

**EKSTRAK ETANOL DAUN AJERAN (*Bidens pilosa*) MENGHAMBAT  
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO***

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan**

**Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

**ALIAH SYAHIRAH BINTI ZAKARIA**

**NIM: 165070108121001**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2019**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EKSTRAK ETANOL DAUN AJERAN (*Bidens pilosa*) MENGHAMBAT  
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

Aliah Syahirah binti Zakaria

NIM 165070108121001

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 20 November 2019

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I

dr. Eviana Norahmawati, Sp. PA(K)  
NIP. 196910281997022001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Dr. Dra. Sri Winarsih, M. Si., Apt  
NIP. 195408231981032001

Pembimbing-II/Penguji-III,

Dr. dr. Tinny Endang H., Sp PK  
NIP. 195212251980022001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran,

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



## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas segala rahmat dan berkat-Nya selama berproses di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, penulis dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir dengan judul "Ekstrak Etanol daun Ajeran (*Bidens pilosa*) Menghambat Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*" dengan lancar.

Penulisan tugas akhir ini ditujukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran dan membantu perkembangan ilmu kedokteran, terutama dalam bidang penyakit infeksi.

Dalam penyusunan dan penulisan tugas akhir ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada beberapa pihak yang terlibat :

1. Dr. dr. Wisnu Barlianto, Msi.Med, Sp.A(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K) selaku Ketua Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Dr. Dra. Sri Winarsih, M. Si., Apt. selaku dosen pembimbing pertama yang sangat berjasa dalam membimbing dan mengarahkan serta meluangkan banyak waktunya selama proses pengerjaan tugas akhir.
4. Dr. dr. Tinny Endang Hernowati, Sp. PK(K) selaku dosen pembimbing kedua yang selalu dengan sepenuh hati membimbing dan mengarahkan saya selama proses pengerjaan tugas akhir ini.
5. dr. Eviana Norahmawati, Sp. PA(K) selaku penguji seminar hasil akhir, untuk waktu yang diluangkan, dedikasi, dan saran-sarannya.

6. Pak Slamet Riyanto selaku analis laboratorium yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.

7. Yang tercinta dan terkasih ayah Zakaria bin Omar dan mama Raimah binti Yusof yang selalu memberi semangat dan tidak berhenti mendoakan saya serta menjadi panutan dan penuntun hidup saya.

8. Norfatin binti Mohd Mustapha yang selalu meluangkan waktu untuk mendengar keluh kesah selama pengerjaan tugas akhir ini.

9. Teman-teman kelompok penelitian, Afi Danial, Qusyairi, Dennis Wafa dan Muhammad Faisal yang selalu membantu saya dalam melaksanakan penelitian tugas akhir ini.

10. Semua ahli keluarga yang telah memberi semangat dan dorongan untuk menyelesaikan tugas akhir ini.

11. Semua teman kampus yang membantu dan memberi semangat dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

12. Semua pihak yang turut serta membantu saya dalam menyelesaikan tugas akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, karena kesempurnaan hanya milik Tuhan YME.

Malang, 20 November 2019

Penulis



**ABSTRAK**

Binti Zakaria, Aliah Syahirah. 2019. **EKSTRAK ETANOL DAUN AJERAN (*Bidens pilosa*) MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Escherichia coli* SECARA IN VITRO**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, M. Si., Apt. (2) Dr. dr. Tinny Endang H., Sp. PK(K)

*Escherichia coli* adalah bakteri yang terdapat di usus manusia dan hewan serta merupakan bagian penting di saluran usus manusia yang sehat. Namun, beberapa *Escherichia coli* bersifat patogen menyebabkan penyakit seperti diare maupun infeksi saluran kemih. Ekstrak daun ajeran (*Bidens pilosa*) memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, fenol, saponin, alkaloid, minyak atsiri, zat pahit dan zat samak yang diduga sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi agar. Penelitian ini menggunakan konsentrasi 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5%, 3,0% and 0% ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap 4 isolat bakteri *Escherichia coli*. Untuk menentukan Kadar Hambat Minimal ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) diamati pada pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada petri agar. Analisis data penelitian ini dilakukan menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis yang menunjukkan perbedaan nyata efek antibakteri setiap konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang didapatkan hasil  $p < 0.05$ . Selain itu, uji korelasi Spearman menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan nilai  $r = -1,000$  dan  $p = 0,000$ . Kesimpulannya, hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar.

**Kata Kunci :** Antibakteri; *Escherichia coli*; Daun ajeran; Dilusi agar

**ABSTRACT**

Binti Zakaria, Aliah Syahirah. 2019. **AJERAN LEAF ETHANOL EXTRACT (*BIDENS PILOSA*) INHIBIT GROWTH OF *ESCHERICHIA COLI* IN VITRO**. Final assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, M. Si., Apt. (2) Dr. dr. Tinny Endang H., Sp. PK(K)

*Escherichia coli* is bacteria found in intestine of human and animals and is important as part of healthy human intestinal tract. However, some of *Escherichia coli* can be pathogenic that causing diseases such as diarrhea or urinary tract infections. The ajeran leaf ethanol extract (*Bidens pilosa*) has an active compound such as flavonoids, phenols, saponins, alkaloids, essentials oils, bitter substances, samak substances that are expected to be antibacterial against *Escherichia coli*. The objective of this research is to verify the ajeran leaf ethanol extract (*Bidens pilosa*) in inhibiting the growth of *Escherichia coli* in vitro by using dilution agar technique. This research uses concentrations of ajeran leaf ethanol extract (*Bidens pilosa*) 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5%, 3,0% and 0% as the control against 4 bacterial isolates of *Escherichia coli*. To determine the Minimal Inhibitory Concentration of ajeran leaf ethanol extract (*Bidens pilosa*) was observed from the growth of bacterial colony of *Escherichia coli* on the plate. Analysis data of this research was conducted using non-parametric test of Kruskal Wallis which showed significant difference of the antibacterial effect of each concentration of ajeran leaf ethanol extract (*Bidens pilosa*) on the growth of *Escherichia coli* which have p-values  $<0.05$ . In addition, Spearman correlation test indicates that there is strong relationship between the administration of ajeran leaf ethanol extract (*Bidens pilosa*) and the growth of *Escherichia coli* with the value of  $r = -1,000$  dan  $p = 0,000$ . In conclusion, the results of this research suggests that ajeran leaf ethanol extract (*Bidens pilosa*) inhibit the growth of *Escherichia coli* in vitro using dilution agar technique.

**Keywords:** Antibacterial; *Escherichia coli*; Ajeran leaf; Dilution agar





DAFTAR ISI

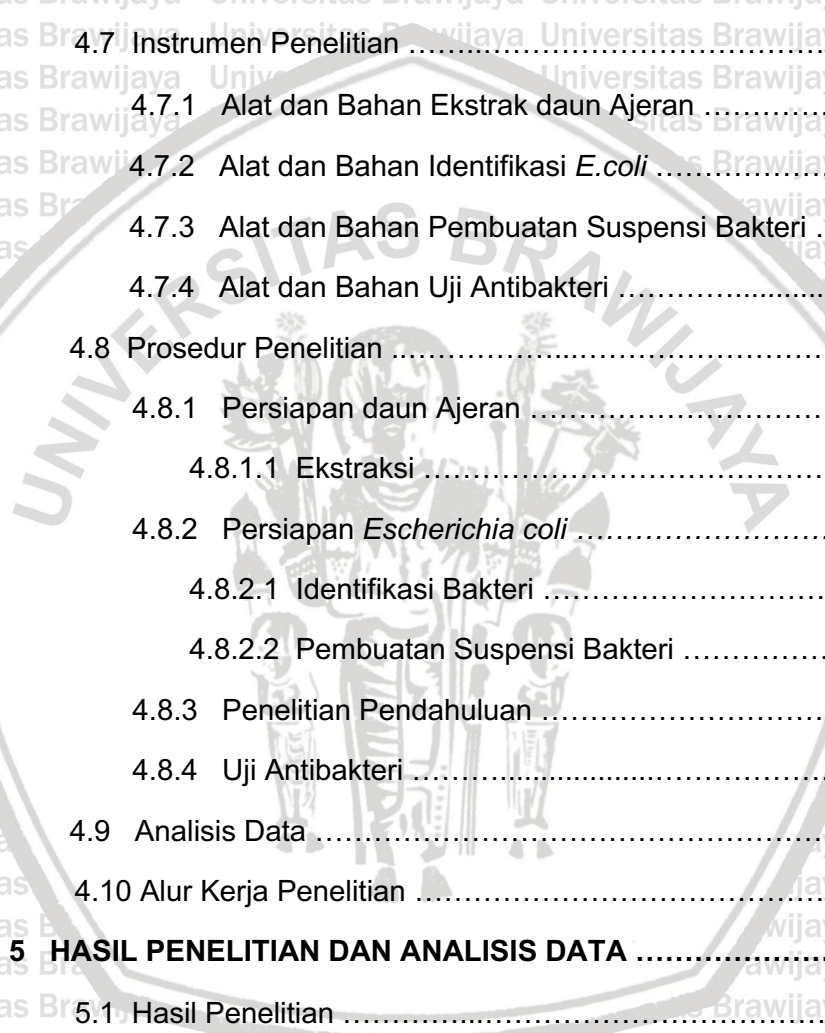
Halaman

Halaman Judul .....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak .....	vi
Abstract .....	vii
Daftar Isi .....	viii
Daftar Tabel .....	xii
Daftar Gambar .....	xiii
Daftar Lampiran .....	xiv
Daftar Singkatan .....	xv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.2.1 Rumusan Masalah Umum.....	3
1.2.2 Rumusan Masalah Khusus.....	3
1.3 Tujuan 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 Praktis.....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ) .....	5
2.1.1 Taksonomi .....	6
2.1.2 Morfologi .....	6

2.1.3 Struktur Antigen .....	7
2.1.4 Medium Pertumbuhan .....	8
2.1.5 Manifestasi Klinis .....	10
2.1.5.1 Infeksi Saluran Kemih .....	10
2.1.5.2 Diare Berhubungan <i>E.coli</i> .....	11
2.1.5.3 Sepsis .....	13
2.1.5.4 Meningitis .....	13
2.2 Tinjauan Antibakteri .....	13
2.2.1 Mekanisme Kerja Antibakteri .....	13
2.2.2 Uji Antibakteri secara In Vitro .....	14
2.2.2.1 Metode Difusi .....	15
2.2.2.2 Metode Dilusi .....	16
2.3 Tumbuhan Ajeran ( <i>Bidens pilosa</i> ) .....	18
2.3.1 Taksonomi .....	18
2.3.2 Asal Usul tumbuhan Ajeran .....	18
2.3.3 Morfologi tumbuhan Ajeran .....	19
2.3.4 Kandungan daun Ajeran .....	19
2.3.5 Penelitian Terkait <i>Bidens pilosa</i> .....	21
2.3.6 Proses Ekstraksi .....	22
2.3.7 Analisis Kualitatif Fitokimia .....	23
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>24</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	24
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep .....	25
3.3 Hipotesis Penelitian .....	26
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
4.1 Rancangan dan Desain Penelitian .....	27
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	27
4.3 Sampel Penelitian .....	27







4.4 Jumlah Pengulangan ..... 27

4.5 Definisi Operasional ..... 28

4.6 Variabel Penelitian ..... 29

4.6.1 Variabel Bebas ..... 29

4.6.2 Variabel Tergantung ..... 29

4.7 Instrumen Penelitian ..... 29

4.7.1 Alat dan Bahan Ekstrak daun Ajeran ..... 29

4.7.2 Alat dan Bahan Identifikasi *E.coli* ..... 29

4.7.3 Alat dan Bahan Pembuatan Suspensi Bakteri ..... 30

4.7.4 Alat dan Bahan Uji Antibakteri ..... 30

4.8 Prosedur Penelitian ..... 30

4.8.1 Persiapan daun Ajeran ..... 30

4.8.1.1 Ekstraksi ..... 30

4.8.2 Persiapan *Escherichia coli* ..... 31

4.8.2.1 Identifikasi Bakteri ..... 31

4.8.2.2 Pembuatan Suspensi Bakteri ..... 32

4.8.3 Penelitian Pendahuluan ..... 33

4.8.4 Uji Antibakteri ..... 33

4.9 Analisis Data ..... 34

4.10 Alur Kerja Penelitian ..... 35

**BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA ..... 36**

5.1 Hasil Penelitian ..... 36

5.1.1 Hasil Ekstraksi daun Ajeran ..... 36

5.1.2 Hasil Identifikasi *Escherichia coli* ..... 36

5.1.3 Hasil Penelitian Pendahuluan ..... 37

5.1.4 Hasil Uji Antibakteri ..... 39

5.2 Hasil Analisis Data ..... 41

**BAB 6 PEMBAHASAN ..... 45**



<b>BAB 7 PENUTUP</b> .....	<b>49</b>
7.1 Kesimpulan .....	49
7.2 Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>54</b>





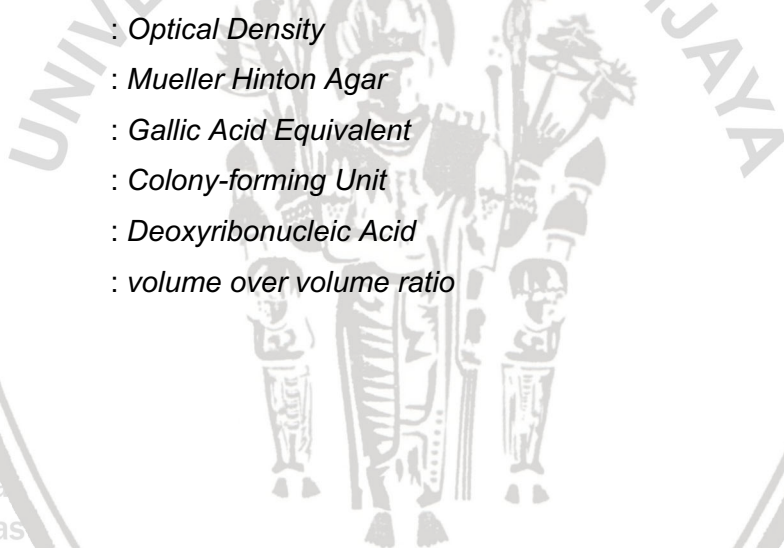
DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sertifikat Ekstraksi .....	54
Lampiran 2. Sertifikat Determinasi Ekstrak .....	55
Lampiran 3. Surat Keterangan Bebas Plagiasi .....	56
Lampiran 4. Uji Kruskal-Wallis .....	57
Lampiran 5. Uji Mann-Whitney .....	58
Lampiran 6. Uji Korelasi Spearman .....	65



**DAFTAR SINGKATAN**

- ISK : Infeksi Saluran Kemih
- KHM : Kadar Hambat Minimal
- KBM : Kadar Bunuh Minimal
- EMB : *Eosin Methylene Blue*
- ETEC : *Escherichia coli* Enterotoksigenik
- EPEC : *Escherichia coli* Enteropatogenik
- STEC : *Shiga toxin-producing Escherichia coli*
- EIEC : *Escherichia coli* Enteroinvasif
- EAEC : *Escherichia coli* Enteroagregatif
- HIV : *Human Immunodeficiency Virus*
- OD : *Optical Density*
- MHA : *Mueller Hinton Agar*
- GME : *Gallic Acid Equivalent*
- CFU : *Colony-forming Unit*
- DNA : *Deoxyribonucleic Acid*
- v/v : *volume over volume ratio*





DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5.1 Skor Pertumbuhan Koloni Bakteri <i>Escherichia coli</i> pada Konsentrasi Berbeda Ekstrak Etanol daun Ajeran ( <i>Bidens pilosa</i> ).....	40
Tabel 5.2 Hasil Uji Mann-Whitney .....	43



## BAB 1

## PENDAHULUAN

*Escherichia coli* (*E. coli*) adalah bakteri yang hidup di usus manusia dan hewan. Kebanyakan *Escherichia coli* tidak berbahaya dan merupakan bagian penting dari salurana usus manusia yang sehat. Namun, beberapa *Escherichia coli* juga bersifat patogen yang berarti bakteri ini dapat menyebabkan penyakit diare atau penyakit di luar saluran usus seperti pneumonia dan infeksi saluran kemih (CDC, 2018).

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan infeksi yang mengenai bagian saluran kemih jika yang terlibat adalah saluran kemih bawah disebut sebagai infeksi saluran kemih atau *cystitis* sementara jika melibatkan saluran kemih atas disebut infeksi ginjal atau *pyelonephritis*. Di antara gejala dari infeksi saluran kemih bawah ini adalah rasa sakit ketika buang air kecil, kerap buang air kecil dan merasa ingin buang air kecil meskipun kandung kemihnya kosong. Gejala dari infeksi ginjal adalah demam dan nyeri panggul (Forsey, 2012). Penyebab paling umum infeksi saluran kemih adalah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* menjadi penyebab 80-90% infeksi saluran kemih yang ditemui di masyarakat dan 30-50% infeksi didapat secara nosokomial (Ejrnæs, 2011). Perempuan lebih sering terkena ISK karena struktur anatomi yang berbeda dan perubahan traktur urogenitalis selama kehamilan maupun proses melahirkan (Noorhamdani *et al.*, 2015).

Obat antimikroba sering digunakan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Namun, mikroba merupakan makhluk hidup yang terus berkembang seiring berjalannya waktu. Untuk bertahan hidup, mikroba juga beradaptasi terhadap perubahan lingkungan. Hal ini disebut sebagai mekanisme resistensi (Qadri *et al.*, 2005). Hal tersebut menjadi tantangan dalam bidang



kesehatan terkait infeksi yang disebabkan oleh bakteri khususnya *Escherichia coli*.

Untuk mengatasi hal tersebut diperlukan pengobatan alternatif baru seperti penggunaan tanaman herbal yang memiliki banyak kandungan senyawa aktif yang dapat bekerja sebagai antibakteri, yang di antaranya tumbuhan ajeran (*Bidens pilosa*).

*Bidens pilosa* merupakan tumbuhan herbal yang mudah tumbuh tersebar di seluruh dunia (Karis dan Ryding, 1994). Tumbuhan *Bidens pilosa* merupakan tanaman liar yang mengganggu dan kebanyakannya ditemukan di tempat yang tidak terpelihara (Young-soo, 2009). Tumbuhan *Bidens pilosa* ini juga memiliki nama daerah seperti ajeran, ketul, jaringan dan hareunga. Tumbuhan ajeran ini memiliki banyak khasiat antara lain digunakan sebagai obat demam, pelancar pencernaan, rematik, pilek dan wasir (Sukiyono, 2010). Di negara Brasil, tumbuhan *Bidens pilosa* digunakan oleh masyarakat setempat secara meluas untuk mengobati penyakit seperti demam, nyeri dada (angina), diabetes, edema, infeksi dan peradangan (Silva *et al.*, 2011). Terdapat beberapa kandungan senyawa metabolit aktif yang terkandung dalam ekstrak daun ajeran (*Bidens pilosa*) seperti flavonoid, glikosida flavonoid, fenol dan *phenylpropanoids* (Jun Yi *et al.*, 2016). Selain itu, menurut Sukiyono (2010), terdapat beberapa kandungan senyawa aktif dalam tumbuhan ajeran ini seperti alkaloid poliiina, saponin, zat pahit, minyak atsiri dan zat samak, sehingga diduga memiliki efek antibakteri.

Antibakteri adalah segolongan senyawa, baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan proses biokimia di dalam sel bakteri. Proses tersebut dilakukan melalui penghambatan sintesis dinding sel, sintesis protein, sintesis asam nukleat, serta menghambat jalur metabolisme sehingga menghancurkan struktur membran sel tersebut (Tenover, 2006).

Terdapat antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteriostatik, maupun yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal

sebagai bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh bakteri, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisid bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswara, dkk., 1995).

Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) menghambat pertumbuhan pada bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan menggunakan beberapa konsentrasi yang berbeda sehingga dapat dikembangkan sebagai pengobatan alternatif antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan daun ajeran (*Bidens pilosa*).

## 1.2 Rumusan Masalah Umum

Apakah ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*?

### 1.2.1 Rumusan Masalah Khusus

1. Berapakah Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*?
2. Bagaimana hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan efek ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*.



### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.
2. Untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat akademik

1. Sebagai informasi ilmiah tambahan dalam bidang kesehatan mengenai manfaat ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
2. Sebagai bahan rujukan untuk peneliti lain untuk melakukan penelitian tentang antibakteri.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

1. Meningkatkan kesadaran dan upaya masyarakat dalam eksplorasi sumber daya alam di Indonesia.
2. Mengembangkan pengobatan alternatif yang murah dan alami untuk penyakit akibat infeksi bakteri *Escherichia coli*.

## BAB 2

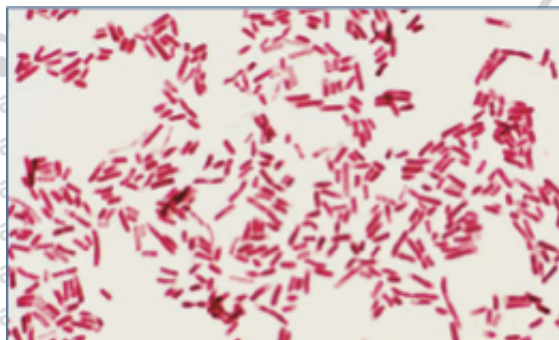
## TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Escherichia coli* (*E. coli*)

*Escherichia coli* adalah species bakteri gram-negatif yang berbentuk batang lurus, memiliki ukuran  $0.3-1.0 \times 1.0 - 6.0 \mu\text{m}$ , dapat tersusun sendiri-sendiri atau dalam berpasangan, sebagian besar bakteri bersifat motil karena memiliki flagella peritrikus (terletak di seluruh permukaan tubuh) dan spesies ini tidak dapat membentuk spora. Bakteri ini termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* yang bersifat fakultatif anaerobik yang hidup di usus hewan yang sehat maupun yang sakit. Theodor Escherich pertama kali menemukan bakteri *Escherichia coli* pada tahun 1885 dari feses bayi baru lahir (Todar, 2012; Murray *et al*, 2013).

*Escherichia coli* yang merupakan flora normal yang penting di usus, memiliki virulensi yang rendah namun sebagian dapat menyebabkan infeksi oportunistik di lokasi ekstra usus seperti infeksi saluran kemih (Quinn *et al*, 2011).

Patogen galur *Escherichia coli* ini bertanggungjawab terhadap tiga jenis infeksi pada manusia seperti infeksi saluran kemih, neonatal meningitis dan penyakit usus (gastroenteritis). Pada beberapa kasus, *serotyping* penting untuk mengetahui sejumlah kecil galur yang dapat menyebabkan terjadinya penyakit (Todar, 2012).



**Gambar 2.1** : Gambaran mikroskopik *Escherichia coli* pada pengecatan Gram bentuk batang Gram negative berwarna merah (Shannon, 2005)



### 2.1.1 Taksonomi bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (Todar, 2012) :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

### 2.1.2 Morfologi bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* adalah species bakteri gram-negatif yang berbentuk batang lurus (rod), memiliki ukuran  $0.3 - 1.0 \times 1.0 - 6.0 \mu\text{m}$  dan mampu hidup pada keadaan aerobik maupun anaerobik yang justeru dikategorikan sebagai fakultatif anaerobik (Murray *et al*, 2013). Bakteri ini memiliki fimbria atau pili yang berfungsi sebagai perlekatan antar sel hospes dan bakteriofag dan juga antar bakteri tersebut (Singleton *et al.*, 1999). Ciri khas dari semua bakteri terdiri dari kapsul, dinding sel, sel membran, sitoplasma yang mengandung bahan nuklear dan pelengkap seperti flagella dan pili atau fimbriae (Quinn *et al*, 2011).

Struktur yang membungkus sel bakteri adalah lapisan plasma membran yang tipis. Sedangkan di dalam sel tersebut mengandung gel seperti bahan cairan yang disebut sitoplasma yang berisi satu molekul asam deoksiribonukleat melingkar (DNA) untuk kegunaan genetik. Pada permukaan luar dari plasma membran terdapat dinding sel yang sangat kuat sebagai pelindung sel. Dinding sel ini terdiri dari dua struktur, daerah yang dipenuhi cairan yang disebut gel periplasmik yang mengandung lapisan peptidoglikan (murein) dan sebuah

membran luar yang terdiri atas fosfolipid dan lipopolisakarida (LPS).

Lipopolisakarida meluas keluar dari dinding sel bakteri dan bertindak sebagai

endotoksin, yang bertanggungjawab untuk banyak kerusakan efek bakteri gram

negatif. Selain komponen membran luar, bakteri *Escherichia coli* juga memiliki

struktur flagella yang berfungsi menolak pergerakan bakteri (Shannon, 2005).

Komponen kapsul yang terdiri dari polisakarida, melekat erat pada dinding sel

bakteri dan berkait rapat dengan proses fagositosis. Berbentuk halus, lurus, seperti

pelengkap rambut yang disebut pili atau fimbriae, terdiri dari protein pilin, melekat

pada dinding sel kebanyakan bakteri Gram-negatif, yang berfungsi pada bakteri

patogen sebagai perlekatan pada reseptor sel (Quinn *et al*, 2011).

### 2.1.3 Struktur antigen bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* dapat ditulis sesuai dengan somatic lipopolysaccharide

(O), capsular (K), dan flagellar (H) antigen. *Serotyping* klasik didasarkan pada

skema klasifikasi Kauffman di mana *Escherichia coli* ditulis menggunakan antigen

O dan H. Setidaknya terdapat 174 O antigen dan 53 H antigen telah

dideskripsikan, namun demikian hanya sebagian kecil dari subset kombinasi

antigen O; H yang terkait dengan penyakit pada manusia (Pitout *et al*, 2013).

Penjelasan karakteristik setiap antigen sebagai berikut:

#### 2.1.3.1 Antigen O (Somatik)

Antigen O adalah bagian paling luar dari dinding sel lipopolisakarida dan terdiri

dari unit polisakarida yang berulang. Antigen O bersifat tahan terhadap panas dan

alkohol dan biasanya dapat dideteksi oleh aglutinasi bakteri. Beberapa

polisakarida O tipe spesifik mengandung gugus gula yang unik. Sebagian besar

antibodi untuk antigen O adalah IgM (Jawetz *et al*, 2016).



### 2.3.1.2 Antigen K (Kapsul)

Lebih dari 100 antigen K yang memiliki sifat tidak tahan panas yang terdapat di bagian eksternal kepada antigen O pada beberapa bakteri tetapi tidak semua *Enterobacteriaceae*. Beberapa antigen K terdiri dari polisakarida, termasuk antigen K dari *Escherichia coli* tetapi yang lain adalah protein. Antigen K dapat mengganggu aglutinasi oleh O antisera, dan mereka mungkin terkait dengan virulensi bakteri misalnya antigen K dari *Escherichia coli* menyebabkan perlekatan bakteri ke sel epitel sebelum invasi gastrointestinal atau saluran kemih (Jawetz *et al*, 2016).

### 2.3.1.3 Antigen H (Flagela)

Terdapat lebih dari 50 antigen H terletak di flagella dan dapat didenaturasi atau dihapuskan oleh panas atau alkohol. Faktor penentu dalam antigen H adalah fungsi dari urutan asam amino pada protein flagela (flagellin). Antigen H yang terdapat pada permukaan bakteri dapat mengganggu aglutinasi oleh antibodi anti-O (Jawetz *et al*, 2016).

### 2.1.4 Medium pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang dan bersifat fakultatif anaerobik serta dapat tumbuh pada media MacConkey agar. *Escherichia coli* membentuk koloni yang memiliki bentuk bundar, cembung dan halus dengan tepi yang nyata (Quinn *et al*, 2011; Jawetz *et al*, 2016). Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri mesofilik dengan suhu pertumbuhan dari 7°C hingga 49.4°C dengan suhu optimum sekitar 37°C, yaitu suhu tubuh. *Escherichia coli* juga dapat tumbuh pada keadaan di mana pH 4-9 dan aktivitas air 0.935 (Forsythe, 2000).

Terdapat berbagai media kultur untuk menumbuhkan bakteri *Escherichia coli* yang digunakan diantaranya adalah media Eosine Methylene Blue (EMB) dan media MacConkey agar.

### 1) Eosine Methylene Blue (EMB)

Media Eosin Methylene Blue merupakan media kultur selektif dan diferensial untuk bakteri Gram negatif. Komposisi media ini mengandung methylene blue dan eosin sebagai indicator pH. Media ini membantu dalam membedakan secara visual terhadap *Escherichia coli*, batang Gram negatif non-patogenik lainnya dan *Salmonella* serta *Shigella*. Bakteri Gram negatif yang menfermentasi laktosa akan menghasilkan asam yang mengubah warna menjadi koloni ungu gelap. Selain itu, bakteri fermentasi laktosa tertentu akan menghasilkan koloni yang datar dan gelap dengan kemilau logam hijau. Sebagian besar koloni *Escherichia coli* memiliki kemilau hijau yang khas atau disebut juga *green metallic sheen* pada media Eosin Methylene Blue (Tankeshwar, 2013).



**Gambar 2.2** : Bakteri *Escherichia coli* dalam EMB agar (Tankeshwar, 2013)

Terlihat koloni berwarna metallic sheen



## 2) Media MacConkey agar

Media agar MacConkey merupakan media selektif untuk bakteri Gram negatif, yang mengandung garam empedu yang sangat berguna untuk melakukan isolasi terhadap Enterobacteri dan beberapa bakteri Gram negatif lainnya.

Media ini mengandung laktosa dengan warna merah netral sebagai indikator pH. Media ini memungkinkan diferensiasi dari fermentasi laktosa dan non-laktosa. Jika bakteri tumbuh pada koloni fermentasi laktosa dan media sekitarnya akan menghasilkan produk sampingan bersifat asam menyebabkan perubahan warna menjadi merah jambu. Sebaliknya jika tumbuh pada koloni fermentasi non-laktosa akan menghasilkan produk sampingan yang bersifat alkali yang memberikan warna kekuningan pada media tersebut (Quinn *et al.*, 2011).

### 2.1.5 Manifestasi klinis bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* yang menginfeksi manusia dapat menyebabkan beberapa manifestasi klinis dari ringan sehingga berat, antara lain adalah :

#### 2.1.5.1 Infeksi saluran kemih (ISK)

*Escherichia coli* adalah penyebab yang paling umum infeksi saluran kemih dan menyumbang sekitar 90% infeksi saluran kemih pertama pada wanita muda (Jawetz *et al.*, 2016). Bakteri tersebut berkolonisasi dari feses atau daerah perineum dan naik melalui saluran kemih ke kandung kemih. Infeksi kandung kemih 14 kali lebih sering terjadi pada wanita daripada lelaki karena struktur uretra yang singkat pada wanita (Todar, 2012). Sebagian besar infeksi saluran kemih yang melibatkan kandung kemih atau ginjal pada manusia yang sehat lainnya disebabkan oleh sejumlah kecil jenis antigen O yang memiliki faktor virulensi yang diuraikan secara khusus dapat memfasilitasi kolonisasi dan selanjutnya

menyebabkan infeksi klinis. Organisme ini dikenal sebagai *Escherichia coli* *uropathogenic*. Biasanya, organisme ini menghasilkan hemolysin, yang bersifat sitotoksik yang memfasilitasi invasi jaringan. Gejala dan tanda ISK termasuk sering kencing, disuria, hematuria dan pluria (Jawetz *et al.*, 2016).

#### 2.1.5.2 Diare yang berhubungan dengan *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* menyebabkan penyakit diare, yang merupakan sesuatu yang biasa di seluruh dunia. Bakteri ini diklasifikasikan berdasarkan karakteristik sifat virulensi mereka dan setiap kelompok menyebabkan penyakit dengan mekanisme berbeda (Jawetz *et al.*, 2016) sebagai berikut :

##### a) *Escherichia coli* Enterotoksigenik (ETEC)

Bakteri ini merupakan penyebab umum "diare wisatawan" dan penyebab diare yang sangat penting pada anak-anak kurang dari 5 tahun di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik agar bakteri tersebut melekat pada sel epitel usus kecil. Beberapa galur ETEC menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan panas yang berkaitan dengan toksin kolera. Lumen usus teregang oleh cairan dan mengakibatkan hipermotilitas serta diare yang berlangsung selama beberapa hari. Selain itu, beberapa galur ETEC juga menghasilkan enterotoksin tahan panas yang mana berkaitan dengan plasmid. Galur bakteri ini mengaktifasi *guanylyl cyclase* di sel epitel enteric dan menstimulasi sekresi cairan. Profilaksis antimikroba mungkin efektif tetapi dapat menyebabkan peningkatan resistensi antibiotik terhadap bakteri dan mungkin direkomendasikan tidak seragam. Ketika diare berkembang, pengobatan antibiotik efektif dalam mempersingkat durasi penyakit.

##### b) *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC)

EPEC adalah penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara-negara berkembang. Bakteri ini melekat pada sel mukosa di usus kecil.



Ditandai dengan diare berat, berair, muntah, dan demam, yang biasanya dapat sembuh sendiri tetapi bisa juga berpanjangan menjadi kronis. Diare EPEC dikaitkan dengan banyak serotype yang spesifik bakteri *Escherichia coli* dan galur ini dapat diidentifikasi melalui penggolongan antigen O dan kadang-kadang antigen H.

#### c) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC)

STEC menghasilkan sitotoksin yang berkaitan dengan kolitis hemoragik, bentuk diare yang berat, dengan sindroma uremia hemolitik, suatu penyakit akibat penyakit gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopatik, dan trombositopenia. Setidaknya ada dua bentuk antigenic dari toksin yang dikenal sebagai toksin *Shiga-like* 1 dan toksin *Shiga-like* 2. Penyakit ini dapat dicegah dengan memasak daging sehingga matang dan menghindari produk yang tidak dipasterurisasi seperti sari apel.

#### d) *Escherichia coli* Enteroinvasif (EIEC)

Bakteri EIEC menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan shigellosis. Penyakit ini sering terjadi pada anak-anak di negara berkembang dan wisatawan yang berkunjung ke negara tersebut. Galur EIEC ini menghasilkan laktosa secara lambat dan tidak bergerak. Bakteri ini menyebabkan penyakit melalui invasi ke sel epitel mukosa usus.

#### e) *Escherichia coli* Enteroagregatif (EAEC)

Golongan ini dapat menyebabkan diare akut dan kronis (berdurasi lebih 14 hari) pada manusia di negara berkembang. Organisme ini juga merupakan penyebab dari makanan bawaan penyakit di negara-negara industri dan telah dikaitkan dengan diare para wisatawan dan diare berulang pada pasien dengan HIV.

### 2.1.5.3 Sepsis

Keadaan ini dapat terjadi apabila pertahanan tubuh badan secara normalnya tidak optimal, *Escherichia coli* dapat memasuki dan mencapai peredaran darah yang akhirnya menyebabkan sepsis. Pada bayi baru lahir rentan terjadi sepsis akibat *Escherichia coli* karena tidak memiliki antibodi IgM yang optimal. Sepsis juga dapat terjadi sebagai efek sekunder dari infeksi saluran kemih (Jawetz *et al.*, 2016).

### 2.1.5.4 Meningitis

Bakteri *Escherichia coli* dan *Group B Streptococcus* merupakan penyebab utama penyakit meningitis pada bayi. Sekitar 80% *Escherichia coli* dari kasus meningitis memiliki antigen K1. Antigen tersebut bereaksi silang dengan polisakarida kapsuler grup B dari *Neisseria meningitidis* (Jawetz *et al.*, 2016).

## 2.2 Tinjauan Antibakteri

### 2.2.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

#### 1) Menghambat metabolisme sel bakteri

Bagi tujuan kelangsungan hidup, bakteri memerlukan asam folat yang mana perlu disintesis sendiri dari asam para amino benzoate (PABA). Hal ini berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar. Apabila antibakteri dapat bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka akan terbentuk analog asam folat nonfungsional. Akibatnya, kehidupan bakteri tersebut akan terganggu (Setiabudy, 2007).

#### 2) Menghambat sintesis dinding sel bakteri

Bakteri memiliki struktur dinding sel yang rigid untuk mempertahankan bentuk mikroorganismenya dan melindungi sel bakteri, yang memiliki tekanan osmotik internal yang tinggi. Trauma pada struktur tersebut misalnya oleh enzim lisozim



atau penghambatan pembentukannya, akan menyebabkan lisis pada sel bakteri tersebut (Jawetz *et al.*, 2016).

### 3) Menghambat permeabilitas membran sel bakteri

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berfungsi sebagai barrier permeabilitas selektif, fungsi transport aktif dan menjaga komposisi internal sel. Makromolekul dan ion akan keluar dari sel jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak atau diganggu. Hal ini akan menyebabkan sel rusak atau kematian sel. Membran sitoplasma bakteri dan fungi mempunyai struktur yang berbeda dengan sel binatang, yang mana lebih mudah diganggu oleh agen tertentu (Jawetz *et al.*, 2016).

### 4) Menghambat sintesis protein sel bakteri

Sintesis protein bakteri berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri dari dua subunit yaitu ribosom 30S dan 50S. Kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA membentuk ribosom 70S supaya dapat berfungsi pada sintesis protein (Setiabudy, 2007). Mekanisme antibakteri dalam menghambat sintesis protein melalui ikatan dengan ribosom 30S atau 50S (Jawetz *et al.*, 2016).

### 5) Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

Bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel (Dzen *et al.*, 2010).

## 2.2.2 Uji Antibakteri secara *In Vitro*

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri dikenal sebagai bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Kadar

Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) merupakan kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh bakteri tersebut. Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisid bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswara, dkk., 1995). Uji antibakteri secara *in vitro* dapat dibagi menjadi dua, yaitu metode dilusi dan metode difusi.

### 2.2.2.1 Metode Dilusi

#### 1) Dilusi Agar

Metode ini digunakan dalam menentukan konsentrasi minimum yang diperlukan suatu bahan antibakteri untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme. Metode ini bersifat fleksibel, yang memberi kelebihan dibandingkan metode lain. Antara sifat fleksibilitasnya adalah format hasilnya dapat berupa kuantitatif, misalnya Kadar Hambat Minimal (KHM) dalam satuan mikrogram per millimeter ( $\mu\text{g/mL}$ ) dan dapat juga dalam bentuk kategori (*susceptible, moderately susceptible atau resistant*) serta dapat menggunakan keduanya. Keuntungan lain dari metode ini adalah kemampuan untuk mendeteksi berbagai pola resistensi yang tidak terdeteksi oleh metode difusi cakram (Omston *et al.*, 2003). Suspensi bakteri yang diujikan adalah  $10^4$  CFU/spot pada medium Mueller Hinton Agar (Balouiri *et al.*, 2016).

#### 2) Dilusi Tabung

Metode ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah sel mikroba tertentu yang akan diuji. Seterusnya setiap tabung tersebut diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Kemudian seri tabung diinkubasikan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam dan dilakukan pengamatan terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tiada pertumbuhan mikroba) merupakan Kadar Hambat Minimal (KHM) dari obat.



Kemudian, biakan dari semua tabung jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan dilakukan pengamatan ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh pada keesokan harinya. Kadar Bunuh Minimal (KBM) merupakan konsentrasi terendah dari obat pada biakan yang tidak ada pertumbuhan bakteri (Dzen, dkk., 2003). Suspensi bakteri yang diujikan adalah  $5 \times 10^5$  CFU/mL pada medium Mueller Hinton Broth (Balouiri *et al.*, 2016).

### 2.2.2.2 Metode Difusi

Tes ini dilakukan dengan menggunakan cahaya kertas saring yang mengandung kadar tertentu bahan antibakteri. Kemudian cakram ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji dan diinkubasi. Diameter hambatan dihitung sebagai daya hambat obat terhadap bakteri uji. Area hambatan yang terbentuk merupakan area yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring (Brooks *et al.*, 2004). Untuk melakukan evaluasi hasil uji kepekaan, apakah isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat, dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

#### 1) Cara Difusi Sumuran (*Well Diffusion*)

Metode ini dilakukan dengan cara membuat lubang-lubang pada agar yang telah dikultur dengan bakteri yang akan diujikan dan kemudian dimasukkan bahan antibakteri yang akan diujikan pada lubang tersebut. Ini akan membentuk radius zona hambatan.

#### 2) Cara Joan-Stokes

Membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang telah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolate bakteri yang akan diujikan. Dengan cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan secara bersamaan dalam satu cakram agar (Dzen, dkk.,

2003).

### 3) Cara Kirby Bauer

Melakukan perbandingan diameter area jernih atau zona hambatan di sekitar cakram dengan table standar yang dibuat oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) yang mana dengan tabel tersebut dapat diketahui kriteria sensitive, sedang atau resisten.





## 2.3 Tumbuhan Ajeran (*Bidens pilosa*)

### 2.3.1 Taksonomi tumbuhan Ajeran

Klasifikasi tumbuhan ajeran (*Bidens pilosa*) adalah sebagai berikut (Putra, 2015):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Asteridae
Order	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: <i>Bidens</i>
Species	: <i>Bidens pilosa</i> L.

### 2.3.2 Asal usul tumbuhan Ajeran

Tumbuhan ajeran pertama kali ditemukan oleh Carl Linnaeus pada tahun 1753 (Karis dan Ryding, 1994). Menurut (Departemen Pertanian, Kehutanan dan Perikanan Afrika Selatan, 2011), asal tumbuhan ajeran adalah dari Amerika Syarikat dan umumnya ditemukan di daerah beriklim tropis dan subtropis di seluruh dunia. Tumbuhan ini terdistribusi di seluruh daerah Afrika beriklim tropis.

Tumbuhan ini umumnya merupakan tanaman liar yang mengganggu dan kebanyakannya ditemukan di daerah tempat yang tidak terpelihara (*disturbed area*). Habitat tumbuhan ajeran dapat ditemukan di daerah terganggu, gurun, perkarangan yang diabaikan, padang rumput, perkebunan, pembukaan hutan, pinggir jalan dan seluruh daerah gurun (Young-soo, 2009).

Menurut Sukiyono (2010), tumbuhan ajeran ini memiliki nama Indonesia seperti ajeran, ketul, jaringan dan hareunga. Selain itu, tumbuhan ajeran dapat ditemukan pada ketinggian 1600 meter dpl di kawasan hutan alam yang berada di

desa Setren, Kecamatan Slogohimo, Kabupaten Wonogiri, Propinsi Jawa Tengah

(Nela dan Titik, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, tumbuhan ajeran

merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat radang

tenggorokan oleh masyarakat di Desa Reuhat Tuha Kecamatan Sukamakmur

Aceh Besar (Nur Aflianda dan Armi, 2015).

### 2.3.3 Morfologi tumbuhan Ajeran

Tumbuhan ajeran atau *Bidens pilosa* memiliki batang berbentuk tegak,

bercabang, persegi dan tidak berbulu serta memiliki ketinggian mencapai 120

sentimeter. Daun tumbuhan ajeran dibagi menjadi 3 hingga 5 daun muda yang

memiliki garis tepi bergerigi, serta bentuk tepian dan akhiran pucuk daunnya

berbentuk oval hingga lancip. Bunga dari tumbuhan ajeran berukuran kecil,

berwarna putih dan kuning dan memiliki diameter 5 hingga 15 meter. Selain itu,

tumbuhan ini juga memiliki buah yang mana rasanya tidak enak, berbulu dan dapat

menusuk melalui lapisan pakaian (Department of Agriculture, Forestry and

Fisheries, 2011).



**Gambar 2.3** : Daun Ajeran (*Bidens pilosa*) berbentuk lonjong dan tepi berlekuk

(Hyde et al., 2019).



### 2.3.4 Kandungan daun Ajeran

#### a) Saponin

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri (Madduluri *et al.*, 2013). Zat aktif permukaan senyawa saponin yang mirip detergen menyebabkan tegangan permukaan dinding sel bakteri berkurang serta merusak permeabilitas membran sel bakteri. Hal tersebut menyebabkan kelangsungan hidup bakteri menjadi sangat terganggu (Harborne, 2006). Selain itu, terjadi difusi senyawa saponin melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma dan mengganggu kestabilan sel tersebut, menyebabkan terjadi kebocoran sitoplasma keluar dari sel yang mana akhirnya mengakibatkan kematian sel (Cavalieri *et al.*, 2005).

#### b) Flavonoid

Flavonoid bekerja sebagai bakteriostatik dengan mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan juga merusak membran sitoplasma. Akibat dari rusaknya membran sitoplasma tersebut akan terjadi kebocoran metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim pada bakteri itu. Hal ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan aktif ke dalam sel, yang akhirnya terjadi kematian sel (Prajitno, 2007). Mekanisme flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel adalah dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase (Li *et al.*, 2003). Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul (Cushnie *et al.*, 2005). Flavonoid ini juga memiliki potensi antimikroba dengan cara

depolarisasi membran sel dan menghambat sintesis protein sehingga senyawa ini dapat dikembangkan menjadi obat antimikroba (Dzoyem, 2013).

### c) Fenol

Mekanisme antibakteri senyawa fenol yaitu mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang mana keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis (Pelczar dan Chan, 1988).

### 2.3.5 Penelitian terkait *Bidens pilosa*

Penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui efek hepatoprotektif pemberian jangka pendek infusa herba *Bidens pilosa L.* terhadap aktivitas ALT-AST serum pada tikus betina yang terinduksi karbon tetraklorida menunjukkan bahwa efek hepatoprotektif paling efektif pada dosis 1gr/kgBB sedangkan pada dosis 2gr/kgBB terjadi penurunan efek hepatoprotektif. Hal ini mungkin terjadi karena pemberian flavonoid dosis tinggi dapat meningkatkan sifat pro-oksidan senyawa flavonoid tersebut akibat dari semakin banyak flavonoid radikal yang dihasilkan seperti *flavonoid phenoxyl radical* (FI-O) yang memicu proses oksidasi serta *flavonoid quinone* yang bersifat reaktif (Kurniawan, 2014).

Selain itu, penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun ketul (*Bidens Pilosa L.*) terhadap penyembuhan luka sayat pada punggung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan ekstrak secara topical menunjukkan terdapat pengaruh konsentrasi ekstrak daun ketul terhadap penyembuhan luka sayat yang meliputi fase inflamasi, fase proliferasi dan fase



maturasi. Kandungan senyawa flavonoid dan saponin dari ekstrak daun ketul mampu mempercepat penyembuhan luka sayat. Hasil penelitian ini menunjukkan penyembuhan luka sayat paling cepat pada konsentrasi ekstrak daun ketul 15% dibandingkan dengan konsentrasi 5%, 7,5%, 10% dan 12,5% (Pebriani, 2016).

### 2.3.6 Proses Ekstraksi

#### 1) Prinsip Maserasi (Cara Dingin)

Maserasi merupakan proses pengekstraksian sederhana dengan cara merendam sampel dengan pelarut selama waktu tertentu yang dilakukan pada suhu kamar, sehingga sampel menjadi lunak dan larut. Jumlah pelarut yang dipakai tergantung pada banyaknya sampel. Cara ini dapat menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun tidak tahan pemanasan (Kurniawati, 2008). Proses ini menggunakan pelarut etanol karena pelarut ini tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Maserasi dilakukan pada suhu 15-20°C sampai bahan yang larut menjadi terlarut. Maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam bejana, lalu dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil diaduk secara berulang, sari kemudian diserakai, ampas diperas, kemudian dicuci dengan cairan penyari secukupnya sehingga diperoleh 100 bagian (Haptiasari, 2009).

#### 2) Prinsip Sokhlet (Cara Panas)

Sokhlet merupakan proses pengekstraksian dengan memakai pelarut organik dengan menggunakan alat sokhlet. Pengekstraksian dilakukan berulang-ulang sehingga lebih sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit (Kurniawati, 2008). Adanya pemanasan menyebabkan pelarut menguap ke atas,

kemudian pendingin udara akan mengembunkan menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali dan bila melewati batas lubang pipa samping sokhlet akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang akan menghasilkan penyarian yang baik (Haptiasari, 2009).

### 2.3.7 Analisis Kualitatif Fitokimia daun Ajeran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jun Yi *et al.* (2016), terdapat beberapa senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstraksi daun ajeran (*Bidens pilosa*) seperti flavonoid, glikosida flavonoid, fenol dan phenylpropanoids. Di samping itu, senyawa metabolit yang terdapat dalam tumbuhan ajeran adalah alkaloid polliina, saponin, zat pahit, minyak atsiri dan zat samak (Sukiyono, 2010).

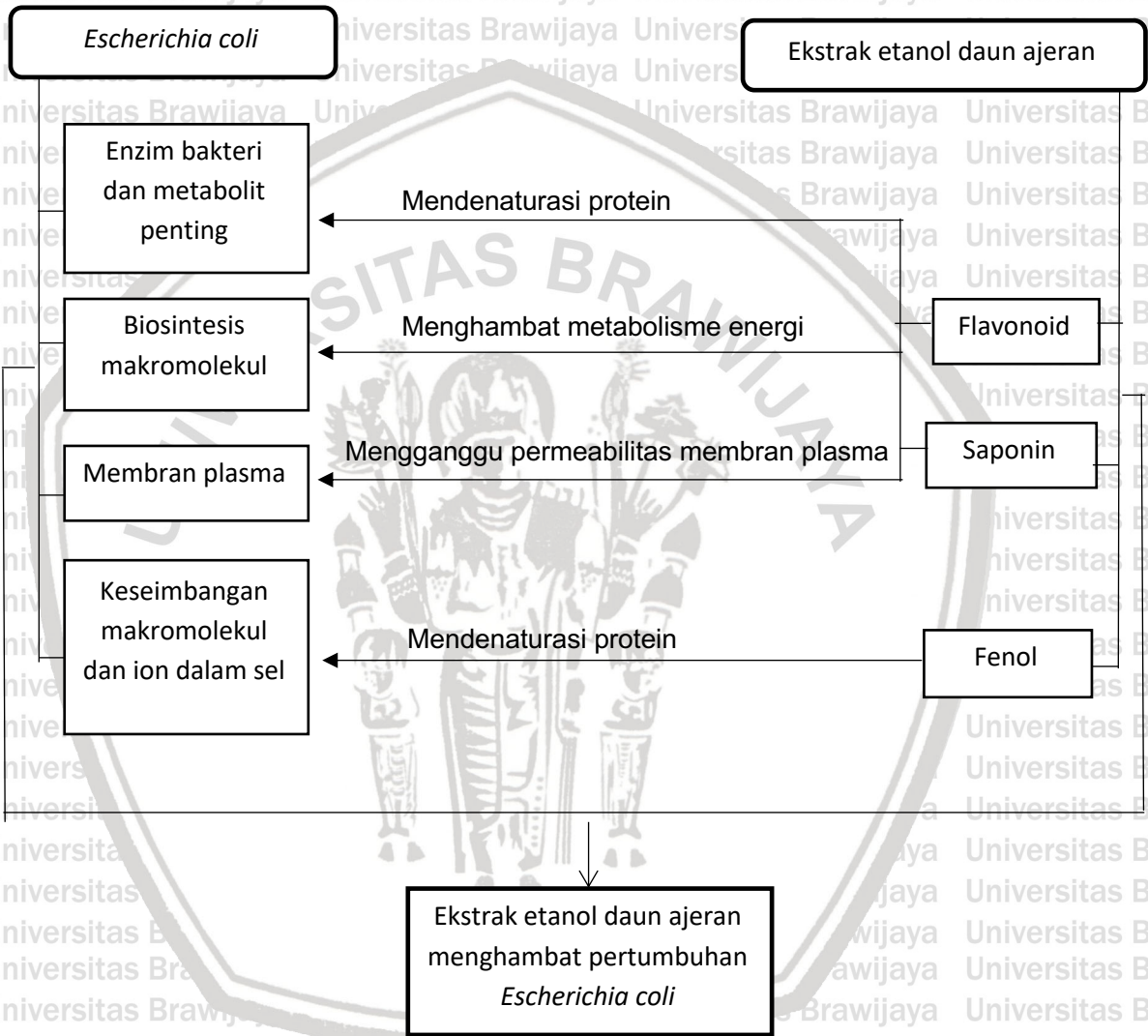
Daun atau bunga tumbuhan ajeran memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid dan polifenol yang tinggi melalui proses maserasi, yaitu flavonoid sebanyak  $21.988 \pm 0.127$  mg/g dan polifenol sebanyak  $69.637 \pm 0.237$  mg/g (Diego *et al.*, 2013). Penelitian lain menunjukkan kandungan senyawa fenol yang signifikan dari ekstrak daun ajeran (*Bidens pilosa*) sebanyak  $72 \mu\text{g}$  GAE/mg sementara senyawa flavonoid sebanyak  $123.3 \mu\text{g}$  Quercetin/mg (Garima *et al.*, 2017)



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :

→ = menyebabkan

— = mengandung

□ = yang diteliti



### 3.2 Penjelasan kerangka konsep

Ekstraksi daun ajeran dengan menggunakan pelarut etanol diketahui mengandung beberapa senyawa aktif yang memiliki manfaat sebagai antibakteri seperti senyawa flavonoid, fenol dan saponin. Flavonoid memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein sel bakteri dan juga dapat merusak membran sitoplasma sel bakteri menyebabkan kebocoran metabolit penting dari sel bakteri tersebut dan terjadinya inaktivasi sistem enzim bakteri. Hal ini akan mencegah masuk dan keluarnya bahan aktif pada sel bakteri, yang mana akhirnya terjadi kematian sel. Flavonoid juga menghambat metabolisme energi melalui penghambatan penggunaan oksigen oleh bakteri. Akibatnya terjadi hambatan biosintesis makromolekul pada bakteri. Mekanisme flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel adalah dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase. Senyawa saponin memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri. Hal ini akibat dari terjadi difusi senyawa saponin melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma dan mengganggu kestabilan sel, menyebabkan terjadi kebocoran sitoplasma keluar dari sel yang mana akhirnya mengakibatkan kematian sel. Mekanisme antibakteri senyawa fenol yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Hal ini akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis.



### 3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.



**BAB 4****METODE PENELITIAN****4.1 Rancangan dan Desain Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan eksperimental laboratoris menggunakan desain *posttest only control group design* untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Desain penelitian ini adalah metode dilusi agar (*agar dilution test*). Kadar Hambat Minimal (KHM) ditentukan dengan mengamati pertumbuhan koloni bakteri pada medium padat.

**4.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Pembuatan ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dilakukan di Politeknik Negeri Malang. Sedangkan uji antibakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juni sehingga bulan Agustus 2019.

**4.3 Sampel Penelitian**

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* yang disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

**4.4 Jumlah Pengulangan**

Penelitian ini menggunakan 6 macam dosis konsentrasi perlakuan berbeda, serta 1 kontrol. Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus Federer sebagai berikut (Rachma, 2012) :



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

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

$$6n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 21$$

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

**Keterangan:**

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

p = jumlah perlakuan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka besar sampel atau pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah 4 (menggunakan 4 isolat bakteri *Escherichia coli*).

#### 4.5 Definisi Operasional

- Bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari stok kultur dari spesimen urin milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Ekstrak daun ajeran (*Bidens pilosa*) adalah hasil ekstraksi cair daun ajeran dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang didapat dianggap memiliki kandungan senyawa aktif sebesar 100%. Pengambilan serbuk daun ajeran di Balai Materia Medika, Batu dan proses ekstraksi daun dilakukan di Politeknik Negeri Malang.
- Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini ditandai dengan kultur agar yang tetap jernih (tidak ada pertumbuhan koloni bakteri).
- Hasil penelitian dinyatakan dalam bentuk skoring, yaitu 0,1,2,3,4,5 dan 6. Skor 6 berarti koloni bakteri tebal, rapat dan tidak dapat dihitung, skor 5

adalah koloni bakteri tebal, rapat, tidak dapat dihitung dan terlihat gelap di tengah, skor 4 adalah koloni bakteri jelas, tidak dapat dihitung dan terlihat jernih di tengah, skor 3 adalah koloni bakteri jelas, terdapat jarak yang sempit antara koloni, skor 2 adalah bakteri tumbuh tipis, terdapat jarak yang luas dan dapat dihitung, skor 1 adalah bakteri tumbuh sangat tipis dan dapat dihitung, dan skor 0 berarti tidak ada pertumbuhan koloni bakteri.

## 4.6 Variabel Penelitian

### 4.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun ajeran dengan konsentrasi 0% (kontrol), konsentrasi 0,5%v/v, konsentrasi 1,0%v/v, konsentrasi 1,5%v/v, konsentrasi 2,0%v/v, konsentrasi 2,5%v/v, dan konsentrasi 3,0%v/v.

### 4.6.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan mengamati Kadar Hambat Minimal (KHM).

## 4.7 Instrumen Penelitian (Bahan dan Alat)

### 4.7.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Ajeran

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol daun ajeran antara lain blender, kertas saring, rotary vacuum operator, labu Erlenmeyer, labu penampung etanol, pendingin, corong gelas, neraca analitik, ayakan, autoklaf dan oven. Sedangkan bahan yang digunakan adalah serbuk kering daun ajeran, etanol 96% dan aquades.

### 4.7.2 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Alat yang digunakan untuk identifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah cawan petri,



ose, tabung reaksi, inkubator, gelas obyek, korek api, spektrofotometer, lampu spiritus dan Bunsen, spidol permanen, obyek glass dan kaca penutup, mikroskop, minyak imersi. Sedangkan bahan yang digunakan untuk identifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah biakan murni *Escherichia coli*, aquades, bahan pewarnaan Gram (Kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin), Eosine Methylene Blue agar, MacConkey agar.

#### 4.7.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Alat yang digunakan untuk membuat suspensi bakteri adalah tabung reaksi, ose, dan spektrofotometer. Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri dan NaCl.

#### 4.7.4 Alat dan Bahan Uji Antibakteri

Alat yang digunakan adalah cawan petri, inkubator, ose, korek api, lampu spiritus dan Bunsen, spidol permanen, vortex dan pipet steril 1mL. Bahan yang digunakan adalah Mueller Hinton agar, aquades, ekstrak etanol daun ajeran dan suspensi bakteri *Escherichia coli*  $10^6$  CFU/mL.

### 4.8 Prosedur Penelitian

#### 4.8.1 Persiapan Daun Ajeran (*Bidens pilosa*)

##### 4.8.1.1 Ekstraksi

Ekstrak etanol daun ajeran dibuat dengan metode maserasi di Politeknik Negeri Malang. Prosedur ekstraksi adalah sebagai berikut :

- a) Serbuk kering daun ajeran diperoleh dari UPT Materia Medika Batu, Malang sebanyak 1500gram.
- b) Serbuk kering daun ajeran kemudian diekstraksi dengan 900 mL etanol 96% menggunakan metode maserasi selama 5 hari.

c) Ekstrak yang dihasilkan disaring dengan kertas saring sehingga membentuk filtrat 1. Sisanya diekstrak kembali dengan 600 mL etanol 96% selama 2 hari dan menghasilkan filtrat 2.

d) Filtrat 1 dan 2 dikumpulkan lalu diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 70°C sehingga volume yang tersisa adalah  $\frac{1}{4}$  dari volume awal.

e) Ekstrak dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sampai menjadi ekstrak kental. Untuk 1500 gram daun ajeran didapatkan ekstrak cair sebanyak 270 mL. Ekstrak ini kemudian dianggap memiliki konsentrasi 100%.

#### 4.8.2 Persiapan Bakteri *Escherichia coli*

##### 4.8.2.1 Identifikasi *Escherichia coli*

##### 1. Inokulasi pada media EMB Agar

- Menyiapkan sediaan bakteri yang akan dibiakkan dan disiapkan media EMB agar yang akan digunakan.
- Membuat goresan pada media EMB agar dari sediaan bakteri yang sudah disiapkan dan diinkubasikan pada suhu 35°C selama 18-24 jam untuk dilakukan identifikasi.
- Hasil positif : koloni bakteri *Escherichia coli* berwarna hijau metalik (*greenish metallic sheen*).

##### 2. Inokulasi pada MacConkey Agar (Uji Fermentasi Laktosa)

- Dilakukan penggoresan bakteri pada MacConkey Agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Didapatkan medium berwarna merah jambu yang menandakan fermentasi laktosa positif.

##### 3. Pewarnaan Gram

- Ambil *object glass* lalu lewatkan diatas nyala api Bunsen



- Teteskan setetes aquades steril diatas *object glass*
- Ambil inokulum bakteri yang akan diperiksa, lalu letakkan diatas tetesan aquades dan ratakan perlahan-lahan
- Tunggu sampai apusan kering
- Lakukan fiksasi dengan cara melewatkan apusan tersebut diatas nyala api dengan cepat
- Letakkan apusan diatas kawat penyangga yang berada diatas mangkuk pewarna.
- Teteskan larutan kristal violet pada apusan dan biarkan selama 60 detik dan cuci dengan air mengalir
- Teteskan larutan iodin pada apusan, tunggu selama 60 detik
- Cuci larutan iodin dengan air mengalir
- Rendam dengan alkohol 96% selama 5-10 detik
- Teteskan larutan safranin, biarkan selama 30 detik
- Cuci dengan air mengalir lalu keringkan
- Amati sediaan di bawah mikroskop dengan lensa objektif 100x
- Hasil pengamatan di mikroskop berupa bakteri *Escherichia coli* berbentuk rod (batang lurus) berwarna merah (Gram negatif).

#### 4.8.2.2 Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli*.

Besarnya konsentrasi suspensi bakteri yang digunakan adalah  $10^8$  CFU/mL.

Metode yang digunakan adalah sebagai berikut :

- a) Diambil beberapa koloni bakteri dengan menggunakan ose, lalu pindahkan ke tabung yang berisi Muller Hinton (MH) broth.
- b) Tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- c) Kemudian dilakukan pengukuran *optical density* (OD) dengan spektrofotometri pada panjang 625nm.

d) Hasil OD digunakan untuk mengukur volume bakteri yang akan ditambah pengencer sehingga didapat suspensi dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/mL.

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

Keterangan :

$N_1$  : nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri).

$V_1$  : volume bakteri yang akan ditambah pengencer

$N_2$  : OD (OD=1, setara dengan  $10^8$  CFU/mL)

$V_2$  : volume suspensi bakteri uji. (Murray *et al.*, 2013)

e) Suspensi diencerkan kembali sebanyak 100 kali menggunakan NaCl sehingga didapatkan konsentrasi  $10^6$  CFU/mL.

f) Suspensi bakteri siap digunakan untuk penelitian.

#### 4.8.3 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran yang akan diteliti. Konsentrasi yang digunakan dimulai dari konsentrasi 100%v/v, konsentrasi 50%v/v, konsentrasi 25%v/v, konsentrasi 12,5%v/v, konsentrasi 6,25%v/v, dan konsentrasi 3,125%v/v dan 0% sebagai kontrol. Bakteri *Escherichia coli* digoreskan pada Mueller Hinton agar menggunakan ose. Kemudian meneteskan 10 $\mu$ L ekstrak untuk setiap konsentrasi pada petri agar dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil eksplorasi diamati pada pertumbuhan koloni bakteri pada petri agar. Dari hasil tersebut, uji sensitivitas antibakteri dilakukan antara konsentrasi ekstrak yang masih didapatkan koloni bakteri dan tidak didapatkan koloni bakteri.

#### 4.8.4 Uji Antibakteri

Pengujian yang dilakukan pada awalnya adalah menggunakan metode dilusi agar.

Prosedur pengujian adalah sebagai berikut :



a) Disediakan 7 petri steril berdiameter 9 cm yang telah diberi tanda sesuai konsentrasi ekstrak yang akan digunakan, yaitu 0, konsentrasi 0,5%, konsentrasi 1,0%, konsentrasi 1,5%, konsentrasi 2,0%, konsentrasi 2,5%, dan konsentrasi 3,0%. Setiap petri kemudian ditandai menjadi 4 bagian. Ekstrak lalu dicampur dengan medium agar dan diinkubasi selama 24 jam.

b) Volume yang digunakan dalam setiap petri adalah 10mL dengan rincian berikut:

Petri	Konsentrasi (v/v)	Volume Ekstrak (mL)	Volume Aquadest (mL)	Volume Agar (mL)
K	0,0%	0,00	0,00	10,0
K-1	0,5%	0,05	0,95	9,0
K-2	1,0%	0,10	0,90	9,0
K-3	1,5%	0,15	0,85	9,0
K-4	2,0%	0,20	0,80	9,0
K-5	2,5%	0,25	0,75	9,0
K-6	3,0%	0,30	0,70	9,0

c) Setiap bagian ditetesi dengan bakteri uji sebanyak  $10^4$  CFU/10 $\mu$ l.

d) Semua petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

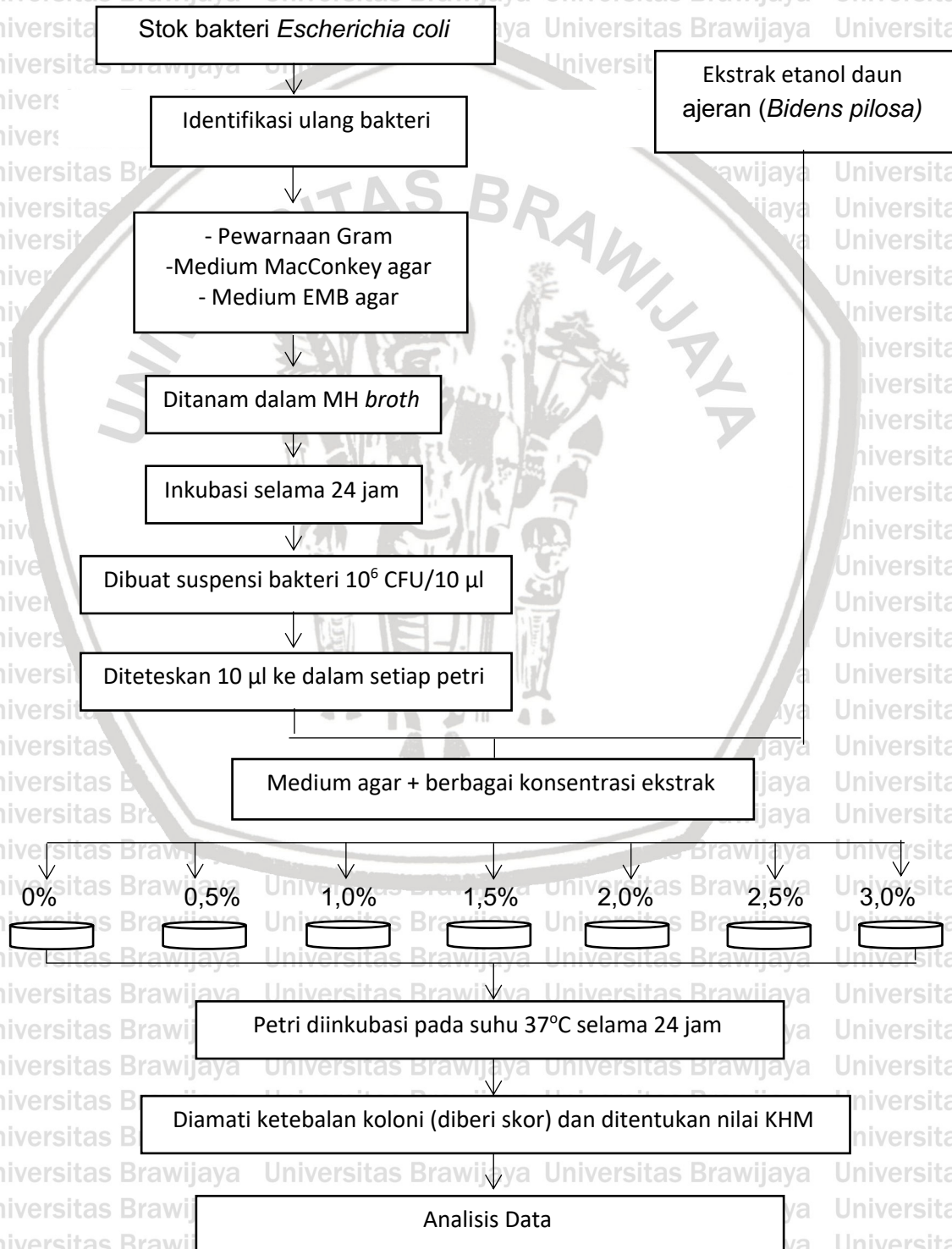
e) Diamati pertumbuhan koloni bakteri pada setiap petri dan ditentukan skor ketebalannya.

#### 4.9 Analisis Data

Analisis data penelitian yang digunakan adalah menggunakan analisis statistik non parametrik karena data yang didapatkan dalam bentuk ordinal, yaitu dengan uji Kruskal Wallis, Uji Mann-Whitney, dan uji korelasi Spearman dengan menggunakan aplikasi SPSS 13.00. Uji Kruskal Wallis digunakan untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan *Escherichia coli* dengan pemberian berbagai ekstrak etanol daun ajeran. Uji Mann-Whitney digunakan untuk mengetahui kelompok konsentrasi mana yang mempunyai perbedaan pertumbuhan

*Escherichia coli* terhadap pemberian ekstrak etanol daun ajeran. Uji korelasi Spearman digunakan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Analisis statistik dilakukan pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0.05$ ).

#### 4.10 Alur Kerja Penelitian





## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Hasil Penelitian

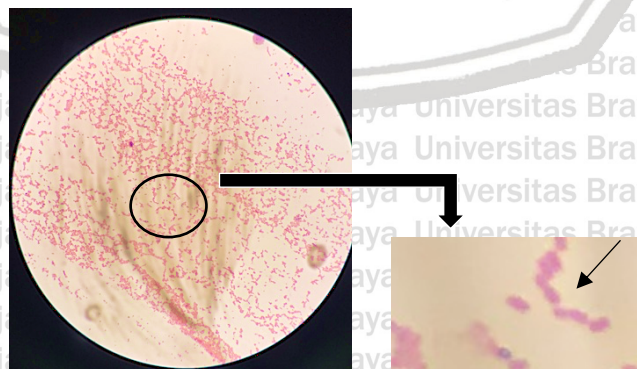
5.1.1 Hasil Ekstraksi Daun Ajeran (*Bidens pilosa*)

Ekstrak etanol daun ajeran diperoleh melalui proses maserasi yang dilakukan di Laboratorium Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang dengan pelarut etanol 96% dari 1,5 kg simplisia daun ajeran. Ekstrak etanol cair berwarna kuning kecoklatan dengan volume 270 mL.

5.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

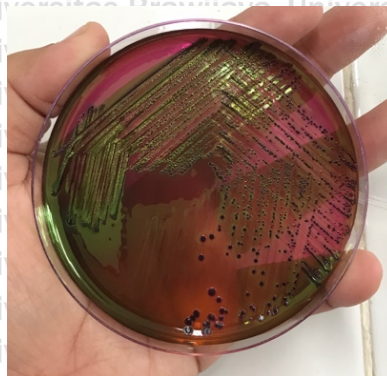
Penelitian ini menggunakan 4 isolat bakteri *Escherichia coli* dari spesimen urin yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tes identifikasi bakteri dilakukan untuk memastikan kembali spesies bakteri yang digunakan seperti pewarnaan Gram, penanaman pada media MacConkey agar dan media *Eosin Methylene Blue* (EMB) agar.

Hasil identifikasi bakteri pada pewarnaan Gram didapatkan bakteri Gram negatif berwarna merah dan berbentuk batang. Penanaman bakteri pada media EMB agar menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri berwarna *green metallic sheen*. Pada media MacConkey agar, didapatkan koloni berwarna merah jambu yang menandakan fermentasi laktosa positif.



Gambar 5.1 *Escherichia coli* berbentuk batang merah pendek pada pewarnaan Gram diamati di bawah mikroskop dengan lensa objektif 100x





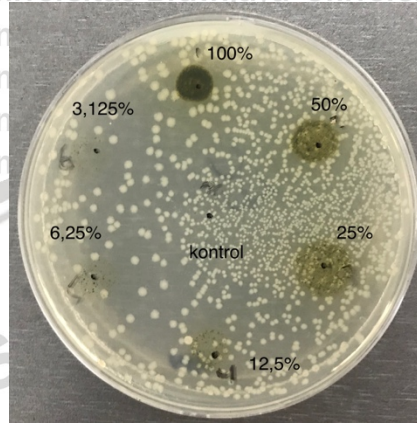
**Gambar 5.2 Koloni *Escherichia coli* berwarna metallic sheen pada media Eosine Methylene Blue agar**

### 5.1.3 Hasil Penelitian Pendahuluan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol daun ajeran

Penelitian pendahuluan dilakukan pada awal untuk menjadi dasar dalam menentukan konsentrasi ekstrak daun ajeran yang digunakan dalam penelitian dengan konsentrasi ekstrak 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 0% sebagai kontrol. Bakteri *Escherichia coli* digoreskan pada Mueller Hinton agar dan ditetaskan 10 $\mu$ L untuk setiap konsentrasi ekstrak. Petri kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati pertumbuhan bakteri. Gambar 5.3 menunjukkan hasil penelitian pendahuluan. Dari hasil penelitian pendahuluan tersebut didapatkan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 50% dan 100%. Pada konsentrasi 0%(kontrol), 3,125%, 6,25%, 12,5% dan 25% masih didapatkan pertumbuhan koloni bakteri. Berdasarkan hasil tersebut penelitian dilanjutkan menggunakan konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% serta 0% sebagai kontrol pada bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian ini didapatkan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada setiap konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran. Selanjutnya, konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran diturunkan kepada konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12% dan 0% sebagai kontrol untuk mengamati pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada petri agar dan hasil penelitian ini didapatkan hanya terdapat



pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 2% dan 4% ekstrak etanol daun ajeran sementara tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak 6%, 8%, 10% dan 12% pada petri agar.

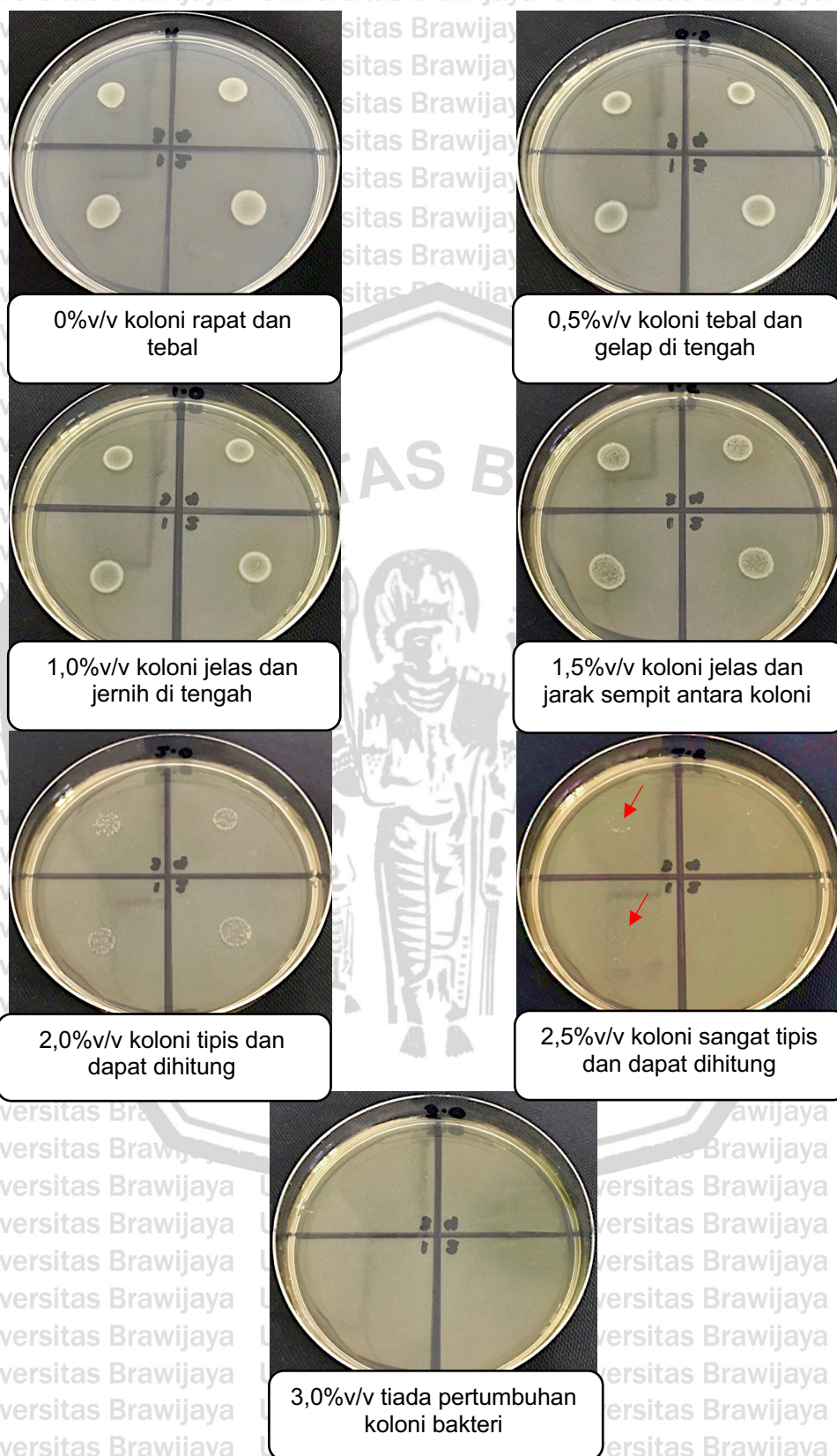


**Gambar 5.3 Hasil Penelitian Pendahuluan Ekstrak Etanol daun Ajeran pada *Mueller Hinton* agar (menggunakan konsentrasi 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; 100% dan 0% sebagai kontrol)**

Berdasarkan hasil penelitian di atas, uji antibakteri ekstrak etanol daun ajeran dilakukan dengan metode dilusi agar dengan konsentrasi 0,5%v/v, 1,0% v/v, 1,5% v/v, 2,0% v/v, 2,5% v/v, 3,0 % v/v dan 0% sebagai kontrol pada 4 isolat bakteri *Escherichia coli*. Ekstrak dicampur dengan *Mueller Hinton* agar sesuai konsentrasi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian bakteri *Escherichia coli* sebanyak 10 $\mu$ L diteteskan pada 4 bagian pada setiap petri agar dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil uji antibakteri diamati pada pertumbuhan koloni bakteri pada petri agar (Gambar 5.4).



5.1.4 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol daun ajeran



Gambar 5.4 Hasil Penelitian Antibakteri dengan Metode Dilusi Agar menggunakan 4 isolat *Escherichia coli*



Hasil pertumbuhan koloni bakteri dapat diamati setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pada konsentrasi 0%v/v didapatkan koloni bakteri tebal, rapat dan tidak dapat dihitung. Pada konsentrasi 0,5%v/v didapatkan koloni bakteri tebal, rapat dan terlihat gelap di tengah. Pada konsentrasi 1,0%v/v didapatkan koloni bakteri tebal, tidak dapat dihitung dan terlihat jernih di tengah. Pada konsentrasi 1,5%v/v didapatkan koloni bakteri jelas dan terdapat jarak yang sempit antara koloni. Pada konsentrasi 2,0%v/v didapatkan koloni bakteri tipis, terdapat jarak yang luas dan dapat dihitung. Pada konsentrasi 2,5%v/v didapatkan koloni bakteri sangat tipis dan dapat dihitung. Pada konsentrasi 3,0%v/v tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran, semakin menurun pertumbuhan koloni bakteri. Ringkasan sistematis hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 5.1.

**Tabel 5.1 Skor pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi berbeda ekstrak etanol daun Ajeran (*Bidens pilosa*)**

Pengulangan/ Dosis	Pengulangan I	Pengulangan II	Pengulangan III	Pengulangan IV
0%v/v	6	6	6	6
0,5%v/v	5	5	5	5
1,0%v/v	4	4	4	4
1,5%v/v	3	3	3	3
2,0%v/v	2	2	2	2
2,5%v/v	1	1	1	1
3,0%v/v	0	0	0	0

Keterangan :

Skor 0 : tidak ada pertumbuhan koloni bakteri

Skor 1 : bakteri tumbuh sangat tipis dan dapat dihitung

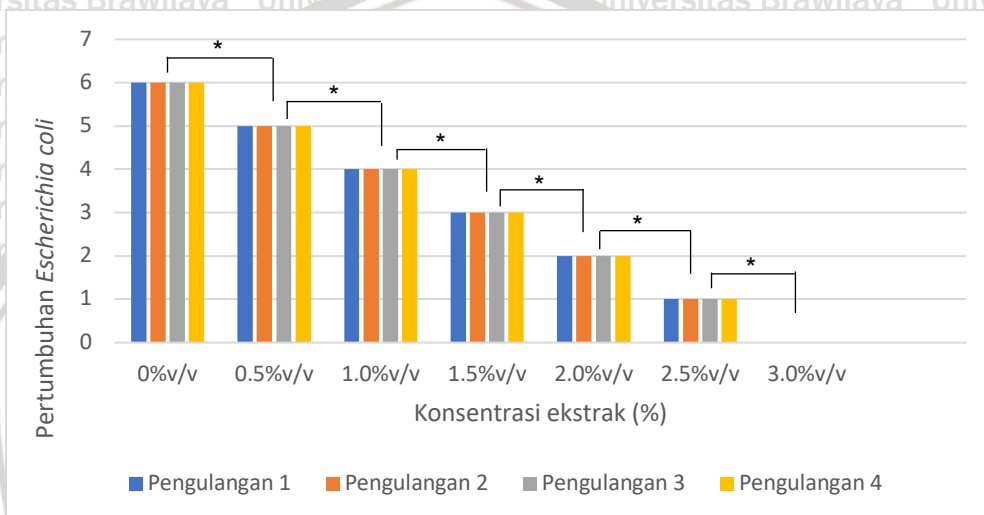
Skor 2 : bakteri tumbuh tipis, terdapat jarak yang luas dan dapat dihitung

Skor 3 : Koloni bakteri jelas, terdapat jarak yang sempit antara koloni

Skor 4 : Koloni bakteri jelas, tidak dapat dihitung dan terlihat jernih di tengah

Skor 5 : Koloni bakteri tebal, rapat, tidak dapat dihitung dan terlihat gelap di tengah

Skor 6 : Koloni bakteri tebal, rapat dan tidak dapat dihitung



Keterangan : \* = perbedaan bermakna

**Gambar 5.5 Grafik pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun Ajeran (*Bidens pilosa*) pada pertumbuhan *Escherichia coli***

## 5.2 Hasil Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dalam bentuk data ordinal, maka digunakan

analisis non-parametrik.

### 1. Uji Non-Parametrik Kruskal-Wallis

Uji Kruskal-Wallis dengan tingkat kepercayaan ( $\alpha$ ) sebesar 95% digunakan untuk

mengetahui perbedaan efektifitas tiap variasi konsentrasi ekstrak etanol daun

ajeran terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Hipotesis ditegakkan berdasarkan pada  $H_0$  dan  $H_1$ .  $H_0$  adalah tidak adanya

perbedaan nyata efek menghambat pertumbuhan bakteri pada setiap pemberian



konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.  $H_1$  adalah adanya perbedaan nyata efek menghambat pertumbuhan bakteri pada setiap pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ).  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ).

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis pada lampiran 3, didapatkan nilai signifikansi ( $p$ -value) sebesar  $0,000 < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nyata efek menghambat pertumbuhan bakteri pada setiap pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

## 2. Uji Mann-Whitney

Uji Mann-Whitney digunakan untuk mengetahui perbandingan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang tumbuh dengan pemberian beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*).

Pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 0% memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok konsentrasi 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5% dan 3,0% ( $p < 0,05$ ). Pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 0,5% memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok konsentrasi 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5% dan 3,0% ( $p < 0,05$ ). Pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 1,0% memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok konsentrasi 1,5%, 2,0%, 2,5% dan 3,0% ( $p < 0,05$ ). Pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 1,5% memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok konsentrasi 2,0%, 2,5% dan 3,0% ( $p < 0,05$ ). Pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 2,0% memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok konsentrasi 2,5% dan 3,0% ( $p < 0,05$ ). Pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 2,5% memiliki perbedaan signifikan dengan

kelompok konsentrasi 3,0% ( $p < 0,05$ ). Ringkasan sistematis hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 5.2 sebagai berikut :

**Tabel 5.2 Hasil Uji Mann-Whitney**

	0%v/v	0,5%v/v	1,0%v/v	1,5%v/v	2,0%v/v	2,5%v/v	3,0%v/v
0%v/v		0.008*	0.008*	0.008*	0.008*	0.008*	0.008*
0,5%v/v			0.008*	0.008*	0.008*	0.008*	0.008*
1,0%v/v				0.008*	0.008*	0.008*	0.008*
1,5%v/v					0.008*	0.008*	0.008*
2,0%v/v						0.008*	0.008*
2,5%v/v							0.008*
3,0%v/v							

Keterangan : \* = berbeda bermakna

### 3. Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi Spearman digunakan untuk mengetahui kekuatan dan bentuk hubungan dari pemberian ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan hasil uji korelasi Spearman pada Lampiran 5, didapatkan nilai sebesar  $r = -1,000$ ,  $p = 0,000$ , maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan tanda negatif menunjukkan hubungan yang berlawanan arah, yang berarti peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) akan menurunkan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*.





## BAB 6

## PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun ajeran (*Bidens pilosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Hubungan antara beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan teknik *in vitro*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi agar dan mengamati pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada agar. Hasil dari penelitian ini adalah untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu kadar konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang dicampur dengan ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dan telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Metode dilusi merupakan metode yang paling tepat untuk penentuan nilai KHM karena memberi kemungkinan dalam memperkirakan konsentrasi yang digunakan sebagai agen antimikroba dalam agar. Metode ini sesuai digunakan untuk uji kerentanan antibakteri dan antijamur (Balouiri *et al.*, 2016).

Dari hasil penelitian dapat dilihat pada konsentrasi 0%v/v didapatkan koloni bakteri tebal, rapat dan tidak dapat dihitung. Pada konsentrasi 0,5%v/v didapatkan koloni bakteri tebal, rapat dan terlihat gelap di tengah. Pada konsentrasi 1,0%v/v didapatkan koloni bakteri tebal, tidak dapat dihitung dan terlihat jernih di tengah. Pada konsentrasi 1,5%v/v didapatkan koloni bakteri jelas dan terdapat jarak yang sempit antara koloni. Pada konsentrasi 2,0%v/v didapatkan koloni bakteri tipis, terdapat jarak yang luas dan dapat dihitung. Pada konsentrasi 2,5%v/v didapatkan koloni bakteri sangat tipis dan dapat dihitung.

Pada konsentrasi 3,0%v/v tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Hal tersebut membuktikan bahwa dengan pemberian ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*.

Efek ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* mungkin karena terdapat komponen senyawa aktif seperti flavonoid, fenol dan saponin dalam ekstrak tersebut. Flavonoid bekerja dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan juga merusak membran sitoplasma di sel yang menyebabkan terjadi kebocoran metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri sehingga terjadi kematian sel bakteri (Prajitno, 2007). Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri adalah mendenaturasi protein sel. Hal ini menyebabkan gangguan pada permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma, sehingga sel menjadi lisis (Pelczar dan Chan, 1988). Saponin menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri sehingga terjadi kematian sel (Cavalieri *et al.*, 2005).

Penelitian lain terkait efek antibakteri ekstrak daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap bakteri *Oxacillin Resistant Staphylococcus aureus* (ORSA) dan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 telah dilakukan dengan metode difusi agar dengan zona hambatan rata-rata 17mm dan 26mm masing-masing (da Selva *et al.*, 2014). Selain itu, penelitian antibakteri ekstrak daun *Bidens pilosa* terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan zona inhibisi masing-masing bakteri sebesar 27,3mm dan 17,7mm (Simelane M., 2015). Hal ini membuktikan bahwa penggunaan ekstrak daun ajeran (*Bidens pilosa*) tidak hanya pada bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi*, tetapi juga dapat digunakan pada bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus*. Selain itu, berdasarkan hasil uji antibakteri ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) pada Gambar 5.4 menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens*



*pilosa*) dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran, semakin menurun pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar dan Chan (1988) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu zat antibakteri akan menyebabkan semakin cepat sel bakteri terbunuh atau terhambat pertumbuhannya.

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dapat digunakan dalam bidang medis sebagai subjek penelitian.

Kekurangan dari penelitian ini adalah penggunaan metode dilusi agar yang hanya dapat mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) saja sehingga perlu dilakukan penelitian dengan metode lain jika diperlukan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Selain itu, penelitian ini tidak didahului dengan penelitian untuk mengetahui persentase kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, fenol dan saponin yang terdapat dalam ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) yang mana memiliki efek antibakteri paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait ekstraksi senyawa aktif tertentu dan digunakan sebagai antibakteri. Selain itu, efektifitas ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) sebagai antibakteri dapat dibandingkan dengan antibiotik yang poten terhadap bakteri *Escherichia coli*. Cara dan lama penyimpanan ekstrak juga dapat memberi pengaruh pada efektifitas sebagai antibakteri sehingga perlu diberi perhatian terkait hal ini.

Penelitian secara *in vivo* menggunakan hewan coba perlu dilakukan sebelum ekstrak dapat digunakan pada aplikasi klinis. Metode *in vivo* digunakan untuk menguji farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas dan dosis yang efektif dari suatu bahan. Dengan itu, dapat disimpulkan bahwa penelitian ini masih belum sempurna untuk diaplikasikan secara klinis pada masyarakat untuk pengobatan infeksi *Escherichia coli*.

## BAB 7

## PENUTUP

## 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 3%.
2. Terdapat hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) dan pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*.

## 7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian tentang ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan metode selain dilusi agar untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM).
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui persentase setiap kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) serta kandungan senyawa aktif yang memiliki efek antibakteri paling kuat.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis pasti, toksisitas dan efek samping ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara *in vivo*.
4. Perlu dilakukan penelitian mengenai faktor eksternal yang dapat mengganggu efektifitas ekstrak etanol daun ajeran (*Bidens pilosa*) seperti cara dan lama penyimpanan ekstrak tersebut.



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Gambaran mikroskopik <i>Escherichia coli</i> pada pengecatan Gram.....	5
Gambar 2.2 Koloni bakteri <i>Escherichia coli</i> pada Eosin Methylene Blue agar berwarna green metallic sheen .....	9
Gambar 2.3 Daun Ajeran ( <i>Bidens pilosa</i> ) .....	19
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	24
Gambar 5.1 <i>Escherichia coli</i> pada pewarnaan Gram diamati di bawah mikroskop dengan lensa objektif 100x .....	36
Gambar 5.2 Koloni <i>Escherichia coli</i> pada Eosin Methylene Blue agar.....	37
Gambar 5.3 Hasil Penelitian Pendahuluan Ekstrak Etanol daun Ajeran pada media Mueller Hinton Agar.....	38
Gambar 5.4 Hasil Penelitian Antibakteri dengan metode Dilusi Agar menggunakan 4 isolat <i>Escherichia coli</i> .....	39
Gambar 5.5 Grafik Pemberian Konsentrasi Ekstrak Etanol daun Ajeran ( <i>Bidens pilosa</i> ) pada pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> .....	41



## DAFTAR PUSTAKA

Acharya Tankeshwar. 2013. *Eosin Methylene Blue (EMB) Agar: Composition, Uses and Colony Characteristics*. Microbe Online. Department of Microbiology and Immunology, Patan Academy of Health Sciences, Nepal

Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibensouda, S., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), pp.71-79.(Online)

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095177915300150>,

diakses pada 13 September 2019

Brooks, J. T, Bergmire-Sweat, D, Kennedy, M, Hendricks, K, Garcia, M, Merengo, L, et al. 2004. Outbreak of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111:H8 infections among attendees of a high school cheerleading camp', *Clinical Infectious Disease*, vol 38, no 2, hal 190-198.

Cavaliere, S.J., I.D. Rankin., R.J. Harbeck., R.S. Sautter., Y.S. McCarter., S.E. Sharp., J.H. Ortez., dan C.A. Spiegel. 2005. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology, USA.

Cortés-Rojas, Diego & Chagas--Paula, Daniela Aparecida & Da Costa, Fernando & Souza, Cláudia & Oliveira, Wanderley. (2013). Bioactive compounds in *Bidens pilosa* L. populations: A key step in the standardization of phytopharmaceutical preparations. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 23. 28-35. 10.1590/S0102-695X2012005000100.

Cowan, M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12: 564 – 582.

Cushnie, T.P.Tim. Lamb, Andrew J. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005;26: 343-356.

da Silva JJ, Cerdeira CD, Chavasco JM, Cintra ABP, da Silva CBP, de Mendonca AN, Tati Ishikawa T, Boriollo MFG, Chavasco JK. In vitro screening for antibacterial activity of *Bidens pilosa* Linne' and *Annona crassiflora* Mart. Against oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* (ORSA) from the aerial environment at the dental clinic. *Rev Inst Med Trop*. 2014;56(4):333–340. doi: 10.1590/S0036-46652014000400011. (Online)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4131820/> diakses pada 13 September 2019

Department of Agriculture, Forestry and Fisheries. 2011. Blackjack Production Guideline. Republic of South Afrika. (Online), [www.nda.agric.za/docs/Brochures/BlackjackPG.pdf](http://www.nda.agric.za/docs/Brochures/BlackjackPG.pdf) diakses pada tanggal

14 September 2019

Dzen, S.J.; Roekistiningsih; Santoso, S; Winarsih, S. eds 2010. *Bakteriologi Medik*, 1<sup>st</sup> ed. Bayumedia Publishing. Malang. Hal 132-140, 225-236.



Dzoyem J.P., Hamamoto H, Ngameni B. (2013). Antimicrobial Action Mechanism Of Flavonoids from *Dorstenia* Species. *Journal of Antimicrobe*, 7(2), 66-72.

Ejrnæs K. 2011. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. National Center for Biotechnology Information

Forsey T. 2012. *What Is A Urinary Tract Infection?*. Urinary Health Journal.

Forsythe S.J. 2000. *The Microbiology of Safe Food*. London: Blackwell Science.

Ganiswara, S.G. dkk., 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Bagian Farmakologi Kedokteran Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 571-573, 622, 625

Haptiasari, E. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten Antibiotik. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Harborne, J.B. Metode Fitokimia, Edisi ke-2. Bandung: ITB. 2006.

Holm L, Doll J, Holm E, Pancho J, Herberger J, 1997. *World Weeds. Natural Histories and Distribution*. New York, USA: John Wiley and Sons, Inc.

Hyde, M.A., Wursten, B.T., Ballings, P. & Coates Palgrave, M. (2019). *Flora of Mozambique: Species information: individual images: Bidens pilosa*. (Online) [https://www.mozambiqueflora.com/speciesdata/image-display.php?species\\_id=160650&image\\_id=1](https://www.mozambiqueflora.com/speciesdata/image-display.php?species_id=160650&image_id=1), diakses pada 20 September 2019

Jawetz., Melnick., Adenberg. 2016. *Medical Microbiology*, 27<sup>th</sup> Edition., McGraw Hill Companies, Inc, USA, p231-236

Kurniawan, P. H., 2014. Efek Hepatoprotektif Pemberian Jangka Pendek Infusa Herba *Bidens pilosa L.* Terhadap Aktivitas ALT-AST Serum Pada Tikus Betina Terinduksi Karbon Tetraklorida. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.

Kurniawati, S. W. 2008. Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica Linn.*) Terhadap Kultur Aktif *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah Press. Jakarta.

Li, H. Wang, Z. Liu, Y. Review in the studies on tannins activity of cancer prevention and anticancer. *Zhong-Yao-Cai*. 2003; 26(6): 444-448.

Madduluri, Suresh. Rao, K.Babu. Sitaram, B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013;5(4): 679-684.

Manning D. S. 2005. What is *E. coli*?. *Escherichia Coli Infections (Deadly Diseases and Epidemics)*. P15-23



Min B.R., Pinchak W.E., Merkel R., Walker S., Tomita G., Anerson R. C. (2008). *Comparative Antimicrobial Activity of Tannin Extracts From Perennial Plants on Mastitis Pathogens*. International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry, 3(2), 66-73

Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A., 2013. Enterobacteriaceae. Medical Microbiology. 7<sup>th</sup> edition. P258-272

Nela, A. K. dan Titik, S. 2017. Eksplorasi Tumbuhan Obat di Kawasan Hutan Alam Girimanik Setren Kecamatan Slogohimo Wonogiri. Proceeding Biology Education Conference Volume 14, Nomor 1. Hal 88-92. Surakarta.

Noorhamdani., Santoso S., Sumarno., Dzen SM., Roekistningsih., Winarsih S., Santoningsih D., Hidayati Dwi YN., Mulyastuti Yuanita., Erikawati Dewi., Rahayu S., Fitri Bethania. 2015. *Bakteriologi Medik, Edisi Kedua. Malang : Laboratorium Mikrobiologi FKUB.*

Nur Afianda dan Armi. 2015. Identifikasi Jenis Tumbuhan Obat Tradisional Yang Digunakan Sebagai Obat Radang Tenggorokan Di Desa Reuhut Tuha Kecamatan Sukamakmur Aceh Besar. Prodi Pendidikan Biologi FKIP USM. Serambi Akademica, Vol. III, No. 2

Nuria, maulita cut, Faizaitun, Arvin, Sumantri, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Atcc 25923, *Escherichia coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella typhi* Atcc 1408, *Mediagro*.2009;5(2):26–37.

Omston, L.N. 2003. *Annual Review of Microbiology*, 57<sup>th</sup> Ed, Annual Reviews, Palo Alto.

P. O. Karis and O. Ryding, *Asteraceae Cladistics and Classification*, Bremer K. Eds, pp. 559–569, Timber press, Portland, Ore, USA, 1994.

Pebriani, N., 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak daun Ketul (*Bidens pilosa L.*) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Punggung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Sebagai Sumber Belajar Biologi. Tugas Akhir. Universitas Muhammadiyah Malang.

Pelczar, M. J. dan E.S. Chan, *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi ke-2*. Jakarta: Penerbit UI Press. 1988.

Pitout JD, Peirano G, Mulvey GL, Armstrong GD. 2013. *Virulence Potential and Adherence Properties of Escherichia coli that produce CTX-M and NDM  $\beta$ -lactamases*. J. Med. Microbiol.

Prajitno, A., 2007. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Euclidean cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Protein*. Universitas Brawijaya. Malang , 15(2), pp 66-71.

Putra, S.W. 2015. *Kitab Herbal Nusantara*. Katahati: Yogyakarta.



- Qadri, F., Svennerholm, A.M., Faruque, A.S.G. & Sack, R.B. (2005). Enterotoxigenic *Escherichia coli* in Developing Countries: Epidemiology, Microbiology, Clinical Features, Treatment, and Prevention. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(3): 465-483.
- Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J., Leonard F.C. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. USA. Blackwell Science.
- Rachma L. 2012. Daya Antifungal Dekok Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. *El-Hayah* Vol. 3 No 1. September 2012. Hal 29-34.
- Silva, F.L., Fischer, D.C., Tavares, J.F., Silva, M.S., de Athayde-Filho, P.F., Barbosa-Filho, J.M., 2011, Compilation of secondary metabolites from *Bidens pilosa* L., *Molecules*, 16(2) 1070-1102.
- Singh, G., Passari, A.K., Singh, P. *et al.* Pharmacological potential of *Bidens pilosa* L. and determination of bioactive compounds using UHPLC-QqQ-LIT-MS/MS and GC/MS. *BMC Complement Altern Med* 17, 492 (2017). doi:10.1186/s12906-017-2000-0
- Singleton V.L. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* P152-178
- Sukiyono, K. 2010. Prosiding Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Dekan. ISBN 978-602-966609-82. Badan Kerjasama Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat. Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. (Online). [http://eprints.unsri.ac.id/1321/1/Seminar Nasional Mei 2010.pdf](http://eprints.unsri.ac.id/1321/1/Seminar_Nasional_Mei_2010.pdf) diakses pada tanggal 14 September 2019.
- Tenover, F. C., 2006. Mechanism of Antimicrobial Resistance in Bacteria, *The American Journal of Medicine*, 119(6A), S3-S10.
- Todar K. 2011. "Pathogenic *E. coli*". Online Textbook of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
- Young-soo, Shin. 2009. Medicinal Plant in Papua New Guinea. World Health Organization. Western Pacific Region. (Online), [www.who.int/medicinedocs/documents/.../s21363en.pdf](http://www.who.int/medicinedocs/documents/.../s21363en.pdf) diakses pada tanggal 14 September 2019.