

**UJI POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT SALAK PONDOH
(*Salacca zalacca*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP
BAKTERI *Proteus mirabilis***

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Anak Agung Gede Prahadita

NIM 155070100111038

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAK KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tinjauan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Klinis.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Proteus mirabilis</i>	5
2.1.1 Taksonomi <i>Proteus mirabilis</i>	6



2.1.2 Struktur Antigen	6
2.1.3 <i>Proteus mirabilis</i> pada Media Perkembangbiakan.....	7
2.1.4 Manifestasi Klinis ISK oleh <i>Proteus mirabilis</i>	8
2.2 Tanaman <i>Salacca zalacca</i>	8
2.2.1 Karakteristik Umum.....	8
2.2.2 Klasifikasi Tanaman <i>Salacca zalacca</i>	9
2.2.3 Kandungan Kimia <i>Salacca zalacca</i>	10
2.2.4 Peran Ekstrak Kulit Buah <i>Salacca zalacca</i>	10
2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dari Bahan Alam.....	12
2.4 Cara Kerja Antimikroba	13
2.4.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel.....	13
2.4.2 Menghambat Fungsi Membran Sel.....	14
2.4.3 Menghambat Sintesis Protein.....	14
2.4.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat.....	15
2.4.5 Inhibisi Sintesis Metabolit Esensial.....	15
2.5 Uji Kepekaan Bakteri.....	15
2.5.1 Metode Dilusi Agar	15
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	16
3.1 Kerangka Konsep	16
3.2 Hipotesis Penelitian.....	17
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	18
4.1 Rancangan Penelitian	18
4.2 Sampel Penelitian	18
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	19
4.4 Variabel Penelitian	19



4.4.1 Variabel Bebas.....	19
4.4.2 Variabel Tergantung.....	19
4.5 Definisi Operasional.....	20
4.6 Alat dan Bahan	21
4.6.1 Alat untuk Pembuatan Ekstrak Kulit <i>Salacca zalacca</i>	21
4.6.2 Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Kulit <i>Salacca zalacca</i>	21
4.6.3 Alat untuk Identifikasi Bakteri	21
4.6.4 Bahan untuk Identifikasi Bakteri	22
4.6.5 Alat untuk Tes Kepekaan Bakteri	22
4.7 Prosedur Penelitian.....	22
4.7.1 Pembuatan Ekstrak <i>Salacca zalacca</i>	22
4.7.2 Identifikasi <i>Proteus mirabilis</i>	24
4.7.3 Pembuatan Suspensi <i>Proteus mirabilis</i>	26
4.7.4 Penelitian Pendahuluan	27
4.7.5 Uji Sensitivitas Antimikroba.....	28
4.8 Alur Penelitian.....	29
4.9 Analisis Data.....	29
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	31
5.1 Hasil Penelitian	31
5.1.1 Identifikasi Bakteri.....	31
5.1.2 Hasil Uji Efek Anti Bakteri.....	31
5.2 Analisis Data.....	35
5.2.1 Uji Kruskal Wallis	36
5.2.2 Uji Mann Whitney	37
5.2.3 Uji Korelasi Spearman.....	38

BAB 6 PEMBAHASAN.....	39
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian	39
BAB 7 PENUTUP.....	44
7.1 Kesimpulan	44
7.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN	49



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bakteri <i>Proteus mirabilis</i> dengan pengecatan Gram.....	5
Gambar 2.2 <i>Proteus mirabilis</i> pada <i>Blood Agar Plate</i>	6
Gambar 2.3 <i>Salacca zalacca</i>	10
Gambar 3.1 Kerangka Konsep senyawa aktif kulit <i>Salacca zalacca</i> dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Proteus mirabilis</i>	16
Gambar 4.1 Skema alur penelitian.....	29
Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Pendahuluan Uji Dilusi Agar Ekstrak Etanol Kulit <i>Salacca zalacca</i> konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, dan 15% menghasilkan KHM di antara konsentrasi 10% dan 12,5%.....	32
Gambar 5.2 Hasil Pengamatan Lanjutan Uji Dilusi Agar Ekstrak Etanol Kulit <i>Salacca zalacca</i> konsentrasi 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13% .	33
Gambar 5.3 Grafik pengaruh konsentrasi ekstrak etanol kulit <i>Salacca zalacca</i> terhadap pertumbuhan koloni bakteri <i>Proteus mirabilis</i>	35

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Pertumbuhan Koloni Bakteri *Proteus mirabilis* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol *Salacca zalacca* 34

Tabel 5.2 Hasil Uji Shapiro-Wilk 36

Tabel 5.3 Hasil Uji Kruskal-Wallis 36

Tabel 5.4 Hasil Uji Mann Whitney 37

Tabel 5.5 Hasil Uji Korelasi Spearman 38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. VITEK <i>Proteus mirabilis</i> yang didapat dari RS. Dr. Saiful Anwar ...	49
Lampiran 2. Hasil Uji Shapiro-Wilk.....	50
Lampiran 3. Hasil Uji Kruskal-Wallis	50
Lampiran 4. Hasil Uji Korelasi Sperm.....	50



DAFTAR SINGKATAN

CFU	: Colony-Forming Unit
CLED	: <i>Cystine Lactose Electrolyte Deficient</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
GIT	: <i>Gastrointestinal Tract</i>
ISK	: Infeksi Saluran Kemih
KHM	: Kadar Hambat Minimum
mRNA	: <i>messenger Ribonucleic Acid</i>
NAP	: <i>Nutrient Agar Plate</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
tRNA	: <i>transfer Ribonucleic Acid</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR

UJI POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT SALAK PONDOH (*Salacca zalacca*)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *Proteus mirabilis*

Oleh :
Anak Agung Gede Prahadita
155070100111038

Telah diuji pada
Hari : Senin
Tanggal : 15 April 2019
Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Arief Alamsyah, MARS.
NIP. 197802192006041002

Pembimbing I/Penguji II

Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso.
DTM&H, Sp.MK(K)
NIP. 194812201980021002

Pembimbing II/Penguji III

dr. Ungky Agus Setyawan, Sp.P.
NIP/NIK. 2016097908191001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran



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

ABSTRAK

Prahadita, Anak Agung Gede. 2019. *Uji Potensi Ekstrak Etanol Kulit Salak Pondoh (Salacca zalacca) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri Proteus mirabilis*. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK(K) (2) dr. Ungky Agus Setyawan, Sp.P.

Infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling utama di Indonesia. Untuk mengobati penyakit infeksi diperlukan pemberian antibiotik yang kompatibel dengan mikroba yang menginfeksi tubuh pasien. Dengan meningkatnya tingkat resistensi obat yang tersedia, maka diperlukan adanya alternatif obat yang tersedia terutama dari bahan-bahan alami yang tersedia secara melimpah, contohnya adalah dari kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*). Kulit salak pondoh mengandung beberapa senyawa aktif alkaloid, flavonoid, dan tanin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya efek antimikroba dari bahan alami berupa kulit salak pondoh terhadap bakteri *Proteus mirabilis*. Metode penelitian ini adalah penelitian *in vitro* dengan menggunakan uji dilusi agar. Ekstraksi kulit salak pondoh menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Konsentrasi dari ekstrak etanol kulit salak pondoh yang diteliti adalah 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13% dengan sampel bakteri *Proteus mirabilis* yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi RS. Dr. Saiful Anwar Malang. Konsentrasi bakteri *Proteus mirabilis* yang dipakai dalam penelitian ini adalah 10^6 CFU/ml. Hasil dari penelitian adalah didapatkan Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol kulit salak pada konsentrasi 12%. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit salak dapat menurunkan tingkat pertumbuhan bakteri secara signifikan ($p=0,000$) dan terdapat korelasi yang kuat antara peningkatan konsentrasi dengan tingkat penurunan pertumbuhan bakteri ($r= -0,926$). Dari hasil penelitian tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol kulit salak pondoh memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Proteus mirabilis*.

Kata Kunci: antimikroba, Kadar Hambat Minimum (KHM), *Proteus mirabilis*, *Salacca zalacca*.

ABSTRACT

Prahadita, Anak Agung Gede. 2019. *The Potency Test of Ethanol Extract of Salak Pondoh Skin (Salacca zalacca) as Antimicrobial Agent to Proteus mirabilis*. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK(K), (2) dr. Ungky Agus Setyawan, Sp.P.

Infection is one of the primary health issues in Indonesia. To treat the infection, it is necessary to provide antibiotics compatible with microbes that infect patient's body. As the available drug resistance level increasing, it is necessary to research the alternative drug mainly from abundant natural resource, for example, salak pondoh skin (*Salacca zalacca*). Active substances that contained in salak pondoh skin are alkaloids, flavonoids, and tannins. The goal of this experiment was to prove the antimicrobial effect from natural ingredients, salak pondoh skin, against *Proteus mirabilis*. Method used in this experiment is in vitro agar dilution test. This experiment used maceration method to extract salak pondoh skin with 96% ethanol solvent. The ethanol extract of salak pondoh skin concentration studied were 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, and 13% with *Proteus mirabilis* sample taken from Microbiology Laboratory of Dr. Saiful Anwar Malang Hospital. The concentration of *Proteus mirabilis* was 10^6 CFU/ml. The result of this experiment was Minimum Inhibitory Concentration (MIC) at 12% ethanol extract of salak pondoh skin. Statistical analysis showed that ethanol extract of salak pondoh skin can significantly reduced the bacterial growth rate ($p=0,000$) and there was a strong correlation between the increasing concentration with the reduced growth rate ($r= -0,926$). From the results of this experiment, it can be concluded that the ethanol extract of salak pondoh skin has antimicrobial effects on *Proteus mirabilis*.

Keywords: antimicrobial, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), *Proteus mirabilis*, *Salacca zalacca*.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu masalah utama di Indonesia dalam bidang kesehatan adalah masalah infeksi. Infeksi masih sering dihadapi oleh dokter, perawat, dan tenaga kesehatan baik di dalam rumah sakit maupun di luar rumah sakit. Bakteri sangat mudah sekali menular dari satu orang ke orang lain, terutama di tempat-tempat pelayanan kesehatan. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri dengan jenis *Enterobacteriaceae* terutama spesies *Proteus mirabilis* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK). Penyakit ini masih banyak dijumpai di berbagai negara di dunia, termasuk Indonesia dan bisa berakibat fatal jika menginfeksi penderita dengan sistem imun yang rendah dan tidak ditangani dengan benar. Menurut WHO dalam Safitri (2013), ISK merupakan penyakit infeksi tersering kedua setelah infeksi saluran pernapasan dan insidennya sebanyak 8,3 juta kasus dilaporkan per tahun. Indonesia menempati urutan ke empat terbesar setelah Cina, India, dan Amerika Serikat. Sementara Penduduk Indonesia yang menderita ISK diperkirakan sebanyak 222 juta jiwa (Depkes RI, 2014).

Bakteri yang paling banyak menyebabkan infeksi nosokomial adalah bakteri *Proteus mirabilis* (Noorhamdani *et al.*, 2015). Bakteri *Proteus mirabilis* merupakan bakteri fakultatif anaerob berbentuk batang Gram negatif. Bakteri *Proteus mirabilis* normalnya paling banyak ditemukan di saluran pencernaan manusia. Selain di saluran pencernaan, bakteri ini juga dapat membentuk koloni di ginjal dan saluran kemih. Jika bermigrasi ke saluran kemih, bakteri ini dapat menyebabkan luka dan infeksi. Normalnya bakteri ini dalam membentuk koloni di

tubuh manusia tidak akan menyebabkan efek samping yang serius. Bakteri ini merupakan bakteri oportunistik, yaitu bila tumbuh di penderita dengan sistem imun yang kurang dapat membahayakan kesehatan penderita (Rózalski *et al.*, 2012).

Antimikroba sering digunakan sebagai penatalaksanaan masalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Tapi seiring dengan perkembangan zaman, bakteri juga ikut berkembang dan bermutasi dalam menghadapi obat antimikroba untuk dapat tetap bertahan hidup dalam tubuh manusia. Ditambah dengan penggunaan antimikroba, terutama golongan antibiotik, yang digunakan secara bebas tanpa adanya anjuran dari dokter membuat beberapa obat-obatan yang berlaku sudah tidak efektif lagi dalam melawan penyakit infeksi (Nainggolan, 2017).

Sumber daya alam di Indonesia sangat melimpah dan beragam, terutama dari sumber daya alam hayati yang salah satunya adalah salak pondoh (*Salacca zalacca*). Sejauh ini masyarakat Indonesia hanya memanfaatkan daging buahnya saja sebagai makanan, sedangkan kulitnya dibuang sebagai limbah dan tidak dimanfaatkan, padahal kulit salak juga mengandung kandungan nilai gizi yang berupa protein, karbohidrat, serta lemak. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak buah dan kulit salak mengandung senyawa aktif seperti tanin, alkaloid, dan flavonoid (Nurina *et al.*, 2014).

Salak (*Salacca zalacca*) adalah spesies tanaman palem yang termasuk dalam famili *Arecaceae*. Salak tumbuh di lingkungan dataran rendah tropis yang berhawa lembab. Salak merupakan tanaman asli dari Indonesia, terutama Jawa dan Sumatra, dan biasa dibudidayakan sebagai makanan. Sama halnya dengan durian, salak merupakan tumbuhan khas yang tumbuh di Asia Tenggara. Salak sendiri sudah banyak dibudidayakan di luar negeri seperti Thailand dan Malaysia. Salak dalam bahasa Inggris bisa disebut *Snake fruit* karena bentuk kulit buah ini

memiliki kulit menyerupai sisik kulit ular. Kegunaan buah salak dalam hal medis sering kali dipakai untuk mengobati masalah di sekitar perut seperti diare, dengan mengonsumsi 20 gram daging buah salak yang masih muda dipercaya dapat membantu mengatasi masalah diare (Putri, 2017).

Salak dipilih karena memiliki efek antibakteri yang lebih tinggi dari beberapa buah lain seperti buah mangga dan buah rambai (Mokhtar *et al.*, 2014). Salak pondoh dipilih karena salak jenis ini merupakan jenis salak memiliki kombinasi aroma dan rasa terbaik setelah salak madu, dan juga memiliki efek antibakteri yang lebih baik dari salak madu (Zubaidah *et al.*, 2018).

Kemampuan antimikroba dari ekstrak kulit *Salacca zalacca* sudah dibuktikan oleh Laffiani pada tahun 2016 yang menyebutkan bahwa ekstrak buah *Salacca zalacca* memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri *Candida albicans*. Penelitian lain juga telah dilakukan oleh Rahmah pada tahun 2016 yang membuktikan ekstrak kulit *Salacca zalacca* bisa digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri *E. coli*.

Berdasarkan beberapa informasi di atas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut dan lebih fokus untuk mengetahui apakah ekstrak etanol pada kulit salak pondoh yang tumbuh di Indonesia memiliki efek antimikroba terhadap *Proteus mirabilis*. Sehingga dengan penelitian ini dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *Proteus mirabilis*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak kulit salak (*Salacca zalacca*) efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Proteus mirabilis*?

1.3 Tinjauan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1.3.1.1 Mengetahui efektivitas ekstrak kulit salak (*Salacca zalacca*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Proteus mirabilis*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak kulit salak terhadap *Proteus mirabilis*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1.4.1.1 Memberikan informasi yang dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut terkait dengan efek antimikroba kulit salak.

1.4.1.2 Mengembangkan ilmu pengetahuan mengenai bahan alam yang dapat digunakan sebagai antimikroba alami.

1.4.2 Manfaat Klinis

1.4.2.1 Memperoleh pengobatan alternatif dengan menggunakan bahan alam yang didapat dari bagian buah yang tidak biasa digunakan dengan efek samping yang lebih kecil dari obat sintesis yang biasa dijual di pasaran.

1.4.2.2 Menambah koleksi bahan alam yang dapat digunakan sebagai antimikroba alami.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis termasuk bakteri batang gram negatif, fakultatif anaerob. Ukuran sel ini berkisar antara 0,4~0,6 μ m x 1,2~2,5 μ m. *Proteus mirabilis* memiliki *peritrichous flagella* yang memungkinkan bakteri ini untuk dapat bergerak. Bakteri ini mendiami tanah, air kotor, daging mentah, traktus gastrointestinal (TGI) atau saluran pencernaan dari hewan, dan debu. Pada manusia, jumlah kasus tersering adalah infeksi saluran kemih, selain itu bakteri ini mampu menimbulkan abses yang parah. Pada infeksi *Proteus* lebih sering merupakan infeksi dari *Proteus mirabilis* yaitu sekitar 90% dari total keseluruhan kasus. Nama *Proteus* diberikan oleh Hauser, yang berarti perubahan bentuk yang tidak terhitung (O'Hara *et al.*, 2000). Pengecatan Gram bakteri *Proteus mirabilis* dapat dilihat pada Gambar 2.1 (Caroll *et al.*, 2016).



Gambar 2.1 Bakteri *Proteus mirabilis* dengan pengecatan Gram
Keterangan: Batang Gram Negatif dengan perbesaran 1000x

2.1.1 Taksonomi *Proteus mirabilis*

Kingdom : Bacteria
Subkingdom : Negibacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Proteus*
Species : *Proteus mirabilis*

Bentuk *swarming* *Proteus mirabilis* pada *Blood Agar Plate* dapat dilihat pada Gambar 2.2 (Leboffe, 2011).



Gambar 2.2 *Proteus mirabilis* pada *Blood Agar Plate*

Keterangan: Bentukan *swarming* berupa lingkaran yang mengelilingi bakteri (panah hitam)

2.1.2 Struktur Antigen

Bakteri *Proteus mirabilis* merupakan salah satu bakteri dari famili Enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae mempunyai struktur antigen kompleks. Mereka diklasifikasikan memiliki lebih dari 150 jenis antigen O (lipopolisakarida),

lebih dari jenis 100 antigen K (kapsular), dan lebih dari 50 jenis antigen H (flagellar). Klasifikasi antigenik bakteri Enterobacteriaceae biasanya diindikasikan dengan adanya masing-masing antigen spesifik (Carroll *et al.*, 2016).

1. Antigen O (lipopolisakarida)

Antigen O merupakan bagian terluar dari dinding sel lipopolisakarida dan mengandung unit berulang dari polisakarida. Antigen O resisten terhadap panas dan alkohol dan biasanya dideteksi dengan aglutinasi bakteri. Antibodi dominan untuk antigen O adalah IgM (Carroll *et al.*, 2016).

2. Antigen K (kapsular)

Antigen K berada di luar antigen O namun tidak dimiliki semua bakteri Enterobacteriaceae. Beberapa tersusun atas polisakarida, termasuk antigen K dari *E. coli*. Antigen K mampu mengganggu aglutinasi oleh antisera O, dan dapat diasosiasikan dengan virulensi (Carroll *et al.*, 2016).

3. Antigen H (flagelar)

Antigen H berada di flagella dan dapat didenaturasi dengan panas atau alkohol. Antigen H dapat diawetkan dengan pemberian formalin. Antigen H dapat beraglutinasi dengan antibodi anti-H, biasanya IgG (Carroll *et al.*, 2016).

2.1.3 *Proteus mirabilis* pada Media Perkembangbiakan

Bakteri *Proteus mirabilis* merupakan bakteri Gram negatif fakultatif anaerob. Bakteri ini dapat mendeaminasi fenilalanin, merupakan bakteri yang motil atau dapat bergerak, tumbuh di *potassium cyanide medium* (KCN), dan dapat memfermentasikan *xylose*. Bakteri genus *Proteus* bergerak sangat aktif dikarenakan memiliki peritrichous flagella, menghasilkan gerakan *swarming* pada

media padat kecuali dihambat dengan bahan kimia, seperti *phenylethyl alcohol* atau CLED (*cystine-lactose-electrolyte-deficient*). *Proteus* dapat memfermentasi laktosa dengan sangat lambat atau tidak sama sekali (Carroll *et al.*, 2016).

2.1.4 Manifestasi Klinis ISK oleh *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis hanya dapat menginfeksi manusia hanya jika sudah keluar dari saluran pencernaan. Bakteri *Proteus mirabilis* dapat bermigrasi dari saluran pencernaan ke saluran kemih seringnya karena penderita yang kurang menjaga kebersihan ketika membasuh anus setelah buang air besar (Schaffer *et al.*, 2015). Bakteri *Proteus mirabilis* juga bisa bermigrasi ke saluran kemih melalui penggunaan kateter yang sudah terkontaminasi bakteri. Bakteri ini ditemukan pada ISK dan menyebabkan bakteremia, pneumonia, dan lesi fokal pada pasien yang lemah atau pada pasien yang menerima infus intravena yang terkontaminasi. *Proteus* dapat memproduksi urease, yang mengakibatkan hidrolisis urea dengan sangat cepat yang menghasilkan amoniak. Dengan demikian, infeksi saluran kemih dengan adanya spesies *Proteus*, urin menjadi lebih bersifat alkali. Sifat urin yang alkali ini cenderung dapat menyebabkan pengendapan menjadi batuan, sehingga akan lebih sulit untuk mengembalikan ke kondisi asam. Motilitas yang cepat dari bakteri *Proteus* mungkin berkontribusi kepada invasi bakteri ini ke saluran kemih (Carroll *et al.*, 2016).

2.2 Tanaman *Salacca zalacca*

2.2.1 Karakteristik Umum

Tanaman *Salacca zalacca* adalah golongan pohon palem rendah (Suica-Bunghes *et al.*, 2016). Tanaman *Salacca zalacca* 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.*,1992). Akar tanaman *Salacca zalacca* berjenis serabut, menjalar datar di bawah tanah dengan daerah perakaran tidak luas serta dangkal. Daun tersusun seperti mawar, bersirip 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 *Salacca zalacca* 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 Klasifikasi Tanaman *Salacca zalacca*

Tanaman *Salacca zalacca* dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Zona, 2011):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Sub divisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Arecales

Familia : Arecaceae
Genus : *Salacca*
Spesies : *Salacca zalacca* (Gaert.) Voss.
Sinonim : *Salacca edulis* Reinw.

Bentuk buah *Salacca zalacca* dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Price, 2008).



Gambar 2.3 *Salacca zalacca*

Keterangan: buah dengan bentuk seperti telur atau tetesan air dengan permukaan yang menyerupai kulit ular

2.2.3 Kandungan Kimia *Salacca zalacca*

Buah dan kulit *Salacca zalacca* 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).

2.2.4 Peran Ekstrak Kulit Buah *Salacca zalacca*

2.2.4.1 Alkaloid

Senyawa alkaloid adalah metabolit basa yang mengandung nitrogen dan memiliki beragam struktur kimia. Sebagian besar senyawa alkaloid dibentuk dari asam amino (Gunawan, 2009). Mekanisme kerja alkaloid sebagai anti bakteri

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 (Juliantina *et al.*, 2008).

2.2.4.2 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 membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria, 2009). 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 (Cushnie *et al.*, 2005).

2.2.4.3 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang larut dalam air dan umumnya berasal dari senyawa-senyawa alami fenol yang mampu mengendapkan protein. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah dengan menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Tanin memiliki aktivitas sebagai antibakteri karena kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan

enzim, dan mengganggu transport protein pada pada lapisan dalam sel. 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, mikroorganismenya 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 (Tetti, 2014). Ekstraksi bertujuan sebagai penyarian suatu komponen kimia dari bagian tanaman maupun hewan. Dalam sel tanaman, proses pengestraksian 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 (Istiqomah, 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, 2013). 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 (Schroeder, 2012).

2.4 Cara Kerja Antimikroba

Antimikroba yang baik memiliki toksisitas yang selektif, artinya obat tersebut berbahaya untuk patogen tetapi tidak berbahaya bagi pengguna. Namun sering kali, toksisitas yang selektif pada antimikroba cenderung bersifat relatif daripada absolut, ini menunjukkan bahwa obat dengan konsentrasi yang dapat ditoleransi oleh pengguna mungkin bisa merusak mikroorganisme yang menginfeksi (Carroll *et al.*, 2016).

Dilihat dari mekanisme kerja, antimikroba dapat dibagi menjadi lima kelompok: (a) Menghambat sintesis dinding sel; (b) Menghambat fungsi membran sel; (c) Menghambat sintesis protein; (d) Menghambat sintesis asam nukleat; (e) Inhibisi sintesis metabolit esensial (Noorhamdani *et al.*, 2015).

2.4.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Bakteri memiliki lapisan dinding sel yang kaku untuk mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme dengan tekanan osmotik internal yang tinggi.

Kerusakan pada dinding sel baik melalui trauma atau pembentukan yang terhambat dapat menyebabkan lisisnya sel tersebut (Carroll *et al.*, 2016). Dasar toksisitas selektif dari golongan antimikroba ini terletak pada perbedaan struktur dinding sel prokariot yang terdiri atas peptidoglikan, sedangkan sel eukariot tidak memiliki peptidoglikan sehingga golongan obat ini relatif aman sebagai obat antibakteri tetapi tidak berpengaruh kepada fungi, parasit, maupun sel hospes. Obat antimikroba ini bekerja dengan menghambat pembentukan dinding sel saat bakteri sedang aktif membelah (Noorhamdani *et al.*, 2015).

2.4.2 Menghambat Fungsi Membran Sel

Sitoplasma sel dibatasi oleh membran sitoplasma, yang mana bekerja sebagai permeabilitas selektif dan berfungsi sebagai transport aktif yang mengendalikan komposisi internal dari sel. Integritas membran sel yang rusak akan menyebabkan molekul dan ion keluar dari sel, yang kemudian menyebabkan kematian sel (Carroll *et al.*, 2016). Contoh antimikroba yang merusak dinding sel adalah Polimiksin B. Polimiksin B berikatan dengan fosfolipid pada membran sel yang selanjutnya akan merusak struktur dari membran sel itu sendiri, dan hanya aktif pada bakteri Gram negatif (Noorhamdani *et al.*, 2015).

2.4.3 Menghambat Sintesis Protein

Antimikroba jenis ini bekerja melalui ikatan dengan ribosom 30S atau 50S (Carroll *et al.*, 2016). 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).

2.4.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Antimikroba ini bekerja dengan menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi, contohnya Rifampicin atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel. Rifampicin bekerja dengan cara berikatan kuat dengan *DNA-dependent RNA polymerase* (Noorhamdani *et al.*, 2015).

2.4.5 Inhibisi Sintesis Metabolit Esensial

Aktivitas enzim seringkali dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa penghambat ini bergabung dengan enzim sedemikian rupa sehingga dapat mencegah reaksi-reaksi katalitik. Kebanyakan senyawa penghambat tersebut bersifat analog dengan faktor-faktor pertumbuhan bakteri, misalnya vitamin, asam amino, purin, dan pirimidin. Mekanisme kerja senyawa ini adalah dengan inhibisi kompetitif (*competitive inhibition*) terhadap sintesis metabolit esensial (Noorhamdani *et al.*, 2015).

2.5 Uji Kepekaan Bakteri

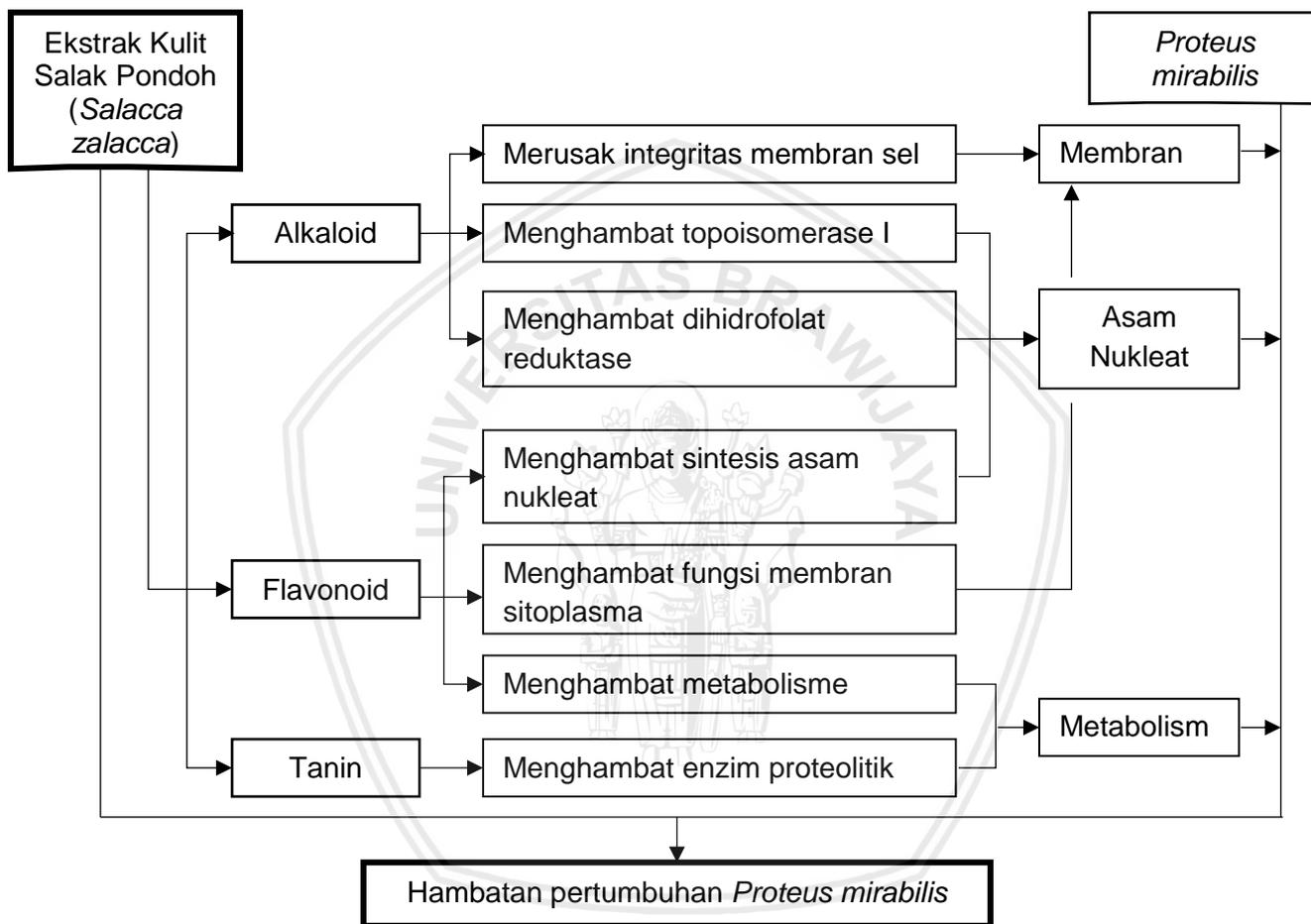
2.5.1 Metode Dilusi Agar

Metode ini dilakukan dengan cara mencampurkan larutan antimikroba yang sudah diencerkan ke dalam media agar yang masih cair kemudian dibiarkan memadat. Agar yang telah padat kemudian ditetaskan dengan bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/spot. Setelah diinokulasi bakteri, selanjutnya agar diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C . Setelah diinkubasi, diamati perkembangan bakteri (Caroll, 2016).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

= diteliti

= tidak diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konsep senyawa aktif kulit *Salacca zalacca* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*

Salacca zalacca mengandung senyawa alkaloid, polifenolat, flavanoid, tanin, kuinon, monotrepen dan sesquiterpen (Sulaksono *et al.*, 2015). Alkaloid



memiliki mekanisme antimikroba dengan cara merusak integritas membran sel, menghambat enzim topoisomerase I, dan menghambat enzim dihidrofolat reduktase sehingga terjadi kerusakan pada asam nukleat bakteri (Cushnie *et al.*, 2014). Flavonoid memiliki mekanisme antimikroba dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi (Cushnie *et al.*, 2005). Tanin menghambat proliferasi bakteri dengan cara menghambat enzim metabolisme esensial seperti enzim proteolitik sehingga mengganggu metabolisme protein bakteri (Enwa *et al.*, 2014).

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian yaitu ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium. Uji antimikroba secara *in vitro* dengan menggunakan *agar dilution test* untuk mengetahui aktivitas ekstrak kulit *Salacca zalacca* sebagai antimikroba terhadap *Proteus mirabilis*. Proses pengekstrakan kulit *Salacca zalacca* menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Sedangkan pengujian ekstrak kulit *Salacca zalacca* sebagai antimikroba menggunakan metode *agar dilution test*. *Agar dilution test* meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada media *broth* dan tahap penanaman pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*) dengan metode *streaking* (penggoresan) yang bertujuan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal). Besarnya konsentrasi yang digunakan, ditetapkan melalui eksperimen pendahuluan.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit *Salacca zalacca* dan bakteri *Proteus mirabilis* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang.

Isolat bakteri *Proteus mirabilis* yang digunakan adalah bakteri dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Salak pondoh yang digunakan adalah salak pondoh yang dibeli di Arjosari, Malang.

Pada penelitian ini digunakan variabel berupa 5 macam dosis dari ekstrak kulit *Salacca zalacca* dengan 1 kontrol negatif, total perlakuan sebanyak 6

sehingga didapatkan pengulangan sesuai dengan rumus estimasi pengulangan (Sarndal, 2003) :

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

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

$$n-1 \geq \frac{15}{6}$$

$$n-1 \geq 2,5$$

$$n \geq 2,5 + 1$$

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

Jadi, banyaknya pengulangan yang dilakukan adalah sebanyak 4 kali.

Keterangan: n = jumlah pengulangan

p = jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak kulit *salak*)

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Maret-September 2018.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak kulit salak yang dibuat dengan konsentrasi kadar ekstrak yang sudah ditentukan pada eksplorasi awal atau penelitian pendahuluan dan pada penelitian lanjutan.

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah jumlah koloni bakteri *Proteus mirabilis* yang tumbuh pada medium.

4.5 Definisi Operasional

- 4.5.1 Kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) yang digunakan di penelitian ini didapat dari perkebunan salak pondoh di Pasuruan, Jawa Timur.
- 4.5.2 Ekstrak kulit *Salacca zalacca* adalah kulit *Salacca zalacca* yang dijadikan ekstrak cair dengan konsentrasi akhir 1000 mg/ml. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak cair yang diperoleh melalui ekstraksi menggunakan alkohol 96%.
- 4.5.3 Isolat bakteri *Proteus mirabilis* yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu isolat bakteri yang merupakan *stock culture* di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang dan isolat diambil dari swab pus.
- 4.5.4 Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak kulit *Salacca zalacca* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak kulit *Salacca zalacca* dan suspensi bakteri tersebut dalam tabung setelah diinkubasikan 18-24 jam.
- 4.5.5 Kontrol negatif adalah konsentrasi ekstrak etanol kulit *Salacca zalacca* sebesar 0% yang digunakan sebagai pembanding dengan konsentrasi ekstrak yang lain untuk melihat perbedaan pertumbuhan bakteri normal dengan pertumbuhan bakteri yang sudah diberi konsentrasi ekstrak kulit *Salacca zalacca*.
- 4.5.6 *Original inoculum* adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml yang diinokulasikan pada media agar padat sebelum diinkubasi, dan digunakan untuk mencari kategori KHM.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat untuk Pembuatan Ekstrak Kulit *Salacca zalacca*

- Oven
- Timbangan
- Gelas Erlenmeyer
- Kertas saring
- Pendingin spiral/*rotator evaporator*
- Corong gelas
- Labu penampung *etanol*
- Labu evaporator
- Selang water pump
- Water pump
- Water bath
- Vacuum pump

4.6.2 Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Kulit *Salacca zalacca*

- Kulit *Salacca zalacca*
- Etanol 96 %
- Aquades

4.6.3 Alat untuk Identifikasi Bakteri

- Ose
- Pipet
- Kertas penghisap, minyak imersi
- Mikroskop
- Tabung reaksi
- Lampu spiritus

4.6.4 Bahan untuk Identifikasi Bakteri

- Isolat *Proteus mirabilis* pewarna gram (kristal violet, lugol, alkohol 96 %, safranin)
- *Nutrient Broth*
- Medium *MacConkey agar*

4.6.5 Alat untuk Tes Kepekaan Bakteri

4.6.5.1 Alat untuk Difusi Agar

- Tabung reaksi
- Cawan petri
- Inkubator
- Pipet tetes

4.6.5.2 Bahan untuk Tes Kepekaan Bakteri

- Perbenihan cair bakteri *Proteus mirabilis*
- NaCl 0,9%
- Ekstrak kulit *Salacca zalacca*
- Medium *Nutrient Broth*
- Medium MacConkey
- Aquades steril

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak *Salacca zalacca*

1. Kulit *Salacca zalacca* dipotong kecil-kecil dan dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender dan timbang sebanyak 100 gram (sampel kering). Ini bertujuan agar senyawa aktif yang terkandung dalam kulit *Salacca zalacca* dapat larut dalam *etanol* 96%.

2. Masukkan 100 gram hasil blenderan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter lalu rendam dengan hasil *etanol* 96% sampai volume 1000cc.
3. Kocok sampai benar-benar tercampur kurang lebih 30 menit dan diamkan 1 malam sampai mengendap.
4. Setelah itu, lapisan paling atas dari larutan campuran *etanol* 96% dan kulit *Salacca zalacca* diambil dan diletakkan dalam gelas ekstraksi kemudian di evaporasi dengan menggunakan *rotatory evaporator*.
5. Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30-40° terhadap meja percobaan, dengan susunan dari bawah ke atas : Alat pemanas air, labu penampung hasil, *rotatory evaporator*, dan tabung pendingin.
6. Tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin dengan bak penampung air dingin melalui pipa plastik, tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan penampung hasil penguapan.
7. Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstraksi, kemudian dirangkai kembali.
8. *Rotatory evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum dinyalakan.
9. Pemanas akuades dinyalakan juga sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi ikut mendidih dan pelarut *etanol* mulai menguap.
10. Hasil penguapan *etanol* akan dikondensasikan menuju labu penampung *etanol* sehingga tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap lain tersedot pompa vakum.
11. Setelah kental maka proses evaporasi dihentikan dan hasil evaporasi diambil.

12. Setelah evaporasi selesai, ekstrak di oven kembali dengan suhu 80°C selama 2 jam karena titik didih *etanol* adalah 80°C. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa-sisa *etanol* 96% yang mungkin masih tersisa dalam ekstrak.

4.7.2 Identifikasi *Proteus mirabilis*

4.7.2.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk menyaring bakteri *Proteus mirabilis* yang termasuk di dalam famili *Enterobacteriaceae* yang bersifat gram negatif. Prosedur pewarnaan Gram:

1. Gelas obyek dibersihkan dengan kapas steril, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak. Lalu dibiarkan dingin.
2. Satu tetes akuades steril atau larutan salin steril diteteskan pada gelas obyek.
3. Dengan ose jarum yang steril, diambil sedikit koloni *Proteus mirabilis* yang tumbuh pada medium padat kemudian disuspensikan dengan satu tetes akuades steril atau larutan salin steril yang sudah diteteskan terlebih dahulu pada gelas obyek. Hapusan sebaiknya dibuat tipis.
4. Hapusan dibiarkan kering di udara. Setelah kering, hapusan difiksasi dengan cara melewatkan sediaan diatas api sebanyak tiga kali. Sediaan siap diwarnai.
5. Sediaan dituangi kristal violet selama 1 menit, kemudian sisa kristal violet dibuang, lalu sediaan dibilas dengan air.
6. Sediaan dituangi lugol selama 1 menit, kemudian sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.

7. Sediaan dituangi alkohol 96 % selama 5 - 10 detik atau sampai warna cat luntur, kemudian sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dituangi safranin selama 30 detik, kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
9. Dikeringkan dengan kertas penghisap.
10. Dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa obyektif 100 kali, ditambahkan juga minyak imersi.
11. Hasil positif: bakteri *Proteus mirabilis* berbentuk batang dan tercat merah (Gram negatif).

4.7.2.2 Blood Agar Plate

Blood Agar Plate merupakan medium diferensial untuk melihat bentukan khas berupa *swarming* pada bakteri *Proteus mirabilis*. Prosedur yang dilakukan:

1. Dilakukan inokulasi bakteri *Proteus mirabilis* dengan metode penetasan pada bagian tengah medium *Blood Agar Plate*.
2. Diinkubasi pada inkubator dengan suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 18 - 24 jam dan diamati hasilnya.
3. Pengamatan makroskopis dikatakan hasil positif jika pada pengamatan pada media agar, ditemukan gambaran khas berupa bentukan *swarming* seperti yang dilihat pada Gambar 2.2.

4.7.2.3 MacConkey Agar

MacConkey agar merupakan medium diferensial untuk bakteri yang meragikan dan tidak meragikan laktosa. Prosedur yang dilakukan:

1. Dilakukan inokulasi bakteri *Proteus mirabilis* dengan metode penggoresan pada medium *MacConkey agar*.
2. Diinkubasi pada inkubator dengan suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 18 - 24 jam dan diamati hasilnya.
3. Pengamatan mikroskopis dikatakan hasil positif jika pada pengamatan pada media agar, ditemukan morfologi koloni bakteri *Proteus mirabilis* yang berbentuk konveks, bulat, transparan dengan tepi yang utuh dan mencapai diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam, serta khas pada medium didapatkan koloni tidak berwarna (*non lactose fermenter*).

4.7.3 Pembuatan Suspensi *Proteus mirabilis*

Cara membuat larutan *Proteus mirabilis* dengan kepadatan akhir 10^6 CFU/ml yaitu:

1. Koloni diambil dari lempeng *MacConkey agar*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *Nutrient Broth* 9 ml.
2. Tabung reaksi lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 18 - 24 jam.
3. Setelah itu dilakukan spektrofotometri pada tabung reaksi di atas dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui OD (Optical Density) dari suspensi tersebut.
4. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 CFU/ml (sesuai standar McFarland 0,5) yang setara dengan $\text{OD}=0,1$, maka dilakukan perhitungan sebagai berikut :

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

Keterangan : N_1 = Hasil spektrofotometri

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N_2 = OD = 0,1 setara dengan 10^8 CFU/ml

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

5. Dari hasil perhitungan tersebut diperoleh volume bakteri (x ml) yang akan ditambah pengencer sampai total volume 10 ml untuk mendapatkan konsentrasi 10^8 CFU/ml.
6. Dilakukan pengenceran suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml sebanyak 100 kali untuk mendapatkan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml, caranya:
7. Dari 10 ml bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml *Nutrient broth* sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^7 CFU/ml. Lalu dari larutan dengan konsentrasi bakteri 10^7 CFU/ml tersebut diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml *Nutrient broth* sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^6 CFU/ml.

4.7.4 Penelitian Pendahuluan

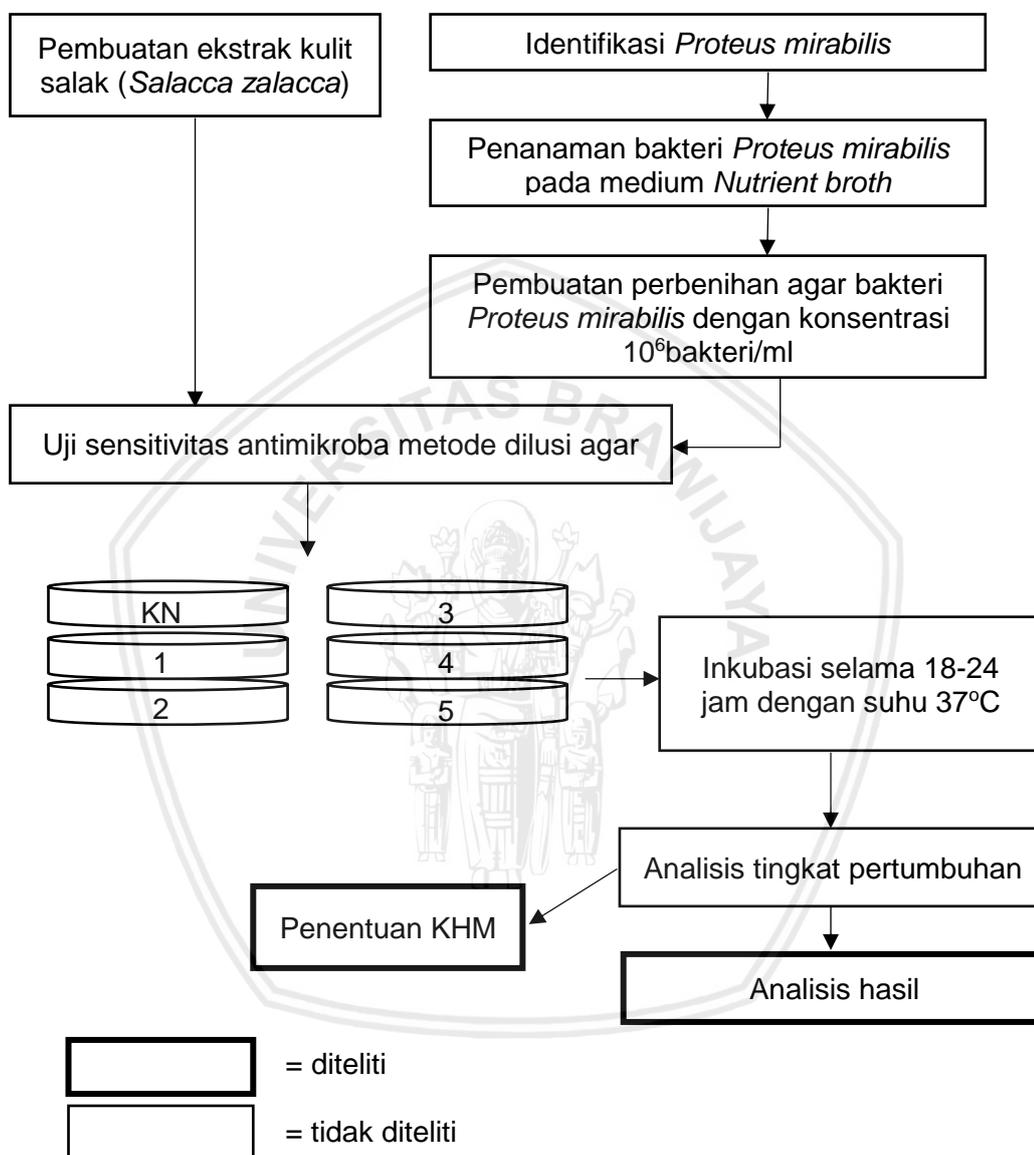
Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi ekstrak etanol daun salak pondoh yang akan diteliti. Konsentrasi yang dicari dimulai dari 0%, 0,5%, 1%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, dan 15%. Dari eksplorasi tersebut ditemukan pertumbuhan bakteri terhambat di konsentrasi 12,5%. Kemudian didapatkan 6 konsentrasi yang representatif yaitu 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13%.

4.7.5 Uji Sensitivitas Antimikroba

1. Sediakan 6 plate kosong dengan diberi tanda konsentrasi 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13%.
2. Masing-masing diisi dengan ekstrak kulit salad dengan konsentrasi 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13% dan dicampur dengan agar. Volume nutrient agar yang dipakai dalam setiap plate adalah 15ml dengan rincian sebagai berikut:
 - a. Konsentrasi 0% : tanpa ekstrak + 15ml nutrient agar.
 - b. Konsentrasi 9% : 1,35ml ekstrak kulit salak + 13,65ml nutrient agar.
 - c. Konsentrasi 10% : 1,5ml ekstrak kulit salak + 13,5ml nutrient agar.
 - d. Konsentrasi 11% : 1,65ml ekstrak kulit salak + 13,35ml nutrient agar.
 - e. Konsentrasi 12% : 1,8ml ekstrak kulit salak + 13,2ml nutrient agar.
 - f. Konsentrasi 13% : 1,95ml ekstrak kulit salak + 13,05ml nutrient agar.
3. Plate yang telah berisi ekstrak kulit salak dan nutrien agar diinkubasi dalam suhu 37°C selama 18-24 jam.
4. Plate dibagi menjadi 4 bagian karena akan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Kemudian masing-masing bagian ditetesi bakteri dengan kepadatan 10^6 CFU/spot sebanyak 10ml kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
5. Bakteri yang tumbuh dalam plate diamati. Plate dengan konsentrasi paling sedikit yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri adalah plate dengan konsentrasi hambat minimal atau Kadar Hambat Minimal (KHM).

4.8 Alur Penelitian

Alur penelitian dapat dilihat pada skema dibawah ini



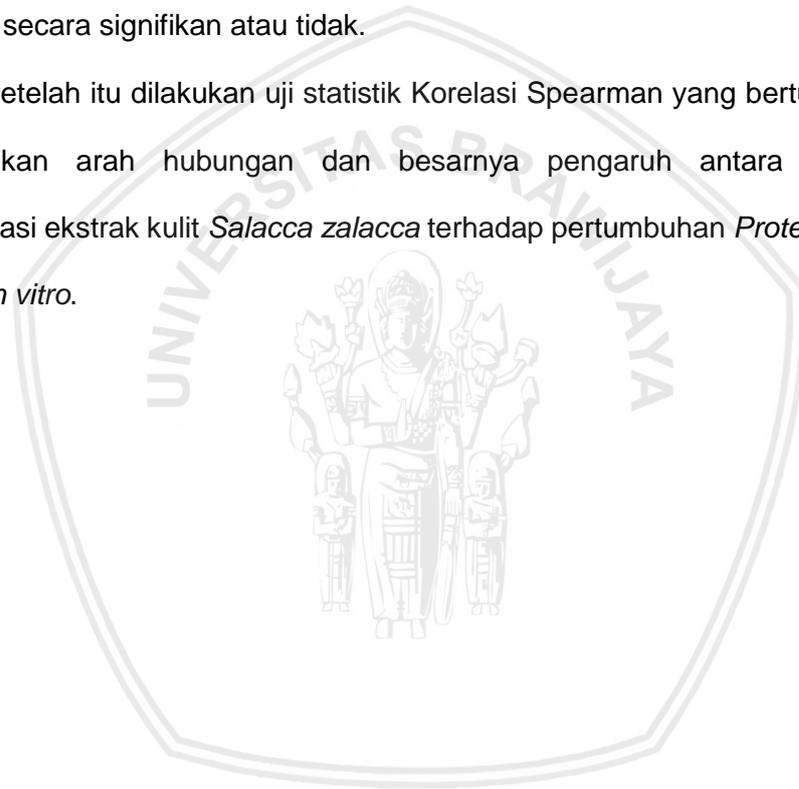
Gambar 4.1 Skema alur penelitian

4.9 Analisis Data

Dari data penelitian yang diperoleh dapat dibuat analisis statistiknya. Data penelitiannya adalah jumlah koloni *Proteus mirabilis* yang merupakan data ordinal, sehingga analisis data yang digunakan adalah analisis data non-parametrik.

Analisis data yang digunakan adalah Kruskal-Wallis. Dengan menggunakan Kruskal-Wallis, maka akan diketahui apakah ada perbedaan pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak kulit *Salacca zalacca* terhadap jumlah koloni *Proteus mirabilis*. Dilanjutkan dengan analisis Mann-Whitney, untuk mengetahui konsentrasi ekstrak kulit *Salacca zalacca* yang menyebabkan jumlah koloni bakteri *Proteus mirabilis* yang dihasilkan pada medium *MacConkey agar* cenderung berbeda secara signifikan atau tidak.

Setelah itu dilakukan uji statistik Korelasi Spearman yang bertujuan untuk menentukan arah hubungan dan besarnya pengaruh antara pemberian konsentrasi ekstrak kulit *Salacca zalacca* terhadap pertumbuhan *Proteus mirabilis* secara *in vitro*.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri

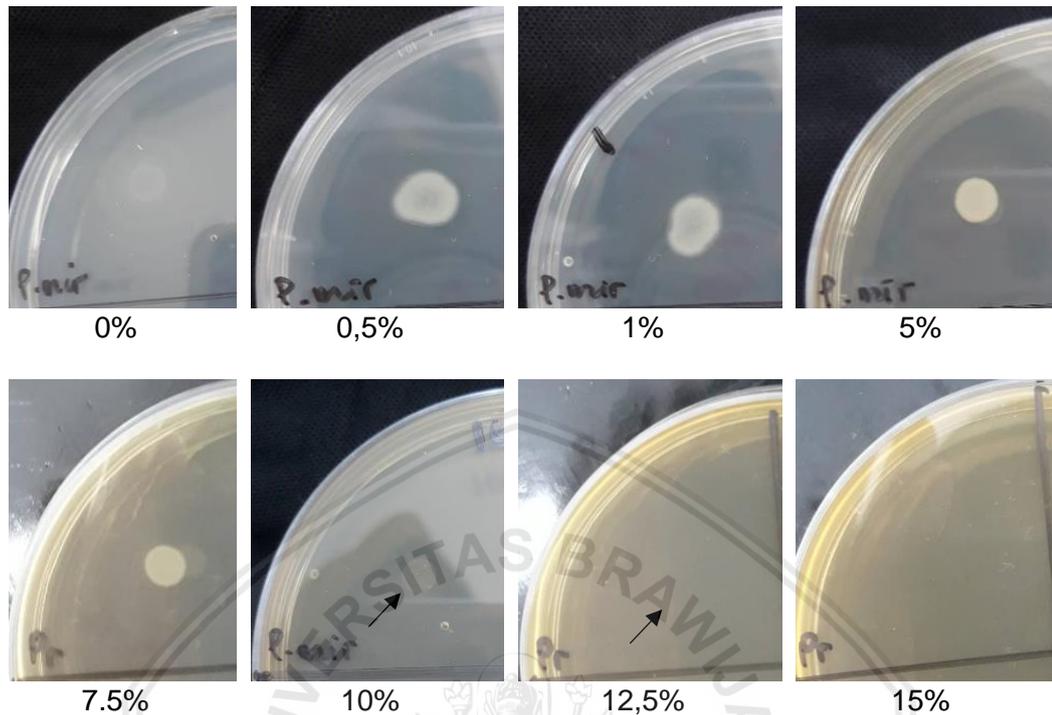
Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Proteus mirabilis* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang. Identifikasi bakteri menggunakan alat VITEK. Hasil VITEK menunjukkan bakteri *Proteus mirabilis*. Hasil VITEK dapat dilihat di Lampiran 1.

5.1.2 Hasil Uji Efek Anti Bakteri

5.1.2.1 Uji Pendahuluan

Sebelum penelitian diadakan terlebih dahulu uji pendahuluan untuk menentukan konsentrasi ekstrak *Salacca zalacca*. Uji pendahuluan menggunakan konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, dan 15%.

Hasil uji pendahuluan menunjukkan pada konsentrasi 12,5% dan 15% tidak didapatkan pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, 5%, 7,5%, dan 10% ditemukan pertumbuhan bakteri. Melalui uji pendahuluan dapat disimpulkan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak kulit *Salacca zalacca* berada diantara konsentrasi 10% dan 12,5%. Hasil uji pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 5.1.

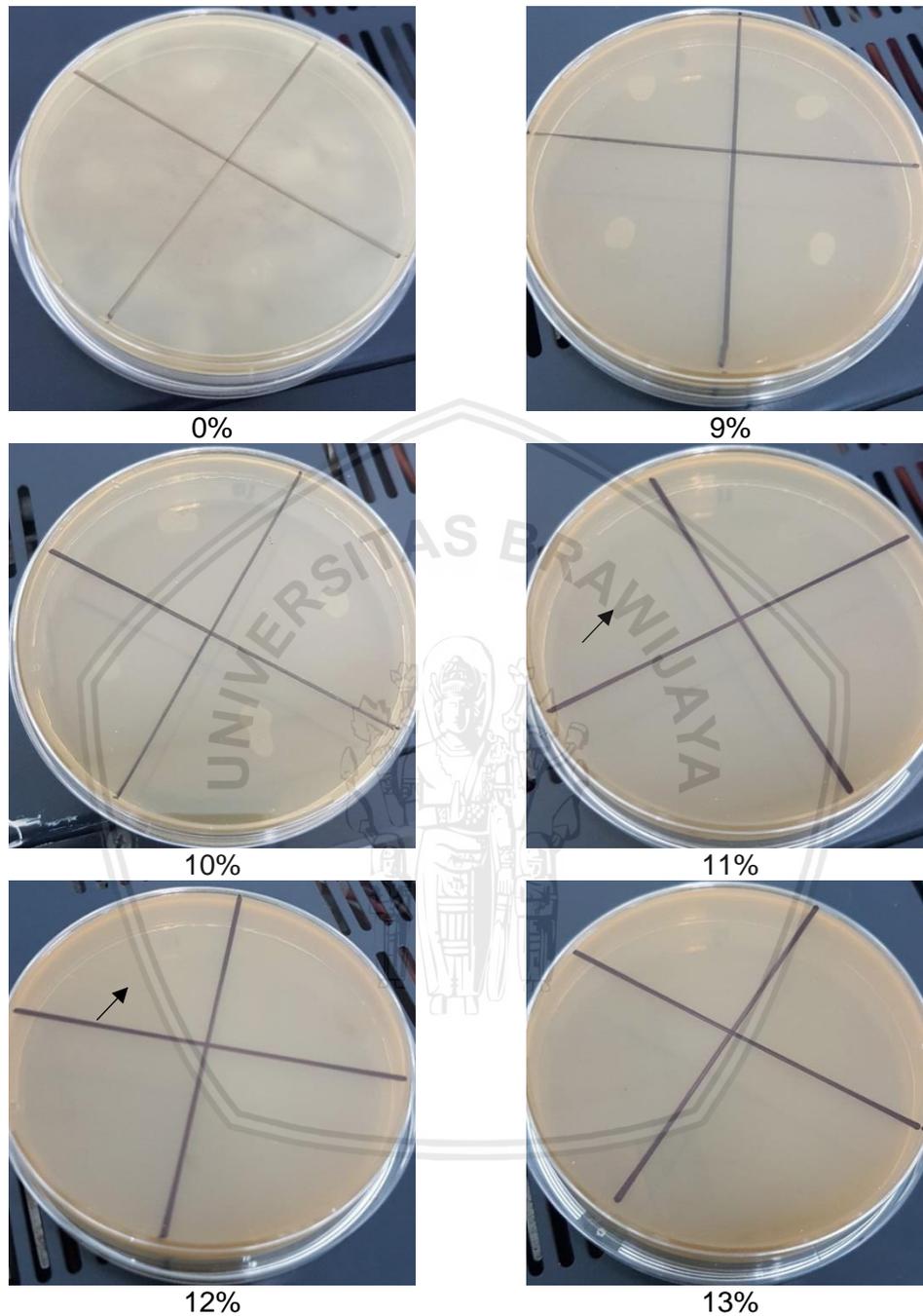


Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Pendahuluan Uji Dilusi Agar Ekstrak Etanol Kulit *Salacca zalacca* konsentrasi 0%, 0,5%, 1%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, dan 15% menghasilkan KHM di antara konsentrasi 10% dan 12,5%

Keterangan: KHM ditandai dengan bakteri masih tumbuh pada konsentrasi 10% dan tidak tumbuh pada konsentrasi 12,5% (panah hitam)

5.1.2.2 Hasil Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM)

Pada penelitian lanjutan digunakan konsentrasi ekstrak *Salacca zalacca* 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13% dengan menggunakan metode dilusi agar. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 5.2



Gambar 5.2 Hasil Pengamatan Lanjutan Uji Dilusi Agar Ekstrak Etanol Kulit *Salacca zalacca* konsentrasi 0%, 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13%
 Keterangan: KHM ditandai dengan bakteri masih tumbuh pada konsentrasi 11% dan tidak tumbuh pada konsentrasi 12% (panah hitam)

Berdasarkan hasil pengamatan pada Gambar 5.2 menunjukkan pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* pada agar dengan beberapa konsentrasi ekstrak etanol kulit *Salacca zalacca* menunjukkan hasil yang bervariasi. Kontrol

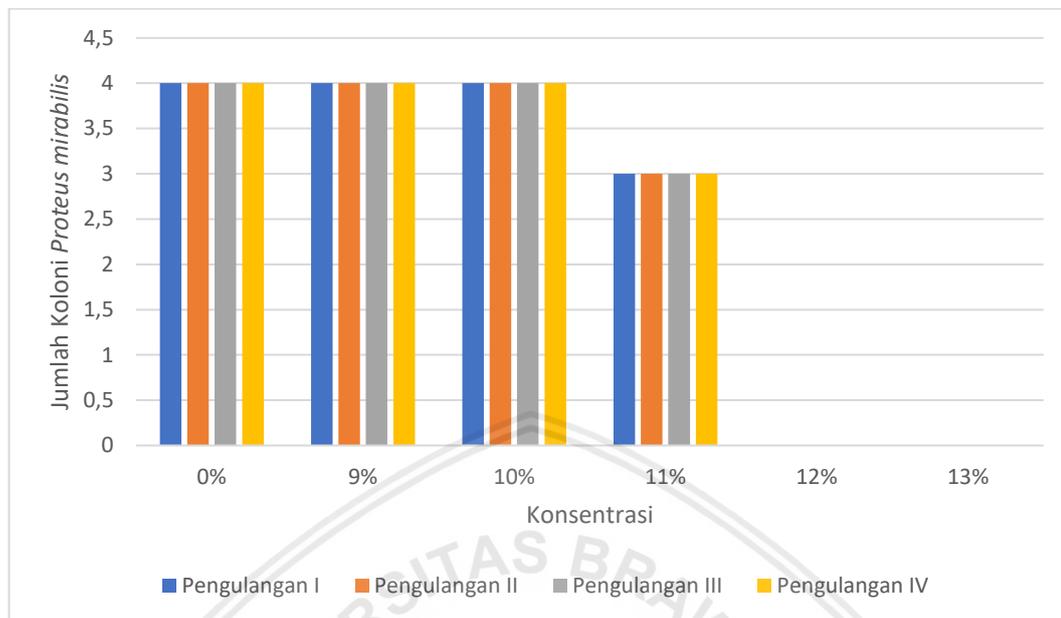
negatif 0% menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri yang tebal dan tersebar merata pada agar. Dan pada konsentrasi lainnya terlihat ketebalan koloni bakteri yang lebih terpusat dan lebih tipis. Dari hasil pengamatan tersebut, pertumbuhan koloni *Proteus mirabilis* diukur dengan menggunakan skor yang dilihat dari pertumbuhan bakteri. Hasil pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* terhadap konsentrasi ekstrak etanol kulit *Salacca zalacca* dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Pertumbuhan Koloni Bakteri *Proteus mirabilis* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol *Salacca zalacca*

Konsentrasi	Pengulangan			
	I	II	III	IV
0%	+4	+4	+4	+4
9%	+4	+4	+4	+4
10%	+4	+4	+4	+4
11%	+3	+3	+3	+3
12%	0	0	0	0
13%	0	0	0	0

Keterangan:

- +4 : Tumbuh tebal dan tak terhitung
- +3 : Koloni agak tebal dan tak terhitung
- +2 : Koloni tumbuh tipis dan tak terhitung
- +1 : Koloni sangat tipis dan tak terhitung
- +0 : Tidak ada pertumbuhan



Gambar 5.3 Grafik pengaruh konsentrasi ekstrak etanol kulit *Salacca zalacca* terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Proteus mirabilis*

Keterangan: pertumbuhan mulai menurun pada konsentrasi 11% dan tidak adanya pertumbuhan mulai konsentrasi 12%

Berdasarkan hasil Tabel 5.1 dan Gambar 5.4 didapatkan hasil pengaruh ekstrak etanol kulit *Salacca zalacca* terhadap pertumbuhan koloni bakteri adalah semakin tinggi konsentrasi maka semakin sedikit pertumbuhan bakteri. Konsentrasi terendah yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni *Proteus mirabilis* pada plate didefinisikan sebagai Kadar Hambar Minimum (KHM) dan ditunjukkan pada plate dengan konsentrasi 12%.

5.2 Analisis Data

Data yang diperoleh merupakan data kualitatif berupa data konsentrasi ekstrak etanol kulit *Salacca zalacca* terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*. Hasil penelitian dianalisis menggunakan *software* SPSS versi 25. Analisis data yang pertama kali dilakukan adalah uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk. Hasil dari uji Shapiro-Wilk dapat dilihat di Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Uji Shapiro-Wilk

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil	0.292	24	0.000	0.686	24	0.000

a. Lilliefors Significance Correction

Pada hasil uji Shapiro-Wilk pada Tabel 5.2 hasil yang didapat adalah $p=0,000$ dimana $h_0 > 0,05$ dan $h_1 < 0,05$, maka h_0 ditolak karena $p < 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi data tidak normal. Uji statistik yang dilakukan selanjutnya adalah uji non-parametrik karena distribusi data yang tidak normal dan data yang diperoleh berupa data ordinal. Ada 3 jenis uji non-parametrik yang digunakan, yaitu uji Kruskal-Wallis, uji Mann-Whitney, dan uji Korelasi Spearman.

5.2.1 Uji Kruskal Wallis

Uji Kruskal Wallis merupakan uji statistik yang digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan jumlah pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dari berbagai pemberian konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh. Hipotesis yang akan ditegakkan adalah H_0 dan H_1 , dimana H_0 adalah tidak adanya perbedaan jumlah pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* terhadap pemberian ekstrak etanol kulit salah pondoh. Penelitian ini menggunakan taraf signifikansi $p \geq 0,05$, dimana H_0 diterima bila nilai $p \geq 0,05$ dan ditolak jika nilai $p < 0,05$. Hasil hipotesis H_1 didapat dari kebalikan H_0 yang ditolak.

Tabel 5.3 Hasil Uji Kruskal-Wallis

	Hasil
Kruskal-Wallis H	23,000
df	5
Asymp. Sig.	0,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi

Berdasarkan uji Kruskal Wallis pada Tabel 5.3, didapatkan nilai $p = 0,000$ sehingga H_0 ditolak karena $p < 0,05$ dan dapat diambil kesimpulan bahwa adanya

perbedaan jumlah pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* dari berbagai pemberian konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh.

5.2.2 Uji Mann Whitney

Uji Mann Whitney digunakan untuk mengetahui konsentrasi pemberian ekstrak kulit salak pondoh manakah yang memiliki efek perbedaan jumlah pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*. Uji ini dilakukan dengan membandingkan dua konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* sehingga dapat diketahui signifikansi perbedaan antara dua konsentrasi yang berbeda.

Tabel 5.4 Hasil Uji Mann Whitney

	0%	9%	10%	11%	12%	13%
0%						
9%	1.000					
10%	1.000	1.000				
11%	0.008*	0.008*	0.008*			
12%	0.008*	0.008*	0.008*	0.008*		
13%	0.008*	0.008*	0.008*	0.008*	1.000	

Keterangan: * Berbeda signifikan

Dari hasil uji Mann Whitney pada Tabel 5.4, dapat dilihat bahwa pertumbuhan koloni bakteri pada kelompok kontrol (konsentrasi 0%) memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok konsentrasi 11%, 12%, dan 13%. Pertumbuhan koloni bakteri pada kelompok konsentrasi 9% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok konsentrasi 11%, 12%, dan 13%. Pertumbuhan koloni bakteri pada kelompok konsentrasi 10% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok konsentrasi 11%, 12%, dan 13%. Pertumbuhan koloni bakteri pada kelompok konsentrasi 11% memiliki perbedaan yang signifikan

dengan kelompok konsentrasi 12%, dan 13%. Sedangkan di antara kelompok konsentrasi 12% dan 13% tidak didapatkan perbedaan yang signifikan.

5.2.3 Uji Korelasi Spearman

Uji Korelasi Spearman digunakan untuk mengetahui besarnya hubungan pemberian ekstrak etanol kulit salak pondoh dengan pertumbuhan koloni bakteri *Proteus mirabilis*. Dari hasil uji Korelasi Spearman diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 yang berarti nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian berbagai ekstra etanol kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Proteus mirabilis*. Nilai Korelasi Spearman sebesar -0,926 menunjukkan arah korelasi negatif yang berarti bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh, maka semakin rendah tingkat pertumbuhan koloni *Proteus mirabilis*. Koefisien korelasi memiliki nilai 0,926 ($r > 0,799$) yang menunjukkan korelasi yang kuat.

Tabel 5.5 Hasil Uji Korelasi Spearman

		Konsentrasi	Hasil
Spearman's rho	Konsentrasi	Correlation Coefficient	1,000
		Sig. (2-tailed)	-,926**
		N	. ,000
Hasil	Hasil	Correlation Coefficient	24
		Sig. (2-tailed)	24
		N	-,926**
			1,000
			,000
			24
			24

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

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan salah satu masalah kesehatan yang masih sering dihadapi oleh dokter, perawat, dan tenaga kesehatan baik di dalam rumah sakit maupun di luar rumah sakit. Menurut WHO, ISK merupakan penyakit infeksi tersering kedua setelah infeksi saluran pernapasan dan insidennya sebanyak 8,3 juta kasus dilaporkan per tahun. Data dari Depkes 2014 menunjukkan bahwa jumlah penderita penyakit ISK mencapai 90-100 kasus per 100.000 penduduk per tahun dengan perkiraan jumlah penderita sebanyak 222 juta jiwa. Seiring dengan banyaknya kasus ISK, maka diperlukan ketersediaan antibiotik untuk mengobati penyakit infeksi tersebut.

Salah satu bakteri penyebab ISK adalah *Proteus mirabilis*. Bakteri *Proteus mirabilis* merupakan bakteri fakultatif anaerob berbentuk batang Gram negatif yang dapat menyebabkan luka dan infeksi pada saluran kemih. Bakteri ini banyak ditemukan di saluran pencernaan. Normalnya, di dalam tubuh manusia bakteri ini tidak akan menyebabkan efek samping yang serius. Bakteri ini merupakan bakteri oportunistik, yaitu bila tumbuh di penderita dengan sistem imun yang kurang dapat membahayakan kesehatan penderita (Rózalski *et al.*, 2012). Manifestasi klinis dari bakteri ini adalah bakteremia, pneumonia, lesi fokal, dan pembentukan batuan pada saluran kemih (Carroll *et al.*, 2016).

Dengan banyaknya kasus ISK, maka diperlukan cadangan obat alternatif untuk mengantisipasi resistensi obat yang terjadi akibat pemakaian antibiotik yang tidak teratur. Salah satu sumber daya alam yang memiliki efek antimikroba adalah

salak pondoh (*Salacca zalacca*). *Salacca zalacca* adalah tumbuhan khas yang tumbuh di Asia Tenggara. Buah dan kulit *Salacca zalacca* memiliki kandungan kimia berupa alkaloid, flavonoid, dan tanin (Syahputra, 2008). Sejauh ini masyarakat Indonesia hanya mengonsumsi daging buahnya saja sebagai makanan sedangkan kulitnya dibuang dan tidak dimanfaatkan, padahal senyawa yang terkandung di dalam kulit *Salacca zalacca* memiliki efek antimikroba yang bisa dimanfaatkan sebagai obat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* secara in vitro dengan metode dilusi agar. Hasil penelitian ini ditunjukkan dengan terbentuknya Kadar Hambat Minimal (KHM). Dengan ditemukannya hasil KHM, maka dapat diambil kesimpulan mengenai efek antimikroba ekstrak tersebut.

Bakteri *Proteus mirabilis* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari isolat pus pasien yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang. Isolat pus diambil dari swab penis pasien yang merupakan salah satu organ target penyebaran bakteri tersebut. Isolat yang didapatkan sudah disertai dengan VITEK untuk membuktikan bahwa bakteri tersebut adalah *Proteus mirabilis* dan sebagai bukti resistensi terhadap antimikroba tertentu.

Bagian kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) digunakan sebagai variabel penelitian dengan alasan mudah didapat, masih belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat umum, dan belum ada penelitian sebelumnya yang meneliti tentang efek ekstrak etanol kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*. Kulit salak pondoh memiliki efek antibakteri dikarenakan adanya kandungan senyawa flavonoid, tannin, dan alkaloid (Sulaksono *et al.*, 2015).

Proses ekstraksi dengan metode maserasi dan pelarut etanol 96% dilakukan agar senyawa aktif pada kulit salak pondoh dapat diperoleh dengan jumlah yang maksimal.

Pada penelitian pendahuluan pertama digunakan konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh 0%, 0,5%, 1%, 5%, dan 10%. Pada penelitian pertama ini masih ditemukan pertumbuhan bakteri di seluruh konsentrasi dengan adanya penipisan pertumbuhan pada konsentrasi 10%, sehingga diperlukan penelitian pendahuluan lebih lanjut. Penelitian pendahuluan kedua digunakan konsentrasi 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, dan 15%. Pada konsentrasi 12,5% dan 15% tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, sehingga pada penelitian lanjutan digunakan ekstrak dengan konsentrasi 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13%, disertai dengan kelompok kontrol tanpa ekstrak 0%. Pengulangan dalam penelitian ini dilakukan sebanyak 4 kali.

Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi paling rendah dimana tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri pada *plate* yang sudah diberikan berbagai konsentrasi ekstrak salah pondoh. Pada konsentrasi 9% dan 10% masih didapatkan pertumbuhan bakteri, pada konsentrasi 11% masih didapatkan juga pertumbuhan bakteri walaupun dalam jumlah yang lebih sedikit dari konsentrasi di bawahnya, dan pada konsentrasi 12% dan 13% sudah tidak ditemukan pertumbuhan bakteri. Dari hasil penelitian tersebut menunjukkan KHM ekstrak kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* adalah 12%. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri *Proteus mirabilis* dengan menggunakan metode penelitian dilusi agar secara *in vitro*. Hasil kesimpulan ini membuktikan hipotesis penelitian ini

bahwa ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* adalah benar.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Laffiani yang dilakukan pada tahun 2017 yang menyebutkan bahwa ekstrak kulit *Salacca zalacca* memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri *Candida albicans*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Rahmah pada tahun 2016 juga membuktikan efek antimikroba ekstrak kulit *Salacca zalacca* terhadap bakteri *E. coli*.

Efek antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* disebabkan oleh senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*). Senyawa-senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak etanol kulit salak pondoh adalah alkaloid, flavonoid, dan tanin. Alkaloid memiliki mekanisme antimikroba dengan cara merusak integritas membran sel, menghambat enzim topoisomerase I, dan menghambat enzim dihidrofolat reduktase sehingga terjadi kerusakan pada asam nukleat bakteri (Cushnie *et al.*, 2014). Flavonoid memiliki mekanisme antimikroba dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi (Cushnie *et al.*, 2005). Tanin menghambat proliferasi bakteri dengan cara menghambat enzim metabolisme esensial seperti enzim proteolitik sehingga mengganggu metabolisme protein bakteri (Enwa *et al.*, 2014).

Keterbatasan dari penelitian ini adalah tidak adanya standarisasi pemilihan kulit salak pondoh yang akan dijadikan ekstrak sehingga memungkinkan terjadinya perbedaan efek antimikroba. Lama pembuatan dan penyimpanan ekstrak juga ikut mempengaruhi hasil penelitian yang menimbulkan perubahan hasil efek antimikroba. Penelitian ini dilakukan secara berjenjang dengan pengambilan kulit

salak di waktu yang berbeda sehingga dapat mempengaruhi kualitas kulit salak tersebut. Penelitian ini hanya mengamati efek antimikroba dari kulit salak pondoh secara keseluruhan sehingga tidak dapat mengamati senyawa aktif apa yang berperan paling besar sebagai antimikroba. Karena sampel yang terbatas, penelitian ini hanya menggunakan 1 isolat bakteri *Proteus mirabilis* untuk 4 kali pengulangan. Penelitian ini hanya bisa digunakan untuk melihat efek antimikroba ekstrak etanol kulit salak pondoh secara kualitatif sehingga perlu penelitian lebih lanjut secara *in vitro* pada hewan coba untuk mengetahui dosis efektif, dosis letal, dan efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan ekstrak etanol kulit salak pondoh sebagai antimikroba terhadap *Proteus mirabilis*. Melalui penelitian lanjutan tersebut diharapkan dapat membantu perkembangan penggunaan ekstrak etanol kulit salak pondoh sebagai alternatif terapi infeksi *Proteus mirabilis*.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terbukti memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Proteus mirabilis*.
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap bakteri *Proteus mirabilis* adalah konsentrasi 12%.
3. Adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* yang ditandai dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) semakin rendah pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*.

7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan yang telah disampaikan, maka dapat diberikan beberapa saran yang dapat dipakai untuk penelitian yang akan datang, antara lain:

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui kadar masing-masing senyawa aktif dalam ekstrak kulit salak pondoh. Pengujian ini dapat digunakan sebagai standar untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

2. Pengamat yang memberikan skor pada hasil penelitian dilusi agar harus berkompeten dalam bidang mikrobiologi laboratorium seperti analisis mikrobiologi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap mikroba lainnya.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada hewan coba dengan metode *in vivo* untuk mengetahui secara pasti dosis efektif, dosis letal, dan efek samping yang ditimbulkan oleh ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*).
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak *Salacca zalacca* terhadap jenis bakteri lain untuk menambah variasi bakteri yang dapat digunakan dengan ekstrak *Salacca zalacca*.
6. Penggunaan ekstrak *Salacca zalacca* dapat digunakan sebagai produk jadi berupa salep atau sabun cair untuk digunakan oleh masyarakat luas.
7. Implementasi klinis dari efek antimikroba ekstrak *Salacca zalacca* dapat digunakan sebagai cadangan obat antibiotik atau sebagai tindakan pencegahan untuk Infeksi Saluran Kemih (ISK).

DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama, H. *et al.*, 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Against Staphylococcus Aureus. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(4), pp. 487-491.
- Ansel, H.C., Allen, L.V. 2013, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery System*. 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Carroll, K. C., Morse, S. A., Mietzner, T. & Miller, S., 2016. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 27th ed. New York: McGraw-Hill Education.
- Cushnie, T. & Lamb, A., 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), pp. 343-356.
- Cushnie T. P. Tim, Cushnie Benjamart, Lamb Andrew J., Alkaloids: An Overview of Their Antibacterial, Antibiotic-enhancing and Antivirulence Activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2014, 44 (5): 377-386.
- Depkes RI. 2014. Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia. Jakarta: Depkes RI.
- Enwa Felix O., Omojate Godstime C., Jewo Augustina O., Eze Christopher O., Mechanism of Antimicrobial Actions of Phytochemical Against Enteric Pathogens – A Review, *Journal of Pharmaceutical, Chemical, and Biological Sciences*, 2014, 2 (2): 77-85.
- Gunawan, I.W.A. 2009. Potensi Buah Pare (*Momordica Charantia* L) sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*. Denpasar: Progam Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mahasaraswati.
- Hamdani, S. 2014. Maserasi. (Online), (<http://www.catatankimia.com/maserasi>, diakses 28 November 2018).
- Istiqomah, 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Juliantina, F., Citra, D.A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T. and Bowo, E.T., 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 1(1), pp.12-20.
- Karou, D. *et al.*, 2005. Antibacterial Activity of Alkaloids From *Sida Acuta*. *African Journal of Biotechnology*, 5(2), pp. 195-200.
- Laffiani, Y., 2017. *Efektivitas Ekstrak Kulit Salak Pondoh (Salacca zalacca) Terhadap Pertumbuhan Candida albicans pada Plat Resin Akrilik*. Tugas



- Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta.
- Mokhtar, S.I., Leong, P.C., Ven L.E., Aziz, N.A.A. 2014. Total Phenolic Contents, Antioxidant Activities and Organic Acids Composition of Three Selected Fruit Extracts at Different Maturity Stages. *Journal of Tropical Resources and Sustainable Science*, 2, pp.40-46.
- Nazaruddin & Kristiawanti, 1992. 18 Varietas Salak. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nainggolan, Sri Y. 2017. WHO: Antibiotik Mulai Tak Mempan Hadapi Beberapa Jenis Penyakit. (Online), (metrotvnews.com/kesehatan/4KZEa50k-who-antibiotik-mulai-tak-mempan-hadapi-beberapa-jenis-penyakit, diakses 25 November 2017).
- Noorhamdani *et al.*, 2015. Bakteriologi Medik Edisi Kedua. Malang: CV Adi Kartika Utama
- Nuria, M. & Faizatun, A., 2009. 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*, 5(2).
- Nurina, Cut Intan E., Samingan, & Iswadi. 2014. Uji Antimikroba Ekstrak Buah Salak (*Salacca edulis*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Edukasi* edisi 12, 6(1), pp. 19-23.
- O'Hara, C. M., Brenner, F. W. & Miller, J. M., 2000. Classification, Identification, and Clinical Significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*, October, 13(4), pp. 534-546.
- Özçelik, B., Kartal, M. & Orhan, I., 2011. Cytotoxicity, Antiviral and Antimicrobial Activities of Alkaloids, Flavonoids, and Phenolic Acids. *Pharmaceutical Biology*, 49(4), pp. 396-402.
- Putri, S., 2017. 35 Manfaat Buah Salak dan Efek Sampingnya Lengkap. (Online), (<http://manfaatdanefeksamping.blogspot.co.id/2017/02/manfaat-buah-salak-dan-efek-sampingnya.html>, diakses 24 November 2017).
- Rahmah, Umi. 2016. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. Tidak Diterbitkan. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jambi, Jambi.
- Różalski *et al.* *Proteus sp.* - an opportunistic bacterial pathogen classification, swarming growth, clinical significance and virulence factors. *Folia Biologica et Oecologica*, 2012, 8: 1-17.
- Sahputra, F. M. 2008. *Potensi Ekstrak Kulit dan Daging Buah Salak Sebagai Antidiabetes*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Santoso, H. B., 1990. Salak Pondoh. Yogyakarta: Kanisius.
- Sari, F. P. & Sari, S. M., 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba Dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami.
- Sarndal C.E., Swensson B., Wretman J.. 2003. *Model Assisted Survey Sampling*. 1st Edition. Springer-Verlag New York Inc. New York.
- Schaffer, J.N., Pearson, M. M., 2015. *Proteus mirabilis* and Urinary Tract Infections. *Microbiol Spectr*, 3(5).
- Schroeder, J., 2012. The Universal Solvent. (Online), (<http://mixology.bridgetalbert.com/the-universal-solvent/>, diakses 20 Januari 2018).
- Suica-Bunghez, I. *et al.*, 2016. Antioxidant Activity and Phytochemical Compound of Snake Fruit (*Salacca zalacca*). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 133(1), p. 012051.
- Sulaksono, S., Fitrianiingsih, S.P. and Yuniarni, U., 2015. Karakterisasi simplisia dan ekstrak etanol buah salak (*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss). *Prosiding KNMSA 2015*, 317-320
- Suskendriyati, H., Wijayati, A., Hidayah, N. & Cahyuningdari, D., 2000. Studi Morfologi dan Hubungan Kekerbatan Varietas Salak Pondoh (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss.) di Dataran Tinggi Sleman. *Biodiversitas*, 1(2), pp. 59-64.
- Tetti, M., 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), pp. 361-367
- Zona, S, 2011. *Salacca zalaca* (Gaertn.) Voss. (Online), (https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=817227#null, diakses 2 April 2019).
- Zubaidah, E., Dewantari, F.J., Novitasari, F.R., Srianta, I. and Blanc, P.J., 2018. Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, pp.198-203.

LAMPIRAN

Lampiran 1. VITEK *Proteus mirabilis* yang didapat dari RS. Dr. Saiful Anwar

bioMerieux Customer:		RS Dr SYAIFUL ANWAR MALANG		Printed Apr 18, 2018 14:12 ICT					
Patient Name: -		Microbiology Chart Report		Patient ID: -					
Location: -				Physician: -					
Lab ID: 1/042018.5881				Isolate Number: 1					
Organism Quantity:									
Selected Organism : <i>Proteus mirabilis</i>									
Source: PSWAB				Collected:					
<table border="1"> <tr> <td>Comments:</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> </tr> </table>						Comments:			
Comments:									
Identification Information		Analysis Time:	4.00 hours	Status: Final					
Selected Organism		100% Probability	<i>Proteus mirabilis</i>						
ID Analysis Messages		Strainnumber:	0011000340042211						
Susceptibility Information		Analysis Time: 8.25 hours		Status: Final					
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation				
ESBL			Ertapenem	<= 0.5	S				
Ampicillin	<= 2	S	Meropenem	<= 0.25	S				
Ampicillin/Sulbactam	<= 2	S	Amikacin	4	S				
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Gentamicin	<= 1	S				
Cefazolin	<= 4	S	Ciprofloxacin	<= 0.25	S				
Ceftazidime	<= i	S	Tigecycline	4	*R				
Ceftriaxone	<= i	S	Nitrofurantoin	128	R				
Cefepime	<= i	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	<= 20	S				
Aztreonam	<= 1	S							
i = Deduced drug * = AES modified ** = User modified									
AES Findings									
Confidence:		Consistent							



Lampiran 2. Hasil Uji Shapiro-Wilk

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil	.292	24	.000	.686	24	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 3. Hasil Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics^{a,b}

Hasil	
Kruskal-Wallis H	23,000
df	5
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi

Lampiran 4. Hasil Uji Korelasi Spermman

Correlations

			Konsentrasi	Hasil
Spearman's rho	Konsentrasi	Correlation Coefficient	1,000	-,926**
		Sig. (2-tailed)	.	,000
		N	24	24
	Hasil	Correlation Coefficient	-,926**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	.
		N	24	24

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

