

UJI EFEKTIFITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL BUAH MAHKOTA

**DEWA (*Phaleria macrocarpa*) METODE MAE (Microwave Assisted
Extraction) TERHADAP *Streptococcus pyogenes* SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :

Dananjaya Wira Husodo

145070107111062

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2018

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIFITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL BUAH MAHKOTA

DEWA (*Phaleria macrocarpa*) METODE MAE (Microwave Assisted
Extraction) TERHADAP *Streptococcus pyogenes* SECARA *IN VITRO*

Oleh:

Dananjaya Wira Husodo
NIM 145070107111062

Telah diuji pada:
Hari : Kamis
Tanggal : 1 Maret 2018
Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Tantari Sugiman, SpKK(K)
NIP. 195404251982032004

Pembimbing-I / Penguji II,

Pembimbing-II / Penguji III,

Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes
NIP. 196603231997032001

dr. Elly Mayangsari M.Biomed
NIP. 198405162009121005

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran,

dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Dananjaya Wira Husodo

NIM : 145070107111062

Program Studi : Program Studi Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar

benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran

orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila

dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah jiplakan, maka

saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 25 Februari 2018

Yang membuat pernyataan,

Dananjaya Wira Husodo
NIM. 145070107111062

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberikan petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul

“Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Terhadap *Streptococcus pyogenes* Secara *In Vitro*”. Tugas akhir ini dibuat untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Kedokteran umum.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan banyak bantuan untuk penelitian ini, yang dengan sabar dan sepenuh hati membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberikan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. dr. Elly Mayangsari, M.Biomed sebagai pembimbing kedua yang telah membimbing penulis, memberi semangat serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. dr. Tantari Sugiman, SpKK (K). sebagai penguji satu yang telah bersedia dan menyempatkan waktu untuk menguji Tugas Akhir penulis.
4. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes., yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
5. dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K), sebagai Ketua Program Studi Kedokteran yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, khususnya Dr. Dra.

Sri Winarsih, Apt, M.Si yang telah membantu penulis dalam penyelesaian Proposal Tugas Akhir ini.

7. Kepala laboratorium dan jajaran staff di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

8. Yang tercinta bapak, H. R.Barata Indrajaya dan ibu, Hj. Resti Lestantini seluruh keluarga besar atas seluruh kasih sayang, dan dukungan selalu kepada penulis, yang selalu mendoakan penulis.

9. Teman-temanku yang tercinta, Desty sesiana, Heydiana, Maryam, Azka, Uswa, Dhamar, Stefanus, Lodvianes, Arkano, Andy, Ryan, Bagus, yang turut membantu dan menyemangati dalam penelitian ini.

10. Teman-teman pendidikan dokter angkatan 2014 yang berjuang bersama-sama dalam pendidikan yang tiada henti ini. Terutama PDB 2014.

11. Semua pihak yang telah membantu dan menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 7 Februari 2018

Penulis

ABSTRAK

Husodo, Dananjaya Wira 2018. **Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap *Streptococcus pyogenes* Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed

Infeksi bakteri merupakan salah satu penyebab utama masalah kesehatan di dunia terutama di Negara tropis salah satunya adalah faringitis. Faringitis merupakan salah satu infeksi saluran nafas atas yang paling banyak terjadi. Penisilin sebelumnya masih merupakan pengobatan. Pertama Dari Infeksi *Streptococcus pyogenes*. Namun akhir-akhir ini telah diidentifikasi galur *Streptococcus pyogenes* yang resisten terhadap Penisilin. Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan salah satu tumbuhan obat yang berpotensi sebagai pengobatan infeksi bakteri karena sifat antibakterinya. Microwave Assisted Extraction merupakan teknik ekstraksi yang lebih cepat dan efisien. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efek antimikroba Ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *In Vitro* dengan eksperimental laboratoris menggunakan metode difusi sumuran. Pengukuran diameter zona inhibisi koloni *Streptococcus.pyogenes* dilakukan dengan menggunakan jangka sorong menggunakan satuan millimeter. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, serta satu kelompok kontrol bakteri tanpa diberi ekstrak Buah mahkota dewa (konsentrasi 0%). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Penelitian ini menggunakan Uji Non parametrik, Uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang signifikan pada setiap pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Dalam beberapa Konsentrasi zona hambat *Streptococcus.pyogenes* ($p < 0,05$). Uji korelasi Pearson menunjukkan hubungan yang signifikan ($p < 0,05$) dan arah yang positif (0,777). Berdasarkan Penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terbukti memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro*.

Kata kunci : *Streptococcus pyogenes*, Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*), Antibakteri.

ABSTRACT

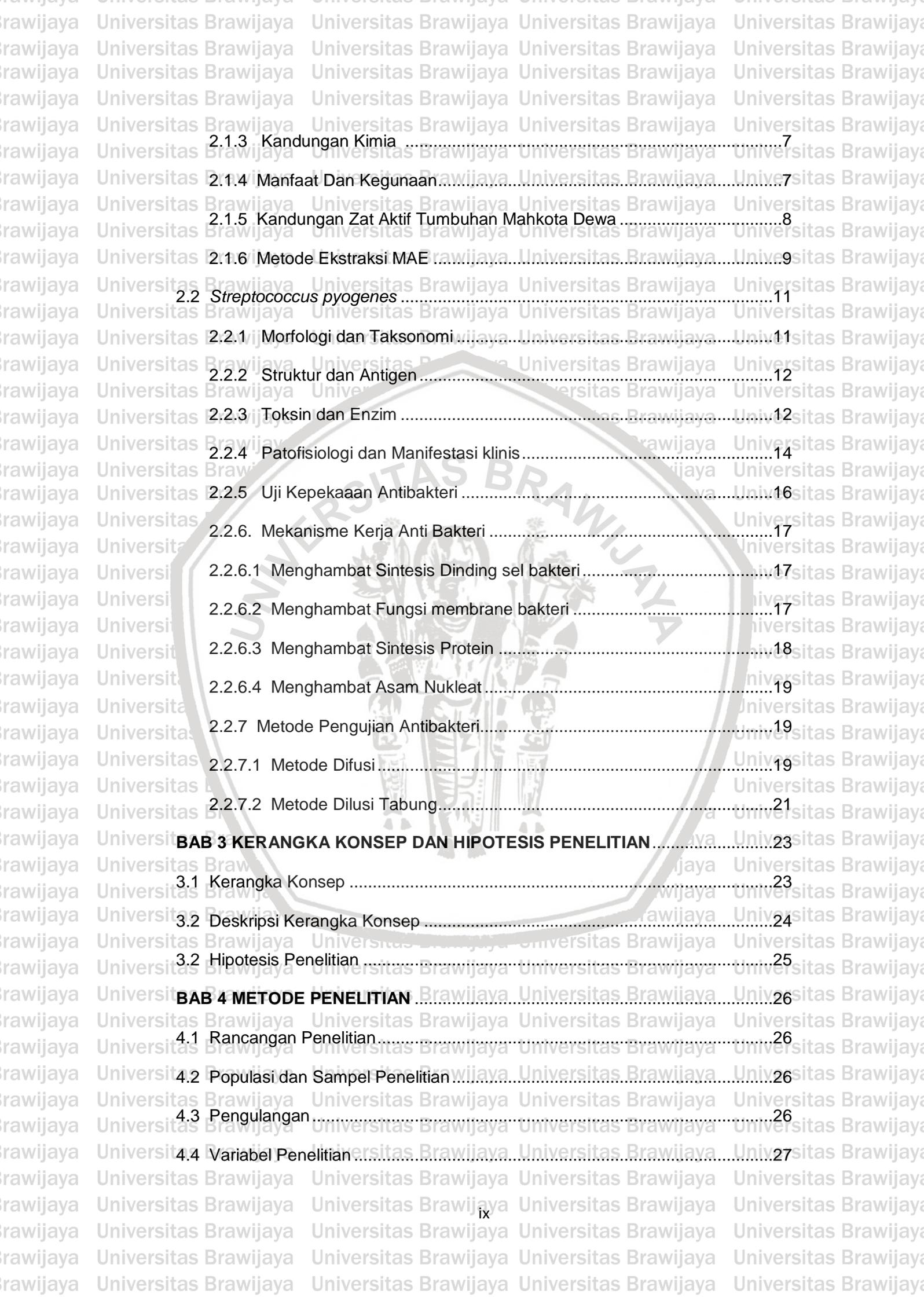
Husodo, Dananjaya Wira. 2018. **Effectiveness Test of Antibacteri Extract of God's Crown Fruit (*Phaleria macrocarpa*) on *Streptococcus pyogenes*: In Vitro**. Final Project, Medical Bachelor Degree Program, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya. Counselor: (1) Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed

Bacterial infections are one of the major causes of health problems in the tropical world one of them is pharyngitis . Pharyngitis is one of the most common peripheral tracts that previous Penicillin is still a treatment. First of *Streptococcus Pyogenes* Infections. But lately it has identified strains of *Streptococcus pyogenes* that are resistant to Penicillin. Fruit Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) is one of the medicinal plants which is a means of bacterial infection due to its antibacterial properties. *Microwave Assisted Extraction* is a faster and more efficient extraction technique. The purpose of this study was to determine the antimicrobial effects Extracts of the crown of the god (*Phaleria macrocarpa*) about. *Streptococcus pyogenes* in Vitro bacteria with experimental labor with well diffusion method. Measurement of zone diameter inhibition of *S.pyogenes* colony. By using sliding term using Unit millimeter The concentration used in this research is 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, and one control group of bacteria without being given extract The crown of god (concentration 0%) treatment done repetition as much as 4 times. Non-parametric tests were performed in this study. Kruskal Wallis test showed a significant difference in each extract of crown fruit. dewa (*Phaleria macrocarpa*). .in some. Concentration. zone of *Streptococcus pyogenes* ($p < 0,05$). Pearson visual test showed a significant relationship ($p < 0.05$) and a positive direction (0.777). Based on this research, it can be concluded the extract of the crown of god (*Phaleria macrocarpa*). proved to have an antibacterial effect on *Streptococcus pyogenes* bacteria in vitro.

Keywords: *Streptococcus pyogenes*, Gods Crown Fruits (*Phaleria macrocarpa*), Antibacterial

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Singkatan	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Keilmuan.....	5
1.4.2 Manfaat Aplikatif	5
1.4.3 Manfaat Praktis.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Mahkota dewa.....	6
2.1.1 Morfologi	6
2.1.2 Taksonomi	6



2.1.3	Kandungan Kimia	7
2.1.4	Manfaat Dan Kegunaan.....	7
2.1.5	Kandungan Zat Aktif Tumbuhan Mahkota Dewa	8
2.1.6	Metode Ekstraksi MAE	9
2.2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	11
2.2.1	Morfologi dan Taksonomi	11
2.2.2	Struktur dan Antigen	12
2.2.3	Toksin dan Enzim	12
2.2.4	Patofisiologi dan Manifestasi klinis	14
2.2.5	Uji Kepekaan Antibakteri	16
2.2.6	Mekanisme Kerja Anti Bakteri	17
2.2.6.1	Menghambat Sintesis Dinding sel bakteri	17
2.2.6.2	Menghambat Fungsi membrane bakteri	17
2.2.6.3	Menghambat Sintesis Protein	18
2.2.6.4	Menghambat Asam Nukleat	19
2.2.7	Metode Pengujian Antibakteri.....	19
2.2.7.1	Metode Difusi	19
2.2.7.2	Metode Dilusi Tabung.....	21

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN 23

3.1	Kerangka Konsep	23
3.2	Deskripsi Kerangka Konsep	24
3.2	Hipotesis Penelitian	25

BAB 4 METODE PENELITIAN 26

4.1	Rancangan Penelitian	26
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian	26
4.3	Pengulangan	26
4.4	Variabel Penelitian	27

4.5.1	Variabel Bebas.....	27
4.5.2	Variabel Terikat.....	27
4.5	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	27
4.6	Definisi Operasional.....	28
4.7	Alat dan Bahan.....	30
4.7.1	Bahan dan Alat untuk Pembuatan Ekstrak dengan Metode MAE.....	30
4.7.2	Bahan dan Alat untuk Metode Sumuran.....	30
4.7.3	Bahan dan Alat untuk Pewarnaan Gram.....	31
4.7.4	Bahan dan Alat untuk Tes Katalase.....	31
4.7.5	Bahan dan Alat untuk Tes Bacitrasin.....	32
4.7.6	Bahan dan Alat untuk Tes Hemolisis.....	32
4.8	Prosedur Penelitian.....	32
4.8.1	Pembuatan Ekstrak dengan Metode MAE.....	32
4.8.2	Identifikasi Bakteri.....	33
4.8.2.1	Pewarnaan Gram.....	33
4.8.2.2	Tes Hemolysis.....	34
4.8.2.3	Tes Bacitrasin.....	34
4.8.2.4	Tes Katalase.....	35
4.8.2.5	Kultur Untuk Identifikasi Bakteri.....	35
4.8.2.6	Pembuatan Pembenuhan Cair Bakteri Kepadatan 10^8 CFU/ml.....	35
4.8.4	Uji Sensitivitas Antimikroba.....	36
4.8.5	Tahap Pengamatan dan Pengukuran.....	38
4.9	Analisis Data.....	40
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....		41
5.1	Hasil Penelitian.....	41
5.1.1	Ekstrak Buah Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) dengan MAE.....	42
5.1.2	Identifikasi Bakteri Uji (<i>Streptococcus pyogenes</i>).....	42

5.1.2.1	Identifikasi <i>Streptococcus pyogenes</i>	42
5.1.3.1	Hasil Uji Katalase	43
5.1.4.1	Hasil Uji Bacitrasin.....	44
5.2	Hasil uji Antibakteri.....	44
5.2.1	Hasil Uji Pendahuluan Metode Difusi Sumuran.....	44
5.2.2	Hasil Penelitian Inti Metode Difusi Sumuran.....	46
5.2.3	Hasil Pengukuran Zona Hambat	47
5.3	Analisis Data	49
5.3.1	Hasil Uji <i>Kolmogorov Smirnov</i>	49
5.3.2	Hasil Uji <i>Lavene Test</i>	50
5.3.3	Hasil uji <i>Kruskal wallis</i>	51
5.3.4	Hasil uji <i>Pearson</i>	54
BAB 6 PEMBAHASAN		56
6.1	Ekstrak Buah Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) dengan MAE.....	55
6.2	Hasil Identifikasi Bakteri (<i>Streptococcus pyogenes</i>).....	56
6.3	Uji Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa Terhadap Pertumbuhan <i>Streptococcus pyogenes</i> dengan Metode Difusi sumuran	57
6.4	Analisis Data	58
6.5	Keterbatasan Penelitian.....	59
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN		60
7.1	Kesimpulan	60
7.2	Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA		61
LAMPIRAN		63

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Rata-rata Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri dan Grafik

Rerata Zona Hambat.....48

Tabel 5.2 Hasil Analisis Uji *Kolmogorov smirnov*.....50

Tabel 5.3 Hasil Uji *Lavene statistic*.....50

Tabel 5.4 Hasil Uji *Kruskal wallis*.....52

Tabel 5.5 Hasil Uji *Bonferroni*.....53

Tabel 5.6 Hasil Uji *Pearson*.....54



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Buah mahkota dewa.....	7
Gambar 2.2	Microwave assisted extraction	10
Gambar 2.3	<i>Streptococcus pyogenes</i>	12
Gambar 2.4	Difusi Cakram	19
Gambar 2.5	Difusi Sumuran	20
Gambar 2.6	Dilusi Tabung.....	21
Gambar 3.1	Kerangka konsep penelitian	23
Gambar 4.1	Cara Pengukuran Diameter zona Inhibisi	38
Gambar 4.2	Skema prosedur penelitian.....	39
Gambar 5.1	Ekstrak Buah Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) Setelah Dilakukan MAE dan Rotary Evaporator	42
Gambar 5.2	Hasil Pewarnaan Gram	43
Gambar 5.3	Hasil Uji Katalase	43
Gambar 5.4	Hasil Uji Bacitrasin.....	44
Gambar 5.5	Hasil Penelitian Pendahuluan	45
Gambar 5.6	Hasil Penelitian Inti Difusi Sumuran	46

DAFTAR SINGKATAN

BHI	: Brain heart infusion
CFU	: Colony Forming Unit
cm	: Centimeter
g	: gram
MAE	: <i>Microwave Assisted Extaction</i>
m	: Meter
mm	: millimeter
ml	: milliliter
mdpl	: Meter di atas permukaan laut
KBM	: Kadar Bunuh Minimal
Kg	: Kilogram
KHM	: Kadar Hambat Minimal
KP	: Kontrol Positif
OD	: <i>Optical Density</i>
SPSS	: Statistical Product of Service Solution
UPT	: Unit Pelaksana Teknis
µm	: Mikrometer
°C	: Derajat Celcius

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Infeksi bakteri merupakan salah satu penyebab utama masalah kesehatan di dunia, terutama di negara tropis salah satunya adalah faringitis.

Faringitis merupakan salah satu infeksi saluran nafas atas yang paling banyak terjadi (Depkes RI, 2005). Kasus faringitis disebabkan oleh infeksi langsung faring akibat virus atau bakteri (Vincent *et al.*, 2004). Agen penyebab dari infeksi bakteri ini diantaranya *Streptococcus pyogenes* yang merupakan *Streptococcus pyogenes* β Hemolitik Grup A (Wessels, 2011). *Streptococcus pyogenes* juga merupakan kelompok *Streptococcus* β hemolitik Grup A yang banyak menginfeksi anak (Carapetis *et al.*, 2005) serta bersifat invasif pada manusia yang dapat menimbulkan infeksi local maupun sistemik (Johanson *et al.*, 2010). Infeksi *Streptococcus* β Hemolitik grup A hanya di jumpai pada 15-30% dari kasus faringitis pada anak-anak, 5-10% pada faringitis dewasa. Angka kejadian penyakit infeksi saluran nafas Indonesia mencapai 25%. Infeksi saluran nafas ini mendominasi infeksi lainnya seperti infeksi saluran cerna, infeksi saluran kemih, kulit bahkan infeksi sistemik (Kemenkes RI, 2013). Bakteri ini juga dapat menyebabkan yaitu infeksi lokal pada lapisan kulit superfisial, khususnya pada anak, disebut impetigo. Infeksi kulit ini akibat infeksi *Streptococcus* grup A dengan tipe M 49, 57, dan 59,61 dan dapat mengakibatkan glomerulonephritis tetapi jarang menimbulkan demam rematik (Jawet *et al.*, 2007).

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri Gram positif, nonmotil, tidak berspora, membentuk kokus yang berbentuk rantai khas, berdiameter 0,5-1,0 μ m

dan fakultatif anaerob. *Streptococcus pyogenes* secara khas menghasilkan hemolisis β yang besar (berdiameter 1 cm) di sekitar koloni yang berdiameter lebih dari 0,5 mm. *Streptococcus pyogenes* digolongkan ke dalam bakteri yang mengandung antigen Grup A dan bersifat β hemolitik, sehingga membentuk zona terang bila ditumbuhkan dalam media agar darah. Infeksi *Streptococcus* dapat timbul dipengaruhi oleh bermacam-macam factor, antara lain sifat, biologic bakteri, cara host memberikan respons pada tempat masuknya bakteri. Infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes* sangat dipengaruhi oleh tempat masuknya bakteri (Jawet *et al.*, 2007).

Salah satu penatalaksanaan penderita infeksi karena bakteri adalah pengobatan dengan antibiotik (Mardiastuti, 2007). Obat lini pertama pengobatan *Streptococcus pyogenes* yaitu penisilin, namun saat ini *Streptococcus pyogenes* telah mengalami resistensi terhadap penisilin. Tahun 2001 di Negara Taiwan ditemukan kasus resistensi bakteri *Streptococcus pyogenes* terhadap penisilin cukup tinggi sebesar 78%. Banyaknya angka resistensi terhadap obat antibakteri sintetik menjadikan pemanfaatan sebagai agen antibiotik baru yang perlu dilakukan. Kelebihan pemanfaatan tanaman sebagai obat yaitu memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat sintetik (Joshi dan Edington, 1990 dalam Joshi *et al.*, 2009).

Pengobatan dini dan teratur dengan antibiotik pada umumnya dapat memberikan penyembuhan. Semua *Streptococcus* β hemolitik Grup A sensitive terhadap penisilin G beberapa diantaranya resisten terhadap tetrasiklin. Pada endocarditis bakterialis, tes sensitivitas bakteri berbagai macam antibiotika sangat diperlukan, karena hasilnya penting untuk menentukan pengobatan yang optimal.

Aminoglikosida sering meningkatkan daya kerja penisilin terhadap bakteri *Strep-*

Staphylococcus, terutama *Enterococcus*. Obat antibiotika tidak berpengaruh terhadap glomerulonephritis dan demam rematik, namun pada infeksi *Streptococcus* akut, harus dilakukan upaya untuk membunuh *Streptococcus* dari tubuh penderita, sehingga dapat mencegah terbentuknya antigen yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit setelah infeksi *Streptococcus*. Obat antibiotika juga bermanfaat untuk mencegah atau untuk mengobati penderita demam rematik terhadap infeksi oleh *Streptococcus* β hemolitik Group A (Kresno,2003 ; Gershon, 2004 ; Hadinegoro, 2005).

Indonesia dengan kelimpahan sumber daya alamnya mempunyai keunggulan untuk memanfaatkan berbagai tumbuhan obat sebagai antibakteri salah satunya Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Tanaman awalnya tumbuh di papua, Indonesia, daun, dan buah-buahan dari buah mahkota dewa secara tradisional telah digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk terapi penyakit kulit, hati,kanker,tekanan darah tinggi dan diabeters (Winarto 2007). Buah mahkota dewa ini memiliki kandungan zat aktif dengan berbagai fungsi, kandungan buah mahkota dewa antara lain, alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol. Diantara kandungan zat aktif buah mahkota dewa tersebut yang berfungsi sebagai antibakteri adalah flavonoid. Mekanisme flavonoid sebagai antimikroba dapat diklasifikasikan sebagai penghambatan sintesis asam nuclear, fungsi membrane sitoplasma, dan metabolisme energy.

Ekstraksi merupakan langkah yang terpenting dalam analisa kualitatif dan kuantitatif dari produk herbal Metode ekstraksi baru meliputi *Microwave assisted extraction* (MAE), merupakan teknik mengekstraksi bahan-bahan terlarut di dalam buah mahkota dewa. Proses MAE membutuhkan waktu yg lebih sedikit dan memberikan hasil ekstraksi yg efisien dengan bantuan gelombang mikro. MAE

menggunakan gelombang mikro dalam proses ekstraksinya dengan frekuensi 0.30-300 GHz dalam bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik. Keuntungan dari metode ini yaitu aplikasinya yang luas dalam mengekstrak berbagai senyawa termasuk senyawa yang labil panas. Selain itu keuntungan lainnya dapat membuat laju ekstraksi yang lebih tinggi, konsumsi pelarut yang lebih rendah, dan pengurangan waktu ekstraksi yang signifikan di dibandingkan ekstraksi konvensional (Aliefa dan Yunianta, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) menggunakan metode ekstraksi Microwave assisted extraction sebagai antimikroba terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.2. Rumusan masalah

Mengetahui efek pemberian antibakteri buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) metode ekstraksi Microwave Assisted Extraction terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*.

1.3. Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui efek antibakteri buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) metode ekstraksi microwave assisted extraction terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) metode ekstraksi microwave assisted extraction terhadap hambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat keilmuan

Dapat memperkokoh landasan teori ilmu kedokteran terutama di bidang mikrobiologi, mengenai pengaruh buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) metode ekstraksi microwave assisted extraction dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* secara invitro.

1.4.2 Manfaat akademik

Mengembangkan ilmu pengetahuan, terutama mengenai bahan alternative yang dapat digunakan sebagai antimikroba,serta mengetahui efektivitas buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) metode ekstraksi microwave assisted extraction terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*

1.4.3 Manfaat Praktis

Mengetahui efek dan jumlah kadar dari buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) metode ekstraksi microwave assisted extraction yang berfungsi sebagai terapi infeksi bakteri.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

2.1.1 Morfologi

Mahkota dewa tumbuh di tanah yang gembur dan subur pada ketinggian 10-1.200 mdpl (meter di atas permukaan laut). perdu menahun ini tumbuh tegak dengan tinggi 1-2,5 m. batangnya bulat, permukaannya kasar, warnanya coklat, berkayu dan bergetah, percabangan simpodial. daun tunggal, letaknya berhadapan, bertangkai pendek, bentuknya lanset atau runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan licin, warnanya hijau tua, panjang 7-10 cm, lebar 2-5 cm. bunga keluar sepanjang tahun, letaknya tersebar di batang atau ketiak daun, bentuk tabung, berukuran kecil, bewarna putih, dan harum. Buah bentuknya bulat, diameter 3-5 cm, permukaan licin, beralur, ketika muda warnanya hijau dan merah setelah masak. Daging buah bewarna putih, berserat dan berair. Biji bulat, keras, bewarna coklat. Berakar tunggang dan bewarna kuning kecokelatan (Dalimartha 2008).

2.1.2 Taksonomi

Berdasarkan taksonomi tumbuhan, mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) digolongkan sebagai berikut :

Divisi : *Spermathophyta*

Subdivisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Rosidae*

Ordo : *Mytales*

Family : *Thymelaeceae*

Genus : *Phaleria*

Spesies : *Phaleria Macrocarpa Scheff Boerl*



Gambar 2.1 Buah mahkota dewa (Aisyah 2017)

2.1.3 Kandungan Kimia

Berdasarkan hasil penelitian simanjuntak dkk (2006) menunjukkan bahwa hasil penapisan fotokimia tanaman mahkota dewa mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin dan polifenol serta memiliki daya antioksidan yang kuat dari ekstrak etanol dan methanol buah tua mahkota dewa dengan daya inhibisi masing-masing ekstrak adalah 83,08% dan 79,03%. Menurut Romyami (2008) kandungan senyawa flavonoid pada buah masak rata-rata 1,7647 mg.L-1 atau 2,2334 mg.kg-1 atau 0,004463 % dan pada buah mentah rata-rata adalah 2,1535 mg.L-1 atau 2,7559 mg.kg-1 atau 0,005453 %.

2.1.4 Manfaat Dan Kegunaan

Sebagai obat tradisional, tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) khasiat dari buah/daging mahkota dewa dapat digunakan untuk disentri, psoriasis, serta menghilangkan jerawat (Dalimartha 2008). bagian dari daun mahkota dewa juga dapat digunakan untuk mengobati penyakit seperti: kanker, tumor, diabetes (kencing manis), pembengkakan prostat, asam urat, darah tinggi

(hipertensi), reumatik, batu ginjal, hepatitis, dan penyakit jantung (Harmanto, 2002).

Dosis efektif yang aman dan bermanfaat belum diketahui secara tepat.

Untuk obat yang diminum biasanya digunakan beberapa irisan buah kering (tanpa biji). Selama beberapa hari baru dosis ditingkatkan sedikit demi sedikit, sampai dirasakan manfaatnya. Untuk penyakit berat seperti kanker dan psoriasis, dosis pemakaian kadang harus lebih besar agar mendapat manfaat perbaikan.

Efek samping yang timbul harus diperhatikan (Dalimartha, 2008).

2.1.5 Kandungan Zat Aktif Tumbuhan Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Tumbuhan mahkota dewa termasuk dari salah satu family thymelaeaceae dan spesies *Phaleria macrocarpa*. Di dalam kulit buah mahkota dewa terkandung senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid. Sementara itu dalam daunnya terkandung alkaloid, saponin, serta polifenol. Menurut literatur bahwa senyawa saponin diklasifikasikan berdasarkan struktur aglikon ke dalam tripenoid dan steroid saponin. Kedua senyawa tersebut mempunyai efek anti inflamasi, analgesik, dan sitotoksik (Gotama dkk.,1999).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol (Sjahid.,2008). Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai anti bakteri dengan cara mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membrane sel bakteri tanpa dapat di perbaiki lagi (Juliantina.,2008).

Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu

komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina 2008). Selain itu bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino. Sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Gunawan 2009).

2.1.6 Metode Ekstraksi MAE (*Microwave Assisted Extraction*)

MAE adalah metode ekstraksi yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk mempercepat ekstraksi secara selektif melalui pemanasan pelarut secara cepat dan efisien (Jain dkk.,2009). ekstraksi berbantu gelombang mikro memiliki kelebihan dibandingkan ekstraksi dengan pemanasan konvensional. Kelebihan tersebut diantaranya, waktu ekstraksi yang lebih cepat, kebutuhan pelarut lebih sedikit dan rendaman ekstraksi lebih tinggi. Microwaves merupakan gelombang elektromagnetik tak terionkan dengan frekuensi antara 300 MHz - 300 GHz dan berada di antara sinar-X dan sinar infra merah dalam spektrum elektromagnetik. , pemanasan terjadi dengan cara yang ditargetkan dan selektif dengan hampir tidak ada panas yang hilang ke lingkungan. Prinsip pemanasan dengan microwave berdasarkan pada pengaruhnya yang langsung terhadap bahan/pelarut polar dan ditentukan oleh dua fenomena: ionic conduction dan dipole rotation yang sering terjadi secara simultan. Ionic conduction adalah migrasi elektrophoretic dari ion dibawah pengaruh perubahan medan listrik. Resistensi dari larutan untuk aliran ion ini akan menghasilkan gesekan dan, dengan demikian,

dapat memanaskan larutan. Dipole rotation merupakan penataan kembali dipole dari molekul dengan medan magnet berubah dengan cepat. Pada 2450 MHz, yang merupakan frekuensi yang digunakan dalam sistem komersial, dipol menyelaraskan dan acak $4,9 \times 10^9$ kali per detik dan hasil gerakan molekul menghasilkan pemanasan (Mandal dkk *et al.*,2007).



Gambar 2.2 Microwave Assisted Extraction

(Anton Paar,2017)

2.2 *Streptococcus pyogenes*

2.2.1 Morfologi Dan Taksonomi *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes mengandung antigen A. organisme ini mengandung β -hemolitik. *Streptococcus pyogenes* merupakan pathogen utama pada manusia yang menimbulkan invasi local dan sistemik dan kelainan imunologi pasca infeksi streptococcus. *Streptococcus pyogenes* secara khas menghasilkan zona hemolysis β yang besar (berdiameter 1 cm) di sekitar koloni yang berdiameter lebih dari 0,5 mm. organisme ini bersifat PYR-positif (hidrolisis 1-pirolidonil-2-naftilamid) dan biasanya sensitive terhadap bacitrasin (Jawetz *et al* 2007).

Streptococcus yang menimbulkan infeksi pada manusia adalah gram positif, tetapi varietas tertentu yang diasingkan dari tinja manusia dan jaringan binatang ada yang gram negatif. Pada perbenihan yang baru kuman ini Gram positif. Bila perbenihan telah berumur beberapa hari dapat berubah menjadi Gram negatif. Tidak membentuk spora, kecuali beberapa strain yang hidupnya saprofitik. Gram positif, strain yang virulen membuat selubung yang mengandung hyaluronic acid dan M Type specific protein

Berikut dibawah ini taksonomi dari *Streptococcus pyogenes* :

Kingdom : *Bacteria*
 Filum : *Firmicutes*
 Kelas : *Bacilli*
 Ordo : *Lactobacillales*
 Family : *Streptococaceae*
 Genus : *Streptococcus*
 Spesies : *Streptococcus pyogenes*



Gambar 2.3 *Streptococcus pyogenes*
(Erasmus.MC 2017)

2.2.2 Struktur Antigen Pada *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes menghasilkan tiga antigen protein permukaan yaitu protein M, T dan R. Protein M merupakan factor virulensi utama pada *Streptococcus pyogenes* grup A. Protein M terlihat seperti tonjolan mirip rambut pada dinding sel. *Streptococcus* bersifat virulen bila terdapat protein M, dan apabila tidak ada antigen spesifik-tipe M, Organisme ini mampu bertahan terhadap proses fagositosis oleh leukosit polimorfonikuler. Antigen T tidak berhubungan dengan virulensi *Streptococcus*. Tidak seperti protein M, zat T ini tidak tahan asam maupun panas (Jawetz *et al* 2007). Antigen R dapat dirusak oleh pepsin, tapi tidak dapat dirusak oleh tripsin (staff pengajar mikrobiologi FK UB, 2003, Staali L, *et al*, 2003).

2.2.3 Toksin Dan Enzim Pada *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes menghasilkan enzim serta toksin yang berpengaruh pada manusia. Streptokinase dihasilkan oleh berbagai strain *Streptococcus β* hemolitik grup A. enzim ini mengubah plasminogen pada plasma manusia menjadi plasmin, suatu enzim proteolitik aktif yang mencerna fibrin dan protein lain. Streptodornase (*Streptococcal Deoxyribonuclease*) melakukan depo-

larisasi DNA. aktivitas enzimatis dapat diukur dengan menghitung penurunan viskositas larutan DNA yang diketahui. Campuran dengan streptokinase digunakan pada debridement enzima (Jawetz *et al* 2007). Hialurodinase memecah asam hialuronat, sebuah komponen penting bahan dasar jaringan ikat. Ada beberapa jenis *Streptococcus* Grup A yang dapat menghasilkan hialuronidase dalam cairan perbenihan, jenis ini tidak membentuk selubung. Hialuronidase dibuat oleh *Streptococcus* Grup B, C dan G. hialuronidase membantu penyebaran kuman. Tetapi enzim yang telah dimurnikan dapat membantu dalam penyebaran obat dan penyerapan obat yang disuntikan ke dalam jaringan tubuh (Sya-rurachman dkk.,2012).

Eksotoksin Pirogenik (Toksin Eritrogenik) dihasilkan oleh *Streptococcus* Grup A. ada tiga jenis eksotoksin yang dibedakan berdasarkan antigen yaitu A, B, dan C. eksotoksin A mempunyai faga lisogenik (lysogenic phage) yang merupakan sebuah superantigen.eksotoksin pirogenik dapat menyebabkan sindrom syok toksik *Streptococcus* dan demam scarlet. eksotoksin C juga bereperan menyebabkan sindroma tersebut. Peran dari Eksotoksin pirogenik B masih belum diketahui lebih jelas (Jawetz *et al* 2007). kerentanan terhadap toksin eritrogenik dapat dibuktikan dengan test dari Dick, yaitu dengan menyuntikan 1 STD (skin test dose) toksin yang terdiri dari 0,1 ml toksin eritrogenik standar yang telah diencerkan, secara intradermal pada lengan bawah. Hasil positif bila timbul edema atau eritema dengan diameter lebih dari 10 mm setelah 8 – 24 jam (Sya-rurachman dkk.,2012).

Hemolisin In vitro *Streptococcus* dapat menyebabkan terjadinya hemolisis pada sek darah merah dalam berbagai taraf. Jika penghancuran sel darah merah terjadi secara lengkap disertai pelepasan hemoglobin maka disebut he-

molisis. Jika penghancuran tidak lengkap disertai pembentukan pigmen disebut alfa hemolysis. *Streptococcus* Group A β hemolyticus membentuk 2 macam hemolisin yaitu streptolisin- O dan streptolisin-S. streptolisin O adalah suatu toksin yang terdiri dari 60.000 dalton. Aktif dalam suasana anaerob yaitu melisiskan sel darah merah. Streptolisin S adalah suatu toksin yang mempunyai berat 20.000 dalton, bersifat antigen lemah karena di dalamnya mengandung polipeptida dengan berat molekul 2.800 dalton. pembentukannya bertambah jika di dalam perbenihan di tambahkan cysteine atau senyawa sulfhydryl lainnya. Toksin ini menyebabkan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni kuman yang ditanam pada lempeng agar darah pada suasana anaerob (Syarurachman dkk.,2012).

2.2.4. Patofisiologi Dan Manifestasi Klinis *Streptococcus pyogenes*

2.2.4.1 Patofisiologi *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes mempunyai beberapa vaktor virulensi yang memungkinkannya berikatan dengan jaringan inang. Mengelakkan respon imun, menyebar dengan melakukan penetrasi ke lapisan jaringan inang (Patterson *et al.*,1996).

Kapsul karbohidrat yang tersusun atas asam hialuronat mengelilingi bakteri, melindunginya dari fagositosis oleh neutrofil. Disamping itu, kapsul dan beberapa factor yang melekat di dinding sel, termasuk protein M, asam lipoteikoat, dan protein F memfasilitasi perekatan sejumlah sel inang (Bisno AL *et al*, 2003)

Tempat masuk bakteri menentukan gambaran klinis utama. Namun, pada setiap kasus terjadi penyebaran infeksi secara luas dan cepat yang mengenai jaringan dan menjalar sepanjang jalur limfatik dengan supurasi local yang mini-

mal, dari sistem limfatik, infeksi dapat menyebar ke aliran darah. Infeksi tersering akibat *Streptococcus pyogenes* adalah faringitis. *Streptococcus* Grup A yang virulen menempel pada epitel faring dengan pili permukaan yang dilapisi oleh asam lipotelkoat. fibrokonektin glikoprotein (BM 440.000) pada sel epitel mungkin bertindak sebagai asam lipoteikoat. (Jawet *et al.*, 2007)

2.2.4.2 Manifestasi Klinis *Streptococcus pyogenes*

Terdapat banyak macam penyakit/bentuk klinis yang disebabkan oleh infeksi *Streptococcus pyogenes*. Diantaranya yaitu :

Radang tenggorokan suatu penyakit yang hampir semua orang pernah merasakan. Disebabkan *Streptococcus β hemolyticus*. Pada bayi dan anak kecil timbul dengan nasofaringitis serta secret serosa dan demam. Infeksinya cenderung meluas ke telinga tengah, anthrum mastoideus dan selaput otak. Penyakit tersebut dapat berlangsung selama berminggu – minggu. Pada anak – anak penyakit cenderung berlangsung akut dengan nasofaringitis serta tonsillitis, selaput lendir hiperemis dan membengkak dengan eksudat yang purulen. 20% dari infeksi ini tidak menimbulkan gejala (asimptomatik) (Hadinegoro.,2005).

Jika kuman membuat toksin eritrogenik, dapat timbul demam scarlet. Pada demam scarlet kuman terdapat di dalam faring, tetapi toksineritrogenik yang dihasilkan menyebabkan terjadinya kemerah – merahan yang difus. Eritema timbul di leher, meluas ke tubuh, kemudian menyebar ke ekstremitas. Secara histologi terlihat adanya ekstrasvasasi leukosit polymorphonuclear dan sel – sel darah merah dari pembuluh darah kecil ke dalam kulit. Zat anti eritrogenik dapat mencegah rash, tetapi tidak berpengaruh terhadap infeksi kuman *Streptococcus*.

Jika peradangannya hebat, dapat timbul abses peritonsiler atau ludwigs angina,

dengan pembengkakan yang massif di dasar mulut serta dapat menyumbat pernafasan. Dengan reaksi Schult-Charlton dapat dibuktikan apakah suatu rash terjadi karena toksin eritrogenik atau bukan (Swanny.,2011). Jika port d entre berada di kulit dapat menyebabkan erysipelas edema massif kecoklatan dari tepi infeksi, selulitis terjadi setelah infeksi akibat trauma, luka bakar, terdapat rasa nyeri, bengkak dan eritema. Pada selulitis lesi tidak meninggi dan batas jaringan yang sakit dan sehat tidak jelas (Jawetz *et al.*,2007).

2.2.5 Uji Kepekaan Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Hermawan dkk., 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini 2007).

2.2.6 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antimikroba bekerja dengan prinsip toksisitas selektif, yang berarti antimikroba tersebut bersifat selektif terhadap mikroba, sedangkan tidak bersifat toksik terhadap sel tubuh. Antimikroba bekerja melalui beberapa mekanisme, yaitu:

1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri
2. Menghambat fungsi membran sel bakteri
3. Menghambat sintesis protein
4. Menghambat sintesis asam nukleat pada bakteri

(Carrol *et al.*, 2015)

2.2.6.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel Bakteri

Antimikroba yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel bakteri bekerja diawali dengan melekat pada receptor yang bernama Penicilin Binding Protein (PBP). Terdapat setidaknya 6 jenis PBP dengan reaksi yang berbeda-beda antara perlekatan antimikroba pada 1 PBP dengan PBP lainnya. Setelah obat tersebut melekat pada PBP. Reaksi transpeptidasi terhambat, dan reaksi pembentukan peptidoglikan terhambat. Reaksi berikutnya kemungkinan adalah reaksi yang berupa inaktivasi dari inhibitor enzim-enzim autolisis pada dinding sel yang menyebabkan teraktivasi enzim litik yang menyebabkan terjadinya lisis pada kondisi yang hipertonik (Carrol *et al.*, 2015).

2.2.6.2 Menghambat/Merubah Fungsi Membran Bakteri

Antimikroba yang memiliki mekanisme menghambat/merubah fungsi bakteri memiliki berbagai macam mekanisme. Ada zat yang bekerja dengan cara

merusak membran sel secara umum (deterjen). Golongan Polimiksin bekerja dengan cara merusak membran sel yang mengandung fosfatidiletanolamin, sebuah komponen yang banyak terdapat pada membran sel bakteri. Golongan asam nalidiksat dan novobiocin menghambat fungsi biosintesis dari membran sitoplasma. Ada golongan obat lainnya yang bekerja dengan cara menyebabkan difusi yang cepat dari kation-kation spesifik melalui membran. (Carrol *et al.*, 2015)

2.2.6.3 Menghambat Sintesis Protein

Golongan aminoglikosida menghambat sintesis protein dengan mengganggu aktivitas normal kompleks inisiasi dari pembentukan peptida golongan makrolida berikatan dengan subunit 50s dari ribosom yang menyebabkan gangguan pada pembentukan kompleks inisiasi pembuatan peptida atau dapat juga mengganggu reaksi translokasi aminoasil. Golongan lincosamid berikatan dengan protein subunit 50s dan memiliki mekanisme yang hampir sama seperti golongan makrolida. Golongan tetrasiklin berikatan secara reversibel pada protein subunit 30s pada ribosom dan menghambat perlekatan dari aminoasil-tRNA yang menyebabkan pencegahan tereksposnya asam amino baru pada rantai peptida yang memiliki sifat baru dibentuk. Glisilsiklin memiliki mekanisme yang sama dengan tetrasiklin. Kloramfenikol berikatan dengan protein subunit 50s yang menyebabkan gangguan pada perlekatan asam amino pada rantai peptida yang baru dibentuk karena kloramfenikol menghambat peptidil transferase. Kloramfenikol memiliki efek bakteriostatik. Streptogramin melekat dengan tidak reversibel pada subunit 50s. Oxazolidinone menghambat pembentukan N-formilmethionil-tRNA, kompleks inisiasi pada ribosom 23s. (Carrol *et al.*, 2015)

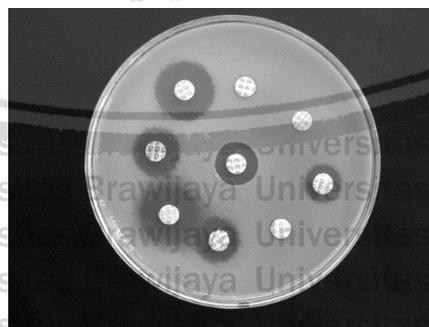
2.2.6.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Golongan Rifampicin menghambat pertumbuhan bakteri dengan berikatan secara kuat pada DNA-dependent RNA polimerase bakteri yang menyebabkan terhambatnya sintesis RNA. Golongan quinolon dan fluoroquinolon menghambat sintesis DNA mikroba dengan menghambat DNA gyrases, enzim topoisomerase. Sulfonamid bekerja dengan berkompetisi dengan PABA untuk mencari center aktif enzim. Golongan trimetoprim menghambat asam dehidrofolat reduktase yang mengganggu sintesis DNA. Pyrimetamin memiliki mekanisme yang sama dengan trimetoprim (Carrol *et al.*, 2015).

2.2.7 Metode Pengujian Antibakteri

2.2.7.1 Metode Difusi

Penentuan aktivitas antibakteri didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan dilihat dari apakah terdapat zona hambatan atau tidak pada sekeliling lempeng agar. Dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu dengan difusi cakram dan difusi sumuran.



Gambar 2.4 Difusi Cakram (handana 2016)

1. Difusi Cakram

Cara ini sering digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*disc paper*) yang berfungsi sebagai tempat penampung zat anti mikroba.

Kertas saring tersebut kemudian di letakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasikan di mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya hasil bias diamati setelah inkubasi 18-24 jam dengan suhu 37 derajat selsius. hasil pengamatan berupa ada atau tidaknya daerah bening pada sekeliling kertas cakram (Bo-nang.G.,1992)

Metode cakram atau *disc* memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya mudah dilakukan, serta tidak memerlukan peralatan khusus dan relative murah. Sedangkan kelemahan dari cakram *disc* adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi, dan preinkubasi serta ketebalan dari medium.(Pelczar, MJ.,E.Schan.,1988) Zona hambat metode difusi berbanding terbalik dengan KHM. Semakin luas zona hambat, maka semakin kecil KHM (Soleha 2015).



Gambar 2.5 Difusi sumuran
(akhanggit,2010)

2. Difusi Sumuran

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat pada sekeliling lubang (Bonang G.,1992).

2.2.7.2 Metode Dilusi Tabung



Gambar 2.6 Dilusi tabung (Emaze,2017)

Cara ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antimikroba secara kuantitatif. Anti mikroba di larutkan dalam media agar atau kaldu kemudian di tanam bakteri yang akan di uji. Dasar penentuan antimikroba secara in vitro adalah kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Kadar hambat minimum merupakan konsentrasi terendah ekstrak antimikroba pada tabung yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan hasil yang dapat dilihat dari kekeruhan pembiakan cair. Sedangkan kadar bunuh minimum adalah konsentrasi terendah antimikroba yang dapat membunuh 99,9% pada biakan selama waktu yang ditentukan. Penentuan konsentrasi minimum antimikroba membunuh bakteri atau KBM dilakukan dengan menanam bakteri pada pembedihan

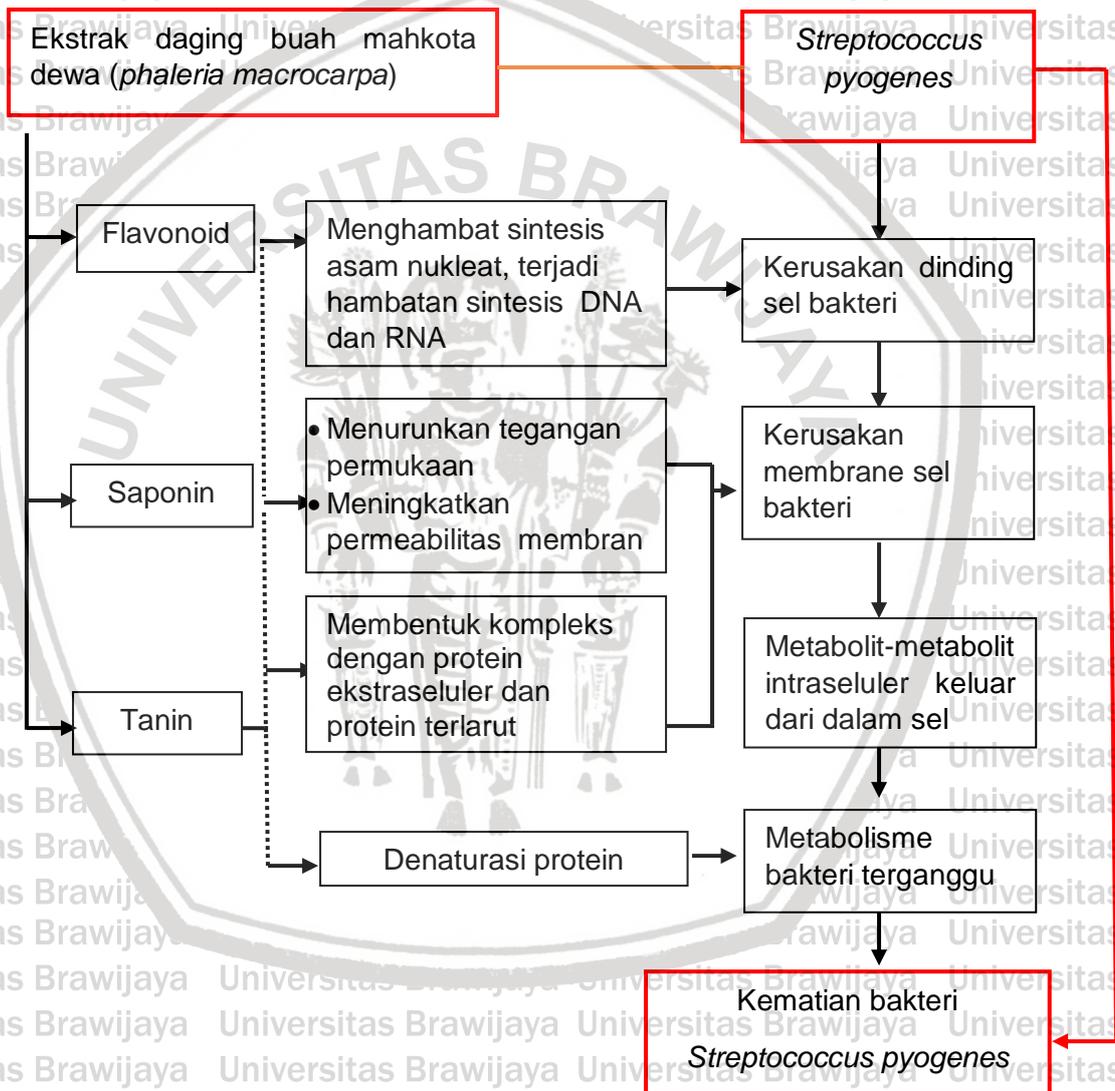
cair yang digunakan untuk KHM ke dalam agar kemudian diinkubasi semalam pada 37°C. KBM adalah ketika tidak terjadi pertumbuhan lagi pada agar (Soleha, 2015).



BAB 3

KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan

: variabel yang akan di teliti

: variable yang tidak di teliti

3.1.1 Penjelasan Kerangka Konsep

Flavonoid merupakan salah satu dari sekian banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman yang bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri, sehingga dapat merusak membran sitoplasma bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Senyawa flavonoid bersifat lipofilik sehingga mampu mengikat fosfolipid – fosfolipid pada dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri lisis dan senyawa dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Pada inti sel senyawa akan berikatan dengan lipid DNA bakteri sehingga menghambat replikasi DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis

Saponin adalah glikosida triterpenoid dan steroid saponin bersifat sebagai surfaktan yang berbentuk polar memecah lemak pada membrane sel bakteri. Senyawa saponin dapat bersifat antibakteri dengan merusak membran sel. Rusaknya membran menyebabkan substansi penting keluar sel dan juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel. Jika fungsi membran sel dirusak maka akan mengakibatkan kematian sel. menyatakan bahwa saponin adalah senyawa polar yang keberadaannya dalam tumbuhan dapat diekstraksi dengan pelarut semi polar dan polar.

Tanin diketahui memiliki efek antimikroba, dengan mekanisme membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut yang mengakibatkan membrane sel bakteri rusak sehingga metabolit intraseluler keluar dari dalam sel.

Pengaruh fitokimia ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. dapat dilihat dengan menentukan

zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Zona inhibisi merupakan zona bening di sekitar lubang sumuran yang menunjukkan terjadinya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Sehingga dari percobaan itu dapat diketahui ekstraksi buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) sebagai anti bakteri, efektif dalam membunuh bakteri *Streptococcus pyogenes*

3.2 Hipotesis

Ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria Macrocarpa*) dengan menggunakan metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro*.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental-post test only control group design*, dengan fokus penelitian pada keadaan bakteri *Streptococcus pyogenes* setelah perlakuan berupa pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) secara *in vitro* melalui metode difusi sumuran untuk menentukan zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dan sampel bakteri uji yang digunakan dalam penelitian adalah *Streptococcus pyogenes* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

4.3 Pengulangan

Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus (Solimun, 2001) :

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

Keterangan

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

Dalam penelitian ini digunakan 7 macam perlakuan yaitu buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50% berupa bakteri *Streptococcus pyogenes* yang diberi akuades, maka :

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

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3.14 \text{ (dibulatkan menjadi 4)}$$

Jumlah perlakuan ulang (n) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3.14 yang kemudian dibulatkan menjadi 4 kali pengulangan

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode ekstraksi Microwave Assisted Extraction (MAE) dengan konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50% kontrol berupa bakteri *Streptococcus pyogenes* yang diberi akuades dan antibiotik penisillin sebagai kontrol positif. Dilakukan penelitian pendahuluan untuk menentukan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa yang akan digunakan dalam penelitian definit

4.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran.

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dari bulan Februari 2017. Bahan dan tempat

ekstraksi ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) diperoleh di UPT Materija medica kota batu.

4.6 Definisi Operasional

1. Buah mahkota dewa adalah buah yang masih segar dan dalam keadaan bersih, didapatkan dari tanaman milik masyarakat di lawang, malang.
Buah mahkota dewa yang digunakan sebanyak 5 kg.
2. Serbuk buah mahkota dewa adalah hasil dari buah mahkota dewa yang telah dikeringkan dan dihaluskan. Proses tersebut dilakukan di UPT Materija Medika, Batu, Jawa Timur. Buah mahkota dewa segar sebanyak 5 kg menghasilkan serbuk buah mahkota dewa sebanyak 795 g, dengan warna putih kecoklatan.
3. Pelarut etanol 96% digunakan untuk melarutkan komponen fitokimia yang dibutuhkan sebagai antibakteri seperti saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid. Serbuk buah mahkota dewa dilarutkan dengan etanol 96%, dengan rasio perbandingan serbuk buah mahkota dewa atau simplisia adalah 1 dan pelarut adalah 5. Sebanyak 150 gram simplisia dilarutkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 750 ml. setelah dilakukan MAE menghasilkan filtrate sebanyak 320 ml dengan warna kuning pekat.
4. *Rotatory evaporator* adalah alat yang digunakan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Proses ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
5. Ekstrak buah mahkota dewa adalah serbuk buah mahkota dewa yang telah ekstraksi dengan metode *Microwave assisted extraction* (MAE) yang dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Hasil akhir ekstrak buah mahkota dewa setelah dilakukan MAE selama 10 menit dan *Rotatory evaporator* adalah berwarna kuning kehijauan dengan konsistensinya kental dan berupa pasta dengan berat 6,2 g.

6. Bakteri *Streptococcus pyogenes* yang digunakan dalam penelitian berasal dari stock culture Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
7. Kelompok kontrol negatif bakteri adalah dengan perlakuan akuades.
8. Kelompok perlakuan adalah kelompok dengan perlakuan ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%.
9. Zona inhibisi adalah zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumbu-ran dan menunjukkan bahan antimikroba dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin lebar zona inhibisi maka semakin rentan bakteri tersebut terhadap ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Diameter zona inhibisi diukur dalam satuan milimeter (mm).
10. Potensi antimikroba adalah suatu ukuran yang di dapat dari pengaruh tiap konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dalam menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes*. Dilihat dari luas zona inhibisi yang terbentuk.

4.7. Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat Dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Buah Mahkota Dewa dengan Metode MAE

1. Alat

- a. Microwave (Modena MV series)
- b. Penguap putar vakum
- c. Labu destilasi
- d. Kuvet kuarsa
- e. Vortex-mixer
- f. Oven
- g. Erlenmeyer
- h. Beaker glass
- i. Gelas ukur
- j. Corong
- k. Spatel
- l. Sendok tanduk
- m. Karsa kasar
- n. Timbangan analitik
- o. Mesin *rotatory evaporator*

2. Bahan

- a. Serbuk buah mahkota dewa
- b. Etanol 96%

4.7.2 Alat dan Bahan untuk Metode Sumuran

1. Alat

- a. Cawan petri
- b. Pelubang sumuran
- c. Pipet mikro
- d. Incubator
- e. Bunsen burner

- f. Korek api
- g. Penggaris
- h. Jangka sorong
- i. *Rotatory evaporator*

2. Bahan

- a. Buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)
- b. Suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* 10^8 CFU/ml
- c. Aquades
- d. Selective Blood agar medium

4.7.3 Alat Dan Bahan Pewarnaan Gram Bakteri

1. Alat

- a. Gelas objek
- b. Kertas penghisap
- c. Mikroskop

2. Bahan

- a. *Streptococcus pyogenes*
- b. Lugol
- c. Kristal violet
- d. Safranin
- e. Akuades steril
- f. Minyak emersi
- g. Kertas penghisap atau tisu

4.7.4 Alat Dan Bahan untuk Tes Katalase Bakteri

1. Alat

- a. Ose
- b. Pipet
- c. Object glass

2. Bahan

- a. Akuades
- b. *Streptococcus pyogenes*
- c. H_2O_2

4.7.5 Alat Dan Bahan untuk Tes Bacitracin

1. Alat
 - a. Ose
 - b. Blood agar medium
 - c. Cawan petri dengan blood agar
 - d. Bunsen burner
 - e. Pinset
2. Bahan
 - a. *Streptococcus pyogenes*
 - b. Bacitracin disk

4.7.6 Alat Dan Bahan untuk Tes Hemolisis Bakteri

1. Alat
 - a. Ose
 - b. Cawan petri dengan blood agar
 - c. Incubator
2. Bahan
 - a. Koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*

4.8 Prosedur penelitian

4.8.1 Pembuat ekstrak dengan metode MAE

1. serbuk buah mahkota dewa ditimbang 1 gram
2. serbuk dilarutkan dalam etanol 96% dengan perbandingan dan pelarut adalah 1:5
3. dipanaskan dalam microwave dengan suhu 50°C selama 10 menit untuk masing-masing perlakuan
4. ekstrak kasar disaring dengan kertas saring halus, ditempatkan pada botol kaca

5. filtrate hasil saringan dipekatka menggunakan roratory evaporator dengan suhu 50°C hingga dihasilkan ekstrak kental dan ekstrak terpisah dengan etanol.

4.8.2 Identifikasi Bakteri

4.8.2.1 Pewarnaan Gram (Brooks *et al.*, 2013)

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui *Streptococcus* termasuk bakteri Gram positif atau Gram negative. Prosedur pewarnaan Gram, sebagai berikut.

1. Gelas obyek dibersihkan dengan kapas steril, kemudian dilewatkan di atas api lalu dibiarkan dingin.
Satu tetes akuades steril ditetaskan pada gelas obyek.
2. Dengan ose jarum yang steril, diambil sedikit bakteri *Streptococcus pyogenes* yang tumbuh pada medium padat kemudian disuspensikan dengan satu tetes akuades steril yang sudah ditetaskan terlebih dulu pada gelas obyek. Hapusan sebaiknya dibuat tipis.
3. Hapusan dibiarkan kering di udara. Setelah kering hapusan difiksasi dengan cara melewatkan sediaan sebanyak tiga sampai lima kali di atas api. Sediaan siap diwarnai.
4. Sediaan ditetesi dengan kristal violet dan ditunggu selama satu menit. Kemudian sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.
5. Sediaan dituangi dengan lugol dan ditunggu selama satu menit setelah itu sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.
6. Sediaan dituangi dengan alkohol 96% dan ditunggu 5-10 detik, kemudian sisa alcohol dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.

7. Sediaan dituangi safranin dan ditunggu selama 30 detik, kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi minyak imersi lalu dilihat di bawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 97-100x.
9. Bakteri *Streptococcus pyogenes* yang teramati di bawah mikroskop berupa bakteri berbentuk batang dan berwarna biru. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa *Streptococcus pyogenes* mengambil warna pembanding yang berwarna biru sehingga termasuk dalam golongan bakteri Gram positif.

4.8.2.2 Tes Hemolysis

1. Koloni bakteri ditanam pada Blood agar plate dengan menggunakan metode *streaking*.
2. Koloni bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam.
3. Diamati jenis hemolisis yang terjadi pada blood agar.
4. *Streptococcus pyogenes* akan menghasilkan hemolisis tipe β -hemolisis.

4.8.2.3 Tes Bacitracin

1. Tempatkan koloni yang diduga merupakan koloni *Streptococcus* yang memiliki sifat β hemolitik pada Blood agar dengan menggunakan ose, menggunakan metode *streaking*.
2. Menggunakan pinset yang dipanaskan, tempatkan bacitracin disk pada daerah yang memiliki jumlah koloni paling banyak.
3. Tempatkan bacitracin disk dengan menggunakan pinset yang dipanaskan, untuk memastikan bacitracin disk melekat dengan baik.
4. Inkubasikan Blood Agar Plate pada suhu 35°C selama 18 sampai 24 jam.

5. Setelah periode inkubasi, amati apakah ada zona inhibisi koloni di sekitar bacitracin disk

4.8.2.4 Tes Katalase

1. Ose dipanaskan, lalu biarkan dingin.
2. Siapkan gelas objek. Tetesi dengan akuades steril.
3. Koloni bakteri diambil menggunakan ose, dicampur dengan akuades yang telah ditetesi sebelumnya diatas gelas objek.
4. Larutan H₂O₂ ditetaskan secukupnya.
5. Diamati apakah ada gelembung yang dihasilkan atau tidak
6. Hasil tes katalase pada bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah positif, yaitu menghasilkan gelembung diatas gelas objek.

4.8.2.5 Kultur untuk Identifikasi Bakteri

Bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat diidentifikasi dengan melakukan kultur pada Selective Blood agar medium, sebagai berikut.

1. Pada penelitian ini dilakukan tes identifikasi *Streptococcus pyogenes* dengan melakukan streaking (penggoresan) bakteri pada medium *Selective Blood agar medium*.
2. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37° – 42° C selama 18-24 jam dan dilihat penampakan koloni bakteri pada medium.
3. Koloni *Streptococcus pyogenes* pada Selective Blood agar medium berwarna putih berukuran 0.5-1mm dengan clear zone beta hemolitikus.

4.8.2.6 Pembuatan Pembenuhan Cair Bakteri Kepadatan 10⁸ CFU/ml

Pembuatan suspensi uji *Streptococcus pyogenes* (10⁸ CFU/ml) adalah sebagai berikut :

1. Beberapa koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* diambil dari lempeng *Selective Blood agar medium* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *Nutrient Broth*.
2. Tabung reaksi lalu diinkubasikan dalam incubator pada suhu 37° selama 18-24 jam.
3. Dilakukan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui OD (*Optical Density*) dari suspensi.
4. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10⁸ CFU/ml (sesuai standar McFarland 0.5) yang setara dengan OD=0.1 maka dilakukan perhitungan sebagai berikut :

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

Keterangan :

N₁ = Nilai absorbs suspensi (hasil spektrofotometri)

V₁ = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N₂ = *Optical Density* (0,1 setara 10⁸ CFU/ml)

V₂ = volume suspensi bakteri uji (10ml)

Dari hasil perhitungan maka diperoleh volume bakteri (ml) yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan konsentrasi 10⁸ CFU/ml sebanyak 10 ml.

4.8.3 Uji Sensitivitas Antimikroba

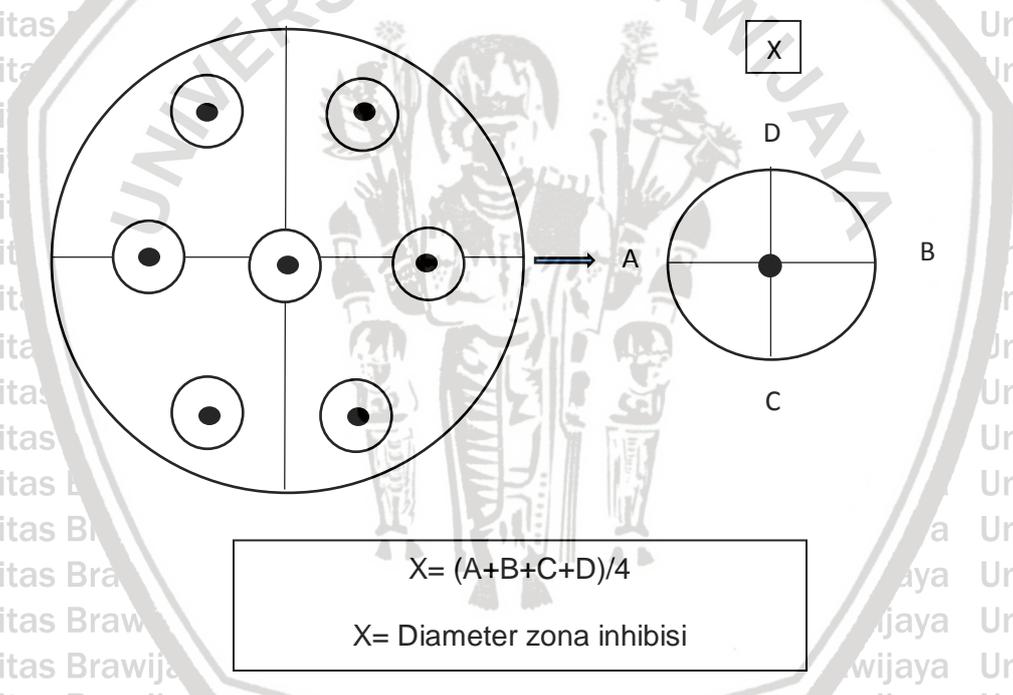
Dalam menguji sensitivitas antimikroba ekstrak etanol daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Streptococcus pyogenes* digunakan konsentrasi 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, dan 100%. Di tambah akuades

sebagai kontrol negatif dan antibiotik penicillin sebagai control positif. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) menggunakan metode difusi sumuran adalah sebagai berikut.

- a. Alat dan bahan disiapkan. Cawan petri sebanyak tujuh buah dengan rincian, satu untuk kontrol negatif (-), satu untuk kontrol positif (+) dan lima cawan petri lainnya diberikan tanda untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang akan dimasukkan.
- b. Suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* 10^8 CFU/ml dicampurkan dengan agar selected blood agar sebanyak 15 ml dalam cawan petri.
- c. Cawan petri digoyang-goyangkan sehingga campuran tercampur dengan baik, lalu diamankan beberapa saat hingga mengeras.
- d. Campuran selected blood agar dan suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* 10^8 CFU/ml dibagi empat dengan menggunakan penggaris.
- e. Lubang sumuran dibuat pada keempat sisi campuran selected blood agar dan suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* 10^8 CFU/ml yang telah di bagi sebelumnya, dengan menggunakan pelubang sumuran
- f. Cawan petri pertama berisi 40 μ l akuades sebagai kontrol, cawan petri kedua sampai ke enam berisi 40 μ l larutan ekstrak etanol daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi 50%,60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.
- g. Cawan petri dimasukkan ke dalam incubator selama 18-24 jam dengan suhu 37°C.
- h. Mengukur diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm)

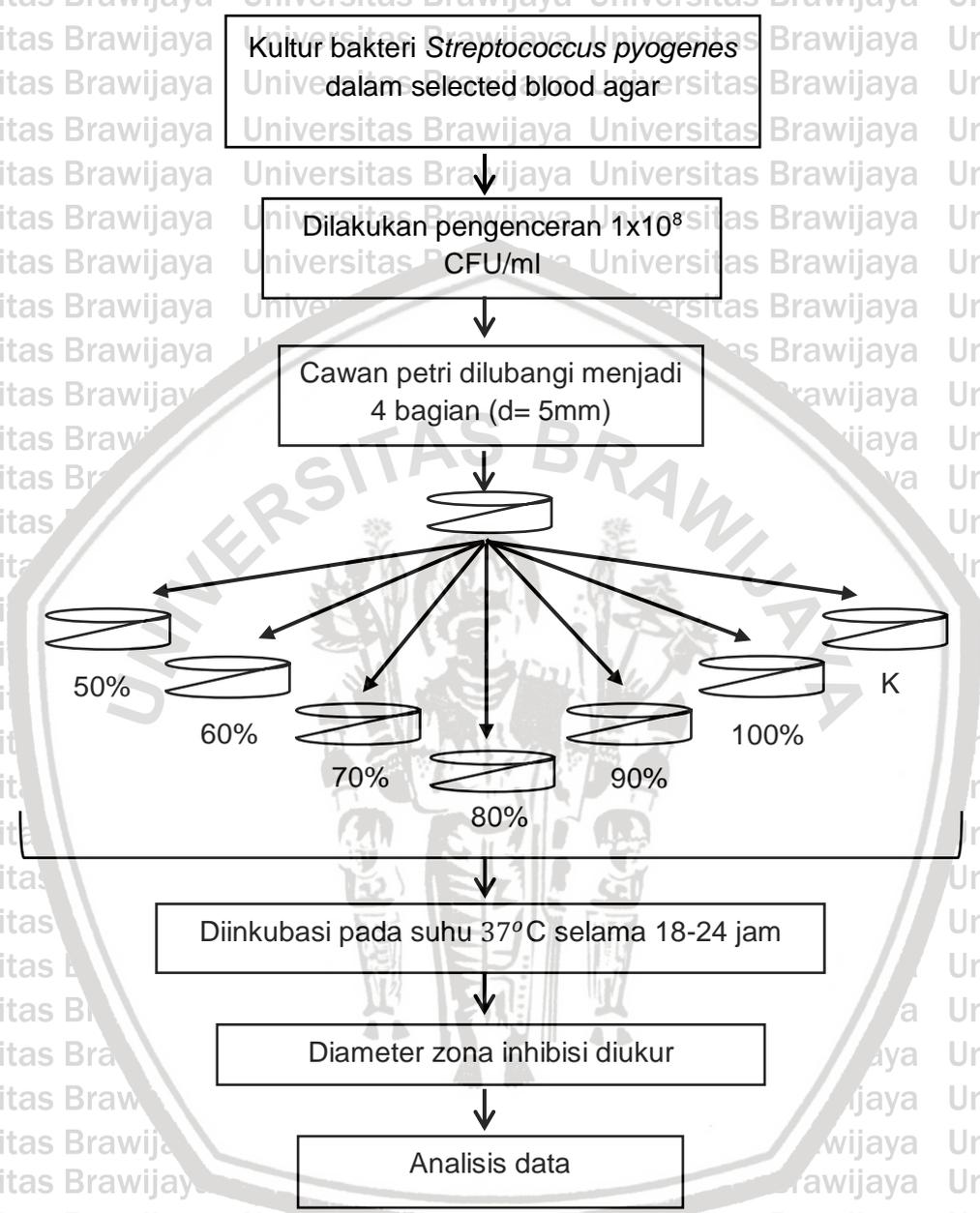
4.8.5 Pengamatan dan Pengukuran

Zona inhibisi yang dihasilkan mempunyai bentuk lingkaran dan diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 satuan milimeter (mm). Pengukuran diameter zona inhibisi dilakukan sebanyak 4 kali (arah vertikal, horizontal dan dua arah diagonal) dan dihitung rata-ratanya. Diameter diukur dari batas terluar dari zona inhibisi dari satu sisi ke sisi lainnya.



Gambar 4.1 Cara Pengukuran Diameter Zona Inhibisi.

4.8.5 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 4.2 Skema alur uji antimikroba ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Streptococcus pyogenes*.

4.9 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) untuk windows versi 17 (Dahlan, 2008).

Adapun langkah-langkah pengujian sebagai berikut.

1. Uji normalitas data dengan menggunakan *Kolmogorov Smimov test* untuk menguji apakah data tersebar normal (parametik) atau tidak tersebar normal (non parametik).

2. Uji komparasi dilakukan dengan cara *One-Way ANOVA > 2* kelompok untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*, dengan syarat:

- a. Sebaran data harus normal
- b. Varian data harus sama (homogen)

Kemudian dilanjutkan dengan uji post hoc menggunakan tukey. Namun jika data tidak homogen atau tidak tersebar normal, maka digunakan metode *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan ukuran zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran pada setiap perlakuan yang disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*), dan dilakukan uji post hoc menggunakan uji *mann whitney test*.

3. Uji korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui hubungan antara variable dependen dan variable independen. Jika data parametrik maka digunakan Uji Korelasi *Pearson*, sedangkan data non parametrik akan diuji dengan Uji Korelasi *Spearman*. Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan konsentrasi pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dan efeknya.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1 Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan MAE

Pembuatan ekstrak buah mahkota dewa dengan metode Microwave assisted extraction dilakukan di laboratorium sentral ilmu hayati dan laboratorium farmakologi fakultas kedokteran universitas brawijaya, malang, jawa timur.

Pembuatan ekstrak pada penelitian ini dilakukan sebanyak dua kali dengan variasi perbandingan simplisia pelarut dan waktu yang berbeda. Pada pembuatan ekstrak yang pertama menggunakan perbandingan simplisia pelarut adalah 1:9 lama ekstraksi 3 menit, sedangkan pada ekstrak kedua menggunakan perbandingan 1:5 dan 10 menit untuk lama ekstraksinya. Ekstrak pertama di buat dari serbuk buah mahkota dewa sebanyak 75 gram dilarutkan dalam 675ml pelarut etanol 96%. Setelah diekstraksi pada MAE selama 3 menit menghasilkan filtrat sebanyak 430 ml setelah disaring terlebih dahulu dengan menggunakan kertas kasa kasar. Untuk memisahkan pelarut dan ekstrak dilakukan menggunakan rotatory evaporator, hasil akhir yang di dapatkan ekstraksi buah mahkota dewa yang pertama adalah sebanyak 2 gram.

Ekstrak kedua dibuat dari buah mahkota dewa sebanyak 150 gram yang dilarutkan dengan 750 ml pelarut etanol 96% dengan waktu ekstraksi selama 10 menit. Setelah 10 menit di dalam alat MAE, ekstrak kedua menghasilkan filtrat

sebanyak 320 ml dan hasil akhir ekstrak buah mahkota dewa kedua adalah 6,2 gram. Hasil filtrat dari ekstrak buah mahkota dewa kedua lebih sedikit akan tetapi lebih berwarna kuning pekat di bandingkan hasil ekstrak yang pertama. Ekstrak buah mahkota dewa memiliki warna coklat kehitaman dengan konsistensi kental

gambar 5.1



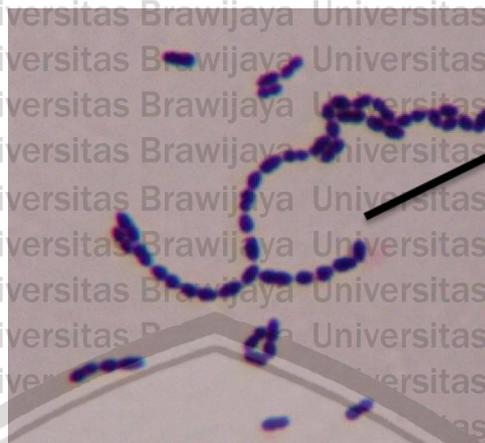
Gambar 5.1 Ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Keterangan : Pembuatan ekstrak buah mahkota dewa dilakukan dengan menggunakan metode MAE (Microwave assisted extraction) dilakukan di laboratorium sentral ilmu hayati dan menggunakan evaporator yang dilakukan di laboratorium farmakologi fakultas kedokteran universitas brawijaya.

5.1.2 Identifikasi Bakteri

5.1.2.1 Identifikasi *Streptococcus pyogenes*

Bakteri *Streptococcus pyogenes* yang akan digunakan dalam penelitian ini diperoleh dan telah di identifikasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Proses identifikasi terdiri dari uji pewarnaan Gram, uji katalase, bakteri medium BAP dan uji bacitracin .



Gambar 5.2 Hasil pewarnaan Gram *Streptococcus pyogenes*

Keterangan : Tanda panah pada gambar menunjukan bakteri *Streptococcus pyogenes* berbentuk rantai kokus berwarna ungu. Hasil pengecatan Gram dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali

5.1.3.1 Uji Katalase

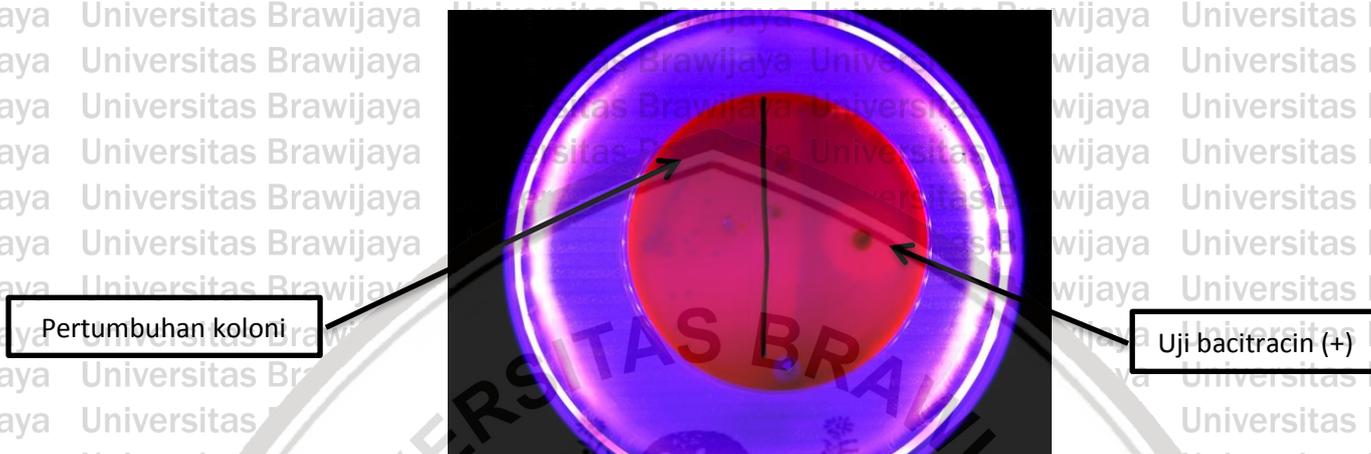
Hasil uji katalase pada bakteri *Streptococcus* menunjukkan hasil yang negative karena tidak terlihat adanya gelembung udara yang menandakan terjadi reaksi perubahan hidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2 oleh bakteri yang diuji.



Gambar 5.3 Hasil Uji Katalase

Keterangan : Gambar diatas menunjukkan katalase negatif karena tidak terdapat gelembung udara pada saat koloni bakteri ditetesi hydrogen peroksida.

5.1.4.1 Penanaman Bakteri Pada Media BAP dan Uji Bacitracin



Gambar 5.4 Penanaman Bakteri Pada Media BAP Dan Uji Bacitracin

Keterangan : Penanaman bakteri pada media BAP, tampak pada ujung panah koloni *Streptococcus Pyogenes* membuat sebagian media BAP tampak translusen atau bewarna bening maka hasil uji BAP adalah β hemolitik. Penanaman bakteri *Streptococcus Pyogenes* yang ditambahkan cakram antibiotik bacitracin, tampak pada ujung panah lebih translusen dan menghasilkan zona inhibisi

Bakteri *Streptococcus Pyogenes* ditanam dalam medium BAP dan cakram antibiotik basitrasin ditempelkan di area yang telah distreking pada plate . Hasil uji penanaman bakteri pada media BAP menunjukkan bahwa *Streptococcus* tersebut type β hemolitik karena di sebagian media BAP tampak translusen atau berwarna bening . uji cakram basitrasin menunjukkan bakteri *Streptococcus Pyogenes* membuat zona inhibisi di sekitar cakram di area plate yang tampak translusen . Hasil uji cakram menunjukkan bahwa bakteri yang di uji ini merupakan *Streptococcus pyogenes* atau bisa disebut juga *Streptococcus* group A (Gambar 5.4).

5.2. Hasil Uji Antibakteri

5.2.1. Hasil Uji Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak buah

mahkota dewa yang akan digunakan pada penelitian difusi sumuran yaitu 100%,

50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125%. Daya antibakteri ditandai adanya zona

hambat pertumbuhan bakteri pada sekeliling sumuran. Pada penelitian

pendahuluan di dapatkan Zona hambat pada konsentrasi 100% dan 50% hasil ini dapat diamati pada gambar 5.5. selanjutnya pada penelitian inti digunakan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa 100%,90%,80%,70%,60%,dan 50%



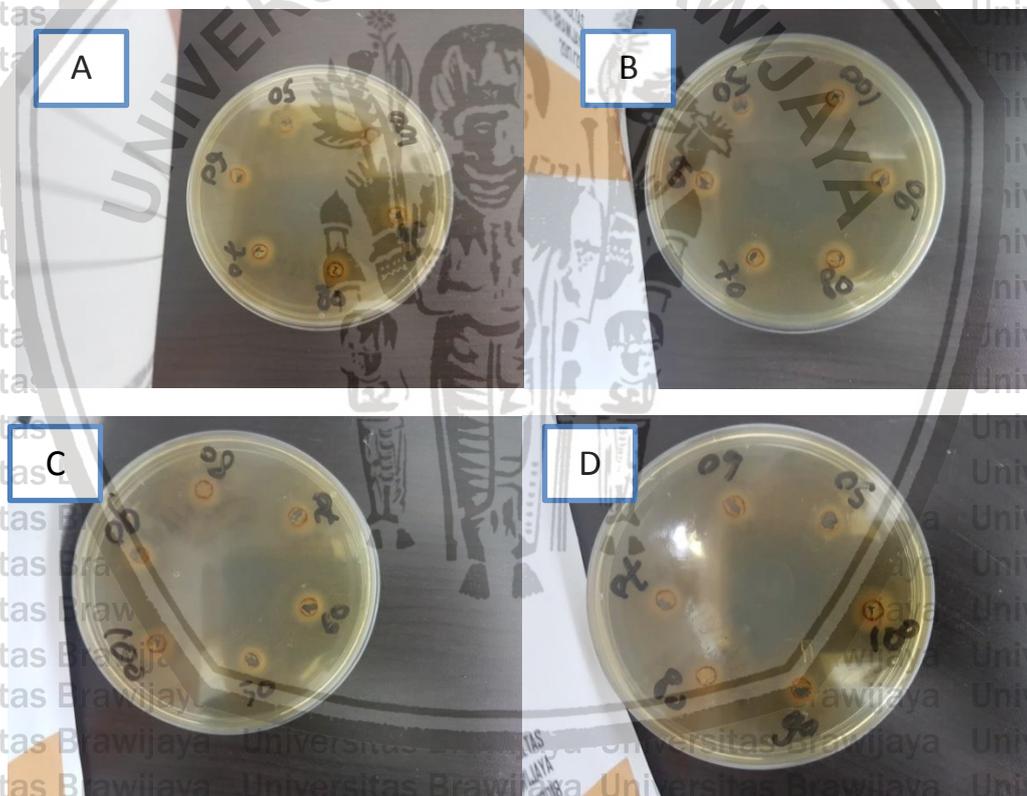
Gambar 5.5 Hasil Penelitian Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Keterangan gambar :

1. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 100% dengan rerata zona hambat 10.55 mm
2. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 50% dengan rerata zona hambat 7.1 mm
3. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 25% dengan rerata zona hambat 0 mm
4. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 12,5% dengan rerata zona hambat 0 mm
5. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 6.25% dengan rerata zona hambat 0 mm
6. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 3.125% dengan rerata zona hambat 0 mm
7. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 0% dengan rerata zona hambat 0 mm

5.2.2. Hasil Penelitian Inti Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Penentuan zona hambat menggunakan metode difusi sumuran pada penelitian ini dilakukan dengan mengamati terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri yang berada di sekeliling sumuran. Zona hambat yang dihasilkan mempunyai bentuk lingkaran dan diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0.1 mm. konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa yang digunakan adalah 100%,90%,80%,70%,60%,50%. Hasil dari difusi sumuran dapat diamati pada gambar 5.6



Gambar 5.6 Hasil Inti Difusi Sumuran Konsentrasi Ektstrak Etanol Buah Mahkota Dewa 100%,90%,80%,70%,60%,50%

Keterangan gambar :

1. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 100% dengan rerata zona hambat 10.675 mm
2. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 90% dengan rerata zona hambat 9.425 mm

3. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 80% dengan rerata zona hambat 8.8 mm
 4. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 70% dengan rerata zona hambat 8.42 mm
 5. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 60% dengan rerata zona hambat 8.0 mm
 6. Konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 50% dengan rerata zona hambat 7.975 mm
- A. Pengulangan uji difusi sumuran I
 - B. Pengulangan uji difusi sumuran II
 - C. Pengulangan uji difusi sumuran III
 - D. Pengulangan uji difusi sumuran IV

Gambar 5.6 menunjukkan adanya variasi ukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri setelah di inkubasi selama 18-24 jam. Secara umum dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa semakin besar zona hambat yang terbentuk.

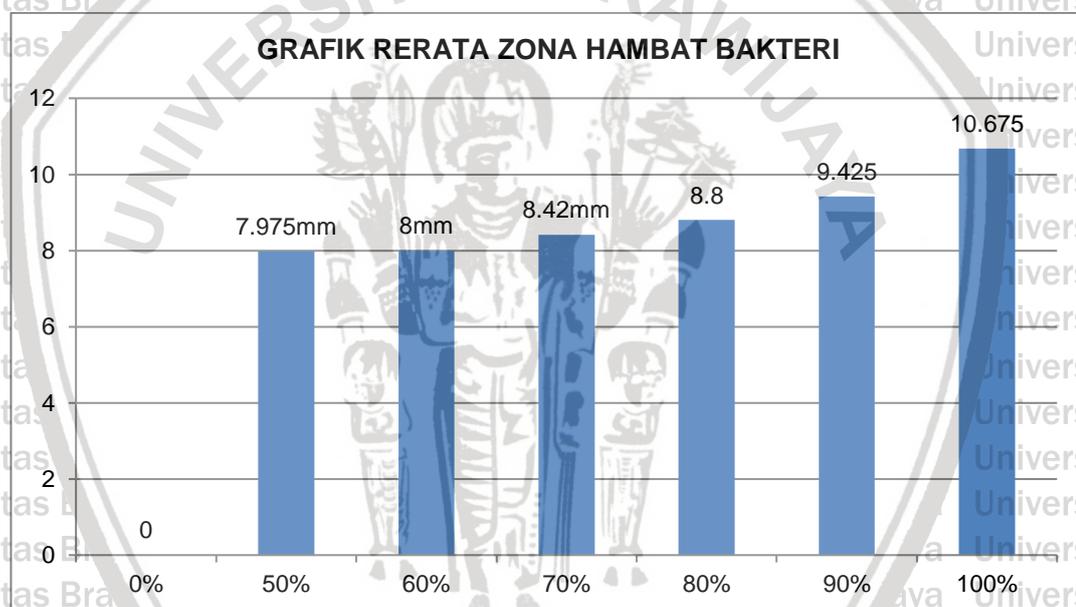
5.2.3. Hasil Pengukuran Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa (100%,90%,80%,70%,60%,50%). Efektifitas antimikroba ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* diuji dengan metode difusi sumuran. Pertumbuhan zona hambat bakteri terbentuk pada media medium BHI (*Brain heart infusion*) yang telah dicampur dengan isolate bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Zona hambat yang terbentuk pada masing – masing konsentrasi memiliki rata- rata diameter yang berbeda – beda. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk maka semakin besar daya antibakterinya. Berdasarkan hasil uji difusi sumuran dapat diukur zona hambat pertumbuhan bakteri dan dapat ditentukan besar zona hambat pada masing – masing konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Hasil perhitungan zona hambat ekstrak etanol buah mahkota dewa disajikan dalam tabel 5.1

Tabel 5.1 Rata-rata pengukuran diameter zona hambat bakteri ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Streptococcus pyogenes*

konsentrasi %	Zona hambat ekstrak buah mahkota dewa (mm)				Rerata (mm)
	I	II	III	IV	
0%	0	0	0	0	0
50%	6.55	7.0	8.5	9.85	7.975
60%	7.5	7.75	7.9	8.85	8.0
70%	8.05	8.25	8.42	8.75	8.42
80%	8.4	8.5	8.9	9.4	8.8
90%	9.1	9.1	9.6	9.9	9.425
100%	10.3	10.4	10.7	10.13	10.675



Gambar 5.1 Grafik Rerata Diameter Zona Hambat Bakteri *Streptococcus pyogenes* pada Ekstrak Buah Mahkota Dewa

Keterangan :

Berdasarkan tabel 5.1 dan gambar 5.9 di atas dapat dilihat perbedaan rerata diameter zona hambatan yang menunjukkan adanya perbedaan daya antimikroba masing-masing perlakuan. Kelompok kontrol akuades tidak menunjukkan adanya daya antimikroba. Kelompok perlakuan 100% menunjukkan zona hambatan yang terbesar dengan rerata zona hambat 10.675mm. konsentrasi ekstrak 50% menghasilkan rerata 7.975, 60% menghasilkan rerata 8mm, 70% menghasilkan rerata 8.42mm, 80% menghasilkan rerata 8.8mm, 90% menghasilkan rerata 9.425%. menghasilkan zona hambatan yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan konsentrasi tersebut memiliki daya antimikroba untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*.

5.3 Analisis Data

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak buah mahkota dewa pada media agar adalah variabel bebas, sedangkan diameter zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran adalah variabel tergantung. Uji hipotesis komparatif dan uji hipotesis korelatif yang digunakan dalam menganalisis data pada penelitian ini. Uji hipotesis komparatif dipilih untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran yang diberi beberapa konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis dibandingkan dengan yang tidak diberi ekstrak. Uji komparatif yang digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata data lebih dari dua kelompok adalah One-Way ANOVA. Syarat uji One-Way ANOVA adalah sebaran data sampel harus normal dan varian data harus homogen atau sama.

Langkah pertama dalam menganalisis data adalah melakukan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov Test dan uji homogenitas Levene Test Homogeneity of Variance.

5.3.1 Hasil Uji Kolmogrov Smirnov

Pengujian kenormalan residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* bertujuan untuk mengetahui normal tidaknya residual yang dihasilkan dari pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes*. Pengujian kenormalan residual dilakukan menggunakan Kolmogorov Smirnov, dengan kriteria apabila nilai probabilitas > level of significance ($\alpha = 5\%$) maka residual dinyatakan normal. Hasil pengujian normalitas residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa

(*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* dapat dilihat melalui tabel berikut :

Tabel 5.2 Kolmogorov Smirnov

Kolmogorov smirnov	0.145
Probabilitas	0.200

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa pengujian normalitas residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* menghasilkan statistik Kolmogorov Smirnov sebesar 0.145 dengan probabilitas sebesar 0.200. Hal ini dapat diketahui bahwa pengujian normalitas residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* menghasilkan probabilitas $>$ alpha (5%), sehingga residual tersebut dinyatakan normal.

5.3.2 Hasil Uji Lavene Test

Pengujian homogenitas residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* bertujuan untuk mengetahui apakah residual memiliki ragam yang homogen atau tidak. Pengujian kehomogenan residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* dilakukan menggunakan Levene Test, dengan kriteria apabila nilai probabilitas $>$ level of significance (alpha = 5%) maka residual dinyatakan homogen. Hasil pengujian homogenitas residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* dapat dilihat melalui tabel.

Tabel 5.3 Lavene Statistic

Lavene statistic	5.260
Probabilitas	0.004

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa pengujian kehomogenan residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* menghasilkan statistik Levene sebesar 5.260 dengan probabilitas sebesar 0.004.

Hal ini dapat diketahui bahwa pengujian residual pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* menghasilkan probabilitas $< \alpha$ (0.05), sehingga residual tersebut dinyatakan tidak memiliki ragam yang homogen.

5.3.3 Hasil Uji Kruskal Wallis

Uji non-parametrik Kruskal Wallis dilakukan untuk membandingkan beberapa kelompok statistic tidak terikat (konsentrasi ekstrak) dan mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa yang satu dengan yang lain (Mehotcheva, 2008). Hasil uji Kruskal Wallis dapat dilihat pada Tabel Pengujian perbedaan pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* dilakukan menggunakan Kruskal Wallis dengan hipotesis berikut ini:

H_0 : Tidak ada perbedaan pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes*

H1 : Minimal ada satu pasang perlakuan pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria Macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* yang berbeda signifikan

Kriteria pengujian menyebutkan apabila probabilitas \leq level of significance ($\alpha = 0.05$) maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* yang berbeda signifikan.

Hasil pengujian perbedaan pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* dapat dilihat melalui tabel berikut :

Tabel 5.4 Kruskal Wallis

Hasil uji kruskal walis	
Chi-Square Statistic	15.646
Probabilitas	0.008

Tabel di atas menginformasikan bahwa pengujian perbedaan pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* menghasilkan statistic uji F sebesar 15.646 dengan probabilitas sebesar 0.008. Hal ini dapat diketahui bahwa probabilitas $<$ α (0.05), sehingga H0 ditolak. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* yang berbeda signifikan.

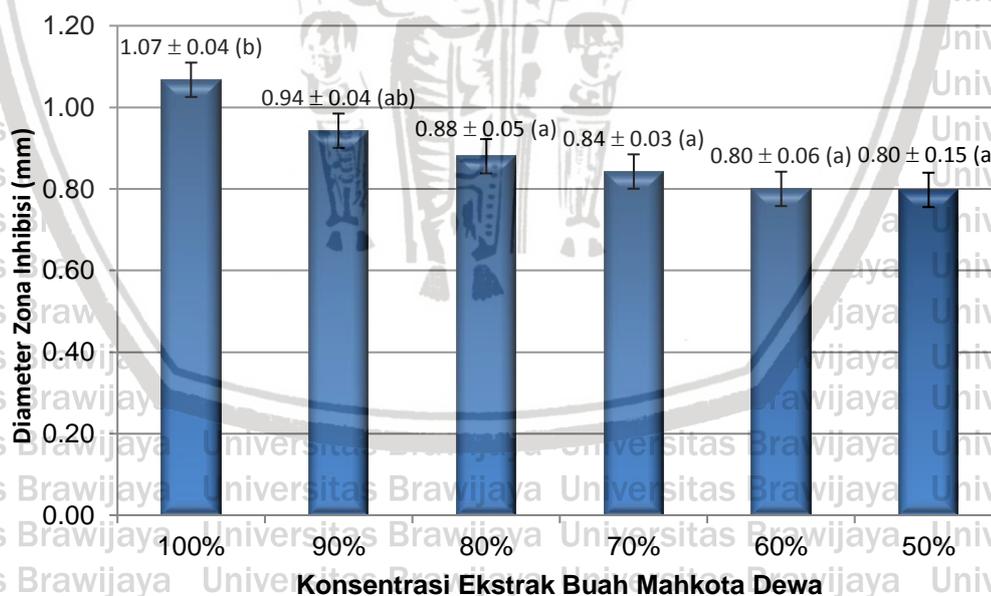
Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* yang berbeda signifikan dilakukan menggunakan Bonferroni dengan kriteria bahwa

apabila satu pasang waktu pertemuan menghasilkan probabilitas \leq level of significance (alpha = 5%) maka dapat dinyatakan terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes*. Hasil analisis Bonferroni perbedaan pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap daya hambat *Streptococcus pyogenes* dapat diketahui melalui tabel berikut ini :

Tabel 5.5 Hasil Uji Bonferroni

Perlakuan	Rata-rata	Probailitas						Notasi
		50%	60%	70%	80%	90%	100%	
50%	0.798	1.000	1.000	1.000	1.000	0.188	0.001	A
60%	0.800	1.000	1.000	1.000	1.000	0.208	0.001	A
70%	0.843	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.006	A
80%	0.880	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.032	A
90%	0.943	0.188	0.208	1.000	1.000	1.000	0.419	ab
100%	1.068	0.001	0.001	0.006	0.032	0.419	1.000	b

Rata-Rata Daya Hambat *Streptococcus pyogenes* Berdasarkan Konsentrasi



Hasil analisis di atas menginformasikan bahwa pemberian konsentrasi 100% ekstrak buah mahkota dewa menghasilkan daya hambat *Streptococcus pyogenes* yang paling tinggi dan berbeda signifikan dengan konsentrasi 50%, 60%, 70% dan 80% ,namun tidak

berbeda signifikan dengan pemberian konsentrasi 90% ekstrak buah mahkota dewa. Sedangkan pemberian konsentrasi 50% ekstrak buah mahkota dewa menghasilkan daya hambat *Streptococcus pyogenes* yang paling rendah dan berbeda signifikan dengan konsentrasi 100% ekstrak buah mahkota dewa, namun tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 60%, 70%, 80% dan 90% ekstrak buah mahkota dewa.

5.4 Analisis Hubungan Konsentrasi Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) dengan Daya hambat *Streptococcus pyogenes*

Analisis hubungan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan daya hambat *Streptococcus pyogenes* dilakukan menggunakan korelasi Pearson dengan hipotesis berikut ini :

H0 : Tidak ada hubungan yang signifikan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa

(*Phaleria macrocarpa*) dengan daya hambat *Streptococcus pyogenes*

H1 : Ada hubungan yang signifikan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa

(*Phaleria macrocarpa*) dengan daya hambat *Streptococcus pyogenes*

Kriteria pengujian menyebutkan apabila probabilitas \leq *level of significance* (alpha = 5%) maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa ada hubungan yang signifikan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan daya hambat *Streptococcus pyogenes*.

Hasil analisis hubungan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan daya hambat *Streptococcus pyogenes* dapat dilihat melalui tabel berikut :

Tabel 5.6 Hasil Uji Pearson

Koefisien Korelasi	Probabilitas
0.777	0.000

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Dengan Metode Ekstraksi MAE

Penelitian ini menggunakan buah mahkota dewa yang berasal dari UPT Materi medika, Batu, Jawa Timur. Buah mahkota dewa kemudian di ekstraksi menggunakan metode microwave assisted extracion (MAE). Menurut Rita (2015), MAE merupakan ekstraksi yang memanfaatkan gelombang mikro untuk mempercepat ekstraksi selektif melalui pemanasan pelarut secara cepat dan efisien. Metode MAE juga memiliki beberapa keuntungan yaitu waktu ekstraksi lebih cepat, lebih efisien, serta gelombang mikro ini dapat meningkatkan suhu pelarut pada bahan, yang dapat menyebabkan dinding sel pecah dan zat-zat yang terkandung dalam sel keluar menuju pelarut, sehingga rendemen yang dihasilkan meningkat (Rofiatul, 2015).

Waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi buah mahkota dewa menggunakan metode MAE sangat singkat. Dalam penelitian ini menggunakan waktu yang berbeda yaitu 3 menit dan 10 menit. Hasil akhir yang didapat mempunyai perbedaan, dengan waktu 3 menit menghasilkan 2 gram dan dengan waktu 10 menit menghasilkan rendemen lebih banyak yaitu 6,2 gram. Menurut Handayani (2013), hasil rendemen yang didapat adalah semakin lama waktu ekstraksi, rendemen yang didapatkan semakin banyak. Berdasarkan literatur

tersebut, dapat disimpulkan bahwa hasil rendemen dengan waktu 10 menit lebih banyak dari rendemen menggunakan waktu 3 menit.

Variasi perbandingan simplisia dan pelarut juga mempengaruhi hasil dari rendemen ekstrak. Menurut hasil tesis Handayani (2013), semakin sedikit hasil rendemen semakin banyak pelarut yang digunakan. Berdasarkan hasil tesis tersebut dapat disimpulkan hasil rendemen perbandingan simplisia pelarut 1:5 lebih banyak dari hasil rendemen perbandingan simplisia pelarut 1:9.

6.2 Hasil identifikasi

Tujuan dilakukannya penelitian eksperimental ini adalah untuk mengetahui adanya efek antimikroba ekstrak buah mahkota dewa terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* secara In Vitro. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Metode tersebut digunakan untuk dapat menentukan pada konsentrasi berapa ekstrak buah mahkota dewa dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Hal tersebut dilakukan dengan cara mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Zona hambat yang terlihat bening tersebut menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri uji.

Streptococcus pyogenes yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum bakteri ini digunakan untuk penelitian, dilakukan beberapa uji identifikasi terlebih dahulu untuk memastikan kemurnian bakteri *Streptococcus pyogenes* yang akan digunakan dalam penelitian. Identifikasi tersebut meliputi pewarnaan Gram, uji katalase, penanaman bakteri pada media BAP, dan uji bacitracin.

Hasil identifikasi secara pengecatan Gram didapatkan gambaran bakteri berbentuk bulat berantai berwarna merah yang artinya bakteri ini merupakan bakteri Gram positif. Hasil dari katalase pada bakteri *Streptococcus* didapatkan hasil negatif dengan ditandai tidak adanya gelembung-gelembung udara setelah ditetesi hydrogen peroksidas. Uji identifikasi bakteri medium BAP didapatkan koloni *Streptococcus pyogenes* membuat sebagian plate tampak bening karena memiliki sifat β -hemolitik. Identifikasi dilanjutkan dengan uji cakram antibiotik basitrasin. Bakteri *Streptococcus pyogenes* ditanam dalam medium BAP dan cakram antibiotik basitrasin ditempelkan di area yang telah distreking pada plate. Hasil uji cakram basitrasin menunjukkan bakteri *Streptococcus pyogenes* membuat zona inhibisi di sekitar cakram di area plate yang tampak translusen. Hasil uji cakram menunjukkan bahwa bakteri yang di uji basitrasin ini merupakan *Streptococcus pyogenes* atau bisa disebut juga *Streptococcus* tipe A.

6.3 Uji Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Pyogenes* Dengan Metode Difusi Sumuran

Uji efek bakteri dilakukan untuk mengetahui efek bakteri ekstrak buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan streptococcus pyogenes. Pada penelitian dilakukan satu kali penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak yang akan digunakan. Penelitian pendahuluan adalah uji antibakteri ekstrak buah mahkota dewa yang pertama dengan menggunakan metode sumuran (well diffusion) dengan konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6%, 3%, dan 0%. Hasil dari uji efek antibakteri dengan metode sumuran dapat terlihat adanya efek yang ditimbulkan dari ekstrak buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan streptococcus pyogenes ditunjukkan dengan adanya zona hambat atau inhibisi pada konsentrasi 50% dan 100%.

Berdasarkan acuan penelitian pendahuluan, maka dilakukanlah penelitian utama dengan menggunakan konsentrasi ekstrak sebesar 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%. Penelitian ini dilakukan dengan empat kali pengulangan. Hasil penelitian diinterpretasikan dengan terbentuknya diameter zona hambat pada media BHI.

6.4 Analisis data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov untuk mengetahui kenormalan pengaruh ekstrak buah mahkotadewa terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*, dari hasil uji Kolmogrov-Smirnov menghasilkan probabilitas $> \alpha$ ($p > 0,05$) sehingga dinyatakan normal Uji analisis selanjutnya yang digunakan adalah Levene Test untuk mengetahui apakah memiliki ragam yang homogen atau tidak, dari hasil Levene Test menunjukkan probabilitas $< \alpha$ ($p < 0,05$) dinyatakan tidak memiliki ragam yang homogen. Setelah dilakukan uji normalitas dan uji homogen dilanjutkan uji Kruskal Wallis. Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai yang berbeda signifikan sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa pada setiap pemberian konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa terhadap perbedaan efek yang bermakna terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Setelah uji *Kruskal Wallis* yang digunakan uji bonferoni untuk mengetahui apakah perbedaan antara konsentrasi memberikan pengaruh yang bermakna atau tidak. Hasil analisis bonferoni menginformasikan bahwa pemberian konsentrasi 100% ekstrak buah mahkota dewa menghasilkan daya hambat *Streptococcus pyogenes* yang paling tinggi dan berbeda signifikan dengan konsentrasi 50%, 60%, 70% dan 80% ekstrak buah mahkota dewa, namun tidak berbeda signifikan dengan pemberian konsentrasi 90% ekstrak buah mahkota dewa. Sedangkan pemberian

konsentrasi 50% ekstrak buah mahkota dewa menghasilkan daya hambat *Streptococcus pyogenes* yang paling rendah dan berbeda signifikan dengan konsentrasi 100% ekstrak buah mahkota dewa, namun tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 60%, 70%, 80% dan 90% ekstrak buah mahkota dewa. Setelah dilakukan uji boonferoni dilakukan uji pearson. Uji pearson dilakukan mengetahui keeratan hubungan antara konsentrasi pemberian ekstrak buah mahkota dewa dengan diameter zona hambat yang terbentuk. Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, maka dapat disimpulkan bahwa buah mahkota dewa memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* secara in vitro dengan metode difusi sumuran. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa yang digunakan maka semakin menurun jumlah pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dan semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan.

6.5 Keterbatasan penelitian

Penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan. Ekstrak buah mahkota dewa yang digunakan belum diuji penapisan fitokimia yang terkandung dalam buah mahkota dewa seperti Alkaloid, Flavonoid, Tanin, dan saponin. Sehingga didalam penelitian ini tidak diketahui secara pasti komponen fitokimia yang terdapat pada ekstrak buah mahkota dewa yang digunakan dan seberapa banyak proporsi jumlah komponen fitokimia yang berperan besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Selain itu juga perlunya penelitian terhadap buah mahkota dewa dengan ekstraksi MAE menggunakan berbagai variasi pelarut, waktu, dan perbandingan simplisia pelarut agar didapatkan hasil rendemen yang maksimal.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa:

Ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) metode ekstraksi microwave assisted extraction terbukti mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *In Vitro*.

7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah:

- a. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lain mengenai efek antimikroba ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) pada bakteri lainnya.
- b. Diperlukan penelitian lain dengan uji in vivo atau in vitro untuk mengetahui efek toksik dan efek samping ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) agar nantinya dapat diaplikasikan secara klinis sebagai obat pada manusia.
- c. Perlu dilakukan uji penapisan fitokimia untuk mengetahui prosentasi kandungan komponen fitokimia dalam ekstrak buah mahkota dewa dan komponen fitokimia yang paling berperan sebagai antibakteri
- d. Diperlukan penelitian tentang ekstraksi buah mahkota dewa dengan metode ekstraksi MAE menggunakan variasi pelarut, waktu dan perbandingan simplisia pelarut agar dihasilkan rendemen ekstrak yang maksimal

DAFTAR PUSTAKA

- Rahmawati, Yulia. Peta Kuman Dan Resistensinya Terhadap Antibiotika Pada Pasien Faringitis Di RSUD Dr. Moewardi Tahun 2014. Diss. Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2015.
- SHOLIHAH, ISTIQAMATUSH. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Infusa Daun Kupu-Kupu (*Bauhinia Variegata*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Pyogenes*. Diss. UNIVERSITAS MUHAMMADIYA SURAKARTA, 2015.
- Dalimartha, Setiawan. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Vol. 2. Niaga Swadaya, 2008.
- Brooks GF, Butel JS, Carroll KC, Morse SA, Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 24th ED. USA : Mc. Graw Hill. 2007 : 224 – 7
- Carroll kc, butel js, morse SA, mietzner TA, jawetz, melnick, & adelberg's medical microbiology, 27 th ED. USA : Mc Graw Hill. 2015.
- Joshi, B., Lethak, S., & sharma A., 2009, Antibacterial Property Of Different Medical Plants: *Ocinum sanctum*, *cinnamomum zeylanicum*, *xanthoxylum armatum* dan *origanum majorana*, Kathamandu University Journal Of Science, 5(1), 143-150.
- Jain, T., V. Jain, R. Pandey, A. Vyas, S. S. Shukla. 2009. Microwave Assisted Extraction for Phytoconstituents – An Overview. Asian Journal Research Chemistry , 1 (2), 19-25
- Pelczar, M.J., E.S.Chan. Dasar-dasar mikrobiologi edisi ke – 2. Jakarta : Buku kedokteran EGC. 1988.
- Bonang G, 1992. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16. Jakarta : Buku Kedokteran EGC
- Simanjuntak, partomuan., bustanusallam, yoice srikandace, yatri hapsari, arief dan padmono citreksoko. Analisis antioksidan dan profil senyawa kimia dalam buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa L.*). Laporan teknik TA 2006. Pusat penelitian bioteknologi – LPI, 2007
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T, 2007, Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Escheria coli* Dengan Metode Difusi Disk. Universitas airangga
- Staf Pengajar Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2010 Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi. Binarupa aksara, Jakarta
- Kusmayanti dan agustini, N. W. R. 2007. Uji Aktivitas senyawa anti bakteri dari mikroalga (*porphyridium cruentum*). Biodiversitas. 8(1) : 48-53.
- Soleha, Tri Umiana. "Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik." Jurnal Kedokteran Universitas Lampung 5.9 (2015): 119-123.

Cushine, T.P.T., Dan A.J Lamb. 2005. Antimicrobial Activity Of Flavonoids. International Journal of antimicrobial. 22: 659-665.

Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi ke-4 Terjemahan Kokasih Padmawinata. ITB Press. Bandung. 10(2): 18-21

Oesman F., Murnisns, M. Khairunnas dan N. Saidi. 2010. Antifungal activity of alkaloid from bark of cerbera odollam. Jurnal natural.

Pradana, Dedi, Dwi Suryanto, and Yunasfi Djayus. "Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang Rhizophora mucronata Terhadap Pertumbuhan Bakteri Aeromonas hydrophila, Streptococcus agalactiae Dan Jamur Saprolegnia sp. Secara In Vitro." AQUACOASTMARINE 2.1 (2014).

Mardy, Debrina Candra, Sudjari Sudjari, and Siwipeni Imawanti Rahayu. "Perbandingan Efektivitas Kitosan (2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucopyranose) dan Nano Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri Enterococcus faecalis secara In Vitro." Majalah Kesehatan FKUB 2.4 (2016): 229-240.

Farida R., dan Nisa F.C., .2015. Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode MAE (Lama Ekstraksi Dan Rasio Bahan : Pelarut). Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No 2 P.362-373.

Delimartha, S .2007. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta: Trubus Agriwidya.

Handayani D. 2013. Optimasi Ekstraksi Ampas Teh Hijau (Camelia sinesis) Menggunakan Metode Microwaved Assisted Extraction untuk Menghasilkan Ekstrak dan Minyak The Hijau. Tesis. Tidak diterbitkan, Program Magister Herbal, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok.

Jawetz et al., Melnick, & Adelberg's . 2013. Medical Microbiology, 26th edition, McGraw-Hill Companies inc.

Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A .2008. "Jawetz et al., Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology", 24th edition, McGraw-Hill Companies inc.

Qorriaina R., Hawa L.C., Yulianingsih R.,. 2015. Aplikasi Pra-Perlakuan Microwaved Assisted Extraction (MAE) Pada Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum sanctum) Menggunakan Rotary Evaporator (Studi Pada Variasi Suhu dan Waktu Ekstraksi). Jurnal Bioproses Komoditas Tropis, Vol. 3 No. 1, 2015.

Rohyami, Y. (2008). Penentuan kandungan flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa (Phaleria macrocarpa Scheff Boerl). Jurnal Logika, 5(1).

LAMPIRAN

Lampiran 1: Foto Ekstraksi dengan Menggunakan Microwave assisted Extraction

Alat Ekstraksi dengan Metode MAE



Tempat Tabung Vessel



Tabung Vessel



Pengukur Suhu Vessel



Alat Rotary Evaporator

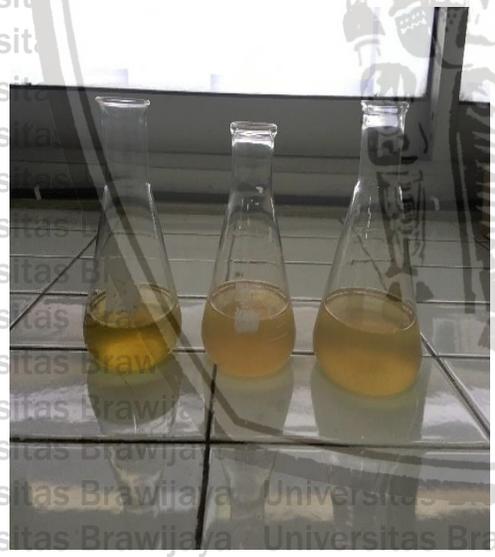
Hasil Ekstraksi dengan Metode MAE



Serbuk Buah Mahkota



Hasil Filtrasi Ekstraksi yang Kedua Sebelum di Rotary evaporator



Hasil Filtrasi Ekstraksi yang Pertama Sebelum di Rotary evaporator



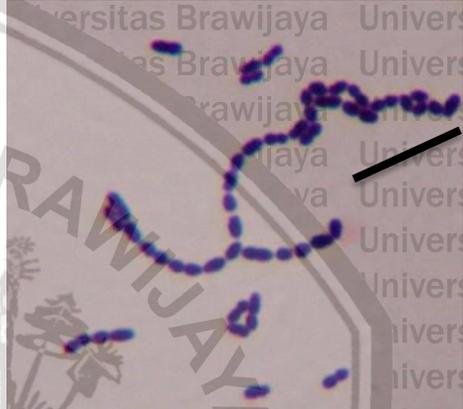
Hasil Akhir Ekstraksi dalam Bentuk Pasta

Lampiran 2: Hasil Penelitian Pendahuluan Uji Antibakteri Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap *Streptococcus pyogenes* dan Hasil Identifikasi Bakteri

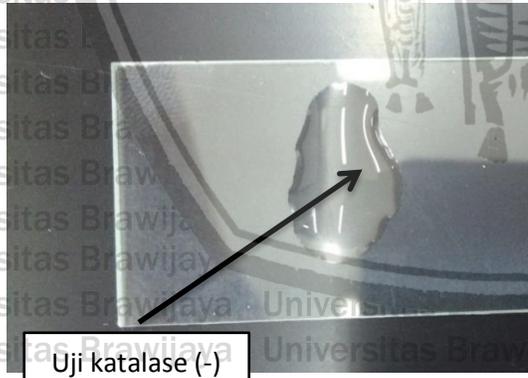
Hasil Identifikasi Bakteri dan Hasil Identifikasi Bakteri



Hasil Penelitian Pendahuluan dengan Konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12%, 6%, 3%, dan 0% terdapat zona inhibisi pada



Hasil pewarnaan Gram *Streptococcus pyogenes*



Uji katalase (-)

Hasil Uji Katalase



Pertumbuhan koloni

Uji bacitracin (+)

Penanaman Bakteri Pada Media BAP Dan Uji Bacitracin

Lampiran 3 : Hasil Analisis Perbedaan Pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa Terhadap Daya Hambat Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Tabel 5. Pengujian Asumsi Normalitas Residual

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Daya hambat_ <i>Sptreptococcus_Pyogenes</i>	.145	24	.200*	.941	24	.168

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 5. Pengujian Asumsi Homogenitas Residual

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Daya hambat_ *Sptreptococcus_Pyogenes*

F	df1	df2	Sig.
5.260	5	18	.004

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Perlakuan

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Daya hambat_ <i>Sptreptococcus_Pyogenes</i>	Konsentrasi 100%	4	22.50
	Konsentrasi 90%	4	17.25
	Konsentrasi 80%	4	12.13
	Konsentrasi 70%	4	9.00
	Konsentrasi 60%	4	6.25
	Konsentrasi 50%	4	7.88
	Total	24	

Tabel 5. Analisis Kruskal Wallis

Test Statistics^{a,b}

	Daya hambat_ <i>Sptreptococcus_Pyogenes</i>
Chi-Square	15.646
df	5
Asymp. Sig.	.008

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Tabel 5. Multiple Comparisons

Dependent Variable: Daya hambat_Sptreptococcus_Pyogenes
Bonferroni

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Konsentrasi 100%	Konsentrasi 90%	.1250	.05228	.419	-.0517	.3017
	Konsentrasi 80%	.1875*	.05228	.032	.0108	.3642
	Konsentrasi 70%	.2250*	.05228	.006	.0483	.4017
	Konsentrasi 60%	.2675*	.05228	.001	.0908	.4442
	Konsentrasi 50%	.2700*	.05228	.001	.0933	.4467
Konsentrasi 90%	Konsentrasi 100%	-.1250	.05228	.419	-.3017	.0517
	Konsentrasi 80%	.0625	.05228	1.000	-.1142	.2392
	Konsentrasi 70%	.1000	.05228	1.000	-.0767	.2767
	Konsentrasi 60%	.1425	.05228	.208	-.0342	.3192
	Konsentrasi 50%	.1450	.05228	.188	-.0317	.3217
Konsentrasi 80%	Konsentrasi 100%	-.1875*	.05228	.032	-.3642	-.0108
	Konsentrasi 90%	-.0625	.05228	1.000	-.2392	.1142
	Konsentrasi 70%	.0375	.05228	1.000	-.1392	.2142
	Konsentrasi 60%	.0800	.05228	1.000	-.0967	.2567
	Konsentrasi 50%	.0825	.05228	1.000	-.0942	.2592
Konsentrasi 70%	Konsentrasi 100%	-.2250*	.05228	.006	-.4017	-.0483
	Konsentrasi 90%	-.1000	.05228	1.000	-.2767	.0767
	Konsentrasi 80%	-.0375	.05228	1.000	-.2142	.1392
	Konsentrasi 60%	.0425	.05228	1.000	-.1342	.2192
	Konsentrasi 50%	.0450	.05228	1.000	-.1317	.2217
Konsentrasi 60%	Konsentrasi 100%	-.2675*	.05228	.001	-.4442	-.0908
	Konsentrasi 90%	-.1425	.05228	.208	-.3192	.0342
	Konsentrasi 80%	-.0800	.05228	1.000	-.2567	.0967
	Konsentrasi 70%	-.0425	.05228	1.000	-.2192	.1342
	Konsentrasi 50%	.0025	.05228	1.000	-.1742	.1792
Konsentrasi 50%	Konsentrasi 100%	-.2700*	.05228	.001	-.4467	-.0933
	Konsentrasi 90%	-.1450	.05228	.188	-.3217	.0317
	Konsentrasi 80%	-.0825	.05228	1.000	-.2592	.0942
	Konsentrasi 70%	-.0450	.05228	1.000	-.2217	.1317
	Konsentrasi 60%	-.0025	.05228	1.000	-.1792	.1742

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .005.

The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabel 5. Analisis Pearson**Correlations**

		Konsentrasi_Ekstrak_Buah_Mahkota_Dewa	Daya_Hambat_Streptococcus
Konsentrasi_Ekstrak_Buah_Mahkota_Dewa	Pearson Correlation	1	.777**
	Sig. (2-tailed)		.000
Daya_Hambat_Streptococcus	Pearson Correlation	.777**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	24	24

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