

**UJI EFEKTIFITAS ANTIBAKTERI FLAVONOID EKSTRAK BUAH  
MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP *Mycobacterium  
tuberculosis* SECARA *IN VITRO***

**TUGAS AKHIR  
Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh :

**Imerisa**

**NIM : 155070101111075**

**PROGRAM STUDI S1 PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul .....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan .....	iii
Kata Pengantar .....	iv
Abstrak .....	vii
Abstract .....	viii
Daftar Isi .....	ix
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Gambar .....	xiii
Daftar Singkatan .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Rumusan Masalah .....	4
1.2 Tujuan Penelitian .....	4
1.2.1 Tujuan Umum .....	4
1.2.2 Tujuan Khusus .....	4
1.3 Manfaat Penelitian .....	4
1.3.1 Manfaat Akademis .....	4
1.3.2 Manfaat Praktis .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	5
2.1.1 Taksonomi .....	6
2.1.2 Morfologi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	7
2.1.3 Faktor virulensi.....	8
2.2 Tuberkulosis Paru .....	9
2.2.1 Patogenesis .....	9
2.2.2 Obat Anti Tuberkulosis .....	10
2.3 Mahkota Dewa ( <i>Phaleria macrocarpa</i> ).....	10
2.3.1 Taksonomi .....	11
2.3.2 Kandungan Mahkota dewa ( <i>Phaleria macrocarpa</i> ) .....	11
2.3.3 Flavonoid.....	12
2.4 Uji Kepekaan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> terhadap Obat dengan Metode Proporsi .....	14

<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>16</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	16
3.2 Hipotesis Penelitian .....	17
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>18</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	18
4.2 Sampel Penelitian .....	18
4.3 Variabel Penelitian .....	19
4.3.1 Variabel Bebas .....	19
4.3.2 Variabel Terikat .....	19
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian .....	19
4.5 Definisi Operasional .....	19
4.6 Instrumen Penelitian .....	20
4.6.1 Alat .....	20
4.6.2 Bahan .....	21
4.7 Operasional Penelitian .....	21
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Buah Mahkota Dewa .....	21
4.7.1.1 Tahap Pengeringan .....	21
4.7.1.2 Tahap Ekstraksi .....	21
4.7.2 Pemisahan Senyawa Flavonoid .....	22
4.7.2.1 Partisi dengan n-heksana .....	22
4.7.3 Identifikasi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	23
4.7.3.1 Identifikasi Koloni pada Media <i>Lowenstein Jensen</i> .....	23
4.7.3.2 Pewarnaan <i>Ziehl Neelsen</i> .....	23
4.7.3.3 Tes Kepekaan PNB( P-Nitrobenzoid Acid) .....	24
4.7.3.4 Tes Niacin .....	24
4.7.3.5 Uji Imunokromatografi (dengan Antigen MPT64) .....	24
4.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji .....	25
4.7.5 Uji Anti Bakteri .....	26
4.8 Alur Penelitian .....	28
4.9 Analisis Data .....	29
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA .....</b>	<b>30</b>
5.1 Hasil Penelitian .....	30
5.1.1 Hasil Ekstraksi Flavonoid Mahkota Dewa ( <i>Phaleria macrocarpa</i> ) ...	31
5.1.2 Hasil Identifikasi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	32
5.1.3 Hasil Pengamatan Koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i> dalam Media LJ .....	33
5.1.4 Hasil Uji Proporsi Resistensi koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ...	33
5.2 Analisis Data .....	35

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas .....	35
5.2.2 Uji <i>One-way Annova</i> .....	35
5.2.3 Uji <i>Post Hoc Tukey</i> .....	35
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b> .....	<b>36</b>
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>41</b>
7.1 Kesimpulan .....	41
7.2 Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA .....	42
LAMPIRAN.....	47



**DAFTAR TABEL**

	Halam
Tabel 2.1 .....	14
Tabel 5.1 Hasil dari perhitungan jumlah koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada minggu ke-6.....	34
Tabel 5.2 Hasil dari perhitungan proporsi resistensi koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada minggu ke-6.....	36



DAFTAR GAMBAR

	Halam
Gambar 2.1 BTA dengan pewarnaan <i>Ziehl-Neelsen</i> , perbesara 1.000x.....	7
Gambar 2.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada media <i>Löwenstein-Jensen</i> setelah 6 minggu kultivasi, 37°C .....	8
Gambar 2.3 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada 7H10 <i>Middlebrook solid medium</i> 9	9
Gambar 2.4 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada 7H9 <i>Middlebrook broth</i> .....	9
Gambar 2.5 Buah Mahkota dewa .....	12
Gambar 2.6 Struktur kimia flavonoid.....	14
Gambar 3.1 Kerangka Konsep .....	17
Gambar 4.1 Alur Penelitian .....	29
Gambar 5.1 Hasil sampel ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa ( <i>Phaleria macrocarpa</i> ) .....	31
Gambar 5.2 Koloni bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> suspensi 0,5 McFarland pengenceran $10^{-3}$ minggu ke-6 pada medium LJ.....	33
Gambar 5.3 Koloni bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> suspensi 0,5 McFarland pengenceran $10^{-5}$ minggu ke-6 pada medium LJ.....	34

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI FLAVONOID EKSTRAK BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP *Mycobacterium tuberculosis* SECARA IN VITRO

Oleh :

Imerisa

NIM. 155070101111075

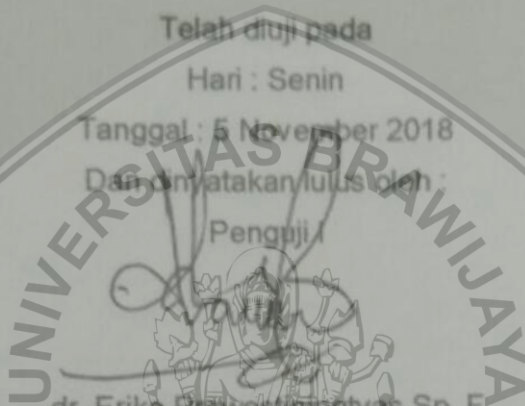
Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 5 November 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I



dr. Eriko Prayestiyanto Sp.F  
NIP. 197709162005012001

Pembimbing I/Penguji II,

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

Pembimbing II/Penguji III,

dr. Aris Widayati Sp.S  
NIP. 2013067802072001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

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



## Abstrak

Imerisa. 2018. **Uji Efektifitas Antibakteri Flavonoid Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro***. Tugas akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr.dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Aris Widayati, Sp.S.

Penyakit tuberkulosis merupakan salah satu penyebab utama dari kematian di negara-negara yang sedang berkembang termasuk Indonesia. Penyakit tuberkulosis disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Secara global pada tahun 2015, diperkirakan ada 480 000 kasus baru *multidrug-resistant* TB (MDR-TB) dan 100 000 orang dengan *rifampin resistant* TB (RR-TB) yang juga memerlukan pengobatan MDR-TB. Maka dibutuhkan terapi menggunakan bahan alami sebagai adjuvan terapi, seperti flavonoid ekstrak Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari pemberian flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*. Pada penelitian ini digunakan metode *true* eksperimental dengan design *post-test control design only* dengan penghitungan metode proporsi resistensi. Konsentrasi flavonoid ekstrak mahkotadewa yang diujikan dalam penelitian ini yaitu 25 mg/mL, 50 mg/mL, dan 75 mg/mL. Dari hasil penelitian didapatkan *Mycobacterium tuberculosis* yang diujikan sensitif (sensitif yaitu proporsi resistensi <1%) pada ketiga konsentrasi flavonoid ekstrak buah mahkota dewa, yaitu proporsi resistensi 0,025% pada konsentrasi 25 mg/mL, 0,0075% pada konsentrasi 50 mg/mL, dan 0% pada konsentrasi 75 mg/mL. Hasil dari uji normalitas Shapiro-Wilk didapatkan nilai sig  $p=0,406$  untuk konsentrasi 25 mg/mL dan  $p=0,272$  untuk konsentrasi 50 mg/mL ( $p>0,05$ ), pada uji homogenitas Levene didapatkan nilai sig  $p=0,021$  ( $p<0,05$ ). Hasil uji komparatif *One-way Anova* didapatkan nilai sig  $p=0,054$  ( $p>0,05$ ), yang berarti tidak signifikan. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa flavonoid ekstrak buah Mahkota Dewa memiliki aktivitas anti bakteri yang kurang efektif terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

Kata Kunci: antibakteri, flavonoid Mahkota Dewa, *Mycobacterium tuberculosis*, .



## Abstract

Imerisa. 2018. **Effectiveness of Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Fruit Extract's Flavonoid Antibacterial Trait towards *Mycobacterium tuberculosis* through *In Vitro* Application.** Final assignment, Medical Doctor Study Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Advisor: (1) Dr.dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes. (2) dr. Aris Widayati, Sp.S.

Tuberculosis is one of the main causes of death in developing countries including Indonesia. Tuberculosis is caused by infection of *Mycobacterium tuberculosis* bacteria. Globally in 2015, it has been estimated 480000 new cases of multidrug-resistant TB (MDR-TB) and 100000 of people with Rifampin resistant (RR-TB) which require MDR-TB treatment. Thus a natural ingredient adjuvant therapy, such as the Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) flavonoid extract is needed. The aim of this study was to determine the effect of the administration of Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) fruit extract flavonoid on the growth of *Mycobacterium tuberculosis in vitro*. This study utilize the true experimental method with post-test control design only by calculating the method of resistance proportions. The concentrations of Mahkota Dewa flavonoids extract tested in this study were 25 mg / mL, 50 mg / mL, and 75 mg / mL. The results showed that three flavonoid concentrations of Mahkota Dewa fruit extract was sensitive for *Mycobacterium tuberculosis*, the results of proportion method were 0.025% for 25 mg/mL, 0.0075% for 50mg/mL, and 0% for 75mg/mL (the test considered sensitive if resistance proportion <1%). The results of Shapiro-Wilk normality test obtained sig value  $p = 0.406$  for a concentration of 25 mg / mL and  $p = 0.272$  for concentration of 50 mg / mL ( $p > 0.05$ ). In Levene homogeneity test sig value was  $p = 0.021$  ( $p < 0.05$ ). The results of One-way Anova comparative test was sig value  $p = 0.054$  ( $p > 0.05$ ), which means it was not significant. Based on this study, it can be concluded that the Mahkota Dewa fruit flavonoid extract has ineffective antibacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*.

Keywords: antibacterial, flavonoids of Mahkota Dewa, *Mycobacterium tuberculosis*.

## BAB 1

### PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar di dunia. Tuberkulosis (TB) adalah penyakit yang menular melalui *airborne*. Tuberkulosis adalah salah satu dari 10 penyakit utama penyebab kematian pada tahun 2015, dan merupakan penyebab kematian melebihi HIV and malaria. Pada tahun 2015, diperkirakan ada 10.4 juta insiden kasus tuberkulosis di dunia, dengan rincian 5.9 juta adalah pria, 3.5 juta adalah wanita dan 1 juta adalah anak-anak. Pada tahun 2015, 1.8 juta orang meninggal akibat tuberkulosis, termasuk 0.4 juta orang TB-HIV. Jumlah tersebut termasuk 1.1 juta pria, 0.5 juta wanita dan 0.2 juta anak-anak (WHO, 2016). Kasus baru tuberkulosis paru Bakteri Tahan Asam (BTA) positif di Indonesia mencapai angka 156.723 pada tahun 2016 (Budijanto dkk., 2017).

Penyakit tuberkulosis merupakan salah satu penyebab utama dari kematian di negara yang sedang berkembang termasuk Indonesia. Penyakit tuberkulosis disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini dapat ditemukan pada penderita tuberkulosis dan dari penderita dapat dibuat biakan murni, sesuai dengan Postulat Koch (Jawetz *et al.*, 2016).

Faktor yang mempengaruhi kemungkinan seseorang menderita penyakit tuberkulosis adalah daya tahan tubuh yang rendah, di antaranya infeksi HIV/AIDS dan malnutrisi (gizi buruk), faktor lingkungan yang berpengaruh yaitu ventilasi yang kurang, kepadatan hunian yang terlalu tinggi, faktor perilaku yang kurang menjaga

kebesihan, lingkungan perumahan yang kurang bersih, lama kontak dan konsentrasi kuman yang tinggi. Selain itu faktor risiko tuberkulosis yang berpengaruh secara signifikan terhadap kejadian tuberkulosis paru dewasa di Indonesia adalah umur dan jenis kelamin. Sedangkan faktor risiko yang paling dominan terhadap kejadian tuberkulosis paru dewasa adalah kontak serumah dengan penderita tuberkulosis (Rukmini, 2014).

Selama ini penatalaksanaan farmakologis pasien tuberkulosis adalah menggunakan Obat Anti Tuberkulosis (OAT) yang terdiri dari minimal 4 jenis antibiotik, selama 6 bulan untuk menghindari resistensi obat. Obat yang dipakai diantaranya adalah *isoniazid*, *rifampicin*, *pirazinamid*, dan *ethambutol*. Sedangkan untuk *Multi-Drug Resistant Tuberculosis* (MDR-TB) juga digunakan *kanamycin*, *amikacin*, *capreomycin*, *levofloxacin*, *mosifloxacin*, *paraaminosalicylic acid*, *cycloserine*, dan *ethionamide* (Dinihari dan Siagian, 2014). Secara global pada tahun 2015, diperkirakan ada 480 000 kasus baru MDR-TB dan 100000 orang dengan *Rifampin Resistant Tuberculosis* (RR-TB) yang juga memerlukan pengobatan MDR-TB (WHO, 2016).

Tuberkulosis resisten obat merupakan masalah yang terus berkembang dan mengancam kesehatan masyarakat di seluruh dunia. Secara global, estimasi insidens kasus baru TB resisten obat terlapor sebesar 3,7%, sementara insidens kasus TB dengan riwayat pengobatan sebanyak 20% (Asri, 2014). Maka dibutuhkan terapi menggunakan bahan alami sebagai adjuvan, yaitu terapi tambahan disamping penggunaan terapi utama.

Buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan tanaman yang berasal dari Indonesia bagian Timur yaitu Papua. Mahkota dewa tergolong

tanaman perdu yang tumbuh dari dataran rendah hingga ketinggian 1200 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini banyak digunakan sebagai bahan obat untuk menyembuhkan kanker dan diabetes mellitus (Burkill, 1988).

Pada buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terdapat kandungan flavonoid, anti-oksidan, dan anti-inflamasi. Flavonoid dalam buah mahkota dewa dapat berfungsi sebagai antimikroba, antifungi dan anti-inflamasi. Kandungan senyawa flavonoid pada buah mahkota dewa lebih banyak daripada kandungan senyawa lainnya dari bagian tubuh mahkota dewa yang lainnya seperti daun, batang maupun akar (Ariani *et al.*, 2014). Flavonoid mahkota dewa efektif terhadap bakteri Gram positif maupun negatif seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus aerogens*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus*, *P. aeruginosa*, dan golongan jamur seperti *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Ganoderma lucidum*, dan *Mucor indicus* (Hendra dkk., 2011).

Berdasarkan uraian diatas, maka diperlukan penelitian tentang pemberian ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode proporsi resistensi. Karena perkembangan jumlah kasus MDR-TB yang semakin tinggi dan semakin terbatasnya pilihan antibiotik yang dapat digunakan, serta masih belum ada penelitian sebelumnya yang menguji efek ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode proporsi resistensi, diharapkan ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dapat menjadi pengobatan tambahan untuk terapi penyakit tuberculosis.

## 1.1 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*?

## 1.2 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek pemberian ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*

## 1.3 Manfaat penelitian

### 1.3.1 Manfaat Akademis

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kemampuan antibakteri ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*
- b. Memberikan informasi tentang penggunaan ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai referensi atau acuan dalam penelitian selanjutnya terhadap penyakit infeksi

### 1.3.2 Manfaat Praktis

Sebagai adjuvan terapi untuk pasien dengan penyakit tuberkulosis

## BAB 2

### TINJAUAN TEORI

#### 2.1 *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)

*Mycobacterium* adalah salah satu bakteri yang banyak ditemukan di masyarakat. Salah satu spesiesnya adalah MTB yang dapat ditransmisikan melalui udara, percikan dahak, atau ludah yang mengandung kuman tuberculosis. MTB tipe *human* dapat menyebabkan penyakit tuberculosis pada manusia (Girsang, 2009).

Dari 2-3 juta orang dalam populasi yang terinfeksi MTB, diperkirakan sekitar 5-15% akan mengalami penyakit tuberculosis. Kemungkinan seseorang menderita penyakit tuberculosis lebih tinggi pada penderita HIV dan kondisi *immunocompromised* (WHO, 2016).

##### 2.1.1 Taksonomi

Kingdom : Monera

Divisio : Mycobacteria

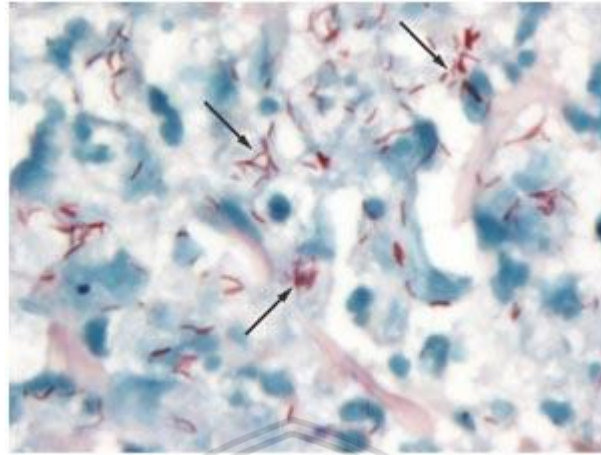
Class : Actinomycetes

Order : Actinomycetales

Family : Mycobacteriaceae

Genus : *Mycobacterium*

Spesies : *Mycobacterium tuberculosis*



Gambar 2.1 BTA dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen, perbesara 1.000x(Ram *et al.*, 2007).

### 2.1.2 Morfologi *Mycobacterium tuberculosis*

*Mycobacterium tuberculosis* berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0.4x3  $\mu\text{m}$  dan tidak membentuk spora. *M. tuberculosis* tidak dapat digolongkan sebagai bakteri gram positif atau negatif. *M. tuberculosis* diidentifikasi dengan teknik pewarnaan khusus, seperti Ziehl Neelsen seperti pada gambar 2.1. Ketika diwarnai dengan pewarnaan dasar, cat pada *M. tuberculosis* tidak luntur ketika diberikan alkohol asam. Oleh karena ciri tersebut *M. tuberculosis* disebut juga *Acid fast bacilli*. Kemampuan tahan asam *M. tuberculosis* tergantung pada integritas *waxy envelop* (Jawetz *et al.*, 2016).

Susunan dinding sel bakteri ini sangat kompleks dan berbeda dari bakteri gram positif maupun gram negatif. Dinding sel tersusun dari bahan seperti lilin atau *wax*, yang apabila dilakukan elektroforesis terdiri atas fraksi A, B, C, dan D. Dibawah lapisan lilin tersebut terdapat membran sitoplasma yang bersifat semi permeabel. Disamping itu dinding sel *M. tuberculosis* juga tersusun dari peptidoglikan yang tersusun secara kovalen dengan arabinogalaktan-mikolat (Noorhamdani dkk., 2016).

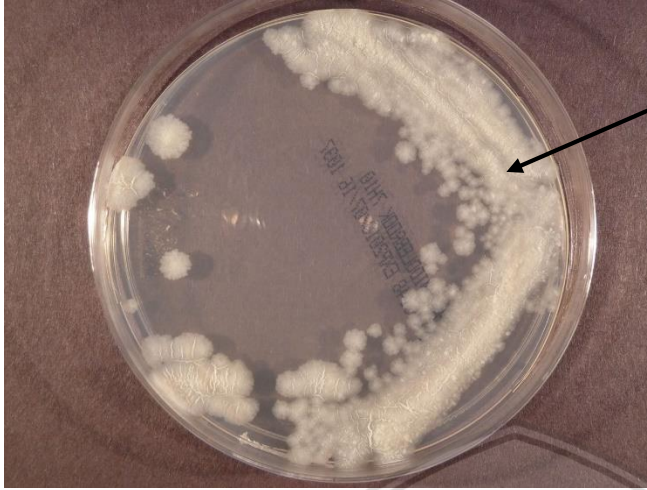
Pembiakan atau kultur dari sampel sputum, dengan menanamkan sampel dahak ke atas media yang mengandung telur, *glycerol*, *malachyte green*, sikloheksimid, linkomisin, dan asam nalidiksat pada media *Lowenstein jensen* pada tabung *Mc. Cartney*. Sifat pertumbuhan kuman tuberculosis adalah aerob, sukar tumbuh pada media biasa, dan memerlukan pembenihan istimewa (mengandung telur). Suhu optimum 37° C, pH optimum pembenihan antara 6,0-8,0 dan pH optimum antara 6,5-6,8 (Girsang, 2009).

Koloni *M. tuberculosis* pada media *Lowenstein-Jensen* (LJ) berwarna krem, permukaannya tidak rata atau berbungkul-bungkul seperti bunga kubis kering sesuai gambar 2.2. Bentuk koloni *M. tuberculosis* adalah *smooth virulent*, dan memiliki bau seperti aroma buah (Noorhamdani dkk., 2016). Media lain yang biasa digunakan untuk kultur *M. tuberculosis* adalah Middlebrook.



Gambar 2.2 *Mycobacterium tuberculosis* pada media *Löwenstein-Jensen* setelah 6 minggu kultivasi, 37°C (Aryal, 2017)





Gambar 2.3 Koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada 7H10 Middlebrook solid medium (Simner, 2014)



Gambar 2.4 Pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* tersebar pada 7H9 Middlebrook broth (Hardy, 2009)

### 2.1.3 Faktor virulensi

*M. tuberculosis* merupakan bakteri yang unik dibandingkan dengan bakteri patogen yang lain karena kompleksitas lipid dan lipoglikan pada permukaan selnya (Converse *et al.*, 2003). Lapisan setelah peptidoglikan terdiri atas rantai  $\alpha$ -alkil  $\beta$  hidroksi asam lemak yang sangat panjang (asam mikolat) yang teresterifikasi dengan arabino-galaktan. *M. tuberculosis* menggunakan enzim FAS (*fatty acid synthetase*) untuk memproduksi rantai karbon yang sangat panjang



(Slayden, 2001). Lapisan lipid dan polisakarida pada *M. tuberculosis* ini diduga memiliki peranan penting dalam patogenesis penyakit (Jawetz *et al.*, 2016).

## 2.2 Tuberkulosis Paru

Infeksi *M. tuberculosis* dapat menyebabkan tuberkulosis paru. Gejala utama pasien TB paru adalah batuk berdahak selama 2 minggu atau lebih. Batuk dapat diikuti dengan gejala tambahan yaitu dahak bercampur darah, batuk darah, sesak nafas, badan lemas, nafsu makan menurun, berat badan menurun, malaise, berkeringat malam hari tanpa kegiatan fisik, demam meriang lebih dari 1 bulan (Dinihari dan Siagian, 2014).

Berdasarkan lokasinya tuberkulosis dibedakan menjadi dua, yaitu tuberkulosis paru dan tuberkulosis ekstra paru. Tuberkulosis ekstra paru merupakan manifestasi dari *Mycobacterium tuberculosis* pada organ selain paru. Tuberkulosis paru memiliki gejala lokal, yaitu batuk lebih dari sama dengan dua minggu, hemoptisis, sesak nafas dan nyeri dada, serta gejala sistemik demam, malaise, keringat pada malam hari, anoreksia, dan berat badan menurun (Tanto *et al.*, 2014).

Gejala lokal pada tuberkulosis ekstra paru tergantung pada organ yang terserang kuman TB, misalnya kaku kuduk pada Meningitis TB, nyeri dada pada TB pleura (Pleuritis), pembesaran kelenjar limfe superfisialis pada limfadenitis TB dan deformitas tulang belakang (*gibbus*) pada spondilitis TB dan lain-lainnya (Ramirez-Lapausa *et al.*, 2015).

### 2.2.1 Patogenesis

Bakteri yang terhirup difagositosis oleh makrofag alveolar, bakteri terperangkap dalam fagosom (Flynn *et al.*, 2011). Kemudian makrofag membentuk superoksida yang memacu fusi antara fagosom dan lisosom. Fusi antara fagosom dan lisosom normalnya menyebabkan penurunan cepat pH fagosom hingga 4,8-5, menimbulkan aktivitas anti bakteri. Namun *M. tuberculosis* berkemampuan mencegah proses pengasaman fagosom dan menjaga pH pada sekitar 6,2 sehingga memungkinkan *M. tuberculosis* untuk bertahan hidup didalam fagosom (Russel, 2011). Mekanisme ini belum diketahui secara jelas, namun diduga berkaitan dengan lipid dan polisakarida rantai panjang pada dinding sel *M. tuberculosis* (Jawetz *et al.*, 2016).

Dalam perjalanannya, fokus *granuloma* dapat terbentuk akibat rekrutmen makrofag dan kumpulan *M. tuberculosis*. Sebagian dari bakteri yang menginfeksi paru mungkin dapat disalurkan ke nodus limfe regional terdekat, membentuk fokus lain. Di paru, fokus infeksi dapat meluas, menyebabkan kerusakan jaringan dan menimbulkan manifestasi klinis (Farrar *et al.*, 2014).

### 2.2.2 Obat Anti Tuberkulosis

Obat yang digunakan sebagai terapi lini pertama tuberkulosis paru saat ini adalah kombinasi beberapa antibiotik yang bersifat bakterisidal dan bakteristatik. Obat-obat tersebut antara lain, isoniazid (H), rifampisin (R), pirazinamid (Z), streptomisin (S), dan etambutol (E). Obat-obatan tersebut dikonsumsi selama 6 bulan sesuai regimen yang telah ditentukan. Efek samping yang paling sering ditemukan, isoniazid dapat menimbulkan neuropati, rifampisin dapat menyebabkan urin berwarna merah, pirazinamid dapat menyebabkan gangguan

fungsi hati, streptomisin dapat menyebabkan gangguan keseimbangan dan pendengaran, dan etambutol dapat menyebabkan gangguan penglihatan (Dinihari dan Siagian, 2014).

### 2.3 Mahkota Dewa ( *Phaleria macrocarpa* )

*Phaleria macrocarpa* lebih dikenal dengan sebutan buah mahkota dewa, buah ini dapat ditemukan di Indonesia dan Malaysia. Mahkota dewa atau Pau banyak tumbuh di hutan hujan tropis pulau Papua. Pohon mahkota dewa dapat tumbuh dengan tinggi mencapai 1-18 m, terdiri atas batang, daun, bunga dan buah. Buah berbentuk bulat lonjong dengan diameter berkisar antara 3-5 cm. warna buah hijau saat belum matang, dan berubah menjadi merah saat matang (gambar 2.3). Buah yang belum di proses bisa jadi beracun (Altaf *et al.*, 2013). Kandungan flavonoid pada buah mahkota dewa lebih banyak daripada senyawa lain seperti saponin, tannin dan alkaloid (Hendra, 2011).

#### 2.3.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Dicotyledon
Kelas	: Thymelaeales
Famili	: Thymelaeaceae
Marga	: Phaleria
Spesies	: <i>Phaleria macrocarpa</i>



Gambar 2.3 Buah Mahkota dewa (Harmanto, 2004)

### 2.3.2 Kandungan Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)

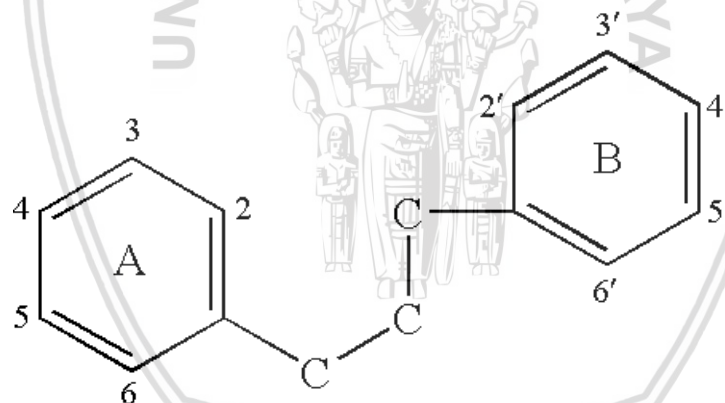
Zat yang terkandung dalam ekstrak buah mahkota dewa adalah *gallic acid*, *phalerin*, *terpenoids*, *phenols*, *icaricide*, *polyphenols*, *tannin*, saponin, alkaloid, flavonoid, dan butanol. Khasiat mahkota dewa yang telah diteliti antara lain sebagai anti kanker, anti hiperglikemi, anti hyperlipidemia, anti bakteri dan anti fungal, anti inflamasi, antioksidan, dan vasorelaksan. Diantara zat yang terkandung dalam ekstrak mahkota dewa, yang memiliki aktivitas anti bakteri dan anti fungal adalah *polyphenols*, *tannin*, saponin, alkaloid, flavonoid (Altaf et al., 2013).

Flavonoid, polifenol, saponin, dan tannin dapat ditemukan dengan kadar yang cukup tinggi pada buah mahkota dewa. Total jumlah flavonoid tertinggi dalam ekstrak mahkota dewa ditemukan pada bagian perikarp dibandingkan dengan bagian buah yang lain (Hendra et al., 2011). Zat-zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif (Tri et al., 2012). Bakteri-bakteri tersebut termasuk *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenes*,

*Eschericia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (Yossie et al., 2011).

### 2.3.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B (gambar 2.4), dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Maslarova, 2001).



Gambar 2.4 Struktur kimia flavonoid (Managoli, 2010)

Flavonoid yang terkandung dalam buah mahkota dewa dianalisis menggunakan RP-HPLC (*Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography*). *Kaempferol*, *myricetin*, *naringin*, dan *rutin* ditemukan pada bagian pericarp buah mahkota dewa. *Naringin* dan *quercetin* ditemukan pada mesokarp, sedangkan pada biji mahkota dewa hanya ditemukan *quercetin* (Ao et al., 2008) sesuai tabel 2.1.

Sampel	Kandungan Flavonoid ( $\mu\text{g/g DW}$ )						
	Apigenin	Kaempferol	Luteolin	Myricetin	Naringin	Quercetin	Rutin
Pericarp	-	$76.00 \pm 0.003$	-	$59.90 \pm 0.001$	$39.80 \pm 0.001$	-	$17.80 \pm 0.001$
Mesocarp	-	-	-	-	1.90	$39.80 \pm 0.001$	-
Seed	-	-	-	-	-	$45.20 \pm 0.003$	-

**Tabel 2.1 Kandungan flavonoid pada pericarp, mesocarp, dan biji buah mahkota dewa (Hendra *et al.*, 2011)**

Naringin dan myricetin memiliki aktivitas anti bakteri dengan mekanisme mengganggu proses metabolisme energi bakteri, akibatnya sel bakteri mejadi rusak permanen karena kebutuhan energi yang tidak terpenuhi. Cara kerja quercetin dan kaempferol adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat, berikatan dengan DNA dan mengganggu aktivitas enzim girase sehingga proses replikasi DNA terganggu (Cushnie, 2005). Sedangkan mekanisme kerja rutin adalah menghambat pembentukan dinding sel melalui ikatan hidrogen dan menurunkan permeabilitas dinding sel. Ikatan hydrogen pada dinding sel menyebabkan terjadinya denaturasi protein pada dinding sel dan membrane sitoplasma. Denaturasi protein menyebabkan koagulasi protein dan terganggunya integritas membran dan fungsi fisiologis mikroba (Kumar *et al.*, 2009).

#### **2.4 Uji Kepekaan *Mycobacterium tuberculosis* terhadap Obat dengan Metode Proporsi**

Metode proporsi dengan pengululturan kuman dalam media LJ (*Löwenstein-Jensen*) merupakan metode yang direkomendasikan WHO untuk menguji kepekaan *Mycobacterium tuberculosis* terhadap obat untuk keperluan

penelitian. Metode proporsi telah digunakan secara luas dalam lebih dari 50 tahun terakhir. Metode ini berdasarkan pemikiran bahwa pada setiap strain yang sensitif terdapat beberapa strain resisten. Suatu populasi strain dianggap sensitif apabila kurang dari 1% koloni berhasil tumbuh dalam media yang telah diberikan obat dibandingkan dengan kontrol (Stroup *et al.*, 2014).

Dalam metode ini digunakan 2 macam suspensi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, yaitu suspensi dengan konsentrasi bakteri  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$ . Dua jenis suspensi bakteri tersebut kemudian diinokulasikan pada media *Löwenstein-Jensen* yang telah diberikan obat sebelumnya. Media kemudian diinkubasi dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dan diamati tiap minggu hingga minggu ke-enam. Proporsi resistensi ditentukan berdasarkan jumlah koloni minggu ke-empat dan atau minggu ke-enam. Proporsi resistensi didapatkan dengan rumus:

$$\text{Proporsi resistensi} = \frac{\text{Jumlah koloni pada media dengan obat}}{\text{jumlah koloni pada media kontrol}} \times 100\%$$

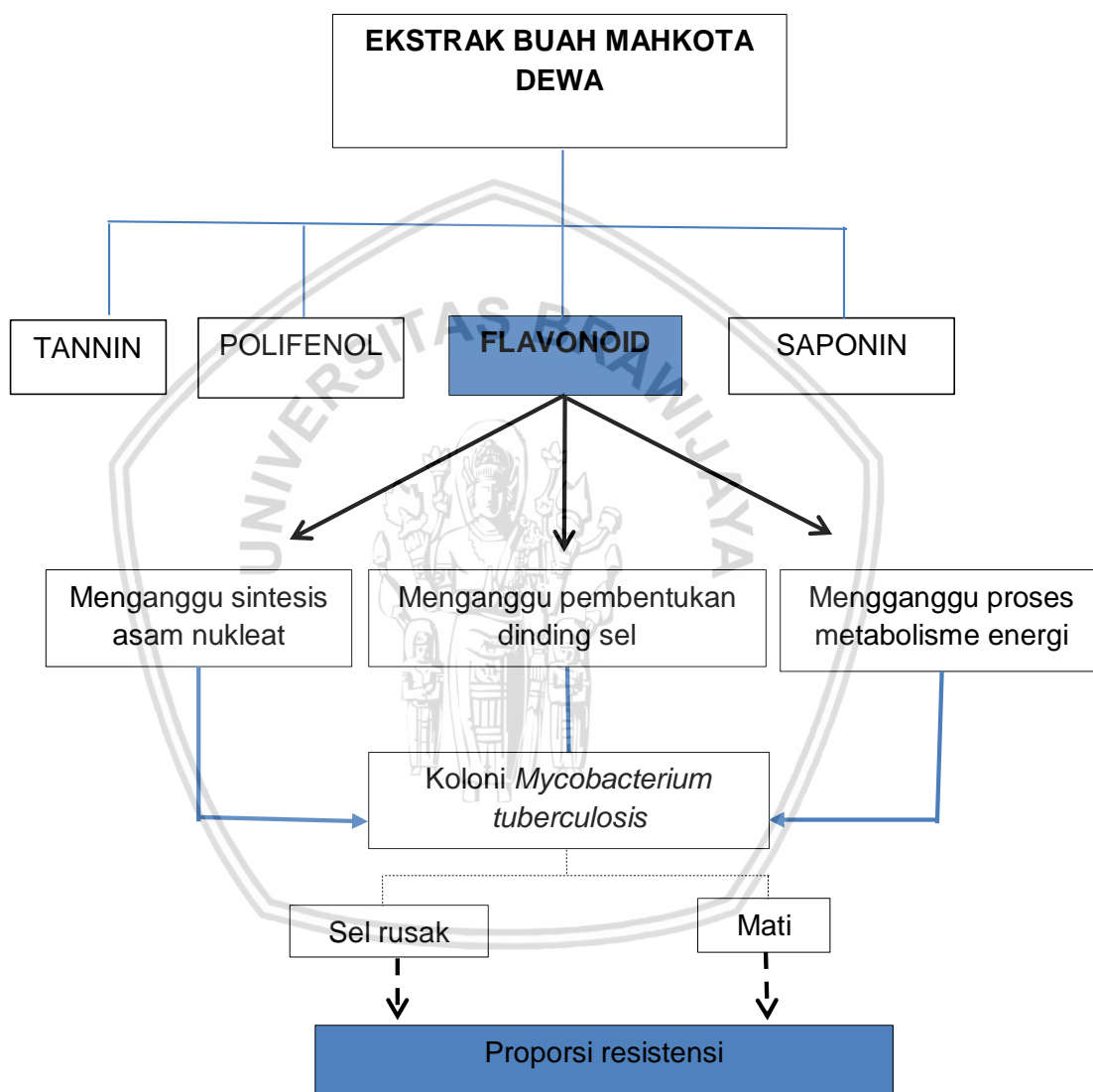
Penelitian harus diulang jika tidak ditemukan pertumbuhan koloni pada media tanpa obat yang telah diinokulasi dengan bakteri setelah minggu ke-enam (Sandjaja, 1992).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



- Keterangan :
- : variabel yang diteliti
  - $\longrightarrow$  : mekanisme kerja antimikroba
  - $- - \longrightarrow$  : kadar efektif ekstrak flavonoid mahkota dewa
  - $\rule{1cm}{0.4pt}$  : zat yang terkandung
  - $\cdots \cdots \cdots$  : akibat aktivitas anti mikroba



Pada flavonoid ekstrak mahkota dewa terdapat kandungan senyawa-senyawa seperti quercetin, kaempferol, myricetin, naringin dan rutin yang dapat digunakan sebagai antimikroba. Quercetin dan kaempferol memiliki cara kerja menghambat sintesis asam nukleat, dengan cara berikatan dengan DNA sehingga kerja enzim girase terganggu akibatnya proses replikasi DNA terganggu. Mekanisme kerja rutin adalah menghambat pembentukan dinding sel, akibat terbentuknya kompleks rutin dan protein sel melalui ikatan hidrogen sehingga dapat menurunkan permeabilitas dari dinding sel sehingga terjadi denaturasi protein. Denaturasi menyebabkan koagulasi protein yang menyebabkan terganggunya integritas membran dan fungsi fisiologis mikroba. Myricetin dan naringin dapat mengganggu proses metabolisme energi mikroba sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel secara permanen karena tidak terpenuhinya kebutuhan energi.

Pada keadaan bakteri yang rusak, dinding dan membran sel bakteri akan mengalami kerusakan struktur akibat efek antimikroba yang terdapat pada kandungan flavonoid. Dosis yang semakin tinggi akan menyebabkan berkurangnya jumlah koloni bakteri yang tumbuh dan kematian bakteri, sehingga dapat ditentukan proporsi resistensinya, dengan membandingkan jumlah koloni bakteri pada medium dengan obat dan jumlah koloni kontrol.

### 3.2 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka hipotesis yang diajukan adalah :

Pemberian flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test control design only* karena penelitian ini dilihat hasilnya setelah dilakukan penelitian untuk mengetahui efek antimikroba berbagai konsentrasi ekstrak flavonoid mahkota dewa terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

#### 4.2 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah koloni *Mycobacterium tuberculosis* yang dikultur di Laboratorium Mikrobiologi RSUD dr. Saiful Anwar Malang. Jumlah pengulangan penelitian menggunakan rumus berikut (Gomes, 1996):

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

$$(9-1)(r-1) \geq 20$$

$$8r-4 \geq 20$$

$$8r \geq 24 \rightarrow r \geq 3$$

Keterangan:

t = jumlah *treatment* atau perlakuan ( 9, yaitu 3 perlakuan dengan penambahan flavonoid ekstrak mahkota dewa dengan konsentrasi 25 mg/mL, 50mg/mL, dan 75 mg/mL pada suspensi bakteri  $10^{-3}$  , 3 perlakuan dengan penambahan flavonoid ekstrak mahkota dewa dengan konsentrasi 25 mg/mL, 50mg/mL, dan 75 mg/mL pada suspensi bakteri  $10^{-5}$ , 1 kontrol positif  $10^{-3}$  , 1 kontrol positif  $10^{-5}$  dan 1 kontrol negatif)

r = jumlah *replication* atau pengulangan (3 kali pengulangan)

### 4.3 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini ada dua yaitu variabel tergantung dan variabel bebas :

#### 4.3.1 Variabel Terikat

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis*.

#### 4.3.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah flavonoid ekstrak mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan beberapa macam konsentrasi.

### 4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSUD dr. Saiful Anwar Malang, proses pengekstrakan senyawa flavonoid dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Lama penelitian selama 3 bulan

### 4.5 Definisi Operasional

1. *Mycobacterium tuberculosis* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Strain H37Rv*.
2. Flavonoid ekstrak mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mahkota dewa yang didapatkan di perkebunan milik salah satu warga di daerah Lawang, Malang. Sediaan ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% dan dibuat dengan metode maserasi dari buah mahkota dewa yang telah dikeringkan dan dijadikan bentuk bubuk. Pembuatan ekstrak menggunakan buah mahkota dewa yang diekstrak dengan etanol 96%, lalu

dipisahkan antara filtrat dan residu. Filtrat kemudian dipartisi menggunakan n-heksana dan etanol 96% untuk menarik senyawa flavonoid dari filtrat. Hasil akhir berupa flavonoid berbentuk pasta.

3. Kontrol positif  $10^{-3}$  yaitu media *LowensteinJensen LJ* yang diinokulasi dengan suspensi dengan pengenceran  $10^{-3}$  dari *original inoculum* tanpa flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)
4. Kontrol positif  $10^{-5}$  yaitu media (*LJ*) yang diinokulasi dengan suspensi dengan pengenceran  $10^{-5}$  dari *original inoculum* tanpa flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)
5. Kontrol negatif yaitu media *LJ* tanpa inokulasi bakteri dan tanpa flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)
6. *Original Inoculum* adalah suspensi bakteri dengan konsentrasi 1 mg/ml atau Mc Farland 0.5-1.0, digunakan sebagai konsentrasi awal bakteri yang akan diencerkan sebelum diuji sensitivitasnya
7. Proporsi resistensi adalah hasil perbandingan antara jumlah koloni bakteri dalam media dengan penambahan flavonoid ekstrak buah mahkota dewa dan jumlah koloni pada kontrol positif dengan suspensi bakteri pengenceran yang sama
8. Resisten yaitu didapatkan proporsi resistensi lebih dari sama dengan 1 %
9. Sensitif yaitu didapatkan proporsi resistensi kurang dari 1%

#### 4.6 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat dan bahan

##### 4.6.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pipet, tabung reaksi, rak tabung, gelas ukur, *beaker glass*, petrisidik, pipa plastik, tabung

pendingin, labu evaporator, bak penampung hasil evaporasi, pompa sirkulasi air, pompa vakum, alat pemanas air, Erlenmeyer, corong Buchner, pengaduk, Bunsen, ose (diameter 3 mm), inkubator, *rotary evaporator*, timbangan analitik, korek api, autoklaf, spektrofotometer, Sentrifugator, botol Mc Cartney, mikroskop cahaya, masker, dan *handscoon*.

#### 4.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain buah mahkota dewa, pelarut etanol 96%, air, isolate *Mycobacterium tuberculosis*, media *Lowenstein jensen*, alkohol 70%, etanol 80%, NaCl, HCl, *carbol fuchsin*, alkohol asam, *methylene blue*, akuades, n-heksana, minyak inersi, kertas penghisap, kapas, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%

#### 4.7 Operasional Penelitian

##### 4.7.1 Pembuatan Ekstrak Buah Mahkota Dewa

###### 4.7.1.1 Tahap Pengeringan

1. Mencuci bersih buah mahkota dewa yang akan dikeringkan
2. Buah mahkota dewa dioven dengan suhu 80°C (bebas kandungan air)
3. Menggiling mahkota dewa untuk dijadikan bubuk

###### 4.7.1.2 Tahap Ekstraksi

1. Bubuk mahkota dewa ditimbang menggunakan timbangan
2. Kemudian bubuk simplisia direndam di dalam larutan etanol 96% di dalam toples dan diaduk sampai rata
3. Didiamkan selama 5 malam sampai mengendap
4. Dilakukan penyaringan dengan corong Buncher hingga didapatkan filtrat yang terpisah dari residu

5. Melakukan evaporasi dengan *rotary evaporator* untuk memisahkan filtrat dari pelarut
6. Memulai evaporasi dengan memasukkan filtrat pada labu yang berada diatas *waterbath*
7. Suhu *waterbath* dan kondensor diatur sesuai titik didih pelarut
8. Didapatkan ekstrak etanol mahkota dewa berupa cairan agak pekat

#### 4.7.2 Pemisahan Senyawa Flavonoid

##### 4.7.2.1 Partisi dengan n-heksana

Pemisahan pertama dilakukan dengan menggunakan n-heksana, dengan tujuan memisahkan lemak, pigmen, dan getah dalam ekstrak buah mahkota dewa.

Tahapan partisi dengan n-heksana yaitu:

1. Ekstrak etanol mahkota dewa disuspensikan dengan akuades
2. Memasukkan ekstrak etanol yang telah disuspensikan ke dalam corong pisah sebagai cairan lapis pertama
3. Menambahkan n-heksana sebanyak 1 liter sehingga terbentuk cairan lapis kedua
4. Cairan yang ada dalam corong pisah dikocok
5. Didiamkan beberapa menit hingga terbentuk endapan n-heksana dan endapan etanol
6. Lapisan etanol dan n-heksana dipisahkan dalam wadah terpisah
7. Endapan etanol diuapkan kembali dengan suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$
8. Hasil akhir didapatkan flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) berupa pasta

### 4.7.3 Identifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

Tes yang akan dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* adalah identifikasi koloni pada media *Lowenstein Jensen* dan pewarnaan *Ziehl Neelsen*.

#### 4.7.3.1 Identifikasi Koloni pada media *Lowenstein Jensen*

Isolate bakteri dari Laboratorium Mikrobiologi diambil satu koloni dengan menggunakan ose. Kemudian dibiakkan pada media *Lowenstein Jensen* sedemikian hingga dihasilkan koloni setelah diinkubasi selama 1 minggu. Setelah itu diamati karakteristik koloni bakteri.

#### 4.7.3.2 Pewarnaan *Ziehl Neelsen*

- a. Sediaan diambil dari pesimen sputum pasien dengan menggunakan ose atau lidi kapas
- b. Sediaan dikeringkan kemudian difiksasi dengan cara dilewatkan diatas api.
- c. Sediaan diberi tetesan carbol fuchsin dan dipanaskan diatas api Bunsen selama 5 menit kemudian dibilas dengan air
- d. Sediaan diberi tetesan alkohol asam dan ditunggu selama 3-5 detik kemudian dibilas dengan air
- e. Sediaan diberi tetesan *methylene blue* dan ditunggu selama 1 menit kemudian sisa *methylene blue* dibuang dan dibilas dengan air
- f. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap
- g. Sediaan dilihat dibawah mikroskop
- h. Hasil positif : *Mycobacterium tuberculosis* berwarna merah berbentuk batang



#### 4.7.3.3 Tes Kepekaan *P-Nitrobenzoid Acid* (PNB)

- a. Membuat medium LJ yang mengandung PNB 500mg/L
- b. Menginokulasikan suspensi bakteri pada media yang mengandung PNB
- c. Menginkubasi dengan suhu 37°C, dan mengamati setelah 28 hari
- d. *Mycobacterium tuberculosis* tidak akan tumbuh pada media LJ yang diberi PNB

#### 4.7.3.4 Tes Niacin

- a. Memilih media dengan pertumbuhan koloni paling sedikit 100 koloni (semakin banyak semakin baik) yang berumur 3-4 minggu
- b. Menggores permukaan media dengan ose
- c. Menambahkan 1 mL akuades
- d. Memanaskan media dengan autoklaf 121°C selama 30 menit dengan posisi miring sehingga seluruh permukaan media tergenangi akuades
- e. Menunggu hingga media dingin
- f. Mengambil cairan 0,5 mL dan memasukkan cairan tersebut dalam tabung reaksi
- g. Menambahkan 0,5 mL larutan chloramin T dan 0,5 mL KCN 1%
- h. Menunggu hingga 5 menit, kemudian mengamati perubahan warna
- i. Hasil positif jika terbentuk warna kuning

#### 4.7.3.5 Uji Imunokromatografi (dengan Antigen MPT64)

- a. Mengambil 200µL dapar, kemudian memindahkan ke dalam tabung
- b. Mengambil 3-5 koloni tersangka dengan sengkeli steril
- c. Memasukkan dalam tabung berisi dapar ekstraksi, mencampur dengan vortex kemudian dibiarkan 15 menit

- d. Mengambil 100 $\mu$ L suspensi kuman kemudian dimasukkan ke dalam lubang kit TBAg MPT64
- e. Menginkubasi selama 15 menit
- f. Hasil positif *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) kompleks jika tampak dua pita (pada garis C dan T), negatif jika tampak satu pita kontrol (pada garis C), dan tidak dapat diinterpretasi jika pita kontrol tidak tampak

#### 4.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

- a. Mempersiapkan bakteri MTB dari media *Lowenstein Jensen (LJ)* yang telah diuji konfirmasi
- b. Menyiapkan botol steril dan kemudian menimbang botol steril yang masih kosong tersebut
- c. Mengambil koloni bakteri menggunakan ose kemudian dimasukkan ke dalam botol steril yang telah ditimbang sebelumnya
- d. Menimbang botol yang telah diisi koloni *Mycobacterium tuberculosis* sebelumnya
- e. Menghitung berat bakteri; berat botol yang telah diisi koloni *Mycobacterium tuberculosis* dikurangi berat botol kosong
- f. Mempersiapkan suspensi bakteri dengan konsentrasi 1 mg/ml atau Mc Farland 0.5-1.0, apabila berat bakteri didapatkan x mg, maka ditambahkan akuades steril hingga volume x ml
- g. Menyiapkan 5 buah tabung reaksi steril (tabung I, II, III, IV, dan V)
- h. Masing-masing tabung diisi dengan 4.5 ml akuades steril
- i. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri konsentrasi 1 mg/ml kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi I dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran  $10^{-1}$

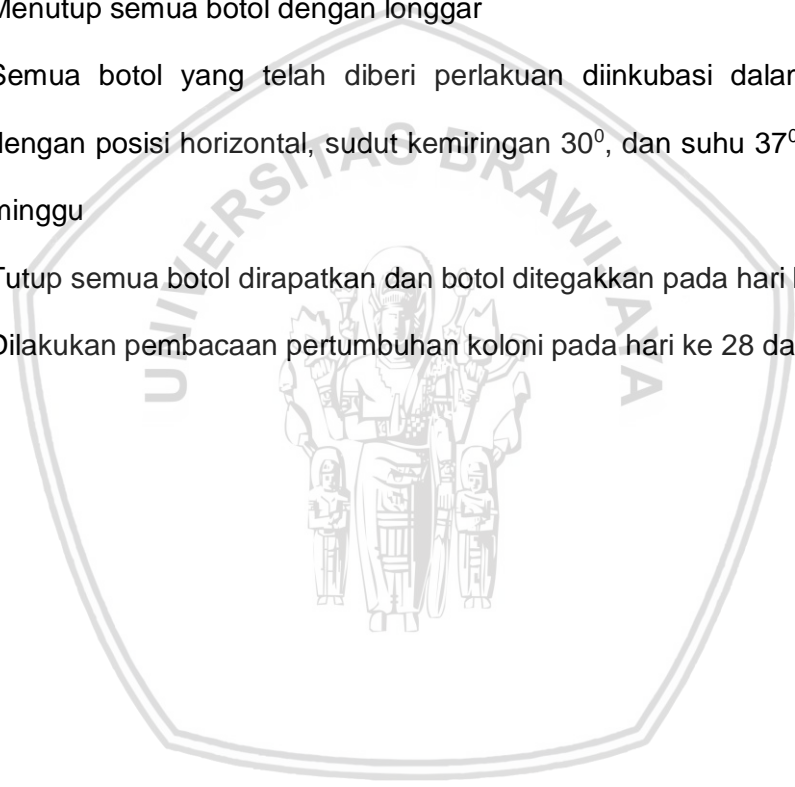
- j. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri pengenceran  $10^{-1}$  kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi II dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran  $10^{-2}$
- k. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri pengenceran  $10^{-2}$  kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi III dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran  $10^{-3}$
- l. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri pengenceran  $10^{-3}$  kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi IV dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran  $10^{-4}$
- m. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri pengenceran  $10^{-4}$  kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi V dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran  $10^{-5}$

#### 4.7.5 Uji Anti Bakteri

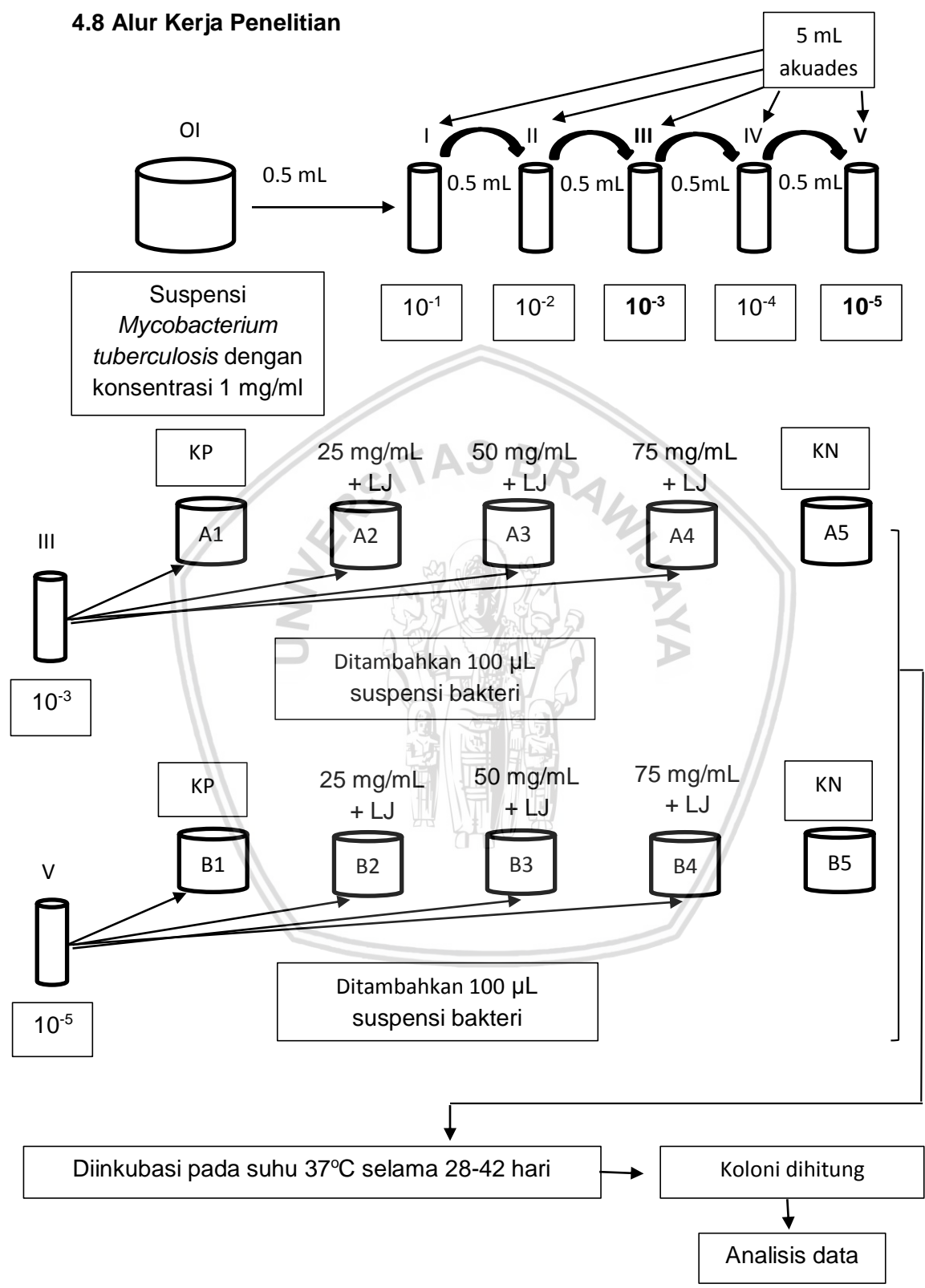
1. Menyiapkan 10 buah botol media LJ dengan label A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, B3, B4, dan B5
2. Botol A1, dan B1 sebagai kontrol positif tidak mengandung flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*)
3. Media pada botol A2 dan B2 mengandung flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan konsentrasi a mg/mL, media pada botol A3 dan B3 mengandung b mg/mL, dan media pada botol A4 dan B4 mengandung c mg/mL
4. Botol A5 dan B5 sebagai kontrol negatif berisi media LJ tanpa inokulasi bakteri
5. Mengambil 100  $\mu$ L suspensi bakteri pengenceran  $10^{-3}$ , kemudian diinokulasikan pada botol A1, A2, A3, dan A4 kemudian inokulum diratakan

pada seluruh permukaan media dengan menggerakkan botol perlahan-lahan

6. Mengambil 100  $\mu$ L suspensi bakteri pengenceran  $10^{-5}$  menggunakan tip baru dan diinokulasikan pada botol B1, B2, B3, dan B4 kemudian ratakan inokulum pada seluruh permukaan media dengan menggerakkan botol perlahan-lahan
7. Menutup semua botol dengan longgar
8. Semua botol yang telah diberi perlakuan diinkubasi dalam inkubator dengan posisi horizontal, sudut kemiringan  $30^{\circ}$ , dan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 8 minggu
9. Tutup semua botol dirapatkan dan botol ditegakkan pada hari berikutnya
10. Dilakukan pembacaan pertumbuhan koloni pada hari ke 28 dan 42



### 4.8 Alur Kerja Penelitian



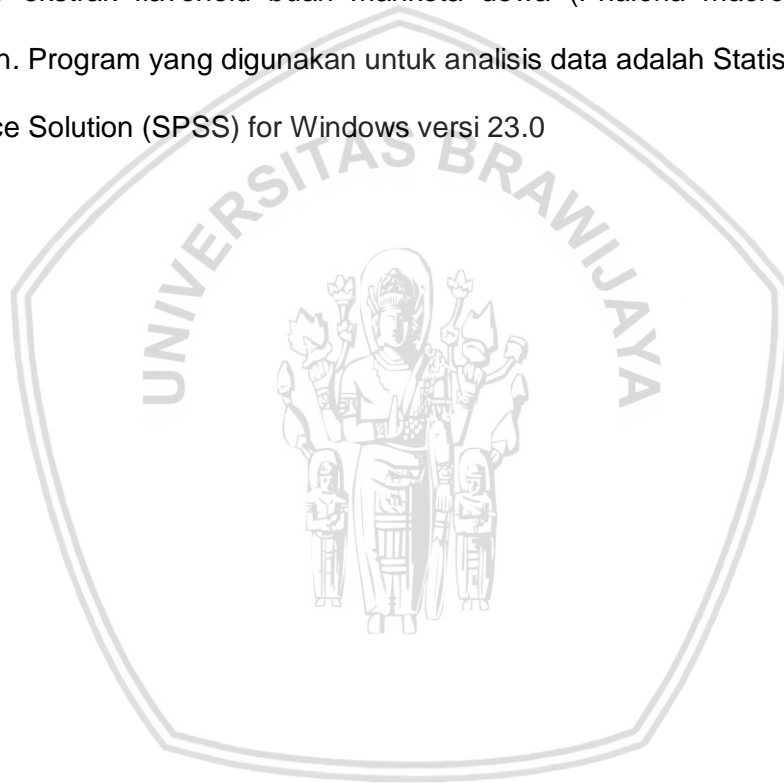
Gambar 4.1 Alur Penelitian Metode Proporsi

Keterangan : KP: Kontrol Positif, KN: Kontrol Negatif, OI: Original Inoculum



#### 4.9 Analisis data

Data dalam penelitian ini dianalisis menggunakan analisis kuantitatif statistik *One Way ANOVA*. Tetapi sebelumnya dilakukan uji distribusi dan homogenitas varian menggunakan *Shapiro-Wilk* terlebih dahulu. Uji statistik *one-way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ) digunakan untuk mendapatkan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terhadap ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang signifikan. Program yang digunakan untuk analisis data adalah Statistical Product of Service Solution (SPSS) for Windows versi 23.0



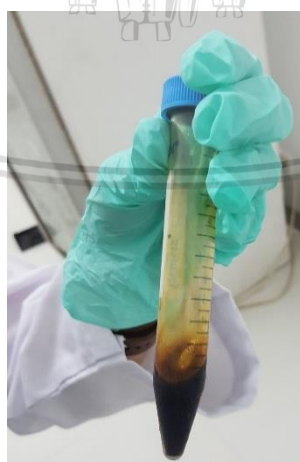
## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Hasil Penelitian

##### 5.1.1 Hasil Ekstraksi Flavonoid Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Ekstrak flavonoid yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari buah Mahkota Dewa sebanyak 4 kilo gram. Proses pengeringan berlangsung selama kurang lebih 2 hari dengan menggunakan oven pada suhu 80°C. Setelah proses pengeringan selesai, ekstrak diblender untuk dijadikan serbuk. Kemudian pada tahap ekstraksi serbuk Mahkota Dewa direndam dalam etanol 96% dan dilanjutkan dengan tahap evaporasi sehingga diperoleh ekstrak yang terpisah dengan pelarut. Setelah itu lemak dan getah dalam ekstrak Mahkota Dewa dipisahkan dengan partisi n-heksana, kemudian diuapkan dengan suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$ . Hasil akhir didapatkan flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) berupa pasta



Gambar 5.1 Hasil sampel ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*).

### 5.1.2 Hasil Identifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

Dalam penelitian ini digunakan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv yang dibeli dari BBLK (Balai Besar Laboratorium Kesehatan) Surabaya, kemudian dikembangbiakkan di Laboratorium Mikrobiologi RSUD Saiful Anwar dalam media LJ (*Lowenstein Jensen*), dan secara rutin dilakukan identifikasi uji mikroskopis dengan pengecatan ZN (*Ziehl Neelsen*), uji PNB (*Paranitro-Benzoic-Acid*), uji *Niacin* dan uji imunokromatografi (Antigen MPT64). Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dipakai dalam penelitian ini merupakan subkultur generasi ketiga.

Secara makroskopis koloni *Mycobacterium tuberculosis* dalam media LJ berwarna putih kekuning-kuningan, dengan permukaan kering dan rapuh dan tepi tidak beraturan seperti bunga kol. Pada pewarnaan ZN dan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x didapatkan gambaran basil tahan asam berwarna merah dan bergerombol. Dalam uji PNB pertumbuhan koloni dalam media LJ dihambat oleh PNB yang diamati setiap minggu dan setelah minggu keempat hingga minggu kedelapan tidak didapatkan pertumbuhan koloni. Didapatkan hasil positif dalam uji *niacin*, ditandai dengan terbentuknya warna kuning pada tabung reaksi. Sedangkan dalam uji imunokromatografi didapatkan hasil positif MTB kompleks ditandai dengan tampaknya 2 pita (pada garis C dan T) pada indikator TBAg MPT64 kit.

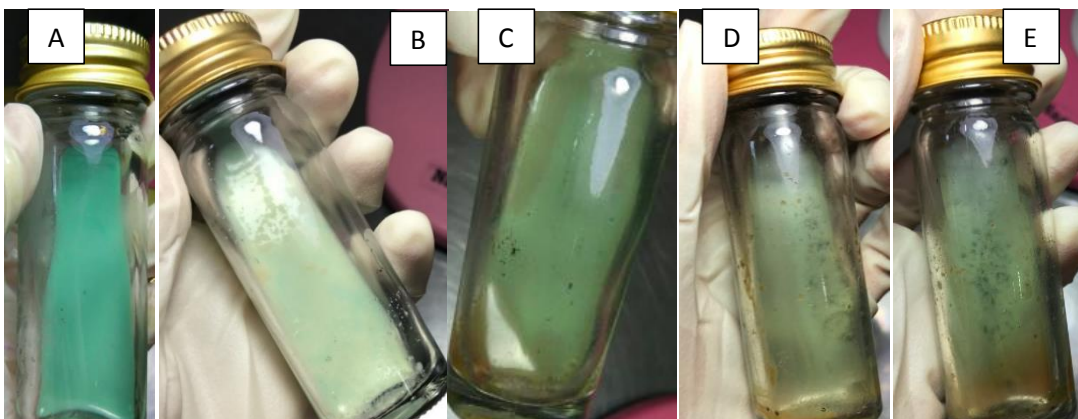


### 5.1.3 Hasil Pengamatan Koloni *Mycobacterium tuberculosis* dalam Media LJ

Dalam penelitian ini digunakan 3 macam konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa yaitu 25 mg/mL, 50 mg/mL, dan 75 mg/mL, dan dua konsentrasi suspensi bakteri, yaitu  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$  dari suspensi bakteri 0.5 McFarland. Sebagai kontrol negatif digunakan media LJ tanpa penambahan flavonoid ekstrak mahkotadewa dan tanpa inokulasi bakteri, dan sebagai kontrol positif digunakan media LJ tanpa penambahan flavonoid ekstrak mahkotadewa. Pengamatan pertumbuhan koloni kemudian dilakukan setiap minggu. Proporsi resistensi ditentukan dari pengamatan pertumbuhan koloni bakteri pada minggu keenam.



Gambar 5.2 Koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* suspensi 0,5 McFarland pengenceran  $10^{-3}$  minggu ke-6 pada medium LJ; A. Kontrol negatif; B. Kontrol positif; C. Pemberian ekstrak konsentrasi 25 mg/ml; D. Pemberian ekstrak konsentrasi 50 mg/ml; E. Pemberian ekstrak konsentrasi 75 mg/ml.



Gambar 5.3 Koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* suspensi 0,5 McFarland pengenceran  $10^{-5}$  minggu ke-6 pada medium LJ; A. Kontrol negatif; B. Kontrol positif; C. Pemberian ekstrak konsentrasi 25 mg/ml; D. Pemberian ekstrak konsentrasi 50 mg/ml; E. Pemberian ekstrak konsentrasi 75 mg/ml.

Tabel 5.1 Hasil dari perhitungan jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada minggu ke-6

Suspensi Bakteri	Konsentrasi	Pengulangan					
		1	2	3	4	5	6
$10^{-3}$	Kontrol -	0	0	0	0	0	0
	Kontrol +	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	25 mg/mL	2	3	2	0	Kontaminasi	Kontaminasi
	50 mg/mL	2	0	1	0	Kontaminasi	Kontaminasi
$10^{-5}$	75 mg/mL	0	0	0	0	0	0
	Kontrol +	100	50	100	19	13	8
	25 mg/mL	0	0	0	0	Kontaminasi	Kontaminasi
	50 mg/mL	0	0	0	0	0	Kontaminasi
	75 mg/mL	0	0	0	0	0	0

#### 5.1.4 Hasil Uji Proporsi Resistensi Koloni *Mycobacterium tuberculosis*

Metode proporsi dilakukan berdasarkan pemikiran bahwa pada setiap strain yang sensitif terdapat beberapa kuman yang resisten. Beberapa kuman yang resisten ini akan berkembang biak dan menjadi populasi yang resisten terhadap obat apabila jumlahnya tidak kurang dari 1% dari total bakteri awal.

Metode ini dilakukan dengan cara membandingkan jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada media padat LJ dengan flavonoid ekstrak buah Mahkotadewa dan jumlah koloni pada kontrol (+).

Berdasarkan data yang didapatkan dari penghitungan koloni yang tumbuh pada minggu ke-6, ditemukan bahwa bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sensitif terhadap ketiga konsentrasi yang diujikan yaitu 25 mg/mL, 50 mg/mL, dan 75 mg/mL. Hasil penghitungan dengan menggunakan metode proporsi diuraikan dalam tabel berikut dalam bentuk persentase:

Tabel 5.2 Hasil dari perhitungan proporsi resistensi koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada minggu ke-6

Pengulangan	Konsentrasi		
	25 mg/mL	50 mg/mL	75 mg/mL
1	0,02%	0,02%	0%
2	0,06%	0%	0%
3	0,02%	0,01%	0%
4	0%	0%	0%
5	Kontaminasi	Kontaminasi	0%
6	Kontaminasi	Kontaminasi	0%
Rata-rata	0,025%	0.0075%	0%
<b>Interpretasi</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>

Keterangan tabel:

S : Sensitif, didapatkan hasil perhitungan rata-rata proporsi resistensi <1%

R : Resisten, didapatkan hasil perhitungan rata-rata proporsi resistensi >1%

(Sandjaja, 1992)

## 5.2 Analisis Data

### 5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan *software* SPSS for Windows versi 23.0, hasil signifikansi dari uji normalitas Shapiro-Wilk adalah  $p > 0,05$  untuk semua konsentrasi yang berarti data berdistribusi normal. Dari hasil uji homogenitas Levene didapatkan nilai sig  $p = 0,021$  ( $p < 0,05$ ) yang berarti bahwa data bervariasi sama. (Lampiran 4)

### 5.2.2 Uji *One-way Anova*

Syarat untuk melakukan uji komparatif *One-way Anova* adalah data berdistribusi normal dan homogen. Hasil dari uji *One-way Anova* adalah sig  $p = 0,054$  ( $p > 0,05$ ) pada perubahan konsentrasi flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap proporsi resistensi *Mycobacterium tuberculosis*, artinya hasil penelitian tidak signifikan. (Lampiran 5)

### 5.2.3 Uji Post Hoc Tukey

Uji perbandingan Post Hoc Tukey dilakukan untuk mengetahui perbandingan konsentrasi ekstrak dan proporsi resistensi bakteri yang signifikan. Didapatkan hasil signifikansi  $p = 0,046$  pada perbandingan konsentrasi 75 mg/mL dan 25 mg/mL ( $p < 0,05$ ), artinya hasil perbandingan kedua konsentrasi tersebut signifikan. Didapatkan nilai signifikansi  $p > 0,05$  pada hasil perbandingan konsentrasi yang lain. (Lampiran 6)

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini digunakan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv yang dibeli dari BBLK (Balai Besar Laboratorium Kesehatan) Surabaya, kemudian dikembangbiakkan di Laboratorium Mikrobiologi RSUD Saiful Anwar dalam media LJ (*Lowenstein Jensen*). Buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang digunakan berasal dari perkebunan di daerah Lawang, Malang. Pelarut etanol 96% digunakan dalam penelitian ini karena dalam etanol 96% kandungan air sangat sedikit sehingga dapat dihasilkan ekstrak yang lebih kental dan murni, dibandingkan dengan etanol 70% dan etanol 50% dengan perbandingan alkohol dan air yang lebih kecil (Arifianti, 2014).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode proporsi resistensi, karena metode ini lebih umum dipakai, dikenal luas, dan direkomendasikan oleh WHO dalam 50 tahun terakhir terkait resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap obat (Stroup *et al.*, 2014). Semakin rendah konsentrasi flavonoid ekstrak mahkotadewa yang dapat mencapai proporsi resistensi <1%, semakin tinggi efektifitas flavonoid ekstrak mahkotadewa sebagai antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Konsentrasi awal yang dipakai dalam penelitian pendahuluan adalah 5 mg/mL, 25 mg/mL, dan 50 mg/mL. Pada minggu keenam ditemukan proporsi resistensi >1% pada ketiga konsentrasi, yaitu 200% pada 5 mg/mL, 30% pada 25 mg/mL, dan 16% pada 50 mg/mL, sehingga diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi pada percobaan berikutnya.

Pada percobaan berikutnya digunakan konsentrasi 25 mg/mL, 50 mg/mL, dan 75 mg/mL. Setelah itu dilakukan pengulangan sebanyak 6x untuk tiap

konsentrasi. Dari hasil penelitian didapatkan proporsi resistensi <1% pada ketiga konsentrasi. Namun hasil ini berlawanan dengan hasil penelitian pendahuluan, bakteri uji resisten terhadap konsentrasi 25 mg/mL dan 50 mg/mL pada penelitian pendahuluan, tetapi sensitif pada percobaan ini. Diduga hal ini disebabkan kualitas telur bebek yang digunakan sebagai salah satu bahan media LJ pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan penelitian pendahuluan, sehingga mempengaruhi tingkat kesuburan media.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) mampu menghambat pertumbuhan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara in vitro, namun hasil tidak signifikan. Konsentrasi flavonoid ekstrak mahkotadewa yang dibutuhkan agar tercapai proporsi resistensi <1%, 1000x lebih pekat jika dibandingkan dengan konsentrasi Obat Anti Tuberkulosis (OAT) yang biasa dipakai dalam tes sensitivitas obat (streptomycin 4 µg/mL, isoniazid 0.2 µg/mL, rifampicin 40 µg/mL, dan ethambutol 2 µg/mL). Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hendra (2011) tentang efek antimikrobia flavonoid ekstrak mahkotadewa terhadap beberapa bakteri gram positif, bakteri gram negatif, dan fungi dengan tingkat efektivitas rentang lemah hingga sedang. Beberapa di antaranya yaitu, *Aspergillus niger*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Fusarium oxysporum*, *Ganoderma lucidum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mucor indicus*, *Micrococcus luteus*, dan *Staphylococcus aureus*. Ditunjukkan dalam penelitian ini bahwa ekstrak flavonoid buah mahkota dewa dapat berfungsi sebagai antimikroba berspektrum luas dengan tingkat efektivitas rentang lemah hingga sedang.

Telah dilakukan penelitian tentang efektivitas aktivitas antimikobakterial dari beberapa ekstrak tanaman obat-obatan suku Indian. Ditemukan kandungan alkaloid paling tinggi dalam ekstrak solvent daun *A. paniculata* yang memiliki aktivitas antimikobakterial paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak solvent tanaman obat lainnya yaitu, batang *Amorphophyllus sylvaticus*, batang *Corallocarpus epigaeus*, batang *Dioscorea oppositifolia*, batang *Discroia pentaphylla*, batang *Dioscorea bulbifera*, batang *Dioscorea hispida*, tanaman utuh *Enicostema axillare*, batang *Gloriosa superba*, dan buah mentah *Morinda citrifolia*. Aktivitas antimikobakterium yang dimiliki diduga karena banyaknya kandungan fitokimia seperti alkaloids, flavonoid, saponin, tannin, dan komponen phenolic alami yang lain, atau kelompok hidroksil bebas yang diklasifikasikan sebagai agen antimikroba aktif. Dalam penelitian ini juga dibahas potensi alkaloid sebagai agen mikobakterial (Rajesh & Arcana, 2017). Rendahnya efektivitas flavonoid Mahkotadewa dalam menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan kurangnya aktivitas antimikobakterial flavonoid sebagai agen tunggal.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Garmana *et al.* (2011) tentang aktivitas ekstrak beberapa tumbuhan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur Sensitif dan Resisten, didapatkan *crude* ekstrak etanol rimpang kencur dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* galur HE dan SR pada konsentrasi 100 µg/mL media. Efek anti mikroba *crude* ekstrak etanol rimpang kencur terhadap *M. tuberculosis* lebih tinggi dibandingkan flavonoid ekstrak buah mahkota dewa jika dilihat berdasarkan konsentrasi hambatnya. Hal ini kemungkinan disebabkan senyawa lain dalam *crude* ekstrak seperti alkaloid, saponin, dan tanin memiliki efek anti mikroba lebih baik dibandingkan flavonoid.

Aktivitas antimikroba yang dimiliki senyawa flavonoid seperti kaempferol, myricetin, naringin, quercetin dan rutin di dalam mahkota dewa dapat terjadi dalam beberapa mekanisme kerja. Kerusakan pada membran sitoplasma mikroba diakibatkan adanya ikatan hidrogen yang dibentuk oleh kompleks flavonoid dengan protein mikroba, sehingga terjadi denaturasi protein pada membran sitoplasma mikroba. Proses sintesis asam nukleat terganggu karena adanya hambatan pada enzim RNA polimerase dan enzim DNA girase. Enzim ini bekerja dalam proses sintesis RNA dan proses replikasi DNA. Hasilnya terjadi hambatan pertumbuhan pada mikroba. Selain itu mekanisme antimikroba yang dimiliki flavonoid adalah hambatan pada metabolisme sel bakteri. Metabolisme adalah proses pemecahan bahan baku menjadi energi untuk beraktivitas, jika proses metabolisme diganggu, kelangsungan hidup mikroba juga akan terganggu (Hendra, 2011). Namun faktor virulensi dan pertahanan yang dimiliki *Mycobacterium tuberculosis* lebih kuat dibandingkan patogen yang lain, seperti *envelope* dinding sel yang sangat kompleks dan lipoglikan pada permukaan sel, sehingga permeabilitas dinding sel yang sangat rendah (Forrellad *et al.*, 2013).

Kekurangan dari penelitian ini adalah flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang digunakan sudah disimpan lama dengan keadaan beku dalam *freezer* lebih dari 6 bulan, sehingga kemungkinan hal tersebut berpengaruh terhadap potensi antimikroba yang dihasilkan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kusuma, dkk.(2017) didapatkan lama penyimpanan ekstrak daun sirih hijau (*piper betle L.*) berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Selain itu dalam penelitian ini penghitungan koloni *Mycobacterium tuberculosis* dilakukan secara manual dengan mata telanjang, sehingga terjadi



kesulitan dalam penghitungan apabila koloni konfluens, dan hasil penghitungan menjadi tidak objektif. Ekstrak yang sudah dipipet dalam botol juga terkadang tidak bisa langsung dicampur dengan media LJ karena kesulitan dalam persiapan bahan media. Lokasi penyimpanan flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) berbeda dengan lokasi penelitian, sehingga botol dan botol berisi ekstrak harus dibawa dengan kendaraan, sehingga terjadi peningkatan kemungkinan kontaminasi. Pada 2 pengulangan terakhir dari penelitian ini terdapat kontaminasi pada beberapa sampel penelitian. Namun karena keterbatasan waktu dan biaya, pengulangan kembali tidak dilakukan.

Selain itu biaya untuk melakukan ekstrak flavonoid dan biaya yang diperlukan untuk metode proporsi pada penelitian ini cukup mahal dan lama, sehingga diperlukan metode pengekstrakan lain dengan hasil yang sama atau lebih bagus dengan harga yang lebih murah, dan alternatif metode lain yang lebih hemat biaya, bahan, dan waktu.

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa flavonoid ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*.

#### 7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah :

- a. Perlu dilakukan penelitian dengan metode lain yang lebih cepat dan ekonomis dibandingkan metode proporsi media padat LJ untuk melakukan uji efektifitas anti bakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*
- b. Perlu digunakan cara penghitungan koloni yang lebih objektif untuk menghindari bias, misalnya dengan penggunaan tween 80 atau glass bead
- c. Dapat dilakukan uji antibakteri dengan zat aktif lain yang terdapat pada buah mahkota dewa, seperti tanin, alkaloid, saponin
- d. Dapat dipertimbangkan untuk menggunakan flavonoid yang belum lama di produksi, untuk menghindari kemungkinan terpengaruhnya potensi anti mikroba
- e. Dapat dipertimbangkan untuk melakukan penelitian dalam lokasi yang sama atau berdekatan, sehingga resiko kontaminasi dapat diturunkan, dan waktu pengerjaan lebih efektif

## DAFTAR PUSTAKA

- Altaf R., Asmawi MZ., Dewa A., Sadikun A., Umar MI. Phytochemistry and medicinal properties of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Extracts. *Pharmacognosy reviews*. 2013. 7: 73-80.
- Aryal S. Cultural Characteristics of *Mycobacterium tuberculosis*. 2017. <http://bacteriologynotes.com/cultural-characteristics-of-mycobacterium-tuberculosis/>. Diakses tanggal 2 Desember 2017.
- Ao C., Li A., Elzaawely AA., Xuan TD., Tawata S. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Ficus microcarpa* L. fil. extract. *Food Control*. 2008. 19: 940–948.
- Ariani D. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mahkota (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Gambaran Histopatologis Hepar Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang Diinduksi 7,12-Dymethylbenz(α)Anthracene (DMBA). Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. 2014.
- Arifianti L. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi terhadap Kadar Sinensetin dalam Ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* benth. E-journal Planta Husada vol. 2 no.1. 2014.
- Asri S. Masalah Tuberkulosis Resisten Obat. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. *CDK-215*. 2014. 41 (4): 247-249
- Budijanto D., Hardhana B., Yudianto MM., Soenardi T. Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia. *Kementrian Kesehatan RI*. 2017. 6: 114.

- Burkill IH., A Dictionary of the Economic Products of the Malay Penninsula. *Ministry of Agriculture and Co-operatives*. 1988. 2: 1732.
- Converse SE, Mougous JD, Leavell MD, Leary JA, Bertozzi CR, Cox JS. MmpL8 is required for sulfolipid-1 biosynthesis and Mycobacterium tuberculosis virulence. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003. 100: 6121-6.
- Cushnie TPT., Cushnie B. and Lamb AJ. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2014. 44(5): 377–386. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001.
- Dewanti W., Wulan SN., dan Nur I., Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Produk Kering, Instan, dan Efferscent dari Buah Mahkota (Phaleria macrocarpa). *Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian UNIBRAW, Malang*. 2005. 6 (1): 29-36.
- Dinihari TN., Siagian V. Pedoman Nasional Pengendalian Tuberkulosis. *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan*. 2014. 3: 20.
- Farrar J., Hottez jP., Junghanss T., Kang G., Lalloo D., White N. Manson ' s Tropical Diseases. *Elsevier Saunders*. 2014. 23: 468-505.
- Flyn JL.,Chan J., Lin, PL. Macrophages and Control of Granulomatous Inflammation in tuberculosis. *Mucosal immunol*. 2011. (4): 271-278.
- Forrellad MA., et al. Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex. 2013. pp.3–66.

Garmana AN., Sukandar EY., & Fidrianny I. Uji Aktivitas Ekstrak beberapa Tumbuhan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur Sensitif dan Resisten. 2011. XXXVI(3), pp.35–39.

Girsang M. *Mycobacterium* Penyebab Penyakit Tuberculosis Serta Mengenal Sifat-sifat Pertumbuhannya di Laboratorium. *Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Litbang Kesehatan Jakarta*. 2014.

Girsang M. Panduan Pengenalan Penyakit TBC bagi Siswa-Siswi di Sekolah Menengah Atas (SMA). 2009. Barry CE, 3rd. Interpreting cell wall 'virulence factors' of *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol.* 2001. 9:237-41.

Hardy. 2009. *Mycobacterium tuberculosis* in 7H9 Middlebrook broth. [https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/Content/hugo/Middlebrook7H11Agar.htm](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/Middlebrook7H11Agar.htm). Diakses tanggal 5 April 2017.

Harmanto N. Mahkota dewa, obat pusaka dewa. *Jakarta: Penerbit Agromedia Pustaka*. 2003. Halaman 19.

Hendra R., Ahmad S., Sukari A., Shukor MY., and Oskoueian E. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *Int. J. Mol. Sci.* 2011. 12: 3422-3431.

Jawetz, Melnick, Adelberg's, Karen C, Janet S, et al. *Medical Microbiology* 27 th Ed. *McGraw-Hill Education, New York*. 2016. 23: 309-317.

Simner P., Hyle E., Buckwalter S., et al. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014. <http://jcm.asm.org/content/52/12/4414/F1.expansion.html>. Diakses 2 Desember 2017.

Kumar B., Lakshman K., Jayaveera K., Krishna N., Manjunath M., Suresh M. Estimation of rutin and quercetin in *Amaranthus viridis* Linn by HPLC. *Asian J. Exp. Sci.* 2009. 23: 51–54.

Kusuma MS., Susilorini TE., Surjowardojo P. Pengaruh Lama dan Suhu Penyimpanan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle linn*) dengan Akuades terhadap Daya Hambat Bakteri *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *Journal of Tropical Animal Production*. Vol 18, No. 2 pp. 9-16, Desember 2017.

Managoli N. Implantable Medical Devices Comprising a Flavonoid or Derivative Thereof for Prevention of Restenosis. 2010. <https://patents.google.com/patent/US20100068238>. Diakses 2 Desember 2017.

Maslarova NV. Yanishlieva. Antioxidants in food, Practical applications. Woodhead Publishing Limited, Cambridge: 22-70. 2001.

Noorhamdani, dkk. Bakteriologi Medik, Bakteri Tahan Asam. *Laboratorium Mikrobiologi FKUB, Malang*. 2016. 2: 225 – 228.

Rajesh N., & Archana D. Natural Products Chemistry & Anti-mycobacterial Activity of Selected Indian Botanicals Using Surrogate Mycobacterium Strains. 2017. 5(5).

Ram R., Uppin S., Swarnalatha G., Desai M., Harke M., & Prasad N. Isolated skin ulcers due to Mycobacterium tuberculosis in a renal allograft recipient. *Nature Clinical Practice Nephrology*. 2007. 3:688–693.

Ramirez-Lapausa M., Menendez-Saldana A., Noguerado-Asensio A. Extrapulmonary tuberculosis : an overview. *Rev Esp Sanid Penit*. 2015. 17: 3-11.

- Rukmini W., Chatarina U. Kejadian TB Paru Dewasa di Indonesia (Analisis Data Riset Kesehatan dasar tahun 2010). *Pusat Humaniora, Kebijakan Kesehatan dan Pemberdayaan Masyarakat, Badan Litbangkes Kementerian Kesehatan RI, Surabaya*. 2011. 320-331.
- Russel DG. Mycobacterium tuberculosis and the Intimate Discourse of a Chronic Infection. *Mucosal immunol*. 2011. (240): 252-268.
- Sandjaja B. Isolasi dan Identifikasi Mikobakteria. *Widya Medika*. 1992. 91-93.
- Slayden RA., Barry CE. Analysis of the Lipids of Mycobacterium tuberculosis. *Methods Mol Med*. 2001;54:229-45.
- Stroup S. *et al*. Discordance across Several Methods for Drug Susceptibility Testing of Drug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Isolates in a Single Lab. 2014. 52(1), pp.156–163.
- Tanto C., Liwang F., Hanifati S. Kapita Selektta Kedokteran. *Media aesculapius*. 2014. 4 (26): 826-832.
- Tri WA., Ismail MA., Eko S., Shafiur MR. Effect of Aloe vera and Crown of God Fruit (Phaleria macrocarpa) on Sensory, Chemical, and Microbiological Attributes of Indian mackerel (*Restrel-liger neglectus*) during Ice sto. *International Food Res J*. 2012. 1: 119-125.
- World Health Organization. Tuberculosis Global Report. 2016.
- Yossie A., Effendy MAW., Sifzizul TMT., Habsah M. Anti Bacterial, Radical Scavenging Activities and Cytotoxicity Properties of Phaleria macrocarpa. *Int J Pharmac Sci Res*. 2011. 2: 1700-1706.