

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION
RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus*) TERHADAP
Pseudomonas aeruginosa SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

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



Oleh:

Gilberta Rebecca

NIM: 155070101111061

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION
EKSTRAK RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus*)
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN VITRO**

Oleh:

Gilberta Rebecca

NIM. 155070101111061

Telah diuji pada

Hari: Jumat

Tanggal: 5 Oktober 2018

Dan dinyatakan lulus oleh

Penguji I,

dr. Etty Kurnia, Sp.F

NIP. 195604031984032001

Pembimbing I/Penguji II,

Pembimbing II/ Penguji III,

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

NIP. 196603231997032001

dr. Danik Agustin, M.Kes

NIP. 197208221998022002

Mengetahui

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

Tri. Triwahju Astuti, M.Kes.,Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Gilberta Rebecca

NIM : 155070101111061

Program Studi : S1 Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar hasil

Karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pikiran orang

lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri .Apabila di kemudian

hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya

bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 30 September 2018

Yang membuat pernyataan

Gilberta Rebecca

NIM. 155070101111061

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena telah memberikan rahmat sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “ Uji Efektivitas Antibakteri dari *Microwave Assisted Extraction* Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*”. Dalam penulisan tugas akhir ini, penulis menghadapi berbagai tantangan, tetapi semuanya dapat dilalui berkat anugerah dan kasih setia-Nya yang begitu besar.

Adapun maksud penulisan tugas akhir ini adalah untuk memenuhi syarat dalam menempuh ujian sarjana Program Studi S1 Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-sebesaranya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan doa. Semua itu sangatlah berarti bagi penulis. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada yang terkasih dan terhormat:

1. **Dr.dr.Sri Andarini, M.Kes** selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah mendukung dan memberikan fasilitas kepada seluruh mahasiswa untuk mendapatkan gelar sarjana
2. **Dr. Tri Wahyu Astuti, M.Kes** selaku ketua program studi Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi dukungan dan motivasi kepada seluruh mahasiswa S1 Program Studi Kedokteran untuk menempuh pendidikan dengan semangat belajar yang tinggi.

3. **dr. Elly Mayangsari, M.Biomed** selaku Ketua Koordinator Tugas Akhir

Program Studi kedokteran S1 yang dengan sangat sabar melayani keperluan mahasiswa terkait tugas akhir.

4. **Dr.dr Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes** selaku dosen pembimbing pertama

yang telah senantiasa meluangkan waktu untuk memberikan saran dan solusi dalam pengerjaan tugas akhir ini

5. **dr. Danik Agustin, M.Kes** selaku dosen pembimbing kedua yang telah

senantiasa meluangkan waktu untuk memberikan konsultasi selama penulisan tugas akhir ini.

6. **dr.Etty Kurnia, Sp,F** selaku penguji yang telah bersedia meluangkan

waktu untuk menguji sidang tugas akhir ini

7. **Pak Slamet** selaku analis Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam proses penelitian dari awal hingga akhir.

8. **Kedua orang tua, Ayahanda Hadi Gunarso dan Ibunda Sylvie**

Nurjasin, terima kasih atas dukungan moral maupun material , doa, dan kasih sayang yang tak ada hentinya.

9. **Hadi**, yang selalu menemani dalam proses mengurus keperluan tugas

akhir ini.

10. **Teman-teman terbaik di perkuliahan Beatrice, Sharon, Lois, Ime,**

Andy, Ayek, Adolf yang senantiasa memberikan dukungan berupa bantuan-bantuan terkait keperluan penelitian

11. **Teman-teman sekelompok penelitian di laboratorium Mikrobiologi,**

Beatrice, Donni dan Giovanni yang dengan giat bekerja sama dengan penulis sehingga penelitian dan penulisan tugas akhir bisa terselesaikan.

12. **Teman-teman Surabaya, Mandy, Elaine, Catherine** yang juga turut

mendoakan dan memberi dukungan moral sejak dulu sehingga penulis bisa lulus di perkuliahan

13. **Catherine**, adik sepupu yang paling dekat dengan saya yang senantiasa

menghibur di kala penulis menghadapi tantangan dalam proses pengerjaan Tugas Akhir ini

Malang, 15 September 2018

Penulis

ABSTRAK

Rebecca, Gilberta. 2018. Uji Efektivitas Antibakteri dari *Microwave Assisted Extraction* Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran S1 Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing (1) Dr.dr.Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Danik Agustin

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu penyebab infeksi nosokomial yang sangat penting. Regimen pengobatan *Pseudomonas aeruginosa* harus memperhatikan faktor resistensi dikarenakan bakteri ini sudah resisten dengan berbagai macam antibiotik. Dibutuhkan suatu alternatif pengobatan untuk permasalahan tersebut dengan penemuan pilihan terapi antimikroba dari alam, seperti ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati efek ekstrak rimpang rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Metode ekstraksi yang digunakan adalah teknik non konvensional, yaitu *Microwave Assisted Extraction*. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan metode dilusi tabung ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*). Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian didapat dari penelitian terdahulu, yaitu 0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, dan 24%. KHM ditemukan pada konsentrasi 12%. KBM ditemukan pada konsentrasi 20%. Analisa statistik dengan *Shapiro Wilk* untuk uji normalitas didapatkan nilai $p=0.278$ ($p>0.05$), untuk varian data didapat nilai $p=0.79$ ($p>0.05$). Uji analisa statistik menggunakan *One-way ANNOVA* didapatkan nilai sig. $p=0.000$ ($p<0.05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak rimpang Rumput Teki terhadap jumlah koloni *pseudomonas aeruginosa*. Uji korelasi dan regresi menunjukkan adanya hubungan erat dan berbanding terbalik antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni bakteri (Korelasi, $r= -0.652$; $p<0.05$; dan $R\ square =0.425$). Uji korelasi dan regresi menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang Rumput Teki yang didapat dari proses *Microwave assisted Extraction* memiliki kemampuan sebagai antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, antibakteri, ekstrak rimpang Rumput Teki, *Microwave Assisted Extraction*

ABSTRACT

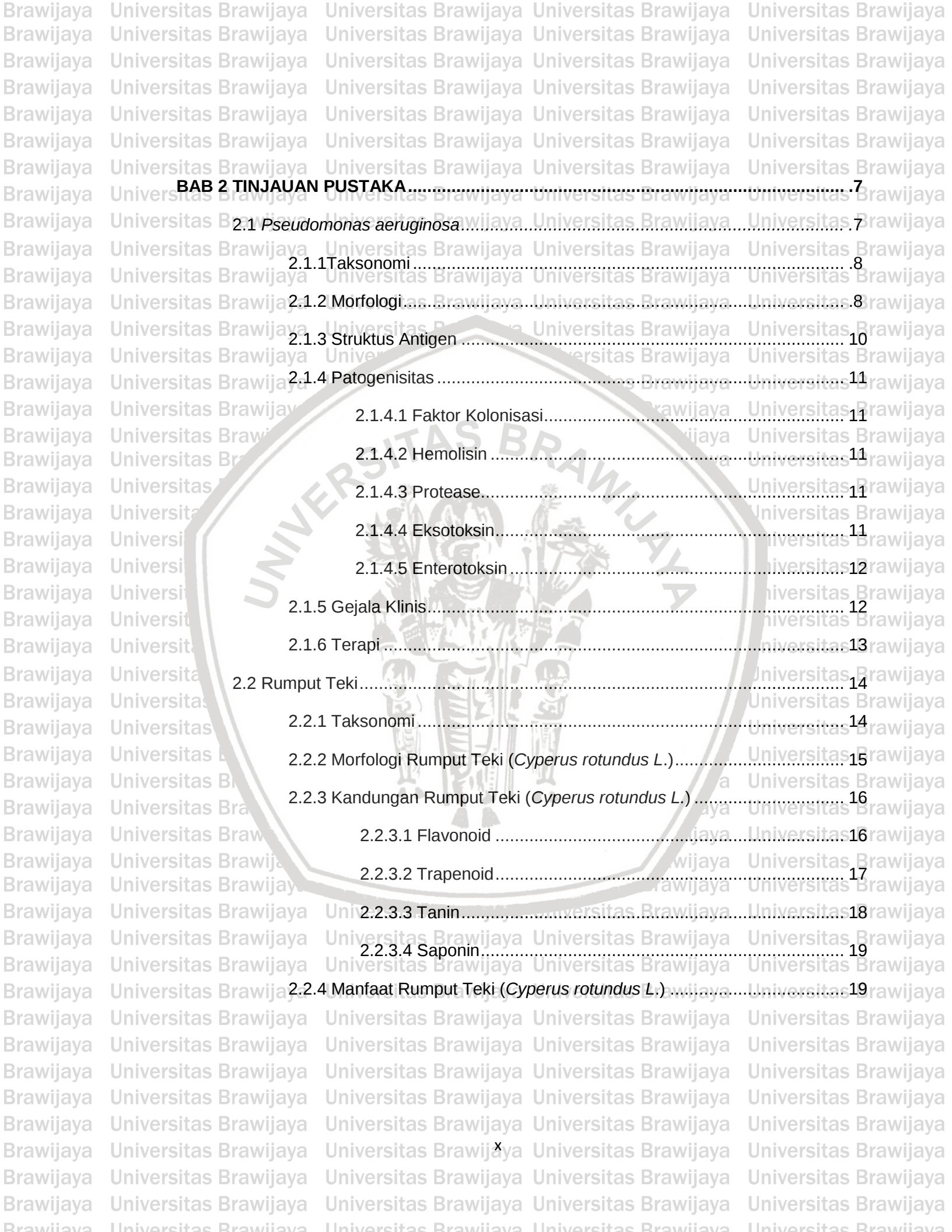
Rebecca, Gilberta. 2018. Antimicrobe Effectivity Test from *Microwave Assisted Extraction* of Nut Grass Rhizome (*Cyperus rotundus*) against *Pseudomonas aeruginosa* using *In Vitro* method. Final Assignment, Medical Doctor Programme, Faculty Medicine, Brawijaya University. Supervisor (1) Dr.dr.Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes, (2) dr. Danik Agustin

Pseudomonas aeruginosa is one of the most important cause due to nosocomial infection. Several antibiotics does not treat the infection effectively. It is caused by resistance mechanism of the bacteria itself. Alternative therapy should be developed due to these issues by selecting natural regiment, such as using extract of Nut Grass rhizome (*Cyperus rotundus*). The aim of this research is to determine the antimicrobial potential by looking for inhibition and bactericidal power of Nut Grass rhizome (*Cyperus rotundus*) extract. Extraction process used is a conventional technique which is called *Microwave Assisted Extraction*. This study was an experimental study using tube dilution method. The concentration of the extract are 0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, and 24%. MIC was found at the concentration of 12%, while MBC was found at the concentration of 20%. Statistical analysis with *Shapiro Wilk* Normality test result is $P = 0.278$ ($p > 0.05$), while the variant data result is $P = 0.79$ ($p > 0.05$). Test significance of statistical analysis using *One-Way ANNOVA* is $p = 0.000$ ($p < 0.05$), which means there is significant difference between concentration of Nut Grass rhizome extract with the number of *Pseudomonas aeruginosa* colonies. According to the Corellation Test and Regression Test, there is a strong and reverse relationship between the extract concentration and the number of the colonies (Corellation $R = -0.652$; $p < 0.05$; and $R \text{ square} = 0.425$). These test show that the higher the extract concentration, the less growing bacteria colonies seen on the media. To conclude, the extract of Nut Grass rhizome from *Microwave Assisted Extraction* method is able to perform antimicrobial effect against *Pseudomonas aeruginosa*.

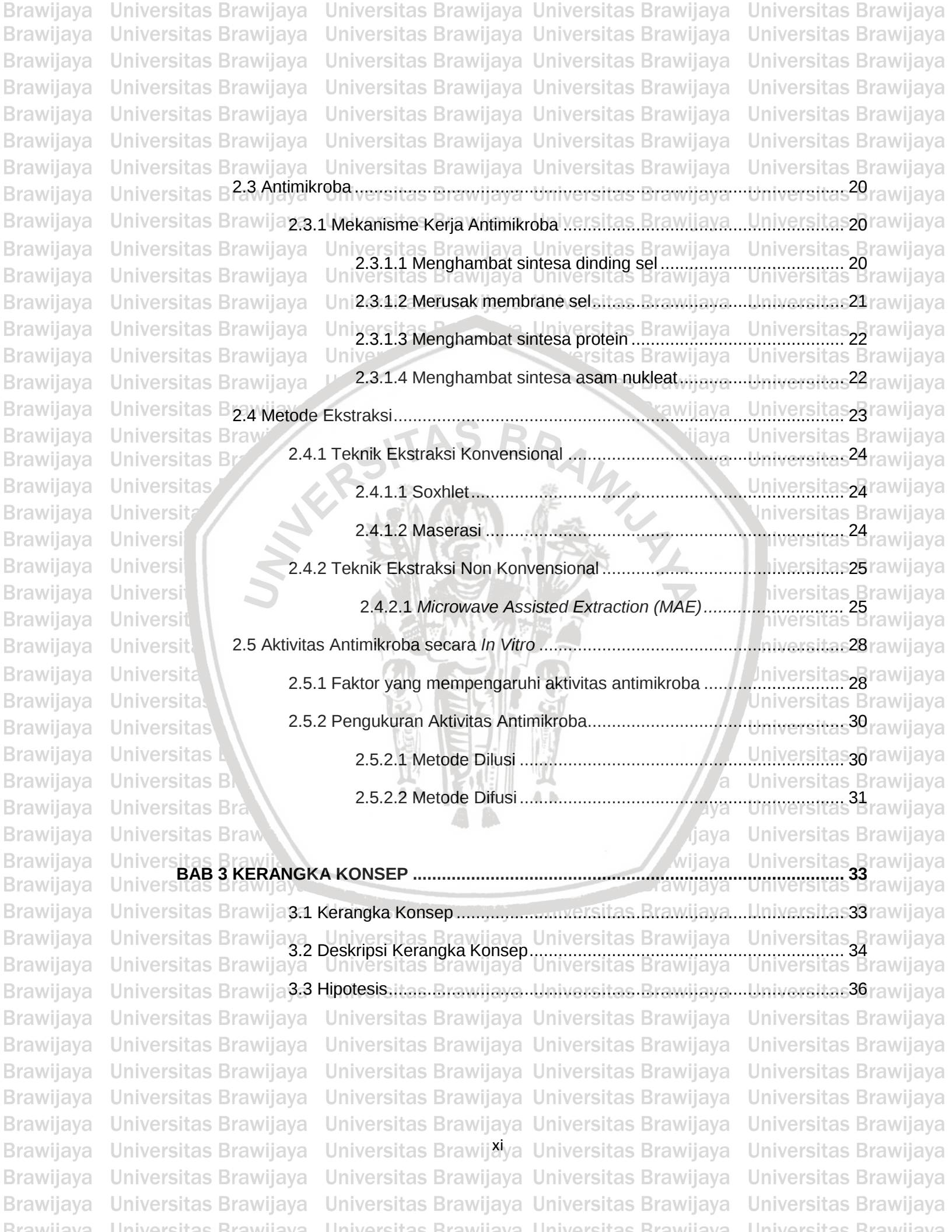
Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobe, extract of Nut Grass rhizome, *Microwave Assisted Extraction*

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Gambar	xiv
Daftar Tabel	xv
Daftar Lampiran	xvi
Daftar Singkatan	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Akademik	6
1.4.2 Manfaat Praktis.....	6



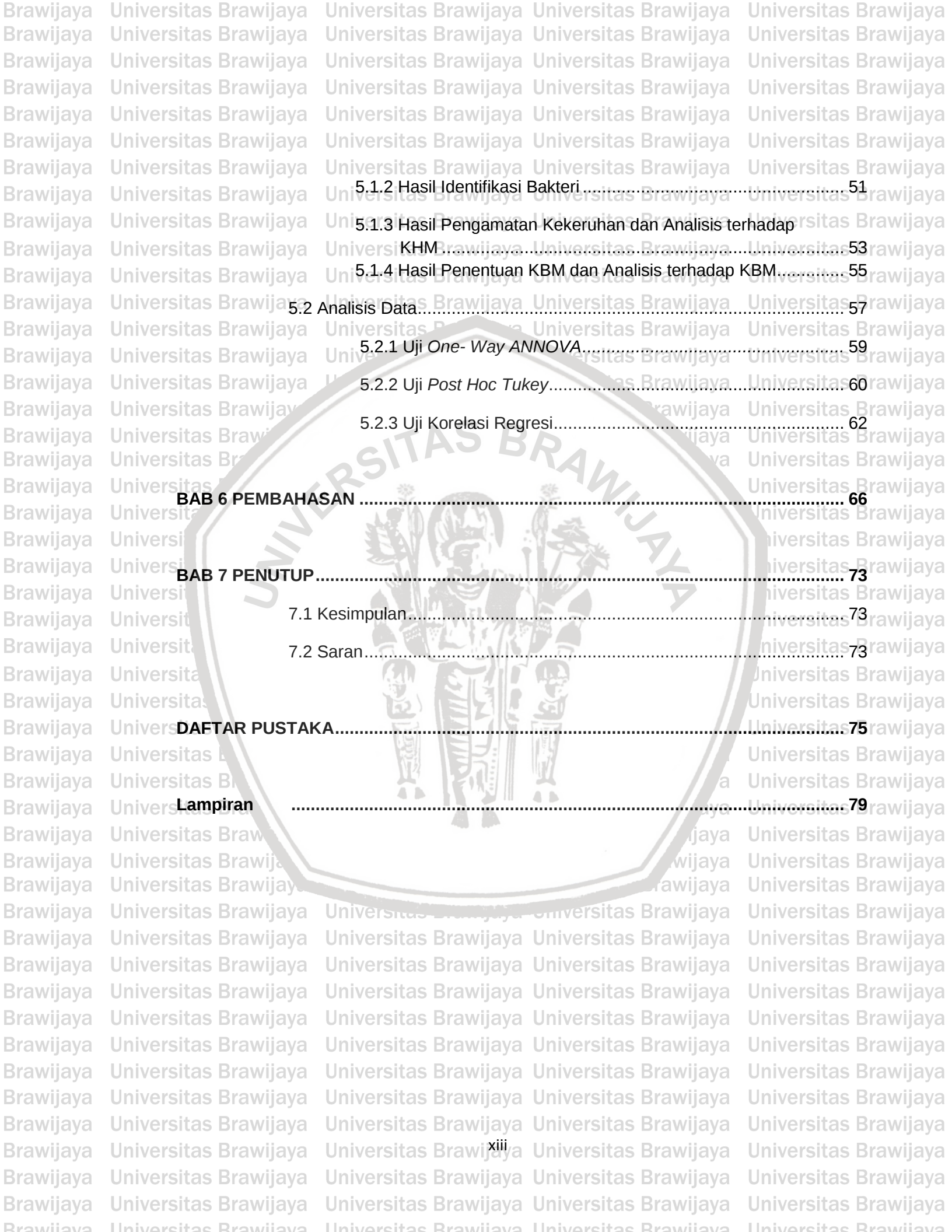
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.1.1 Taksonomi.....	8
2.1.2 Morfologi.....	8
2.1.3 Struktus Antigen	10
2.1.4 Patogenisitas	11
2.1.4.1 Faktor Kolonisasi.....	11
2.1.4.2 Hemolisin	11
2.1.4.3 Protease.....	11
2.1.4.4 Eksotoksin.....	11
2.1.4.5 Enterotoksin	12
2.1.5 Gejala Klinis.....	12
2.1.6 Terapi	13
2.2 Rumput Teki.....	14
2.2.1 Taksonomi.....	14
2.2.2 Morfologi Rumput Teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.).....	15
2.2.3 Kandungan Rumput Teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.).....	16
2.2.3.1 Flavonoid	16
2.2.3.2 Traopenoid.....	17
2.2.3.3 Tanin.....	18
2.2.3.4 Saponin.....	19
2.2.4 Manfaat Rumput Teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.).....	19



2.3 Antimikroba	20
2.3.1 Mekanisme Kerja Antimikroba	20
2.3.1.1 Menghambat sintesa dinding sel	20
2.3.1.2 Merusak membrane sel	21
2.3.1.3 Menghambat sintesa protein	22
2.3.1.4 Menghambat sintesa asam nukleat	22
2.4 Metode Ekstraksi	23
2.4.1 Teknik Ekstraksi Konvensional	24
2.4.1.1 Soxhlet	24
2.4.1.2 Maserasi	24
2.4.2 Teknik Ekstraksi Non Konvensional	25
2.4.2.1 <i>Microwave Assisted Extraction (MAE)</i>	25
2.5 Aktivitas Antimikroba secara <i>In Vitro</i>	28
2.5.1 Faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba	28
2.5.2 Pengukuran Aktivitas Antimikroba	30
2.5.2.1 Metode Dilusi	30
2.5.2.2 Metode Difusi	31

BAB 3 KERANGKA KONSEP	33
3.1 Kerangka Konsep	33
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep	34
3.3 Hipotesis	36

BAB 4 METODE PENELITIAN.....	37
4.1 Desain Penelitian.....	37
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	37
4.3 Sampel.....	38
4.4 Replikasi.....	38
4.5 Variabel Penelitian.....	39
4.5.2 Variabel Dependen	39
4.5.3 Variabel Independen.....	39
4.6 Definisi Operasional.....	39
4.7 Alat dan Bahan	41
4.7.1 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri.....	41
4.7.2 Alat dan bahan pembuatan ekstrak rimpan rumput teki Dengan metode Microwave Assisted Extraction (MAE)	41
4.8 Prosedur Penelitian	42
4.8.1 Prosedur Ekstraksi Komponen Bioaktif Rimpang Rumput Teki dengan Microwave Assisted Extraction (MAE)	42
4.8.2 Prosedur Identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
4.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
4.8.4 Uji Dilusi Tabung.....	47
4.8.5 Alur Kerja Penelitian.....	48
4.9 Analisis Data.....	49
BAB 5 HASIL PENELITIAN	50
5.1 Hasil Pengamatan.....	50
5.1.1 Hasil Ekstraksi Rimpang Rumput Teki	50



5.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri.....	51
5.1.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM.....	53
5.1.4 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM.....	55
5.2 Analisis Data.....	57
5.2.1 Uji One- Way ANNOVA.....	59
5.2.2 Uji Post Hoc Tukey.....	60
5.2.3 Uji Korelasi Regresi.....	62
BAB 6 PEMBAHASAN	66
BAB 7 PENUTUP.....	73
7.1 Kesimpulan.....	73
7.2 Saran.....	73
DAFTAR PUSTAKA.....	75
Lampiran	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Gambar mikroskopis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan pewarnaan Gram pada perbesaran 1000 x	8
Gambar 2.2	Gambar Biakan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada medium agar Muller Hinton	9
Gambar 2.3	Gambar Biakan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada medium agar MacConkey	10
Gambar 2.4	Gambar Rumput Teki (<i>Cyperus rotundus</i>)	15
Gambar 5.1	Hasil Ekstrak Rimpang Rumput Teki (<i>Cyperus rotundus</i>) sebanyak 11 gram	51
Gambar 5.2	Kultur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Media Nutrient Agar Plate (NAP)	52
Gambar 5.3	Pewarnan Gram <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan perbesaran 1000x pada mikroskop cahaya	52
Gambar 5.4	Hasil Uji Oksidase positif dengan menggunakan Oxidase Strip	53
Gambar 5.5	Hasil Uji Katalase positif	53
Gambar 5.6	Hasil Kadar Hambat Minimal ekstrak rimpang Rumput Teki yaitu pada konsentrasi 12%	54
Gambar 5.7	Hasil <i>Streaking</i> Suspensi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan berbagai konsentrasi ekstrak rimpang Rumput Teki	56
Gambar 5.8	Grafik Regresi Linier	64

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Hasil perhitungan koloni <i>Pseudomonasa eruginosa</i> pada Nutrient Agar Plate (NAP).....	57
Tabel 5.2	Hasil Uji normalitas dengan Uji <i>Shapiro-Wilk</i>	58
Tabel 5.3	Hasil Uji <i>Homogenity of Variance</i>	59
Tabel 5.4	Hasil Uji <i>One-Way ANNOVA</i>	60
Tabel 5.5	Tabel Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	61
Tabel 5.6	Tabel <i>Homogenous Subset</i>	62
Tabel 5.7	Tabel uji Korelasi	63
Tabel 5.8	Tabel Uji Regresi	65

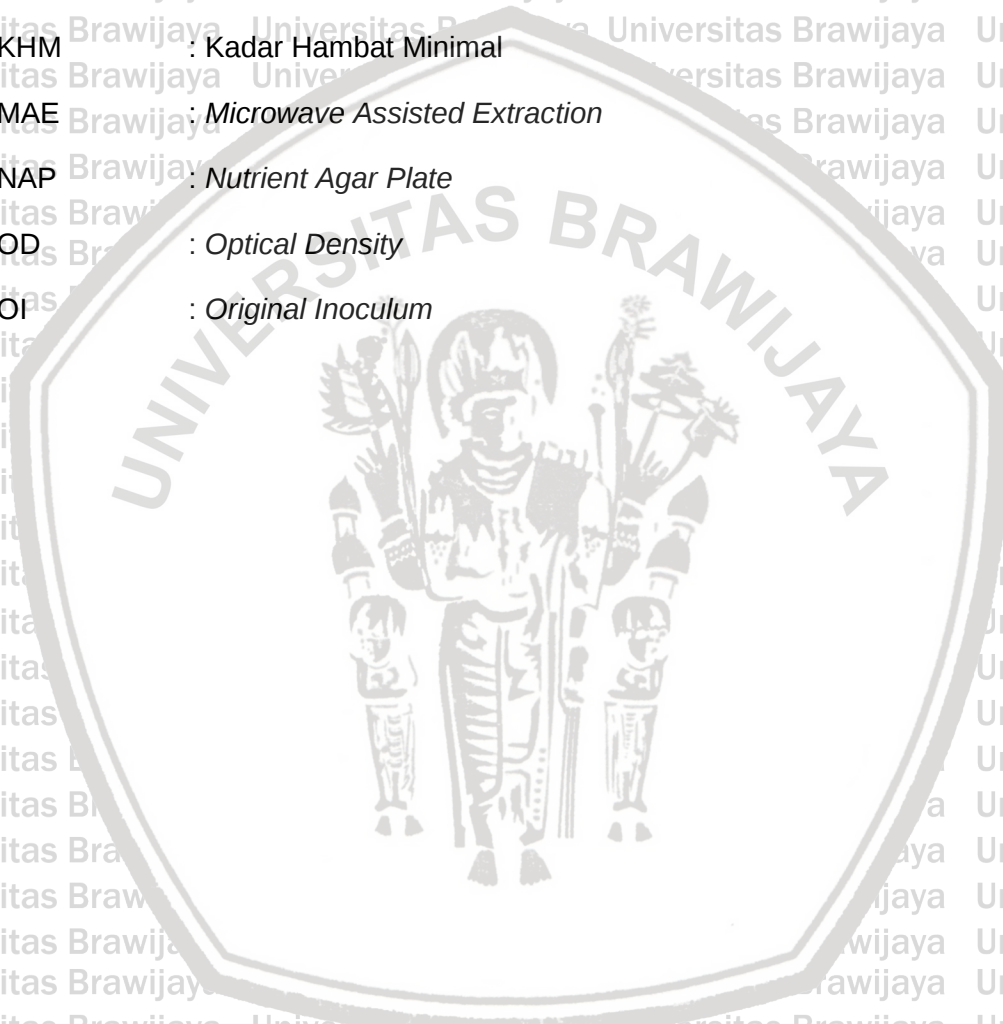
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan.....	79
---------------------------------	----



DAFTAR SINGKATAN

CFU	: Colony Forming Unit
KBM	: Kadar Bunuh Minimal
KHM	: Kadar Hambat Minimal
MAE	: Microwave Assisted Extraction
NAP	: Nutrient Agar Plate
OD	: Optical Density
OI	: Original Inoculum



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI MICROWAVE ASSISTED
EXTRACTION EKSTRAK RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus*)
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN VITRO**

Oleh:

Gilberta Rebecca

NIM. 155070101111061

Telah diuji pada

Hari: Jumat

Tanggal: 5 Oktober 2018

Dan dinyatakan lulus oleh

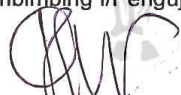
Penguji I,



dr. Ety Kurnia, Sp.F

NIP. 195604031984032001

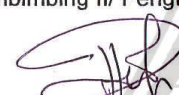
Pembimbing I/Penguji II,



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

NIP. 196603231997032001

Pembimbing II/ Penguji III,



dr. Danik Agustin, M.Kes

NIP. 197208221998022002

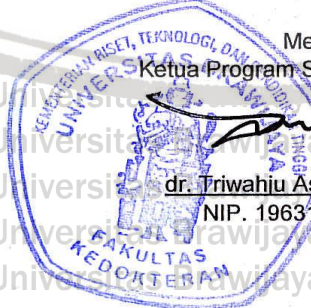
Mengetahui

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Triwahyu Astuti, M.Kes., Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI MICROWAVE ASSISTED
EXTRACTION EKSTRAK RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus*)
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* SECARA *IN VITRO***

Oleh:

Gilberta Rebecca

NIM. 155070101111061

Telah diuji pada

Hari: Jumat

Tanggal: 5 Oktober 2018

Dan dinyatakan lulus oleh

Penguji I,

dr. Etty Kurnia, Sp.F

NIP. 195604031984032001

Pembimbing I/Penguji II,

Pembimbing II/ Penguji III,

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

NIP. 196603231997032001

dr. Danik Agustini, M.Kes

NIP. 197208221998022002

Mengetahui

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

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

NIP. 196310221996012001

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



ABSTRAK

Rebecca, Gilberta. 2018. Uji Efektivitas Antibakteri dari *Microwave Assisted Extraction* Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran S1 Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing (1) Dr.dr.Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Danik Agustin

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu penyebab infeksi nosokomial yang sangat penting. Regimen pengobatan *Pseudomonas aeruginosa* harus memperhatikan faktor resistensi dikarenakan bakteri ini sudah resisten dengan berbagai macam antibiotik. Dibutuhkan suatu alternatif pengobatan untuk permasalahan tersebut dengan penemuan pilihan terapi antimikroba dari alam, seperti ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati efek ekstrak rimpang rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Metode ekstraksi yang digunakan adalah teknik non konvensional, yaitu *Microwave Assisted Extraction*. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan metode dilusi tabung ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*). Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian didapat dari penelitian terdahulu, yaitu 0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, dan 24%. KHM ditemukan pada konsentrasi 12%. KBM ditemukan pada konsentrasi 20%. Analisa statistik dengan *Shapiro Wilk* untuk uji normalitas didapatkan nilai $p=0.278$ ($p>0.05$), untuk varian data didapat nilai $p=0.79$ ($p>0.05$). Uji analisa statistik menggunakan *One-way ANNOVA* didapatkan nilai sig. $p=0.000$ ($p<0.05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak rimpang Rumput Teki terhadap jumlah koloni *pseudomonas aeruginosa*. Uji korelasi dan regresi menunjukkan adanya hubungan erat dan berbanding terbalik antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni bakteri (Korelasi, $r= -0.652$; $p<0.05$; dan $R\ square =0.425$). Uji korelasi dan regresi menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang Rumput Teki yang didapat dari proses *Microwave assisted Extraction* memiliki kemampuan sebagai antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, antibakteri, ekstrak rimpang Rumput Teki, *Microwave Assisted Extraction*

ABSTRACT

Rebecca, Gilberta. 2018. Antimicrobe Effectivity Test from *Microwave Assisted Extraction* of Nut Grass Rhizome (*Cyperus rotundus*) against *Pseudomonas aeruginosa* using *In Vitro* method. Final Assignment, Medical Doctor Programme, Faculty Medicine, Brawijaya University. Supervisor (1) Dr.dr.Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes, (2) dr. Danik Agustin

Pseudomonas aeruginosa is one of the most important cause due to nosocomial infection. Several antibiotics does not treat the infection effectively. It is caused by resistance mechanism of the bacteria itself. Alternative therapy should be developed due to these issues by selecting natural regiment, such as using extract of Nut Grass rhizome (*Cyperus rotundus*). The aim of this research is to determine the antimicrobial potential by looking for inhibition and bactericidal power of Nut Grass rhizome (*Cyperus rotundus*) extract. Extraction process used is a conventional technique which is called *Microwave Assisted Extraction*. This study was an experimental study using tube dilution method. The concentration of the extract are 0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, and 24%. MIC was found at the concentration of 12%, while MBC was found at the concentration of 20%. Statistical analysis with *Shapiro Wilk* Normality test result is $P = 0.278$ ($p > 0.05$), while the variant data result is $P = 0.79$ ($p > 0.05$). Test significance of statistical analysis using *One-Way ANNOVA* is $p = 0.000$ ($p < 0.05$), which means there is significant difference between concentration of Nut Grass rhizome extract with the number of *Pseudomonas aeruginosa* colonies. According to the Corellation Test and Regression Test, there is a strong and reverse relationship between the extract concentration and the number of the colonies (Corellation $R = -0.652$; $p < 0.05$; and $R \text{ square} = 0.425$). These test show that the higher the extract concentration, the less growing bacteria colonies seen on the media. To conclude, the extract of Nut Grass rhizome from *Microwave Assisted Extraction* method is able to perform antimicrobial effect against *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobe, extract of Nut Grass rhizome, *Microwave Assisted Extraction*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Infeksi masih merupakan salah satu penyebab kematian utama dan kesakitan di rumah sakit dan fasilitas layanan kesehatan lainnya. Di Indonesia, infeksi merupakan salah satu penyebab utama kematian ibu dan bayi baru lahir. Selain itu, infeksi tentunya juga dapat menyebabkan perpanjangan masa rawat inap bagi penderita. Risiko infeksi di rumah sakit atau yang biasa disebut sebagai infeksi nosokomial merupakan masalah penting di seluruh dunia. Infeksi ini terus meningkat dari 1% di beberapa negara Eropa dan Amerika, sampai lebih dari 40% di Asia, Amerika Latin, dan Afrika (Departemen kesehatan, 2017).

Salah satu penyebab infeksi nosokomial yang sangat penting adalah infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini biasanya terdapat di dalam lingkungan rumah sakit yang lembab. Genus *Pseudomonas* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk basil dan bersifat aerob obligat (Jawetz *et al.*, 2016).

Pseudomonas aeruginosa dapat mengkolonisasi individu normal dan pada hal ini bersifat sebagai saprofit. Bakteri ini bisa menyebabkan penyakit pada pasien dengan sistem pertahanan tubuh yang abnormal, terutama pada pasien dengan keadaan neutropeni. Selain itu, faktor risiko penyebab infeksi dari *Pseudomonas aeruginosa* adalah ketika bakteri ini dihadapkan pada area yang sakit atau tidak normal, seperti

pada membrane mukosa atau kulit yang terkena luka bakar, atau ketika penggunaan kateter urin atau intravena. Bakteri ini akan melekat pada membrane mukosa atau kulit dan menginvasi secara lokal, serta memproduksi penyakit sistemik (Jawetz *et al.*, 2016).

Pseudomonas aeruginosa dapat menyebabkan infeksi pada berbagai fungsi tubuh. Pada sistem pernafasan, bakteri ini merupakan penyebab dari pneumonia.

Pada infeksi *Pseudomonas aeruginosa*, dapat dijumpai bakteremia serta bisa menyebabkan endocarditis. Diare, enteritis, dan enterocolitis merupakan manifestasi klinis dari *Pseudomonas aeruginosa* pada sistem pencernaan. Adapun jika bakteri ini menyerang sistem saraf pusat, bisa jadi menimbulkan abses otak dan meningitis.

Selain itu, *Pseudomonas aeruginosa* juga bisa menyebabkan gangguan pada traktus urinarius, tulang dan persendian, mata, telinga, serta kulit (Friedrich, 2016).

Terapi yang biasa digunakan untuk infeksi *Pseudomonas aeruginosa* adalah antimikroba. Antimikroba golongan aminoglikosida, seperti amikasin, gentamisin, dan tobramisin masih digunakan. Selain itu, antimikroba golongan sefalosporin generasi ketiga seperti sefotaksim dan sefoperazon juga masih memiliki efektivitas antimikroba terhadap *pseudomonas aeruginosa*. Adapun golongan penicillin semisintetik misalnya, piperasilin, mezlosin, dan azlosin masih efektif (Santoso dkk., 2015). Regimen pengobatan *Pseudomonas aeruginosa* harus memperhatikan faktor resistensi dikarenakan bakteri ini sudah resisten dengan berbagai macam antibiotik. Pada khusus yang parah, diperlukan terapi kombinasi antibiotik (Friedrich, 2016).

Rumput teki (*Cyperus rotundus*) merupakan rumput yang tumbuh di daerah tropis maupun subtropics yang tumbuh di berbagai belahan dunia, salah satunya di Indonesia. Rumput teki sebenarnya merupakan rumput liar yang tersebar di berbagai tempat. Para petani bahkan juga sering mengeluh berkenaan dengan sulitnya memberantas rumput teki yang menjadi gulma bagi tanaman. Walaupun begitu, rumput teki juga memiliki banyak manfaat. Penelitian terkait khasiat rumput teki pun juga sudah banyak dilakukan. Rumput teki telah lama digunakan sebagai obat berbagai penyakit seperti antidiare, luka lecet di kulit, antiinflamasi, antidiabetik, antijamur, antimikroba, antioksidan, antimutagenik, stimulant, diuretik, analgesik, dan akhir-akhir ini juga dikembangkan penelitian terkait khasiat rumput teki sebagai antikanker (Susianti, 2015).

Melalui penelitian terdahulu, diketahui bahwa rumput teki memiliki banyak kandungan senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai antimikroba. Rumput teki memiliki beberapa bagian antara lain, rimpang, umbi, daun, dan bunga. Pada bagian-bagian tersebut terdapat beberapa senyawa antara lain, flavonoid, tannin, kumarin, saponin, alkaloid, fenol, trafenoid. Senyawa-senyawa tersebut merupakan komponen bioaktif di dalam tanaman herbal yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian pada sel bakteri (Pirzada, 2015).

Adapun penelitian yang pernah dilakukan terkait uji efektivitas ekstrak etanol rumput teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini menggunakan metode sumuran dengan memanfaatkan bagian daun dari rumput teki. Hasil yang didapatkan adalah zona inhibisi maksimal sebesar 16 mm (Pirzada, 2015).

Adapun hal lain yang ingin ditekankan pada penelitian ini adalah terkait metode ekstraksi yang digunakan. Metode ekstraksi yang seringkali digunakan adalah metode konvensional, yaitu maserasi dan soxhlet. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode non konvensional yang disebut *Microwave Assisted Extraction*. Metode ini memanfaatkan energi panas yang dihasilkan dari gelombang microwave. Tujuannya untuk menimbulkan suatu kontak antara pelarut dan sampel. Adapun kelebihan dari metode ini adalah hasil ekstrak dihasilkan lebih banyak dengan waktu yang relatif singkat. Jika pada metode konvensional membutuhkan waktu berhari-hari, maka ekstraksi menggunakan MAE hanya membutuhkan waktu sekitar 15-30 menit. Kelebihan lain adalah pelarut yang digunakan juga lebih sedikit, yaitu sekitar 10-30 ml. Volume ini 10 kali lebih sedikit dibandingkan dengan volume pelarut yang dibutuhkan untuk ekstraksi dengan metode konvensional (Eskilsoon dan Bjorklund,2000)

Melalui penelitian-penelitian terdahulu, diketahui bahwa di dalam rumput teki (*Cyperus rotundus*) terdapat kandungan kimia yang dapat bertindak sebagai antimikroba. Namun, penelitian menggunakan ekstrak tanaman rumput teki (*Cyperus rotundus*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terutama dengan metode *Microwave Assisred Extraction* masih sangat jarang dilakukan.Telah dijelaskan berbagai macam kelebihan yang ditawarkan oleh metode ekstraksi MAE. Oleh karena ulasan-ulasan yang telah dikemukakan tersebut, maka dirasa perlu untuk melakukan penelitian terkait uji efektivitas ekstrak tanaman rumput teki (*Cyperus rotundus*) terhadap Pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode MAE.

Berdasarkan uraian di atas, penulis mencoba untuk melakukan penelitian dengan judul: “ **Uji Efektivitas dari Microwave Assisted Extraction Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro.** ”

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang dapat disusun adalah:

- a. Apakah pemberian ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) dengan metode *Microwave Assisted Extraction* memberikan efek antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

- a. Mengetahui apakah pemberian ekstrak rimpang rumput teki dengan metode *Microwave Assisted Extraction* dapat memberikan efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*
- b. Mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak rimpang rumput teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat akademik

a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang

Pseudomonas aeruginosa yang dihambat dengan ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*)

b. Memberikan informasi tentang penggunaan ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) sebagai referensi atau acuan dalam penelitian selanjutnya terhadap penyakit lainnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

a. Memberikan alternative antimikroba untuk pengobatan pasien dengan *pseudomonas aeruginosa*

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu spesies dari genus *Pseudomonas* yang dapat menimbulkan infeksi pada manusia. *Pseudomonas aeruginosa* dalam jumlah kecil seringkali merupakan flora normal pada sistem pencernaan dan kulit manusia. *Pseudomonas aeruginosa* mempunyai habitat normal di tanah dan air, di mana bakteri ini berperan dalam proses dekomposisi bahan-bahan organik. Bakteri ini merupakan pathogen oportunistik penting yang sering menginfeksi hospes yang mengalami gangguan status imunitas. Infeksi pada manusia seringkali didapat di rumah sakit, dan biasanya cukup berat untuk diobati (Santoso *et al.*, 2015).

2.1.1 Taksonomi

Kingdom : Bacteria

Class : Proteobacteria

Ordo : Gamma Proteobacteria

Family : Pseudomonadales

Genus : Pseudomonadaceae

Species : *Pseudomonas*

Serotype : *Pseudomonas aeruginosa*



Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, gram negatif, berbentuk batang, berukuran $0,6 \times 2 \mu\text{m}$.

Gambar 2.1 Gambar mikroskopis *Pseudomonas aeruginosa* dengan Pewarnaan Gram pada perbesaran $1000\times$ (Jawetz et al., 2016)

2.1.2 Morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri batang gram negative (Gambar 2.1). Bakteri ini dapat bergerak aktif dengan flagella polar dan mempunyai ukuran lebar $0,5-1 \mu\text{m}$ dan panjang $3-4 \mu\text{m}$, dan bersifat aerob obligat (Santoso et al., 2015). Bakteri ini dapat terlihat dalam susunan tunggal, berpasangan, atau dalam bentuk rantai pendek. (Jawetz et al., 2016). *Pseudomonas aeruginosa* dapat menggunakan arginin dan nitrat sebagai electron akseptor, sehingga membuatnya juga dapat tumbuh secara anaerob. *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh pada suhu antara $35-42^{\circ}\text{C}$ (Santoso et al., 2015).

Pseudomonas aeruginosa dapat tumbuh dengan baik pada media perbenihan yang digunakan untuk membiakkan bakteri enteric, maupun pada media perbenihan bersifat alkalis untuk isolasi *Vibrio* organik untuk pertumbuhannya. *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh dalam beberapa medium standard seperti Blood Agar Plate. Pada medium darah, bakteri ini dapat memberikan gambaran hemolisis tipe beta (Santoso et al., 2015). *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh

pada berbagai jenis media dan terkadang memproduksi bau anggur (*grape like odor*) yang manis atau *corn taco* (Jawetz et al., 2016). *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan pigmen khas tidak berfluoresensi berwarna kehijauan pada media perbenihan disebut piosianin, tetapi tidak semua galur menghasilkan pigmen ini. Pigmen berwarna piosianin ini dapat terlihat ketika bakteri ini ditanaman dalam medium agar MacConkey (Gambar 2.3). Selain piosianin, juga dihasilkan pigmen berfluoresensi lainnya yaitu pigmen pioverdin yang terlihat kehijauan. (Santoso et al., 2015) Pada medium Muller Hinton, bakteri ini dapat menghasilkan pigmen piosianin dan pioverdin (Gambar 2.2). Beberapa galur lainnya memproduksi pigmen berwarna merah gelap yaitu piorubin atau pigmen hitam yaitu piomelanin (Jawetz et al., 2016). Adapun pemindahan materi genetic antar *Pseudomonas aeruginosa* dapat berlangsung secara konjugasi dan transduksi (Santoso et al., 2015).



Koloni *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter 3-4 mm. Bakteri memproduksi pigmen piosianin dan pioverdin yang terlihat sebagai warna hijau kebiruan.

Gambar 2.2 Gambar Biakan *Pseudomonas aeruginosa* pada medium agar Muller Hinton (Jawetz et al., 2016)



Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memproduksi pigmen piosianin yang tampak berwarna kehijauan.

Gambar 2.3 Gambar biakan *Pseudomonas aeruginosa* pada medium agar MacConkey (Jawetz et al., 2016)

2.1.3 Struktur Antigen

Susunan dinding sel *Pseudomonas aeruginosa* mengandung lipopolisakarida (LPS) yang terdiri dari 2-keto-3-deoksi-asam oktonat (KDO) dan lipid A. LPS yang dimiliki oleh bakteri ini terdapat dua jenis, yaitu polisakarida inti yang terdapat pada semua galur dan polisakarida rantai samping yang bersifat spesifik untuk setiap galur (Santoso et al., 2015).

Pseudomonas aeruginosa memiliki beberapa antigen antara lain antigen O, antigen H atau antigen flagella, dan juga *slime layer* yang dapat mempersulit fagositosis. *Pseudomonas aeruginosa* dibagi menjadi 17 macam serotype atas dasar antigen O. Reaksi serologis terhadap antigen O dapat dilakukan untuk membedakan antar galur. Reaksi serologis yang dimaksud adalah *phage typing* dan produksi piosianin. (Santoso et al., 2015).

2.1.4 Patogenisitas

2.1.4.1 Faktor kolonisasi

Pseudomonas aeruginosa pathogen memiliki pili dan *slime layer* untuk melekatkan diri dan mengkolonisasi (Santoso et al., 2015).

2.1.4.2 Hemolisin

Pseudomonas aeruginosa menghasilkan dua macam hemolisin, yaitu enzim fosfolipase dan glikolipid. Fosfolipase dapat merusak jaringan paru sehingga memudahkan proses invasi (Santoso et al., 2015).

2.1.4.3 Protease

Enzim ini menyebabkan terjadinya perdarahan kulit di mana terjadi infeksi dan berperan dalam menyebabkan infeksi pada kornea (Santoso et al., 2015).

2.1.4.4 Eksotoksin

Pseudomonas aeruginosa menghasilkan dua macam eksotoksin yaitu eksotoksin A dan eksotoksin S. Eksotoksin A yang aktif memiliki aktivitas adenosine-difosfat (ADP)-ribose transferase dan toksin ini menyebabkan inaktivasi faktor elongasi dan hambatan sintesis protein dari sel eukariotik. Eksotoksin S juga bertindak sebagai katalisator pemindahan bagian ADP-ribose dari NAD (nikotinamid-adenin-dinukleotida) kepada sejumlah protein yang berbeda pada eukariotik. Hanya saja, mekanisme terkait eksotoksin S dalam menyebabkan infeksi di manusia masih belum jelas (Santoso et al., 2015).

2.1.4.5 Enterotoksin

Toksin ini bertanggung jawab dalam menyebabkan diare (Santoso *et al.*, 2015).

2.1.5 Gejala Klinis

Infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terjadi pada seseorang yang mengalami gangguan pada sistem pertahanan tubuh, misalnya pada luka bakar, degenerasi keganasan, pada orang dengan gangguan metabolisme, pada orang yang mendapatkan tindakan invasif, pada penderita dengan terapi immunosupresif dan radiasi. Pada lansia sering menyebabkan infeksi saluran kemih. Bakteri ini dapat menginfeksi hampir seluruh jaringan tubuh dengan pertama-tama masuk melalui lesi lokal yang ada pada permukaan tubuh. Lalu, bakteri akan masuk ke dalam sirkulasi dan menyebabkan septisemia serta menyebar ke jaringan tubuh lainnya. Penderita septisemia tersebut dapat memiliki angka kematian sebesar 80% (Santoso *et al.*, 2015).

Pada kebanyakan kasus infeksi oleh karena *Pseudomonas aeruginosa*, gejala yang ditimbulkan tidak spesifik dan terdapat keterlibatan organ. Keterlibatan di dalam traktus respirasi, terutama melalui respirator yang terkontaminasi dapat menyebabkan pneumonia bahkan dapat bersifat kronis. Masalah di dalam traktus urinarius dapat terjadi dikarenakan pemasangan kateter. *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menjadi penyebab dari otitis eksterna ringan pada perenang dan dapat menyebabkan otitis eksterna invasif pada penderita diabetes. Infeksi pada mata yang bisa mengarah pada kerusakan mata yang luas dan biasanya disebabkan

setelah luka atau prosedur operasi. Pada bayi, bakteri ini dapat menyebar melalui sirkulasi dan menyebabkan sepsis yang fatal. Sepsis tersebut seringkali muncul pada orang dengan leukemia atau limfoma yang sudah mendapat terapi antineoplasma atau terapi radiasi dan juga pada pasien dengan luka bakar parah. Pada kulit yang mengalami sepsis dapat juga dijumpai adanya nekrosis hemoragis yang lesinya disebut sebagai *ecthyma gangrenosum*. Lesi ini dikelilingi eritema dan biasanya tidak berisi pus. Faktor risiko terkena meningitis dapat juga terjadi pada orang yang diberikan tindak pungsi lumbar atau ketika prosedur operasi saraf (Jawetz *et al.*, 2016).

2.1.6 Terapi

pengobatan infeksi *Pseudomonas aeruginosa* pada saat ini menekankan pada penggunaan antimikroba. Pada umumnya, *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap bermacam-macam antimikroba. Tetapi masih ada beberapa antimikroba yang efektif untuk mengatasi infeksi oleh bakteri tersebut. Antimikroba golongan aminoglikosida, seperti amikasin, gentamisin, dan tobramisin masih digunakan. Selain itu, antimikroba golongan sefalosporin generasi ketiga seperti sefotaksim dan sefoperazon juga masih memiliki efektivitas antimikroba terhadap *pseudomonas aeruginosa*. Adapun golongan penicillin semisintetik misalnya, piperasilin, mezlosin, dan azlosin masih efektif. Sedangkan untuk karbopenisilin dan tikarsilin telah memberikan tingkat resistensi sekitar 50%. Untuk pengobatan topical pada luka bakar dapat digunakan turunan sulfonamide yaitu sulfamilon (Santoso *et al.*, 2015).

Pengobatan lain yang dapat digunakan untuk penderita infeksi *pseudomonas aeruginosa* adalah vaksin, antara lain heptavalent, PEV-01, dan *hyperimmune gamma globulin* (Santoso et al., 2015).

2.2 Rumput Teki (*Cyperus rotundus*)

Cyperus rotundus atau yang lebih sering disebut rumput teki merupakan tanaman herbal sejenis rerumputan. Tanaman ini berasal dari Afrika, Asia selatan, serta Eropa tengah dan Eropa selatan, dan selanjutnya tersebar di daerah tropis dan subtropis. Tanaman ini merupakan tanaman perenial yang berarti dapat meneruskan kehidupannya setelah bereproduksi atau menyelesaikan siklus hidupnya dalam jangka waktu lebih daripada dua tahun di dalam siklus hidupnya.

Rumput teki dapat mencapai ketinggian sampai 7-40 cm dengan bagian tanaman yang terdiri atas daun, bunga, batang, rimpang, dan umbi. Tanaman ini bereproduksi melalui rimpang serta umbi. Rimpang dari rumput teki tumbuh menjalar di dalam tanah dan berbentuk bulat pada bagian dasar. Bagian rimpang tersebut berasal dari bagian umbinya. Berdasarkan penelitian-penelitian terdahulu, didapatkan hasil bahwa salah manfaat dari rimpang rumput teki adalah sebagai antimikroba (Pirzada et al., 2015).

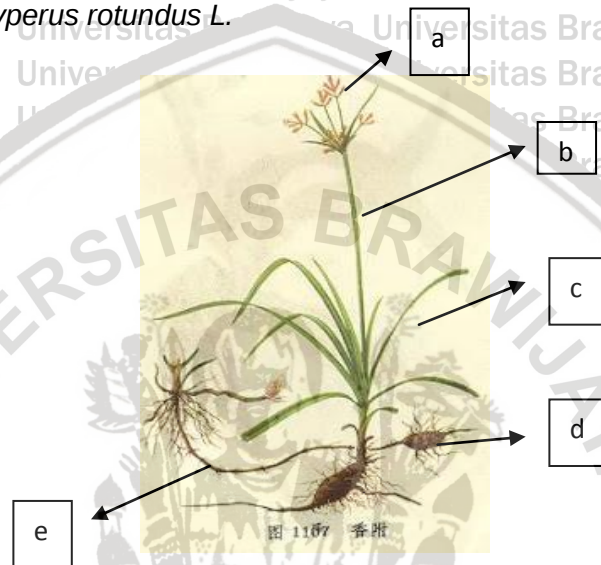
2.2.1 Taksonomi

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Class : Monocotyledoneae

Ordo : Cyperales
Famili : Cyperaceae
Genus : Cyperus
Species : *Cyperus rotundus* L.



Gambar 2.4 Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.), a. bunga, b. batang, c. daun, d. rimpang, e. umbi (Anonim, 2014)

2.2.2 Morfologi Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.)

Cyperus rotundus merupakan tanaman herbal perenial dengan bentuk menyerupai rumput. Tanaman ini memiliki struktur yang halus dan terdiri dari komponen daun, batang, bunga, rimpang, serta umbi (Gambar 2.4). Tanaman ini dapat tumbuh sampai pada ketinggian 40 cm. Rumput teki memiliki sistem perakaran yang besar di bawah tanah yang terdiri atas rimpang dan umbi. Umbi dari rumput teki memiliki panjang 1-3 cm dan dari bagian ini muncul struktur rimpang. Umbi dan rimpang ini lah yang berfungsi untuk reproduksi dari tanaman ini. Umbi

dari tanaman ini berbentuk oval menyerupai telur dan berwarna cokelat kehitaman di bagian luar serta putih kemerahan dan bagian dalam. Sedangkan bagian daunnya berwarna hijau tua. Dari bagian batangnya tumbuh bunga berjumlah dua sampai empat buah yang berukuran kecil. Bunga dari tanaman ini berwarna ungu atau merah kecokelatan (Pirzada *et al.*, 2015).

2.2.3 Kandungan Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.)

Rumput teki mengandung beberapa senyawa yang berperan sebagai antimikroba. Beberapa senyawa yang dapat berfungsi sebagai antimikroba adalah coumarin, flavonoid, tannin, saponin, alkaloid, trafenoid, dan fenol. Senyawa-senyawa tersebut dapat ditemukan di beberapa bagian tanaman rumput teki, salah satunya di bagian rimpang. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki efektivitas terhadap beberapa bakteri gram positif dan gram negatif (Pirzada *et al.*, 2015).

2.2.3.1 Flavonoid

Flavonoid berpotensi sebagai senyawa antibiotik, antibakteri, antikanker. Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan responnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme. Sehingga senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba (Parubak, 2013).

Mekanisme flavonoid sebagai antimikroba meliputi 3 mekanisme, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sel, dan , dan menghambat metabolisme energi. Interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri

dapat menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom. Flavonoid juga membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga merusak membrane sel bakteri dan keluarnya intraseluler. Selain itu, flavonoid menghambat aktivitas metabolisme dengan cara menghambat pemecahan oksigen oleh bakteri, tepatnya menghambat pada sitokrom C reduktase (Bontjura et al., 2015). Berikut ini adalah proses uji fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan senyawa flavonoid di dalam ekstrak tanaman.

1. Memasukkan serbuk Magnesium 5 mg dan 1 ml HCL pekat ke dalam 0.5 gram ekstrak
2. Mengocok campuran larutan tersebut dan dibiarkan hingga memisah
3. Mengamati perubahan warna yang terjadi
4. terbentuk warna merah dalam ekstrak menandakan bahwa terdapat flavonoid (Dewi, 2016)

2.2.3.2 Trapenoid

Mekanisme dari senyawa trapenoid sama dengan mekanisme antimikroba dari fenol, yaitu dengan cara mengganggu transportasi ion ke dalam sel. Trapenoid mampu mengikat lemak dan karbohidrat yang menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri terganggu (Bontjura et al., 2015). Berikut ini merupakan langkah-langkah uji fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan trapenoid di dalam tanaman.

1. Menambahkan 2 ml kloroform dengan pada 100 mg ekstrak, lalu dikocok

2. Menambahkan 2 ml H_2SO_4 pada larutan

3. Reaksi dikatakan positif jika terdapat perubahan warna menjadi merah kecokelatan (Iqbal *et al.*, 2015).

2.2.3.3 Tanin

Mekanisme kerja tannin sebagai antimikroba adalah dengan cara menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin juga mampu menginaktivasi adhesi mikroba dan mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel. Mekanisme lain adalah melalui ikatan dengan polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal lain yang menjadi toksisitas dari tannin adalah kompleksasi dari ion besi. Mikroba yang tumbuh di bawah kondisi aerob membutuhkan besi untuk berbagai fungsi, salah satunya untuk reduksi precursor ribonukleat DNA (Ngajow *et al.*, 2013). Berikut ini merupakan langkah-langkah uji fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan tanin di dalam ekstrak tanaman.

1. Menambahkan 2 ml air ke dalam 1 ml ekstrak

2. Menambahkan 2 atau 3 tetes larutan $FeCl_3$ yang sudah di dilusi

3. Reaksi dikatakan positif jika ada perubahan warna menjadi hijau, atau hijau kebiruan. Perubahan warna menjadi biru kehitaman juga dapat terjadi (Zohra *et al.*, 2012).

2.2.3.4 Saponin

Mekanisme kerja saponin adalah melalui menurunkan tegangan permukaan sehingga meningkatkan permeabilitas atau kebocoran sel sehingga komponen intraseluler akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan dan mengikat membrane sitoplasma. Hal ini menyebabkan kebocoran sitoplasma dan sitoplasma keluar (Ngajow *et al.*, 2013). Berikut ini merupakan langkah-langkah uji fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan saponin di dalam ekstrak tanaman.

1. Memasukkan 0.5 gram ekstrak ke dalam tabung reaksi
2. Menambahkan 10 ml air panas
3. Mendinginkan larutan dan dikocok selama 10 detik
4. Hasil yang menandakan adanya kandungan saponin adalah jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang tidak hilang setelah penambahan 1 tetes HCL 2N (Dewi, 2016).

2.2.4 Manfaat Rumput Teki (*Cyperus rotundus*)

Sebagian besar masyarakat sudah sejak lama memanfaatkan rumput teki sebagai obat-obatan herbal untuk mengobati beberapa penyakit. Bagian rimpang dan umbi rumput teki dapat digunakan sebagai antiinflamasi, analgesik, antibakteri, antidiare, antimutagenik, antioksidan, *cardioprotective*, antilipidemik, antipiretik, antidiabetik, berguna juga dalam penyembuhan luka, dan masih banyak fungsi lainnya. Bagian daun dan bijinya juga dapat digunakan untuk terapi gangguan gastrointestinal dan iritasi (Pirzada *et al.*, 2015). Adapun pemanfaatan tanaman ini di

masyarakat adalah dengan menumbuk umbi tanaman ini hingga menjadi bubuk dan kemudian direbus . Air rebusan tersebut lalu diminum (Susianti, 2015).

2.3 Antimikroba

Antimikroba adalah senyawa kimia yang berfungsi untuk membunuh atau juga bisa menghambat pertumbuhan mikroba. Terdapat 2 macam aktivitas antimikroba, yaitu bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh bakteri pathogen) dan bakterisidal (dapat membunuh mikroba pathogen). Kadar hambat minimal (KHM) merupakan kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba , sedangkan Kadar bunuh minimal (KBM) merupakan kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh bakteri pathogen. Dengan meningkatkan KHM, efektivitas antimikroba tertentu dapat ditingkatkan (Kamaliyah,2016).

2.3.1 Mekanisme Kerja Obat Antimikroba

Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda antara obat satu dengan obat yang lain. Mekanisme kerja obat tersebut antara lain:

2.3.1.1 Menghambat sintesa dinding sel

Dasar toksisitas dari golongan antimikroba jenis ini adalah perbedaan struktur dinding sel prokariot yang terdiri atas peptidoglikan dan sel eukariot yang tidak memiliki peptidoglikan. Hal ini membuat obat golongan ini relatif aman. Antimikroba ini menghambat pembentukan dinding sel saat bakteri sedang aktif membelah dan bersifat bakterisidal. Rusaknya dinding sel bakteri oleh karena hambatan antimikroba dapat menyebabkan bakteri lisis. Contoh antimikroba yang bekerja

dengan mekanisme ini adalah antimikroba golongan beta-laktam (penisilin, sefalosporin, dan karbapenem). Golongan obat ini memiliki rumus cincin beta-laktam yang menyebabkan senyawa tersebut mempunyai sifat antimikroba. Di sisi lain, hal ini juga menjelaskan mekanisme resistensi bakteri terhadap obat ini. Bakteri yang resisten terhadap antimikroba jenis ini dapat menghasilkan enzim beta-laktamase.

Enzim beta-laktamase yang merusak penisilin disebut penisilinase dan yang merusak sefalosporin disebut sefalosporinase (Winarsih dan Mulyastuti, 2015).

Mekanisme kerjanya adalah dengan berikatan dengan reseptor pada dinding sel bakteri yaitu, PBPs (*penicillin binding proteins*) dan menimbulkan hambatan pembentukan dinding sel pada proses transpeptidase. Transpeptidase adalah proses *cross-linking* dari rantai peptide untuk membentuk senyawa peptidoglikan dan terjadi pada tahap akhir dari pembentukan dinding sel. Selanjutnya, akan terjadi aktivasi enzim otolitik di dalam dinding sel yang akan mengakibatkan sel bakteri lisis (Winarsih dan Mulyastuti, 2015).

2.3.1.2 Merusak Membran Sel

Membran sel mempertahankan komposisi internal sel dengan cara berfungsi dalam permeabilitas selektif dan proses transport aktif. Rusaknya membrane sel dapat menyebabkan metabolit penting keluar dan mengarah pada kematian sel.

Contoh antimikroba yang bekerja dengan mekanisme ini adalah polimiksin B, amfoterisin B, dan senyawa azol. Polimiksin B merusak membrane sitoplasma dengan mengikat fosfolipid membrane bakteri dan antimikroba ini hanya aktif terhadap bakteri gram negative. Amfoterisin B bekerja dengan cara mengikat

ergosterol membrane sel fungsi. Sementara itu, senyawa azol menghambat proses metilasi pada biosintesis sterol dari membrane sel fungsi (Winarsih dan Mulyastuti, 2015).

2.3.1.3 Menghambat sintesa protein

Dasar toksisitas selektif dari antimikroba yang bekerja dengan mekanisme ini adalah struktur ribosom prokariot (ribosom 70S) berbeda dengan sel eukariot (ribosom 80S). Namun, perlu diingat bahwa mitokondria sel eukariot berisi ribosom 70S. Ribosom 70S bakteri tersusun dari unit 50S dan 30S. Antimikroba yang bekerja pada unit 50S adalah kloramfenikol dan linkomisin dengan cara menghambat perpanjangan rantai polipeptida, serta eritromisin yang mekanisme kerjanya mencegah perjalanan ribosom di sepanjang mRNA. Antimikroba yang bekerja pada unit 30S adalah streptomisin dengan cara mengubah bentuk ribosom sehingga bentuk kodon juga berubah mengakibatkan misreading oleh antikodon pada tRNA. Tetrasiklin bekerja pada unit ribosom 30S dengan cara mengganggu perlekatan tRNA pada kompleks mRNA-ribosom (Winarsih dan Mulyastuti, 2015).

2.3.1.4 Menghambat sintesis asam nukleat

Antimikroba ini menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi misalnya rifampisin atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel. Yang termasuk golongan ini adalah asam nalidiksat, senyawa kuinolon, dan mitomisin. Rifampisin bekerja dengan cara mengikat kuat enzim *DNA-dependent RNA polymerase*. Senyawa kuinolon (siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasin) mengganggu

enzim *DNA-gyrase* yang berperan pada proses replikasi DNA (Winarsih dan Mulyastuti, 2015).

2.3.1.5 Antagonis metabolit

Aktivitas enzim seringkali dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa penghambat ini bergabung dengan enzim sedemikian rupa sehingga dapat mencegah reaksi enzim dengan substrat dan reaksi-reaksi katalitik. Kebanyakan senyawa penghambat tersebut bersifat analog dengan faktor-faktor pertumbuhan bakteri, misalnya vitamin, asam amino, purin, dan pirimidin. Senyawa penghambat seperti ini disebut senyawa antimetabolit. Mekanisme kerja senyawa antimetabolit adalah dengan cara menghambat secara kompetitif terhadap sintesis metabolit esensial. Contoh antimikroba yang bekerja dengan mekanisme ini adalah antara PABA (*para amino benzoic acid*) dan sulfonamid. Contoh lain adalah trimetoprim dan pirimetamin yang jika dikombinasi dengan sulfonamide dapat menyebabkan *sequential inhibition* (Winarsih dan Mulyastuti, 2015).

2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan cara pemisahan kandungan aktif sari simplisa menggunakan penyaring yang cocok. Simplisa merupakan bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami perubahan (kamaliyah, 2016). Tujuan dari dilakukannya ekstraksi adalah untuk mendapatkan komponen bioaktif tanaman yang menjadi target dari sampel yang ada dan untuk mengkonversi komponen bioaktif tersebut supaya lebih mudah dideteksi dan disepariasi. Secara garis besar,

metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua, yaitu metode konvensional dan non konvensional (Azmir *et al.*, 2013).

2.4.1 Teknik Ekstraksi Konvensional

Metode ini merupakan metode klasik. Pemilihan pelarut yang tepat menentukan proses ekstraksi konvensional berjalan secara efisien atau tidak. Pemilihan dari pelarut harus memperhatikan polaritas dari komponen bioaktif yang menjadi target.

Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah afinitas antara larutan dan pelarut, transfer masa, penggunaan *co-solvent*, keamanan lingkungan, toksisitas pada manusia, dan biaya yang dibutuhkan. Beberapa metode ekstraksi konvensional adalah sebagai berikut (Azmir *et al.*, 2013)

2.4.1.1 Soxhlet

Ketika pertama kali dikembangkan, metode ini hanya digunakan untuk mengekstraksi lipid. Namun, penggunaannya pada zaman sekarang tidak hanya terbatas pada hal tersebut. Sampel kering dalam jumlah sedikit pertama-tama diletakkan di dalam suatu tudung. Tudung tersebut lalu diletakkan di labu distilasi yang berisi suatu pelarut tertentu. Setelah mendidih, larutan yang terdapat di dalam tudung disaring menggunakan sifon dan hasil saringan tersebut masuk kembali ke dalam labu distilasi (Azmir *et al.*, 2013).

2.4.1.2 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang populer dan tidak mahal. Untuk prosedur ekstraksi yang berskala kecil, ekstraksi dengan cara maserasi meliputi

beberapa langkah. Pertama-tama, material tanaman digerus untuk memperluas area permukaan supaya bisa terlarut dengan baik dengan pelarut. Lalu, pelarut ditambahkan melalui sebuah selang tertutup. Cairan tersebut disaring dan sisa material padat ditekan untuk membebaskan sejumlah besar larutan yang tertahan. Cairan yang didapat dari penyaringan dan larutan yang didapat setelah dilakukan penekanan dicampur dan difiltrasi supaya menjadi jernih (Azmir *et al*, 2013).

2.4.2 Teknik Ekstraksi Non Konvensional

Teknik ekstraksi non konvensional menawarkan kelebihan yang dapat mengatasi kelemahan pada prosedur ekstraksi konvensional. Beberapa kelebihan tersebut antara lain, teknik yang lebih ramah lingkungan dikarenakan penggunaan bahan sintesis berbahaya dan kimia yang minimal. Terdapat banyak prosedur ekstraksi non konvensional antara lain , *Ultrasound Assisted Extraction*, *Enzyme Assisted Extraction*, *Microwave Assisted Extraction*, *Pulse Electric Field Assisted Extraction*, *Supercritical Liquid Extraction* , dan *Pressurized Liquid Extraction*. Di antara metode tersebut , metode *Microwave Assisted Extraction* merupakan metode yang sering digunakan (Azmir *et al.*, 2013).

2.4.2.1 Microwave Assisted Extraction (MAE)

Microwave Assisted Extraction merupakan metode untuk mengekstraksi produk terlarut menjadi larutan dari berbagai macam material menggunakan energi microwave. Microwave merupakan medan elektromagnetik yang memiliki frekuensi sebesar 300 MHz sampai 300 GHz dengan dua medan osilasi yang saling tegak lurus. Medan osilasi tersebut adalah medan elektrik dan medan magnetik. Prinsip

dari proses pemanasan menggunakan microwave adalah efek langsungnya terhadap material yang bersifat polar. Energi elektromagnetik diubah menjadi energi panas mengikuti konduksi ion dan mekanisme rotasi dipole. Panas dihasilkan oleh karena adanya resistensi medium ke ion yang mengalir. Pada sisi lain, ion-ion mempertahankan arah yang berubah-ubah di sepanjang medan. Perubahan arah yang berlangsung terus-menerus ini akan menyebabkan molekul-molekul yang ada saling bertumbukan dan menghasilkan panas (Azmir *et al.*, 2013)

Mekanisme ekstraksi menggunakan MAE meliputi tiga proses berurutan. Langkah pertama adalah pemisahan zat terlarut dari sisi aktif pada matriks sampel pada peningkatan temperature dan tekanan tertentu. Lalu, difusi pelarut melalui matriks sampel. Langkah terakhir adalah pembebasan zat terlarut pada matriks sampel ke pelarut. MAE memiliki beberapa kelebihan antara lain, proses pemanasan material tanaman yang lebih cepat, jumlah peralatan yang sedikit, dan hasil ekstrak yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan dari teknik konvensional. MAE merupakan metode yang dipilih untuk mengekstraksi komponen organik dan organometalik yang lebih intak. MAE disebut sebagai "*green technique*" dikarenakan penggunaan pelarut organik yang minimal (Azmir *et al.*, 2013).

Terdapat beberapa parameter yang menentukan keberhasilan dari metode ini. Beberapa parameter tersebut antara lain sebagai berikut

a. Pemilihan Pelarut

Pelarut yang dipilih atas dasar kemampuan pelarut tersebut untuk menyerap energi microwave dan menyalurkannya dalam bentuk panas ke

molekul lain. Kemampuan absorpsi tersebut bergantung dari faktor disipasi dari pelarut yang digunakan. Faktor disipasi ditentukan dari *dielectric loss* (efisiensi dalam mengubah energi microwave menjadi energi panas) dan konstanta dielektrik (keterpolaran molekul pada medan elektrik). Pelarut yang bersifat polar memiliki kemampuan yang tinggi untuk menyerap energy microwave. Sebaliknya, pelarut non polar , seperti heksana, tidak dapat menyerap energi microwave menjadi energy panas . Adapun beberapa pelarut yang dapat digunakan dalam MAE antara lain etanol, aceton, methanol, dan air (Eskilsson dan Bjorklund, 2000).

b. Volume Pelarut

Volume pelarut yang digunakan dalam metode MAE biasanya dalam kisaran 10-30 ml. Volume yang digunakan harus sufisien untuk memastikan bahwa keseluruhan sampel terimersi. Penggunaan volume pelarut berbeda dengan yang digunakan pada metode konvensional. Jika pada metode konvensional peningkatan volume pelarut dapat meningkatkan *recovery*, maka yang terjadi pada metode MAE adalah sebaliknya. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa peningkatan volume pelarut di atas 30 ml dapat menurunkan *recovery* (Eskillson dan Bjorklund, 2000).

c. Temperatur

Ketika MAE diaplikasikan dalam sistem *closed vessel*, maka suhu yang digunakan adalah di atas titik didih pelarut. Peningkatan suhu dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Hal ini dikarenakan semakin tinggi suhu,

maka kemampuan dari pelarut untuk melarutkan analit meningkat (Eskilsson dan Bjorklund, 2000).

d. Durasi Ekstraksi

Durasi yang dibutuhkan untuk melakukan MAE jauh lebih singkat dibandingkan dengan yang diaplikasikan pada metode konvensional. Pada MAE, ekstraksi memerlukan durasi sekitar 10-15 menit (Eskilsson dan Bjorklund, 2000).

2.5 Aktivitas Antimikroba secara In Vitro

Aktivitas antimikroba diukur secara in vitro untuk menentukan beberapa hal, antara lain potensi dari suatu antimikroba di dalam larutan, konsentrasi di cairan tubuh atau jaringan, dan kerentanan dari suatu mikroorganisme terhadap konsentrasi antimikroba tertentu (Jawetz *et al.*, 2016).

2.5.1 Faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba

Beberapa faktor berikut ini harus diperhatikan karena dapat sangat berpengaruh terhadap hasil penelitian.

a. pH Lingkungan

Ada beberapa antimikroba yang lebih aktif terhadap lingkungan yang asam dibandingkan lingkungan yang basa. Begitu juga sebaliknya (Jawetz *et al.*, 2016).

b. Komponen medium

Sodium polyanetholsulfonate (pada medium darah) dan detergen anionic lainnya dapat menghambat aminoglikosida. PABA pada ekstrak jaringan merupakan antagonis sulfonamide. Penambahan NaCl pada medium dapat mendukung deteksi *methicillin resistance Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al.*, 2016).

a. Stabilitas Obat

Pada suhu incubator, terdapat beberapa obat yang kehilangan aktivitasnya. Penisilin dapat terinaktivasi secara perlahan. Namun, golongan sulfonamide dan aminoglikosida dapat stabil dalam jangka waktu yang lama (Jawetz *et al.*, 2016).

b. Ukuran *Inoculum*

Semakin besar inokulasi bakteri maka akan semakin rendah tingkat kerentanan bakterinya. Mutan yang resisten seringkali muncul pada populasi yang besar (Jawetz *et al.*, 2016).

c. Durasi Inkubasi

Semakin lama waktu inkubasi, semakin tinggi kemungkinan dari mutan resisten untuk muncul (Jawetz *et al.*, 2016).

d. Aktivitas metabolit dari mikroba

Mikroba yang dalam keadaan aktif atau yang tumbuh dengan cepat lebih rentan terhadap antimikroba dibandingkan dengan yang sedang dalam keadaan *resting* (Jawetz *et al.*, 2016).

2.5.2 Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Penentuan suseptibilitas dari suatu bakteri pathogen terhadap antimikroba digunakan untuk penemuan obat, studi epidemiologi, dan prediksi hasil terapi (Balouri *et al.*, 2015). Pengukuran suseptibilitas antimikroba dapat ditentukan dengan 2 metode utama yaitu, metode dilusi metode difusi (Jawetz *et al.*, 2016).

2.5.2.1 Metode Dilusi

Metode ini bertujuan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal). Terdapat 2 metode dilusi, yaitu dilusi tabung dan dilusi agar (Jawetz *et al.*, 2016). KHM dapat ditentukan dengan metode ini karena aktivitas antimikroba dapat diukur secara kuantitatif dengan satuan $\mu\text{gram/mL}$ atau mg/L (Balouri *et al.*, 2015).

a. Broth dilution method (Dilusi tabung)

Metode ini dilakukan dengan menyiapkan dilusi rangkap dari antimikroba (contoh: 1,2,4,6,8,16, 32 mikro gram/mL) yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi media cair minimal 2 ml dan sel mikroba dengan jumlah tertentu. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Balouri *et al.*, 2015). Interpretasi hasil dilakukan dengan cara melihat kekeruhan yang muncul dalam tabung. Yang dimaksud Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah konsentrasi minimal obat yang

menunjukkan bahwa hasil biakan mulai terlihat jernih. Setelah biakan dari seluruh tabung yang jernih diinokulasi dengan media agar yang padat, dilakukan inkubasi kembali. Keesokan harinya dilakukan pengamatan untuk mengetahui ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Untuk Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah konsentrasi minimal obat pada biakan media agar pada yang menunjukkan bahwa tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba (Kamaliyah, 2016).

b. *Agar dilution method* (Dilusi Agar)

Larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial dan dicampurkan ke dalam medium agar. Selanjutnya, medium diinokulasi dengan mikroba. Setelah selesai diinkubasi yang perlu dilakukan adalah mengamati dan menghitung pertumbuhan mikroba yang terdapat pada cawan. Namun, metode dengan menggunakan agar membutuhkan waktu yang lama dan hanya dapat dilakukan pada kondisi tertentu (Jawetz et al., 2016).

2.5.2.2 Metode Difusi

a. *Agar Disk Difusion*

Metode ini merupakan metode yang sering digunakan untuk penentuan suseptibilitas antimikroba rutin. Medium agar diinokulasikan dengan inokulum standar dari mikroorganisme yang akan dilihat suseptibilitasnya. Cakram kertas saring (diameter sekitar 6 mm) berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium agar tersebut. Setelah itu, medium diinkubasi pada suhu yang sesuai. Agen antimikroba akan berdifusi ke medium dan menghambat germinasi serta pertumbuhan dari mikroorganisme. Dari hal ini, diameter zona inhibisi dapat dihitung

untuk mengukur kekuatan hambat dari antimikroba. Interpretasi hasil secara kualitatif dilakukan dengan cara membuat kategori apakah bakteri itu tergolong rentan, intermedia, atau resisten terhadap antimikroba. Dengan hal ini, klinisi dapat menentukan pengobatan empiris atau antibiotik yang perlu diberikan pada pasien dengan kondisi tertentu (Baloiri *et al.*, 2015).

Metode ini memiliki beberapa kelebihan yang membuatnya sebagai metode yang sering dipakai. Kelebihan tersebut antara lain, penggunaanya yang mudah, biaya yang relative murah, dan penggunaannya yang dapat diaplikasikan ke berbagai macam bakteri. Kelemahan dari metode ini adalah tidak dapat ditentukannya sifat dari suatu antimikroba tergolong bakterisidal atau bakteristatik. Hal ini dikarenakan zona inhibisi yang terbentuk tidak berarti bahwa bakteri tersebut mati. Metode ini juga tidak dapat digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) karena jumlah antimikroba yang berdifusi tidak dapat dihitung. Namum, dengan algoritma tertentu, KHM dapat diperkirakan hanya untuk beberapa mikroorganisme (Baloiri *et al.*, 2015).

b. *Agar well diffusion method* (Sumuran)

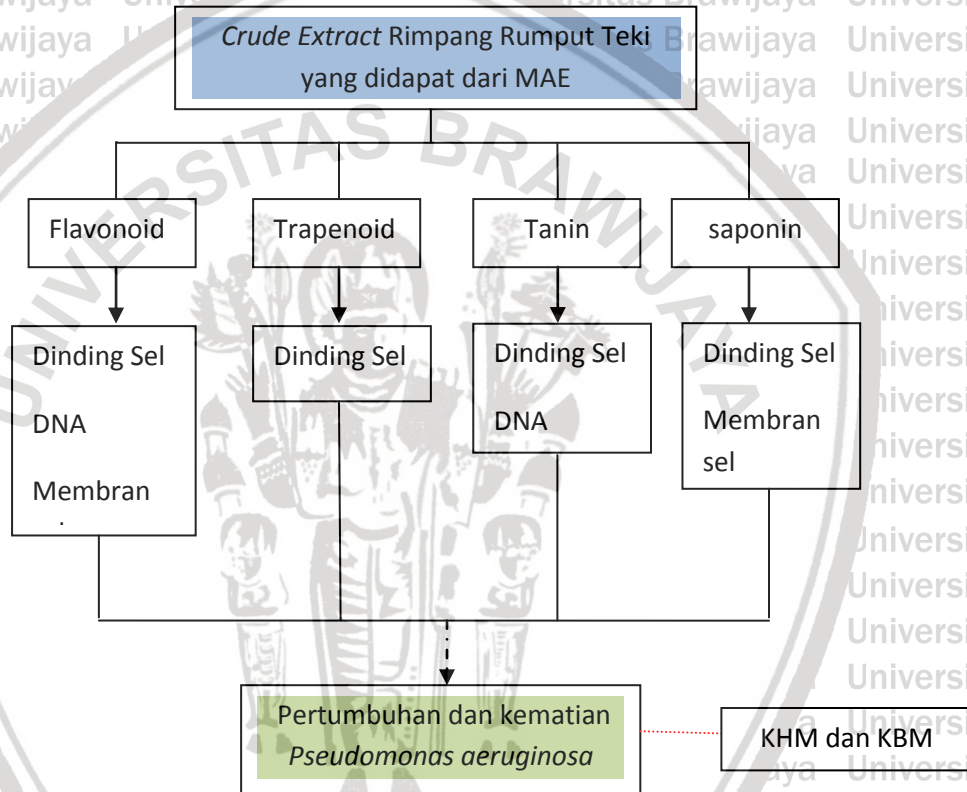
Metode ini digunakan secara luas untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba pada ekstrak tanaman atau ekstrak mikroba. Prosesnya serupa dengan metode *disk diffusion*. Pertama-tama suspensi bakteri diratakan di dalam medium agar. Pada medium tersebut dibuat sumuran dengan cara membuat lubang sebesar 6-8 mm dan sejumlah agen antimikroba atau ekstrak larutan dimasukkan ke dalam lubang tersebut. Setelah itu, medium diinkubasi dan antimikroba atau ekstrak akan berdifusi ke medium untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Baloiri *et al.*, 2015).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian Ekstrak Rimpang Rumpus Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Keterangan:

→ : Menyebabkan kerusakan pada

— : Memiliki kandungan

- - - - -> : Menyebabkan

..... : Dilihat melalui

□ : Variabel independen

□ : Variabel dependen

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Rimpang Rumput teki memiliki berbagai macam komponen bioaktif yang memiliki aktivitas antimikroba. Beberapa senyawa aktif tersebut antara lain, flavonoid, tannin, saponin, fenol, alkaloid, dan alkaloid. Senyawa-senyawa tersebut bekerja melalui berbagai macam mekanisme antimikroba terhadap komponen-komponen bakteri. Adapun beberapa komponen bakteri yang dapat dipengaruhi oleh aktivitas antimikroba berbagai senyawa tersebut adalah dinding sel, membrane sel, dan nukleus.

Mekanisme kerja antimikroba pada dinding sel dilakukan dengan cara menghambat sintesis dinding sel atau juga bisa dengan merusak integritas dinding sel. Kandungan senyawa yang bekerja melalui mekanisme ini antara lain flavonoid, tanin, dan trafenoid. Cara dari masing-masing senyawa tersebut dalam mempengaruhi dinding sel juga dapat dilakukan dengan berbagai macam mekanisme. Flavonoid merusak dinding sel bakteri dengan cara berinteraksi dengan DNA. Sedangkan fenol bekerja dengan cara membentuk ikatan hidrogen dengan protein sel pada dinding sel. Adapun mekanisme yang dilakukan oleh trafenoid adalah dengan cara mengikat karbohidrat dan lemak pada dinding sel bakteri. Tanin bekerja melalui ikatan dengan polipeptida pada dinding sel. alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sehingga mengganggu pembentukan dinding sel bakteri.

Mekanisme kerja antimikroba pada membrane sel dilakukan dengan cara mengganggu permeabilitas membrane sel bakteri. Kandungan senyawa yang bekerja dengan mekanisme ini antara lain flavonoid dan saponin. Flavonoid

mengganggu permeabilitas dinding sel dengan cara membentuk ikatan dengan protein ekstraseluler membrane sehingga menyebabkan isi sel keluar. Mekanisme kerja saponin adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga meningkatkan tegangan permukaan dari membrane sel bakteri. Hal ini akan menyebabkan komponen intraseluler bakteri keluar.

Mekanisme kerja antimikroba pada nukleus dilakukan dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dan mengganggu metabolisme energi. Mekanisme ini dilakukan oleh senyawa flavonoid dan tannin. Flavonoid bekerja dengan cara merusak DNA dengan cara mengikatnya. Selain itu, flavonoid juga menghambat metabolisme energy yang dilakukan melalui penghambatan sitokrom C reduktase . Hal ini dapat menghambat pemakaian oksigen. Tanin bekerja di nukleus melalui mekanisme toksisitas yang dimilikinya, yaitu komplekasi dari ion besi.

Mikroba yang tumbuh di bawah kondisi aerob membutuhkan besi untuk berbagai fungsi , salah satunya untuk reduksi precursor ribonukleat DNA. Selain itu, tannin juga dapat menghambat enzim reverse transkriptasi dan DNA topoisomerase. Hal ini menyebabkan kegagalan dalam pembentukan sel.

Hal lain yang ingin ditekankan dalam penelitian ini adalah ekstraksi dengan menggunakan metode non konvensional , yaitu *Microwave Assisted Extraction*. MAE adalah metode untuk mengekstraksi produk terlarut dari berbagai macam material

menggunakan energy microwave. Cara kerja dari metode ini adalah dengan memanfaatkan energy panas yang dihasilkan oleh microwave sehingga menghasilkan kontak antara pelarut dan sample. Kelebihan utama dari MAE

dibandingkan dengan teknik konvensional adalah hasil ekstrak yang lebih banyak dengan proses ekstraksi yang lebih cepat.

3.3 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak rimpang Rumput Teki yang didapat dari metode *Microwave Assisted Extraction* memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratories secara in vitro. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antimikroba dari berbagai konsentrasi ekstrak rimpang rumput teki terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Uji antimikroba dilakukan dengan metode dilusi tabung yang ditujukan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari ekstrak rimpang rumput teki terhadap biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

4.2.1 Waktu

Penelitian ini dilaksanakan antara bulan Februari-Mei 2018

4.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian uji antimikroba dilusi tabung dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan proses ekstraksi dengan *Microwave Assisted Extraction* dilakukan di Laboratorium Sentra Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang. Adapun proses evaporasi dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Sampel

Sample penelitian ini berupa isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4 Replikasi

Pada penelitian ini digunakan 6 macam dosis konsentrasi perlakuan berbeda dan 1 kontrol positif. Jadi, terdapat 7 perlakuan dalam penelitian. Adapun jumlah pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus Gomez dengan estimasi pengulangan yaitu,

$$t(R-1) \geq 20$$

$$7(R-1) \geq 20$$

$$7R - 7 \geq 20$$

$$7R \geq 27$$

$$R \geq 3.85$$

Keterangan:

R = jumlah pengulangan

t = jumlah perlakuan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka banyaknya pengulangan jumlah dari sampel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperlukan dalam penelitian ini paling sedikit adalah 3.85 kali atau dapat dibulatkan menjadi 4 kali.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Dependen

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

4.5.2 Variabel Independen

Variabel independen dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak rimpang rumput teki dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi yang digunakan yaitu 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, 24%, dan 0% (kontrol positif).

4.6 Definisi Operasional

a. Rimpang Rumput Teki yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia

rimpang Rumput Teki yang didapat dari Materia Medika, Batu.

b. Ekstrak rimpang Rumput Teki adalah rimpang dalam bentuk serbuk kemudian di ekstraksi dengan metode *Microwave Assisted Extraction* menggunakan pelarut ethanol 96%.

c. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang didapat dari penelitian ini berasal dari isolate sputum Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya.

d. Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah konsentrasi ekstrak terendah dari rimpang Rumput Teki yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri

Pseudomonas aeruginosa. Hal ini ditunjukkan dari tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak rimpang dari suspensi bakteri tersebut dalam tabung yang sudah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C

e. Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah konsentrasi ekstrak terendah dari rimpang Rumput Teki yang mampu membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini dapat dilihat dari jumlah koloni pada *Nutrient Agar Plate* yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose larutan ekstrak rimpang Rumput Teki dan juga ditambahkan bakteri uji setelah diinkubasi. Hal yang diamati adalah jumlah koloni yang sedikit bahkan tidak terdapat pertumbuhan. Jumlah koloni yang dimaksud adalah kurang dari 0.1% *original inoculums*.

f. *Original inoculums* adalah inokulum dengan konsentrasi awal bakteri yang digunakan untuk mencari KBM. Konsentrasi yang dimaksud 10^6 CFU/ml.

g. Kontrol negatif adalah ekstrak rimpang Rumput Teki murni yang tidak dicampur dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Nilai kontrol negative adalah 0 yang memiliki makna tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri jenis apapun.

h. Kontrol positif adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* murni yang tidak dicampur dengan ekstrak rimpang Rumput Teki. Hal ini digunakan sebagai standar jumlah pertumbuhan bakteri tanpa ekstrak rimpang Rumput Teki.

i. Kadar konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, 24%. Tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung

akan di evaluasi dengan kertas putih bergaris-garis hitam yang diletakkan tepat di belakang tabung.

4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri

Beberapa cara yang dilakukan dalam identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* antara lain, pewarnaan gram, pengamatan koloni pada hasil kultur, serta test katalase maupun test oksidase. Alat yang digunakan adalah ose, pipet, tabung reaksi, mikroskop, lampu spiritus, kertas penghisap/tissue, dan minyak imersi. Bahan yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Nutrient Broth*, Glass object, Kristal violet, aquades, larutan lugol, alkohol 70%, safranin, *Nutrient Agar Plate*, hidrogen peroksida, oksidase strip untuk uji oksidasi.

4.7.2 Alat dan Bahan pembuatan ekstrak Rimpang Rumput Teki dengan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE)

Alat yang digunakan adalah blender, vessel, microwave, rotary evaporator, labu ekstraksi, labu penampung, alat pompa air dingin, alat pompa vakum, dan alat pemanas aquades. Bahan yang digunakan antara lain simplisia rimpang Rumput Teki, ethanol 96%.

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Prosedur Ekstraksi Komponen Bioaktif Rimpang Rumput Teki dengan *Microwave Assisted Extraction*

a. Tahap Pengeringan

1. Mencuci bersih rimpang Rumput Teki menggunakan air bersih.

Hal ini bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lainnya dari rimpang Rumput Teki.

2. Rimpang Rumput teki dikeringkan dalam suhu ruangan (25°C) selama 10 hari
3. Menggiling rimpang Rumput Teki sampai berbentuk bubuk halus

b. Tahap Ekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction*

1. Memasukkan sample ke dalam vessel
2. Memasukkan pelarut etanol ke dalam vessel dan menutup vessel
3. Radiasi diaplikasikan selama 10 menit. Temperature *microwave* yang digunakan adalah 50°C . Setelah proses selesai, hasil ekstraksi didiamkan selama 20 menit

c. Tahap Evaporasi

1. Memasang evaporator set
2. Memindahkan labu ekstraksi ke labu penampung
3. Mengaktifkan rotary evaporator, alat pompa air dingin, dan alat pompa vakum
4. Mengaktifkan alat pemanas aquades dengan suhu 50°C . Biarkan etanol menguap

5. Hasil penguapan ethanol dikondensasi sehingga menuju labu penampung ethanol
6. Proses ini dilakukan berulang kali sampai didapatkan hasil ekstrak yang pekat dan volumenya berkurang.

4.8.2 Prosedur Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

a. Inokulasi pada Medium *Nutrient Agar Plate*

Hal pertama yang dilakukan adalah menyiapkan biakan bakteri pada nutrient broth . Setelah itu melakukan streaking pada medium *Nutrient Agar Plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi selesai, maka dilakukan pengamatan koloni *Pseudomonas aeruginosa*. Koloni yang muncul memiliki permukaan yang datar dengan pinggir yang bergerigi, menghasilkan pigmen kebiruan yang disebut *piocyanin*, dan terkadang juga mengeluarkan bau anggur (*grape like odor*).

a. . Pewarnaan Gram

1. Bersihkan object glass dengan tissue dan lewatkan di atas api Bunsen
2. Teteskan satu ose aquades steril pada object glass kemudian tambahkan sedikit bakteri dari NAP menggunakan ose, lalu biarkan kering terlebih dahulu. Setelah itu, dilakukan fiksasi dengan dilwatkan di atas api Bunsen.
3. teteskan Kristal violet dan biarkan selama 1 menit.
4. Sisa pewarna dibuang dengan dibilas menggunakan air

5. Sediaan ditetesi larutan lugol dan dibiarkan selama 1 menit.

Kemudian sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air

6. Sediaan ditetesi alkohol 96% sebagai peluntur selama 5-10 detik.

Kemudian sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air

7. Sediaan ditetesi safranin sebagai *counterstain* (pewarna pembanding) dan dibiarkan selama 30 detik. Kemudian, sisa

safranin dibuang dan dibilas dengan air

8. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap/tissue

9. Sediaan ditaruh di atas mikroskop. Tetesi dengan minyak imersi.

Amati sediaan dengan perbesaran 1000x. Hasil gram negative ditunjukkan dengan warna merah. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki tampilan berbentuk batang. Bakteri ini dapat terlihat dalam bentuk tunggal, berpasangan, atau dalam bentuk rantai pendek.

c. Uji Katalase

1. Mengambil satu ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada medium NAP yang telah dibuat

2. Membuat hapusan pada object glass

3. Meneteskan 1 tetes larutan hidrogen peroksida ke atas sediaan

4. Hasil positif ditandai dengan pembentukan gelembung secara langsung

d. Uji Oksidase

1. Siapkan *oxidase strip*

2. Ambil bakteri dari biakan koloni pada medium NAP dan goreskan bakteri pada *oxidase strip*

3. Amati perubahan warna

4. Hasil dikatakan positif jika terdapat perubahan warna menjadi ungu gelap dalam waktu 5-10 detik. Adapun jika perubahan warna terjadi setelah 60-90 detik, maka oksidasi terjadi secara lambat. Hasil dikatakan negatif jika tidak ada perubahan warna setelah 2 menit.

4.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

a. Mengambil bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari *Nutrient Agar Plate* dan melakukan inokulasi bakteri pada *Nutrient Broth*. Setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

b. Melakukan penilaian kepadatan perbenihan cairan bakteri atau penilaian absorbansi suspensi dengan spektrofotometer pada gelombang cahaya 625 nm.

c. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 /ml atau setara dengan *Optical Density* (OD) dengan nilai 0.1. Lalu, perhitungan dilakukan sebagai berikut.

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan:

N1= OD bakteri hasil spektrofotometri

N2= OD bakteri dengan kepadatan 1×10^8 bakteri/ml

V1= Volume bakteri ditambah pengencer

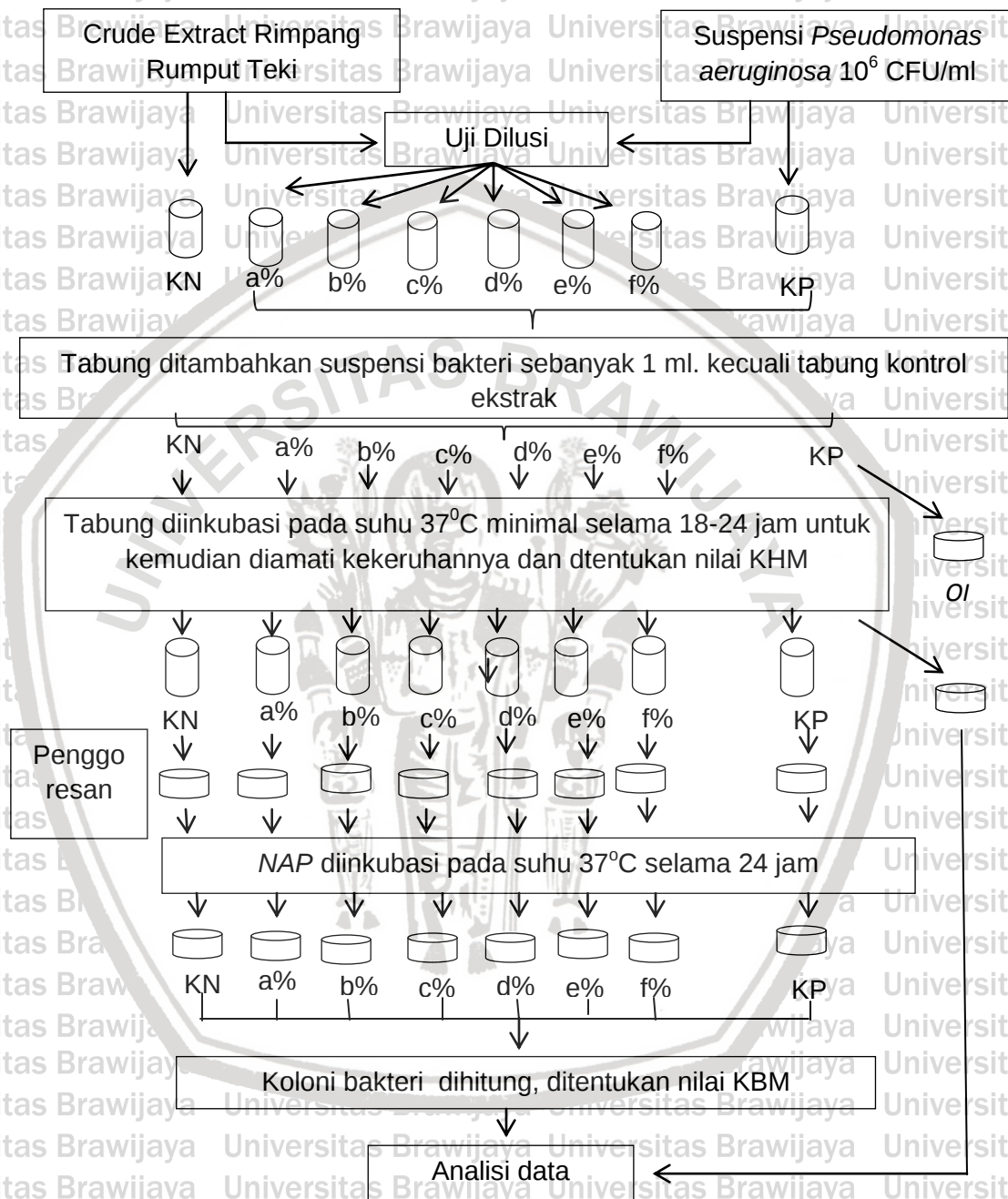
V2= Volume suspensi bakteri (10 ml)

Dari perhitungan tersebut diperoleh volume bakteri yang ditambahkan ke dalam pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml sebanyak 10 ml. Pada prosedur dilusi diperlukan suspensi sel yang mengandung 10^6 CFU/ml. Untuk mendapatkan suspensi sel dengan yang mengandung 10^6 CFU/ml, maka dilakukan pencampuran antara 1 ml suspensi sel yang berasal dari tabung berisi 10^8 CFU/ml dengan 9 ml NaCl 0.85% steril. Maka akan didapatkan suspensi sel dengan konsentrasi 10^7 CFU/ml. Proses dilanjutkan sekali lagi hingga konsentrasi suspensi mencapai 10^6 CFU/ml. Konsentrasi suspensi inilah yang siap digunakan untuk proses dilusi.

4.8.4 Uji Dilusi Tabung

- a. Disediakan 7 tabung reaksi steril diberi tanda dengan konsentrasi-konsentrasi yang sudah ditentukan (0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, 24%).
- b. Dari 7 tabung tersebut, disediakan 1 tabung sebagai dan kontrol positif (berisi suspensi bakteri sebanyak 10^6 CFU/ml dan tanpa ekstrak).
- c. Dilakukan pembuatan larutan sebanyak 1 ml dengan ketujuh konsentrasi yang sudah ditentukan tersebut. Larutan terdiri dari ekstrak dengan konsentrasi tertentu dan pengencer.
- d. Seluruh tabung, diberikan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml dan divortex hingga homogen. Seluruh tabung termasuk kontrol positif diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- e. Pada hari kedua dilakukan pengamatan. Seluruh tabung (tabung 1-7) dibandingkan kekeruhannya dengan tabung kontrol positif untuk menentukan KHM. Kekeruhan tabung dilihat dengan membandingkan dengan kontrol ekstrak dan menempelkan kertas putih dengan garis hitam yang memiliki ketebalan yang berbeda pada bagian belakang tabung. Jika seluruh garis terlihat, berarti tabung sudah jernih.
- f. Dari tabung yang tidak menunjukkan kekeruhan, diambil sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada medium NAP dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C .
- g. Jumlah koloni pada NAP dihitung dengan menggunakan *colony counter* dan menentukan KBM. KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri atau pertumbuhan bakteri yang kurang dari 0.1% *Original Inoculum*.

Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian Metode Dilusi Tabung

Keterangan : KN: Kontrol Negatif, KP: Kontrol Positif, OI: Original Inoculum, NAP: Nutrient Agar Plate

4.9 Analisis Data

Analisis data menggunakan uji statistic *One Way ANNOVA*, pada taraf kepercayaan 95% . Uji *One Way ANNOVA* ini bersifat satu arah dan bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai macam konsentrasi ekstrak rimpang Rumput Teki terhadap koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sebelum melakukan uji *One Way ANNOVA*, perlu dilakukan uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas varian sebagai syarat dalam uji parametrik. Uji normalitas berfungsi untuk mengetahui apakah persebaran data yang ada normal atau tidak, sedangkan uji homogenisitas berfungsi untuk mengetahui perbedaan varians antara kedua kelompok atau lebih. Setelah didapat hasil dari uji normalitas dan homogenitas varian, uji *One Way ANNOVA* dapat dilakukan. Setelah didapat nilai signifikansi dari uji *One Way ANNOVA*, dilakukan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna.

Uji korelasi dan regresi juga digunakan dengan taraf kepercayaan 95%. Uji ini dilakukan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan penurunan jumlah koloni bakteri. Sama hal nya seperti Uji Anova, perlu dilakukan uji normalitas sebelum dilakukan uji korelasi-regresi. Uji homogenisitas tidak menjadi syarat dalam uji korelasi-regresi sebab uji korelasi-regresi tidak menguji perbedaan beberapa kelompok.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Pengamatan

5.1.1 Hasil Ekstraksi Rimpang Rumput Teki

Sebanyak 480 gram bubuk halus rimpang Rumput Teki yang sudah dikeringkan, diekstraksi menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* dengan pelarut etanol 96%. Volume pelarut yang digunakan total sebanyak 2,5 liter. Ekstraksi menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* dilakukan sebanyak empat kali. Satu kali proses ekstraksi menghasilkan sebanyak 250 ml ekstrak dengan konsistensi cair. Berarti, total produk ekstraksi dengan metode *Microwave assisted extraction* dari empat kali proses adalah 1 liter. Sebanyak 1 liter produk ekstraksi yang didapat dari proses *Microwave Assisted Extraction* kemudian dievaporasi. Dari proses evaporasi didapatkan volume ekstrak rimpang Rumput Teki berupa cairan kental berwarna kecoklatan sebanyak 44 gram. Untuk menguji efektivitas ekstrak rimpang Rumput Teki sebagai antibakteri, dilakukan uji secara in vitro dengan metode dilusi tabung untuk menentukan KHM (Kadar hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal).



Gambar 5.1. Hasil Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki (*Cyperus rotundus*) sebanyak 11 gram

5.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri

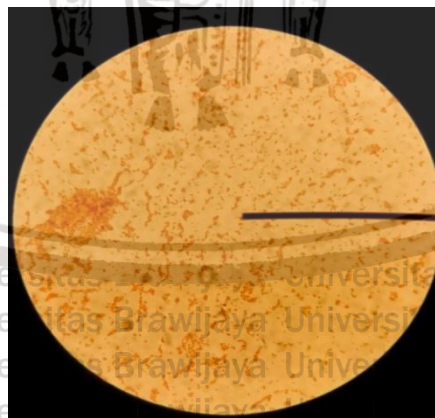
Penelitian ini menggunakan isolate bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sampel bakteri kemudian diidentifikasi untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan tersebut adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Identifikasi dilakukan dengan beberapa cara antara lain penanaman pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*), pewarnaan Gram, dan Uji oksidase, dan uji katalase

Pada medium NAP didapatkan hasil koloni berwarna kehijauan, berbentuk bulat, dengan tepi rata. Warna kehijauan membuktikan bahwa bakteri ini memproduksi pigmen *piocyanin* (Gambar 5.2)



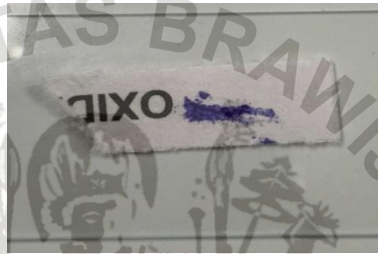
Gambar 5.2 Kultur *Pseudomonas aeruginosa* pada Media Nutrient Agar Plate (NAP) menunjukkan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berwarna kehijauan, bentuk bulat, dengan tepi rata

Pada pewarnaan Gram, pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Hasil koloni berbentuk basil dengan beberapa konfigurasi tunggal dan bergerombol. Warna yang tampak adalah merah yang menunjukkan bahwa bakteri ini adalah bakteri gram negative (Gambar 5.3)



Gambar 5.3. Pewarnaan Gram *Pseudomonas aeruginosa* dengan Perbesaran 1000x pada Mikroskop cahaya tampak bakteri basil berwarna merah (Gram negatif) dengan konfigurasi tunggal dan bergerombol

Pada uji oksidase didapatkan hasil positif dengan ditandai terbentuknya warna ungu setelah bakteri diusapkan pada oksidase strip. Sedangkan, pada uji katalase didapatkan hasil positif dengan ditandai terbentuknya gelembung udara secara langsung setelah usapan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ditetesi dengan H_2O_2 3%. Setelah dilakukan identifikasi pada bakteri, selanjutnya isolate dikultur ulang untuk kemudian diberikan perlakuan sebanyak empat kali pengulangan.



Gambar 5.4 Hasil Uji Oksidase Positif dengan Menggunakan Oxidase Strip



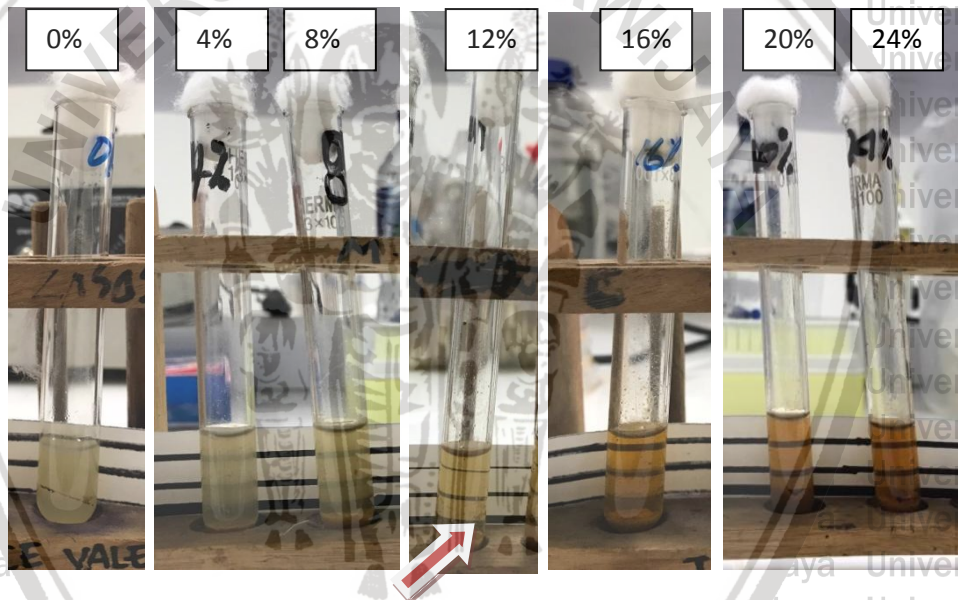
Gambar 5.5 Hasil Uji Katalase Positif

5.1.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM

Pada penelitian ini digunakan 6 macam konsentrasi ekstrak rimpang Rumput Teki yaitu 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, 24%, serta konsentrasi 0% sebagai kontrol

positif (tanpa ekstrak) dan konsentrasi 100% sebagai kontrol negative (tanpa bakteri). Warna ekstrak rimpang Rumpot Teki adalah kuning kecoklatan. Tingkat kekeruhan larutan ekstrak rimpang Rumpot Teki diamati untuk menentukan KHM.

Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah kadar terendah dari antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan pada bakteri yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung setelah diinkubasi 18-24 jam.



Gambar 5.6 Hasil Kadar hambat Minimal Ekstrak Rimpang Rumpot Teki yaitu pada Konsentrasi 12% (yang ditunjuk tanda panah)

Keterangan gambar:

- Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang Rumpot Teki dengan konsentrasi 0%
- Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang Rumpot Teki dengan konsentrasi 4%

- c. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang Rumput Teki dengan konsentrasi 8%
- d. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang Rumput Teki dengan konsentrasi 12%
- e. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang Rumput Teki dengan konsentrasi 16%
- f. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang Rumput Teki dengan konsentrasi 20%
- g. Suspensi bakteri dan ekstrak rimpang Rumput Teki dengan konsentrasi 24%

Tabung kontrol positif digunakan sebagai acuan untuk menentukan KHM, dimana tabung berkonsentrasi terkecil yang lebih jernih daripada kontrol positif adalah nilai KHM. Pada penelitian ini penampakan jernih awal terlihat pada konsentrasi 12% dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung dan garis horizontal lurus terlihat dengan jelas (Gambar 5.6).

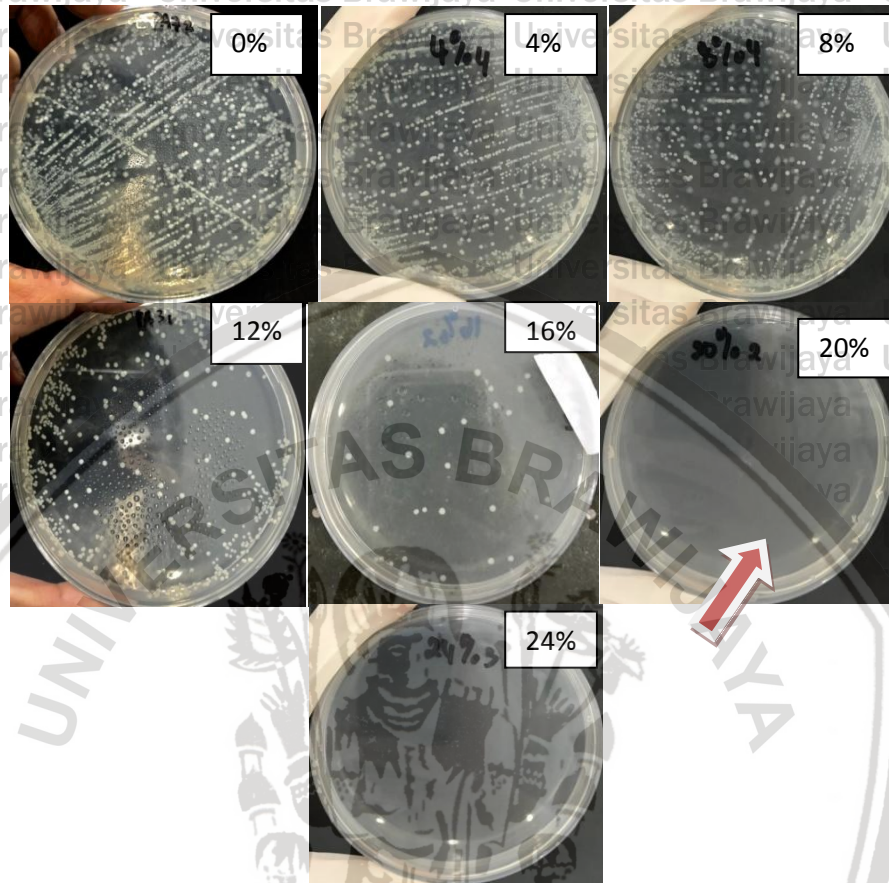
5.1.4 Hasil Penentuan KBM dan Analisa terhadap KBM

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati kekeruhannya untuk menentukan KHM, setiap konsentrasi ekstrak dilakukan streaking dalam NAP. Setiap konsentrasi di-streaking pada 4 NAP yang berbeda.

Setelah, semua NAP yang sudah di streaking diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Keesokan harinya dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada

semua NAP. Penghitungan jumlah koloni dilakukan menggunakan colony counter.

Hal ini dilakukan untuk melihat KBM dari ekstrak rimpang Rumput Teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.



Gambar 5.7 Hasil Streaking Suspensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Rimpang Rumput Teki. Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sudah tidak tumbuh pada konsentrasi 20% (yang ditunjuk tanda panah).

Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi dengan jumlah koloni bakteri kurang dari 0.1% dari jumlah koloni yang tumbuh pada media OI (Original Inoculum) atau bisa dilihat dari media dengan konsentrasi yang sudah tidak didapat pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini, konsentrasi yang sudah tidak didapat pertumbuhan bakteri adalah pada konsentrasi 20% (Gambar 5.7)

Dari hasil streaking pada NAP dapat dimati bahwa pertumbuhan koloni bakteri semakin sedikit dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Dalam hal ini menunjukkan hubungan yang terbalik. Hasil penanaman dan perhitungan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan ekstrak rimpang Rumpot Teki (*Cyperus rotundus*) untuk menentukan KBM ekstrak rimpang Rumpot Teki didapatkan pada konsentrasi 20%. Hal ini bisa dilihat pada table 5.1

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada Nutrient Agar Plate (NAP). Didapatkan KBM pada konsentrasi 20% dengan jumlah koloni 0

Konsentrasi	Pegulangan				Rata-Rata
	1	2	3	4	
0 %	20.380.000	13.880.000	17.900.000	17.660.000	17.455.000
4%	81.500	95.500	115.500	99.700	98.050
8%	53.000	39.100	62.300	97.100	62.875
12%	488	373	135	250	311.5
16%	24	28	26	29	26.75
20%	0	0	0	0	0
24%	0	0	0	0	0

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistic SPSS. Analisis data hasil jumlah koloni menggunakan uji statistic parametric *One-Way ANNOVA* dan uji statistic korelasi-regresi karena penelitian ini bersifat data rasio dengan satu

variable bebas dan satu variable tergantung. Tarif kepercayaan yang digunakan dalam perhitungan hasil penelitian adalah 95% ($\alpha = 0.05$).

Uji normalitas yang merupakan uji pendahuluan data sampel dilakukan sebagai syarat analisis statistik parametrik. Data sampel diuji dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data memiliki distribusi normal atau tidak. Dari hasil pengujian terhadap variable jumlah hambatan koloni *Pseudomonas aeruginosa*, didapat hasil signifikansi 0.278 ($p > 0.05$) yang menunjukkan bahwa data memiliki distribusi normal (Tabel 5.2).

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas dengan Tes *Shapiro-wilk*

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Bakteri	.151	28	.100	.956	28	.278

a. Lilliefors Significance Correction

Sedangkan syarat berikutnya adalah varian data atau homogenitas harus sama dan dianggap signifikan bila nilai signifikansinya lebih dari 0.05 (> 0.05). Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya homogenitas pada data penelitian. Dari hasil pengujian data sampel, didapat nilai signifikansi 0.079 ($p > 0.05$).

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varian data yang didapat adalah homogeny.

Tabel 5.3 Hasil Test *Homogeneity of Variance*

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Bakteri			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.241	6	21	.079

Setelah dibuktikan bahwa data tersebut terdistribusi secara normal dan varian data homogeny maka dapat dilanjutkan dengan analisis statistic *One-Way ANNOVA*.

5.2.1 Uji *One-Way ANNOVA*

Uji *One-Way ANNOVA* merupakan pengujian untuk mengetahui perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak rimpang Rumput Teki terhadap rata-rata pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa*. Signifikansi yang didapat sebesar 0.000 ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak rimpang Rumput Teki mengakibatkan adanya perbedaan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa*. Pada table juga terdapat dua sumber variasi, yaitu variasi between (antar kelompok) dan within (dalam kelompok). Jika variasi antar kelompok lebih besar daripada variasi dalam kelompok, maka nilai mean yang dibandingkan menunjukkan adanya perbedaan. Dengan kata lain, intervensi ini memberikan efek yang berbeda (Tabel 5.4).

Tabel 5.4 Uji One-Way ANNOVA

ANOVA

Jumlah Bakteri	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1041429379581605	6	173571563263601	168.917	.000
Within Groups	21578722147383.750	21	1027558197494.5		
Total	1063008101728989	27			

Selanjutnya, untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara bermakna, analisis data dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey test*.

5.2.2 Uji *Post Hoc Tukey*

Uji *Post Hoc Tukey* adalah uji perbandingan berganda. Uji ini dapat menunjukkan pasangan kelompok sampel yakni kelompok konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni yang memberikan perbedaan bermakna dan yang tidak. Dari Hasil uji *Post Hoc Tukey* diketahui bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antar kelompok konsentrasi 0% (kelompok kontrol) dengan kelompok konsentrasi 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, 24%. Sedangkan perbedaan jumlah koloni ekstrak yang lain tidak terlalu bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan koloni ekstrak, tidak terdapat penurunan jumlah koloni yang bermakna pada peningkatan konsentrasi berikutnya (Tabel 5.5)

Tabel 5.5 Tabel Uji Post Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Bakteri

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	4%	17356950*	716783.9	.000	15026841.04	19687058.96
	8%	17392125*	716783.9	.000	15062016.04	19722233.96
	12%	17454689*	716783.9	.000	15124579.54	19784797.46
	16%	17454973*	716783.9	.000	15124864.29	19785082.21
	20%	17455000*	716783.9	.000	15124891.04	19785108.96
	24%	17455000*	716783.9	.000	15124891.04	19785108.96
4%	0%	-17356950*	716783.9	.000	-19687058.96	-15026841.04
	8%	35175.00	716783.9	1.000	-2294933.96	2365283.96
	12%	97738.50	716783.9	1.000	-2232370.46	2427847.46
	16%	98023.25	716783.9	1.000	-2232085.71	2428132.21
	20%	98050.00	716783.9	1.000	-2232058.96	2428158.96
	24%	98050.00	716783.9	1.000	-2232058.96	2428158.96
8%	0%	-17392125*	716783.9	.000	-19722233.96	-15062016.04
	4%	-35175.00	716783.9	1.000	-2365283.96	2294933.96
	12%	62563.50	716783.9	1.000	-2267545.46	2392672.46
	16%	62848.25	716783.9	1.000	-2267260.71	2392957.21
	20%	62875.00	716783.9	1.000	-2267233.96	2392983.96
	24%	62875.00	716783.9	1.000	-2267233.96	2392983.96
12%	0%	-17454689*	716783.9	.000	-19784797.46	-15124579.54
	4%	-97738.50	716783.9	1.000	-2427847.46	2232370.46
	8%	-62563.50	716783.9	1.000	-2392672.46	2267545.46
	16%	284.75	716783.9	1.000	-2329824.21	2330393.71
	20%	311.50	716783.9	1.000	-2329797.46	2330420.46
	24%	311.50	716783.9	1.000	-2329797.46	2330420.46
16%	0%	-17454973*	716783.9	.000	-19785082.21	-15124864.29
	4%	-98023.25	716783.9	1.000	-2428132.21	2232085.71
	8%	-62848.25	716783.9	1.000	-2392957.21	2267260.71
	12%	-284.75	716783.9	1.000	-2330393.71	2329824.21
	20%	26.75	716783.9	1.000	-2330082.21	2330135.71
	24%	26.75	716783.9	1.000	-2330082.21	2330135.71
20%	0%	-17455000*	716783.9	.000	-19785108.96	-15124891.04
	4%	-98050.00	716783.9	1.000	-2428158.96	2232058.96
	8%	-62875.00	716783.9	1.000	-2392983.96	2267233.96
	12%	-311.50	716783.9	1.000	-2330420.46	2329797.46
	16%	-26.75	716783.9	1.000	-2330135.71	2330082.21
	24%	.00	716783.9	1.000	-2330108.96	2330108.96
24%	0%	-17455000*	716783.9	.000	-19785108.96	-15124891.04
	4%	-98050.00	716783.9	1.000	-2428158.96	2232058.96
	8%	-62875.00	716783.9	1.000	-2392983.96	2267233.96
	12%	-311.50	716783.9	1.000	-2330420.46	2329797.46
	16%	-26.75	716783.9	1.000	-2330135.71	2330082.21
	20%	.00	716783.9	1.000	-2330108.96	2330108.96

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

Pada table *Homogenous subset*, diketahui perbedaan rata-rata yang signifikan antara kelompok kontrol dan konsentrasi. Pada N4 kelompok sampel masuk dalam 2 subset yang berbeda (Tabel 5.5)

Tabel 5.6 Tabel Homogenous Subset

Jumlah Bakteri			
Tukey HSD ^a			
Kelompok	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
20%	4	.00	
24%	4	.00	
16%	4	26.75	
12%	4	311.50	
8%	4	62875.00	
4%	4	98050.00	
0%	4		17455000.00
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

5.2.3 Uji Korelasi dan Regresi

Uji korelasi menunjukkan angka signifikan 0.001 ($p < 0.005$) Yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak rimpang rumput teki terhadap jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa*. Besar koefisiensi korelasi Pearson yaitu -0.652, tanda negative menunjukkan hubungan yang berbanding terbalik. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh dan sebaliknya. Nilai 0.652 Menunjukkan bahwa koefisien korelasinya kuat (nilai lebih dari 0.1) (Tabel 5.6).

Tabel 5.7 Tabel Uji Korelasi

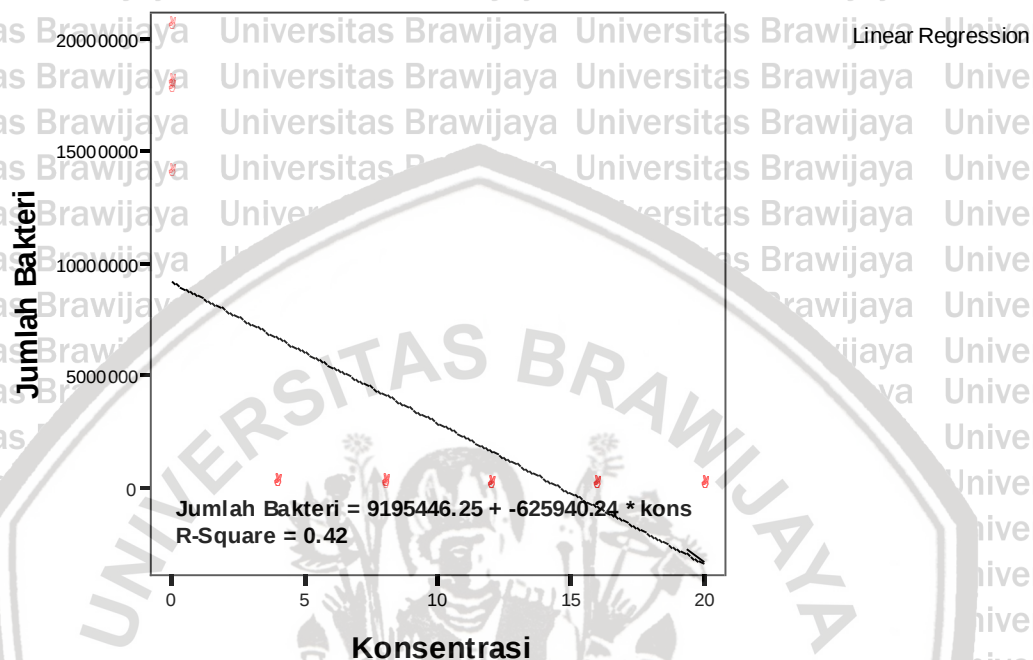
Correlations

		Konsentrasi	Jumlah Bakteri
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	.652**
	Sig. (2-tailed)	.	.001
	N	24	24
Jumlah Bakteri	Pearson Correlation	-.652**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	.
	N	24	24

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

Uji regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan kemampuan penghambatan jumlah koloni bakteri.

Melalui grafik dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak , semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh (Gambar 5.1).



Gambar 5.8 Grafik Regresi Linier

Koefisien korelasi R square (r^2) sebesar 0.425 menyatakan besarnya derajat kerataan hubungan antara konsentrasi ekstrak rimpang rumput teki dengan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 42.5%. Hal ini berarti kontribusi pemberian ekstrak rimpang rumput teki dalam menurunkan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 42.5% ,sedangkan sisanya 57.5% disebabkan faktor-faktor lain yang tidak diteliti.

Tabel 5.8 Tabel Uji Regresi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.652 ^a	.425	.398	5198930.314

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh antibakteri pada ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Ekstraksi dilakukan dengan metode *Microwave Assisted Extraction*. Untuk menentukan efektivitas dari ekstrak rimpang Rumput Teki, metode yang digunakan adalah dilusi tabung dengan menggunakan media *Nutrient Agar Plate*.

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*), di mana tidak terdapat komponen zat aktif spesifik yang digunakan. Dengan kata lain ekstrak yang digunakan adalah *crude extract* yang di dalamnya terdapat berbagai komponen zat aktif yang dapat memiliki efek antimikroba. Rumput Teki pada penelitian terdahulu memiliki berbagai senyawa yang bisa memberikan efek antimikroba (Pirzada *et al.*, 2015).

Metode ekstraksi dengan menggunakan *Microwave Assisted Extraction* yang merupakan teknik non konvensional. *Microwave Assisted extraction* dilakukan dengan memanfaatkan energi panas yang dihasilkan oleh Microwave. Alat tersebut dilengkapi dengan 16 tabung tertutup di dalamnya. Sejumlah 15 tabung diisi oleh bubuk halus rimpang Rumput Teki dan pelarut ethano 96%l dengan perbandingan 1 : 5 (8 gram bubuk halus rimpang rumput teki dan 40 ethanol 96%) dan 1 tabung

berisi pelarut ethanol 96% yang berfungsi sebagai sensor. Setelah itu, dilakukan pemanasan pada suhu 50° selama 10 menit. Setelah didapatkan hasil berupa cairan encer berwarna coklat dengan endapan di bawah masing-masing tabung, dilakukan penyaringan secara manual menggunakan kertas saring untuk memisahkan cairan dari endapannya. Proses ekstraksi sampai dengan penyaringan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali, di mana dari tiap kali proses dihasilkan sebanyak 250 ml. Jadi, total hasil ekstraksi dengan *Microwave Assisted extraction* sebesar 1 liter. Hasil ekstraksi selanjutnya akan dilakukan penguapan (evaporasi). Penguapan dilakukan untuk menguapkan pelarut ethanol. Hasil akhir dari proses ekstraksi ini adalah ekstrak rimpang Rumput Teki yang berupa cairan kental berwarna kecoklatan sebanyak 44 gram.

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi bakteri untuk mengetahui karakteristik berdasarkan morfologinya. Proses identifikasi dilakukan empat cara yaitu, identifikasi koloni bakteri dengan penanaman bakteri pada media *Nutrient Agar Plate (NAP)*. Kedua, dilakukan pengidentifikasian dengan melakukan pewarnaan Gram. Hal ini dilakukan untuk membuktikan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri basil gram negatif. Warna merah disebabkan karena bakteri gram negatif adalah bakteri yang mengambil warna pembanding safranin yang berwarna merah (Sri et al., 2015). Identifikasi bakteri juga dilakukan dengan uji Katalase. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri dengan uji katalase positif yang ditandai dengan pembentukan gelembung udara secara langsung setelah usapan bakteri ditetesi dengan H₂O₂ 3%. Hasil positif ini menunjukkan bahwa bakteri ini adalah bakteri aerob. Hidrogen peroksida adalah hasil respirasi dan akan

didegradasi oleh enzim katalase yang dimiliki bakteri. Hasil degradasi tersebut ditunjukkan oleh pembentukan gelembung udara secara langsung setelah bakteri ditetesi H_2O_2 3% (Reynolds, 2018). Keempat, dilakukan uji oksidase dengan menggunakan oksidase strip. Uji ini dilakukan untuk membedakan apakah bakteri dari family *Pseudomonadaceae* (oksidase +) atau *Enterobacteriaceae* (oksidase -).

Uji oksidase pada *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil positif dengan timbulnya warna ungu setelah bakteri diusapkan pada oksidase strip. Hal ini menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri yang memproduksi enzim sitokrom C oksidase (Reynolds, 2018).

Sebelum dilakukan metode dilusi tabung, ditentukan terlebih dahulu *Optical Density* (OD) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan spektrofotometer pada gelombang 625 λ . OD (*Optical Density*) bakteri berguna untuk menentukan konsentrasi bakteri dalam suatu suspensi. Dalam penelitian ini, OD bakteri sebesar 1.217. Setelah itu dilakukan perhitungan dengan rumus untuk menentukan volume bakteri yang ditambahkan dalam pengencer (NaCl 0.9%) untuk mendapatkan konsentrasi bakteri yang setara dengan 10^8 CFU/ml. pada penelitali ini volume bakteri yang ditambahkan dalam NaCl 0.9% sebesar 0,82 ml. Artinya sebanyak 0,82 ml bakteri dilarutkan dalam 9.18 ml NaCl 0.9%. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan NaCl 0,9% hingga didapat suspense bakteri sebesar 10^6 CFU/ml yang siap digunakan dalam proses uji dilusi tabung. Suspensi bakteri sebesar 10^6 CFU/ml itulah yang akan dimasukkan ke tiap-tiap tabung untuk dicampur dengan ekstrak rimpang Rumpuk teki. Konsentrat ekstrak rimpang Rumpuk Teki yang digunakan adalah 0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, 24%. Rentang

konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini cukup besar dikarenakan *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri yang sudah mengalami resistensi terhadap berbagai antimikroba. Hal ini juga disesuaikan dengan penelitian pendahuluan (penelitian uji dilusi tabung untuk menentukan rentang konsentrasi ekstrak yang akan digunakan) yang dilakukan sebelum penelitian sesungguhnya dimulai, di mana dihasilkan KHM dan KBM sebesar 12,5%. Adapun penelitian terdahulu yang juga melakukan uji efektivitas suatu ekstrak tanaman terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Pada suatu penelitian yang menguji efek ekstrak etanol biji pinang terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, didapatkan KBM (Kadar Bunuh Minimal) sebesar 25% (Puspawati, 2015). Peneliti menggunakan acuan tersebut dikarenakan tidak adanya penelitian yang membahas mengenai efek ekstrak rimpang Rumput Teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Pada penelitian ini Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak rimpang Rumput Teki adalah 12% dengan ditunjukkannya tabung pertama yang terlihat jernih dan garis lurus horizontal terlihat di belakang tabung. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak rimpang Rumput Teki adalah 20% dengan ditandainya koloni bakteri yang sudah tidak tumbuh pada *media Nutrient Agar Plate (NAP)*.

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri dihitung menggunakan *colony counter*. Hasil yang didapat kemudian dianalisa menggunakan SPSS dengan menggunakan uji statistic *One-Way ANNOVA* dan Uji korelasi, serta Uji Regresi. Sebelum melakukan Uji *One-Way ANNOVA*, uji normalitas dan uji homogenitas varian dilakukan terlebih dahulu sebagai syarat Uji *One-Way ANNOVA*. Hasil Uji normalitas menunjukkan distribusi data yang normal, yaitu dengan signifikansi 0.278

($p > 0.05$). Pada uji homogenitas varian juga didapat hasil varian data yang homogeny, yaitu dengan angka signifikansi 0.079 ($p < 0.05$). Dengan terpenuhinya syarat tersebut, maka dapat dilakukan Uji parameterik dengan menggunakan Uji *One-Way ANNOVA*. Pada Uji *One-Way ANNOVA* didapatkan hasil $P = 0.000$ ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang signifikan pada dua kelompok konsentrasi ekstrak rimpang Rumpuk Teki.

Setelah dilakukan Uji *One-Way ANNOVA* dilakukan Uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni yang memberikan perbedaan bermakna dan yang tidak. Dari Hasil uji *Post Hoc Tukey* diketahui bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antar kelompok konsentrasi 0% (kelompok kontrol) dengan kelompok konsentrasi 4%, 8%, 12%, 16%, 20%, 24%. Sedangkan perbedaan jumlah koloni ekstrak yang lain tidak terlalu bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan koloni ekstrak, tidak terdapat penurunan jumlah koloni yang bermakna pada peningkatan konsentrasi berikutnya.

Setelah itu, dilakukan uji korelasi dan regresi. Uji korelasi menunjukkan angka signifikan 0.001 ($p < 0.005$) Yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak rimpang rumput teki terhadap jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa*. Besar koefisiensi korelasi Pearson yaitu -0.652, tanda negative menunjukkan hubungan yang berbanding terbalik. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin sedikit

jumlah koloni bakteri yang tumbuh dan sebaliknya. Nilai 0.652 Menunjukkan bahwa koefisien korelasinya kuat (nilai lebih dari 0.1).

Uji regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan kemampuan penghambatan jumlah koloni bakteri.

Melalui grafik dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh. Koefisien korelasi R square (r^2) sebesar 0.425 menyatakan besarnya derajat kerataan hubungan antara konsentrasi ekstrak rimpang rumput teki dengan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 42.5%. Hal ini berarti kontribusi pemberian ekstrak rimpang rumput teki dalam menurunkan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 42.5%, sedangkan sisanya 57.5% disebabkan faktor-faktor lain yang tidak diteliti.

Kelebihan dan kekurangan dari penelitian ini terletak pada metode ekstraksi *Microwave Assisted Extraction*. Kelebihan penggunaan dengan metode ini adalah durasi ekstraksi yang jauh lebih cepat dibandingkan dengan metode konvensional yang lebih sering digunakan. Jika durasi ekstraksi yang dibutuhkan ketika menggunakan metode konvensional membutuhkan waktu beberapa hari, Durasi ekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction* membutuhkan waktu sekitar 10-15 menit saja. Setelah itu bisa langsung dilakukan proses penyaringan dan evaporasi (Eskillson dan Bjorklund, 2000). Kelebihan lain yang didapat dari penggunaan *Microwave Assised Extraction* untuk estraksi adalah jumlah pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit dibandingkan yang dibutuhkan pada metode konvensional seperti maserasi. Pada penelitian ini hanya dibutuhkan pelarut ethanol 96% sebesar 2,5 liter untuk sekitar 500 gram bubuk halus rimpang Rumput Teki.

Sedangkan pada penelitian terdahulu yang menggunakan metode maserasi membutuhkan sekitar 15 liter pelarut ethanol 96% untuk sekitar 500 gram bubuk halus tanaman (Aulia, 2016). Selain itu, masih sedikit penelitian yang membahas efek ekstrak tanaman rumput teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, sehingga penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan bahwa Rumput Teki memiliki efek secara in vitro terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dianggap sebagai mikroba dengan tingkat resistensi tinggi.

Kekurangan dari penelitian ini adalah masih belum banyak penelitian yang membahas mengenai metode ekstraksi non konvensional dengan menggunakan *Microwave assisted Extraction*. Salah satu informasi yang kurang adalah mengenai penggunaan suhu yang optimal. Pada suatu penelitian dikatakan bahwa suhu yang baik adalah sedikit lebih tinggi dari titik didih pelarut. Jika pelarut yang digunakan ethanol, maka suhu yang optimal berarti di atas 78°C (Eskillson dan Bjorklund, 2000).

Namun, pada penelitian lain, banyak yang tidak sesuai dengan kaidah tersebut. Pada penelitian ini, suhu yang digunakan adalah 50°C dan ini telah disesuaikan dengan salah satu penelitian terdahulu. Dari sini dapat disimpulkan bahwa pembahasan mengenai suhu optimal yang masih belum jelas. Kekurangan lain dari metode ini adalah biaya ekstraksi yang cukup mahal, sehingga untuk sekarang masih dibutuhkan metode pengekstrakan lain yang lebih terjangkau.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) dapat memiliki efek antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro
- b. Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 12%
- c. Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 20%
- d. Semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) yang digunakan maka semakin rendah jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh.

7.2 Saran

- a. Penelitian terkait uji efektivitas antimikroba tanaman Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap berbagai bakteri sudah banyak dilakukan, namun penelitian terhadap bakteri dengan resistensi tinggi masih sedikit dilakukan. Oleh karena itu, Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menguji efektivitas ekstrak rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) terhadap

Pseudomonas aeruginosa secara in vitro, maupun ekstrak rimpang Rumput

Teki terhadap mikroba lain dengan tingkat resistensi tinggi

- b. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen bioaktif spesifik yang terkandung dalam tanaman Rumput Teki seperti flavonoid, saponin, tanin, dan lain-lain untuk diujikan terhadap bakteri tertentu.

- c. Diperlukan penelitian terkait uji efektivitas ekstrak tanaman terhadap bakteri dengan menggunakan metode non konvensional, seperti *Microwave Assisted Extraction*. Hal ini dikarenakan metode *Microwave Assisted Extraction* lebih cepat dilakukan dan lebih ramah lingkungan dibandingkan metode konvensional.

- d. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak rimpang Rumput Teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara in vivo untuk mengetahui efek samping dan toksisitas

DAFTAR PUSTAKA

- Azmir J, Zaidul IS, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials: A Review. *Journal of Food Engineering*, 2013, 117:426-436.
- Balouiri M, Sadiki M, and Ibnouda SK. Methods of in Vitro for Evaluating Antimicrobial Activity. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2016, 6:71-79.
- Bontjura S, Waworuntu OA, dan Siagian KV. Uji Efek Antibakteri Ekstrak daun Leilen (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2015, 4(4):96-101.
- Depkes. 2017. *Program Pencegahan dan Pengendalian Infeksi Nosokomial merupakan Unsur Patient Safety*. www.depkes.co.id.
- Dewi AK. 2016. *Efek Ekstrak Flavonoid Buah mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) terhadap Pertumbuhan Koloni Staphylococcus aureus secara in Vitro*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Eskilsson CS, Bjorklund E. Analytical Scale Microwave Assisted Extraction. *Journal of Chromatography A*, 2000; 902:227-250.
- Friedrich, M. 2016. *Pseudomonas aeruginosa* Infections. <https://emedicine.medscape.com/article/226748-overview>.
- Iqbal E, Salim KA, and Lim LB. Phytochemical Screening, Total Phenolics, and Antioxidant Activities of Bark and Leaf Extracts of *Gonniotthalmus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University-Science*, 2015, 27: 224-232.
- Jawetz, Melnik, and Adelberg. 2016. *Medical Microbiology*, 27th ed., McGraw Hill Education, United State.
- Kamaliyah A. 2016. *Efek Ekstrak Flavonoid Ekstrak Bunga Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) terhadap Candida Albicans secara In Vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Ngajow M, Abidjulu J, dan Kamu VS. Pengaruh Antibakteri Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara in Vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 2013, 2(2): 128-132.
- Noorhamdani, Santoso S, Sumarno, Dzen SM, Roekistiningsih, Winarsih S, dkk. 2015. *Mikrobiologi Medik*, Edisi 2., Laboratorium Mikrobiologi FKUB, Malang.

Parubak AS, Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Awkway (*Drimys beccariana*.Gibbs). *Chem.Prog*, 2013; 6(1): 34-37.

Pirzada A, Ali H, Naeem M, Latif M, Bukhari A, Tanveer A. *Cyperus rotundus* L: Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacological. *Journal of ethnopharmacology*, 2015.

Pratiwi D.2014. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (Lawsonia inermis L.) dan Bioautografi terhadap Bacillus subtilis dan Shigella sonnei*. Tugas Akhir. Diterbitkan. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta,Surakarta.

Proestos C, Komaitis M. Application of Microwave Assisted Extraction to the Fast Extraction of Plant Phenolic Compounds. *LWT*, 2007, 41:652-659.

Puspawati N. *Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Biji Pinang (Areca catechu L.) terhadap Staphylococcus aureus ATCC® 25923 dan Psudomonas aeruginosa ATCC® 27853*. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.

Susianti, 2015. Potensi Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) sebagai Antikanker . *Prosiding Seminar Presentasi Artikel Ilmiah Dies Natalis FK Unila ke 13*,Universitas lampung, Bandar Lampung, 2015. p: 52-57.

Zohra FS, Meriem B, Samira S, Muneer A. Phytochemical Screening and Identification of some Compound from Mallow. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 2012, 2(4): 512-516.