

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT SALAK
PONDOH (*Salacca zalacca*) SEBAGAI ANTIMIKROBA
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh :

Annisa Puspita Demasari

155070101111086

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Singkatan	xiii
Daftar Lampiran	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
2.1.1 Deskripsi	6
2.1.2 Taksonomi	6
2.1.3 Morfologi dan Identifikasi	7
2.1.4 Struktur Antigen dan Toksin	8
2.1.5 Biofilm Bakteri	8
2.1.6 Patogenesis	9
2.1.7 Manifestasi Klinis	9
2.1.8 Uji Diagnosis dan Laboratorium	10
2.1.9 Pengobatan	10
2.2 Salak Pondoh (<i>Salacca zalacca</i>)	11
2.2.1 Karakteristik Umum	11
2.2.2 Taksonomi	11

2.2.3 Kandungan Kimia Kulit Salak Pondoh (<i>Salacca zalacca</i>)	12
2.2.3.1 Alkaloid	12
2.2.3.2 Flavonoid	13
2.2.3.3 Tanin	13
2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dari Bahan Alam	14
2.4 Cara Kerja Antimikroba	15
2.4.1 Menghambat Sintesis Asam Nukleat	16
2.4.2 Menghambat Sintesis Protein	16
2.4.3 Menghambat Metabolisme Bakteri	16
2.4.4 Menghambat Fungsi Membran Sel	16
2.4.5 Menghambat Sintesis Dinding Sel	16
2.5 Uji Kepekaan Bakteri	17
2.5.1 Metode Difusi Tabung	17
2.5.2 Metode Dilusi Agar	17
2.5.3 Metode Difusi Cakram	18
2.5.3.1 Kirby Baeur	18
2.5.3.2 Joan-Stokes	18
BAB 3 KERANGKA KONSEP PENELITIAN	20
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	20
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	21
3.3 Hipotesis Penelitian	21
BAB 4 METODE PENELITIAN	22
4.1 Desain Penelitian	22
4.2 Sampel Penelitian	22
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	22
4.4 Estimasi Jumlah Pengulangan	23
4.5 Variabel Penelitian	23
4.5.1 Variabel Bebas	23
4.5.2 Variabel Tergantung	23
4.6 Definisi Operasional	24
4.7 Alat dan Bahan Penelitian	24
4.7.1 Alat dan Bahan untuk Kultur Bakteri	24

4.7.2 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan gram	25
4.7.3 Alat dan Bahan untuk Ekstrak Kulit Salak Pondoh	25
4.8 Operasional Penelitian	25
4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Salak Pondoh	25
4.8.2 Identifikasi Bakteri <i>Ps. aeruginosa</i>	26
4.8.2.1 Pewarnaan Gram	26
4.8.2.2 Kultur Identifikasi Bakteri	26
4.8.2.3 Uji Oksidase	27
4.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri	27
4.8.4 Uji Efektivitas Antimikroba dengan Metode Dilusi Agar	28
4.9 Analisis Data	29
4.10 Diagram Alur Penelitian	30
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	31
5.1 Identifikasi Ulang Bakteri <i>Ps. aeruginosa</i>	31
5.2 Hasil Pengamatan Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Kulit Salak Pondoh (<i>Salacca zalacca</i>)	33
a. Hasil Penelitian Pendahuluan	34
b. Hasil Penelitian Inti	35
5.3 Analisis Data	38
5.3.1 Uji <i>Kruskall Wallis</i>	38
5.3.2 Uji <i>Post Hoc Mann Whitney</i>	39
5.3.3 Uji <i>Spearman</i>	39
BAB 6 PEMBAHASAN	41
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	46
7.1 Kesimpulan	46
7.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	50

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT SALAK PONDOH (*Salacca zafacca*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

Annisa Puspita Demasari

155070101111086

Telah diuji pada :

Hari : Kamis

Tanggal : 22 November 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I

Dr. Djoko Santoso, M. Kes, DAHK

NIK 000848051

Pembimbing-I/Penguji-II

Pembimbing-II/Penguji-III,

Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&M, Sp. MK (K)

NIP 194812201980021002

dr. Sinta Murlistyanini, Sp. KK

NIP 198112102012122001

Mengetahui,

Kepala Program Studi Sarjana Kedokteran

dr. Tri Wahjui Astuti, M.Kes., Sp.P(K)

NIP 196310221996012001

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



ABSTRAK

Demasari, Annisa Puspita. 2018. **Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Salak Pondoh (*Salacca zalacca*) sebagai Antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara In Vitro**. Tugas akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso,DTM&H, Sp.MK (K) (2) dr. Sinta Murlistyarini H., SpKK.

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu bakteri gram negatif penyebab infeksi nosokomial. Namun dalam pengobatannya, bakteri ini mengalami resistensi terhadap beberapa golongan obat diantaranya sefalosporin, karbapenem, florokuinolon serta penisilin. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif antimikroba salah satunya dengan menggunakan kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*). Kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) memiliki kandungan bahan aktif flavonoid, alkaloid, dan tanin yang diketahui bermanfaat sebagai antimikroba. Kulit salak pondoh merupakan salah satu jenis yang memiliki kadar flavonoid tinggi dibanding jenis lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan metode dilusi agar untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM). Ekstrak kulit salak pondoh dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut alkohol 96%. Konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh yang digunakan adalah 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13% yang diperoleh dari eksplorasi penelitian pendahuluan. Setiap kadar konsentrasi ekstrak dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Efek antimikroba diamati secara kualitatif dengan skoring. Hasil analisis uji *Kruskall wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* ($p=0,000$). Hasil analisis Uji korelasi *Spearman* menunjukkan adanya hubungan negatif antara konsentrasi kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang sangat kuat. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit salak pondoh memiliki efek antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) sebesar 11%.

Kata kunci : *Pseudomonas aeruginosa*, kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*), antimikroba.

ABSTRACT

Demasari, Annisa Puspita. 2018. ***Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Salak Pondoh (Salacca zalacca) sebagai Antimikroba terhadap Pseudomonas aeruginosa secara In Vitro***. Tugas akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso,DTM&H, Sp.MK (K) (2) dr. Sinta Murlistyarini H., SpKK.

Pseudomonas aeruginosa is one of the gram negative bacteria that causes nosocomial infections. But in its treatment, this bacterium experiences resistance to several classes of drugs including cephalosporin, carbapenem, florokuinolone and penicillin. Therefore, one of the antimicrobial alternatives is to be used by using pondoh bark (*Salacca zalacca*). Pondoh zalacca (*Salacca zalacca*) contains active ingredients of flavonoids, alkaloids, and tannins. Pondoh bark is one type that has high flavonoids compared to other types. This study aimed to determine the antimicrobial effect of pondoh bark extract on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* colonies in vitro. This study uses a dilution method in order to determine the Minimum Inhibition Concentration (MIC). Pondoh bark extract was made by maceration method with 96% alcohol solvent. The concentrations of pondoh bark extract used were 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, and 13% obtained from the exploration of preliminary research. Each concentration of extract was repeated four times. Antimicrobial effects were observed qualitatively with scoring. The results of the analysis of the Kruskal wallis test showed a significant difference in changes in the concentration of pondoh zalacca extract to the growth of *Pseudomonas aeruginosa* colonies ($p = 0,000$). The results of the analysis of the Spearman correlation test showed a negative relationship between the concentration of pondoh zalacca skin to the very strong growth of the *Pseudomonas aeruginosa* colonies. Based on the results of the study, it can be concluded that the ethanol extract of pondoh bark peel has an antimicrobial effect on *Pseudomonas aeruginosa* with a Minimum Inhibition Concentration (MIC) of 11%.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan permasalahan baik di negara maju maupun berkembang seperti Indonesia. Infeksi nosokomial atau *Health-care Associated Infections* (HAIs) merupakan salah satu penyakit infeksi yang sering terjadi. Infeksi nosokomial adalah infeksi yang didapatkan oleh pasien dari tempat pelayanan kesehatan dimana tidak ditemukan infeksi atau inkubasi saat pasien masuk. Menurut Departemen Kesehatan, Infeksi nosokomial di Indonesia merupakan salah satu penyebab utama dari kematian dan kesakitan di rumah sakit (Depkes, 2007; WHO, 2002). Hasil survey yang dilakukan di beberapa rumah sakit di DKI Jakarta angka infeksi nosokomial untuk ILO 18,9%, ISK 15,1%, IADP 26,4%, Pneumonia 24,5%, infeksi saluran napas lain 32, 1%, serta infeksi lain 32,1% (Molina, 2012). Berdasarkan data dari RSUD Dr. Iskak Tulungagung pada tahun 2013, angka kematian 48 jam setelah dirawat sebesar 46,64% dan data pencapaian pelayanan rawat inap juga didapatkan penyebab kematian terbanyak karena *septicaemia unspecified*, yang diwaspadai merupakan infeksi nosokomial (Lelonowati et al, 2015). Banyak faktor yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial misalnya penurunan system imun pasien, tindakan invasive membuat adanya kemungkinan jalan masuk infeksi, dan resistensi dari obat yang dipergunakan (Depkes, 2007; WHO, 2002).

Infeksi nosokomial dapat pula disebabkan karena adanya bakteri patogen. Salah satu dari bakteri patogen tersebut adalah *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. aeruginosa*). Setidaknya 8% dari infeksi nosokomial disebabkan

oleh *Ps. aeruginosa*. Kasus nosokomial *Ps. aeruginosa* di Amerika setiap tahunnya lebih dari 51.000 kasus dan 6000 (13%) diantaranya disebabkan karena *multi drug-resistant (MDR) Ps. aeruginosa* (CDC, 2013). Bakteri *Ps. aeruginosa* tersebar luas di alam, bersifat saprofit dan dalam jumlah kecil biasa ditemukan sebagai flora normal pada saluran cerna dan kulit manusia. Namun, apabila ketahanan tubuh sedang menurun, bakteri ini dapat berkembang menjadi patologis oleh karena itu bakteri *Ps. aeruginosa* seringkali disebut sebagai bakteri yang bersifat oportunistik (Dzen *et al*, 2010). Bentuk manifestasi klinis yang ditimbulkan akibat *Ps. aeruginosa* diantaranya adalah infeksi pada luka dan luka bakar menimbulkan pus, meningitis, infeksi saluran kemih, infeksi saluran nafas, dan *cystic fibrosis*. (Sudoyo *et al*, 2007)

Penanganan dari infeksi nosokomial biasanya menggunakan antibiotik. Antibiotik yang biasa digunakan untuk menangani infeksi akibat *Ps. aeruginosa* adalah golongan penisilin, sefalosporin, aminoglikosida, dan fluorokuinolon. *European Epic Study* menyatakan bahwa *Ps.aeruginosa* sudah mengalami resistensi pada beberapa antibiotic tersebut hingga kemudian disebut *Multi Drug-resistant (MDR) Ps. aeruginosa* (Lanmand *et al*, 2007). Beberapa antibiotik yang kini sudah mengalami resistensi adalah sefalosporin, karbapenem, florokuinolon serta penisilin (Kalavani, *et al*, 2014). *MDR Ps. aeruginosa* ini salah satu ancaman resistensi antibiotik yang signifikan, dapat bertambah buruk apabila tidak diawasi dengan baik (CDC, 2013).

Salah satu pengelolaan untuk kejadian resistensi antibiotik adalah dengan mengembangkan pengobatan alternatif. Akhir – akhir ini kebanyakan peneliti mengambil bahan untuk membuat obat baru dari bahan alami karena aman dan efektif. Selain itu, masyarakat juga telah banyak menggunakan pengobatan

alternatif yang menggunakan bahan-bahan alami karena mengangkap bahan alami memiliki efek samping yang lebih sedikit.

Indonesia memiliki sumber daya hayati yang sangat melimpah, dimana dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Tanaman salak pondoh (*Salacca zalacca*) merupakan salah satunya. Sejauh ini masyarakat hanya memanfaatkan daging pada buah salak, sedangkan kulitnya hanya menjadi limbah yang tidak dimanfaatkan, padahal kulit salak mengandung nilai gizi berupa kadar protein, karbohidrat, kadar air serta lemak. Hasil uji fotokimia ekstrak kulit salak mengandung senyawa aktif diantaranya flavanoid, tanin dan alkaloid (Sahputra, 2008). Senyawa – senyawa ini memiliki sifat antibakteri, antidiabetes dan dapat digunakan untuk obat diare (Kanon *et al*, 2008; Farida, 2009). Kadar flavonoid kulit salak pondoh diketahui lebih tinggi dibanding jenis lain seperti cicilin, condet dan manonjaya (Rohaeti *et al*, 2017). Sebelumnya telah dilakukan penelitian terhadap efek dari kulit salak pondoh dalam menghambat enzim α -glukosidase yang diharapkan dapat menjadi antidiabetes (Sahputra, 2008; Rohaeti *et al*, 2017). Efek antimikroba dari ekstrak kulit salak pondoh sudah pernah diteliti sebelumnya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan didapatkan hasil memiliki efek antibakteri sedang mulai konsentrasi 25. (Rahmah, 2016).

Berdasarkan beberapa informasi diatas, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan dan lebih terfokus untuk mengetahui apakah ekstrak etanol pada kulit salak pondoh memiliki efek antibakteri terhadap *Ps. aeruginosa*. Sehingga nantinya dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri *Ps. aeruginosa*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) memiliki efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Ps. aeruginosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) sebagai antimikroba terhadap *Ps. aeruginosa*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap *Ps. aeruginosa*.
- 2) Mengetahui hubungan konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan *Ps. aeruginosa*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

- 1) Memberikan informasi yang dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba ekstrak kulit salak pondoh
- 2) Mengembangkan ilmu pengetahuan dalam hal bahan alam yang dapat menjadi alternatif sebagai antimikroba

1.4.2 Manfaat Klinis

- 1) Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh pengobatan alternatif dengan menggunakan bahan alam di sekitar.
- 2) Menjadi salah satu solusi dari resistensi yang terjadi pada berbagai antibiotik beredar di masyarakat.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.1 Deskripsi

Ps. aeruginosa adalah salah satu mikroorganisme utama penyebab dari infeksi nosokomial. Bakteri ini bersifat invasif dan toksigenik, serta dapat menimbulkan infeksi pada manusia dengan pertahanan tubuh yang abnormal.

Ps. aeruginosa tersebar luas di alam, bersifat saprofit dan terkadang muncul sebagai normal flora pada jumlah yang sedikit pada bagian intestinal dan kulit pada manusia namun dapat menjadi patogen apabila lapisan mukus atau kulit mengalami disrupsi. Spesies lain dari *Ps.* dapat juga menyebabkan penyakit namun sangat jarang terjadi (Carroll et al, 2015). *Ps. Aeruginosa* seringkali mengalami resistensi pada berbagai jenis anitimikrobia (Strateva et al, 2009)

2.1.2 Taksonomi

Taksonomi dari bakteri *Ps. aeruginosa* adalah sebagai berikut (Holt et al, 1994).

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Class	: <i>Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Pseudomonales</i>
Famili	: <i>Pseudomonadaceae</i>
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

2.1.3 Morfologi dan Identifikasi

Ps. aeruginosa digolongkan sebagai bakteri gram negatif berbentuk batang, bersifat motil serta berukuran berkisar $0.6 \times 2 \mu\text{m}$. Bakteri ini muncul dalam bentuk tunggal, berpasangan atau terkadang dalam bentuk rantai yang pendek. *Ps. Aeruginosa* merupakan bakteri obligat aerob yang dapat tumbuh di berbagai macam jenis medium biakan kultur. Pada saat di kultur bakteri ini dapat membentuk berbagai tipe koloni (Carroll et al, 2015)

Ps. Aeruginosa dapat dibiakkan pada media *Mueller Hinton*, pada media ini *Ps. Aeruginosa* dapat memproduksi pigmen warna kebiruan *pyocyanin* dan pigmen kehijauan *pyoverdin*. Beberapa strain dapat menampakkan hemolisis pada media kultur agar darah. *Ps. aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu $37 - 42^{\circ}\text{C}$. Apabila ingin membedakan dengan *Ps.* strain lain, dapat dilihat dengan kemunculan pigmen warna pada suhu 42°C . *Ps. aeruginosa* tidak memfermentasi glukosa serta dengan tes oksidase positif (Carroll et al, 2015).

Berbagai bentuk koloni dari *Ps. aeruginosa* mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan aktivitas biokimia, enzimatik serta pola kerentanan terhadap antimikroba. Kultur pada pasien dengan fibrosis kistik sering menunjukkan koloni *Ps. aeruginosa* yang mukoid akibat produksi alginate yang berlebihan, yaitu merupakan suatu eksopolisakarida. Eksopolisakarida ini menghasilkan matriks sehingga bakteri dapat hidup di dalam biofilm (Carroll et al, 2015).



Gambar 2.1 *Ps. aeruginosa* pada Perwarnaan Gram (Carroll et al, 2015)



Gambar 2.2 *Ps. aeruginosa* pada media Muller Hinton (Carroll et al, 2015)

2.1.4 Struktur antigen dan toksin

Ps. aeruginosa memiliki struktur dinding sel berupa lipopolisakarida (LPS) yang terdiri dari 2-keto-3-deoksi-asam oktonat (KDO) dan lipid A. Lipopolisakarida berperan dalam endotoksin bakteri (Carroll et al, 2015).

Lipopolisakarida dapat dibagi menjadi:

- Polisakarida inti yang terdapat pada semua galur
- Polisakarida rantai samping yang spesifik pada setiap galur (Dzen et al, 2010)

Ps. aeruginosa memiliki dua tipe antigen yaitu antigen O (antigen somatik) dan antigen H (antigen flagella). *Ps. aeruginosa* dapat dibedakan setiap galurnya dengan melakukan tes reaksi serologis terhadap antigen O dan produksi piosianin bakteri. Serotipe *Ps. aeruginosa* dari tes terhadap antigen O terdapat 17 serotipe (Dzen et al, 2010).

2.1.5 Biofilm bakteri

Biofilm adalah kumpulan dari bakteri yang dibungkus dalam matriks ekopolisakarida dan melekat pada permukaan yang keras atau melekat satu sama lain. Pada infeksi manusia yang persisten seperti infeksi oleh *Ps.*

aeruginosa pada penderita kistik fibrosis, biofilm dianggap memiliki peranan yang penting (Carroll *et al*, 2015).

Pada bakteri *Ps. aeruginosa* saat membentuk biofilm akan dihasilkan *alginate*. Gen – gen diaktivasi dapat mempengaruhi jalur metabolik sehingga bakteri dalam matriks terjadi perubahan metabolisme. Matriks ekopolisakarida dapat melindungi bakteri dari mekanisme imun dan sekaligus menjelaskan terjadinya berbagai resistensi terhadap antibiotik (Carroll *et al*, 2015).

2.1.6 Patogenesis

Ps. aeruginosa dapat menginvasi bagian tubuh yang mengalami gangguan pertahanan tubuh. Bakteri ini menjadi patogenik pada daerah dengan pertahanan yang lemah, misalnya terjadi kerusakan jaringan. Selain itu, bakteri ini dalam menginfeksi memiliki beberapa fase yaitu menempel dan membentuk koloni pada membrane mukosa kulit, menginvasi secara lokal dan mengakibatkan infeksi sistemik (Todar, 2002) . Adhesi dilakukan oleh pili dan sifat patogenitasnya yaitu dengan eksotoksin dan endotoksin yang dimiliki (Carroll *et al*, 2015).

2.1.7 Manifestasi Klinis

Ps. aeruginosa hampir dapat menginfeksi semua bagian tubuh. Bakteri masuk melalui lesi lokal yang kemudian masuk melalui pembuluh darah yang mengakibatkan septisemia serta menyebar ke jaringan tubuh yang lain (Dzen *et al*, 2010).

Bentuk manifestasi yang ditimbulkan oleh infeksi *Ps. aeruginosa* diantaranya sebagai berikut (Carroll *et al*, 2015)

- Infeksi pada luka bakar menyebabkan pus dengan warna hijau kebiruan.
- Meningitis pasca tindakan lumbal pungsi

- Infeksi saluran kemih pada pasien dengan pemasangan kateter.
- Infeksi saluran nafas pada pasien dengan respirator.
- Infeksi pada daerah mata
- Sepsis pada penderita luka bakar yang luas.
- Fibrosis kistik , terjadi sumbatan jalan nafas karena produksi secret yang pekat dan tebal.

2.1.8 Uji Diagnostik dan Laboratorium

Spesimen diambil dari lesi kulit, pus, urin, cairan spinal dan darah.

Setelah dilakukan hapusan dan pewarnaan akan tampak bakteri gram negatif bentuk batang. Kultur dilakukan untuk memastikan dan membedakan dari bakteri batang gram negatif lain. *Ps. aeruginosa* akan mudah tumbuh pada medium differensial seperti Mac Conkey. *Ps. aeruginosa* mudah dibedakan karena tidak memfermentasikan laktosa.

2.1.9 Pengobatan

Ps. aeruginosa merupakan bakteri *multi drug-resistant* , namun masih terdapat beberapa antibiotik yang efektif dan digunakan dalam pengobatan, diantaranya adalah (Carroll et al, 2015; Dzen et al , 2010) sefalosporin generasi ketiga seperti sefotaksim dan sefoperazon, carbapenem, golongan aminoglikosida, golongan penisilin semisintesis anti Pseudomonas, sulfamilon.

Apabila terjadi infeksi yang berat maka diberikan obat kombinasi, dikarenakan obat tunggal lebih memicu terjadinya resistensi dan tingkat keberhasilannya rendah. Kombinasi yang biasa diberikan adalah golongan penisilin (piperasilin atau tikarsilin) dengan golongan aminoglikosida (tobramisin).

Sebagai penunjang untuk pemilihan terapi dapat dilakukan tes sensitivitas terlebih dahulu. (Carroll et al, 2015; Dzen et al, 2010).

2.2 Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)

2.2.1 Karakteristik Umum

Tanaman salak pondoh adalah golongan pohon palem rendah (Suica-Bunghez et al, 2016). Tanaman salak Pondoh memiliki tinggi pada umumnya tidak lebih dari 4,5 meter, dengan batang pendek dan hampir tidak kelihatan karena ruas-ruasnya yang padat juga pelepah daun yang tersusun rapat (Nazaruddin et al, 1990). Akar tanaman salak berjenis serabut, menjalar datar di bawah tanah dengan daerah perakaran tidak luas serta dangkal. Daun tersusun roset, bersipir terputus, panjang 2,5 – 7 m. Batang, pangkal pelepah, tepi daun dan permukaan buahnya dilapisi duri tempel (Santoso, 1990).

Bunga jantan terdiri dari stamen tanpa putik, banyak, rapat, panjang, tersusun seperti genteng, simetri radial. Bunga jantan mempunyai mahkota dan mata tunas bunga kecil-kecil yang rapat sedangkan Bunga betina hanya menghasilkan putik, berbentuk agak bulat. Mempunyai mahkota dan mata tunas dengan satu putik dan bakal biji yang tersusun dalam kuntum (Suskendriyati et al, 2000). Buah salak bentuknya menyerupai telur dan kulit buahnya yang matang berwarna coklat serta bersisik seperti kulit ular. Buah berwarna putih serta berbau campuran khas antara buah nanas, pir serta pisang dengan berat mencapai 70 g pada saat matang (Suica-Bunghez et al, 2016).

2.2.2 Taksonomi Tanaman Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)

Tanaman salak dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Steenis, 1975; Tjitrosoepomo, 1988):

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae
 Kelas : Monocotyledoneae
 Ordo : Principes
 Familia : Palmae
 Genus : *Salacca*
 Spesies : *Salacca zalacca*
 Sinonim : *Salacca edulis* Reinw.



Gambar 2.3 Tanaman Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)
 (Rizkia et al, 2014)



Gambar 2.4 Buah Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)
 (Gari, 2005)

2.2.3 Kandungan Kimia Kulit Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)

Buah dan kulit salak memiliki kandungan kimia diantaranya adalah alkaloid, flavonoid dan tanin setelah diuji secara fitokimia (Syahputra, 2008). Senyawa alkaloid serta flavonoid memiliki efek sebagai antimikroba dan antiviral terhadap beberapa jenis virus (Özçelik et al, 2011). Tanin merupakan senyawa fenolik kompleks yang memiliki efek sebagai antibakteri (Nuria et al, 2009).

2.2.3.1 Alkaloid

Senyawa alkaloid adalah metabolit basa yang mengandung nitrogen dan memiliki beragam struktur kimia. Sebagian besar senyawa alkaloid dibentuk

dari asam amino (Herbert, 1988). Banyak senyawa alkaloid yang khas dari suatu tumbuhan tertentu (Mohamed *et al*, 1994).

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel (peptidoglikan) bakteri yang akan membuat dinding sel tidak utuh dan kemudian menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Robinson, 1995).

2.2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa polifenol yang terdiri dari 3000 struktur yang mempunyai inti flavon C-15 yang sama yaitu cincin benzena (A dan B) yang berikatan dengan oksigen (Karou, 2005). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak dinding sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cowan, 1999). Selain itu flavonoid berperan dalam inhibisi pada sintesis DNA – RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat. Flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul (Cushnine *et al*, (2005).

2.2.3.3 Tanin

Tanin adalah senyawa fenolik yang larut dalam air serta dapat mengendapkan protein dari larutan (Gunawan, 2007). Tanin menghambat pertumbuhan bakteri dan merusak dinding sel yang menyebabkan kerusakan struktur bakteri secara cepat (Sung S.H. *et al*, 2012). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi

kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari *et al*, 2011). Selain itu, mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menyebabkan toksisitas. Hal ini disebabkan oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin (Akiyama *et al*, 2001).

2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dari Bahan Alam

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dari campurannya menggunakan pelarut tertentu (Tobo, 2001). Ekstraksi bertujuan sebagai penyarian suatu komponen kimia dari bagian tanaman maupun hewan. Dalam sel tanaman, proses pengekstraksian komponen kimia adalah pelarut akan menembus dinding sel tanaman, lalu masuk ke dalam rongga sel yang mengandung komponen kimia, komponen kimia tersebut akan larut dalam pelarut di luar sel, larutan terpekat akan berdifusi dari dalam ke luar sel dan proses ini akan berlangsung terus-menerus hingga terjadi keseimbangan konsentrasi komponen kimia di luar dan di dalam sel (Adrian, 2000).

Jenis ekstraksi dari bahan alam yang sering adalah secara panas dengan cara sokletasi, refluks, infus, dan secara dingin dengan perkolasi dan maserasi (Hamdani, 2011).

Metode maserasi bertujuan untuk ekstraksi simplisia dengan kandungan komponen kimia yang mudah larut dalam cairan pelarut. Keuntungan metode maserasi adalah cara dan peralatan pengerjaan yang digunakan sederhana dan

mudah (Adrian, 2000). Kerugian metode maserasi adalah waktu yang digunakan cukup lama, dan bahan pelarut yang digunakan lebih banyak (Luthana, 2013).

Pelarut untuk ekstraksi terdiri dari, pelarut non polar, seperti diklorometan, benzena, dan kloroform. Pelarut semipolar seperti aseton, dan etil asetat. Pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol (Ansel, 2008).

Etanol adalah cairan yang tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar, dan merupakan jenis alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol sering digunakan sebagai pelarut pada banyak bahan kimia (Lifton, 2012).

2.4 Cara Kerja Antimikroba

Antimikroba yang baik memiliki toksisitas yang selektif, obat tersebut berarti berbahaya untuk patogen tanpa berbahaya untuk pejamu. Namun sering kali, toksisitas yang selektif pada antimikroba cenderung bersifat relatif daripada absolut, suatu obat memiliki konsentrasi tertentu yang selektif, yaitu dapat merusak patogen penyebab penyakit namun ditoleransi oleh pejamu (Brocks et al, 2004).

Dilihat dari mekanisme kerja, antimikroba dapat dibagi menjadi lima kelompok: (a) yang menghambat sintesis atau merusak asam nukleat bakteri; (b) yang menghambat sintesis protein bakteri; (c) yang menghambat metabolisme sel bakteri; (d) yang menghambat fungsi membran sel bakteri; (e) yang menghambat sintesis dinding sel bakteri (Setiabudy, 2007).

2.4.1 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Antimikroba jenis ini bekerja menghambat proses transkripsi pada sintesis mRNA atau menghambat replikasi DNA pada pembelahan sel (Dzen et

al, 2010). Rifampicin bisa terhubung dengan enzyme RNA-polymerase sehingga dapat menghambat sintesis DNA dan RNA (Cowan, 1999).

2.4.2 Menghambat Sintesis Protein

Antimikroba jenis ini bekerja melalui ikatan dengan ribosom 30S atau 50S (Jawetz *et al*, 2012). Streptomisin berikatan dengan ribosom 30S, hal ini menyebabkan salah baca kode pada mRNA oleh tRNA sehingga terbentuk protein yang non-fungsional pada sel bakteri (Santoso *et al*, 2010).

2.4.3 Menghambat Metabolisme Bakteri

Untuk dapat melangsungkan hidup, bakteri membutuhkan asam folat. Bakteri harus mensintesa asam folat sendiri dari asam para amino benzoat (PABA) (Setiabudy, 2007). Sulfonamid berkompetisi dengan PABA sehingga menghasilkan asam folat yang non-fungsional untuk sel bakteri (Cowman, 1999).

2.4.4 Menghambat Fungsi Membran Sel

Sitoplasma sel dibatasi oleh membran sel, yang berperan menjadi barrier untuk mengatur komposisi internal sel melalui permeabilitas selektif dan fungsi transpor aktif. Integritas membran sel yang rusak akan menyebabkan molekul dan ion keluar dari sel, yang kemudian menyebabkan kematian sel (Jawetz *et al*, 2012). Polimiksin berikatan dengan fosfat pada membran sel yang selanjutnya akan merusak struktur dari membran sel itu sendiri (Cowman, 1999).

2.4.5 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Dinding sel adalah lapisan luar bakteri yang rigid, sehingga menjadi pelindung bagi sel bakteri. Kerusakan pada dinding sel, dapat berupa pembentukannya yang terhambat, ataupun karena trauma, dapat menyebabkan lisisnya sel bakteri tersebut (Jawetz *et al*, 2012). Antimikroba jenis β -lactamase

(sepalosporin dan penisilin) mempunyai mekanisme yang mengganggu dinding sel bakteri (Cowman, 1999).

2.5 Uji Kepekaan Antibakteri

2.5.1 Metode Dilusi Tabung

Metode ini dilaksanakan menggunakan satu seri tabung reaksi yang kemudian diisi oleh media cair dan bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml kecuali pada kontrol negatif. Setiap tabung kemudian diisi dengan antimikroba yang sebelumnya diencerkan secara serial. Ada dua tabung kontrol, yaitu kontrol negatif yang hanya diisi oleh antimikroba, dan kontrol positif yang hanya diisi oleh bakteri. Kemudian, tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C . Setelah diinkubasi, kemudian diamati pada tabung dengan konsentrasi antimikroba terendah mana yang kekeruhannya mulai tampak jernih, adalah KHM (Kadar Hambat Minimum). Kemudian, biakan dari tabung yang jernih diinokulasi ke media agar. Media lalu diinkubasi, kemudian keesokan harinya diamati pada media agar dengan konsentrasi antimikroba terendah mana yang tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri, adalah KBM (Kadar Bunuh Minimal) (Dzen *et al*, 2010).

2.5.2 Metode Dilusi Agar

Metode ini dilakukan dengan menggunakan cawan petri yang berisi media agar yang masih cair. Pada media agar ini, kemudian diteteskan larutan antimikroba yang diencerkan secara serial kemudian ditunggu hingga memadat. Ada satu cawan yang hanya berisi bakteri saja sebagai kontrol positif (Parija, 2009). Bakteri yang diteteskan memiliki konsentrasi 10^6 CFU/spot (CLSI, 2006).

Selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Kemudian cawan diamati dan pertumbuhan bakteri dihitung (Parija, 2009).

2.5.3 Metode Difusi Cakram

Metode ini merupakan metode yang paling luas digunakan. Tes ini dikerjakan dengan menggunakan cakram kertas saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram tersebut kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri yang akan diuji. Setelah diinkubasi, diameter area hambatan dihitung sebagai daya hambat obat terhadap bakteri uji (Carroll *et al*, 2015).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekan tersebut, dapat dilakukan dua cara, yaitu dengan cara Kirby Bauer dan Joan Stokes :

2.5.3.1 Kirby Baeur

Metode ini dilakukan dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel dtandar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committe fo Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten (Santoso *et al*, 2010).

2.5.3.2 Joan-stokes

Metode ini dilakukan dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaanya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada metode ini, prosedur kepekaan untuk bakteri uji kontrol dan bakteri uji dilakukan bersamaan dalam satu piring agar (Santoso *et al*, 2010). Kriteria pada metode Joan-stokes adalah sebagai berikut :

- Sensitif : radius zona inhibisi bakteri uji lebih luas, sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3mm terhadap kontrol.

- Intermediet : radius zona inhibisi bakteri uji lebih besar dari 3mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil dari 3mm.

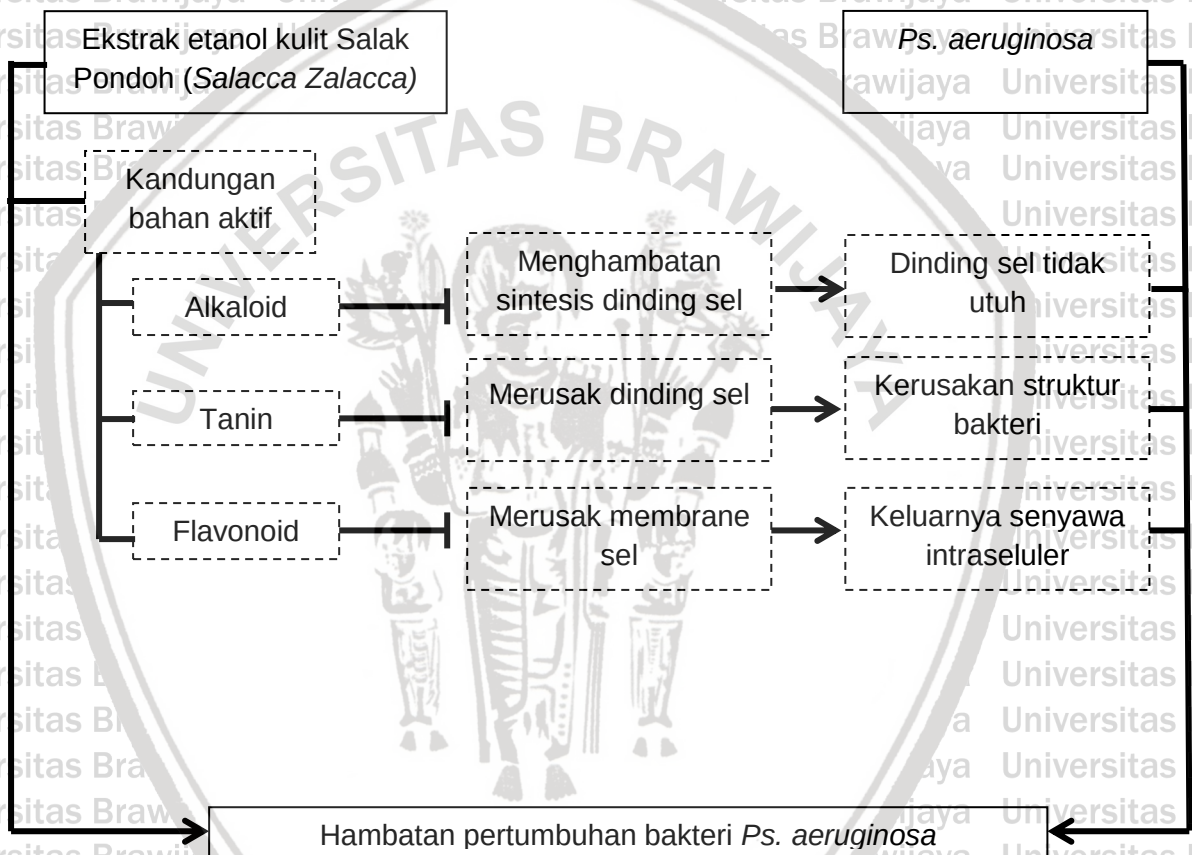
- Resisten : radius zona inhibisi bakteri uji kurang atau sama dengan 3mm (Santoso et al, 2010)



BAB 3

KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan gambar :

— : yang diteliti

- - - : yang tidak diteliti

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Kulit salak pondoh mengandung beberapa senyawa aktif yaitu alkaloid, flavonoid dan tanin. Alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel (peptidoglikan) bakteri yang akan membuat dinding sel tidak utuh dan kemudian menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati.

Flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Tanin menghambat pertumbuhan bakteri dan merusak dinding sel sitoplasma yang menyebabkan kerusakan struktur bakteri secara cepat. Senyawa aktif yang dikandung kulit salak pondoh diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Ps. aeruginosa*.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kulit salak pondoh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Ps. aeruginosa*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Desain penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian *true experimental* di Laboratorium *in vitro*. Uji antimikroba secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi agar untuk mengetahui aktivitas ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca Zalacca*) sebagai antimikroba terhadap *Ps. aeruginosa*. Proses pengekstrakan kulit salak pondoh menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Metode dilusi agar ini menggunakan pengamatan secara visual kualitatif pertumbuhan koloni bakteri pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda – beda. Besarnya konsentrasi yang digunakan, ditetapkan melalui eksperimen pendahuluan.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan ekstrak etanol kulit salak pondoh dan menggunakan bakteri uji *Ps. aeruginosa* yang diambil dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang pada bulan Mei – Agustus 2018.

4.4 Estimasi Jumlah Pengulangan

Pada penelitian ini, digunakan 7 macam dosis konsentrasi (0%; 9%, 10%, 11%, 12%; 13%) sehingga jumlah pengulangan yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus estimasi pengulangan sbb (Loekito, 1998) :

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

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

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq \frac{21}{6}$$

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

jadi besarnya pengulangan yang dilakukan adalah 4 kali

keterangan : n = jumlah pengulangan

p = jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh + kontrol) tiap pengulangan.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah beberapa konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh yaitu 0%; 9%; 10%; 11%; 12%; 13% yang diperoleh dari penelitian pendahuluan.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah jumlah koloni *Ps. aeruginosa* pada media agar padat.

4.6 Definisi Operasional

- 1) Isolat bakteri yang digunakan adalah bakteri *Ps. aeruginosa* dari *stock culture* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- 2) Kulit salak pondoh (*Salacca Zalacca*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit salak pondoh yang didapatkan dari perkebunan salak pondoh di daerah Kecamatan Pronojiwo, Kabupaten Lumajang, Jawa Timur.
- 3) Ekstrak kulit salah pondoh didapatkan dengan cara ekstraksi metode maaserasi dengan pelarut etanol 96%. Etanol dipilih karena etanol dapat menarik senyawa kima aktif yang terdapat pada kulit salak pondoh.
- 4) Efektivitas antimikroba dari ekstrak diuji dengan menggunakan metode dilusi agar. Hasil dari penelitian akan diamati dengan melihat secara visual kualitatif pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada masing – masing *plate* yang berisi campuran dari *Nutrient agar* dengan ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dalam konsentrasi yang telah ditentukan.
- 5) Pengamatan hasil penelitian melalui dilusi agar dilakukan dengan melihat secara *visual* kualitatif oleh peneliti. Pengamatan dilakukan setelah inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan untuk Kultur Bakteri

Alat yang digunakan untuk kultur bakteri adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, plate kosong steril, ose lurus, ose lengkung, Bunsen. Sedangkan bahan yang digunakan adalah Nutrien broth, medium NAP, suspensi bakteri *Ps. aeruginosa*.

4.7.2 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan Gram

Alat yang digunakan pada pewarnaan Gram adalah object glass, kertas penghisap, mikroskop, minyak imersi, ose, Bunsen, penjepit dan korek api. Sedangkan bahan yang dibutuhkan untuk pewarnaan Gram adalah Kristal violet, lugol, alcohol 96%, safranin, Mc Conkey, cotton bud, larutan *tetremethylpheylane* oksidase 1% (sebagai reagen tes oksidase), serta isolate bakteri *Ps. Aeruginosa*.

4.7.3 Alat dan bahan untuk Pembuatan Ekstrak Kulit Salak Pondoh

Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah oven, timbangan, Erlenmeyer, corong gelas, kertas saring, labu evaporator, labu penampung etanol. *Rotator evaporator*, water pump. Bahan yang digunakan untuk membuat Ekstrak adalah kulit salak pondoh, aquades dan ethanol 96%.

4.8 Operasional Penelitian

4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Salak Pondoh

Pembuatan ekstrak kulit salak pondoh dilakukan di Materia Medica Batu dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan serbuk dan pelarut 1:5. Kulit salak pondoh dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk kulit salak sebanyak 3000 gram diekstraksi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 15 liter, kemudian direndam selama 3 hari dan diaduk setiap 24 jam. Setelah didapatkan filtrate kemudian pelarut diuapkan dengan evaporator hingga diperoleh ekstrak dengan bahan aktif yang kental.

4.8.2 Identifikasi Bakteri *Ps. aeruginosa*

4.8.2.1 Pewarnaan gram

- 1) Bersihkan gelas obyek dan lewatkan ke atas Bunsen, kemudian dinginkan.
- 2) Buatlah sediaan bakteri diatas gelas obyek dengan ketebalan yang cukup dan biarkan kering pada udara terbuka kemudian fiksasi diatas Bunsen.
- 3) Tuangkan Kristal violet pada sediaan kemudian setelah 1 menit sediaan dibilas dengan air.
- 4) Tuangkan lugol pada sediaan, tunggu selama 1 menit kemudian dibilas.
- 5) Tuangkan alkohol 96%, setelah 5 -10 detik bilas sediaan dengan air.
- 6) Tuangkan pewarna safranin pada sediaan, setelah 30 detik sediaan dibilas dengan air.
- 7) Biarkan sediaan kering , kemudian dilihat menggunakan mikroskop hingga perbesaran lensa obyektif hingga 100x dengan penambahan immersion oil.

4.8.2.2 Kultur untuk identifikasi Bakteri

- 1) Identifikasi pada penelitian ini dapat dilakukan dengan melakukan *streaking* bakteri pada medium *Muller Hinton* dan *Mac Conkey*.
- 2) Setelah dilakukan *streaking*, kultur diinkubasi pada suhu 37°C – 42°C selama 18-24 jam.
- 3) Identifikasi koloni *Ps. aeruginosa* pada medium *Muller Hinton* berwarna hijau karena memproduksi pigmen pyoverdin.

- 4) Identifikasi koloni *Ps. aeruginosa* pada medium Mac Conkey akan tampak koloni *colorless* karena tidak memfermentasi laktosa.

4.8.2.3 Uji Oksidase

- 1) Ambil koloni bakteri dengan menggunakan ose.
- 2) Letakkan pada kertas saring yang diletakkan diatas objek glass lalu ditambahkan 1 tetes 1-*dimethyl para-phenil hidroklorida* 1%
- 3) Tes bernilai positif apabila pada kertas saring terjadi perubahan warna menjadi ungu dalam waktu 0.5 – 1 menit, yang berarti bahwa bakteri memiliki enzim sistokrom oksidase yang mengoksidase reagen.

4.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Setelah dipastikan bakteri yang di kultur merupakan bakteri *Ps. aeruginosa*, suspensi bakteri *Ps. aeruginosa* pada medium *nutrient broth* (NB) diukur absorbansinya dengan spektrofotometer panjang gelombang 540nm sehingga diketahui Optical density (OD) bakteri. Jumlah kuman dapat diperkirakan dari nilai absorbansi yang sudah dikalibrasi yaitu absorbansi 0,1 ekuivalen dengan jumlah kuman 1×10^8 CFU/mL. Rumus pengenceran yang digunakan adalah $N_1 V_1 = N_2 V_2$. Seingga apabila didapatkan absorbansi 0,5; untuk mendapatkan suspensi dengan jumlah kuman 10^8 sebanyak 10 ml dapat dihitung dengan :

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

$$0,5 \times V_1 = 0,1 \times 10$$

$$V_1 = 2$$

Jadi dibutuhkan 2 ml suspensi awal untuk dicampurkan dengan 8 ml *nutrient broth* sebagai pengencer untuk bisa mendapatkan suspensi dengan

kepadatan 1×10^8 CFU/mL sebanyak 10 mL. Kemudian lakukan pengenceran untuk memperoleh suspensi dengan kepadatan 1×10^6 CFU/mL dengan cara :

- 1) Ambil larutan dengan konsentrasi bakteri 1×10^8 CFU/mL, masukkan kedalam tabung berisi 9 mL NaCl sehingga kepadatan bakteri saat ini 1×10^7 CFU/mL.
- 2) Ambil larutan dengan konsentrasi bakteri 1×10^7 CFU/mL, masukkan kedalam tabung berisi 9 mL *nutrient broth* sehingga kepadatan bakteri saat ini 1×10^6 CFU/mL.

4.8.4 Uji Efektivitas Antimikroba dengan Metode Dilusi Agar

Penelitian ini menggunakan metode dilusi agar dengan melakukan pengamatan *visual* kualitatif pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* saat ditanam pada media *Nutrient agar* yang dicampur dengan ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dengan konsentrasi 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%. Tahapan yang dilakukan sebagai berikut :

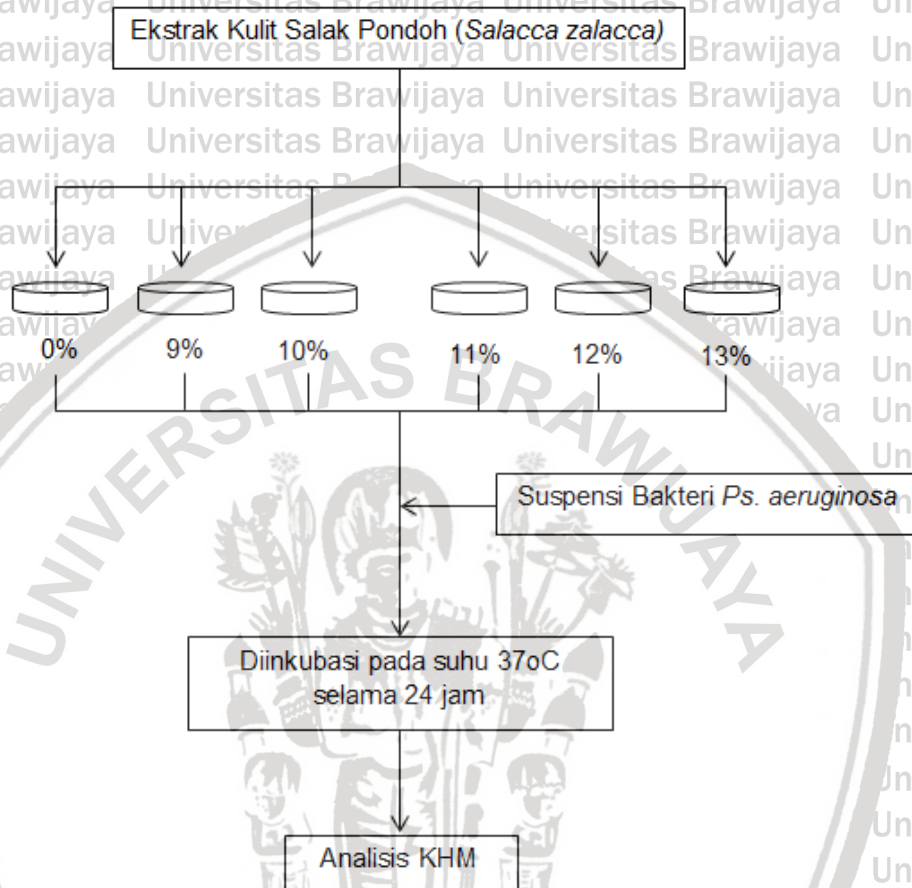
- 1) 10 mL *Nutrient Agar* diletakkan pada *plate* bertanda 0%.
- 2) 9,2 mL *Nutrient Agar* diletakkan pada *plate* bertanda 8% kemudian ditambahkan 0,8 mL ekstrak kulit salak pondoh.
- 3) 9,1 mL *Nutrient Agar* diletakkan pada *plate* bertanda 9% kemudian ditambahkan 0,9 mL ekstrak kulit salak pondoh.
- 4) 9 mL *Nutrient Agar* diletakkan pada *plate* bertanda 10% kemudian ditambahkan 1 mL ekstrak kulit salak pondoh.
- 5) 8,9 mL *Nutrient Agar* diletakkan pada *plate* bertanda 11% kemudian ditambahkan 1,1 mL ekstrak kulit salak pondoh.
- 6) 8,8 mL *Nutrient Agar* diletakkan pada *plate* bertanda 12% kemudian ditambahkan 1,2 mL ekstrak kulit salak pondoh.

- 7) 8,7 mL *Nutrient Agar* diletakkan pada *plate* bertanda 13% kemudian ditambahkan 1,3 mL ekstrak kulit salak pondoh.
- 8) Semua *plate* didiamkan hingga media mengeras dan uapnya menghilang.
- 9) *Plate* dibagi menjadi 4 bagian yang sama luas dengan menggunakan spidol.
- 10) Setiap bagian *plate* yang sudah mengering ditetesi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL sebanyak 10 μ L.
- 11) *Plate* diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam.

4.9 Analisis Data

Data yang didapatkan akan dianalisis dengan menggunakan software SPSS. Uji Statistik yang pertama adalah Kruskal Wallis untuk mengetahui adanya pengaruh dari variasi konsentrasi pemberian ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa*. Kemudian dilakukan Uji *Post Hoc Mann Whitney* digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan konsentrasi yang memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa*. Selanjutnya dilakukan Uji *Spearman* digunakan untuk mengetahui seberapa kuat korelasi konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan *Ps. aeruginosa*.

4.10 Diagram Alur Penelitian



Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian

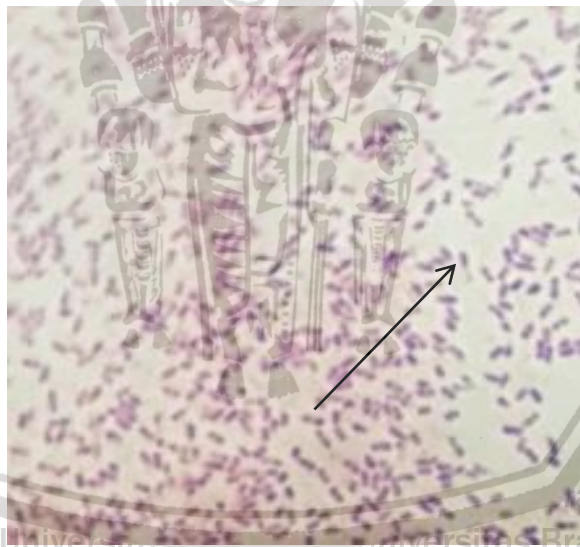
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Identifikasi ulang bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Penelitian ini dimulai dengan melakukan identifikasi ulang bakteri *Ps. aeruginosa*. Bakteri *Ps. aeruginosa* yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari isolat bakteri *Ps. aeruginosa* yang disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan benar *Ps. aeruginosa* maka dilakukan beberapa proses identifikasi ulang

Identifikasi bakteri yang pertama adalah dengan melakukan pengecatan Gram pada bakteri diduga *Ps. aeruginosa*.



Gambar 5. 1 Hasil pengecatan Gram bakteri *Ps. aeruginosa* berbentuk batang gram negatif

Setelah pengecatan Gram dilakukan didapatkan hasil identifikasi pengecatan Gram yaitu bakteri ini merupakan bakteri batang Gram Negatif. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya gambaran koloni bakteri berwarna merah

karena bakteri tersebut dilapisi oleh lipopolisakarida yang tidak menyerap pewarna krista violet.

Identifikasi yang selanjutnya adalah penanaman bakteri diduga *Ps. aeruginosa* pada medium Nutrient agar.



Gambar 5. 2 Hasil Identifikasi pada media Nutrient Agar

Setelah diinkubasi selama 24 jam, didapatkan hasil koloni yang tumbuh berwarna kehijauan. Hal tersebut menunjukkan bahwa koloni bakteri yang tumbuh memiliki pigmen pyoverdin.

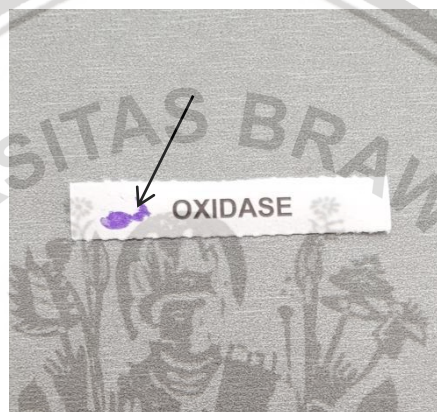
Identifikasi yang selanjutnya adalah penanaman bakteri diduga *Ps. aeruginosa* pada medium MacConkey.



Gambar 5. 3 Hasil Penanaman pada medium MacConkey

Setelah pembiakan pada medium *Nutrient Broth* kemudian bakteri di streaking pada media MacConkey. Hasil diperoleh setelah inkubasi selama 24 jam didapatkan koloni berbentuk bulat dan tidak berwarna. Hal tersebut karena bakteri *Ps. aeruginosa* tidak memfermentasi fruktosa.

Identifikasi bakteri selanjutnya adalah uji oksidase isolat bakteri diduga *Ps. aeruginosa*.



Gambar 5. 4 Hasil uji Oksidase positif bakteri *Ps. aeruginosa*

Hasil dari uji oksidase adalah strip oksidase menunjukkan hasil positif ditandai adanya perubahan warna pada strip menjadi keunguan.

5.2 Hasil Pengamatan Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Kulit

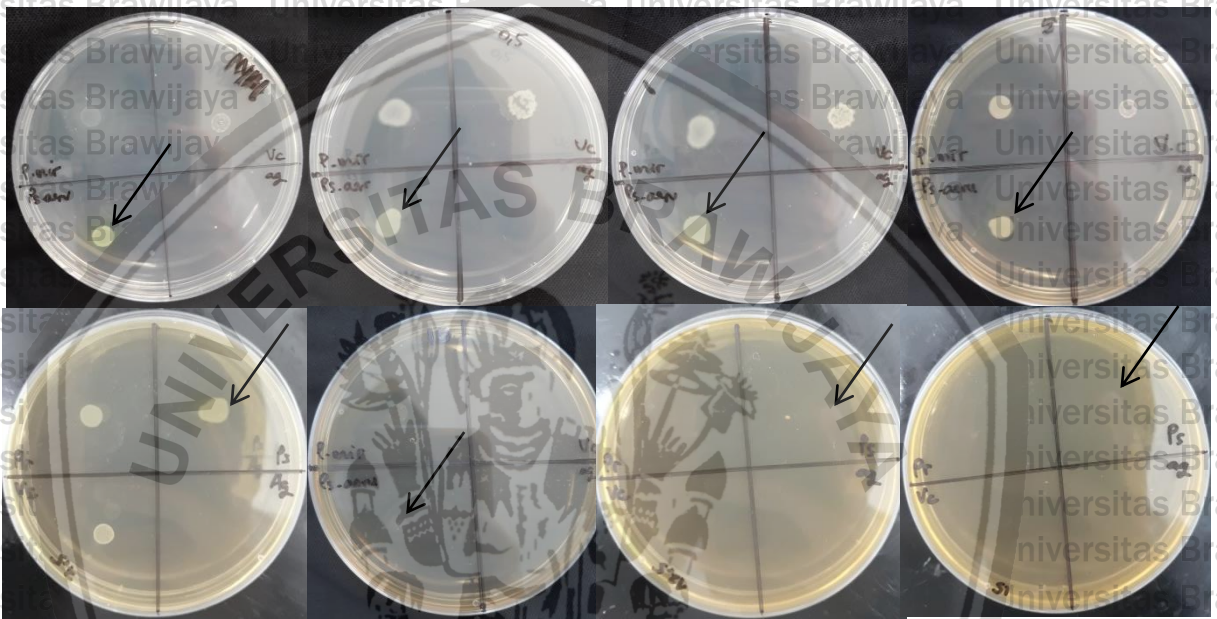
Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)

Pada penelitian ini, Kadar Hambat Minimum ekstrak etanol kulit salak Pondoh (*Salacca zalacca*) diperoleh dengan metode dilusi agar. Hasil yang didapatkan akan diamati secara kualitatif dengan sistim skoring. Konsentrasi terendah dimana tidak ditemukan adanya koloni dari *Ps. aeruginosa* ditetapkan sebagai KHM. Penelitian ini dilaksanakan dengan 2 tahapan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian inti.

a. Hasil Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondok yang akan digunakan dalam penelitian inti dilusi agar.

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian pendahuluan ini adalah 0%; 0,5%; 1%; 5%; 10%; 12,5%; 15%. Hasil penelitian dapat dilihat pada **Gambar 5.5**.



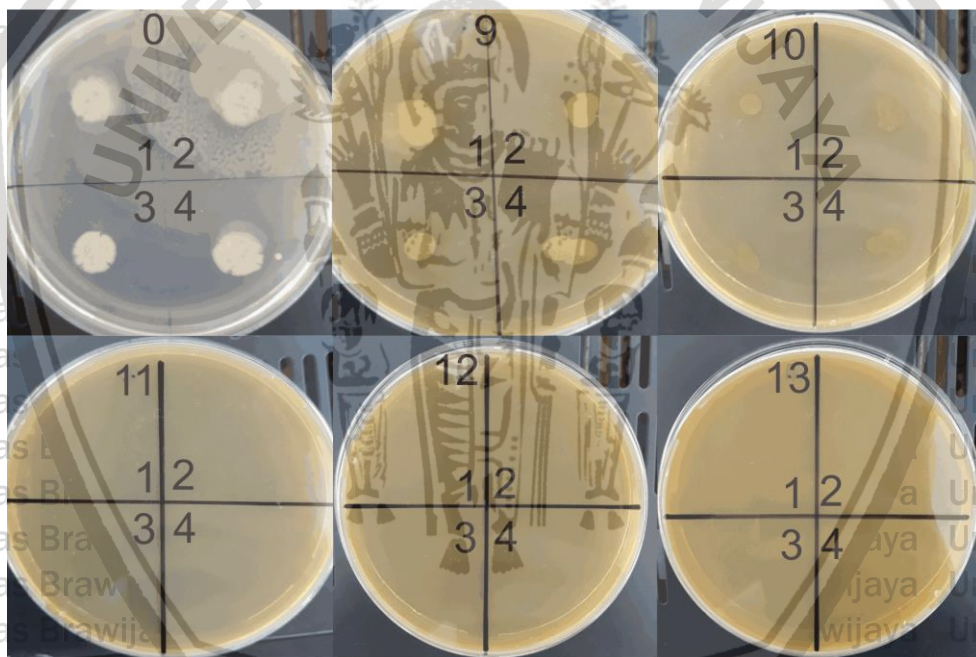
Gambar 5. 5 Hasil Penelitian Pendahuluan pada Konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%.

Keterangan gambar :

- Konsentrasi 0% : Skor +4 menunjukkan bahwa terdapat koloni bakteri yang sangat tebal dan tidak dapat dihitung.
- Konsentrasi 0,5% : Skor +4 menunjukkan bahwa terdapat koloni bakteri yang sangat tebal dan tidak dapat dihitung.
- Konsentrasi 1% : Skor +4 menunjukkan bahwa terdapat koloni bakteri yang sangat tebal dan tidak dapat dihitung.
- Konsentrasi 5% : Skor +4 menunjukkan bahwa terdapat koloni bakteri yang sangat tebal dan tidak dapat dihitung.

- Konsentrasi 7,5% : Skor +3 menunjukkan bahwa terdapat koloni bakteri yang tebal dan tidak dapat dihitung.
- Konsentrasi 10% : Skor +1 menunjukkan bahwa terdapat koloni bakteri yang tipis dan dapat dihitung.
- Konsentrasi 12,5% : Skor 0 menunjukkan bahwa tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri pada media.
- Konsentrasi 15% : Skor 0 menunjukkan bahwa tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri pada media.

b. Hasil Penelitian Inti



Gambar 5. 6 Hasil Penelitian Inti pada Dilusi Agar dengan Konsentrasi Ekstrak 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13%.

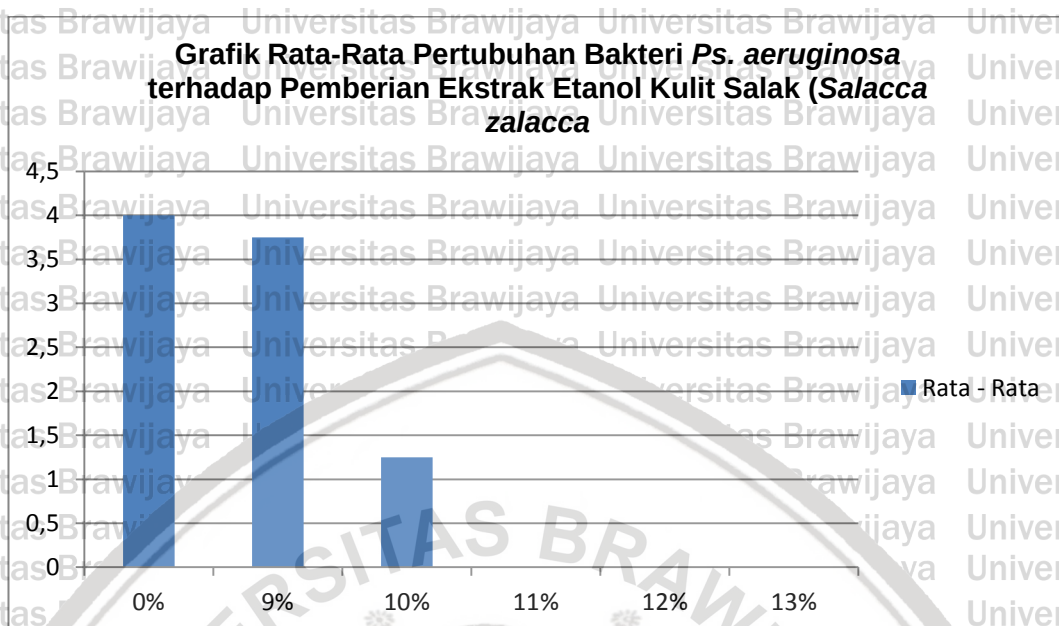
Tabel 5. 1 Hasil Pengamatan Pertumbuhan Bakteri *Ps. aeruginosa* dengan Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Salak Pondoh (*Salacca zalacca*) pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi	Pengulangan				Rata - rata
	1	2	3	4	
0%	+4	+4	+4	+4	+4
9%	+4	+3	+4	+4	+3,75
10%	+2	+1	+1	+1	+1,25
11%	0	0	0	0	0
12%	0	0	0	0	0
13%	0	0	0	0	0

Keterangan :

- +4 : Menunjukkan terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang sangat tebal dan tidak dapat dihitung.
- +3 : Menunjukkan terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang tebal dan tidak dapat dihitung.
- +2 : Menunjukkan terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang tipis dan tidak dapat dihitung.
- +1 : Menunjukkan terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang tipis dan dapat dihitung koloninya.
- 0 : Menunjukkan tidak tampak ada pertumbuhan bakteri pada media.

(Chair, 2017)



Gambar 5. 7 Grafik pengaruh ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan *Ps. aeruginosa*

Berdasarkan tabel dan grafik di atas menunjukkan hasil pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa* pada setiap perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit salak pondok (*Salacca zalacca*) yang bervariasi. Pada konsentrasi 0% terlihat hasil bakteri yang tumbuh sangat tebal yaitu dengan skor +4. Pada konsentrasi 9% dan 10% tampak adanya penurunan ketebalan pertumbuhan bakteri bahkan hingga tipis dan dapat dihitung seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Terlihat pada konsentrasi 11%, 12%, 13% tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada plate. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi terendah dimana tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah pada konsentrasi 11% yang dapat didefinisikan sebagai Kadar Hambat minimum (KHM) pada penelitian ini.

5.3 Analisis Data

Pada penelitian ini, analisis data dilakukan dengan menggunakan software SPSS. Terdapat dua variabel dalam penelitian ini yaitu variabel dependen dan variabel independen. Variabel dependen dari penelitian ini adalah pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa* yang merupakan variabel ordinal (bertingkat). Variabel independen dari penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) yang merupakan variabel numerik.

Proses analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan uji non-parametrik dikarenakan salah satu dari variabel yang digunakan merupakan variabel ordinal.

5.3.1 Uji Kruskal Wallis

Uji *Kruskal Wallis* digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh dari variasi konsentrasi pemberian ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa*. Hipotesis ditentukan melalui H_0 dan H_1 . H_0 diterima apabila nilai signifikansi yang didapatkan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$). Sedangkan H_0 ditolak apabila nilai signifikansi yang didapatkan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$). H_0 pada penelitian ini adalah tidak ada perbedaan bermakna antara konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan *Ps. aeruginosa*, sedangkan H_1 pada penelitian ini adalah ada perbedaan bermakna antara konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan *Ps. aeruginosa*.

Tabel 5. 2 Hasil Analisis Data Uji Kruskal Wallis

	Ketebalan
Chi-Square	22.647
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Hasil analisis *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima, hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan dari konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh yang diberikan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa*.

5.3.2 Uji Post Hoc Mann Whitney

Uji *Post Hoc Mann Whitney* digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan konsentrasi yang memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa*. Kelompok perlakuan dinyatakan signifikan apabila didapatkan nilai hasil analisis kurang dari 0,05 ($p < 0,05$).

Tabel 5. 3 Hasil Analisis Data Uji Post Hoc Man Whitney

	0%	9%	10%	11%	12%	13%
0%		0,686*	0,029	0,029	0,029	0,029
9%	0,686*		0,029	0,029	0,029	0,029
10%	0,029	0,029		0,029	0,029	0,029
11%	0,029	0,029	0,029		1,000*	1,000*
12%	0,029	0,029	0,029	1,000*		1,000*
13%	0,029	0,029	0,029	1,000*	1,000*	

Tabel diatas menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*). Pada konsentrasi 0% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi 9%, 10%, 11%, 12% dan 13%. Efek yang dihasilkan ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) konsentrasi 13% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi 0%, 9%, 10%.

5.3.3 Uji Spearman

Uji *Spearman* digunakan untuk mengetahui seberapa kuat korelasi konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan *Ps.*

aeruginosa. Hipotesis yang digunakan adalah H_0 yaitu tidak ada hubungan yang signifikan konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh dengan pertumbuhan *Ps. aeruginosa*.

dan H_1 yaitu adanya hubungan yang signifikan konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh dengan pertumbuhan *Ps. aeruginosa*. Nilai analisis dianggap signifikan apabila kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Hasil analisis hubungan konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh dengan pertumbuhan koloni *Ps. aeruginosa* dapat dilihat melalui tabel berikut

Tabel 5. 4 Hasil Analisis Data Uji Korelasi *Spearman*

Correlations				
			Konsentrasi	Ketebalan
Spearman's rho	Konsentrasi	Correlation Coefficient	1.000	-.925**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	24	24
	Ketebalan	Correlation Coefficient	-.925**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	24	24

** . Correlation is significant at the .01 level (2-tailed).

Pada analisis Uji *Spearman* didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), dapat diartikan bahwa ada hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh dengan jumlah pertumbuhan koloni *Ps. aeruginosa*.

Koefisien korelasi antara konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh dengan jumlah pertumbuhan *Ps. aeruginosa* adalah sebesar -0,925 menunjukkan bahwa hubungan kedua variabel sangat kuat dan bernilai negatif (bersifat berlawanan).

Hal ini dapat diartikan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh, maka pertumbuhan *Ps. aeruginosa* semakin rendah, begitupula sebaliknya.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan bakteri *Ps. aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar. Metode ini dipilih karena sebelumnya sudah dilakukan pendahuluan dengan metode dilusi tabung namun, ekstrak tidak dapat homogen dengan media tumbuh bakteri. Efek antimikroba dilihat melalui Kadar Hambat Minimum (KHM) yang terjadi pada bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam pada media yang sudah diberikan ekstrak. Metode dilusi agar yang digunakan hanya dapat mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan tidak dapat mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM). Kadar Hambat Minimum (KHM) dari antimikroba penting untuk mengetahui sensitivitas antimikroba yang diuji. Semakin rendah nilai KHM semakin tinggi sensitivitas dari antimikroba tersebut.

Sampel bakteri yang digunakan adalah isolat bakteri *Ps. aeruginosa* yang disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan sebagai sampel, dilakukan identifikasi ulang bakteri dengan pengecatan Gram, penanaman pada media MacConkey dan uji oksidase. Pada pewarnaan Gram didapatkan gambaran bakteri batang berwarna merah yang menunjukkan bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif. Penanaman bakteri pada media MacConkey menghasilkan koloni bulat tidak berwarna yang berarti bakteri ini tidak memfermentasi fruktosa. Pada uji oksidase didapatkan adanya perubahan warna strip menjadi keunguan yang

berarti positif. Berdasarkan dari uji yang dilakukan dapat membuktikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Ps. aeruginosa*.

Ekstrak etanol kulit salak pondoh yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dengan metode maserasi dengan menggunakan etanol 96%.

Pemilihan etanol dikarenakan etanol relatif tidak merusak senyawa kimia aktif yang terdapat pada kulit salak pondoh, murah, tidak beracun serta mudah didapatkan.

Pada penelitian pendahuluan kadar ekstrak yang digunakan adalah 0%; 0,5%; 1%; 5%; 7,5%; 10%; 12,5%; 15%. Pada penelitian pendahuluan ini didapatkan bahwa bakteri tumbuh sangat tebal dan tidak terhitung pada konsentrasi 0%; 0,5%; 1%; dan 5%. Berikutnya pada konsentrasi 7,5% menunjukkan koloni bakteri yang tebal dan tidak dapat dihitung. Pada konsentrasi 10% terlihat koloni bakteri yang tipis dan dapat dihitung. Sedangkan pada konsentrasi 12,5%; 15% tidak didapatkan koloni bakteri yang tumbuh.

Karena tidak didapatkan bakteri yang tumbuh, dilakukan penelitian inti pada dosis 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13%

Pada penelitian ini menggunakan 6 perlakuan (konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh) yaitu 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13% sehingga pengulangan yang dibutuhkan adalah empat kali pengulangan. Hasil penelitian inti menunjukkan tidak didapatkan pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 11%, 12% dan 13%.

KHM ditentukan berdasarkan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terendah. Sehingga dapat ditentukan KHM dari penelitian ini dapat tercapai pada 11%. Pada penelitian ini juga menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri yang ditandai dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin tipis koloni *Ps. aeruginosa*.

Hasil dari penelitian ini dapat dilihat adanya penurunan pertumbuhan koloni *Ps. aeruginosa* seiring bertambahnya konsentrasi dari ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*). Hal tersebut ditandai dengan adanya penurunan skor pada konsentrasi 0% menunjukkan angka +4. Hasil tersebut terus menurun hingga skor pada konsentrasi 11% menunjukkan angka 0 yang artinya tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa*.

Data yang diperoleh kemudian dilakukan proses analisis dengan menggunakan software SPSS 20.0 yaitu uji beda non-parametrik *Kruskal Wallis*, uji multikomparasi *Post Hoc Mann Whitney* dan uji korelasi non-parametrik *Spearman*. Pada Uji *Kruskal Wallis* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$).

Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) mempunyai efek terhadap pertumbuhan bakteri *Ps. aeruginosa*.

Uji statistik yang kedua yaitu uji *Post hoc Macc Whitney*. Pada uji ini didapatkan hasil yang tidak signifikan pada 3 kelompok yaitu kelompok perlakuan antara konsentrasi 0% dan 9%, kemudian kelompok perlakuan antara 11% dan 12% serta kelompok perlakuan antara 12% dan 13%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan yang dilaksanakan pada kedua konsentrasi tersebut memiliki efek yang sama. Hal ini dikarenakan *range* konsentrasi yang sempit antar kedua perlakuan.

Uji statistik yang ketiga yaitu uji korelasi *Spearman*. Hasil dari uji ini didapatkan bahwa ada hubungan antara besarnya pemberian konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dengan pertumbuhan bakteri *Ps. aeruginosa*. Nilai koefisien korelasi yang diperoleh pada uji ini adalah -0,925 yang menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif dimana semakin besar

konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh, maka terjadi penurunan jumlah bakteri *Ps. aeruginosa* yang tumbuh.

Berdasarkan hasil penelitian ini, terdapat efek hambat pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*). Aktivitas antimikroba ini berhubungan dengan kandungan bahan aktif dari kulit salak pondoh yaitu flavonoid, tanin, dan alkaloid (Syahputra, 2008). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak dinding sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cowan, 1999). Tanin menghambat pertumbuhan bakteri dan merusak dinding sel yang menyebabkan kerusakan struktur bakteri secara cepat (Sung S.H. *et al*, 2012). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel (peptidoglikan) bakteri yang akan membuat dinding sel tidak utuh dan kemudian menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Robinson, 1995).

Hasil penelitian dapat berkaitan dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) memiliki berbagai kandungan bahan aktif yang berperan dalam aktivitas antimikroba diantaranya: Tanin, Flavonoid dan Saponin (Syahputra, 2008). Zat aktif ini memiliki sifat antibakteri, antidiabetes dan dapat digunakan untuk obat diare (Kanon *et al*, 2008; Farida, 2009). Pada penelitian sebelumnya, kulit salak pondoh terbukti memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* yang dibuktikan dengan adanya zona hambat pada pengujian kuantitatif dengan metode difusi sumuran (Rahmah, 2016). Penelitian juga dilakukan dengan ekstrak kulit salak terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan metode

yang berbeda yaitu metode sumuran dan menunjukkan bahwa ekstrak kulit salak memiliki efek menghambat pada semua konsentrasi (Nurina *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian hasil penelitian, dapat diketahui bahwa kulit salak pondoh dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan. Namun, penggunaan ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) sebagai salah satu alternatif antimikroba masih membutuhkan penelitian di tingkat yang lebih lanjut. Penelitian ini dilakukan dengan cara *in vitro* sehingga untuk selanjutnya perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* yang dilakukan dengan menggunakan hewan coba sebagai sampel untuk menilai farmakokinetik, farmakodinamik serta toksisitas. Selain itu, lama penyimpanan dari ekstrak akan mempengaruhi kandungan bahan aktif dari ekstrak yang digunakan sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode dan pelarut yang berbeda untuk mendapatkan ekstrak dengan bahan aktif yang lebih tinggi.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu pada penelitian yang menggunakan metode dilusi agar hanya dapat menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM), sedangkan untuk Kadar Bunuh Minimum (KBM) tidak dapat diamati. Selain itu, penilaian dengan *skoring* bersifat lebih subjektif. Pada penelitian ini, tidak menggunakan metode difusi tabung karena ekstrak yang dihasilkan terlalu keruh.

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) memiliki efek antimikroba terhadap *Ps aeruginosa*. Semakin tinggi ekstrak yang diberikan, semakin rendah pertumbuhan koloni bakteri *Ps. aeruginosa* yang ditemukan. Sehingga, hipotesis pada penelitian ini terbukti benar.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Ps. aeruginosa*.
- 2) Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap *Ps. aeruginosa* adalah 11%.
- 3) Koloni bakteri tampak semakin tipis seiring dengan peningkatan kadar ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*). Hal tersebut berarti bahwa efek antimikroba ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) meningkat seiring bertambahnya kadar ekstrak.

7.2 Saran

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap bakteri *Ps. aeruginosa*.
- 2) Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) secara *in vivo* pada hewan coba untuk mengetahui farmakokinetik, farmakodinamik dan kemungkinan adanya efek samping.
- 3) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dengan menggunakan metode lain.

DAFTAR PUSTAKA

Akiyama H., Fujii K., Yamasaki O., Oono T., Iwatsuki T. 2001. Antibacterial Action of Several Tanins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Vol. 48, 487-91.

Carroll K. C., Morse S. A., Mietzner T., Miller S. 2015. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 27th ed. New York: McGraw-Hill Education.

CDC. 2013. *Antibiotics Resistance Threats in the United States*. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia, p. 69-70.

Cowan M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), pp. 564-582.

Cushnie T., Lamb A. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005, 26(5), pp. 343-356.

Depkes RI. 2007. *Profil Kesehatan 2007*. Departemen Kesehatan RI.

Dzen S. M., Roekistiningsih., Santoso S., Winarsih S. 2010. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publishing.

Farida M. E., Eman A. A., Amal A. A., Terez B. K., Aza F. 2009. Impact of Obesity and Body Fat Distribution on Pulmonary Function of Egyptian Children. *Egyptian Journal of Bronchology*. 2009: 3 (1) 49-58.

Gari, Ni Made. 2005. *Studies on Bali salak cultivars (Salacca zalacca var. amboinensis) (Arecaceae)*. Thesis. James Cook University, Queensland Australia.

Herbert, R., 1988. *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*. s.l.:Springer Science & Business Media.

Kalavani, R., Shashikala, P., Sheela, 45 ashanth, K., & Saranathan, R. 2013. Phenotypic assays for detection of SBL dan MBL producers among the clinical isolates of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* from tertiary care hospital. *Int. J. Cur. Res. Rev.*, 5,17,28-35.

Kanon Q., Fatimawali, Bodhi W. 2008. Uji efektivitas ekstrak kulit buah salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi

sukrosa. Tugas Akhir. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Karou D., Savadogo A., Canini A., Yameogo S., Montesano C., Simpore J., et al. 2005. Antibacterial Activity of Alkaloids From *Sida Acuta*. *African Journal of Biotechnology*, 5(2), pp. 195-200.

Landman D., Bratu S., Kochar S., Panwar M., Trehan M., Doymaz M., et al. 2007. Evolution of Antimicrobial Resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY. *J Antimicrob Chemother*. 60(1), p. 78-82.

Lelonowati D., Koeswo M., Rokhmad K. 2015. *Faktor Penyebab Kurangnya Kinerja Surveilan Infeksi Nosokomial di RSUD Dr. Iskak Tulungagung*. Program Pascasarjana Magister Manajemen Rumah Sakit Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Universitas Brawijaya

Molina, V. F. 2012. *Analisis Pelaksanaan Program Pencegahan dan Pengendalian Infeksi Nosokomial di Rumkital Dr. Mintohardjo Jakarta Tahun 2012*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Indonesia. Universitas Indonesia. Universitas Indonesia

Nazaruddin dan Kristiawanti, 1992. *18 Varietas Salak*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Nuria M. dan Faizatun A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *MEDIAGRO*, 2009, 5(2).

Özçelik, B., Kartal, M. & Orhan, I., 2011. Cytotoxicity, Antiviral and Antimicrobial Activities of Alkaloids, Flavonoids, and Phenolic Acids. *Pharmaceutical Biology*, 2011, 49(4), pp. 396-402.

Rahmah, Umi. 2016. *Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Salak (Salacca zalacca (Gaertn.) Voss) terhadap Pertumbuhan Escherichia coli*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jambi, Jambi.

Rizkia, H., Sari, W.A. Supply Chain of Organic Salak Pondoh (*Salacca zalacca* var. pondoh) in Pagar Alam City- South Sumatera Province. *Advance Science Engineering Information Technology*, 2014, vol. 4(2), p. 51-53.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung.

Rohaeti *et al*, 2017. Inhibition of α -Glucosidase, Total Phenolic Content and Flavonoid Content on Skin Fruit and Flesh Extracts of Some Varieties of Snake Fruits *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 58 012066.

Santoso, H. B., 1990. *Salak Pondoh*. Yogyakarta: Kanisius.

Sari, F. P. dan Sari, S. M., 2011. *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba Dari Tanaman Yodium (Jatropha multifida Linn) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*. Laporan Penelitian. Fakultas Kimia dan Teknik Universitas Diponegoro.

Steenis, C. V., 1975. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.

Sudoyo, Aru W, dkk. 2007. *Buku Ajar Ilmu penyakit Dalam*. Edisi 4, Jilid 1. Jakarta : Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.

Suica-Bunghez, I.R., Teodorescu, S., Dulama, I.D, Voinea, O.C., Imionescu, S., Ion, R.M. Antioxidant Activity and Phytochemical Compound of Snake Fruit (Salacca Zalacca). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2016, 133(1), p. 012051.

Suskendriyati, H., Wijayati, A., Hidayah, N. & Cahyuningdari, D. Studi Morfologi dan Hubungan Kekerabatan Varietas Salak Pondoh (Salacca zalacca (Gaert.) Voss.) di Dataran Tinggi Sleman. *Biodiversitas*, 2000, 1(2), pp. 59-64.

Tjitrosoepomo, G., 1988. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Todar K. 2012. *Nutrition and Growth of bacteria*. Departement of Bacteriology University of Wisconsin.