

**EFEK ANTIMIKROBA DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Corynebacterium diphtheriae* dan
Corynebacterium striatum SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh :

Desy Eka Rahayu

NIM : 15507010111087

**PROGRAM STUDI S1 PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Persetujuan.....	ii
Halaman Pengesahan.....	iii
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iv
Kata Pengantar.....	v
Abstrak.....	vii
Abstract.....	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Lampiran.....	xv
Daftar Singkatan.....	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Akademis.....	3

1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	5
2.1.1 Taksonomi	6
2.1.2 Morfologi <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	6
2.1.3 Virulensi dan Manifestasi Klinis <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	7
2.2 <i>Corynebacterium striatum</i>	7
2.2.1 Taksonomi	8
2.2.2 Morfologi <i>Corynebacterium striatum</i>	8
2.2.3 Manifestasi Klinis <i>Corynebacterium striatum</i>	9
2.3 Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>).....	9
2.3.1 Taksonomi	9
2.3.2 Morfologi <i>Piper crocatum</i>	10
2.3.3 Manfaat <i>Piper crocatum</i>	11
2.4 Antimikroba	12
2.4.1 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	12
2.5 Uji sensitivitas Antimikroba secara in vitro	13
2.5.1 Metode Dilusi	13
2.5.1.1 Dilusi Tabung.....	13
2.5.1.2 Dilusi Agar.....	14
2.5.2 Metode Difusi.....	14
BAB III KERANGKA KONSEP PENELITIAN	15

3.1 Kerangka Konsep Penelitian	15
--------------------------------------	----

3.2 Hipotesis	16
---------------------	----

BAB IV METODE PENELITIAN	17
---------------------------------------	-----------

4.1 Desain Penelitian	17
-----------------------------	----

4.2 Sampel dan Besar Sampel	17
-----------------------------------	----

4.3 Waktu dan Tempat Penelitian	18
---------------------------------------	----

4.3.1 Waktu	18
-------------------	----

4.3.2 Tempat Penelitian	18
-------------------------------	----

4.4 Variabel Penelitian	18
-------------------------------	----

4.4.1 Variabel Dependen	18
-------------------------------	----

4.4.2 Variabel Independen	18
---------------------------------	----

4.5 Definisi Operasional	18
--------------------------------	----

4.6 Alat dan Bahan	19
--------------------------	----

4.6.1 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri	19
---	----

4.6.2 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah	19
---	----

4.7 Prosedur Penelitian	20
-------------------------------	----

4.7.1 Pembuatan Bahan Uji	20
---------------------------------	----

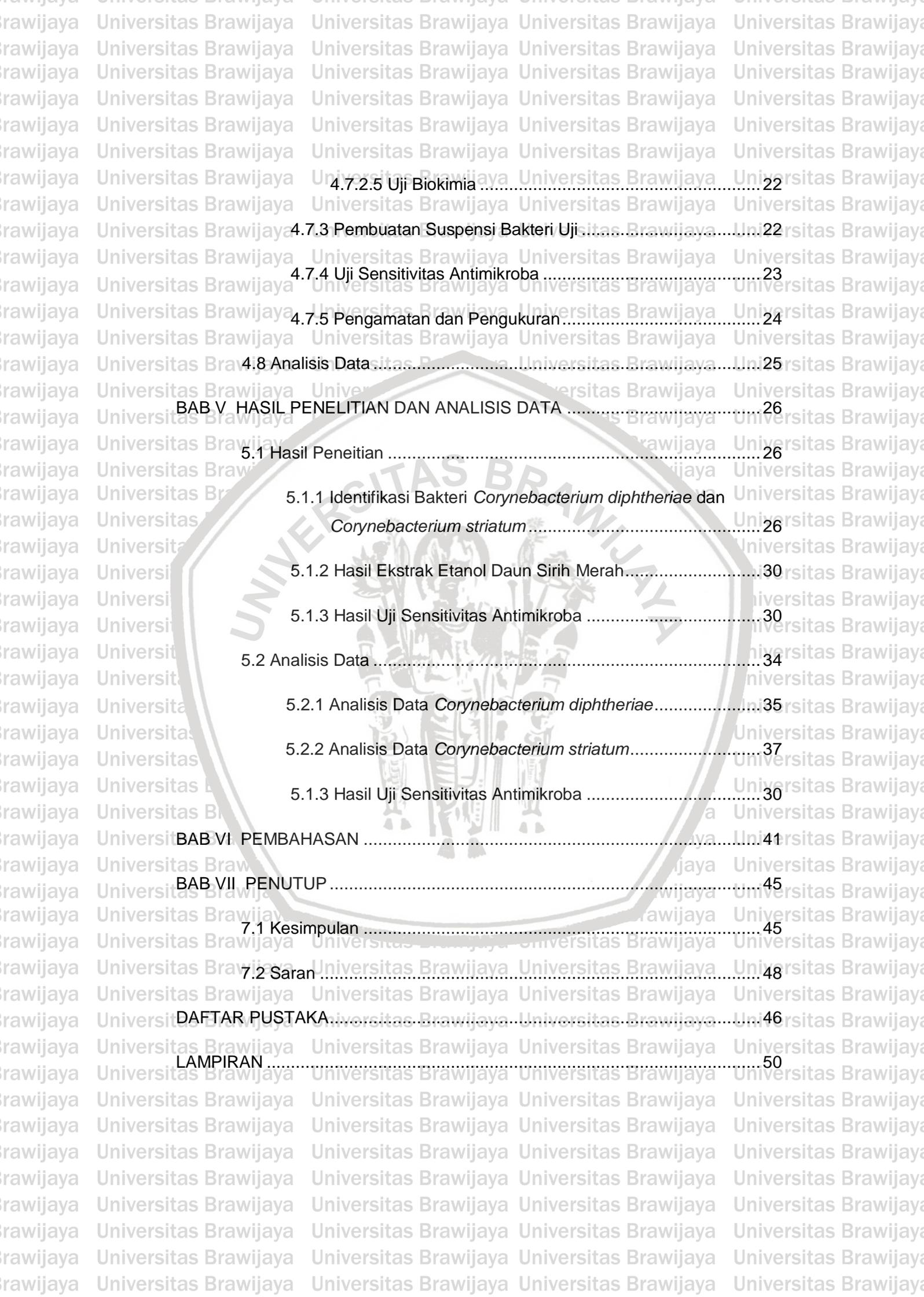
4.7.2 Preparasi Bakteri	20
-------------------------------	----

4.7.2.1 Kultur untuk Identifikasi Bakteri	20
---	----

4.7.2.2 Pewarnaan Gram	21
------------------------------	----

4.7.2.3 Tes Katalase	21
----------------------------	----

4.7.2.4 Pewarnaan Neisser	22
---------------------------------	----



4.7.2.5 Uji Biokimia	22
4.7.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	22
4.7.4 Uji Sensitivitas Antimikroba	23
4.7.5 Pengamatan dan Pengukuran	24
4.8 Analisis Data	25
BAB V. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	26
5.1 Hasil Penelitian	26
5.1.1 Identifikasi Bakteri <i>Corynebacterium diphtheriae</i> dan <i>Corynebacterium striatum</i>	26
5.1.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah	30
5.1.3 Hasil Uji Sensitivitas Antimikroba	30
5.2 Analisis Data	34
5.2.1 Analisis Data <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	35
5.2.2 Analisis Data <i>Corynebacterium striatum</i>	37
5.1.3 Hasil Uji Sensitivitas Antimikroba	30
BAB VI. PEMBAHASAN	41
BAB VII. PENUTUP	45
7.1 Kesimpulan	45
7.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**EFEK ANTIMIKROBA DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Corynebacterium diphtheriae* dan
Corynebacterium striatum SECARA IN VITRO**

Oleh :

Desy Eka Rahayu

NIM. 155070101111087

Telah diuji pada

Hari : **Senin**

Tanggal : **5 November 2018**

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Andan Rizal, Sp.JP.FIHA

NIP. 198108232008121002

Pembimbing I/Penguji II,

dr. Sata Mulyastuti, M.Si

NIP. 198208052009122004

Pembimbing II/Penguji III,

dr. Bayu Lestari, M.Biomed

NIP. 198602012010121004

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

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

NIP. 196310221996012001

**Efek Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Hambatan
Pertumbuhan Bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium
striatum* SECARA IN VITRO**

Desy Eka Rahayu¹, Yuanita Mulyastuti², Bayu Lestari³

- 1. Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya**
- 2. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya**
- 3. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya**

Abstrak

Corynebacterium sp. adalah bakteri yang dapat menjadi patogen berbahaya karena dapat menginfeksi manusia. *Corynebacterium sp.* yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*. *Corynebacterium diphtheriae* adalah bakteri penyebab infeksi difteri. *Corynebacterium striatum* merupakan bakteri patogen yang dapat mengakibatkan infeksi nosokomial dan berhubungan dengan infeksi luka, pneumonia serta meningitis. Daun sirih merah memiliki kandungan minyak atsiri, saponin, alkaloid, flavanoid dan tanin sehingga dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai efek antimikroba terhadap pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*. Desain penelitian ini yaitu eksperimental laboratorium secara in vitro. Bahan yang digunakan yaitu : daun sirih merah dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dengan lima kali pengulangan. Ekstrak diujikan pada bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*. Metode uji yang digunakan adalah difusi sumuran. Data yang akan diukur yaitu diameter dari zona inhibisi.

Hasil dari penelitian ini yaitu pada konsentrasi 40-100% mampu menghambat pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*. Pada *Corynebacterium striatum* konsentrasi yang mampu menghambat adalah 20%-100%. Analisis statistik menggunakan *One-way Anova test* menunjukkan perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* ($p < 0,05$) dan *Corynebacterium striatum* ($p < 0,05$). Jadi kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*.

Kata kunci : *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium striatum*, ekstrak daun sirih merah.

ABSTRACT

Corynebacterium sp. can be a dangerous pathogen bacteria due to their infection ability to human. Two species highlighted among other *Corynebacteriae* members are *Corynebacterium diphtheriae* which can cause diphtheria and *Corynebacterium striatum* which is one of the nosocomial bacteria causing wound infection, pneumonia, and meningitis. Red betel contains essential oils, saponin, alkaloid, flavonoid, and tanin which may inhibit bacterial growth.

In this study the researcher use in vitro experimental laboratory design to figure out whether *Piper crocatum* has antimicrobial effect of towards the growth of *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium striatum*. Resercher use some variant of *Piper crocatum* extract concentration, such as 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% with 5 times repetition to *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium striatum* colony using diffusion Method. The objective is diameter of the zone of inhibition.

The extract of *Piper crocatum* can inhibit *Corynebacterium diphtheriae* colony at 40% concentration or higher. Meanwhile inhibition of *Corynebacterium striatum* occur at 20% until 100% concentration. Statistical analysis using One-way Anova test shows significant difference between red betel concentration antimicrobial effect towards *Corynebacterium* measured by zone of inhibition. This study prove that the extract of *Piper crocatum* has antimicrobial effect to inhibit the growth of *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium striatum*.

Keyword: *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterim striatum*, red betel.

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Corynebacterium sp. adalah bakteri yang sebagian besar tersebar di lingkungan, serta dapat menjadi flora normal pada kulit dan membran mukosa.

Akan tetapi beberapa spesies dari bakteri ini menjadi patogen yang sangat berbahaya karena dapat menginfeksi manusia. Pada pasien dengan *imunocompromise* terdapat peningkatan angka kejadian infeksi *Corynebacterium* sp. (Funke *et al.*, 1997). *Corynebacterium* sp. yang patogen antara lain *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium ulcerans* dan *Corynebacterium jeikeium* (Magee *et al.*, 1990).

Salah satu *Corynebacterium* sp. yang dominan menyebabkan infeksi adalah *Corynebacterium diphtheriae*. *Corynebacterium diphtheriae* adalah bakteri penyebab infeksi difteri (Sunarno dkk., 2013). Bakteri ini menghasilkan eksotoksin yaitu toksin difteri yang menjadi penyebab beberapa gejala penyakit difteri. Difteri merupakan penyakit infeksi yang berpotensi berakibat fatal, akan tetapi dapat dikontrol dengan adanya program imunisasi pada beberapa negara berkembang (Cerdeño-Tárraga *et al.*, 2003). Meskipun vaksinasi difteri telah dapat menurunkan angka kejadian difteri, wabah difteri masih terjadi di beberapa negara, termasuk Indonesia. Diduga wabah yang terjadi dikarenakan perubahan dari profil toksin. Setelah dilakukan isolasi terhadap wabah *Corynebacterium diphtheriae* di Indonesia, ternyata terdeteksi adanya perubahan variasi genetik gen *dtxR* dan *tox* (Cerdeño-Tárraga *et al.*, 2003 ; Mulyastuti *et al.*, 2017).

Angka kejadian difteri di Indonesia masih cukup tinggi. Pada tahun 2015, terdapat 252 kasus difteri dengan jumlah kasus meninggal sebanyak 5 kasus sehingga CFR difteri sebesar 1,98%. Terdapat 13 provinsi yang melaporkan adanya kasus difteri, kasus tertinggi terjadi di Sumatra Barat (110 kasus) dan Jawa Timur (67 kasus). Terjadi peningkatan jumlah kasus di Sumatra Barat dan penurunan kasus di Jawa Timur dibandingkan tahun sebelumnya. Dari seluruh kasus difteri, 37% diantaranya tidak mendapatkan vaksinasi (Kemenkes RI, 2015).

Selain *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium sp.* yang saat ini menjadi perhatian yaitu *Corynebacterium striatum*, dimana bakteri tersebut merupakan bakteri patogen yang dapat mengakibatkan infeksi nosokomial khususnya pada pasien *imunocompromise*. Bakteri ini sering berhubungan dengan infeksi luka, pneumonia dan meningitis (I Biswal *et al.*, 2014). Infeksi mayor dari *Corynebacterium striatum* adalah di aliran darah, paru-paru, dan sistem saraf pusat. Beberapa infeksi nosokomial yang terjadi dikarenakan pemakaian kateter intravaskular (Lee PP, 2005). Infeksi *Corynebacterium striatum* banyak ditemukan disaluran pernafasan dan merupakan strain yang paling banyak mengalami *multidrug-resisten* sehingga berkontribusi terhadap tingginya angka morbiditas dan mortalitas sebesar 41%. Penelitian Renom dkk. menunjukkan bahwa *Corynebacterium striatum* yang diisolasi dari saluran nafas 51 pasien penderita penyakit paru obstruktif kronis, resisten terhadap siprofloksasin dan sensitif terhadap vankomisin (Renom F. *et al.*, 2014).

Seiring dengan meningkatnya angka kejadian difteri dan resistensi obat pada *Corynebacterium striatum*, maka berbagai jenis bahan alam dikembangkan sebagai antimikroba seperti sirih merah (*Piper crocatum*). Tanaman sirih merah

(*Piper crocatum*) termasuk dalam tanaman obat-obatan yang banyak ditemukan di Indonesia. Sirih merah (*Piper crocatum*) mengandung beberapa senyawa aktif yaitu minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi dan antibiotik (Bambang dkk.,2015). Pada penelitian yang dilakukan oleh Anika Candasari, ekstrak daun sirih merah ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* (Candrasari dkk., 2012). Potensi tanaman ini sebagai antimikroba perlu dikaji lebih jauh untuk mikroba lainnya.

Berdasarkan uraian diatas, potensi antimikroba sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Corynebacterium sp* sangat menarik untuk diteliti. Pada penelitian ini, akan dilakukan uji potensi antimikroba daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Corynebacterium diptheriae* dan *Corynebacterium striatum* dengan harapan dapat menjadi penemuan baru untuk mengatasi infeksi karena *Corynebacterium diptheriae* dan *Corynebacterium striatum*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai efek antimikroba terhadap pertumbuhan *Corynebacterium diptheriae* dan *Corynebacterium striatum*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek antimikroba dari pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pertumbuhan *Corynebacterium diptheriae* dan *Corynebacterium striatum* secara in vitro.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap hambatan pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dengan metode difusi sumuran.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) mampu menghambat *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*.
- b. Memberikan informasi tentang penggunaan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai referensi atau acuan dalam penelitian selanjutnya

1.4.2 Manfaat Praktis

Meningkatkan pemanfaatan daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antibakteri.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Corynebacterium diphtheriae*

Corynebacterium diphtheriae adalah bakteri *Corynebacterium sp.* yang dapat menyebabkan infeksi lokal maupun sistemik. *Corynebacterium diphtheriae* menyebabkan infeksi lokal berupa faringitis berat ditandai dengan adanya pseudomembran pada tenggorokan dan trakea. Selain itu *Corynebacterium diphtheriae* dapat mempengaruhi beberapa organ diantaranya dapat menyebabkan akut myokarditis. Bakteri ini dapat ditransmisikan melalui droplet serta kontak langsung dengan lesi yang terinfeksi (Ryan *et al.*, 2014).

Corynebacterium diphtheriae menghasilkan eksotoksin yaitu toksin difteri yang dapat menyebabkan difteri. Bakteri ini dapat berkembang di membran mukosa saluran napas atas. Absorpsi toksin difteri di membran mukosa menyebabkan rusaknya epitel sehingga muncul respon inflamasi. Nekrosis dari epitel merangsang berkumpulnya sel darah merah, sel darah putih dan benang-benang fibrin sehingga menyebabkan terbentuknya pseudomembran (Brooks *et al.*, 2013). Terapi yang dapat diberikan untuk difteri adalah serum anti difteri untuk menetralkan reaksi toksin difteri. Sedangkan antibiotik yang digunakan untuk mengontrol pertumbuhannya adalah penisilin dan eritromisin. Efek samping yang dapat terjadi pada penggunaan obat ini adalah urtikaria dan ruam kulit, mual, muntah, diare. Komplikasi yang dapat terjadi adalah miokarditis (Tortora *et al.*, 2013 ; ISO, 2016).

Angka kejadian difteri di Indonesia masih cukup tinggi. Pada tahun 2015, terdapat 252 kasus difteri dengan jumlah kasus meninggal sebanyak 5 kasus sehingga CFR difteri sebesar 1,98%. Terdapat 13 provinsi yang melaporkan adanya kasus difteri, kasus tertinggi terjadi di Sumatra Barat (110 kasus) dan Jawa Timur (67 kasus). Terjadi peningkatan jumlah kasus di Sumatra Barat dan penurunan kasus di Jawa Timur dibandingkan tahun sebelumnya. Dari seluruh kasus difteri, 37% diantaranya tidak mendapatkan vaksinasi (Kemenkes RI, 2015).

2.1.1 Taksonomi

Kingdom : Bacteria

Phylum : Actinobacteriae

Class : Actinobacteriae

Order : Actinomycelates

Family : Corynebacteriaceae

Genus : Corynebacterium

Spesies : *Corynebacterium diphtheriae*



Gambar 2.1 *Corynebacterium diphtheriae* secara mikroskopis pada perbesaran 1000x (Brooks et al., 2013).

2.1.2 Morfologi *Corynebacterium diphtheriae*

Corynebacterium diphtheriae memiliki diameter 0,5-1 µm. Bakteri ini termasuk bakteri batang gram positif. Bakteri ini membesar pada salah satu ujungnya sehingga memberikan bentuk "Club-shaped". Jika bakteri ini diberikan zat warna anilin (granula metakromasi), di dalam batangnya terlihat granula-granula yang tidak beraturan sehingga memberi bentuk seperti tasbih.

Pada sediaan yang telah diwarnai, bakteri ini cenderung paralel dan membentuk sudut satu sama lain (Brooks *et al.*, 2013).

Saat dikultur pada media *blood agar plate*, terlihat koloni *Corynebacterium diphtheriae* yang kecil, bergranul, berwarna keabu-abuan dengan tepi tidak rata, mungkin terdapat sedikit zona hemolisis. Pada agar-agar yang mengandung potassium tellurite, koloninya akan berwarna coklat-kehitaman. Empat biotipe *Corynebacterium diphtheriae* yang telah diketahui adalah *gravis*, *mitis*, *intermedius* dan *belfanti* (Brooks *et al.*, 2013).

2.1.3 Virulensi dan Manifestasi Klinis *Corynebacterium diphtheriae*

Faktor virulensi pada *Corynebacterium diphtheriae* adalah toksigenisitas (kemampuan memproduksi toksin) bakteri. Bakteri ini menghasilkan eksotoksin yang dapat menimbulkan peradangan dan destruksi epitel pada daerah yang terinfeksi. Adanya destruksi epitel menyebabkan nekrosis jaringan dan terbentuk membran keabu-abuan (*pseudomembran*) yang dapat mengawali terjadinya obstruksi saluran nafas. Toksin akan terus menyebar ke seluruh tubuh dan menyebabkan degenerasi pada jantung dan sel saraf (Sunarno dkk, 2013).

2.2 *Corynebacterium striatum*

Corynebacterium striatum merupakan salah satu spesies dari *Corynebacterium*. Bakteri ini termasuk kedalam basil gram positif yang memiliki bentuk khas berupa "club shaped". *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) telah melakukan publikasi terkait dengan tes antimikrobal terhadap beberapa spesies dari *Corynebacterium sp.* Pada penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa *Corynebacterium striatum* termasuk kedalam bakteri *multi-drug* resisten karena memiliki banyak variasi mekanisme resistensinya. Mekanisme resistensi yang ditemukan adalah mutasi dari gen *gyrA* dan gen *ermX methylase* sehingga bakteri ini resisten terhadap kuinolon, klindamisin, eritromisin dan kloramfenikol (Bernard K, 2012).

Corynebacterium striatum telah dilaporkan banyak berkembang pada pasien dengan kateter, ventilator dan *feeding tube*. Selain itu bakteri ini juga diidentifikasi dapat menjadi penyebab penyakit endokarditis, sepsis dan bakteriemia. Mulai tahun 1993 banyak laporan individu kasus terkait dengan *Corynebacterium striatum*. Bakteri ini menyebabkan wabah nosokomial. Penderitanya sebagian besar sudah mengalami penyakit kronis sebelumnya, yang telah lama dirawat inap dan mendapatkan perawatan antibiotik berspektrum luas dalam waktu yang lama (Renom F. *et al*, 2014).

2.2.1 Taksonomi

Kingdom : Bacteria

Phylum : Actinobacteriae

Class : Actinobacteriae

Order : Actinomycelates

Family : Corynebacteriaceae

Genus : Corynebacterium

Spesies : *Corynebacterium striatum*

2.2.2 Morfologi *Corynebacterium striatum*

Corynebacterium striatum adalah bakteri gram positif. Pada pemeriksaan di media agar darah tidak didapatkan adanya hemolisis, berwarna putih, *moist*, dan halus. Pada media yang mengandung tellurit selektif, *Corynebacterium striatum* dapat tumbuh dan menghasilkan koloni berwarna kecoklatan karena termasuk dalam bakteri positif *tellurite-reductase* (Berger, 2014; Díez-Aguilar, 2013).

2.2.3 Manifestasi Klinis *Corynebacterium striatum*

Infeksi *Corynebacterium striatum* banyak ditemukan disaluran pernafasan dan merupakan strain yang paling banyak mengalami *multidrug-resisten* (Renom F. *et al.*, 2014). Infeksi mayor dari *Corynebacterium striatum* adalah di aliran darah, paru-paru, dan sistem saraf pusat (Lee PP, 2005). Bakteri ini sering berhubungan dengan infeksi luka, pneumonia dan meningitis (I Biswal *et al.*, 2014).

2.3 Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) adalah tanaman yang memiliki banyak khasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Tanaman ini memiliki daun yang berwarna merah keperakan dan mengkilat saat terkena cahaya. Pada

tahun 1990-an banyak orang yang mengoleksi tanaman ini untuk tanaman hias.

Namun akhir-akhir ini tanaman ini banyak dikembangkan untuk menjadi tanaman

obat (Sudewo B, 2007).

2.3.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper crocatum</i>

2.3.2 Morfologi *Piper crocatum*

Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) ini berbentuk seperti jantung dengan warna hijau dan memiliki semburat pink. Ujung daun tumbuhan ini meruncing tidak rata, sedangkan permukaan serta tepi daunnya rata dan mengkilat. Daun ini memiliki warna yang berbeda pada permukaan atas dan bawahnya.

Permukaan atasnya berwarna keabu-abuan, sedangkan permukaan bawahnya berwarna merah. Apabila daun ini dirobek, maka akan keluar lendir yang pahit akan tetapi beraroma harum. Tumbuhan ini dapat tumbuh dengan baik pada

suhu yang sejuk dan tempat teduh, terutama di pegunungan. Jika tumbuhan ini langsung terkena sinar matahari dapat mengakibatkan batangnya mengering dan warna merahnya pudar (Manoi F, 2007).



Gambar 2.2 Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) secara makroskopis (Juliantina F et al., 2013).

2.3.3 Manfaat *Piper crocatum*

Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki banyak manfaat. Tanaman herbal ini memiliki senyawa aktif yang dapat menyembuhkan beberapa penyakit antara lain diabetes mellitus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolesterol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi, radang liver, radang prostat, radang mata, keputihan, gastritis, kelelahan, nyeri sendi dan memperhalus kulit (Manoi F, 2007). Pada penelitian yang dilakukan oleh Anika Candrasari dkk menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki daya antimikroba karena mampu menghambat *Candida albicans* dan bakteri *Staphylococcus aureus* (Candrasari A dkk., 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Puspa Sari Dewi dan Ita Nur Anisa menunjukkan bahwa ekstrak tanaman ini

mampu menurunkan kadar glukosa pada tikus wistar jantan (Dewi P.D. dan Anisa I. N. 2014).

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki senyawa aktif minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid sehingga dapat digunakan sebagai antimikroba (Bambang S dkk.,2015). Minyak atsiri dapat digunakan sebagai antimikroba karena dapat mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel, sehingga membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Alkaloid dapat menjadi senyawa antimikroba karena dapat mengganggu penyusunan peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Ajizah, 2004).

Saponin dan tanin dapat menjadi antimikroba karena dapat menurunkan tegangan tegangan permukaan sehingga permeabilitas atau kebocoran sel meningkat sehingga senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995; Ajizah, 2004). Flavanoid dapat digunakan sebagai antimikroba karena mampu membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Cowan, 1999).

2.4 Antimikroba

2.4.1 Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme kerja antimikroba antara lain sebagai berikut:

1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan. Beberapa antibiotik atau antimikroba bekerja dengan mekanisme mencegah sintesis dari peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri dapat lisis. Antimikroba yang bekerja dengan

mekanisme ini antara lain penisilin, sefalosporin, basitrasin, dan vankomisin (Tortora *et al.*, 2013).

2. Menghambat sintesis protein

Antimikroba menghambat sintesis protein dari sel bakteri dengan cara menghambat proses dari transkripsi atau sintesis asam ribonukleat yang DNA-*dependent*, dan translasi atau sintesis protein DNA-*ependent*. Bakteri sendiri memiliki ribosom 70s, sedangkan sel mamalia memiliki ribosom 80s. Sehingga pemakaian antimikroba dengan mekanisme menghambat sintesis protein ini tidak akan memberi pengaruh pada ribosom mamalia (Tortora *et al.*, 2013).

3. Menghambat replikasi asam nukleat

Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat bekerja melalui beberapa mekanisme, yaitu menghambat replikasi DNA dan menghambat RNA polimerase. Penggunaan antimikroba ini harus hati-hati karena dapat mempengaruhi sel *host*. Contoh dari antimikroba ini adalah kuinolon yang bekerja dengan menghambat replikasi DNA dan rifampisin yang menghambat RNA polimerase (Tortora *et al.*, 2013).

4. Merusak membran plasma

Antimikroba yang merusak membran plasma bekerja dengan mekanisme merubah permeabilitas membran sehingga bakteri akan kehilangan metabolik penting untuk bertahan hidup. Beberapa antimikroba yang bekerja dengan mekanisme ini adalah polimiksin B (Tortora *et al.*, 2013).

5. Menghambat enzim metabolit

Mekanisme dari antimikroba ini adalah dengan menjadi inhibitor kompetitif dari PABA. PABA adalah substrat yang dibutuhkan bakteri untuk membentuk

asam folat. Contoh dari antimikroba ini adalah sulfanilamid dan trimethoprim (Tortora *et al.*, 2013)

2.5 Uji sensitivitas antimikroba secara In Vitro

2.5.1 Metode Dilusi

Metode dilusi ini terbagi menjadi dua teknik pengerjaan. Pertama, menggunakan dilusi perbenihan cair (dilusi tabung). Kedua menggunakan teknik dilusi agar untuk menentukan aktivitas antimikroba secara kuantitatif dengan cara antimikroba dilarutkan ke media agar atau kaldu kemudian ditanami bakteri untuk diuji. Setelah diinkubasi, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut MIC (*minimal inhibitory concentration*) / KBM (konsentrasi hambat minimum).

2.5.1.1. Dilusi Tabung (*Broth macrodilution test*)

Dalam metode ini, antimikroba yang akan digunakan dilakukan pengenceran biasanya dalam satuan $\mu\text{g/ml}$. Tabung yang digunakan terdapat beberapa konsentrasi dari antimikroba dan terdapat satu tabung untuk kontrol. Tabung yang berisi antimikroba diberi bakteri yang telah diinkubasi dalam waktu semalam pada suhu 35°C . Konsentrasi terendah yang mampu menghambat bakteri dengan jelas dapat dilihat secara visual ditandai dengan tidak adanya kekeruhan disebut MIC (Mahon CR *et al.*, 2015).

2.5.1.2. Dilusi Agar

Pada metode dilusi ini, antimikroba sesuai dengan pengenceran dicampur dengan agar lalu diletakan pada dilution plate. Dalam metode ini dianjurkan

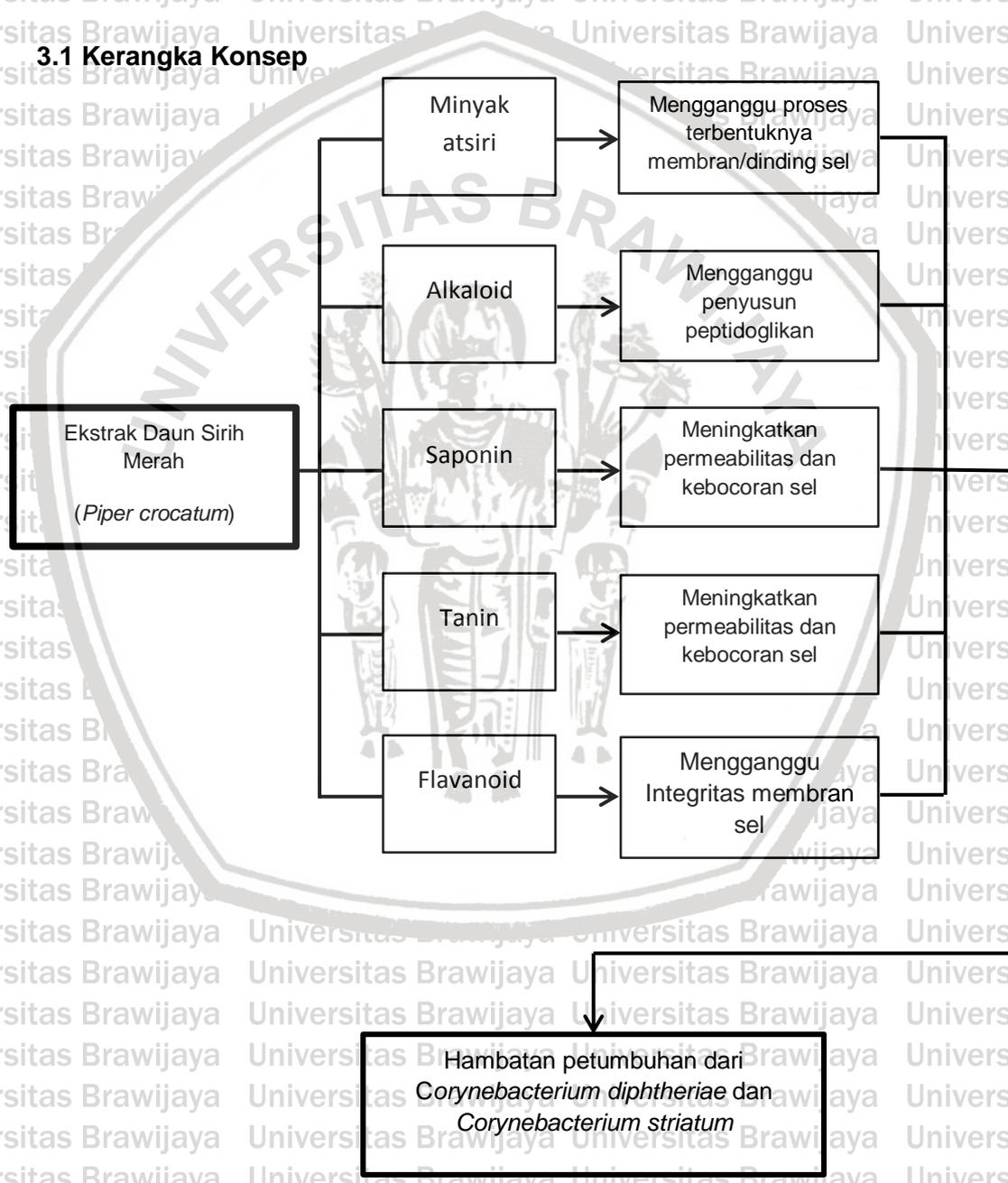
untuk menggunakan Mueller-Hinton agar. Kemudian bakteri yang ingin diuji dimasukkan kedalam tiap dilution plate dan plate kontrol yang tidak dicampur dengan antimikroba. Konsentrasi terendah yang mampu menghambat bakteri disebut MIC. Untuk menentukan MBC (*minumum bactericidal concentration*) / KBM (konsentrasi bunuh minimum) dapat dilakukan dengan menanam bakteri pada perbenihan cair yang digunakan untuk MIC ke dalam agar kemudian diinkubasi semalam dalam suhu 37°C. MBC adalah ketika tidak terjadi lagi pertumbuhan bakteri pada agar (Mahon CR *et al*, 2015).

2.5.2 Metode Difusi/Metode *disc diffusion*

Metode ini juga disebut tes Kirby dan Bauer yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Singkatnya, metode ini dilakukan dengan menanam antimikroba ke atas permukaan agar *Mueller-Hinton*, lalu beberapa piringan yang mengandung antimikroba dengan konsentrasi berbeda diletakkan diatas permukaan yang diinokulasi. Setelah diinkubasi semalam, zona pertumbuhan bakteri yang dihambat oleh antimikroba dapat dihitung dan dianalisa resisten atau tidak (Mahon CR *et al*, 2015).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan : : variabel yang diteliti

→ : berpengaruh pada

— : kandungan yang dimiliki

: variable tidak diteliti

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki banyak kandungan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antimikroba. Beberapa zat antimikroba itu adalah minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid (Bambang Sdkk.,2015). Minyak atsiri dapat mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel, sehingga membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Alkaloid dapat menjadi senyawa antimikroba karena dapat mengganggu penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Ajizah, 2004).

Saponin dan tanin menurunkan tegangan tegangan permukaan sehingga permeabilitas atau kebocoran sel meningkat sehingga senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995; Ajizah, 2004). Flavonoid berfungsi sebagai antimikroba karena dapat menghambat dinding sel bakteri. Flavonoid merusak struktur protein dalam dinding sitoplasma bakteri sehingga merubah sifat kimia dan fisiknya. Senyawa ini membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri sehingga bakteri lisis dan mati (Cowan, 1999).

3.2 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki efek antimikroba terhadap *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* secara *in vitro*.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antimikroba berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*. Uji antimikroba dilakukan dengan metode sumuran. Metode sumuran menggunakan ekstrak daun sirih merah ini untuk mengetahui besar zona inhibisi dari ekstrak daun sirih merah terhadap biakan *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*.

4.2 Sampel dan Besar Sampel

Sampel yang digunakan di dalam penelitian ini adalah bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

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

$$P(n-1) \geq 15 \quad (\text{Solimun, 2001})$$

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,24 = 4$$

Keterangan :

P= jumlah perlakuan (terdiri dari lima macam perlakuan, atau konsentrasi ekstrak daun sirih merah.

n= banyaknya pengulangan yang diperlukan.

Berdasarkan perhitungan diatas, banyaknya pengulangan minimal=4. Maka pada penelitian ini dilakukan 5 kali pengulangan.

4.3 Waktu dan Tempat Penelitian

4.3.1 Waktu

Penelitian ini dilaksanakan bulan Januari 2018

4.3.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Dependen

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% ekstrak etanol daun sirih merah.

4.4.2 Variabel Independen

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

4.5 Definisi Operasional

1. Daun sirih merah yang digunakan pada penelitian ini adalah daun yang didapat dari Balai Materia Medika Kota Batu.
2. *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari bakteri yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Zona inhibisi adalah zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dan menunjukkan bahan antimikroba dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin lebar zona inhibisi maka semakin rentan bakteri tersebut terhadap ekstrak etanol daun sirih merah. Diameter zona inhibisi di ukur dalam satuan milimeter (mm).
4. Potensi antimikroba adalah suatu ukuran yang didapat dari pengaruh tiap konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*. Dilihat dari luas zona inhibisi yang terbentuk.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri yang akan digunakan adalah menggunakan proses pewarnaan gram, pewarnaan neisser, tes katalase dan tes uji biokimia. Alat yang digunakan antara lain mikroskop, kertas penghisap, lampu spiritus, gelas objek, dan gelas penutup. Sedangkan bahan yang diperlukan adalah isolat *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*, medium *cystine tellurite blood* agar, pewarna gram (kristal violet, lugol, alkohol 90%, dan safranin), pewarna neisser, H_2O_2 , minyak emersi, *casseete*, dan *Vitek 2 compact*.

4.6.2 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Proses dalam pembuatan ekstrak daun sirih merah, terdapat 3 macam proses, yaitu proses pengeringan, proses ekstraksi, dan proses evaporasi. Alat yang digunakan dalam proses pengeringan adalah oven dan alat pengering untuk mengeringkan bahan penelitian setelah dicuci.

Alat untuk proses ekstraksi antara lain, blender untuk menghaluskan daun sirih merah, ketas saring untuk membungkus serbuk daun sirih merah, gelas ekstraksi dan neraca analitik.

Alat yang digunakan untuk proses evaporasi antara lain, seperangkat evaporator vakum, alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, rotary evaporator, tabung pendingin dan pompa sirkulasi air dingin, bak penampung air dingin, pompa vakum, tabung penampung etanol, batu didih dan cawan penguap.

Sedangkan bahan yang digunakan dalam ketiga proses diatas, proses pengeringan, ekstraksi, dan evaporasi, antara lain daun sirih merah, etanol 96%, dan aquades.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Bahan Uji

Metode yang digunakan dalam mengekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) adalah metode maserasi. Didalam metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 g daun sirih merah terlebih dahulu dicuci bersih, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C sampai kering, kemudian diremas dan dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk kemudian direndam dalam 3 liter pelarut etanol 96% selama 3x24 jam dan diambil filtratnya

dengan penyaringan. Maserasi dilakukan dengan pengadukan sebanyak 12 kali selama 15 menit dengan tenggang waktu 5 menit antar pengadukan, selanjutnya dilakukan penyaringan dengan corong dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas. Hasil saringan kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*, sehingga didapatkan 16.5 g ekstrak kental yang bebas dari pelarut. Ekstrak yang dihasilkan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

4.7.2 Preparasi Bakteri

4.7.2.1 Kultur untuk Identifikasi Bakteri

Bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dapat diidentifikasi dengan melakukan kultur pada beberapa media, sebagai berikut.

1. Pada penelitian ini dilakukan tes identifikasi *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dengan melakukan streaking (penggoresan) bakteri pada medium *Cystine tellurite blood agar*.
2. Setelah itu, diinkubasi pada suhu $37^{\circ} - 42^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam dan dilihat penampakan koloni bakteri pada medium.
- 3.

4.7.2.2 Pewarnaan Gram

Prosedur pewarnaan gram

1. Menyiapkan alat dan bahan
2. Membuat sediaan apusan bakteri pada gelas objek
3. Menuang kristal violet ke atas sediaan, dibiarkan selama 1 menit.

Kemudian buang sisa kristal violet dan membilas dengan air.

4. Menuang lugol ke atas sediaan lalu didiamkan selama 1 menit.
Kemudian buang lugol dan membilas dengan air.
5. Menuang alkohol 96% ke atas sediaan selama 5-10 detik lalu buang alkohol dan membilas dengan air.
6. Menuang safranin ke atas sediaan selama 30 detik lalu buang sisa safranin dan membilas dengan air.
7. Mengeringkan sediaan dengan menggunakan kertas penghisap.
8. Melihat sediaan dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x dengan bantuan minyak emersi.

4.7.2.3 Tes Katalase

Tes katalase dilakukan dengan menyediakan pembenihan cair bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* pada gelas obyek. Kemudian sediaan tersebut ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%. Perhatikan ada tidaknya gelembung udara yang terjadi. Hasil untuk *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* adalah ada gelembung / (tes katalase positif).

4.7.2.4 Pewarnaan Neisser

Prosedur pewarnaan neisser.

1. Menggenangi sediaan bakteri dengan Neisser AB selama 1 menit.
Lalu buang genangan.
2. Menggenangi sediaan bakteri dengan Neisser C selama 30 detik lalu buang genangan.
3. Mengeringkan sediaan dengan kertas saring.

4. Melihat sediaan dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x dengan bantuan minyak emersi.

4.7.2.5 Uji Biokimia

Uji biokimia akan dilakukan menggunakan alat *Vitek 2 compact* yang merupakan alat pemeriksaan mikrobiologik otomatis tertentu untuk identifikasi bakteri dan uji kepekaan antibiotik.

Prosedur uji biokimia :

1. Mengambil koloni bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dari *nutrient agar*.
2. Koloni bakteri dilarutkan ke dalam 3 mL larutan NaCl 0,45% pH 4,5
3. Homogenisasi hingga terbentuk suspensi sesuai standart baku McFarland 0,5-0,63 yang diukur dengan *Vitek 2 compact*.
4. Gram positif card dimasukkan dalam tabung suspensi dan letakkan dalam *cassete*, masukkan ke *Vitek 2 compact*.
5. Hasil identifikasi akan didapatkan setelah inkubasi 2-8 jam.

4.7.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dilakukan untuk perbanyak stok dengan cara:

1. Dipersiapkan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* yang telah diuji identifikasi.
2. Mengambil beberapa koloni bakteri dari kultur bakteri di medium agar, kemudian diinokulasikan ke *nutrient broth agar* dan diinkubasi selama 24-48 jam.

- Melakukan pengukuran absorbansi larutan standard McFarland 0,5 diukur Optical Density (OD) = 0,1 dengan spektrofotometer pada gelombang 625 nm. Berdasarkan pengukuran, nilai absorbansi larutan standard McFarland 0,5 setara dengan jumlah bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Tortora *et al.*, 2007).
- Dari hasil yang diperoleh dibuat suspensi bakter yang mengandung 1×10^8 CFU/ml dengan dilakukan pengenceran dengan rumus $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$ (Tortora *et al.*, 2007).

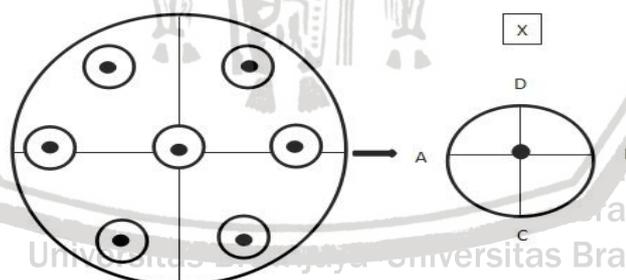
4.7.4 Uji Sensitivitas Antimikroba

Dalam menguji sensitivitas antimikroba ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* digunakan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Untuk konsentrasi 0% menggunakan aquades. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) menggunakan metode difusi sumuran adalah sebagai berikut.

- Alat dan bahan disiapkan. Cawan petri sebanyak lima buah untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah yang akan dimasukkan.
- Suspensi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* 10^8 CFU/ml dicampurkan dengan Blood agar sebanyak 15 ml dalam cawan petri.
- Cawan petri digoyang-goyangkan sehingga campuran tercampur dengan baik, lalu diamkan beberapa saat hingga mengeras.

4. Lubang sumuran dibuat pada ketujuh sisi campuran *Blood* agar dan suspensi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* 10^8 CFU/ml yang telah di bagi sebelumnya, dengan menggunakan pelubang sumuran
5. Pada lubang sumuran pertama berisi 30 μ l akuades, lubang sumuran kedua sampai ke tujuh berisi 30 μ l larutan ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.
6. Cawan petri dimasukkan ke dalam incubator selama 18-24 jam dengan suhu 37°C.
7. Mengukur diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).

7.7.4 Pengamatan dan Pengukuran



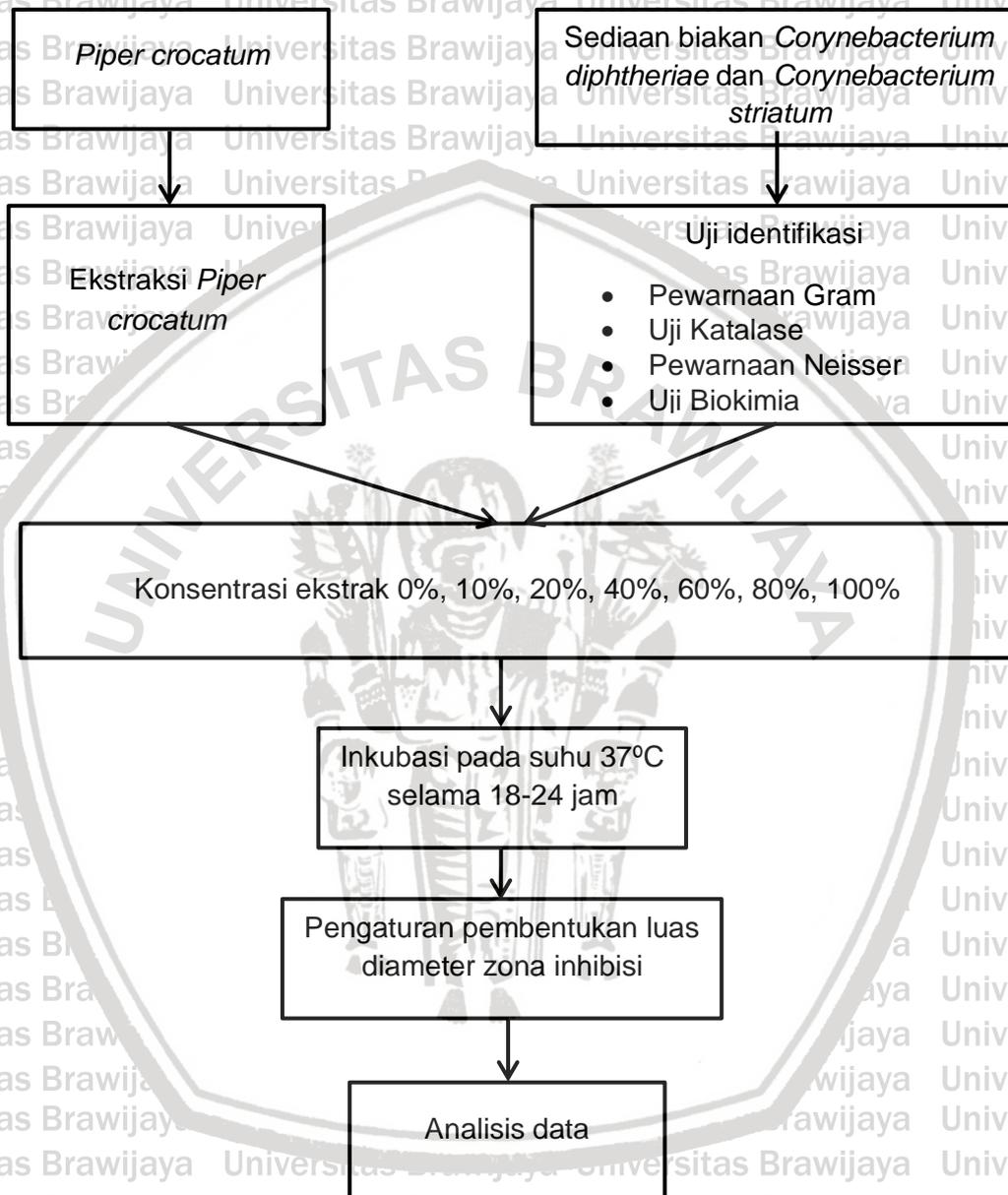
$$X = (A+B+C+D)/4$$

X = Diameter zona inhibisi

Zona inhibisi yang dihasilkan mempunyai bentuk lingkaran dan diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 satuan milimeter (mm).

Pengukuran diameter zona inhibisi dilakukan sebanyak 4 kali (arah vertikal,

horizontal dan dua arah diagonal) dan dihitung rata-ratanya. Diameter diukur dari batas terluar dari zona inhibisi dari satu sisi ke sisi lainnya.



4.8 Analisis Data

Analisis data menggunakan uji statistik *One way Anova*, pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha < 0,05$). Uji Anova satu arah ini digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai macam konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap

jumlah koloni bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*. Sedangkan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak daun sirih merah dengan penurunan jumlah koloni bakteri digunakan uji korelasi dengan taraf kepercayaan 95%.



BAB 5

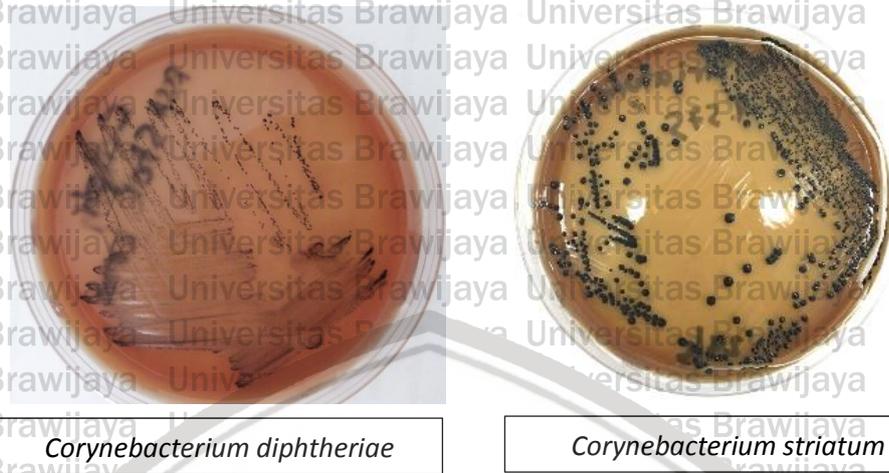
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*

Penelitian ini menggunakan sampel bakteri dari stok kultur yang tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sampel bakteri diidentifikasi kembali untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*. Beberapa tes reidentifikasi yang dilakukan antara lain dengan pewarnaan Gram, pewarnaan Neisser, uji katalase dan *vitek 2 compact*.

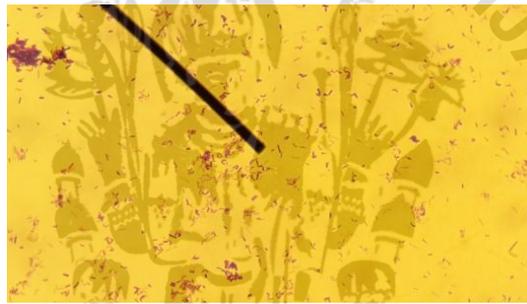
Identifikasi *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dilakukan dengan cara ditanam di media CTBA (*Cystine Tellurite Blood Agar*) lalu dilakukan pengecatan Gram, pewarnaan Neisser, dan uji katalase. Setelah ditanam pada media CTBA, dilakukan inkubasi selama 24 jam. Lalu dilakukan pewarnaan Gram dan didapatkan bakteri basil warna keunguan yang berarti bakteri ini adalah Gram positif.



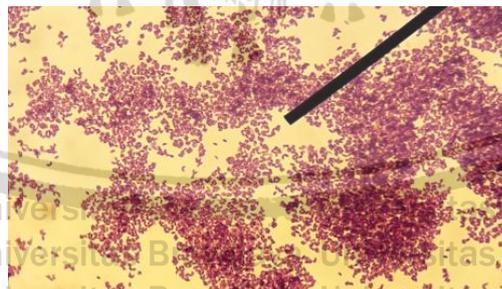
Corynebacterium diphtheriae

Corynebacterium striatum

Gambar 5.1 Hasil koloni *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* di media CTBA



Gambar 5.2 Hasil Pewarnaan Gram dari *Corynebacterium diphtheriae*. Gambar ini menunjukkan bakteri batang berwarna ungu pada pengamatan menggunakan mikroskop.



Gambar 5.3 Hasil Pewarnaan Gram dari *Corynebacterium striatum*. Gambar ini menunjukkan bakteri batang berwarna ungu pada pengamatan menggunakan mikroskop.

Hasil dari pewarnaan Neisser dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 1000x didapatkan gambaran granula metakromasi dan membentuk sudut satu sama lain.

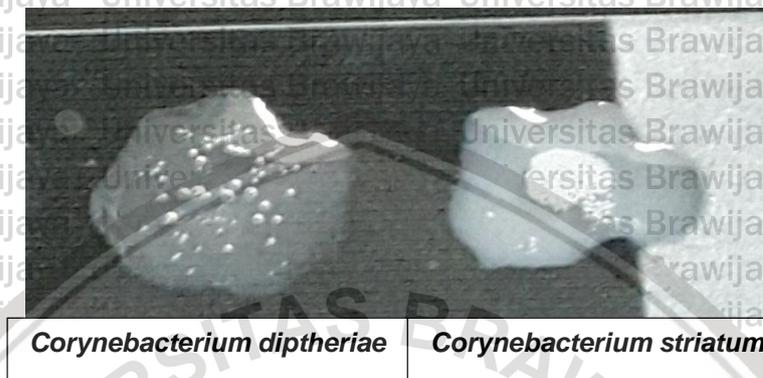


Gambar 5.4 Hasil Pewarnaan Neisser dari *Corynebacterium diphtheriae*. Gambar ini menunjukkan granula metakromasi pada pengamatan menggunakan mikroskop



Gambar 5.5 Hasil Pewarnaan Neisser dari *Corynebacterium striatum*. Gambar ini menunjukkan granula metakromasi pada pengamatan menggunakan mikroskop

Ketika dilakukan uji katalase, timbul gelembung yang merupakan reaksi perubahan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi Hidrogen dan Oksigen. Dengan demikian Hasil dari Uji Katalase ini adalah positif.



Gambar 5.6 Hasil Uji Katalase pada *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*. Gambar ini menunjukkan hasil positif yang ditandai oleh terbentuknya gelembung.

Saat dilaksanakan uji reaksi biokimia menggunakan *vitek 2 compact* didapatkan bahwa terbukti 99% bakteri yang digunakan adalah *Corynebacterium diphtheriae* dan 95% bakteri yang digunakan adalah *Corynebacterium striatum* (Lampiran 8).

5.1.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

Setelah melakukan ekstraksi daun sirih merah menggunakan metode maserasi, didapatkan hasil ekstrak etanol daun sirih merah yang berwarna hijau sangat pekat. Sertifikat determinasi daun sirih merah terdapat pada lampiran 7.



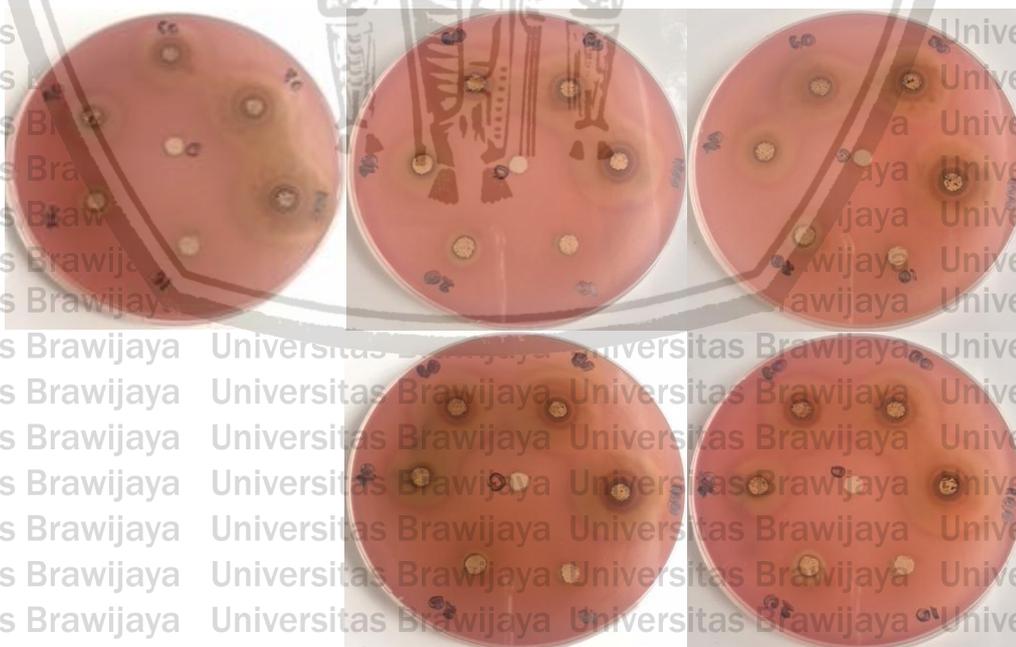
Gambar 5.7 Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*)

5.1.3 Hasil Uji sensitivitas Antimikroba

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi berbeda ekstrak etanol daun sirih merah, yaitu 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Pengamatan potensi antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dilakukan dengan uji difusi sumuran. Uji ini dilakukan dengan cara mengamati besar diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran dan diamati menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm).



Gambar 5.8 Hasil pengamatan pada uji difusi sumuran dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae*.



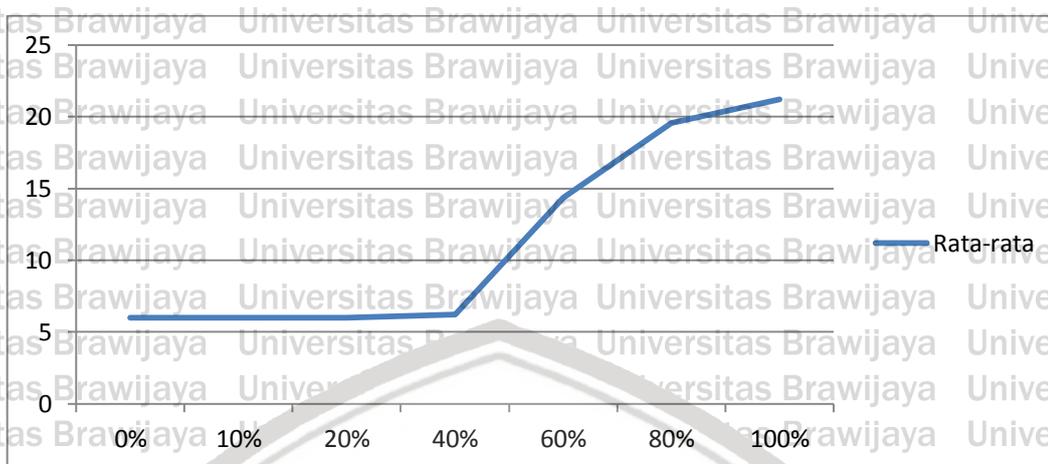
Gambar 5.9 Hasil pengamatan pada uji difusi sumuran dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah 0%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% terhadap bakteri *Corynebacterium striatum*.

Hasil pengamatan pada plate setelah diinkubasi di dalam suhu ruang selama 18-24 jam, pada bakteri *Corynebacterium diphtheriae* didapatkan bahwa zona inhibisi dapat terlihat pada konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%. Sedangkan pada *Corynebacterium striatum* zona inhibisi dapat terlihat pada konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Hal ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah maka semakin besar diameter zona inhibisi yang terbentuk. Diameter zona inhibisi pada uji difusi sumuran diukur menggunakan jangka sorong. Hasil perhitungan dari pengaruh tiap konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah terhadap diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran pada bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dapat dilihat pada, sedangkan pada bakteri *Corynebacterium striatum* dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.1 Diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dalam pemberian konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae*.

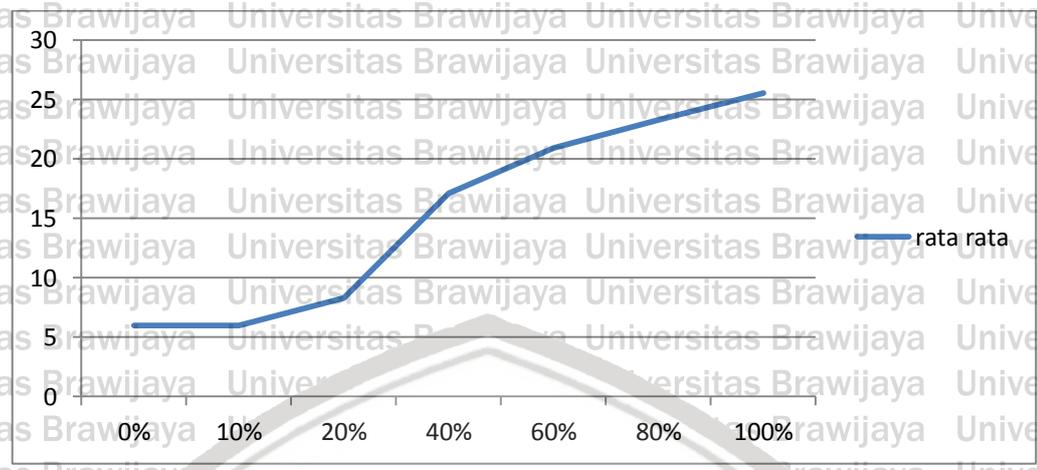
Konsentrasi	Pengulangan					Rata-rata
	I	II	III	IV	V	
0 %	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
10%	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
20%	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
40%	6,10 mm	6,35 mm	6,15 mm	6,30 mm	6,10 mm	6,2 mm
60%	15,60 mm	14,85 mm	14,40 mm	13,45 mm	13,40 mm	14,34 mm
80%	18,00 mm	19,90 mm	19,90 mm	20,40 mm	19,55 mm	19,55 mm
100%	20,00 mm	21,40 mm	21,15 mm	21,80 mm	21,70 mm	21,21 mm



Gambar 5.10 Rerata diameter Zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran setelah perlakuan berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae*.

Tabel 5.2 Diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dalam pemberian konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *Corynebacterium striatum*.

Konsentrasi	Pengulangan					Rata-rata
	I	II	III	IV	V	
0 %	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
10%	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
20%	8,55 mm	7,20 mm	8,80 mm	8,20 mm	8,70 mm	8,29 mm
40%	15,50 mm	17,00 mm	17,90 mm	17,40 mm	17,65 mm	17,09 mm
60%	20,15 mm	22,20 mm	21,15 mm	20,95 mm	20,05 mm	20,90 mm
80%	22,20 mm	23,40 mm	23,35 mm	24,45 mm	22,95 mm	23,27 mm
100%	25,50 mm	25,50 mm	25,30 mm	25,90 mm	25,40 mm	25,52 mm



Gambar 5.11 Rerata diameter Zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran setelah perlakuan berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *Corynebacterium striatum*.

5.2 Analisis data

Untuk melakukan analisis data, maka dilakukan uji normalitas menggunakan *One Sample Shapiro-Wilk test* untuk mengetahui data sampel penelitian berasal dari populasi berdistribusi normal. Hasil uji normalitas (Lampiran 2) didapatkan nilai signifikansi dari *Corynebacterium diphtheriae* 0,141 ($p > 0,05$) sedangkan untuk *Corynebacterium striatum* 0,880 ($p > 0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal (parametrik).

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (Lampiran 2) varian dengan tujuan untuk mengetahui bahwa dua kelompok atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki variasi yang sama. Berdasarkan pengujian homogenitas ragam dengan menggunakan uji levene, data diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum* pada berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah yang akan diuji mempunyai nilai signifikansi 0,698, dan 0,52 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data Diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan Diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum* pada

berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah tersebut mempunyai ragam (varians) yang homogen. Dengan demikian dapat dilakukan pengujian dengan uji

One way ANOVA dan uji korelasi pearson, karena asumsi kenormalan distribusi data telah terpenuhi.

5.2.1 Analisis data *Corynebacterium diphtheriae*

Hasil *One-way ANOVA Test* (Lampiran 3) untuk *Corynebacterium diphtheriae* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.5$) dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh secara signifikan efek perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae*. Setelah dilakukan *One-way ANOVA Test*, dilakukan uji *Post Hoc Tukey Test* untuk dapat mengetahui perbandingan dua sampel (antara kelompok konsentrasi). Hasil uji *Post Hoc Tukey Test* (Lampiran 4) didapatkan perbedaan signifikan pada semua sampel ($p < 0.05$) kecuali hubungan antara konsentrasi 0%, 10%, 20% dan 40% yang memiliki nilai signifikansi 1,000 dan 0,998 ($p > 0.05$) berarti tidak berbeda signifikan.

Tabel 5.3 Hasil uji *Post Hoc Tukey Test* bakteri *Corynebacterium diphtheriae*.

	0%	10%	20%	40%	60%	80%	100%
0%		1,000	1,000	0,998	0,000	0,000	0,000
10%	1,000		1,000	0,998	0,000	0,000	0,000
20%	1,000	1,000		0,998	0,000	0,000	0,000
40%	0,998	0,998	0,998		0,000	0,000	0,000
60%	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000
80%	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,001
100%	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	

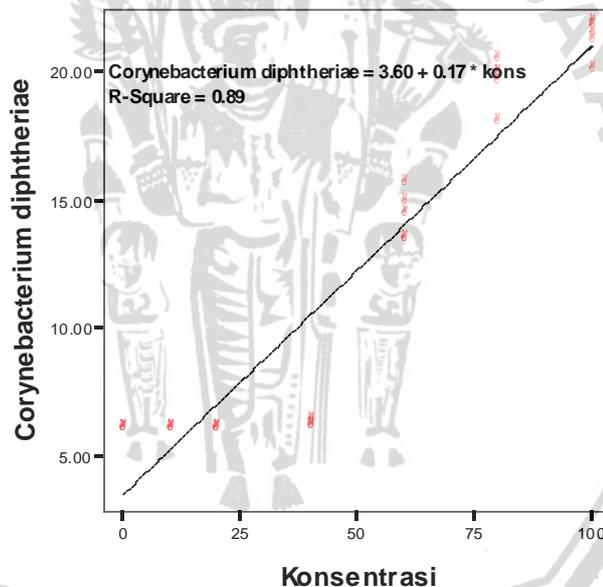
Uji korelasi *Pearson* (Lampiran 5) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak daun sirih merah dengan beberapa konsentrasi terhadap zona inhibisi yang diamati dengan mengukur diameter disekitar lubang sumuran. Hasil uji korelasi *Pearson* (Lampiran 5) antara pemberian ekstrak daun sirih merah dengan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* menunjukkan nilai koefisien sebesar 0,942 dengan nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,05$), sehingga hipotesis statistik (H_0) yang menyatakan tidak ada hubungan antara pemberian ekstrak daun sirih merah dengan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* ditolak. Dengan kata lain, hal ini menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak daun sirih merah dengan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheriae*. Pengaruh positif antara pemberian ekstrak daun sirih merah dengan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheriae*, dapat diartikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih merah, maka hal itu akan diikuti oleh peningkatan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheriae*.

Uji regresi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bagaimana besaran potensi ekstrak etanol daun sirih merah terhadap zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae*. Hasil uji regresi (Lampiran 6) didapatkan *R Square* (R^2) sebesar 88,7%, yang menyatakan besarnya pengaruh dari pemberian ekstrak daun sirih merah terhadap diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheria*. Sedangkan 11,3% keragaman diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheria* tersebut dipengaruhi oleh faktor lain selain dari pemberian ekstrak daun sirih merah. Sehingga semakin tinggi ekstrak

daun sirih merah yang dipergunakan, maka akan berpengaruh signifikan dalam meningkatkan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheriae*.

Hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah terhadap besarnya zona inhibisi dapat dinyatakan dengan rumus $Y = A + BX$. Y adalah interval zona inhibisi dan X adalah konsentrasi ekstrak daun sirih merah. Angka koefisien dari A dan B didapat didalam uji regresi A sebesar 3,597 dan B sebesar 0,179. Sehingga rumus diatas dapat dinyatakan dengan $Y = 3,597 + (0,175 X)$.

Hal ini dapat diartikan bahwa setiap peningkatan 1% konsentrasi ekstrak daun sirih merah akan meningkatkan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium diphtheria* 0,175 mm.



Gambar 5.12 Grafik korelasi bakteri *Corynebacterium diphtheriae*.

5.2.2 Analisis data *Corynebacterium striatum*

Hasil *One-way ANOVA Test* untuk *Corynebacterium striatum* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.5$) dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh secara signifikan efek perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih

merah terhadap pertumbuhan bakteri *Corynebacterium striatum*. Setelah dilakukan *One-way ANOVA Test*, dilakukan uji *Post Hoc Tukey Test* untuk dapat mengetahui perbandingan dua sampel (antara kelompok konsentrasi). Hasil uji *Post Hoc Tukey Test* didapatkan perbedaan signifikan pada semua sampel ($p < 0.05$) kecuali hubungan antara konsentrasi 0%, 10% yang memiliki nilai signifikansi 1,000 ($p > 0.05$) berarti tidak berbeda signifikan.

Tabel 5.4 Hasil uji *Post Hoc Tukey Test* bakteri *Corynebacterium striatum*.

	0%	10%	20%	40%	60%	80%	100%
0%		1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10%	1,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20%	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000
40%	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000
60%	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000
80%	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,001
100%	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	

Uji korelasi *Pearson* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak daun sirih merah dengan beberapa konsentrasi terhadap zona inhibisi yang diamati dengan mengukur diameter disekitar lubang sumuran. Hasil uji korelasi *Pearson* (Lampiran 5) antara pemberian ekstrak daun sirih merah dengan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum* menunjukkan nilai koefisien sebesar 0.971 dengan nilai p sebesar 0.000 ($p < 0.05$), sehingga hipotesis statistik (H_0) yang menyatakan tidak ada hubungan antara pemberian ekstrak daun sirih merah dengan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum* ditolak. Dengan

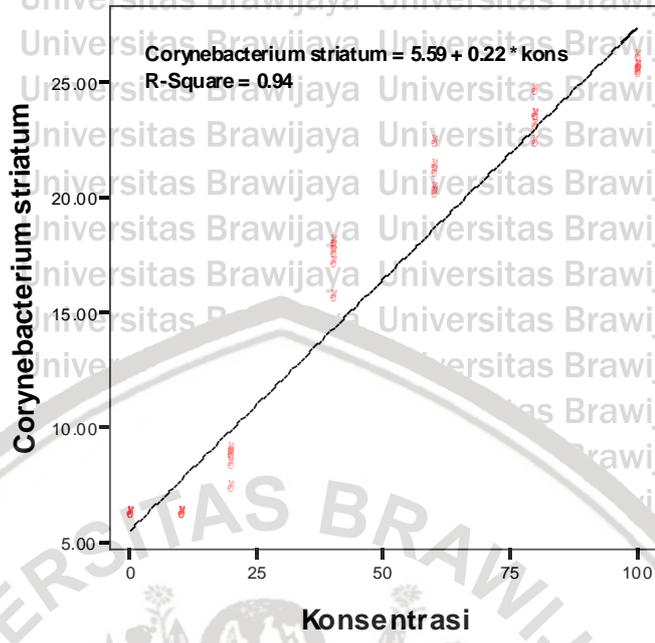
kata lain, hal ini menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak daun sirih merah dengan diameter zona inhibisi bakteri

Corynebacterium striatum. Pengaruh positif antara pemberian ekstrak daun sirih merah dengan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum*, dapat diartikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih merah, maka hal itu akan diikuti oleh peningkatan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum*.

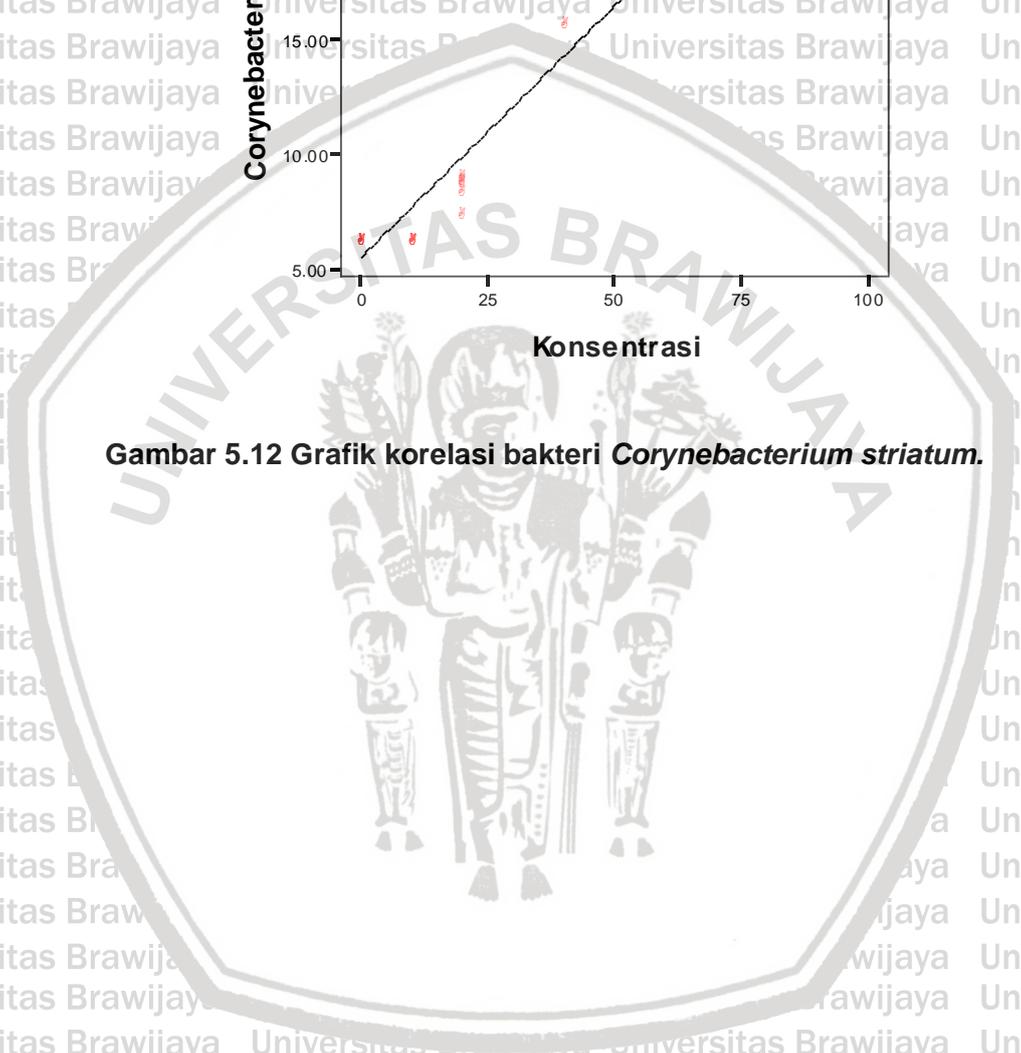
Uji regresi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bagaimana besaran potensi ekstrak etanol daun sirih merah terhadap zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Corynebacterium striatum*. Hasil uji regresi didapatkan R^2 sebesar 94,3%, yang menyatakan besarnya pengaruh dari pemberian ekstrak daun sirih merah terhadap diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum*. Sedangkan 5,7% keragaman diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum* tersebut dipengaruhi oleh faktor lain selain dari pemberian ekstrak daun sirih merah. Sehingga semakin tinggi ekstrak daun sirih merah yang dipergunakan, maka akan berpengaruh signifikan dalam meningkatkan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum*.

Hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah terhadap besarnya zona inhibisi dapat dinyatakan dengan rumus $Y = A + BX$. Y adalah interval zona inhibisi dan X adalah konsentrasi ekstrak daun sirih merah. Angka koefisien dari A dan B didapat didalam uji regresi A sebesar 5,587 dan B sebesar 0,219. Sehingga rumus diatas dapat dinyatakan dengan $Y = 5,587 + (0,219 X)$.

Hal ini dapat disimpulkan bahwa setiap peningkatan 1% konsentrasi ekstrak daun sirih merah akan meningkatkan diameter zona inhibisi bakteri *Corynebacterium striatum* 0,219 mm.



Gambar 5.12 Grafik korelasi bakteri *Corynebacterium striatum*.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan metode sumuran. Metode ini digunakan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun sirih merah yang memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dengan cara mengukur zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran.

Untuk uji identifikasi *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dilakukan pengecatan Gram, pewarnaan Neisser, dan uji katalase. Dari pengecatan Gram didapatkan hasil bakteri basil warna keunguan yang berarti *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* adalah bakteri Gram positif. Dari pewarnaan Neisser didapatkan gambaran granula metakromasi dan membentuk sudut satu sama lain. Ketika dilakukan uji katalase timbul gelembung, dengan demikian hasil dari Uji Katalase ini adalah positif.

Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa pada *Corynebacterium diphtheriae*, zona inhibisi mulai muncul pada pemberian ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 40% dan semakin meningkat hingga konsentrasi 100%. Sedangkan pada *Corynebacterium striatum*, zona inhibisi mulai muncul pada pemberian ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 20% dan semakin meningkat hingga konsentrasi 100%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa besar diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran pada bakteri

Corynebacterium diphtheriae maupun bakteri *Corynebacterium striatum* meningkat sesuai dengan pemberian jumlah konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah, semakin besar konsentrasi maka semakin besar diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran. Akan tetapi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dapat memberikan daya hambat yang lebih besar terhadap bakteri *Corynebacterium striatum* daripada *Corynebacterium diphtheriae*. Berdasarkan hasil data uji statistik dengan tingkat nilai keakuratan yang tinggi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah efektif sebagai antimikroba terhadap *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum*.

Pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterium striatum* dapat dihambat oleh ekstrak daun sirih merah dikarenakan adanya senyawa-senyawa aktif yang terdapat didalam ekstrak tersebut. Senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun sirih merah antara lain minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid sehingga dapat digunakan sebagai antimikroba (Bambang S *et al.*, 2015). Minyak atsiri dapat digunakan sebagai antimikroba karena dapat mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel, sehingga membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Alkaloid dapat menjadi senyawa antimikroba karena dapat mengganggu penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Ajizah, 2004).

Saponin dan tanin dapat menjadi antimikroba karena dapat menurunkan tegangan tegangan permukaan sehingga permeabilitas atau kebocoran sel meningkat sehingga senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995; Ajizah, 2004). Flavonoid memiliki peran dalam penghambatan sintesis asam nukleat dan

gangguan sintesis DNA dan RNA bakteri yang mengakibatkan kerusakan pada dinding sel bakteri (Cushnie dan Lamb, 2005).

Penelitian mengenai potensi antimikroba senyawa alam terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae* pernah dilakukan sebelumnya oleh Liem Claudia Immanuel (2013), yaitu dengan menggunakan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*). Penelitian ini menggunakan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50% dengan rata-rata zona inhibisi yang terbentuk adalah 8,93 mm, 8,98 mm, 9,36 mm, dan 10,45 mm (Immanuel L. C., 2013). Hasil ini jika dibandingkan dengan ekstrak daun sirih merah memiliki kesamaan yaitu terjadi peningkatan potensi antimikroba sesuai dengan peningkatan kadar konsentrasi.

Pada tahun 1982, penelitian antimikroba terhadap *Corynebacterium striatum* pernah dilakukan oleh James M. Jay (1982). Penelitian ini menggunakan bahan *diacetyl* (2,3 *butanedione*, *biacetyl*) yaitu senyawa yang digunakan untuk pembuatan mentega. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa *diacetyl* (2,3 *butanedione*, *biacetyl*) tidak dapat menghambat pertumbuhan dari *Corynebacterium striatum* (Jay J. M., 1982). Penelitian tentang antimikroba senyawa alam lainnya terhadap *Corynebacterium striatum* juga pernah dilakukan oleh Muhammad galang 2017 menggunakan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*). Pada penelitian ini didapatkan adanya efek antimikroba terhadap bakteri *Corynebacterium striatum* (Muhammad, 2017).

Penelitian mengenai ekstrak daun sirih merah sebagai antimikroba sebelumnya juga pernah dilakukan oleh Anika Candrasari(2012). Penelitian ini melihat potensi ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, dan *Candida albicans*. Hasil dari penelitian tersebut didapatkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki daya hambat terhadap

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, dan *Candida albicans*(Candrasari Anika *et al.*, 2012). Hal ini menunjukkan ekstrak daun sirih merah tidak hanya memiliki potensi untuk bakteri Gram positif saja, namun juga dapat digunakan untuk bakteri Gram negatif sehingga bersifat antimikroba spektrum luas.

Keterbatasan penelitian ini adalah kandungan bahan-bahan aktif dalam ekstrak daun sirih merah tidak dilakukan penelitian sebelumnya dan kandungan bahan aktif apa yang memiliki potensi antibakteri paling besar dalam menghambat bakteri. Lama penyimpanan dari ekstrak juga dapat mengakibatkan perbedaan potensi antimikroba suatu ekstrak bahan alam, baik menurunkan atau meningkatkan. Selain itu, metode yang digunakan hanyalah sumuran saja yang hanya bisa meneliti potensi suatu senyawa terhadap hambatan pertumbuhan bakteri sehingga perlu dilakukan penelitian lagi untuk mengetahui dosis yang efektif untuk menghambat bakteri, dosis toksisitas dari ekstrak daun sirih merah dan efek samping yang dapat ditimbulkan. Oleh karena itu, metode lain yang dapat digunakan adalah dilusi tabung untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

- a) Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki potensi antimikroba terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterim striatum* secara *in vitro*.
- b) Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang digunakan, maka semakin besar diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah :

- a) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antimikroba terhadap bakteri lainnya.
- b) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan ekstraksi salah satu zat aktif dari daun sirih merah (*Piper crocatum*) untuk dapat dijadikan penemuan antibiotik baru atau *whole extract* dari daun sirih merah (*Piper crocatum*) untuk digunakan sebagai fitofarmaka.
- c) Perlu dilakukan uji potensi lainnya pada ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterim striatum* dengan menggunakan metode

lain seperti metode dilusi tabung untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

- d) Perlu dilakukan penelitian lain baik dengan uji *In vivo* atau *In vitro* untuk dapat mengetahui dosis efektif, toksisitas, dan efek samping yang dapat disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol daun sirih merah sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan terhadap bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dan *Corynebacterim striatum*.



DAFTAR PUSTAKA

Ajizah, A. 2004. *Sensitivitas Salmonella typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. Bioscientiae*. Vol. 1, No. 1 : 31-8.

Bambang S, Musthofa L, dan Umi K. 2015. *Karakterisasi ekstrak daun sirih merah (Piper crocatum) dengan Metode ekstraksi non thermal berbantuan ultrasonik (Kajian perbandingan jenis pelarut dan lama ekstraksi)*. Jurnal Bioproses Komoditas Tropis Vol. 3 No. 1. Universitas Brawijaya Malang.

Berger, A., Hogardt, M, Konrad, R. and Sing, A. 2014. *Detection methods for laboratory diagnosis of diphtheriae. Corynebacterium diphtheriae dan related toxigenic spesies*.

Bernard, K. 2012. *The Genus Corynebacterium and Other Medically Relevant Coryneform-Like Bacteria*. Journal of Clinical Microbiology. 50 (10): 3152–3158.

Brooks GF, Carroll KC, Butel J, Morse SA, Mietzner T. 2013. *Medical Microbiology. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 653-669.

Candrasari A., Romas M. A., Hasbi M., Astuti O. R. 2012. *Uji daya antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav.) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus ATCC 6538, Eschericia coli ATCC 11229 dan Candida albicans ATCC 10231 secara in vitro*. Biomedika, Volume 4 Nomor 1, Februari 2012.

Cerdeño-Tárraga A. M., A. Efstratiou, L. G. Dover, M. T. G. Holden, M. Pallen, S. D. Bentley, et al. 2003. *The complete genome sequence and analysis of Corynebacterium diphtheriae NCTC13129*. Nucleic Acids Research, Volume 31, Issue 22, Pages 6516–6523, <https://doi.org/10.1093/nar/gkg874>, diakses pada tanggal 7 Agustus 2015.

Cowan, M.M. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents, Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 12, No. 4 : 564–82.

Cushnie, T. P. & Lamb, A. J. 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids, International Journal of Antimicrobial Agents*. 26, 343–356.

Dewi P. S., Anisa I. N. 2014. *Pengaruh pemberian ekstrak etanol sirih merah terhadap kadar glukosa darah pada tikus wistar jantan model hiperkolesterolemia*.

Díez-Aguilar M, Ruiz-Garbajosa P, Fernández-Olmos A, P Guisado, R. Del Campo, C. Quereda, et al. 2013. *Non-diphtheriae Corynebacterium species: an emerging respiratory pathogen*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis; 32:769-72. 10.1007/s10096-012-1805-5

Fatkhusana, Ely. 2008. *Efektifitas jenis pupuk daun terhadap pertumbuhan tanaman sirih merah (Piper crocatum)*. Skripsi thesis, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Funke, G.; Von Graevenitz, A.; Clarridge Iii, J.E. & Bernard, K.A. 1997. *Clinical microbiology of coryneform bacteria*. Clin. Microbiol. Rev., 10: 125-159.

Biswal, S Mohapatra, M Deb, R Dawar, R Gaiind. 2014. *Corynebacterium striatum: An emerging nosocomial pathogen in a case of laryngeal carcinoma*. Indian Journal of Medical Microbiology. (2014) 32(3): 323-343.

Ikatan Apoteker Indonesia. 2016. *ISO Informasi Spesialite Obat Indonesia*. volume 50. Jakarta: Penerbit PT.ISFI.

Immanuel L. C, Sugiarto Puradisastra, Fanny Rahardja. 2013. *Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) Terhadap Streptococcus pneumoniae, Corynebacterium diphtheriae, Pseudomonas aeruginosa dan Klebsiella pneumoniae Secara in vitro*

Jay. James M. 1982. *Antimicrobial properties of diacetyl*. Applied and environmental microbiology, sept. 1982. p. 525-532.

Juliantina F, Dewa Ayu Citra M, Bunga Nirwani, Titis Nurmasitoh, Endrawati Tri Bowo. 2009. *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*. Jurnal kedokteran dan Kesehatan Indonesia.

Kemenkes RI. 2015. *Profil Kesehatan Indonesia tahun 2015*. Jakarta : Kemenkes RI.

Lee PP, Ferguson DA Jr, Sarubbi FA. 2005. *Corynebacterium striatum: an underappreciated community and nosocomial pathogen*. J Infect. 2005 May;50(4):338-43.

Magee J. T. J. M. Hindmarch, M. A. Hadfield and B. I. Duerdent. 1990. *A pyrolysis-mass spectrometry study of Corynebacterium spp*. J. Med. Microbiol. - Vol. 31 (1990), 137-149.

Mahon C. R. Donald C. Lehman, George Manuselis. 2015. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th Edition.

Manoi, F. 2007. *Sirih Merah Sebagai Tanaman Obat Multifungsi*. Warta Puslitbangbun vol 13 No 2.

Muhammad, G. M. 2017. *Uji Potensi Antimikroba Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum) Terhadap Bakteri Corynebacterium striatum Secara Invitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Mulyastuti Y., Siwipeni I. R., Sunarno S., Santoso S., Wasito E. B. 2017. *Short Communication: Investigation of Diphtheria in Indonesia: dtxR and tox genes analysis of Corynebacterium diphtheriae collected from outbreaks*. Volume 18, Number 2, April 2017 E-ISSN: 2085-4722 Pages: 784-787.

Renom F, M. Gomila, a, M. Garau, M. d. C. Gallegos, D. Guerrero, J. Lalucat and J. B. Soriano. 2014. *Respiratory infection by Corynebacterium striatum: epidemiological and clinical determinants*. New Microbe and New Infect 2014; 2: 106–114.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih, P., Edisi Keenam, 72, 157, 198, ITB, Bandung.

Ryan, K., and Ray., J. 2014. *Sherris Medical Microbiology* – International Edition, 6th edition.

Solimun. 2001. *Metode Penelitian Kuantitatif*. Bandung : Penerbit Alfabeta.

Sudewo, B. 2007. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.

Sunarno, Sariadji K., Wibowo H. A. 2013. *Potensi gen dtx dan dtxr sebagai marker untuk deteksi dan pemeriksaan toksigenitas Corynebacterium diphtheriae*. Bul. Penelit. Kesehat, Vol 41 No 1.

Superti SV, Martin Dde S, Caierão J, Soares F, Prochnow T, Cantarelli VV, et al. 2009. *Corynebacterium Striatum infecting a Malignant cutaneous lesion: The emergence of an opportunistic pathogen*. Rev Inst Med Trop Sau Paulo;51:115-6.

Tortora G. J., Berdell R. Funke, Christine L. Case. 2013. *Microbiology:an introduction*.