

Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Dengan Metode *Microwave Assisted Extraction* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :

Irgi Achmad Fahrezie

145070107111081

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2018

Halaman Persetujuan

Tugas Akhir

Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Dengan Metode *Microwave Assisted Extraction* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh :

Irgi Achmad Fahrezie

NIM. 145070107111081

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. dr. DWI YUNI NUR HIDAYATI, M.Kes

dr. ELLY MAYANGSARI, M.biomed

NIP. 1966032319970320001

NIP. 198405162009122005

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Irgi Achmad Fahrezie

NIM : 145070107111081

Program Studi : Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini adalah hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan 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 plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 07 Mei 2018

Yang membuat pernyataan,

Irgi Achmad Fahrezie
NIM. 145070107111081

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberikan petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul "Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Dengan Metode *Microwave Assisted Extraction* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*". Tugas akhir ini dibuat untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Kedokteran umum.

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

1. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes., yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. dr. Indrastuti Normahayu Sp.Rad (K). sebagai Penguji yang telah memberikan petunjuk dan pengarahannya untuk memperbaiki Tugas Akhir ini.
3. Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan banyak bantuan untuk penelitian ini, yang dengan sabar dan sepenuh hati membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberikan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. dr. Elly Mayangsari, M.biomed. sebagai pembimbing kedua yang telah membimbing penulis, memberi semangat serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K), sebagai Ketua Program Studi Kedokteran yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, khususnya Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, M.Si yang telah membantu penulis dalam penyelesaian Proposal Tugas Akhir ini.

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

8. Yang tercinta bapak, dan ibu, serta seluruh keluarga besar atas seluruh kasih sayang, dan dukungan selalu kepada penulis, yang selalu mendoakan penulis..

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

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

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

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

Malang, 16 April 2018

Penulis



ABSTRAK

Fahrezie, Irgi Achmad. 2018. **Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Dengan Metode *Microwave Assisted Extraction* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Elly Mayangsari, M.biomed

Infeksi nosokomial termasuk salah satu penyebab besarnya angka kematian dan kecacatan di dunia. Salah satu penyebab infeksi nosokomial adalah *Pseudomonas aeruginosa*, yang prevalensinya semakin meningkat setiap tahun. Terapi utama *Pseudomonas aeruginosa* adalah *ceftazidime*, namun seiring dengan peningkatan resistensi terhadap antibakteri, resistensi terhadap *ceftazidime* sudah mencapai 38.8%. Berdasarkan alasan tersebut, perlu dikembangkan antibakteri baru terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Buah mahkota dewa mempunyai komponen alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. *Microwave Assisted Extraction* merupakan teknik mengekstraksi yang lebih cepat dan efisien. Penelitian ini menggunakan desain eksperimen laboratorium melalui uji antibakteri dengan metode dilusi agar. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) memiliki efek sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Konsentrasi yang digunakan dari penelitian ini adalah 0%; 5%; 7,5%; 10%; 12,5%; dan 15% dengan tiga kali pengulangan. Berdasarkan hasil penelitian, pada konsenstrasi 15% tidak ada pertumbuhan koloni bakteri. Analisis statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perubahan signifikan pada perubahan konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ($p < 0,05$). Uji *Spearman* menunjukkan ada hubungan yang sangat kuat dengan arah negatif (koefisien = -0,975) yang dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa yang diberikan, maka pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* semakin menurun. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa memiliki efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, buah mahkota dewa, *Microwave Assisted Extraction*, efek antibakteri

ABSTRACT

Fahrezie, Irgi Achmad. 2018. **Test Effectiveness of Antibacterial Ethanol Extract God's Crown Fruit (*Phaleria macrocarpa*) With Microwave Assisted Extraction Method Against *Pseudomonas aeruginosa* In Vitro**. Final Project, Medical Bachelor Degree Program, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya. Counselor: (1) Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Elly Mayangsari, M.biomed

Nosocomial infection is one of the major causes of mortality and disability in the world. One of the causes of nosocomial infection is *Pseudomonas aeruginosa*, whose prevalence is increasing every year. *Pseudomonas aeruginosa* main therapy is ceftazidime, but along with increased resistance to antibacterial, resistance to ceftazidime has reached 38.8%. Based on these assumptions, new antibacterial should be developed against *Pseudomonas aeruginosa*. The crown of the gods has components of alkaloids, tannins, saponins, and flavonoids that can function as antibacterial. Microwave Assisted Extraction is a faster and efficient extracting technique. This research used laboratory experimental design through antibacterial test with agar dilution method. This research aims to prove that the ethanol extract of the crown of gods (*Phaleria macrocarpa*) has an antibacterial effect on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. The concentration used from this study is 0%; 5%; 7.5%; 10%; 12.5%; and 15% with three repetitions. Based on the results of the study, at a concentration of 15% no growth of bacterial colonies. Statistical analysis using Kruskal Wallis test showed significant changes in concentration change on bacterial growth of *Pseudomonas aeruginosa* ($p < 0,05$). Spearman test showed a very strong relationship with the negative direction (coefficient = -0.975) which can be concluded that the higher concentration of ethanol extract of the crown of god given, the growth of bacteria *Pseudomonas aeruginosa* decreased. Based on this research can be concluded that ethanol extract of mahkota dewa fruit have antibacterial effect to *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, God's Crown Fruit (*Phaleria macrocarpa*), Microwave Assisted Extraction, antibakteri effects

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi.....	vii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Singkatan.....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Ilmiah.....	4
1.6 Manfaat Praktis.....	5
1.7 Manfaat Bagi Institusi.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
2.1.1 Taksonomi.....	6
2.1.2 Morfologi dan Identifikasi.....	7
2.1.3 Struktur Antigen.....	9
2.1.4 Patogenesis.....	9
2.1.5 Temuan Klinis.....	9
2.1.6 Uji Diagnostik dan Laboratorium.....	10
2.1.7 Pengobatan.....	11
2.1.8 Epidemiologi dan Pengendalian.....	11
2.2 Mahkota Dewa.....	12
2.2.1 Taksonomi.....	12
2.2.2 Morfologi Tumbuhan.....	13
2.2.3 Struktur Antigen.....	12
2.2.4 Nama Daerah.....	14

2.2.5	Kandungan Kimia.....	14
2.2.5.1	Flavonoid.....	14
2.2.5.2	Alkaloid.....	15
2.2.5.3	Saponin.....	15
2.2.6	Manfaat dan Kegunaan.....	16
2.3	<i>Microwave Assisted Extraction</i>	16
2.3.1	Pelarut dan Volume.....	17
2.3.2	Waktu Ekstraksi.....	17
2.3.3	Daya <i>Microwave</i>	18
2.3.4	Karakteristik Matriks.....	18
2.3.5	Suhu.....	18
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		19
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	19
3.2	Deskripsi Kerangka Konsep.....	20
3.3	Hipotesis Penelitian.....	21
BAB 4 METODE PENELITIAN		22
4.1	Rancangan Penelitian.....	22
4.2	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	22
4.3	Sampel Penelitian.....	22
4.4	Pengulangan.....	23
4.5	Variabel Penelitian.....	23
4.5.1	Variabel Bebas.....	23
4.5.2	Variabel Tergantung.....	24
4.6	Definisi Operasional.....	24
4.7	Bahan dan Alat Penelitian.....	26
4.7.1	Bahan dan Alat untuk Pembuatan Ekstrak dengan Metode MAE.....	26
4.7.2	Bahan dan Alat untuk Identifikasi Bakteri dan Uji Efektivitas Antibakteri.....	26
4.8	Prosedur Penelitian.....	27
4.8.1	Pembuatan Ekstrak dengan Metode MAE.....	27
4.8.2	Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
4.8.2.1	Kultur <i>Mueller Hinton Agar</i>	28
4.8.2.2	Pewarnaan Gram.....	28
4.8.3	Persiapan Suspensi Uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29

4.8.4 Tahap Perlakuan.....	30
4.8.4.1 Penentuan Konsentrasi Metode Dilusi Agar.....	30
4.8.4.2 Perlakuan Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa Metode Dilusi Agar.....	30
4.8.5 Tahap Pengamatan.....	32
4.9 Analisis data.....	32
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	34
5.1 Hasil Penelitian.....	34
5.1.1 Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (<i>Phaleria Macrocarpa</i>) Dengan MAE.....	34
5.1.2 Identifikasi Bakteri Uji (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>).....	35
5.1.2.1 Identifikasi Bakteri Uji dengan Pemiakan Koloni Pada <i>Mueller Hinton Agar</i>	35
5.1.2.2 Identifikasi Bakteri Uji dengan Pewarnaan Gram.....	36
5.1.3 Hasil Uji Antibakteri.....	37
5.1.3.1 Hasil Penentuan KHM.....	37
5.2 Analisis Data.....	40
5.2.1 Uji <i>Kruskal Wallis</i>	41
5.2.2 Uji <i>Mann-Whitney</i>	41
5.2.3 Uji <i>Spearman</i>	43
BAB 6 PEMBAHASAN.....	45
6.1 Keterbatasan Penelitian.....	48
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
7.1 Kesimpulan.....	50
7.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Perbandingan Simplisia Pelarut dan Waktu dalam Ekstraksi 34
Tabel 5.2 Hasil Skoring dari Pertumbuhan Koloni *Pseudomonas aeruginosa*
Setelah Pemberian Ekstrak dengan Beberapa Konsentrasi 39
Tabel 5.3 Hasil Analisis Uji *Kruskal Wallis* 41
Tabel 5.4 Ringkasan Hasil Uji *Mann Whitney* 42
Tabel 5.5 Hasil Uji *Spearman* 43



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada pewarnaan gram. Di dapatkan koloni berbentuk batang berwarna merah	7
Gambar 2.3	Microwave (Modena MV Series) Dimodifikasi menjadi MAE	17
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian	19
Gambar 4.1	Alur Kerja Penelitian Metode Dilusi Agar	33
Gambar 5.1	Hasil Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa	35
Gambar 5.2	Didapatkan Gambaran Khas Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> berupa Koloni Berwarna Hijau pada Penanaman di Media <i>Mueller Hinton Agar</i>	35
Gambar 5.3	Hasil Pewarnaan Gram dari <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Gambar 5.4	Didapatkan Hasil Tes Oksidase Positif dengan Gambaran Warna Goresan Menjadi Ungu dalam Waktu 10 detik	37
Gambar 5.5	Hasil Uji Antibakteri dengan Metode Dilusi Agar	38

DAFTAR SINGKATAN

CFU	: Colony Forming Unit
cm	: Centimeter
g	: gram
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
Kg	: Kilogram
KHM	: Kadar Hambat Minimal
KP	: Kontrol Positif
m	: Meter
MAE	: Microwave Assisted Extaction
mdpl	: Meter di atas permukaan laut
mm	: millimeter
ml	: milliliter
NAP	: Mueller Hinton Agar
TH1	: Sel T Helper 1
TH2	: Sel T Helper 2
UPT	: Unit Pelaksana Teknis
UV	: Ultra Violet
W	: Watt
μm	: Mikrometer
$^{\circ}\text{C}$: Derajat Celcius

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri yang termasuk sebagai penyebab infeksi nosokomial. Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang disebabkan bakteri yang dialami oleh pasien yang didapatkan selama dirawat di rumah sakit diikuti dengan manifestasi klinis yang muncul sekurang-kurangnya 3x24 jam. Prevalensi kejadian infeksi nosokomial di rumah sakit disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 15% dan infeksi pada luka bakar pasien oleh *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 26% (Ashton, 2013).

Infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat diatasi dengan pemberian antibiotik komersial, penggunaan antibiotik dapat menimbulkan efek samping seperti reaksi alergi, reaksi idiosinkrasi, reaksi toksik, dan perubahan biologik maupun metabolik (Suhariyanto, 2011).

Pseudomonas aeruginosa meningkat secara klinik karena resisten terhadap berbagai antibiotik dan memiliki kemampuan untuk mengembangkan tingkat *Multi Drug Resistance* (MDR) yang tinggi. Definisi dari MDR-PA (*Multi Drug Resistance- Pseudomonas aeruginosa*) adalah resisten *Pseudomonas aeruginosa* terhadap beberapa antibiotik diantaranya kelas β -laktam, carbapenem, aminoglikosida dan fluoroquinolon.

Infeksi yang telah terbentuk sulit untuk diobati karena *Pseudomonas aeruginosa* sering resisten terhadap antibiotik. *Pseudomonas aeruginosa* tidak

2

boleh diobati dengan terapi obat tunggal karena tingkat keberhasilan rendah dan bakteri dengan cepat menjadi resisten. Pengobatan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan secara kombinasi seperti penisilin anti-pseudomonas (tikarsilin atau piperasilin) dan aminoglikosida. Obat lainnya yang bekerja aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* diantaranya aztreonam, imipenem, kuinolon yang terbaru termasuk ciprofloxacin dan sefalosporin yang terbaru (ceftazidime dan cefoperazone). Ceftazidime digunakan dalam terapi primer infeksi *Pseudomonas aeruginosa*. Pola kepekaan bakteri ini bervariasi secara geografik, maka diperlukan tes kepekaan sebagai pedoman untuk pemilihan antibakteri. (Levinson W dan Jawetz et, al 2013).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri patogen oportunistik penyebab infeksi nosokomial terutama pada pasien yang mengalami penurunan sistem imun. (Vahdani, et al., 2012). Angka insiden infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* terjadi sekitar 10-15% di dunia dan sekitar 10-20% pada unit perawatan intensif (ICU), biasanya terjadi pada pasien sepsis, cystic fibrosis, luka bakar, dan infeksi luka (Biswal, et al., 2014). Bakteri *P. aeruginosa* dapat mengalami resistensi terhadap berbagai jenis antibakteri (Nazhifah, et al., 2013). Resistensi bakteri terhadap antibakteri dapat mengakibatkan lamanya waktu penyembuhan, meningkatkan resiko kematian, memperbanyak *carrier* di masyarakat, memperbanyak bakteri yang resisten, dan memperpanjang masa rawat inap di rumah sakit. Pada beberapa penelitian telah terbukti bahwa *P. aeruginosa* telah resisten terhadap beberapa antibakteri, dari 25 jenis antibakteri yang digunakan, bakteri *P. aeruginosa* telah resisten terhadap lebih dari 50% antibakteri uji (Rukmono, 2013).

Oleh karena itu, penanganan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ini relatif sulit. Dibutuhkan langkah yang tepat dalam mengatasi infeksi ini, salah satunya yaitu menemukan antibakteri baru dimana bakteri ini belum diketahui resisten (Rukmono, 2013).

Apabila ekstrak daging buah mahkota dewa memiliki efek antibakteri terhadap *Klebsiella Pneumoniae* (salah satu bakteri batang Gram negatif), apakah ekstrak buah mahkota dewa juga memiliki efek antibakteri terhadap bakteri batang Gram negatif lainnya, seperti *Pseudomonas aeruginosa*? Pertanyaan inilah yang mendasari Peneliti mengangkat tema ini dalam penelitiannya. Sangat diharapkan nantinya penelitian ini dapat menjadi salah satu dasar pengembangan obat antibakteri berbahan dasar alami yang dapat mengobati infeksi *Pseudomonas aeruginosa*, khususnya di Indonesia (Nur dan Firman, 2010).

Dari beberapa penelitian membuktikan bahwa MAE lebih cepat dan efisien dalam hal ekstraksi (Rita dan Fithri, 2015). MAE menggunakan gelombang mikro dalam proses ekstraksinya dengan frekuensi 0.30-300 GHz dalam bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik. Keuntungan dari metode ekstraksi ini, aplikasinya yang luas dalam mengekstrak berbagai senyawa termasuk senyawa yang labil panas. Selain itu, laju ekstraksi yang lebih tinggi, konsumsi pelarut yang lebih rendah, dan pengurangan waktu ekstraksi yang signifikan dibanding ekstraksi konvensional (Aliefa dan Yuniarta, 2015).

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka judul yang diambil dari penelitian ini adalah Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Dengan Metode *Microwave assisted extraction* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak buah mahkota dewa mempunyai efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode MAE ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan analisis rumusan masalah, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui apakah ekstrak buah mahkota dewa dengan metode MAE mempunyai efek antibakteri terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa*
2. Mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak buah mahkota dewa terhadap *Pseudomonas aeruginosa*
3. Mengetahui apakah peningkatan konsentrasi ekstrak buah mahkota dewa dengan metode MAE menyebabkan penurunan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai dasar penelitian lebih lanjut untuk menguji buah mahkota dewa untuk antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Sebagai dasar penelitian selanjutnya dalam menggali kegunaan/manfaat lain yang terkandung dalam buah mahkota dewa

1.5 Manfaat Ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pemanfaatan buah mahkota dewa (*Phaleria Macrocarpa*) sebagai alternatif penghambat pertumbuhan bakteri, khususnya bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Penelitian ini juga diharapkan memberikan informasi kepada masyarakat bahwa buah mahkota dewa dapat digunakan sebagai antibakteri.

1.6 Manfaat Praktis

Manfaat praktisnya untuk masyarakat luas sendiri sampai saat ini masih belum ada.

1.7 Manfaat Bagi Institusi

Sebagai bahan informasi bagaimana menggunakan dan bagaimana efek yang ditimbulkan oleh antibakteri yang di ekstrak dengan metode MAE.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa tersebar luas di alam dan sering ditemukan pada lingkungan rumah sakit. Bakteri ini bersifat saprofit dan kadang-kadang ditemukan sebagai flora normal manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit pada manusia dengan kondisi penurunan daya tahan tubuh (Brooks *et al.*, 2013).

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi dari *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut: (Bergey's *et al.*, 1994)

Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Proteobacteria*
Class : *Proteobacteria*
Ordo : *Pseudomonales*
Family : *Pseudomonadaceae*
Genus : *Pseudomonas*
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 2.1 *Pseudomonas aeruginosa* pada pewarnaan gram. Di dapatkan koloni berbentuk batang berwarna merah menggunakan perbesaran 100x (Brooks.et al., 2013).

2.1.2 Morfologi dan Identifikasi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0.6 x 2 μm . Bakteri ini bisa terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasang-pasangan, dan terkadang membentuk rantai pendek. *Pseudomonas aeruginosa* termasuk dalam bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain, tidak berspora, tidak mempunyai selubung (sheat) dan mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. Bakteri ini dapat tumbuh di air suling yang akan tumbuh baik dengan adanya unsur nitrogen dan karbon. Suhu optimum untuk pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 42°C. *Pseudomonas aeruginosa* mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya yang sangat sederhana. Di laboratorium, medium paling sederhana untuk pertumbuhannya biasa digunakan asetat (untuk karbon) dan ammonium sulfat (untuk nitrogen) (Wiehlmann et al., 2015).

Pembiakan dari spesimen klinik biasanya menghasilkan satu atau dua tipe koloni yang halus yaitu koloni besar dan halus dengan permukaan rata dan meninggi, serta koloni halus dan mukoid sebagai hasil produksi berbahan dari alignat. Tipe ini sering didapat dari sekresi saluran pernafasan dan saluran kemih.

Alignat merupakan suatu eksopolisakarida polimer dari *glucuronic acid* dan *mannuronic acid*, berbentuk gel kental yang terdapat disekeliling bakteri. Alignat ini memungkinkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk membentuk biofilm, yaitu kumpulan koloni sel-sel bakteri yang menempel pada suatu permukaan misalnya kateter intravena atau jaringan paru. Alignat juga dapat melindungi bakteri dari pertahanan tubuh inang, seperti limfosit, fagosit, silia, di saluran pernafasan, antibodi, dan komplemen. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk biofilm untuk membantu kelangsungan hidupnya saat membentuk koloni pada paru-paru manusia (Wonnenberg et al., 2016).

Pili (fimbriae) dapat menjulur dari permukaan sel dan membantu pelekatan pada sel epitel inang. Lipopolisakarida yang terdapat dalam imunotipe merupakan salah satu faktor virulensi dan juga melindungi sel dari pertahanan tubuh inang.

Pseudomonas aeruginosa dapat digolongkan berdasarkan imunotipe lipopolisakarida dan kepekaannya terhadap piosin (bakteriosin). Produk ekstraseluler yang dihasilkan berupa enzim-enzim, yaitu elastase protease dan dua hemolisin, fosfolipase C yang tidak tahan panas dan rhamnolipid.

Pseudomonas aeruginosa resisten terhadap konsentrasi tinggi garam dan zat pewarna, antiseptik, dan banyak antibodi yang sering digunakan. Suatu studi intensif menyatakan bakteri ini mempunyai gen untuk resistensi terhadap merkuri, disebut gen *mer* yang berada dalam plasmid (Hilker et al., 2015).

2.1.3 Struktur Antigen

Pseudomonas aeruginosa dapat dibedakan secara serologis dengan antisera polisakarida dengan kepekaan terhadap pyosin. Sebagian besar

Pseudomonas aeruginosa yang dipisahkan dari infeksi klinis memproduksi enzim ekstraseluler, termasuk protease, dan dua hemolisin, sebuah fosfolifase C yang tidak tahan panas dan glikolipid yang tahan panas.

Pseudomonas aeruginosa memproduksi eksotoksin A yang menyebabkan nekrosis jaringan dan jika bentuk murni disuntikan pada binatang bisa mematikan. (Jawetz, *et al*, 2013).

2.1.4 Patogenesis

Pseudomonas aeruginosa dapat masuk dan menyerang tubuh manusia yang mengalami penurunan daya tahan tubuh, misalnya membran mukosa dan kulit yang rusak, contoh lain adalah penggunaan kateter intravena dan neutropenia pada penyakit kanker yang diberikan kemoterapi. Setelah itu bakteri menempel dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, masuk ke dalam tubuh secara lokal dan menyebabkan penyakit sistemik (Brooks *et al.*, 2013).

2.1.5 Temuan Klinis

Kelainan klinis yang sering ditemukan, diantaranya sebagai berikut :

- Infeksi pada luka dan luka bakar yang mengakibatkan adanya pus dengan warna hijau kebiruan
- Meningitis, *Pseudomonas aeruginosa* masuk ke dalam tubuh saat dilakukan pungsi lumbal atau prosedur bedah saraf.
- Penyakit otitis eksterna ringan pada perenang.

- *Pseudomonas aeruginosa* dapat menginfeksi mata dan menyebabkan kerusakan jika mata mengalami trauma atau setelah prosedur pembedahan.
- Sepsis dapat terjadi jika *Pseudomonas aeruginosa* memasuki aliran darah, terutama pada pasien leukemia atau limfoma.
- Ektima gangrenosum, lesi yang ditemukan pada nekrosis hemoragikkulit yang biasanya disebabkan oleh sepsis karena *Pseudomonas aeruginosa*. Ciri-ciri lesi ini adalah dikelilingi eritema dan tidak berisi pus serta jarang ditemukan pada bakteremia yang disebabkan organisme selain bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

2.1.6 Uji Diagnostik dan Laboratorium

A. Spesimen

Spesimen dari lesi kulit, pus, urin, darah, cairan spinal dan sputum di ambil sesuai indikasi kelainan klinis.

B. Sediaan apusan

Tidak ada karakteristik morfologi yang spesifik untuk membedakan *Pseudomonas aeruginosa* dengan bakteri gram negatif lainnya.

C. Kultur

Kultur adalah uji spesifik untuk diagnosis infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Spesimen dapat di kultur pada medium yang biasa digunakan pada bakteri gram negatif lainnya. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi laktosa dan memerlukan waktu tumbuh lebih lama dibandingkan bakteri gram negatif lainnya (Brooks et al., 2013).

2.1.7 Pengobatan

Pseudomonas aeruginosa pada umumnya susah diobati, karena memiliki sifat resisten intrinsik. Sifat resisten intrinsik pada *Pseudomonas aeruginosa* yang yang tersering adalah resisten terhadap golongan β -laktam, aminoglikosida dan fluorokuinolon. Dengan mekanisme bakteri ini memproduksi plasmid β -laktam, mensintesis enzim aminoglikosida dan mengubah susunan struktur dari fluorokuinolon yaitu topoisomerase II dan IV. Namun ada beberapa yang masih terbukti efektif dalam pengobatan, diantaranya sebagai berikut. .(Levinson W dan Jawetz et, al 2013).

- a) Golongan sefalosporin generasi ketiga, seperti sefotaksim dan sefoperazon, dan seftazidim.
- b) Golongan fosfomisin seperti fosmisin.
- c) Golongan penisilin semisintesis antipseudomonas, seperti piperasilin, mezlosin, dan azlosilin.
- d) Sulfamilon yang merupakan turunan sulfonamide dapat digunakan untuk penggunaan secara topikal.

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* berat perlu pengobatan dengan kombinasi obat karena obat tunggal dapat mempercepat terjadinya resistensi dan memiliki tingkat keberhasilan yang rendah.

2.1.8 Epidemiologi dan Pengendalian

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen nosokomial sehingga metode pengendalian untuk mengontrol infeksi sama dengan patogen nosokomial lainnya. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada lingkungan lembab dan basah sehingga diperlukan pengawasan pada tempat-tempat yang berpotensi

menjadi tempat tumbuhnya bakteri ini seperti pada lantai kamar mandi, peralatan pernafasan, dan tempat air (Brooks *et al.*, 2013).

2.2 Mahkota Dewa

Mahkota dewa biasanya berada di pekarangan sebagai tanaman hias dan di kebun-kebun sebagai peneduh. Asal tanaman ini masih belum diketahui.

Spesies ini juga punya nama spesies *Phaleria papuana*, sehingga banyak yang mengira tanaman ini berasal dari Papua, Irian jaya. Tanaman ini memang banyak terdapat di daerah Papua karena tanaman ini tumbuh subur di tanah yang gembur dan subur pada ketinggian 10-1200 m dpl (Dalimartha, 2007).

2.2.1 Taksonomi

Jika kita memandang tanaman mahkota dewa dari kerangka ilmu biologi, maka klasifikasi mahkota dewa dari mulau kingdom sampai spesies bisa dijabarkan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Famili	: <i>Thymelaeaceae</i>
Genus	: <i>Phaleria</i>
Spesies	: <i>Phaleria macrocarpa</i> (scheff) B



Gambar 2.2 Buah Mahkota Dewa (Eddy, 2017)

Meski klasifikasi mahkota dewa oleh para ahli dibagi ke dalam 1200 jenis, namun secara umum khasiat tanaman ini sama antara jenis yang satu dengan jenis lainnya. Tanaman mahkota dewa memang telah lama dikenal sebagai tumbuhan obat yang ampuh melawan penyakit seperti eksim, tumor, kanker payudara, kanker rahim, diabetes mellitus, hepatitis, kolesterol, lemah syahwat, disentri, leukemia dan masih banyak lagi lainnya. Mahkota dewa secara klinis tersusun dari berbagai kandungan senyawa aktif yang masing-masing memiliki efek yang baik untuk tubuh.

2.2.2 Morfologi Tumbuhan

Asal tanaman mahkota dewa masih belum diketahui. Mahkota dewa memiliki nama botaninya *Phaleria macrocarpa*, banyak orang memperkirakan tanaman ini populasi aslinya dari tanah Papua, Irian Jaya, Karena disana dapat ditemukan tanaman ini. Mahkota dewa tumbuh subur ditanah yang gembur dan subur pada ketinggian 10-1.200 m dari permukaan laut. Perdu menahun ini tumbuh tegak dengan tinggi 1-2,5 m; batangnya bulat, permukaannya kasar, warnanya cokelat, berkayu dan bergetah, percabangan sympodial. Daun tunggal, letaknya berhadapan, bertangkai pendek, bentuknya lanset atau jorong, ujung dan

pangkal runcing, tepi rata, pertulangan meyirip, permukaan licin, warnanya hijau tua, panjang 7-10 cm dan lebar 2-5 cm. Bunga keluar sepanjang tahun, letaknya tersebar dibatang atau ketiak daun, bentuk tabung, berukuran kecil, berwarna putih dan harum. Buah bentuknya bulat, diameter 3-5 cm, permukaan licin, beralur, ketika muda warnanya hijau dan merah setelah masak. Daging buah berwarna putih, berserat, dan berair. Biji bulat, keras dan berwarna cokelat. Berakar tunggang dan berwarna kuning kecoeklatan. (Seputra, 2008).

2.2.3 Nama Daerah

Di daerah Melayu mahkota dewa dikenal dengan sebutan simalakama, sedangkan di dataran Jawa dikenal dengan nama makutadewa, makuto mewo, makuto ratu, atau makuto rojo.

2.2.4 Kandungan Kimia

Bagian dari mahkota dewa yang digunakan sebagai obat adalah daun, daging dan kulit buahnya. Daun dan kulit buah bisa digunakan segar atau yang telah dikeringkan, sedangkan daging buah digunakan setelah dikeringkan.

Kandungan kimia pada buah mahkota adalah alkaloid, saponin, tanin, flavonoid dan steroid (Sari *et al*, 2011). Uji fotokimia dari buah mahkota dewa mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid antibakteri (Nikham dan Taty, 2012).

2.2.4.1 Flavonoid

Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak, jadi flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada spektrum *Ultra Violet (UV)* dan

spektrum tampak. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid (Nikham dan Taty, 2012).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel bakteri atau bakteri. Gugus hidroksil pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri (Jupriadi, 2011).

2.2.4.2 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa yang bersifat basa (dengan adanya atom N), biasanya mengandung atom N atau lebih, umumnya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik atau heterosiklik. Alkaloid sering beracun bagi manusia dan banyak mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan terbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar (Nikham dan Basjir, 2012).

Senyawa alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa karena sifat dasarnya ini, alkaloid akan menekan pertumbuhan dari bakteri karena bakteri tumbuh pada pH 7,0 (Rahayu dan Rahayu, 2009).

2.2.4.3 Saponin

Saponin memiliki berat molekul tinggi sehingga menjadikan upaya isolasi untuk mendapatkan saponin yang murni sering dijumpai kesulitan. Berdasarkan struktur aglikonnya (sapogeninnya), saponin dapat dibedakan menjadi 2 macam, yaitu tipe steroid dan tipe triterpenoid. Kedua senyawa ini memiliki hubungan glikosidik pada atom C-3 dan memiliki asal usul biogenetika yang sama lewat asam

mevalonat dan satuan-satuan isoprenoid. Kegunaan saponin mengakibatkan hemolisis. Oleh karena itu, relatif berbahaya bagi semua organisme binatang bila saponin diberikan secara parenteral. Saponin memiliki kegunaan dalam pengobatan, terutama karena sifatnya yang mempengaruhi absorpsi zat aktif secara farmakologi (Nikham dan Taty, 2012).

2.2.5 Manfaat dan Kegunaan

Aktivitas sebagai antioksidan dimiliki oleh sebagian besar flavonoid disebabkan oleh adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya. Ketika bereaksi dengan radikal bebas, senyawa tersebut membentuk radikal baru yang distabilisasi oleh efek resonansi inti aromatik. Dengan demikian, fase propagasi yang meliputi reaksi radikal akan dihambat (Cuvelier *et, al*, 1991).

2.3 Microwave Assisted Extraction

Microwaves merupakan gelombang elektromagnetik tak terionkan dengan frekuensi antara 300 MHz - 300 GHz dan berada di antara sinar-X dan dan sinar infra merah dalam spektrum elektromagnetik. Pemanasan terjadi dengan selektif dan tertarget dan praktis tidak ada panas yang hilang. Mekanisme pemanasan yang unik ini dapat menurunkan waktu ekstraksi secara signifikan (biasanya kurang dari 30 menit) dibandingkan dengan Soxhlet. MAE (*Microwave Assisted Extraction*) merupakan ekstraksi yang memanfaatkan gelombang mikro untuk mempercepat ekstraksi selektif melalui pemanasan pelarut secara cepat dan efisien (Rita, 2015). Metode MAE juga memiliki beberapa keuntungan yaitu waktu ekstraksi lebih cepat, lebih efisien, serta gelombang mikro ini dapat meningkatkan suhu pelarut pada bahan, yang dapat menyebabkan dinding sel pecah dan zat-zat

yang terkandung dalam sel keluar menuju pelarut, sehingga rendemen yang dihasilkan meningkat (Qorriaina dkk, 2015).



Gambar 2.3 Microwave (Modena MV Series) Dimodifikasi menjadi MAE

2.3.1 Pelarut dan Volume

Pemilihan pelarut untuk MAE ditentukan oleh kelarutan analit target, interaksi antara matriks pelarut dan tanaman, dan sifat penyerap pelarut terhadap gelombang mikro. Pelarut harus selektif terhadap komponen yang tidak diinginkan.

Aspek penting lainnya adalah kelarutan pelarut dengan analisis kromatografi berikutnya (Qorriaina dkk, 2015).

Volume pelarut juga merupakan faktor yang penting. Secara umum, volume pelarut harus cukup untuk merendam semua matriks tanaman selama waktu radiasi (Qorriaina dkk, 2015).

2.3.2 Waktu Ekstraksi

Seperti dalam teknik ekstraksi lainnya, waktu adalah parameter lain yang perlu diperhitungkan. Umumnya, dengan meningkatkan waktu ekstraksi, kuantitas analit meningkat, meskipun ada resiko terjadinya degradasi. MAE dari polifenol

dan kafein meningkat sampai 4 menit dan menurun seiring dengan meningkatnya waktu (Qorriaina dkk, 2015).

2.3.3 Daya Microwave

Daya *microwave* dan waktu irradiasi adalah dua faktor yang berpengaruh satu sama lain terhadap hasil. Secara umum, efisiensi ekstraksi ekstraksi meningkat dengan meningkatnya daya *microwave* dari 30 sampai 150 W. Daya harus dipilih dengan benar untuk menghindari temperatur berlebihan yang dapat menyebabkan degradasi dan tekanan berlebihan di dalam *microwave* (Qorriaina dkk, 2015).

2.3.4 Karakteristik Matriks

Ukuran partikel tanaman dan bagian yang digunakan untuk MAE memiliki efek terhadap perolehan senyawa. Ukuran partikel dari bahan diekstraksi umumnya dalam kisaran 100 μm - 2 mm. bubuk halus dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi karena luas permukaan yang lebih besar, yang memberikan kontak yang lebih baik antara matriks tanaman, dan memungkinkan penetrasi gelombang mikro lebih dalam. Salah satu kerugian yang terkait dengan penggunaan partikel halus adalah kesulitan pemisahan matriks dari pelarut setelah iradiasi (Qorriaina dkk, 2015).

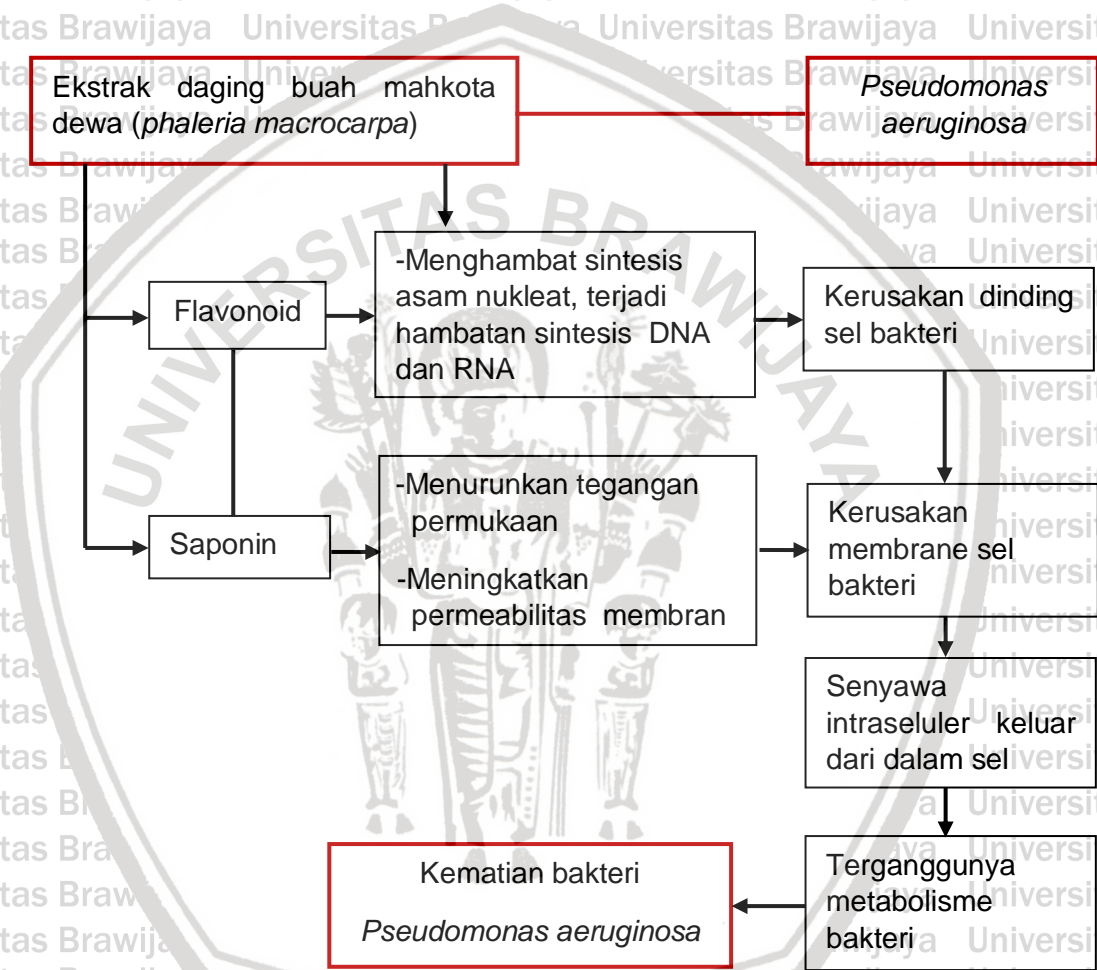
2.3.5 Suhu

Daya *microwave* dan suhu saling berhubungan satu sama lain ketika menggunakan sistem tertutup (Qorriaina dkk, 2015).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Brawijaya : variabel yang akan di teliti

: variable yang tidak di teliti

Gambar 3.1 Fungsi dan Kandungan Ekstrak Buah Mahkota Dewa

3.2 Penjelasan Kerangka konsep

Ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) menggunakan metode ekstraksi MAE (*Microwave Assisted Extraction*), dimana ekstrak ini mengandung fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri (Nikhham dan Basjir, 2012). Senyawa alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa sehingga akan menekan pertumbuhan dari bakteri karena bakteri tumbuh pada pH 7,0 (Rahayu dan Rahayu, 2009). Mekanisme kerja senyawa flavonoid untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel bakteri atau bakteri. Gugus hidrosil pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri. (Jupriadi, 2011).

Senyawa flavonoid dan tanin yang terkandung dalam ekstrak termasuk golongan senyawa fenolik. Senyawa fenolik berinteraksi dengan protein membran sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein membran sel. Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel bakteri (Arundhina, 2015). Sedangkan saponin akan bersifat sebagai surfaktan yang berbentuk polar akan memecah lapisan lemak pada membran sehingga menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel kuman berakibat pemasukan bahan atau zat-zat yang diperlukan dapat terganggu akhirnya sel membengkak dan pecah (Robins dkk., 1994). Kandungan fitokimia pada ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) akan diujikan pada bakteri biakan sehingga dari percobaan itu dapat diketahui bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)

dengan metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dapat digunakan sebagai antibakteri yang efektif dalam menghambat atau membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode ekstraksi MAE mempunyai efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini penulis menggunakan metode *true experimental design* dengan *post tes only control group design*. Dalam penelitian ini dilakukan uji laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui dan membuktikan efek antibakteri dari ekstraksi dari buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode Microwave Assisted Extraction (MAE) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Adapun uji kepekaan antibakteri yang dipakai adalah uji kepekaan antibakteri dengan metode dilusi agar. Untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol buah mahkota dewa tersebut dengan kaitannya dengan penghambatan pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembuatan ekstrak pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2017 sampai bulan Desember 2017.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diambil dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang berasal dari isolate pasien Rumah Sakit Saiful Anwar Malang.

4.4 Pengulangan

Banyaknya pengulangan yang diperlukan untuk penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

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

keterangan :

p = jumlah perlakuan

n = jumlah ulang yang di perlukan

penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi dari buah mahkota dewa dengan metode microwave assisted extraction dan satu kontrol bakteri ($p = 5+1 = 6$) maka didapatkan jumlah pengulangan :

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

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5 \approx 4$$

jadi jumlah pengulangan yang diperlukan penelitian ini adalah 4 kali.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstraksi dari buah mahkota dewa dengan Microwave Assisted Extraction (MAE) dengan konsentrasi 0%; 5%; 7,5%;

10%, 12,5%; dan 15% dimana konsentrasi 0% adalah sebagai kontrol bakteri.

Diperlakukan penilitian pendahuluan untuk menentukan konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variable tergantung pada penilitian ini adalah KHM ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

4.6 Definisi Operasional

1. Buah mahkota dewa adalah buah mahkota dewa yang masih segar dan dalam keadaan bersih, didapatkan dari tanaman milik masyarakat di Lawang, Malang. Buah mahkota dewa yang digunakan sebanyak 5 kg.
2. Serbuk buah mahkota dewa adalah hasil dari buah mahkota dewa yang telah dikeringkan dan dihaluskan. Proses tersebut dilakukan di UPT Materia Medika, Batu, Jawa Timur. buah mahkota dewa segar sebanyak 5 kg menghasilkan serbuk buah mahkota dewa sebanyak 795 g, dengan warna putih kecoklatan.
3. Pelarut etanol 96% digunakan untuk melarutkan komponen-komponen fitokimia yang dibutuhkan sebagai antibakteri seperti saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid. Serbuk buah mahkota dewa dilarutkan dengan etanol 96%, dengan rasio perbandingan serbuk buah mahkota dewa atau simplisia adalah 1 dan pelarut adalah 5. Sebanyak 150 gram simplisia dilarutkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 750 ml. setelah dilakukan MAE menghasilkan filtrat sebanyak 320 ml dengan warna kuning pekat.

4. *Rotary evaporator* adalah alat yang digunakan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Proses ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
5. Ekstrak etanol buah mahkota dewa adalah serbuk buah mahkota dewa yang telah diekstrak dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) yang dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hasil akhir ekstrak etanol buah mahkota dewa setelah dilakukan MAE selama 10 menit dan *Rotary evaporator* adalah ekstrak berwarna kuning kehitaman, konsistensinya kental dan berupa pasta dengan berat 6,2 g.
6. Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah berwarna hijau di atas media *Mueller Hinton Agar*. Dari pewarnaan Gram akan berbentuk batang (basil) berwarna merah yang menandakan Gram negatif,. Tes oksidase didapatkan hasil oksidase positif pada bakteri yang diuji, dibuktikan dengan gambaran goresan menjadi warna ungu dalam waktu 10 detik.
7. KHM (Kadar Hambat Minimum) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak buah makota dewa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan uji efektivitas dilusi agar yang akan ditandai dengan adanya jarak antar koloni bakteri pada plate.
8. Dilusi agar adalah metode pengujian aktivitas daya hambat suatu zat yang diduga antibakteri dengan mencampurkan antibakteri ke dalam cawan petri yang berisi media agar dan dibiarkan mengeras, setelah itu inokulum bakteri ditetaskan pada agar menggunakan pipet dan diinkubasi 18-24 jam.

Selanjutnya dilihat apakah ada hambatan pertumbuhan bakteri. Dalam hal ini adalah pertumbuhan koloni bakteri *pseudomonas aeruginosa*.

9. Kontrol positif adalah kelompok tanpa perlakuan, disini berupa media agar MHA yang tidak di campur dengan ekstrak etanol buah mahkota dewa.

4.7 Bahan Dan Alat Penelitian

4.7.1 Bahan dan Alat untuk Pembuatan Ekstrak dengan Metode MAE

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dengan menggunakan metode MAE adalah serbuk buah mahkota dewa dan etanol 96%.

Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dengan menggunakan metode MAE adalah *microwave* (Modena MV series) yang telah dimodifikasi (*Microwave Assisted Extraction*), penguap putar vakum, labu destilasi, kuvet kuarsa, vortex-mixer, oven, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, corong, spatel, sendok tanduk, kassa kasar, timbangan analitik, dan mesin *rotary evaporator*.

4.7.2 Bahan dan Alat untuk Identifikasi Bakteri dan Uji Efektivitas Antibakteri

Bahan-bahan yang digunakan untuk identifikasi bakteri dan uji efektivitas antibakteri dalam penelitian ini adalah MHA (*Mueller Hinton Agar*), ekstrak etanol buah mahkota dewa, *Pseudomonas aeruginosa* kultur murni, *gram stain dyes*, kristal violet, Lugol's iodine, 96% Alkohol, Safranin, dan akuades steril.

Alat-alat yang digunakan untuk identifikasi bakteri dan uji efektivitas antibakteri adalah cawan petri, gunting, pipet ukur, ose, api bunset, corong, spektrofotometri, mikroskop, alat untuk inkubasi, timbangan analitik dan alat sterilisasi.

4.8 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi pembuatan ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan metode Microwave Assisted Extraction, identifikasi bakteri uji (*Pseudomonas aeruginosa*), persiapan suspensi uji *Pseudomonas aeruginosa*, dan uji antibakteri ekstrak etanol buah mahkota dewa.

4.8.1 Pembuatan Ekstrak etanol buah mahkota dewa Dengan Metode Microwave Assisted Extraction

1. Disiapkan serbuk buah mahkota dewa.
2. Serbuk dilarutkan dalam Etanol 96% dengan perbandingan rasio simplisia dan pelarut pada setiap vessel-nya.
3. Meletakkan tabung vessel/ pada pemutar tabung vessel/.
4. Memasukkan pemutar tabung vessel/ pada *microwave*.
5. Dipanaskan dalam *microwave* dengan suhu 50°C dengan waktu yang telah ditentukan.
6. Ekstrak kasar disaring dengan kertas saring halus, ditempatkan pada botol kaca.
7. Filtrat hasil saringan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga dihasilkan ekstrak kental dan ekstrak terpisah dengan pelarut etanol.

4.8.2 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

4.8.2.1 Kultur *Mueller Hinton Agar*

Sebelum digunakan untuk pengujian, bakteri *pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh diidentifikasi ulang dengan melihat karakteristik koloni pada *Mueller Hinton Agar* (MHA). Setelah itu isolate bakteri dari Laboratorium Mikrobiologi menggunakan ose. Kemudian distreaking pada media MHA sehingga dihasilkan koloni terpisah dan diinkubasi selama 24-48 jam. Setelah itu diamati lagi karakteristik koloni bakteri tersebut dan dilakukan pewarnaan gram. Di bawah ini adalah prosedur yang dilakukan untuk pengujian karakteristik koloni *Pseudomonas aeruginosa*.

4.8.2.2 Pewarnaan Gram

1. Gelas objek dibersihkan dengan kapas, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak dan dibiarkan dingin.
2. Satu ose (1µl) aquades steril diteteskan pada gelas objek ditambah sedikit biakan *Pseudomonas aeruginosa* yang diambil menggunakan ose, selanjutnya disuspensikan dengan akuades pada gelas objek dan diratakan. Untuk sediaan cair tidak perlu disuspensikan dengan akuades.
3. Sediaan dikeringkan diudara, kemudian dilakukan fiksasi dengan cara melewatkan sediaan di atas api.
4. Sediaan pada gelas objek ditetesi dengan Kristal dengan Kristal violet selama 1 menit. Sisa Kristal violet dibuang dan dibilas dengan air.
5. Sediaan ditetesi dengan lugol selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.

6. Sediaan ditetesi dengan alkohol 96% selama 5-10 menit atau sampai warna cat luntur. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
7. Sediaan ditetesi safranin selama $\frac{1}{2}$ menit. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dikeringkan dengan kertas hisap.
9. Sediaan dilihat di bawah mikroskop dengan lensa objektif perbesaran 1000x.
10. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang teramati di bawah mikroskop berupa bakteri batang Gram-negatif.

4.8.3 Persiapan Suspensi Uji *Pseudomonas aeruginosa*

1. Dipersiapkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari MHA yang telah diidentifikasi.
2. Diambil 5 koloni ($d \geq 1\text{mm}$) dengan ose kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl 0,85% steril. Kemudian diukur Optical Density (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada $\lambda = 530\text{ nm}$. Dari hasil yang diperoleh dibuat suspensi sel yang mengandung 1×10^6 CFU/ml dengan rumus $n_1 \times V_1 = n_2 \times V_2$.
3. Untuk mendapatkan suspensi sel yang mengandung 1×10^4 CFU/ml dilakukan dengan cara mengambil 1 ml (dari tabung yang mengandung 1×10^6 CFU/ml) untuk dicampur dengan 9 ml NaCl 0,85% steril. Maka akan didapatkan suspensi sel dengan konsentrasi 1×10^6 CFU/ml. Proses dilanjutkan dua kali hingga mencapai konsentrasi suspensi bakteri yang digunakan untuk tes, yaitu 1×10^4 CFU/ml.

4.8.4 Tahap Perlakuan

4.8.4.1 Penentuan Konsentrasi Metode Dilusi Agar

Buah mahkota dewa pernah diuji sebagai antibakteri dengan metode dilusi agar, dari uji hasil tersebut buah mahkota dewa memiliki Kadar Hambat Minimum pada bakteri *P. aeruginosa* yaitu sekitar 9%, *S. aureus* 5%, *E. coli* 10% dan *S. typhi* 6% (Nikham dan Basjir, 2012). Maka konsentrasi yang digunakan dengan range berdasarkan jurnal penelitian yang telah ada. Sebelum penelitian utama, dilakukan terlebih dahulu penelitian pedahuluan atau uji observasi dengan konsentrasi 0%, 10%, 12%, dan 15%. Hasil yang didapatkan, konsentrasi dapat melebihi pada jurnal. Penelitian utama menggunakan konsentrasi 0%, 5%, 7,5%; 10%; 12,5%; dan 15%.

4.8.4.2 Perlakuan Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa Metode Dilusi Agar

Penyediaan ekstrak dengan konsentrasi berbeda

Dengan menggunakan rumus

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

Keterangan :

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N_1 = Nilai absorpsi suspensi (hasil spektrofotometri)

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

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

a. Dilusi Agar

Konsentrasi awal ekstrak (V_1) adalah 100%. Konsentrasi ekstrak buah dicampur agar (V_2) yang diinginkan adalah 0%, 5%, 7,5%; 10%; 12,5%; dan 15%;

Untuk mendapatkan konsentrasi 0% maka diperlukan 0 ml ekstrak etanol buah mahkota dewa dan 5 ml agar.

1. Untuk mendapatkan konsentrasi 5% maka diperlukan 0,25 ml ekstrak etanol buah mahkota dewa dan 4,75 ml agar.

2. Untuk mendapatkan konsentrasi 7,5% maka diperlukan 0,38 ml ekstrak etanol buah mahkota dewa dan 4,62 ml agar.

3. Untuk mendapatkan konsentrasi 10% maka diperlukan 0,54 ml ekstrak etanol buah mahkota dewa dan 4,46 ml agar.

4. Untuk mendapatkan konsentrasi 12,5% maka diperlukan 0,62 ml ekstrak etanol buah mahkota dewa dan 4,38 ml agar.

5. Untuk mendapatkan konsentrasi 15% maka diperlukan 0,76 ml ekstrak etanol buah mahkota dewa dan 4,24 ml agar.

Ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan konsentrasi tertentu dicampur dengan *Mueller Hinton Agar* yang masih hangat ($40-45^{\circ}\text{C}$). Campuran dihomogenkan dengan memutar searah jarum jam. Biarkan cairan mengeras dan dimasukkan kedalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu $37-37,5^{\circ}\text{C}$. Untuk sterilitas medium;

a) Berikan identitas pada tiap-tiap plate agar, Labelkan KB (Kontrol Bakteri) pada konsentrasi 0% untuk kontrol *Pseudoonas aeruginosa*.

b) Teteskan 10 μl suspensi kultur *Pseudomonas aeruginosa* 10^4 CFU/ml dengan mikro pipet pada permukaan agar yang telah disterilkan secara tegak lurus. Biarkan suspensi meresap ke dalam agar dalam 2 jam.

c) Masukkan semua plate ke inkubator selama 18-24 jam pada suhu 37-

37,5°C.

d) Setelah 18-24 jam, perhatikan dan catat nilai pertumbuhan koloni.

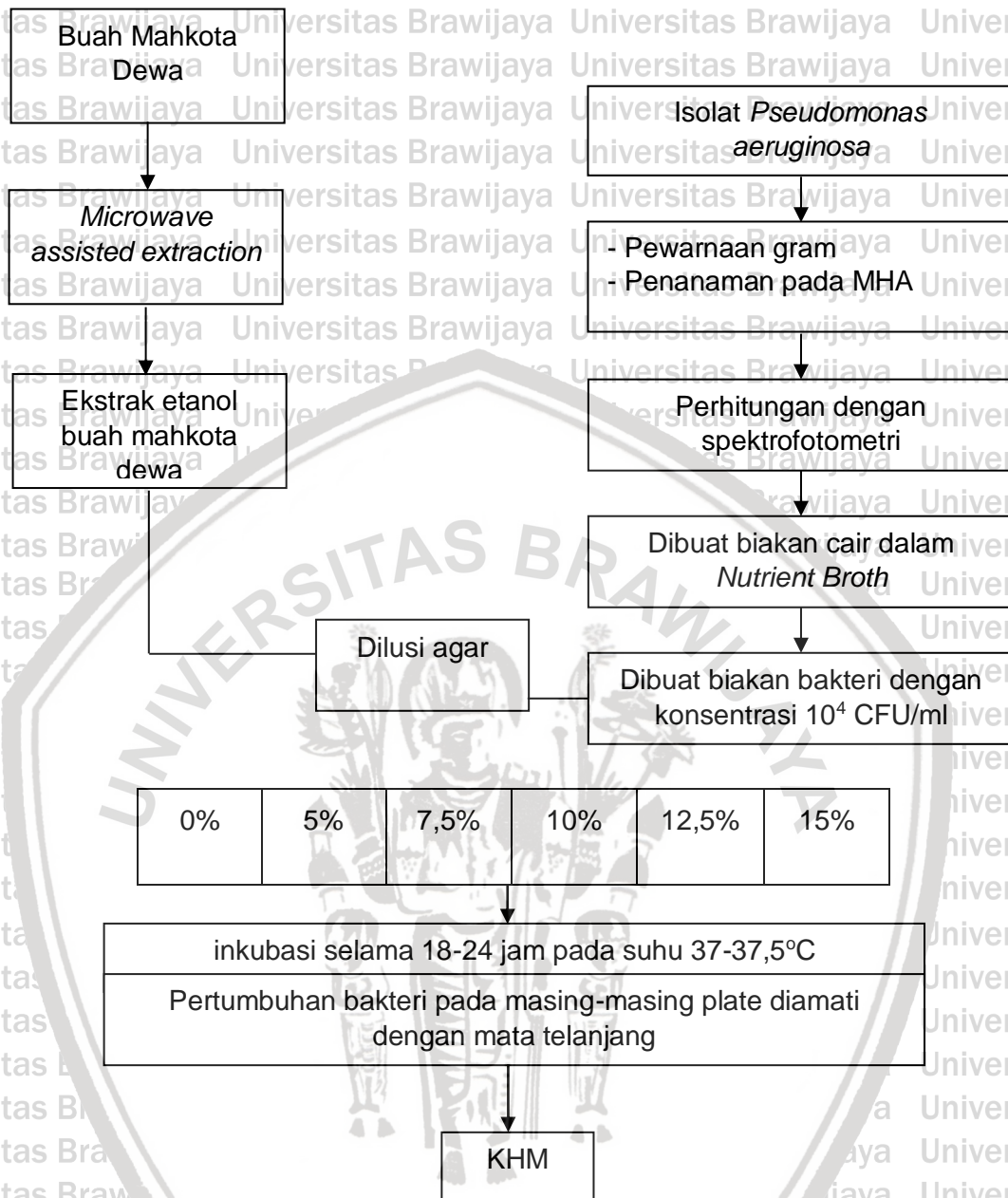
Tentukan Kadar Hambat Minimal (KHM).

4.8.5 Tahap pengamatan

Setelah inkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C, dilakukan pengamatan pada masing-masing cawan petri yaitu dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh.

4.9 Analisa Data

Penelitian ini menggunakan variabel ordinal yaitu data kualitatif mengenai pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan pada agar plate. Data ordinal ini terdiri atas lebih dari 2 kelompok yang tidak berpasangan sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan efektivitas tiap variabel konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perlakuan mana saja yang menyebabkan perbedaan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara signifikan, serta uji Korelasi *Spearman* untuk mengetahui besarnya pengaruh pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) untuk windows versi 23.



4.1 Alur Kerja Penelitian metode dilusi agar

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Dengan MAE

Pembuatan ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan metode *microwave assisted extraction* dan *rotary evaporator* dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur. Setelah dilakukan dua kali ekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction*, terdapat perbedaan hasil filtrat dan hasil rendemen (Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Perbandingan Simplisia Pelarut dan Waktu dalam Ekstraksi

No	Hasil	Ekstrak Ke-1	Ekstrak Ke-2
1	Perbandingan		
	▪ Simplisia	75 gram	150 gram
	▪ Pelarut	675 ml	750 ml
2	Waktu ekstraksi	3 menit	10 menit
3	Hasil filtrat	430 ml	320 ml
4	Hasil rendemen	2 gram	6,2 gram

Hasil filtrat pada ekstraksi ke-2 lebih sedikit dibanding hasil ekstraksi yang pertama akan tetapi hasil rendemen atau hasil akhir yang didapatkan lebih banyak.

Hasil akhir ekstrak etanol buah mahkota dewa memiliki warna coklat kehitaman dengan konsistensi kental.



Gambar 5.1 Hasil Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa

5.1.2 Identifikasi Bakteri Uji (*Pseudomonas aeruginosa*)

5.1.2.1 Identifikasi Bakteri Uji dengan Pemiakan Koloni Pada *Mueller Hinton*

Agar

Cara pertama untuk mengidentifikasi bakteri uji dalam penelitian ini adalah dengan melihat hasil pembiakan koloni pada media *Mueller Hinton Agar* *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan didapat dari stock culture Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bakteri ini dibiakkan dengan cara streaking pada media *Mueller Hinton Agar*. Proses selanjutnya adalah menginkubasikannya selama 18-24 jam pada suhu 37°C.



Gambar 5.2 Didapatkan Gambaran Khas Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berupa Koloni Berwarna Hijau pada Penanaman di Media *Mueller Hinton Agar*.

Cara mengidentifikasi koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada media *Mueller Hinton Agar* adalah dengan mengamati koloni yang tumbuh. Hasil pengamatan yang ditemukan adalah hasil berupa gambaran koloni bakteri berwarna hijau, karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memproduksi pigmen piosianin.

5.1.2.2 Identifikasi Bakteri Uji dengan Pewarnaan Gram

Cara kedua untuk mengidentifikasi bakteri uji dalam penelitian ini adalah dengan pewarnaan Gram. Hasil dari pewarnaan Gram dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100x didapatkan gambaran dengan bentuk batang (basil) berwarna merah, yang merupakan ciri dari bakteri Gram negatif.



Batang Gram
Negatif

Gambar 5.3 Didapatkan Gambaran Batang (Basil) Berwarna Merah (Bakteri Gram Negatif) pada Pengamatan Menggunakan Mikroskop Perbesaran Lensa Objektif 100x.

Tes oksidase didapatkan hasil oksidase positif pada bakteri yang diuji, dibuktikan dengan gambaran goresan menjadi warna ungu dalam waktu 10 detik.

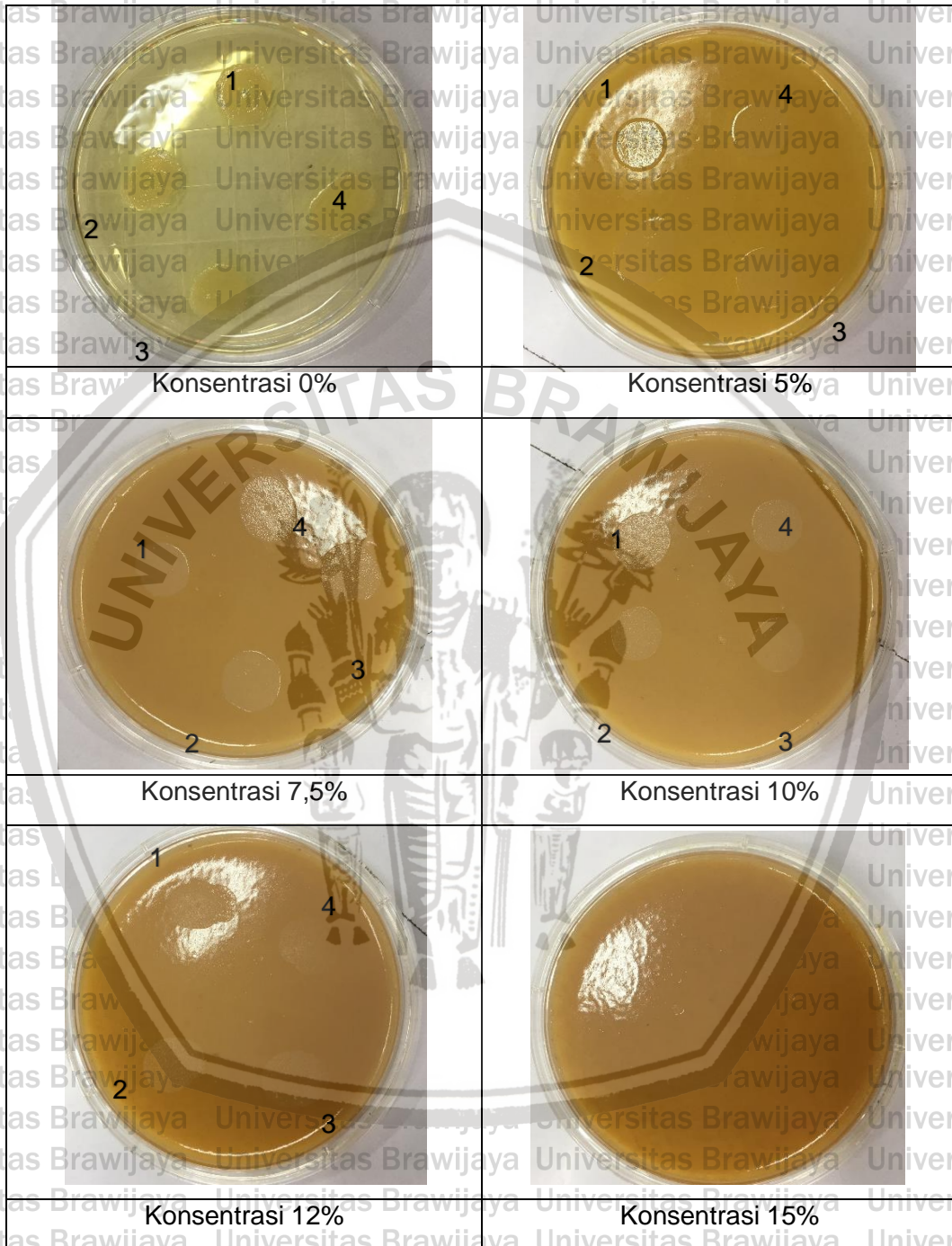


Gambar 5.4 Didapatkan Hasil Tes Oksidase Positif dengan Gambaran Warna Goresan Menjadi Ungu.

5.1.3 Hasil Uji Antibakteri

5.1.3.1 Hasil Penentuan KHM

Pada penelitian ini menggunakan ekstrak etanol buah mahkota dewa yang kedua dengan konsentrasi 0%; 5%; 7,5; 10%; 12,5%; dan 15%;. Pengamatan hasil pada penelitian ini dilakukan dengan melihat secara langsung pertumbuhan koloni bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C pada masing-masing *plate* dengan konsentrasi yang sudah ditentukan dan berisi campuran media *Mueller Hinton Agar* dengan ekstrak etanol buah mahkota dewa. Berikut ini merupakan hasil pertumbuhan koloni bakteri pada beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan media *Mueller Hinton Agar* setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.



Gambar 5.5 Hasil Uji Antibakteri dengan Metode Dilusi Agar

Keterangan :

1. 1 = Pengulangan pertama
2. 2 = Pengulangan kedua
3. 3 = Pengulangan ketiga
4. 4 = Pengulangan keempat

Berdasarkan gambar 5.5, pertumbuhan koloni semakin berkurang pada setiap kenaikan konsentrasi dari ekstrak etanol buah mahkota dewa dan tidak terlihat pada konsentrasi 17,5% dan 20%, namun pada konsentrasi 10% dan 12,5% pertumbuhan koloni hampir sama hanya saja pada konsentrasi 10% pertumbuhan koloni melebar sedangkan pada 12,5% pertumbuhan koloni merapat jaraknya. Penilaian KHM dilakukan dengan melihat konsentrasi terendah dari antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri. Penilaian ini dilakukan dengan melihat secara langsung dengan mata telanjang pada media *Mueller Hinton Agar* yang telah ditanam bakteri uji dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Penilaian secara langsung diinterpretasikan melalui sistem skoring. Konsentrasi ekstrak yang memiliki skor nol (0) pada seluruh pengulangan merupakan KHM. Hasil pengulangan dapat diamati pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Skoring dari Pertumbuhan Koloni *Pseudomonas aeruginosa* setelah Pemberian Ekstrak dalam Beberapa Konsentrasi

No	Konsentrasi	Pengulangan				Rerata Skor
		I	II	III	VI	
1	0%	+4	+4	+4	+4	4
2	5%	+3	+3	+3	+3	3
3	7,5%	+3	+3	+3	+3	3
4	10%	+2	+2	+2	+2	2
5	12,5%	+2	+2	+1	+1	1,5
6	15%	0	0	0	0	0

Keterangan:

- a. +4 = terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang tebal dan jarak antar koloni yang rapat.
- b. +3 = terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang sedang (tidak tebal dan tidak tipis) dan jarak antar koloni yang sangat rapat.
- c. +2 = terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang tipis dan jarak antar koloni yang sedang (tidak renggang dan tidak rapat).
- d. +1 = terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang sangat tipis (hampir tidak terlihat) dan pertumbuhan koloni yang sangat renggang.
- e. 0 = tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri.

Pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 5% mulai berkurang atau menurun. Pada konsentrasi 15% dari ekstrak buah mahkota dewa merupakan nilai KHM, pada konsentrasi ini tidak terlihat pertumbuhan koloni dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang telah dilakukan empat kali pengulangan.

5.2 Analisis Data

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan metode ekstraksi MAE terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara invitro dengan metode dilusi agar. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa.

Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada penelitian ini digunakan sebagai variabel terikat. Hasil penilaian diinterpretasikan berdasarkan sistem skoring (+4, +3, +2, +1, 0).

Hasil penelitian dinilai dengan cara pengamatan secara langsung dan uji statistik. Pada penelitian ini merupakan data ordinal sehingga menggunakan analisis data berupa uji nonparametrik. Data ordinal dari penelitian ini adalah variabel penelitian berupa tingkat pertumbuhan koloni bakteri. Uji nonparametrik

yang dilakukan meliputi uji *Kruskal Wallis*, uji *post hoc Mann-Whitney*, dan uji *Spearman*.

5.2.1 Uji *Kruskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis* merupakan uji komparasi yang dilakukan jika data berupa nonparametrik. Uji ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan koloni bakteri. Hipotesis yang dibuat berdasarkan data yang ada adalah H_0 dan H_1 . Makna H_0 dalam uji statistik ini adalah tidak terdapat perbedaan efek antibakteri pada setiap pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Makna H_1 dalam uji statistik ini adalah terdapat perbedaan efek antibakteri pada setiap pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil H_0 diterima jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) dan ditolak jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Hasil uji *Kruskal Wallis* dapat diamati pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Analisis Uji *Kruskal Wallis*

<i>Kruskal Wallis</i>	
Chi-Square	22,659
Probabilitas	0,000

Tabel 5.3, merupakan hasil analisis uji *Kruskal Wallis*. Nilai signifikansi yang didapat melalui uji ini adalah 0,000. Nilai signifikansi sebesar 0,000 ini mempunyai arti bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini dikarenakan nilai 0,000 adalah kurang dari 0,05. Kesimpulan yang dapat ditarik melalui hasil analisis uji *Kruskal Wallis* adalah terdapat perbedaan efek antibakteri pada setiap pemberian

ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa*.

5.2.2 Uji Mann-Whitney

Uji analisis *post hoc* untuk uji *Kruskal Wallis* adalah uji *Mann-Whitney*. Uji *Mann-Whitney* merupakan uji komparasi berganda (*multiple comparison*). Uji ini dilakukan untuk mengetahui signifikan atau tidak, perbedaan yang didapatkan dari perbandingan setiap dua konsentrasi ekstrak. Metode ini dilakukan dengan cara membandingkan hasil pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada pemberian dua konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa yang berbeda.

Tabel 5.4 Ringkasan Hasil Uji Mann-Whitney

Perbandingan Antarperlakuan		Sig.
0%	5%	0,029
	7,5%	0,029
	10%	0,029
	12,5%	0,029
	15%	0,029
5%	7,5%	1
	10%	0,029
	12,5%	0,029
	15%	0,029
7,5%	10%	0,029
	12,5%	0,029
	15%	0,029
10%	12,5%	0,343
	15%	0,029
12,5%	15%	0,029

Tabel 5.4, merupakan ringkasan hasil uji *Mann-Whitney* dari tabel hasil uji *Mann-Whitney* yang terlampir. Perbedaan antar dua konsentrasi ekstrak yang berbeda dikatakan berbeda signifikan jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) dan tidak berbeda signifikan jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$).

Interpretasi dari hasil uji *Mann-Whitney* yang dapat dilihat pada tabel ringkasi di atas adalah sebagai berikut:

1. Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 0% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 5%; 7,5; 10%; 12,5%; dan 15%.
2. Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 5% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 10%; 12,5% dan 15%, dan tidak berbeda signifikan terhadap konsentrasi 7,5%.
3. Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 7,5% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 10%; 12,5%; dan 15%.
4. Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 10% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 15% dan tidak berbeda signifikan terhadap konsentrasi 12,5%.
5. Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 12,5% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 15%.

5.2.3 Uji Spearman

Uji *Spearman* merupakan uji korelasi yang dilakukan jika data berupa nonparametrik. Uji ini dilakukan untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (tabel 5.5). Uji ini juga dilakukan untuk mengetahui arah hubungan tersebut.

Tabel 5.5 Hasil Uji Spearman

Koefisiensi Korelasi	Probabilitas
-0,975	0,000

Uji variabel dikatakan mempunyai hubungan signifikan jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Nilai signifikansi dari hasil uji *Spearman* yaitu 0,000.

Hal ini mempunyai arti bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosas*.

Nilai koefisien korelasi dari hasil uji *Spearman* yaitu -0,975. Tanda negatif pada koefisien tersebut mempunyai arti bahwa arah hubungannya adalah berkebalikan. Arah hubungan berkebalikan diartikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa yang diberikan, maka pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosas* semakin menurun.



BAB 6

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode MAE memiliki efek antibakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Efek antibakteri yang ditimbulkan oleh buah mahkota dewa terjadi karena adanya komponen-komponen fitokimia yang memiliki hambatan aktivitas dari pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Komponen fitokimia tersebut adalah Alkaloid, Flavonoid, Tanin, dan saponin. Senyawa alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa sehingga akan menekan pertumbuhan dari bakteri karena bakteri tumbuh pH 4,6 – 7,0 merupakan kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerja senyawa flavonoid untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel bakteri. Gugus hidroksil pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri (Jupriadi, 2011).

Senyawa flavonoid dan tanin yang terkandung dalam ekstrak termasuk golongan senyawa fenolik. Senyawa fenolik berinteraksi dengan protein membran sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein membran sel. Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel bakteri (Arundhina, 2015). Sedangkan saponin akan bersifat sebagai surfaktan yang berbentuk polar

akan memecah lapisan lemak pada membran sehingga menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel kuman berakibat pemasukan bahan atau zat-zat yang diperlukan dapat terganggu akhirnya sel membengkak dan pecah (Robins dkk., 1994).

Penelitian ini menggunakan metode *true experimental design* dilaboratorium. Tujuan umum dilakukannya penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode MAE memiliki efek sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar. Untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa memiliki efek antibakteri maka dilakukan beberapa prosedur, dimulai dari pembuatan ekstrak uji yaitu ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan metode *Microwave Assisted Extraction*, persiapan bakteri uji yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, dan yang terakhir uji efek antibakteri dengan metode dilusi agar.

Penelitian lain mengenai efek antibakteri ekstrak etanol buah mahkota dewa sudah pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian tersebut menguji efek antibakteri ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap bakteri patogen. Bakteri patogen yang digunakan dipenelitian tersebut adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhil*. Hasil Kadar Hambat Minimum atau KHM pada penelitian tersebut berbeda-beda, pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 9%, *Staphylococcus aureus* 5%, *Escherichia coli* 10%, dan *Salmonella typhil* 6% (Nikham dan Taty, 2012). Berdasarkan penelitian

tersebut, buah mahkota dewa ternyata tidak hanya memiliki efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* akan tetapi juga memiliki efek antibakteri

terhadap bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*.

Kadar Hambat Minimum pada penelitian ini adalah 15% yang artinya pada konsentrasi tersebut ekstrak buah mahkota dewa dapat membunuh pertumbuhan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi 15% mengandung sebanyak 0,86 ml ekstrak buah mahkota dewa yang dicampurkan dengan 4,14 ml *Mueller Hinton Agar* (MHA). Untuk mendapatkan 0,86 ml ekstrak buah mahkota dewa dibutuhkan serbuk buah mahkota dewa sebanyak 10,4 gram.

Hasil penelitian juga diuji secara statistik melalui uji-uji nonparametrik. Uji nonparametrik yang dilakukan meliputi uji *Kruskal Wallis*, uji *post hoc Mann-Whitney*, dan uji *Spearman*. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri pada setiap pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil dari uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa semua perbandingan antar dua konsentrasi ekstrak memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil dari uji *Spearman* menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, maka dapat disimpulkan bahwa buah mahkota dewa memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa yang digunakan maka semakin menurun jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Adapun data yang menunjukkan bahwa dengan metode MAE juga dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri patogen selain *Pseudomonas aeruginosa*.

Kombinasi perlakuan daya microwave 560 W dan rasio bahan:pelarut 1:35 (b/v) merupakan perlakuan terbaik berdasarkan hasil uji rendemen, total fenol dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*, yang dihasilkan dari ekstrak kasar daun gambir Cubadak. Pada perlakuan terbaik tersebut, diperoleh nilai rendemen 63.29%, total fenol 5581.581 ppm, aktivitas antibakteri (diameter daya hambat) terhadap *Escherichia coli* 12.07 mm, *Salmonella typhimurium* 12.57 mm, *Staphylococcus aureus* 13.99 mm dan *Bacillus cereus* 14.38 mm. Hasil uji Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) pada ekstrak kasar daun gambir Cubadak perlakuan terbaik dengan bakteri uji *Escherichia coli* memiliki kemampuan menghambat pada konsentrasi ekstrak 100%, *Salmonella typhimurium* pada konsentrasi ekstrak 90%, *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak 90% dan *Bacillus cereus* pada konsentrasi ekstrak 80%. Sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) belum dapat diketahui (Magdalena, dkk, 2015).

6.4 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan. Ekstrak etanol buah mahkota dewa yang digunakan belum diuji penapisan fitokimia yang terkandung dalam buah mahkota dewa seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Sehingga didalam penelitian ini tidak diketahui secara pasti komponen fitokimia yang terdapat pada ekstrak etanol buah mahkota dewa yang digunakan dan seberapa banyak proporsi jumlah komponen fitokimia yang berperan besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu juga

perlunya penelitian terhadap buah mahkota dewa dengan ekstraksi MAE menggunakan berbagai variasi pelarut, waktu, dan perbandingan simplisia pelarut agar didapatkan hasil rendemen yang maksimal.



BAB 7

KESIMPULAN

7.1 Kesimpulan

Berikut ini merupakan kesimpulan yang didapatkan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ini:

1. Ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode MAE memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar
2. Terdapat hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan hambatan pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar
3. KHM ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 15 %.
4. Ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode MAE menggunakan perbandingan 1:5 dan 10 menit waktu ekstraksi menghasilkan hasil rendemen yang lebih banyak.

7.2 Saran

Berikut ini merupakan saran-saran dari penelitian berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ini:

1. Perlu dilakukan uji penapisan fitokimia untuk mengetahui prosentasi kandungan komponen fitokimia dalam ekstrak etanol buah mahkota dewa dan komponen fitokimia yang paling berperan sebagai antibakteri.
2. Diperlukan pengujian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui dosis

efektif, dosis toksik, dan efek samping sebelum dilanjutkan dengan pengujian pada manusia untuk keperluan pengobatan medis pada masyarakat luas.

3. Diperlukan penelitian lebih lanjut efek buah mahkota dewa sebagai antibakteri terhadap bakteri lain selain bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

4. Diperlukan penelitian tentang ekstraksi buah mahkota dewa dengan metode MAE menggunakan variasi pelarut, waktu dan perbandingan simplisia pelarut agar dihasilkan rendemen ekstrak yang maksimal.



Daftar Pustaka

Aliefa N.A., dan Yunianta .2015. *Ekstraksi Antosianin dari Buah Murbei (Morbus alba. L) metode MAE (kajian waktu ekstraksi dan rasio bahan : pelarut).* Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No 2 P.835-846.

Arundhina, Elisabeth .2014. *Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alamanda (Allamanda Cathartica L.) Sebagai Antibakteri Terhadap Pseudomonas aeruginosa Dan Pityrosporum Ovale Secara In Vitro.* Jurnal Teknobiologi. p.1-15.

Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A .2013. "Jawetz et al., Melnick, & Adelberg's *Medical Microbiology*", 24th edition, McGraw-Hill Companies inc

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

Eddy. 2017. Transfer Factor Formula. *Manfaat Mahkota Dewa yang Ampuh Tangkal Kanker.* (online). (<http://transferfactorformula.com/manfaat-mahkota-dewa/>, diakses 17 Januari 2018).

Hilker, Rolf, et al. 2015. Interclonal gradient of virulence in the *Pseudomonas Aeruginosa* pangenome from disease and environment. *Environmental microbiology* 17(1), 29-46.

Jawetz, Melnick, & Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23.* Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta : 2013

Jupriadi, L .2011. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Waru (Hibiscus tilaceus L.) terhadap Jamur Malassezia furfur.*

Kumpulan Makalah Kongres Nasional ke-2, Obat Tradisional Indonesia, Bandung(2005)3-11 Tanaman, [http://indobic.or.id/berita-detail.php?id berita=124](http://indobic.or.id/berita-detail.php?id%20berita=124) diakses pada tanggal 21 Januari 2008

Magdalena, dkk. Antibakteri Ekstrak Kasar daun Gambir – Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No 1 p.124-135, Januari 2015.

Nikhmah dan Taty EB .2012. *Uji Bahan Baku Antibakteri Dari Buah Mahkota Dewa (Phaleria Macrocarpa (Scheff) Boerl.) Hasil Iradiasi Gamma Dan Antibiotik Terhadap Bakteri Patogen*. Jakarta : Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR) – BATAN.

Nur D., dan Firman .2010. *Mahkota Dewa dan Manfaatnya*. Bekasi : exact ganeca.

Rahayu, T. dan Rahayu, T. 2009. *Uji Antibakteri Kombucha Coffee terhadap Pseudomonas aeruginosa dan Tricophyton mentagrophytes*. Jurnal Penelitian Sains & Teknologi 10 (1) : 10 – 17.

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

Robin, R.J., A.J. Parr, J.n. Walton, 1991. *Studies on the Biosynthesis Of Tropane Alkaloid In Dature Stramonium L. TransformedmRoot Culture On The Relative Contribution Of L. Anginine and L. Ormithine The Formation Of The Tropanering*. Planta 183: 196-201.

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

Whielman, Lutz, Nina Cramer, and Burkhard Tummeler. 2015. Habitat-associated Skew of Clone Abundance in the *Pseudomonas aeruginosa* Population.

Environmental Microbiology Reports 7(6), 955-960.

Winarto, W.P. 2003. Mahkota Dewa : Budi Daya dan Pemanfaatan Untuk Obat. Penebar Swadaya.

Wonnenberg, B., et al. 2016. The role of IL- β in *Pseudomonas aeruginosa* in Lung Infection. *Cell and Tissue Research* 364(2), 225-229.



LAMPIRAN

Lampiran 1: Foto Ekstraksi dengan Menggunakan *Microwave assisted Extraction*

Alat Ekstraksi dengan Metode MAE



Tempat Tabung Vessel



Tabung Vessel

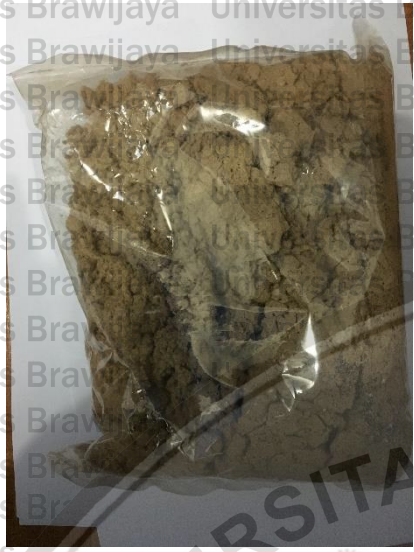


Pengukur Suhu Vessel



Alat Rotary Evaporator

Hasil Ekstraksi dengan Metode MAE



Serbuk Buah Mahkota



Hasil Filtrasi Ekstraksi yang Kedua Sebelum di Rotary evaporator



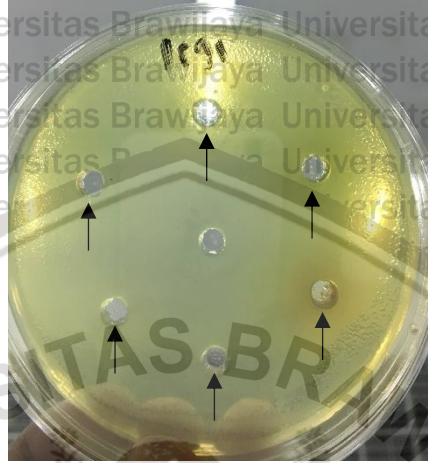
Hasil Filtrasi Ekstraksi yang Pertama Sebelum di Rotary evaporator



Hasil Akhir Ekstraksi dalam Bentuk Pasta

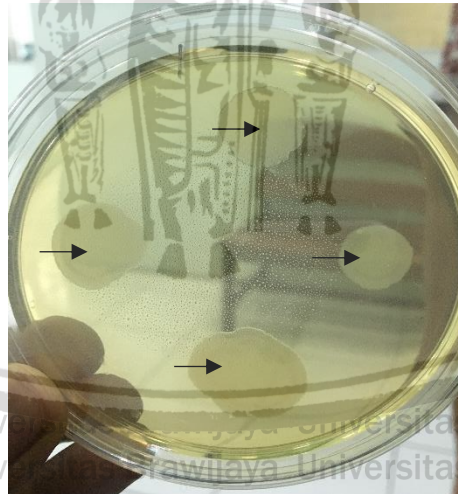
**Lampiran 2: Hasil Penelitian Pendahuluan Uji Antifungi Buah Mahkota Dewa
(*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Buah Mahkota Dewa**

Penelitian Pendahuluan Pertama (Metode Sumuran)



Hasil Penelitian Pendahuluan Pertama dengan Konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12%, 6%, 3%, dan 0% tidak didapatkan zona *inhibisi*.

Penelitian Pendahuluan Kedua (Metode Dilusi agar)



Hasil Penelitian Pendahuluan Kedua dengan Konsentrasi 10%

Penelitian Pendahuluan Ketiga



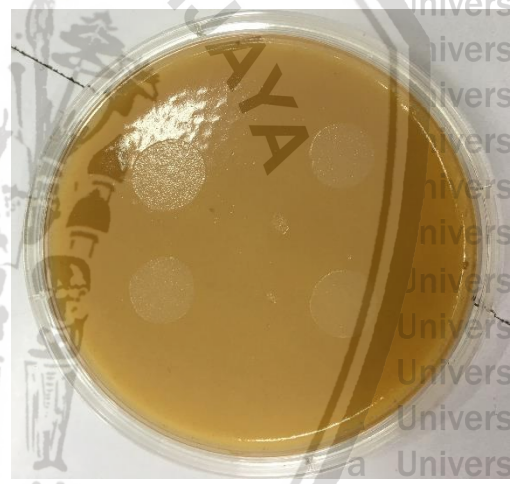
Kontrol Positif Penelitian Ketiga



Hasil Penelitian Pendahuluan Ketiga dengan Konsentrasi 12%



Hasil Penelitian Pendahuluan Ketiga dengan Konsentrasi 15%



Hasil Penelitian Pendahuluan Ketiga dengan Konsentrasi 10% Ekstrak yang Kedua

**Lampiran 3: Analisis Perbedaan Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah
Makhota Dewa terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa***

1. Analisis Kruskal Wallis

		Ranks	
Hasil Skoring	Konsentrasi	N	Mean Rank
Hasil Skoring	Konsentrasi 0%	4	22.50
	Konsentrasi 5%	4	16.50
	Konsentrasi 7,5%	4	16.50
	Konsentrasi 10%	4	9.50
	Konsentrasi 12,5%	4	7.50
	Konsentrasi 15%	4	2.50
Total		24	

Test Statistics^{a,b}

	Hasil Skoring
Chi-Square	22.659
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Konsentrasi

2. Analisis Multiple Comparison (Post Hoc) – Mann Whitney

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 0% dengan konsentrasi 5% terhadap
Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

		Ranks		
Hasil Skoring	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 0%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 0% dengan konsentrasi 7,5% terhadap
Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

		Ranks		
Hasil Skoring	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 0%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 7,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 0% dengan konsentrasi 10% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 0%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 0% dengan konsentrasi 12,5% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 0%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 12,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Hasil Skoring
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 0% dengan konsentrasi 15% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

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

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 5% dengan konsentrasi 7,5% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 5%	4	4.50	18.00
	Konsentrasi 7,5%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 5% dengan konsentrasi 10% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 5%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 5% dengan konsentrasi 12,5% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 5%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 12,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Hasil Skoring
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 5% dengan konsentrasi 15% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 5%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 7,5% dengan konsentrasi 10% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 7,5%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^a		Hasil Skoring
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		10.000
Z		-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)		.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 7,5% dengan konsentrasi 12,5% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 7,5%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 12,5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^a		Hasil Skoring
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		10.000
Z		-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)		.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 7,5% dengan konsentrasi 15% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 7,5%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 10% dengan konsentrasi 12,5% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil Skoring	Konsentrasi 10%	4	5.50	22.00
	Konsentrasi 12,5%	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Hasil Skoring
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 10% dengan konsentrasi 15% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks

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

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Perbedaan Pengaruh konsentrasi 12,5% dengan konsentrasi 15% terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Ranks				
Hasil Skoring	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 12,5%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	Hasil Skoring
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

3. Analisis Spearman

Correlations				
		Konsentrasi	Hasil Skoring	
Spearman's rho	Konsentrasi	Correlation Coefficient	1.000	-.975**
		Sig. (2-tailed)	.000	.000
		N	24	24
	Hasil Skoring	Correlation Coefficient	-.975**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.000
		N	24	24

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

4.

UJI EFEKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUAH MAHKOTA

DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

SECARA *IN VITRO*

Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes¹, dr. Elly Mayangsari,

M.biomed², dan Irgi Achmad Fahrezie³

1 Departemen Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya

2 Departemen Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya

3 Mahasiswa Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya

ABSTRAK

Fahrezie, Irgi Achmad. 2018. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Elly Mayangsari, M.biomed

Infeksi nosokomial termasuk salah satu penyebab besarnya angka kematian dan kecacatan di dunia. Salah satu penyebab infeksi nosokomial adalah *Pseudomonas aeruginosa*, yang prevalensinya semakin meningkat setiap tahun. Terapi utama *Pseudomonas aeruginosa* adalah *ceftazidime*, namun seiring dengan peningkatan resistensi terhadap antimikroba, resistensi terhadap *ceftazidime* sudah mencapai 38.8%. Berdasarkan alasan tersebut, perlu dikembangkan antibiotik baru terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Buah mahkota dewa mempunyai komponen alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. *Microwave Assisted Extraction* merupakan teknik mengekstraksi yang lebih cepat dan efisien. Penelitian ini menggunakan desain eksperimen laboratorium melalui uji antibakteri dengan metode dilusi agar. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) memiliki efek sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Konsentrasi yang digunakan dari penelitian ini adalah 0%; 5%; 7,5%; 10%; 12,5%, dan 15% dengan tiga kali pengulangan. Berdasarkan hasil penelitian, pada konsentrasi 15% tidak ada pertumbuhan koloni bakteri. Analisis statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perubahan signifikan pada perubahan konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ($p < 0,05$). Uji *Spearman* menunjukkan ada

hubungan yang sangat kuat dengan arah negatif (koefisien=-0,975) yang dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa yang diberikan, maka pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* semakin menurun. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah mahkota dewa memiliki efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, buah mahkota dewa, Microwave Assisted Extraction, efek antibakteri.

ABSTRACT

Fahrezie, Irgi Achmad. 2018. **Effectiveness Test of Antibakteri Extract Ethanol of God's Crown Fruit (*Phaleria macrocarpa*) on *Pseudomonas aeruginosa* In Vitro**. Final Project, Medical Bachelor Degree Program, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya. Counselor: (1) Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Elly Mayangsaari, M.biomed

Nosocomial infection is one of the major causes of mortality and disability in the world. Each year the incidence of nosocomial infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* continues to increase. The drug of choice for *Pseudomonas aeruginosa* is ceftazidime. However, the resistance rate of ceftazidime has reach 38.8%. Hence it is crucial to find a new antibiotic compound against *Pseudomonas aeruginosa*. Banyan tree is one of natural resources that have a potential therapy but rarely used by human. God's Crown Fruit has components of alkaloids, tannins, saponins, and flavonoids that can function as antibakteri. Microwave Assisted Extraction is a faster and efficient extracting technique. This research uses laboratory experimental design through antibakteri test with agar dilution method. This study aims to prove that the extract of God's Crown Fruit (*Phaleria macrocarpa*) has an antibakteri effect on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. The concentrations used in this study were 0%, 5%, 7.5%, 10%, 12.5%, and 15% with three repetitions. Based on the results of the study, at a concentration of 15% there is no growth of bakteri colonies. Statistical analysis using Kruskal Wallis test showed a significant change in concentration change to *Pseudomonas aeruginosa* bakteri growth ($p < 0,05$). Spearman test showed a very strong relationship with the negative direction (coefficient = -0.975) which can be concluded that the higher concentration of extract ethanol of the God's Crown Fruit given, the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bakteri decreased. Based on this research can be concluded that the extract ethanol of the God's Crown Fruit has antibakteri effect on *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, God's Crown Fruit (*Phaleria macrocarpa*), Microwave Assisted Extraction, antibakteri effects

Pendahuluan

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri yang termasuk sebagai penyebab infeksi nosokomial. Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang disebabkan mikroorganisme yang dialami oleh pasien yang didapatkan selama dirawat di rumah sakit diikuti dengan manifestasi klinis yang muncul sekurang-kurangnya 3x24 jam.⁽¹⁾

Infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat diatasi dengan pemberian antibiotik komersial, penggunaan antibiotik/antibakteri dapat menimbulkan efek samping seperti reaksi alergi, reaksi idiosinkrasi, reaksi toksik, dan perubahan biologik maupun metabolic.

Salah satu tanaman obat yang biasa digunakan oleh masyarakat adalah mahkota dewa. Buah mahkota dewa juga memiliki kandungan kimia yang sangat kaya. Komponen fitokimia dalam buah mahkota dewa yang bermanfaat sebagai antimikroba seperti alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* dan *S. Typhi*⁽⁴⁾.

Microwave Assisted Extraction merupakan teknik mengekstraksi bahan-bahan terlarut didalam buah mahkota dewa dengan bantuan gelombang mikro. Perbedaan MAE dengan ekstraksi konvensional lainnya adalah MAE lebih cepat dan efisien dalam hal ekstraksi⁽⁶⁾.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian ini guna mengetahui efek antibakteri dari buah mahkota dewa terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh zat aktif yang terdapat dalam mahkota dewa terhadap

penghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini akan dilaksanakan secara *in vitro*.

Metode dan Bahan

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental design* dengan *post test only control group design* untuk membuktikan efek antibakteri ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Untuk mengetahui hal tersebut, akan dilakukan metode dilusi agar dengan tujuan menentukan hambatan pertumbuhan koloni bakteri. Pada penelitian ini, digunakan sampel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diambil dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang berasal dari isolate pasien Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Proses identifikasi bakteri meliputi penanaman pada media *Mueller Hinton Agar*, pewarnaan Gram.

Pembuatan ekstrak pada penelitian ini menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* yang dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Variasi waktu dan perbandingan simplisia pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 menit, 75 gram simplisia dan 675 ml pelarut untuk ekstraksi pertama dan 10 menit, 150 gram simplisia, dan 750 ml pelarut untuk ekstraksi kedua. Pelarut yang digunakan

pada penelitian ini adalah etanol 96%.

Penelitian pendahuluan pada penelitian ini dilakukan dengan konsentrasi 0%, 10%, 12%, dan 15%. Berdasarkan hasil tersebut, maka dilakukan penilitian utama dengan konsentrasi 5%; 7,5%; 10%; 12,5%; dan 15%; dengan 0% sebagai kontrol positif.

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) untuk windows versi 23.

Hasil

Hasil ekstraksi dari buah mahkota dewa pada ekstraksi pertama dengan variasi waktu 3 menit, 75 gram simplisia dan 675 ml pelarut adalah sebanyak 2 gram, sedangkan ekstraksi kedua dengan variasi waktu 10 menit, 150 simplisia dan 750 ml pelarut adalah 6,2 gram.

Hasil uji identifikasi yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan sesuai dengan ciri khas bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil pengamatan yang ditemukan pada media *Mueller Hinton Agar* adalah koloni berwarna hijau. hasil pengamatan melalui mikroskop pada pewarnaan gram adalah ditemukannya bentukan sel berbentuk batang (basil) berwarna merah.

Pada penilntian ini menggunakan ekstrak etanol buah mahkota dewa yang kedua dengan konsentrasi 0%; 5%; 7,5; 10%; 12,5%; dan 15%.Pengamatan hasil pada penelitian ini dilakukan dengan melihat secara langsung pertumbuhan koloni bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C pada masing-masing *plate* dengan konsentrasi yang sudah ditentukan dan berisi

campuran media *Nutrient Agar Plate* dengan ekstrak etanol buah mahkota dewa.

Hasil pengamatan terhadap uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak buah mahkota dewa, menunjukkan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah 15%. Hasil tersebut ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi tersebut.

Pada penelitian ini merupakan data ordinal sehingga menggunakan analisis data berupa uji nonparametrik. Data ordinal dari penelitian ini adalah variabel penelitian berupa tingkat pertumbuhan koloni bakteri. Uji nonparametrik yang dilakukan meliputi uji *Kruskal Wallis*, uji *post hoc Mann-Whitney*, dan uji *Spearman*.

Uji *Kruskal Wallis* dilakukan untuk mengetahui perbedaan beberapa konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan koloni bakteri. Nilai signifikansi yang didapat melalui uji ini adalah 0,000. Kesimpulan yang dapat ditarik melalui hasil analisis uji *Kruskal Wallis* adalah terdapat perbedaan efek antibakteri pada setiap pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosas*.

Uji *post hoc Mann-whitney* dilakukan untuk mengetahui signikan atau tidak, perbedaan yang didapatkan dari perbandingan setiap dua konsentrasi ekstrak. Hasil dari uji stastik ini adalah: (1) Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 0% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 5%; 7,5;

10%; 12,5%; dan 15%, (2) Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 5% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 7,5; 10%; 12,5%; dan 15%, (3) Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 7,5% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 10%; 12,5%; dan 15%, (4) Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 10% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 15%, dan tidak berbeda signifikan terhadap konsentrasi 12,5%, (5) Pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 12,5% berbeda signifikan terhadap konsentrasi 15%.

Uji *Spearman* dilakukan untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Nilai koefisien korelasi dari hasil uji *Spearman* yaitu $-0,975$. Tanda negatif pada koefisien tersebut mempunyai arti bahwa arah hubungannya adalah berkebalikan. Arah hubungan berkebalikan diartikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa yang diberikan, maka pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* semakin menurun.

Pembahasan

Uji efek antibakteri dilakukan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Pada penelitian ini digunakan dua metode uji antibakteri, metode sumuran (*well diffusion*) tidak didapati zona hambat sehingga dilakukan

penggantian metode menjadi dilusi agar.

Pada metode dilusi agar menghasilkan Kadar Buah Minimum, pada penelitian ini adalah 15% yang artinya pada konsentrasi tersebut ekstrak etanol buah mahkota dewa dapat membunuh pertumbuhan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi 15% mengandung sebanyak 0,86 ml ekstrak buah mahkota dewa yang dicampurkan dengan 4,14 ml *Nutrient Agar Plate* (NAP). Untuk mendapatkan 0,86 ml ekstrak etanol buah mahkota dewa dibutuhkan serbuk buah mahkota dewa sebanyak 10,4 gram. Buah mahkota dewa segar yang digunakan dalam penelitian ini ada sebanyak 5 kg, kemudian buah mahkota dewa segar hanya diambil bagian buahnya dan dikeringkan. Buah mahkota dewa segar menghasilkan 795 serbuk buah mahkota dewa setelah dikeringkan dan dihaluskan. Untuk mendapatkan 10,4 gram serbuk buah mahkota dewa dibutuhkan sebanyak 63 gram buah mahkota dewa segar. Satu buah mahkota dewa segar mempunyai berat ± 70 gram. Berdasarkan perhitungan diatas, untuk mendapatkan konsentrasi 15% dibutuhkan satu (1) buah mahkota dewa segar.

Kesimpulan

Berikut ini merupakan kesimpulan yang didapatkan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan:

1. Ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar.
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol buah mahkota

dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 15% (Mengandung ekstrak 0,86 ml yang diperoleh dari satu buah mahkota dewa).

3. Terdapat hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan hambatan pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar.

Saran

Berikut ini merupakan saran-saran dari penelitian berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ini:

1. Perlu dilakukan uji penapisan fitokimia untuk mengetahui prosentasi kandungan komponen fitokimia dalam ekstrak etanol buah mahkota dewa dan omponen fitokimia yang paling berperan sebagai antibakteri.
2. Diperlukan pengujian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui dosis efektif, dosis toksik, dan efek samping sebelum dilanjutkan dengan pengujian pada manusia untuk keperluan pengobatan medis pada masyarakat luas.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut efek buah mahkota dewa sebagai antibakteri terhadap bakteri lain selain bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
4. Diperlukan penelitian tentang ekstraksi buah mahkota dewa

dengan metode MAE menggunakan variasi pelarut, waktu dan perbandingan simplisia pelarut agar dihasilkan rendemen ekstrak yang maksimal.

Daftar Pustaka

1. Jawetz et al., Melnick, and Adelberg's. 2013. *Medical Microbiology*, 26th edition, McGraw-Hill Companies inc.
2. Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. 2013. "Jawetz et al., Melnick, & Adelberg's *Medical Microbiology*", 24th edition, McGraw-Hill Companies inc
3. Yugo R.M., dan Ridhawati. 2015. Pola Kepekaan *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Flukonazol dan Itrakonazol secara *In Vitro*: Tinjauan pada Bahan Klinik Laboratorium Mikologi Departemen Parasitologi FKUI Periode 2010-2011. *Jurnal: FKUI Depok*.
4. Nikham dan Taty E.B., .2012. *Uji Bahan Baku Antibakteri Dari Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* (Scheff) Boerl.) Hasil Iradiasi Gamma Dan Antibiotik Terhadap Bakteri Patogen*. Jakarta : Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR) – BATAN.
5. Winarto, W.P. 2003. *Mahkota Dewa : Budi Daya dan Pemanfaatan Untuk Obat Penebar Swadaya*.