positif yang berarti bahwa suspensi bakteri yang digunakan pada kelompok perlakuan benar-benar mengandung bakteri. Hasil pengamatan pada plate setelah diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam menunjukkan bahwa semakin tinggi pemberian dosis ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) maka semakin sedikit pertumbuhan koloni yang dapat dilihat pada tiap *spot* atau titik-titik tempat penetesan inokulasi bakteri. Hasil pengamatan dari uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut:

Tabel 5.1 Pertumbuhan koloni *Salmonella* Typhi dalam beberapa konsentrasi ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*)

Konsentrasi	Isolat Bakteri			
	1	2	3	4
0%	++++	++++	++++	++++
10%	++++	++++	++++	++++
11%	+++	++	+++	++++
12%	+++	++	++	++++
13%	+++	+	++	+++
14%	+++	+	++	+++
15%	0	0	0	0

Keterangan :

- ++++ : koloni tumbuh sangat tebal, dan tidak terhitung
- +++ : koloni tumbuh tebal dan tidak terhitung
- ++ : koloni tumbuh sedang dan tidak terhitung
- ++ : koloni tumbuh tipis dan tidak terhitung
- +
- +
- 0 : tidak ada pertumbuhan koloni

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella* Typhi pada agar plate dalam beberapa konsentrasi ekstrak etanol lumut hati pada tabel 5.1 menunjukkan hasil yang bervariasi. Berdasarkan tabel tersebut pengaruh ekstrak etanol lumut hati terhadap koloni bakteri adalah semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin sedikit pertumbuhan bakteri. Konsentrasi terendah yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri didefinisikan sebagai (*Kadar Hambat Minimal*) KHM ekstrak etanol lumut hati sebagai antimikroba. Dari tabel dapat dijelaskan bahwa kadar hambat minimal pada isolat 1, 2, 3, dan 4 adalah pada konsentrasi 15% (menunjukkan skor 0). Dapat disimpulkan isolat 4 lebih resistan pada konsentrasi sebelum KHM dibandingkan dengan isolat lainnya, sedangkan isolat 2 lebih sensitif daripada isolat lainnya. Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan secara kualitatif bahwa bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) mempunyai efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella* Typhi dibandingkan dengan yang tidak diberi ekstrak (konsentrasi 0%).

Hasil penelitian tersebut kemudian di analisis menggunakan beberapa uji statistik, di antaranya uji Kruskal, uji Mann Whitney, serta pengujian dengan uji Korelasi Spearman.

5.2 Analisa Data

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak etanol lumut hati pada media agar merupakan variabel bebas. Sementara variabel tergantung adalah tingkat pertumbuhan koloni kuman *Salmonella* Typhi pada media dilusi agar yang mengandung ekstrak etanol lumut hati. Analisis data yang digunakan adalah uji hipotesis komparatif dan uji hipotesis korelatif. Uji hipotesis komperatif bertujuan

untuk mengetahui adanya perbedaan pertumbuhan koloni kuman *Salmonella* Typhi pada dilusi agar plate dengan ekstrak etanol lumut hati dibandingkan dengan dilusi agar plate tanpa ekstrak. Variabel ordinal pada penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan koloni bakteri dan variabel bebas pada penelitian ini tidak berpasangan, sehingga uji hipotesis komperatif yang digunakan adalah uji non parametrik Kruskal Wallis dan Mann Whitney. Sedangkan uji hipotesis korelatif yang digunakan adalah uji Spearman. Analisis data pada penelitian ini diolah dengan program SPSS 13.

5.2.1 Uji Kruskal Wallis

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan dan juga untuk menguji apakah ada perbedaan yang bermakna antara konsentrasi satu dengan konsentrasi yang lain, maka dilakukan analisis dengan menggunakan kruskal-wallis, hasil kruskal-wallis dapat dilihat pada Lampiran 2.

Dari uji kruskal wallis didapatkan nilai signifikansi 0,002. Karena mempunyai nilai p-value $(0,002) < 0,05$ maka berarti bahwa terdapat perbedaan perlakuan yang signifikan antara perlakuan pada tingkat kepercayaan 5%. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan jumlah koloni dapat disebabkan oleh konsentrasi pada ekstrak perlakuan.

5.2.2 Uji Mann Whitney

Uji Mann Whitney digunakan sebagai uji pembandingan berganda (*multiple comparison*) untuk data yang berskala ordinal dalam penelitian ini yaitu data kualitatif mengenai pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella* Typhi yang dihasilkan pada dilusi agar plate. Dengan metode ini dapat diketahui perbedaan

pengaruh pemberian ekstrak etanol lumut hati sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella* Typhi pada setiap konsentrasi yang diberikan. Hasil uji Mann Whitney dapat dilihat pada tabel 5.2 sebagai berikut.

Tabel 5.2 Hasil Uji Mann Whitney

Perbedaan konsentrasi	0%	10%	11%	12%	13%	14%	15%
0%	-	1,00	0,046*	0,046*	0,013*	0,013*	0,008*
10%	1,00	-	0,046*	0,046*	0,013*	0,013*	0,008*
11%	0,046*	0,046*	-	0,647	0,278	0,278	0,013*
12%	0,046*	0,046*	0,647	-	0,544	0,544	0,013*
13%	0,013*	0,013*	0,278	0,544	-	1,00	0,013*
14%	0,013*	0,013*	0,278	0,544	1,00	-	0,013*
15%	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*	-

Keterangan : * = berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 5.3 diatas dapat dikatakan signifikan jika mempunyai nilai $< 0,05$, sedangkan jika nilai $> 0,05$ maka mempunyai makna yang tidak signifikan.

5.2.3 Uji Korelasi Spearman

Untuk mengetahui besarnya hubungan dari pemberian ekstrak etanol lumut hati terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella* Typhi pada dilusi agar plate yang berskala ordinal, maka digunakan uji Korelasi Spearman, dengan hasil pada Lampiran 4.

Berdasarkan Lampiran 4 diperoleh nilai korelasi antara konsentrasi perlakuan terhadap jumlah koloni mempunyai koefisien korelasi sebesar 0,845 menunjukkan terdapat hubungan yang sangat kuat antar konsentrasi dengan jumlah koloni. Nilai negatif menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin sedikit jumlah koloni yang terbentuk. Nilai signifikansi 0,000 yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi terhadap jumlah koloni.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek antimikroba dari ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) terhadap bakteri *Salmonella* Typhi. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi agar. Metode ini digunakan untuk mengetahui (Kadar Hambat Minimal) KHM karena pada penelitian terdahulu KHM tidak dapat ditentukan dengan metode dilusi tabung dikarenakan keruh walaupun ekstrak sudah di saring. Penentuan KHM dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella* Typhi yang diinokulasikan pada medium dilusi agar pada temperatur 37°C selama 18-20 jam. Pada metode ini (*Kadar Bunuh Minimal*) KBM tidak dapat ditentukan.

Sampel bakteri penelitian ini menggunakan empat isolat dari pasien yang berbeda-beda. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol lumut hati dengan variasi 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15% dan 1 kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak etanol lumut hati (konsentrasi 0%). Besarnya konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan pada penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya menggunakan dilusi agar plate.

Menentukan nilai KHM pada penelitian ini dengan menggunakan metode dilusi agar. Pada metode ini setiap konsentrasi antimikroba dicampurkan pada media agar padat (NAP), sedangkan bakteri ditetaskan pada permukaan agar padat sejumlah 0,01 ml atau 10 µl. Menurut Kusaldi (2008), nilai KHM adalah agar plate dengan konsentrasi terendah yang ditumbuhi oleh < 3 CFU.

Metode lain penentuan KHM ditentukan dengan cara mengamati (dengan mata telanjang) kekeruhan yang terjadi pada tiap-tiap tabung dilusi yang berisi campuran antara ekstrak dengan bakteri *Salmonella Typhi*. Namun pada penelitian ini nilai KHM tidak dapat ditentukan karena kekeruhan terjadi di semua tabung konsentrasi. Ekstrak etanol lumut hati bewarna keruh dan masih terdapat endapan walaupun divortex.

Nilai KHM dari ekstrak etanol lumut hati pada penelitian ini didefinisikan sebagai konsentrasi di mana bakteri *Salmonella Typhi* < 3 CFU dengan nilai *scoring* 0. Dari hasil pengamatan didapatkan bakteri tidak tumbuh di konsentrasi 15% pada keempat isolat. Dari data yang diperoleh isolat 4 lebih resistan pada konsentrasi sebelum KHM dibandingkan dengan isolat lainnya, sedangkan isolat 2 lebih sensitif daripada isolat lainnya.

Berdasarkan penilaian secara deskriptif menurut penilaian kualitatif terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella Typhi* yang dihasilkan pada medium agar, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol lumut hati mempunyai efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella Typhi* dibandingkan kelompok kontrol (konsentrasi 0%). Data-data dari pertumbuhan koloni yang didapat dalam penelitian ini kemudian dilakukan uji statistik dengan menggunakan Uji Kruskal Wallis, Uji Mann Whitney, dan Uji Korelasi Spearman. Dari hasil uji statistik tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol lumut hati meskipun pada beberapa konsentrasi menunjukkan tidak ada perbedaan atau relatif sama perlakuan. Dari hasil korelasi Spearman ($r = -0.845$, $p = 0.000$) didapatkan hubungan yang signifikan ($p < 0.05$) dengan arah korelasi yang negatif (karena koefisien korelasi bernilai negatif). Hal tersebut menunjukkan

bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol lumut hati akan cenderung menurunkan pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* yang dihasilkan pada dilusi agar plate dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah.

Bahan-bahan yang terkandung dalam ekstrak etanol lumut hati yang diduga berpotensi sebagai antimikroba yaitu terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Pada dasarnya senyawa fenolik dan terpenoid secara umum mekanisme antibakteri kedua senyawa tersebut adalah dengan merusak struktur dinding sel dan mengubah permeabilitas membran sitoplasma sel. Perubahan dan kerusakan yang terjadi selanjutnya akan menyebabkan kebocoran bahan-bahan intraseluler dan terganggunya sistem metabolisme sel (Fadhila, 2011). Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya adalah mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel mikroba tanpa dapat diperbaiki lagi (Arsyi, 2008).

Penelitian uji hasil fitokimia yang dilakukan di LPPT-UGM juga melaporkan bahwa kandungan senyawa aktif dari lumut hati teridentifikasi sebagai flavonoid (lampiran 5). Peneliti membandingkan kadar flavonoid lumut hati terhadap ekstrak kemangi dan ekstrak bawang putih. Kandungan senyawa Bawang putih yang sudah ditemukan pada bawang putih diantaranya adalah "Allisin" dan "Sulfur amino acid alliin". Sulfur amino acid alliin ini oleh enzim allisinliase diubah menjadi asam piruvat, ammonia, dan allisin. (Rukmana, 1995). Daun kemangi mengandung tanin 4,6%, flavonoid, steroid atau triterpenoid, minyak atsiri 2%, asam metil hemoanisat, moludistin serta asam ursolat (Petter, 2002). Kandungan flavonoid dari ekstrak etanol lumut hati, kemangi, bawang putih adalah 0,27%, 2,07%, 0,17%. Uji hasil fitokimia ekstrak kemangi (Lampiran 6), uji hasil fitokimia ekstrak bawang putih (Lampiran 7). Dapat disimpulkan dari ketiga ekstrak tersebut terbanyak kandungan flavanoidnya berturut – turut adalah kemangi,

lumut hati, dan bawang putih. Peneliti membandingkan ekstrak etanol lumut hati dengan bawang putih dan kemangi karena bawang putih dan kemangi telah lama menjadi alternatif antimikroba oleh masyarakat

Aplikasi klinis dari penelitian ini memang masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai standarisasi bahan aktif apa saja yang dapat digunakan dan berapa konsentrasi yang efektif sebagai antimikroba. Oleh karena itu, diperlukan penelitian selanjutnya secara *in vivo* pada hewan coba yang kemudian dilanjutkan dengan uji klinik fase I, II, III, dan IV. Dilakukannya penelitian pada hewan coba dan uji klinik tersebut diperlukan untuk menentukan dosis terapi, dosis toksik, dan efek samping yang mungkin timbul dari pemakaian dekok daun jambu biji. Walaupun uji pada hewan coba memberikan data yang berharga, namun untuk memastikan efeknya pada manusia perlu dilakukan uji klinik (Kusaldi, 2008).

Fungsi dari uji klinik fase I adalah untuk mengetahui obat tersebut apakah aman untuk dikonsumsi. Uji klinik fase II bertujuan untuk melihat apakah efek yang tampak pada fase I dapat digunakan dalam pengobatan. Berikutnya adalah uji klinik fase III, uji ini digunakan untuk memastikan efek obat tersebut serta mengetahui kedudukannya bila dibandingkan dengan obat standar. Bila hasil uji klinik fase III menunjukkan bahwa obat ini cukup aman dan efektif, maka obat tersebut diizinkan untuk dipasarkan. Yang terakhir adalah uji klinik fase IV, uji ini bertujuan untuk mengetahui pola penggunaan obat di masyarakat serta pola efektifitas dan keamanannya pada penggunaan yang sebenarnya (Kusaldi, 2008).

Keuntungan penelitian ini waktu relatif cepat, biaya murah dan penilaian KHM ditentukan secara kualitatif dengan melihat langsung pertumbuhan koloni

bakteri *Salmonella* Typhi pada dilusi agar yang ditentukan dengan score 0. Kelemahan dilusi agar adalah tidak dapat melihat (Kadar Bunuh Minimal) KBM. Dengan melihat fakta hasil penelitian ini yang didapatkan efek hambat pertumbuhan koloni *Salmonella* Typhi seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) terbukti memiliki efek antimikroba terhadap *Salmonella* Typhi secara *in vitro*.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

- 7.1.1 Ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri *Salmonella* Typhi, yang ditunjukkan dengan jumlah koloni bakteri *Salmonella* Typhi yang tumbuh semakin rendah dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) yang digunakan.
- 7.1.2 Nilai (*Kadar Hambat Minimal*) KHM dari ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella* Typhi adalah 15%.
- 7.1.3 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol lumut hati mempunyai kadar flavonoid 0,27 %.

7.2 Saran

Adanya berbagai kekurangan dalam penelitian ini maka perlu diadakan penelitian lebih lanjut antara lain:

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui nilai (*Kadar Bunuh Minimal*) KBM ekstrak dengan cara dilusi tabung atau metode lainnya lumut hati terhadap bakteri *Salmonella* Typhi.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji potensi antimikroba ekstrak etanol lumut hati terhadap bakteri *Salmonella* Typhi dengan galur yang berbeda.

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji potensi antimikroba lumut hati (*Marchantia polymorpha*) dalam bentuk selain ekstrak (larutan dan dekok) terhadap bakteri *Salmonella* Typhi atau bakteri lain.
- Perlu dilakukan penelitian *in vivo* pada hewan coba yang dilanjutkan dengan uji klinik untuk menentukan dosis terapi, dosis toksik, dan efek samping yang mungkin timbul dari ekstrak etanol lumut hati sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella* Typhi.
- Perlu penelitian lebih lanjut tentang konsentrasi bahan-bahan aktif yang terkandung dalam lumut hati sebagai antimikroba sehingga dapat diperkirakan dosis yang aman untuk dikonsumsi manusia.



DAFTAR PUSTAKA

- Arsyi, IA. 2008. *Uji aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Dan Arbenan (Duchesnea Indica Andr.Focke) terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas Aeruginosa Multiresisten Antibiotik beserta Profil Kromatografi Lapisan Tipisnya.* (online) ([http:// etd.eprints.ums.ac.id](http://etd.eprints.ums.ac.id), diakses tanggal 28 Januari 2013)
- Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. 1994. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 9th edition. Mosby- year Book Inc. New York. p.173
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA 2004. *Jawets, Melnick & Adelber's Medical Microbiology* 23rd Ed., McGraw Hill, USA , p.161-164,256-260.
- Darnawati S, Analis Kesehatan. 2009. Keanekaragaman Genetik *Salmonella Typhi*. *Jurnal Kesehatan*. Fikkes Unimus
- Dzen SM, Roekistiningsih, Santoso S, Winarsih S, Sumarno, Islam S, Noorhamdani AS, Murwani S, Santosaningsih D. 2003. *Bakteriologi Medik*, Bayumedia Publishing, Malang, hal 111-112, 122-123, 189, 223-234, 232.
- Fadhila R. 2011. *Potensi Tumbuhan Lumut Sebagai Sumber Baru Antibakteri*, (Online), (<http://id.shvoong.com/exact-sciences/biology/2216316-potensi-tumbuhan-lumut-sebagai-sumber/>), diakses tanggal 5 Januari 2012).
- Harna. 2008. *Demam Tifoid*, (Online) (<http://harnawati.j.wordpress.com/2008/03/09/demam-tifoid/>), diakses tanggal 5 januari 2012).
- Hamid H. 2009. *Lumut Hati*, (Online) (<http://zaifbio.wordpress.com/2009/01/31/lumut-hati/>), diakses tanggal 5 Januari 2012).
- Ismiarni. 2010. *Kandungan Kimia dari Tumbuhan Lumut Hati (Liverwort)*, (Online), (<http://ismiarni.wordpress.com/2010/07/16/kandungan-kimia-dari-tumbuhan-lumut-hati-liverwort/>), diakses 5 Januari 2012).
- Kuzaldi AD. 2008. *Uji Efektifitas Dekok Daun Jambu Biji (Psidium guajava) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA).* ([http://elibrary.ub.ac.id/bitstream/123456789/18078/1/Uji-efektivitas-dekok-daun-jambu-biji-\(Psidium-guajava\)-sebagai-antimikroba-terhadap-bakteri-Methicillin-Resistant-Staphylococcus-aureus-\(MRSA\).pdf](http://elibrary.ub.ac.id/bitstream/123456789/18078/1/Uji-efektivitas-dekok-daun-jambu-biji-(Psidium-guajava)-sebagai-antimikroba-terhadap-bakteri-Methicillin-Resistant-Staphylococcus-aureus-(MRSA).pdf)), diakses 20 februari 2012).
- Levison. 2004. Pharmacodynamic of Antimicrobial Drugs. *Infect Dis Clin N Am* 18 (2004). p. 451-465
- Lili M. ; Fuad A.;Ascobat G.; Pratiwi A. 2004. *Analisis Efektifitas Biaya Pengobatan demam Tifoid Menggunakan Kloramfenikol dan Seftriakson*

di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. (Online) (<http://journal.ui.ac.id?hal=detailArtikel&q=152>, diakses tanggal 6 Januari 2012).

Luthana, Y. 2009. *Prosedur Ekstraksi Senyawa Fenol dan Antibakteri dari Produk Tanaman Gambir dan Disertai Metode Analisanya*, (Online) . (<http://yongkikastanyaluthana.wordpress.com/2009/01/26/prosedur-ekstraksi-senyawa-fenol-dan-antibakteri-dari-produk-tanaman-gambir-yang-disertai-metode-analisanya/>, Diakses tanggal 2 oktober 2011).

Li Zhang. 2007. *Marchantia polymorpha*. Cameron Highlands. Brinchang, Country Lodge Resort. 1500 m. On soil wall. Malaysia.

Melderer. 2002. *Molecular interaction of the CcdB poison with its bacterial target, the DNA gyrase*, IJMM, 2002, 291, 537 – 544

Mubarak H. 2008. *Demam Tifoid*, (Online) (<http://cetrione.blogspot.comhttp://2008/11/demam-typhoid.html>, diakses 13 Januari 2012).

Muchti JE. 2011. *Diagnosis Demam Tifoid*, (Online), (<http://www.kesad.mil.id/content/diagnosis-demam-tifoid>, diakses 26 desember 2012).

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

Petter AGM. 2002. Herbal Remedies. *Engl J Med Doc* (cited 2009 January 16); Vol 347 (25): 2046-2056. Online (<http://content.nejm.org/cgi/reprint/347/25/2046.pdf>, Diakses tanggal 6 February 2013).

Pollack. 2003. *Salmonella Enterica Typhi*. MCB 233 Pathogenic Microbiology. ([http://web.uconn.edu/mcbstaff/graf/Student%20presentations/Salmonella typhi/Salmonellatyphi.html](http://web.uconn.edu/mcbstaff/graf/Student%20presentations/Salmonella%20typhi/Salmonellatyphi.html), diakses tanggal 4 Januari 2012).

Prasetya RV, Ismoedijanto. 2012. *Metode Diagnostik Demam Tifoid Pada Anak*. Divisi Tropik dan Penyakit Infeksi Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya.

Rachmawati. 2011. *Bryophyta*, (Online) (<http://catatankuliahq.blogspot.com/2011/04/bryophyta.html>, diakses 9 januari 2012).

Rukmana R. 1995. *Budidaya Bawang Putih*, Kanisus, Yogyakarta, hal 11-21

Soedarto, 2007, *Sinopsis Kedokteran Tropis*, Airlangga Universitas Press, Surabaya.

Todar K. 2008. Salmonella and Salmonellosis, (<http://textbookofbacteriology.net/salmonella.html>), diakses 12 januari 2012).

Turana. 2002. Tanaman Obat Tidak Lepas dari Efek Samping, (Online), (<http://www.tempo.co.id/medika/arsip/092002/pus-3htm>), diakses 18 februari 2013).

Utami, D.N. 2009. Ekstraksi, (Online) (<http://majarimagazine.com/2009/03/ekstraksi/>), Diakses tanggal 28 januari 2013).

Wardhani P, Prihartini, Probahoosodo MY. Kemampuan Uji Tabung Widal Menggunakan Antigen Import dan Antigen Lokal. *Indoneian Journal Of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 2005; 12(1): 3137

Wulandari F, Israr YA . 2008. Demam Tifoid (Thyoid fever), (Online) (<http://belibis-a17.com/2008/04/25/demam-tifoid-thypoid-fever/>), diakses 27 Desember 2011).

Yagami F. 2012. Lumut Hati. (Online), (<http://www.slideshare.net/fitrayagami/lumut-hati>), diakses 18 november 2012).



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : R. Ananda Nuriman

NIM : 0910711016

Program Studi : Program Studi Kedokteran Umum

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

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

Malang, 8 Februari 2013

R. Ananda Nuriman

NIM 0910711016

Lampiran 1

Pertumbuhan koloni Salmonella Typhi dalam beberapa konsentrasi ekstrak etanol lumut hati (*Marchantia polymorpha*)

Konsentrasi	Isolat Bakteri			
	1	2	3	4
0%	++++	++++	++++	++++
10%	++++	++++	++++	++++
11%	+++	++	+++	++++
12%	+++	++	++	++++
13%	+++	+	++	+++
14%	+++	+	++	+++
15%	0	0	0	0

Lampiran 2. Uji Kruskal-Wallis

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank
Pertumbuhan Koloni	0%	4	23.50
	10%	4	23.50
	11%	4	15.63
	12%	4	14.13
	13%	4	11.13
	14%	4	11.13
	15%	4	2.50
	Total	28	

Test Statistics^{a,b}

	Pertumbuhan Koloni
Chi-Square	20.964
df	6
Asy mp. Sig.	.002

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi

Lampiran 3. Uji Mann-Whitney

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	0%	4	4.50	18.00
	10%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	0%	4	6.00	24.00
	11%	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-2.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	0%	4	6.00	24.00
	12%	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-2.000
Asy mp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	0%	4	6.50	26.00
	13%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	0%	4	6.50	26.00
	14%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	0%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asy mp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	10%	4	6.00	24.00
	11%	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-2.000
Asy mp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	10%	4	6.00	24.00
	12%	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-2.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	10%	4	6.50	26.00
	13%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	10%	4	6.50	26.00
	14%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	10%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	11%	4	4.88	19.50
	12%	4	4.13	16.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-.458
Asymp. Sig. (2-tailed)	.647
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	11%	4	5.38	21.50
	13%	4	3.63	14.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	14.500
Z	-1.084
Asymp. Sig. (2-tailed)	.278
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	11%	4	5.38	21.50
	14%	4	3.63	14.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	14.500
Z	-1.084
Asymp. Sig. (2-tailed)	.278
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	11%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	12%	4	5.00	20.00
	13%	4	4.00	16.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.607
Asymp. Sig. (2-tailed)	.544
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	12%	4	5.00	20.00
	14%	4	4.00	16.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Pertumbuhan Koloni
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.607
Asymp. Sig. (2-tailed)	.544
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	12%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	13%	4	4.50	18.00
	14%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	13%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Pertumbuhan Koloni	14%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Konsentrasi

Lampiran 4. Uji Korelasi Spearman

Nonparametric Correlations

Correlations

			Konsentrasi	Pertumbuhan Koloni
Spearman's rho	Konsentrasi	Correlation Coefficient	1.000	-.845**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	28	28
	Pertumbuhan Koloni	Correlation Coefficient	-.845**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	28	28

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







LEMBAR KERJA UJI KIMIA & KOMPILASI
DATA LABORATORIUM PENGUJIAN

DP/5.10.2/LPPT

"LPPT-

Nama sampel	Ekstrak Lumut hati	No. Pengujian	
Kode sampel	112-01-002-9817	Tanggal Diterima	14-12-2012
Tanggal Pengujian	18-12-2012	Tanggal Selesai	19-12-2012
Suhu Ruangan	25°C	Kelembaban	
Metode Uji	Spektrofotometri		

a) Pembuatan kurva standar

Timbang baku standar quercetin 10,0 mg tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5%. Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chloride 10%, tunggu 5 menit, tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 M. Addkan dengan aquades hingga 10 ml dengan labu takar.

Pindahkan ke dalam kuvet, tetap serapan pada panjang gelombang 510 nm.

Tabel
Pengenceran

Conc	0	6,25	12,5	25	50	100	200	ppm
Lart Induk	0	62,5	125	250	500	1000	2	µl
Aquabides t	0	9937,5	9875	9750	9500	9000	8	µl
Volume	10	10	10	10	10	10	10	ml

b) Penetapan contoh uji total flavonoid

Timbang dengan seksama 50 mg sampel uji, masukkan dalam labu godog, tambahkan

10 ml asam chloride 2 N. Refluk selama 30 menit kemudian dinginkan. Ekstraksi dengan 10 ml dietil eter, ambil fase dietil eter. Ulangi ekstraksi 2 kali. Uapkan fase dietil eter dengan hembusan gas nitrogen hingga kering. Tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5%. Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chloride 10%, tunggu 5 menit, tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 M. Addkan dengan aquades hingga 10 ml dengan labu takar. Pindahkan ke dalam kuvet, tetap serapan pada panjang gelombang 510 nm.

Total Flavonoid Content Equivalent Quercetin

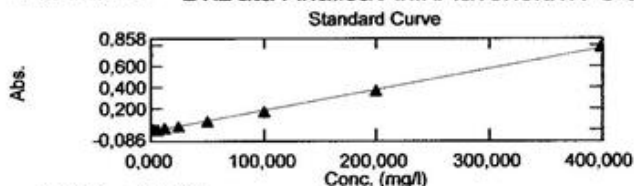
Sampel	Berat Sampel (µl)	Conc. Sampel (ppm)	Flavonoid dalam sampel (ppm)	Total Flavanoid Equivalent Quercetin	Satuan
Ekstrak Lumut Hati	50	5000	13,443	0,27	%

Diperiksa/Disetujui Oleh :

Dikerjakan Oleh :

Standard Table Report

File Name: D:\Data Analisa\Anif\Flavonoid\TFC 9817.pho



$$y = 0,00194 x - 0,00754$$

Correlation Coefficient $r^2 = 0,99901$

Multiple Correlation Coefficient $r^2 = 0,99901$

Standard Table

	Sample ID	Ex	Conc	WL510,0
1	1		0,000	0,000
2	1-2		0,000	0,000
3	1-Avg		0,000	0,000
4	2		1,563	0,001
5	2-2		1,563	0,001
6	2-Avg		1,563	0,001
7	3		3,125	0,003
8	3-2		3,125	0,003
9	3-Avg		3,125	0,003
10	4		6,250	0,007
11	4-2		6,250	0,007
12	4-Avg		6,250	0,007
13	5		12,500	0,017
14	5-2		12,500	0,017
15	5-Avg		12,500	0,017
16	6		25,000	0,038
17	6-2		25,000	0,038
18	6-Avg		25,000	0,038
19	7		50,000	0,084
20	7-2		50,000	0,084
21	7-Avg		50,000	0,084
22	8		100,000	0,178
23	8-2		100,000	0,178
24	8-Avg		100,000	0,178
25	9		200,000	0,366
26	9-2		200,000	0,366
27	9-Avg		200,000	0,366
28	10		400,000	0,779
29	10-2		400,000	0,779
30	10-Avg		400,000	0,779
31				

Sample Table Report

File Name: D:\Data Analisa\Anif\Flavonoid\TFC 9817.pho

Sample Table

	Sample ID	Ex	Conc	WL510,0	Comments
1	9817 Ekstr lumut hati			0,019	
2	9817 Ekstr lumut hati-2			0,019	
3	9817 Ekstr lumut hati-3			0,019	
4	9817 Ekstr lumut hati-Avg		13,443	0,019	Avg of preceding
5					



LEMBAR KERJA UJI KIMIA & KOMPILASI DATA
LABORATORIUM PENGUJIAN
"LPPT-UGM"

DP/5.10.2/LPPT

Nama sampel	Ekstrak Daun Kemangi	No. Pengujian	
Kode sampel	112-01-002-9813	Tanggal Diterima	14-12-2012
Tanggal Pengujian	18-12-2012	Tanggal Selesai	19-12-2012
Suhu Ruangan	25°C	Kelembaban	
Metode Uji	Spektrofotometri		

a) Pembuatan kurva standar

Timbang baku standar quercetin 10,0 mg tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5%. Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chloride 10%, tunggu 5 menit, tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 M. Addkan dengan aquades hingga 10 ml dengan labu takar. Pindahkan ke dalam kuvet, tetap serapan pada panjang gelombang 510 nm.

Tabel Pengenceran

Conc	0	6,25	12,5	25	50	100	200	ppm
Larut Induk	0	62,5	125	250	500	1000	2	µl
Aquabides t	0	9937,5	9875	9750	9500	9000	8	µl
Volume	10	10	10	10	10	10	10	ml

b) Penetapan contoh uji total flavonoid

Timbang dengan seksama 50 mg sampel uji, masukkan dalam labu godog, tambahkan 10 ml asam chloride 2 N. Refluk selama 30 menit kemudian dinginkan. Ekstraksi dengan 10 ml dietil eter, ambil fase dietil eter. Ulangi ekstraksi 2 kali. Uapkan fase dietil eter dengan hembusan gas nitrogen hingga kering. Tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5%. Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chloride 10%, tunggu 5 menit, tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 M. Addkan dengan aquades hingga 10 ml dengan labu takar. Pindahkan ke dalam kuvet, tetap serapan pada panjang gelombang 510 nm.

Total Flavonoid Content Equivalent Quercetin

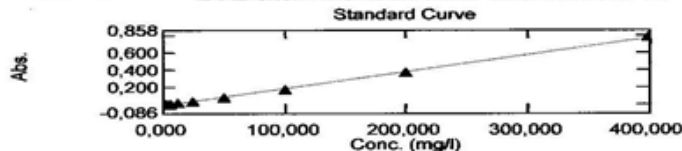
Sampel	Berat Sampel (µl)	Conc. Sampel (ppm)	Flavonoid dalam sampel (ppm)	Total Flavonoid Equivalent Quercetin	Satuan
Ekstrak Daun Kemangi	50	5000	103,705	2,07	%

Diperiksa/Disetujui Oleh :

Dikerjakan Oleh :

Standard Table Report

File Name: D:\Data Analisa\Anif\Flavonoid\TFC



$y = 0,00194 x - 0,00754$
Correlation Coefficient $r^2 = 0,99901$
Multiple Correlation Coefficient $r^2 = 0,99901$

Standard Table

	Sample ID	Ex	Conc	WL510,0
1	1		0,000	0,000
2	1-2		0,000	0,000
3	1-Avg		0,000	0,000
4	2		1,563	0,001
5	2-2		1,563	0,001
6	2-Avg		1,563	0,001
7	3		3,125	0,003
8	3-2		3,125	0,003
9	3-Avg		3,125	0,003
10	4		6,250	0,007
11	4-2		6,250	0,007
12	4-Avg		6,250	0,007
13	5		12,500	0,017
14	5-2		12,500	0,017
15	5-Avg		12,500	0,017
16	6		25,000	0,038
17	6-2		25,000	0,038
18	6-Avg		25,000	0,038
19	7		50,000	0,084
20	7-2		50,000	0,084
21	7-Avg		50,000	0,084
22	8		100,000	0,178
23	8-2		100,000	0,178
24	8-Avg		100,000	0,178
25	9		200,000	0,366
26	9-2		200,000	0,366
27	9-Avg		200,000	0,366
28	10		400,000	0,779
29	10-2		400,000	0,779
30	10-Avg		400,000	0,779
31				

Sample Table Report

File Name: D:\Data Analisa\Anif\Flavonoid\TFC

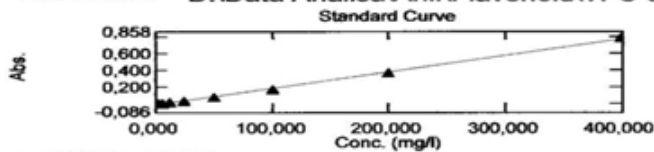
Sample Table

	Sample ID	Ex	Conc	WL510,0	Comments
1	Ekst Daun Kemangi			0,194	
2	Ekst Daun Kemangi-2			0,194	
3	Ekst Daun Kemangi-3			0,194	
4	Ekst Daun Kemangi-Avg		103,705	0,194	Avg of preceding
5					

		LEMBAR KERJA UJI KIMIA & KOMPILASI DATA LABORATORIUM PENGUJIAN "LPPT-UGM"		DP/3.10.2/LPPT																																																	
Nama sampel	Ekstrak Bawang Putih	No. Pengujian																																																			
Kode sampel	112-01-002-9516	Tanggal Diterima	14-12-2012																																																		
Tanggal Pengujian	15-12-2012	Tanggal Selesai	19-12-2012																																																		
Suhu Ruangan	25°C	Kelembaban																																																			
Metode Uji	Spektrofotometri																																																				
a) Pembuatan kurva standar Timbang baku standar quercetin 10,0 mg tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5%. Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chloride 10%, tunggu 5 menit, tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 M. Addkan dengan aquades hingga 10 ml dengan labu takar. Pindahkan ke dalam kuvet, tetap serapan pada panjang gelombang 510 nm. Tabel Pengenceran <table border="1"> <tr> <td>Conc</td> <td>0</td> <td>6,25</td> <td>12,5</td> <td>25</td> <td>50</td> <td>100</td> <td>200</td> <td>ppm</td> </tr> <tr> <td>Larut Induk</td> <td>0</td> <td>62,5</td> <td>125</td> <td>250</td> <td>500</td> <td>1000</td> <td>2</td> <td>µl</td> </tr> <tr> <td>Aquabides t</td> <td>0</td> <td>9937,5</td> <td>9875</td> <td>9750</td> <td>9500</td> <td>9000</td> <td>8</td> <td>µl</td> </tr> <tr> <td>Volume</td> <td>10</td> <td>10</td> <td>10</td> <td>10</td> <td>10</td> <td>10</td> <td>10</td> <td>ml</td> </tr> </table> b) Penetapan contoh uji total flavonoid Timbang dengan seksama 50 mg sampel uji, masukkan dalam labu godog, tambahkan 10 ml asam chloride 2 N. Refluk selama 30 menit kemudian dinginkan. Ekstraksi dengan 10 ml dietil eter, ambil fase dietil eter. Ulangi ekstraksi 2 kali. Uapkan fase dietil eter dengan hembusan gas nitrogen hingga kering. Tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5%. Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chloride 10%, tunggu 5 menit, tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 M. Addkan dengan aquades hingga 10 ml dengan labu takar. Pindahkan ke dalam kuvet, tetap serapan pada panjang gelombang 510 nm. Total Flavonoid Content Equivalent Quercetin <table border="1"> <tr> <th>Sampel</th> <th>Berat Sampel (µl)</th> <th>Conc. Sampel (ppm)</th> <th>Flavonoid dalam sampel (ppm)</th> <th>Total Flavonoid Equivalent Quercetin</th> <th>Satuan</th> </tr> <tr> <td>Ekstrak Bawang Putih</td> <td>50</td> <td>5000</td> <td>8,266</td> <td>0,17</td> <td>%</td> </tr> </table>						Conc	0	6,25	12,5	25	50	100	200	ppm	Larut Induk	0	62,5	125	250	500	1000	2	µl	Aquabides t	0	9937,5	9875	9750	9500	9000	8	µl	Volume	10	10	10	10	10	10	10	ml	Sampel	Berat Sampel (µl)	Conc. Sampel (ppm)	Flavonoid dalam sampel (ppm)	Total Flavonoid Equivalent Quercetin	Satuan	Ekstrak Bawang Putih	50	5000	8,266	0,17	%
Conc	0	6,25	12,5	25	50	100	200	ppm																																													
Larut Induk	0	62,5	125	250	500	1000	2	µl																																													
Aquabides t	0	9937,5	9875	9750	9500	9000	8	µl																																													
Volume	10	10	10	10	10	10	10	ml																																													
Sampel	Berat Sampel (µl)	Conc. Sampel (ppm)	Flavonoid dalam sampel (ppm)	Total Flavonoid Equivalent Quercetin	Satuan																																																
Ekstrak Bawang Putih	50	5000	8,266	0,17	%																																																
Diperiksa/Disetujui Oleh :			Dikerjakan Oleh :																																																		

Standard Table Report

File Name: D:\Data Analisa\Anifl\Flavonoid\TFC 9816.pho



$y = 0,00194 x - 0,00754$
Correlation Coefficient $r^2 = 0,99901$
Multiple Correlation Coefficient $r^2 = 0,99901$

Standard Table

	Sample ID	Ex	Conc	WL510,0
1	1		0,000	0,000
2	1-2		0,000	0,000
3	1-Avg		0,000	0,000
4	2		1,563	0,001
5	2-2		1,563	0,001
6	2-Avg		1,563	0,001
7	3		3,125	0,003
8	3-2		3,125	0,003
9	3-Avg		3,125	0,003
10	4		6,250	0,007
11	4-2		6,250	0,007
12	4-Avg		6,250	0,007
13	5		12,500	0,017
14	5-2		12,500	0,017
15	5-Avg		12,500	0,017
16	6		25,000	0,038
17	6-2		25,000	0,038
18	6-Avg		25,000	0,038
19	7		50,000	0,084
20	7-2		50,000	0,084
21	7-Avg		50,000	0,084
22	8		100,000	0,178
23	8-2		100,000	0,178
24	8-Avg		100,000	0,178
25	9		200,000	0,366
26	9-2		200,000	0,366
27	9-Avg		200,000	0,366
28	10		400,000	0,779
29	10-2		400,000	0,779
30	10-Avg		400,000	0,779
31				

Sample Table Report

File Name: D:\Data Analisa\Anifl\Flavonoid\TFC 9816.pho

Sample Table

	Sample ID	Ex	Conc	WL510,0	Comments
1	Ekstr Bawang Putih			0,009	
2	Ekstr Bawang Putih-2			0,009	
3	Ekstr Bawang Putih-3			0,009	
4	Ekstr Bawang Putih-Avg		8,286	0,009	Avg of preceding
5					

