

**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP *Methicillin-Resistant*
Staphylococcus aureus (MRSA) SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

Yennie Ayu Setianingsih

0910714056

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

2012



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*) SEBAGAI ANTIMIKROBA
TERHADAP *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

Oleh:

Yennie Ayu Setianingsih

0910714056

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 11 Desember 2012

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Endang Asmaningsih, MS.

NIK. 080943206

Penguji II

Dr. Sri Winarsih, Apt. M.Si
NIP. 19540823 198103 2 001

dr. Samodrijanti W., M.Pd .
NIP. 19471015 198002 2 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran,

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H.,M.Sc.,SpParK
NIP : 19520410 198 002 1 001



KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT telah memberikan rahmat, hidayah dan kemudahan, sehingga penulisan tugas akhir ini dapat selesai. Sholawat dan salam penulis ucapkan kepada Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan bagi umat di dunia. Tugas akhir ini ditulis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam kepada :

1. Dr. dr. Karyono S. Mintaroem, SpPA. selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H.,M.Sc.,SpParK. selaku Ketua Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. Dr. Sri Winarsih, Apt. MS. Selaku Dosen Pembimbing pertama yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dengan sabar dan senantiasa member semangat selama penulisan tugas akhir ini.
4. dr. Samodrijanti W., MS. selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama penulisan tugas akhir ini.
5. dr. Endang Asmaningsih MS. selaku Dosen Penguji atas kesediaannya memberikan masukan dan penilaiannya untuk menyempurnakan tugas akhir ini.
6. Terima kasih kepada Ayah dan Ibu, serta adikku atas do'a, semangat dan

dukungan lahir batin agar karya tulis ini cepat selesai.

7. Mas Slamet, Mbak Uci, Mas Hendri, Bu Yati selaku staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk keahlian dan ketelatenannya dalam membantu pelaksanaan penelitian.
8. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya khususnya Dr. Sri Winarsih, Apt. MS. dan dr. Soemardini, MPd. serta Mbak Betty dan Mas Mijan di ruang sekretariat TA.
9. Teman-teman yaitu: Savitri BW., Yulianda M., Yunneke RX., Arwinda D., Oktavinayu SL., Citra AL., dan Raras P., serta teman seperjuangan di laboratorium mikrobiologi, Ni Made Ayu P., yang telah memberi semangat yang luar biasa dalam pengerjaan tugas akhir ini.
10. Teman-teman Pendidikan Dokter '09 yang selalu kompak dan memberikan suasana yang menyenangkan dalam menuntut ilmu, semoga tetap kompak sampai kita semua lulus menjadi dokter.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu selama ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga tugas akhir ini dapat diterima dan bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca yang membutuhkannya.

Malang, 3 Desember 2012

Penulis

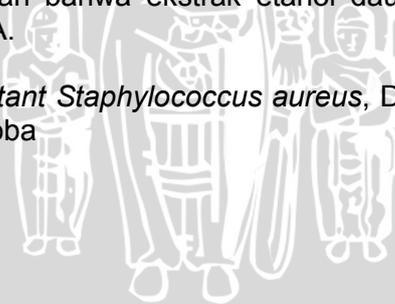


ABSTRAK

Setianingsih, Yennie Ayu. 2012. *Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Sebagai Antimikroba Terhadap Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Sri Winarsih, Apt. M.Si. (2) dr. Samodrijanti W., MS.

Tingginya penggunaan antibiotik yang tak terkontrol mengakibatkan angka kejadian resistensi semakin meningkat. Salah satu bakteri yang resisten terhadap berbagai antibiotika adalah *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Dengan demikian, perlu dikembangkan pengobatan baru yang lebih efektif dan efisien. Sukun merupakan tanaman yang telah banyak dikenal masyarakat Indonesia. Daun sukun diduga memiliki aktivitas antimikroba karena mengandung flavonoid, tanin, polifenol, triterpenoid, saponin, dan kuinon. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek ekstrak daun sukun sebagai antimikroba terhadap bakteri MRSA. Metode yang digunakan adalah dilusi tabung yang terdiri dari tahap penentuan Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal. Penelitian ini menggunakan 4 isolat bakteri MRSA yang berasal dari pus dari 4 orang pasien infeksi MRSA. Ekstrak daun sukun dibuat dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 0%, 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8% dan 1%. Hasil uji statistik Kruskal Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun sukun terhadap jumlah koloni MRSA ($p < 0,05$). Uji korelasi Spearman menunjukkan adanya hubungan yang erat antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni ($R = -0,989$; $p = 0,000$). Berdasarkan hasil penelitian, KHM berada pada 0,6%, sedangkan KBM berada pada konsentrasi 0,7%. Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sukun memiliki efek antimikroba terhadap MRSA.

Kata kunci: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, Daun sukun (*Artocarpus altilis*), Antimikroba

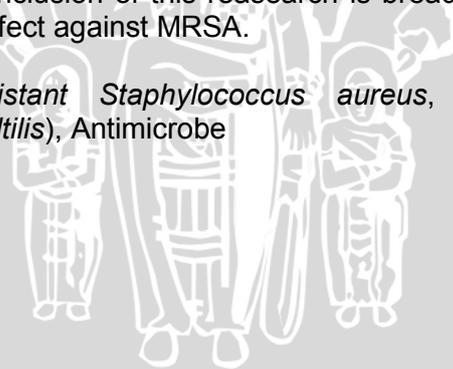


ABSTRACT

Setianingsih, Yennie Ayu. 2012. *Antimicrobial Effect of Breadfruit (Artocarpus altillis) Leaves Ethanol Extract Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus In Vitro*. Final Assignment, Medical Program Faculty of Medicine of Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. Sri Winarsih, Apt. M.Si. (2) dr. Samodrijanti W., MS.

Uncontrollable use of antibiotic causes an increasing of antibiotic resistance. One of bacteria that resistant to many antibiotic is *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). So alternative treatment should be developed, more effective and efficient. Breadfruit is a well known herbal plant in Indonesia. Breadfruit leaves is believed to have antimicrobial activity because it contains flavonoid, tannins, polyphenol, triterpenoid, saponin, and quinnon. This research aimed to study Breadfruit leaves extract effect as antimicrobial agents against MRSA. Antimicrobial effect is determined by tube dilution test method, which consist of the determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericide Concentration (MBC). This research used 4 MRSA isolate from pus of patient infected by MRSA. Breadfruit leaves extract is made using maceration method with ethanol 96% as solvent. The concentration of Breadfruit leaves ethanol extract are 0%, 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8% dan 1%. The statistical analysis result shows that Breadfruit leaves ethanol extract significantly inhibits the growth of MRSA ($p < 0,05$). Correlation Spearman test shows there is high correlation between Breadfruit leaves extracts and bacteria growth ($R = -0,989$; $p = 0,000$). Based on the research result, MIC of breadfruit leaves extract is 0,6%, and MBC is 0,7%. The conclusion of this research is breadfruit leaves ethanol extract has antimicrobial effect against MRSA.

Keywords: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, Breadfruit leaves (*Artocarpus altillis*), Antimicrobe



DAFTAR ISI

Judul i

Lembar Persetujuan ii

Kata Pengantar iii

Abstrak v

Daftar Isi vii

Daftar Tabel xi

Daftar Gambar xii

Daftar Lampiran xiii

Daftar Singkatan xiv

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah 3

1.3 Tujuan Penelitian

 1.3.1 Tujuan Umum 3

 1.3.2 Tujuan Khusus 3

1.4 Manfaat Penelitian

 1.4.1 Manfaat Akademis 3

 1.4.2 Manfaat Praktis 4

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus* 5

 2.1.1 Taksonomi 5

 2.1.2 Morfologi dan Sifat 5

 2.1.3 Kultur 7

 2.1.4 Daya Tahan Bakteri 7

 2.1.5 Struktur Antigen 8

 2.1.6 Metabolit Bakteri 9

 2.1.6.1 Metabolit Nontoksin 9

 2.1.6.2 Eksotoksin 12

 2.1.6.3 Enterotoksin 13

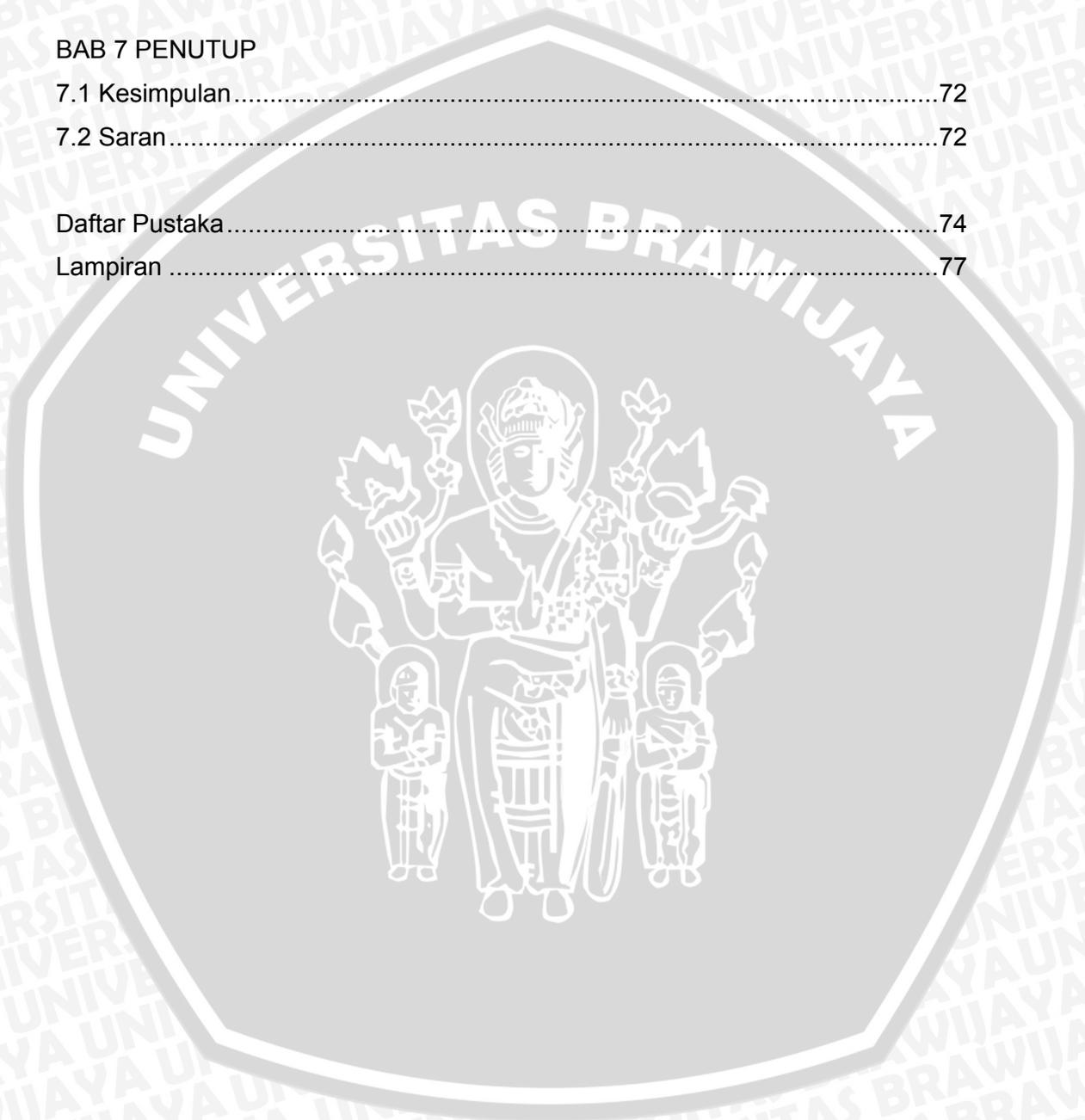
2.2 *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) 13



2.2.1 Definisi	13
2.2.2 Penentu Patogenisitas	13
2.2.3 Patogenesis	14
2.2.4 Mekanisme Resistensi <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>	16
2.2.5 Identifikasi	17
2.2.6 Faktor Risiko	20
2.2.7 Manifestasi Klinik dan Penyakit	22
2.2.8 Diagnosis Laboratorium	23
2.2.9 Epidemiologi	23
2.3 Antimikroba	25
2.3.1 Asal Obat Antimikroba	25
2.3.2 Mekanisme Kerja Obat Antimikroba	25
2.3.3 Resistensi Mikroba Terhadap Antimikroba	26
2.3.4 Uji Aktivitas Antimikroba	27
2.4 Tanaman Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	29
2.4.1 Taksonomi	30
2.4.2 Morfologi	31
2.4.3 Kandungan	32
2.4.3.1 Kandungan Nutrisi	32
2.4.3.2 Kandungan Non-Nutrisi	33
2.4.4 Keamanan Penggunaan	35
2.4.5 Potensi Pemanfaatan Sukun dalam Pengobatan	36
2.5 Metode Ekstraksi Bahan Aktif dari Bahan Alam	36
2.6 Hubungan Tanaman Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) dengan <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	38
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA	
3.1 Kerangka Konsep	40
3.2 Hipotesa	42
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Desain Penelitian	43
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	43
4.3 Populasi dan Sampel	43

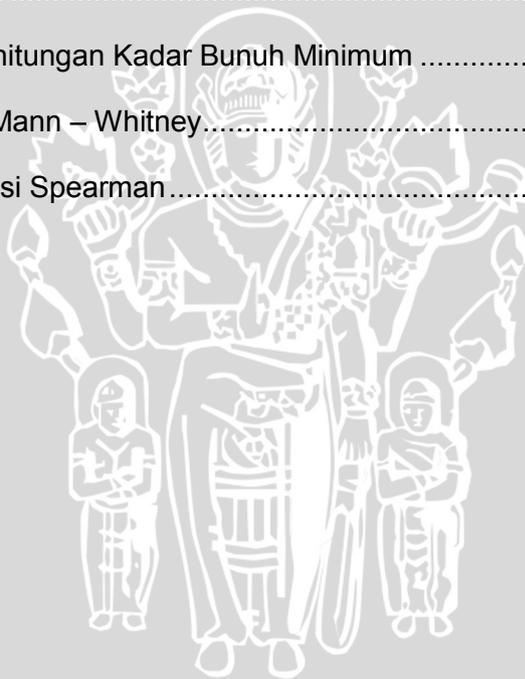
4.3.1 Populasi.....	43
4.3.2 Sampel.....	43
4.4 Estimasi Jumlah Pengulangan.....	44
4.5 Definisi Operasional.....	44
4.6 Variabel Penelitian.....	46
4.6.1 Variabel Bebas.....	46
4.6.2 Variabel Tergantung.....	46
4.7 Alat dan Bahan.....	46
4.7.1 Untuk Pembuatan Ekstrak.....	46
4.7.2 Untuk Identifikasi Bakteri.....	47
4.7.3 Untuk Pembuatan Bahan Cair Bakteri Kepadatan 10^6 bakteri/ml.....	47
4.7.4 Untuk Uji Sensitivitas Bakteri Terhadap Antimikroba (Metode Dilusi Tabung).....	47
4.7.5 Untuk Uji <i>Streaking Plate</i>	48
4.8 Prosedur Penelitian.....	48
4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Sukun.....	48
4.8.2 Identifikasi MRSA.....	49
4.8.3 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan 10^6 bakteri/ml.....	50
4.8.4 Uji Sensitivitas Antimikroba.....	51
4.8.5 Skema Alur Kerja Penelitian.....	53
4.9 Analisis Data.....	54
 BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian.....	56
5.1.1 Identifikasi Bakteri <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>	56
5.1.2 Menentukan Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum.....	58
5.1.2.1 Menentukan Kadar Hambat Minimum.....	58
5.1.2.2 Hasil Perhitungan <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> pada media NAP dan Analisis Terhadap KBM.....	59
5.2 Analisis Data.....	63
5.2.1 Uji Kolmogorov – Smirnov.....	63
5.2.2 Uji Homogenitas.....	63
5.2.3 Uji Kruskal – Wallis.....	63
5.2.4 Uji Mann – Whitney.....	64

5.2.5 Uji Korelasi Spearman.....	64
BAB 6 PEMBAHASAN.....	66
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan.....	72
7.2 Saran.....	72
Daftar Pustaka.....	74
Lampiran.....	77



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Faktor Risiko Infeksi MRSA	21
Tabel 2.2	Komposisi Kimia dan Zat Gizi Buah Sukun per 100 gram buah	32
Tabel 5.1	Hasil Pengamatan Tingkat Kekeruhan tiap Konsentrasi Ekstrak	59
Tabel 5.2	Hasil Perhitungan Jumlah Koloni MRSA pada Media NAP per 0,1 ml	61
Tabel 5.3	Hasil Perhitungan Kadar Bunuh Minimum	61
Tabel 5.4	Hasil Uji Mann – Whitney	64
Tabel 5.5	Uji Korelasi Spearman	64



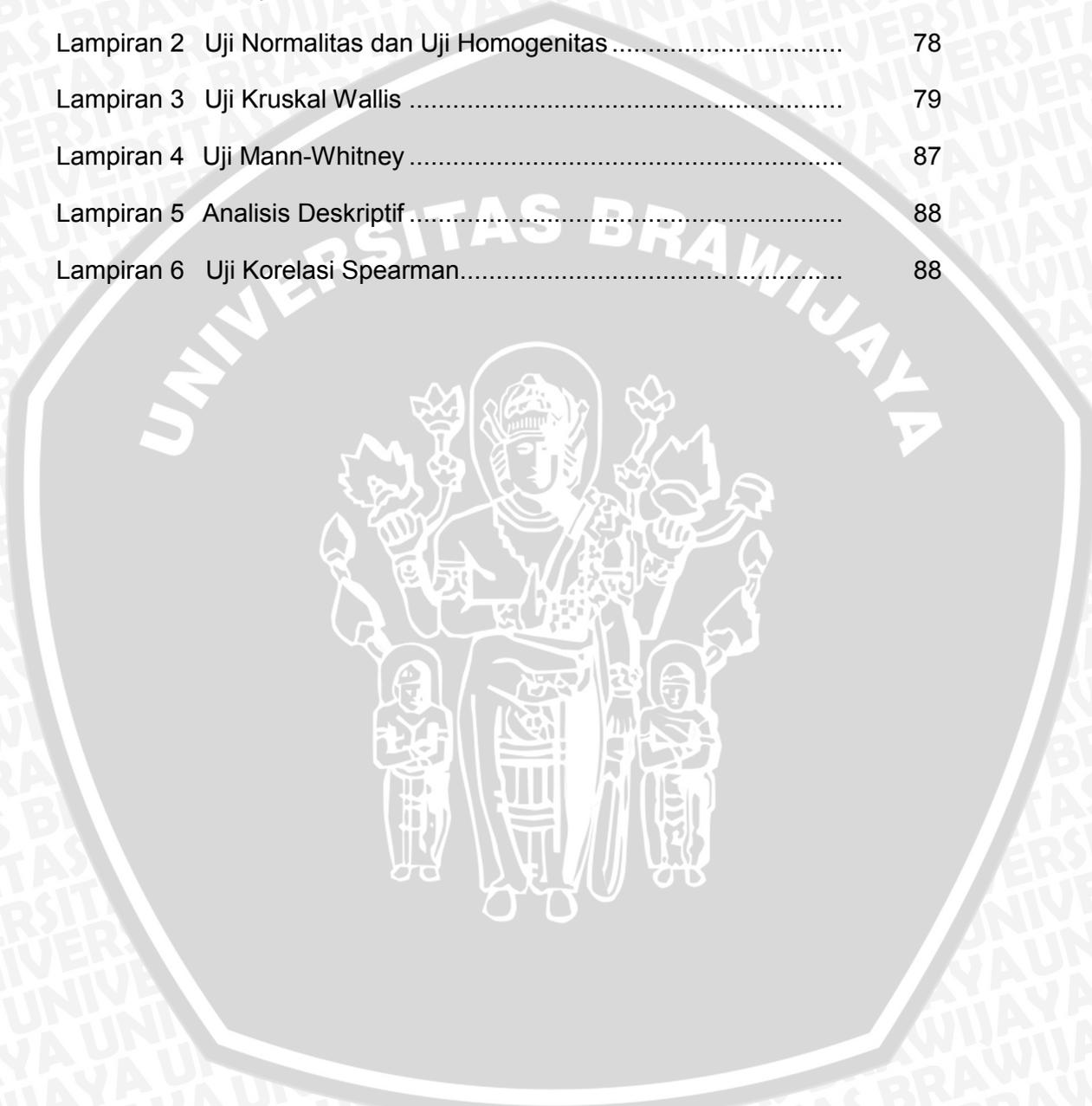
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Gambaran Mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i>	6
Gambar 2.2	Pohon Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	29
Gambar 2.3	Buah dan Daun Sukun	31
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian	40
Gambar 4.1	Skema Alur Kerja Penelitian	53
Gambar 5.1	Morfologi MRSA dengan Pengecatan Gram.....	57
Gambar 5.2	Isolasi MRSA pada medium CHROMagar	57
Gambar 5.3	Uji Resistensi MRSA terhadap Methicillin	57
Gambar 5.4	Uji Katalase terhadap MRSA	58
Gambar 5.5	Perbandingan tingkat kekeruhan tiap konsentrasi ekstrak pada medium MH Broth	58
Gambar 5.6	Jumlah Koloni MRSA pada Medium NAP setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Sukun	60
Gambar 5.7	Grafik Rerata Jumlah Koloni Bakteri MRSA setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Sukun	62
Gambar 5.8	Grafik Rerata Jumlah Koloni Bakteri MRSA setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Sukun tanpa Konsentrasi 0%	62



DAFTAR LAMPIRAN

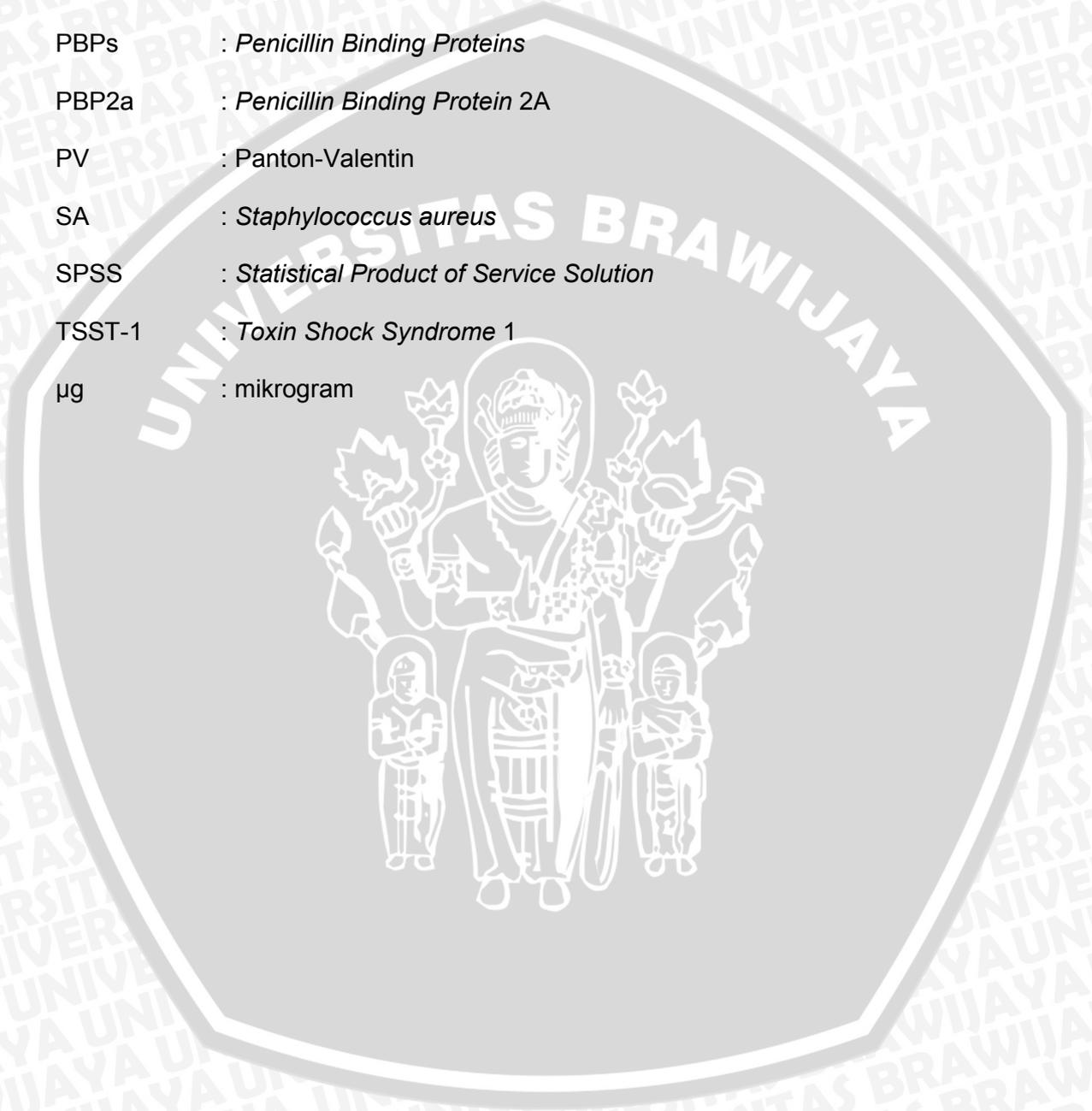
Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan.....	77
Lampiran 2	Uji Normalitas dan Uji Homogenitas.....	78
Lampiran 3	Uji Kruskal Wallis	79
Lampiran 4	Uji Mann-Whitney	87
Lampiran 5	Analisis Deskriptif	88
Lampiran 6	Uji Korelasi Spearman.....	88



DAFTAR SINGKATAN

BAP	: <i>Blood Agar Plate</i>
CA-MRSA	: <i>Community Associated – Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
CLSI	: <i>Clinical Laboratory Standards Institute</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DNase	: <i>Deoxyribonuclease</i>
g	: <i>gram</i>
HA-MRSA	: <i>Hospital-acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
ICU	: <i>Intensive Care Units</i>
IU	: <i>International Unit</i>
KBM	: <i>Kadar Bunuh Minimum</i>
KHM	: <i>Kadar Hambat Minimum</i>
KN	: <i>Kontrol Negatif</i>
KP	: <i>Kontrol Positif</i>
mg	: <i>miligram</i>
MH	: <i>Mueller Hinton</i>
ml	: <i>milliliter</i>
mm	: <i>milimeter</i>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
MRSE	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus epidermidis</i>
MSA	: <i>Manitol Salt Agar</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>
NAP	: <i>Nutrient Agar Plate</i>

- NCCLS : *National Committee Centre for Laboratory Study*
- OD : *Optical Density*
- OI : *Original Inoculum*
- PBPs : *Penicillin Binding Proteins*
- PBP2a : *Penicillin Binding Protein 2A*
- PV : *Panton-Valentin*
- SA : *Staphylococcus aureus*
- SPSS : *Statistical Product of Service Solution*
- TSST-1 : *Toxin Shock Syndrome 1*
- µg : *mikrogram*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berjalan (Gibson, 1991 dalam Melviani, 2010). Kejadian infeksi yang tinggi menyebabkan penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol akan berakibat timbulnya kasus resistensi (Utama, 2006 dalam Melviani, 2010). Infeksi paling sering disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang merupakan patogen utama pada manusia. Kelompok *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotika β -lactam yang bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri, termasuk didalamnya methicillin, penicillin, oxacillin, dan amoxicillin, disebut *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (Brooks et al., 2010).

Di masyarakat MRSA sering menyebabkan infeksi di kulit dan jaringan lunak. Infeksi yang lebih berat terjadi pada pasien yang sedang dirawat dirumah sakit dan pasien imunodefisiensi. MRSA menular baik dari kontak langsung dengan penderita atau kontak tidak langsung melalui penggunaan barang yang dipakai oleh penderita. Selain itu, MRSA menjadi penyebab infeksi nosokomial lebih banyak dan memiliki risiko kematian lebih tinggi dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* (CDC, 2010).

Untuk mengurangi peningkatan kejadian resistensi terhadap antibiotik, saat ini banyak dikembangkan tanaman obat tradisional sebagai alternatif antimikroba. Obat tradisional lebih mudah diterima oleh masyarakat karena selain sudah akrab dengan masyarakat, obat ini lebih murah dan lebih mudah

didapat. Masyarakat percaya bahwa menggunakan obat tradisional lebih aman dibandingkan dengan obat sintesis. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengoptimalkan penggunaan obat tradisional (Ramadhani, 2009).

Salah satu tanaman di Indonesia yang diterima baik oleh masyarakat adalah tanaman Sukun (*Artocarpus altilis*). *Artocarpus altilis* mudah dibudidayakan dan buahnya bisa menjadi cadangan pangan alternatif (Koswara, 2006). Menurut Intan (2008) dalam Novianti (2011) ekstrak etanol daun Sukun telah teruji secara praklinis memiliki aktivitas antidiabetes. Namun, tulisan ilmiah mengenai khasiat dari daun Sukun tentang penggunaannya sebagai antimikroba masih sangat sedikit. Hal ini patut disayangkan karena tanaman Sukun mudah didapat dan dibudidayakan, serta sudah akrab di kehidupan masyarakat (Ramadhani, 2009).

Berdasarkan penelitian Sulistyaningsih dkk.(2009) membuktikan bahwa aktivitas ekstrak etanol daun Sukun dapat sebanding dengan antibiotik tetrasiklin dan antibiotik ketokonazol terhadap bakteri *E. coli*, *B. subtilis*, jamur *C. albicans* dan *M. gypsiun*. Hasil skrining fitokimia simplisia daun Sukun menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoida, tanin, saponin, steroid/triterpenoid, dan polifenol (Rostinawati dkk., 2009). Flavonoida, tanin, saponin, steroid/triterpenoid, dan polifenol diketahui memiliki aktivitas antimikroba dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda.

Berdasarkan data tersebut, penelitian ini akan dilaksanakan menggunakan metode ekstraksi dengan pelarut etanol untuk menguji aktivitas antimikroba dari daun Sukun terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro* yang sampelnya diambil di lingkungan sekitar Malang, Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) memiliki efek antimikroba terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan efek ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai antimikroba terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

1.3.2 Tujuan khusus

1.3.2.1 Untuk mengetahui hubungan antara dosis ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) dengan pertumbuhan *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

1.3.2.2 Untuk mengetahui besarnya Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) yang berpengaruh terhadap pertumbuhan *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*.

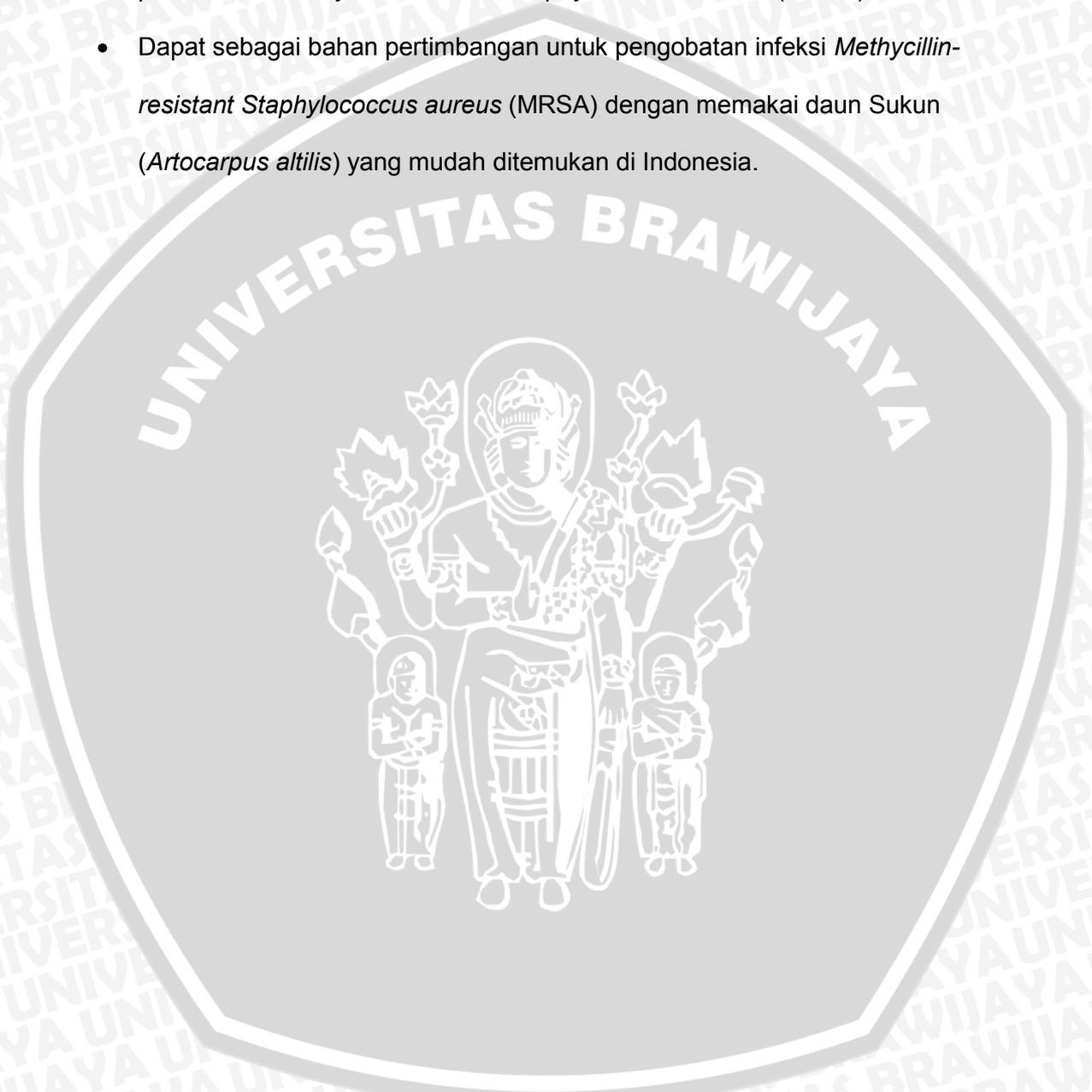
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

- Mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya mengenai bahan alam yang memiliki efek sebagai antimikroba.
- Memberikan informasi yang telah diuji kebenarannya pada dunia pendidikan dan masyarakat tentang ada tidaknya efek ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai antimikroba.

1.4.2 Manfaat Praktis

- Sebagai wacana atau bahan pertimbangan sebagai alternatif antibiotik pada infeksi *Methycillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
- Dapat sebagai bahan pertimbangan untuk pengobatan infeksi *Methycillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan memakai daun Sukun (*Artocarpus altilis*) yang mudah ditemukan di Indonesia.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

Bakteri stafilocokus kali pertama dikenal oleh Pasteur (1880) dan Ogston (1881), dari pus seorang penderita. Sebelumnya, Becker pada tahun 1883 berhasil melakukan biakan murni dan Rosenbach (1884) untuk kali pertama mengetahui adanya hubungan kausal antara timbulnya suatu penyakit osteomielitis dengan bakteri stafilocokus (Dzen dkk., 2010).

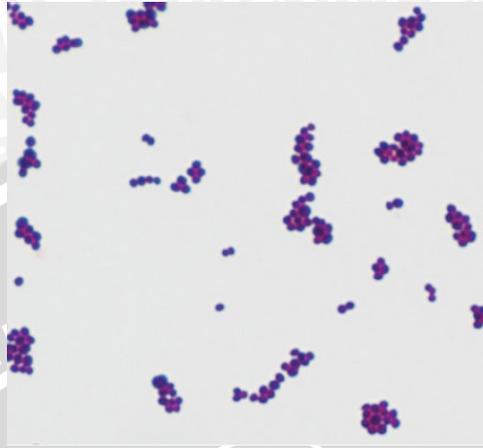
2.1.1 Taksonomi

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Modric, 2011).

2.1.2 Morfologi dan Sifat

Stafilocokus berbentuk bulat (spheres) atau kokus dengan diameter 0,4-1,2 μm (rata-rata 0,8 μm). Pada hasil pewarnaan yang berasal dari media perbenihan padat memperlihatkan susunan bakteri bergerombol seperti buah anggur, sedangkan dari perbenihan cair bisa terlihat bentukan kuman yang lepas

sendiri-sendiri, berpasangan atau rantai pendek yang umumnya terdiri dari empat sel (Dzen dkk., 2010).



Gambar 2.1 Gambaran Mikroskopis *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2010). Pada pewarnaan Gram menunjukkan bakteri bersifat Gram positif, bentuk kokus berpasangan, tetrad dan kluster. Perbesaran 1000x.

Staphylococcus aureus bersifat aerob atau anaerob fakultatif, tes katalase positif dan tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi (halofilik). Bakteri ini tidak dapat bergerak, namun dengan cara tetes gantung, ditemukan gerakan Brown. Beberapa galur stafilokokus bisa membentuk kapsul yang pembentukannya bisa dirangsang oleh medium perbenihan yang mengandung bikarbonat. Gram bersifat Gram positif, namun pada keadaan tertentu bersifat Gram negatif misalnya bila bakteri berasal dari bagian tengah koloni, mengalami fagositosis oleh sel, dan bakteri berasal dari perbenihan yang sudah tua (Dzen dkk., 2010).

Staphylococcus aureus membentuk pigmen berwarna kuning emas yang mempunyai sifat mudah larut dalam alkohol, eter dan benzen, bersifat lipokrom, tetap tinggal dalam koloni, dan tidak berdifusi ke dalam medium. Pada umumnya bakteri yang menghasilkan warna kuning emas bersifat patogen. Pigmen ini tidak terbentuk pada keadaan anerob dan pada perbenihan cair (Dzen dkk., 2010).

2.1.3 Kultur

Pembiakan stafilocokus membutuhkan suhu optimal 28-38°C atau sekitar 35°C. Bila bakteri diisolasi dari seorang penderita memerlukan suhu 37°C. Tumbuh pada pH optimal 7,4. Untuk isolasi primer dari infeksi campuran, terutama dari tinja atau luka-luka, memerlukan medium yang mengandung garam NaCl konsentrasi tinggi atau medium yang mengandung polimiksin (*Polymixin Staphylococcus medium*). Pada umumnya, pembiakan memerlukan medium yang mengandung asam amino dan vitamin. Medium yang biasa dipakai untuk membiakkan adalah sebagai berikut.

- *Nutrient Agar Plate* (NAP)

Koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan konsistensinya lunak. Medium ini penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen. Pembentukan pigmen paling baik bila dieramkan pada suhu kamar (20°C). *S. aureus* membentuk pigmen berwarna kuning emas. Pigmen ini memiliki sifat lipokrom, mudah larut dalam alkohol, eter, dan benzen, tetap tinggal dalam koloni bakteri dan tidak berdifusi ke dalam medium (Dzen dkk., 2010).

- *Blood Agar Plate* (BAP)

Koloni yang tumbuh dalam medium ini tampak lebih besar dan pada galur yang ganas memberikan zona hemolisa yang jernih disekitar koloni yang mirip dengan koloni *Streptococcus β-hemolyticus* (Dzen dkk., 2010).

2.1.4 Daya Tahan Bakteri

Stafilocokus paling tahan terhadap bahan-bahan kimia di antara bakteri yang tidak membentuk spora, sehingga sering digunakan untuk standar tes evaluasi bahan-bahan antibiotika, misalnya *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Pada agar miring atau keadaan beku dengan suhu kamar, bakteri bisa tahan hidup sampai beberapa bulan, sedangkan dalam kondisi kering pada pus dapat hidup 14-16 minggu. Bakteri ini relatif tahan terhadap pemanasan 60°C selama 30 menit. Daya tahan terhadap bahan-bahan kimia bervariasi. Dalam fenol 2% mati dalam waktu 15 menit, sedangkan dalam H₂O₂ 3% mati dalam waktu 3 menit dan dalam tintura iodii mati dalam 1 menit (Dzen dkk., 2010).

Beberapa galur dari *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim penisilinase sehingga resisten terhadap golongan obat penisilin, tapi biasanya masih peka terhadap golongan penisilin yang tahan terhadap penisilinase, misalnya metisilin dan oksasilin. Namun demikian, telah dikenal galur *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin yang disebut MRSA dan MRSE. Galur ini sering menimbulkan masalah di klinik karena sifatnya yang resisten terhadap berbagai antibiotika gol β-laktam, tetapi biasanya masih peka terhadap vankomisin atau golongan aminoglikosida (Dzen dkk., 2010).

2.1.5 Struktur Antigen

Rantz menemukan suatu antigen pada kokus Gram positif dan basil Gram positif. Antigen Rantz ini didapatkan dengan cara ekstraksi dari *Staphylococcus* dari galur tertentu menggunakan lisozim. Sensitisasi eritrosit dengan antigen ini dapat menimbulkan pembentukan hemaglutinin dalam serum (Dzen dkk., 2010).

Staphylococcus aureus mengandung Ag-karbohidrat (Ag-KH) dan Ag-protein. Pada strain yang patogen ditemukan Ag-KH tipe A. apabila Ag-KH tipe A disuntikkan secara intradermal pada penderita yang terinfeksi *Staphylococcus* akan memberikan reaksi hipersensitif tipe segera dalam 20-30 menit berupa *wheal* dan eritema (Dzen dkk., 2010).

Polisakarida murni yang telah dipisahkan dari kompleks karbohidrat protein tidak bersifat antigenik dan tidak patogen terhadap kelinci dan tikus putih. Kompleks antigen protein dari *Staphylococcus* bila disuntikkan pada kelinci akan menghasilkan presipitin, sedangkan protein yang dimurnikan tidak toksik terhadap kelinci bila disuntikkan secara intradermal (Dzen dkk., 2010).

Sebagian besar bakteri *Staphylococcus aureus* pada dinding selnya mengandung suatu komponen yang disebut protein A. Protein A ini mempunyai berat molekul sekitar 13.000 Da berikatan dengan *peptidoglican* secara kovalen. Protein A dapat dikeluarkan ke dalam medium dan juga dapat berikatan dengan fragmen Fc dari imunoglobulin. Berdasarkan sifat ini *Staphylococcus aureus* dapat dipakai untuk membantu identifikasi; karena fragmen Fab yang bebas dapat berikatan dengan antigen yang spesifik (Dzen dkk., 2010).

2.1.6 Metabolit Bakteri

Stafionokokus menghasilkan bahan metabolit yang dapat diklasifikasikan dalam tiga bentuk, yaitu: metabolit nontoksin, eksotoksin, dan enterotoksin.

2.1.6.1 Metabolit Nontoksin

a. Antigen Permukaan (Materi Kapsul)

berfungsi mencegah fagositosis, mencegah reaksi koagulase, mencegah melekatnya bakteriofaga (Dzen dkk., 2010).

b. Koagulase

Suatu antigen protein yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* (Stafilokokus yang patogen). Bersifat *Clotthing agent*, proteolitik, dan esterolitik (Dzen dkk., 2010). Terdapat dua bentuk koagulase, yaitu:

- *Free coagulase*

Dibebaskan ke dalam medium, perlu aktivasi oleh faktor plasma atau CRF (*Coagulase Reacting Factor*) untuk mengubah fibrinogen menjadi fibrin, dipakai plasma darah kelinci dan tes dilakukan di dalam tabung (Dzen dkk., 2010).

- *Bound Coagulase (Clumping Factor)*

Tidak didapatkan didalam filtrat kultur, tidak memerlukan CRF, dipakai plasma darah manusia, dan tes dilakukan pada gelas objek. Tes Koagulase tersebut penting untuk menentukan patogenisitas stafilokokus. Pada umumnya *Staphylococcus aureus* memberikan tes koagulase yang positif. Bila hasil tes koagulase pada gelas objek negatif, harus dilanjutkan dengan tes koagulase tabung (Dzen dkk., 2010).

Reaksi positif palsu terjadi karena bakteri-bakteri tersebut (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, dan *Streptococcus faecalis*) dapat menggunakan sitrat (antikoagulan dalam pengambilan plasma) dan membebaskan kalsium sehingga dapat menimbulkan reaksi penggumpalan. Untuk mengatasi hal ini penggunaan sitrat perlu digantikan dengan EDTA. Diperlukan tes koagulase dengan masa inkubasi yang lebih lama (24 jam), bila dalam waktu 4 jam tidak terbentuk koagulum (Dzen dkk., 2010).

c. Hialuronidase

Dihasilkan oleh 93,6% galur dengan koagulase yang positif, tapi tidak dibentuk oleh galur dengan koagulase negatif. Secara *in vitro*, dapat dihasilkan bila medium diperkaya dengan tirosin dan triptofan. Dengan menghasilkan hialuronidase maka bakteri bersifat invasif, tapi sifat ini terjadi pada fase awal dari infeksi dan cepat dinetralkan pada reaksi peradangan (Dzen dkk., 2010).

d. Stafilokinase (Fibrinolisin)

Metabolit tersebut 80% dihasilkan oleh galur koagulase positif dan dihasilkan juga oleh galur koagulase negatif. Enzim ini bekerja sebagai aktivator enzim protease dalam plasma untuk menghasilkan *lyctic agent*. Enzim ini bersifat antigenik dan tidak tahan panas (*heat labile*) (Dzen dkk., 2010).

e. Protease

Enzim ini bersifat proteolitik dan dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan yang diinvasi termasuk jaringan tulang (Dzen dkk., 2010).

f. Lipase

Enzim ini bersifat antigenik. Pada inokulasi stafilokokus koagulase positif galur tertentu pada BAP darah manusia, terlihat pada permukaan koloni terdapat bercak-bercak lemak yang tersusun dari asam oktadekanoat. Ini terjadi karena lipase memutuskan ikatan asam ini dengan lipid (Dzen dkk., 2010).

g. Fosfatase

Fosfatase erat hubungannya dengan patogenisitas dan galur koagulase positif pada umumnya menghasilkan lebih banyak fosfatase daripada galur koagulase negatif, namun kadang-kadang ada juga galur koagulase negatif yang menghasilkan fosfatase lebih banyak. Oleh karena itu, apabila fosfatase digunakan sebagai indikator patogenisitas, nilainya kurang (Dzen dkk., 2010).

h. DNase

Enzim ini tahan pemanasan (*heat resistant*) dan diproduksi oleh 90-96% galur stafilokokus koagulase positif, sehingga dapat juga dipakai untuk menentukan spesies dari stafilokokus. DNase memecah DNA menjadi fosfomononukleotida. Enzim ini merupakan suatu protein yang kompak yang terdiri atas rantai polipeptida tunggal dan terdapat pada permukaan sel. Aktivitas

DNase ini dapat diketahui dengan menanam bakteri pada *deoxiribonuclease test* medium. Setelah dieramkan pada 37°C selama 24-36 jam, koloni yang tumbuh dituangi dengan 1 N HCL atau 0,1% toluidin biru. Bila tampak daerah terang (halo) pada penuangan HCL atau merah rose dengan toluidin biru disekita koloni, ini menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan enzim deoksiribonuklease (DNase) (Dzen dkk., 2010).

2.1.6.2 Eksotoksin

Eksotoksin stafilokokus bersifat mematikan, tidak tahan panas dan dapat menyebabkan nekrosis lapisan dermis. Dengan elektroforesis dapat dipisahkan beberapa eksotoksin yaitu sebagai berikut:

a. Toksin alfa (α -toxin)

Bersifat mematikan leukosit dan makrofag. Dapat menyebabkan lisis eritrosit kelinci dan merusak trombosit. Pada penyuntikan intakutan dapat menyebabkan nekrosis dan mempunyai efek letal. Toxin alfa ini dapat dipakai untuk menentukan virulensi (Dzen dkk., 2010).

b. Toksin beta (β -toxin)

Dapat menimbulkan lisis terhadap eritrosit biri-biri dan bersifst toksik untuk hewan. Pada eritrosit sapi mempunyai sifat *hold cold type* , artinya pada BAP darah sapi 37°C tampak dekolorisasi disekitar koloni dan pada waktu didinginkan dalam almari es selama 24 jam terjadi hemolisis komplit (Dzen dkk., 2010).

c. Toksin delta (δ -toxin)

Bersifat nontoksik, dapat merusak sel eritrosit manusia dan kuda (Dzen dkk., 2010).

d. Panton-Valentin (PV) atau Leukosidin

Bersifat tahan terhadap pemanasan, nonhemolitik dan dinetralkan oleh kolesterol. Metabolit ini dapat mematikan sel darah putih semua spesies kecuali biri-biri dan bisa dihasilkan oleh beberapa galur koagulase negatif (Dzen dkk., 2010).

2.1.6.3 Enterotoksin

Terutama dihasilkan oleh galur yang mengandung faga grup III, atau 30% oleh galur dengan tes koagulase positif. Diproduksi bila ditanam pada medium semisolid dengan konsentrasi CO₂ 30%. Enterotoksin ini merupakan protein dengan berat molekul sekitar 35000 Da, tahan terhadap pemanasan/pendidihan selama 30 menit, dan sering merupakan penyebab dari kasus keracunan makanan. Seseorang yang menelan enterotoksin lebih 25µg akan menyebabkan muntah dan diare. Efek emetik ini akibat rangsangan pada CNS (*emetic center*) (Dzen dkk., 2010).

2.2 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

2.2.1 Definisi

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) adalah *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik β-laktam, termasuk *penicillinase-resistant penicillins* (*methicillin, oxacillin, nafcillin*) dan cephalosporin (Biantoro, 2008).

2.2.2 Penentu Patogenesis

Faktor virulensi dari MRSA hampir sama dengan faktor virulensi *Staphylococcus aureus*, letak perbedaannya adalah MRSA menghasilkan β-laktamase yang menyebabkannya menjadi resisten terhadap *methicillin* terutama

penisilin, sefalosporin, dan karbapenem. Antimikroba β -laktam memiliki mekanisme kerja berikatan dengan reseptor pada dinding sel bakteri yang disebut *PBP*s yang akan menimbulkan hambatan pembentukan dinding sel pada proses transpeptidasi. Enzim β -laktamase yang dikode oleh gen *mecA* ini dapat merusak cincin β -laktam dengan cara menghidrolisa penisilin menjadi asam *penisiloat* yang tidak aktif lagi sebagai antimikroba (Dzen dkk., 2010).

2.2.3 Patogenesis

Stafilokokus, khususnya *S. epidermidis* adalah anggota flora normal pada kulit manusia, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan. 40-50% manusia merupakan pembawa *S. aureus* dalam hidungnya. Stafilokokus juga biasa ditemukan di pakaian, kasur, dan benda lainnya yang biasa dipakai manusia. Kemampuan patogenik strain *S. aureus* tertentu merupakan gabungan faktor-faktor ekstraseluler, toksin-toksin, serta sifat-sifat invasif strain itu. Pada satu akhir spektrum penyakit adalah keracunan makanan oleh stafilokokus, akibat termakannya enterotoksin yang sudah terbentuk; sedangkan bentuk akhir lainnya adalah bakteremia stafilokokus dan abses yang tersebar di seluruh organ. Peran serta potensial berbagai zat ekstraseluler pada patogenesis ternyata dari sifat kerja masing-masing faktor (Brooks *et al.*, 2010).

Staphylococcus aureus yang patogen dan invasif cenderung menghasilkan koagulase dan pigmen kuning, dan bersifat hemolitik. Stafilokokus yang non patogen dan tidak invasif seperti *Staphylococcus epidermidis*, cenderung bersifat koagulase negatif dan tidak hemolitik. Organisme ini jarang menyebabkan pus tetapi dapat menginfeksi prostesis ortopedik atau kardiovaskuler (Brooks *et al.*, 2010).

Prototipe lesi stafilokokus adalah furunkel atau abses setempat lainnya. Kelompok *S. aureus* yang tinggal dalam folikel rambut menimbulkan nekrosis jaringan (faktor demonekrotik). Koagulasi dihasilkan dan mengkoagulasi fibrin di sekitar lesi dan di dalam pembuluh limfe, mengakibatkan pembentukan dinding yang membatasi proses dan diperkuat oleh penumpukan sel radang dan kemudian jaringan fibrosis. Di tengah-tengah lesi, terjadi pencairan jaringan nekrotik (dibantu oleh hipersensitivitas tipe lambat) dan abses mengarah pada daerah yang daya tahannya paling kecil. Setelah cairan di tengah jaringan nekrotik mengalir keluar, rongga secara pelan-pelan diisi dengan jaringan granulasi dan akhirnya sembuh (Brooks *et al.*, 2010).

Pernanahan foka (abses) adalah sifat khas infeksi stafilokokus. Dari setiap fokus, organisme menyebar melalui saluran limfe dan aliran darah ke bagian tubuh lainnya. Pernanahan dalam vena, yang disertai trombosis, sering terjadi pada penyebaran tersebut. Pada osteomyelitis, fokus primer pertumbuhan *S. aureus* secara khas terjadi di pembuluh-pembuluh darah terminal pada metafisis tulang panjang, mengakibatkan nekrosis tulang dan pernanahan menahun. *S. aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, empiema, endokarditis atau sepsis dengan pernanahan pada bagian tubuh mana saja. Stafilokokus yang daya invasinya rendah berperan pada banyak infeksi kulit (misalnya acne, epiderma, atau impitigo). Kokus anaerob (*peptostreptococcus*) berperan dalam infeksi anaerobik campuran (Brooks *et al.*, 2010).

Stafilokokus juga menyebabkan penyakit melalui kerja toksin, tanpa memperlihatkan infeksi invasif. Bula eksoliatif—sindroma lepuh kulit—disebabkan oleh pembentukan toksin eksoliatif. Sindroma syok toksin berhubungan dengan toksin sindroma syok toksik-I (TSST-I) (Brooks *et al.*, 2010).

2.2.4 Mekanisme Resistensi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Resistensi kromosomal MRSA disebabkan paparan antimikroba atau antibiotik yang tidak tepat dosis, sehingga bakteri akan memproduksi protein pengikat penisilin atau *penisilin binding protein* (PBP 2a) yang mengganggu aktivitas antibiotik terhadap PBP sebenarnya. Reaksi antibiotik sebenarnya dapat menghambat sintesis peptidoglikan dan formasi dinding sel bakteri, sehingga bakteri lisis. Sebaliknya, reaksi antimikroba dengan PBP 2a tidak menimbulkan efek tersebut (Nurkusuma, 2009).

Protein PBP 2a disandi oleh gen *mecA* yang berada dalam rangkaian kromosom tertentu, yaitu *SCCmec* atau *Staphylococcal cassette kromosom*, suatu sikuens spesifik DNA kuman *Staphylococcus aureus*. Ekpresi PBP 2a diatur oleh inducer dan represor blaRI-blal yang disandi plasmid, dan dua zat itu sangat penting dalam regulasi β laktamase dan ekspresi dari *mecA*. MRSA memiliki 2 mekanisme resistensi yaitu hiperproduksi β laktamase (HiBSA) yang kemungkinan dapat memicu sifat resistensi MRSA, dan disebut sebagai *border line-resistant strain of MRSA*. Mekanisme yang kedua tidak ada ketergantungan pada zat β laktamase dan disebut sebagai sifat resistensi intrinsik. Oleh karena meticilin merupakan *penicillin-resistant* pertama, maka disebut *methicillin resistant*. Dengan diperoleh determinan reseptor tambahan, maka secara simultan muncul resistensi terhadap antimikroba lainnya. Apabila ditemukan gen *mecA*, kuman tersebut dikenal dengan *true MRSA* (Nurkusuma, 2009).

Resistensi juga dipengaruhi oleh faktor tambahan, contohnya gen kromosomal *fem* atau *aux* yang berperan dalam sintesis molekul prekursor peptidoglikan. Ketidakaktifan gen di atas menyebabkan defisiensi prekursor sehingga tidak dapat digunakan sebagai blok pembentukan dinding sel yang

dikatalisis oleh trans peptidase PBP 2a selama pengobatan antibiotik. Sebenarnya hal ini dapat menyebabkan menurunnya resistensi terhadap antibiotik β laktam dan merupakan potensi antibiotik baru mendatang (Nurkusuma, 2009).

2.2.5 Identifikasi

Proses identifikasi MRSA bisa dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

a. CHROMagar MRSA

Metode sederhana untuk mendeteksi MRSA telah disarankan menggunakan media kromogenik yang disebut CHROMagar MRSA yang didesain khusus untuk mendeteksi langsung adanya MRSA dengan menggunakan 249 galur murni MSSA (*Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus*) dan MRSA. Seluruh galur diisolasi dengan menggunakan media *blood agar* dan kemudian diisolasi pada media CHROMagar MRSA dengan metode isolasi kuadran. Cawan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan dinilai pertumbuhan koloninya (Nurkusuma, 2009).

Bila media CHROMagar MRSA tidak tersedia, dapat diganti dengan CHROMagar *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna merah muda. Pemeriksaan ini mempunyai sensitivitas 95,5% dan spesifitas 99,4%. Untuk memastikan bahwa koloni itu adalah MRSA, dilakukan tes sensitivitas antimikroba terhadap antibiotik oksasilin atau sefoksitin. Sensitivitas dinilai berdasar ukuran area pada permukaan media yang dinhibisi oleh antibiotik, yaitu apabila MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) > 4 $\mu\text{g/ml}$ disebut resisten atau intermediet dan sensitif bila MIC \leq 4 $\mu\text{g/ml}$ (Nurkusuma, 2009).

b. Metode Dilusi

- Dilusi agar

Uji ini menggunakan media *Mueller-Hinton* (MH) atau agar Columbia dengan 2% NaCl dan inokulum 10^4 CFU/mL akan terlihat jelas perbedaan resistensi diantara strain-strain *S. aureus*. Menurut *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC), kedua media ini dapat digunakan kemudian dilakukan inkubasi pada 30°C selama 24 jam. Pada metode BSAC ini, *minimum inhibitory concentration* (MIC) methicillin ≤ 4 mg/L mengindikasikan bahwa strain *S. aureus* ini masih rentan/sensitif terhadap methicillin, sedangkan MIC > 4 menunjukkan resisten (Biantoro, 2008).

Sedangkan menurut *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), yang sekarang dikenal sebagai *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI), metode ini hanya menggunakan MH sebagai medianya, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 33-35°C. Hasil MIC methicillin ≤ 2 mg/L mengindikasikan bahwa strain *S. aureus* ini masih rentan/sensitive terhadap methicillin, sedangkan MIC > 2 menunjukkan resisten (Biantoro, 2008).

- Mikrodilusi kaldu

Metode NCCLS ini menggunakan kaldu MH dengan 2% NaCl sebagai media, sebuah inokulum 5×10^5 CFU/mL dan diinkubasi pada suhu 33-35°C selama 24 jam. Metode ini banyak digunakan secara luas (Biantoro, 2008).

c. Metode Penapisan Agar (*Agar screening method*)

Metode ini direkomendasikan oleh NCCLS untuk penapisan isolasi koloni pada media rutin dan untuk konfirmasi akan kecurigaan adanya resistensi pada uji difusi piringan (*disc diffusion tests*). Pada metode ini densitas *S. aureus*

dipertahankan pada 0,5 standar McFarland, menggunakan media MH yang mengandung 4% NaCl dan 6 mg/L oxacillin. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C atau kurang. Adanya pertumbuhan mengindikasikan resistensi (Biantoro, 2008).

d. Piringan Difusi (*Disc Diffusion*)

Sekarang ini uji piringan difusi sefoksitin lebih banyak direkomendasikan dibandingkan dengan oksasilin. Hal ini dikarenakan pada sefoksitin tidak diperlukan media dan temperature inkubasi khusus, serta tidak terpengaruh adanya hiper-produksi dari penisilinase sehingga tidak terjadi positif palsu MRSA (Biantoro, 2008).

e. Aglutinasi Lateks (*Latex Agglutination*)

Metode ini mengekstraksi PBP2a (*penicillin binding protein*) dari suspensi koloni dan deteksinya oleh aglutinasi dengan partikel lateks yang dilapisi oleh antibodi terhadap PBP2a. Isolat yang memproduksi sedikit PBP2a akan menimbulkan reaksi aglutinasi yang lemah atau lambat. Uji ini sangat sensitif dan spesifik terhadap *S. aureus*, namun tidak cocok pada pertumbuhan koloni yang mengandung NaCl. Disamping itu pula metode sangat cepat (hanya ± 10 menit untuk 1 uji) dan tidak memerlukan alat khusus (Biantoro, 2008).

f. Metode Molekuler

- Identifikasi MRSA langsung dari kultur darah

Sebagian besar laboratorium mikrobiologi klinik, identifikasi kultur darah yang positif mengandung kokus gram positif (*Gram-positive cocci in cluster* [GPCC]) menggunakan sistem otomatis di bawah mikroskop, dilanjutkan dengan kultur secara konvensional untuk mendeteksi adanya MRSA. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menilai penggunaan metode molekuler secara

langsung mendeteksi MRSA dengan mikroskop pada GPCC yang positif. Metode ini merupakan diagnosis cepat untuk MRSA dan dapat menentukan terapi yang tepat. Beberapa metode ini menggunakan dasar gel dan *real-time* PCR, penyelidikan DNA, serta penyelidikan asam nukleat peptida (*peptide nucleic acid*) (Biantoro, 2008).

Kelemahan metode ini adalah memerlukan alat-alat khusus dan seorang yang sudah ahli. Salah satu alat yang menggunakan metode ini adalah "EVIGENE kit" (*Staten Serum Institut*, Kopenhagen, Denmark). Alat ini berdasarkan pada *colorimetric gene probe hybridization assay* untuk spesifik stafilocokus 16S rRNA, *mecA* dan *nuc* gen dalam bentuk strip. Alat ini dapat mengidentifikasi MRSA pada kultur darah positif dalam 7 jam, tanpa memerlukan kultur konvensional atau kemungkinan adanya kontaminasi silang seperti pada PCR (Biantoro, 2008).

- Identifikasi MRSA dari aspirasi endotrakhea dan sample klinik lainnya

Alat yang dapat mendeteksi kolonisasi MRSA di saluran nafas bagian atas dan bawah secara cepat dan spesifik sangat penting digunakan pada pasien-pasien sakit parah dengan ventilator mekanik di ICU. Prosedur alat ini berdasar pada PCR multipleks dengan target di gen *femA* dan *mecA* dari aspirasi endotrakhea (Biantoro, 2008).

2.2.6 Faktor Risiko

Infeksi MRSA bisa terjadi dimanapun dan kapanpun. Dulu infeksi MRSA terjadi pada pasien yang menjalani rawat inap, namun sekarang infeksi bisa terjadi di masyarakat. Faktor risiko terbesar adalah luka terbuka pada kulit (misal tempat pembedahan). Meskipun begitu, infeksi juga bisa terjadi pada kulit yang tertutup. MRSA lebih mudah menginfeksi pasien yang sakit dengan sistem imun

yang rendah, pasien yang menjalani pembedahan, atau pasien yang memakai kateter. Pada pasien-pasien ini, infeksi cenderung lebih berat (CDC, 2010).

Selain itu, penjenguk pasien MRSA juga perlu berhati-hati, karena penularan bisa terjadi baik melalui kontak langsung maupun tak langsung. Penjenguk harus menghindari menyentuh kateter atau bagian pasien yang terluka dan harus mencuci tangan sebelum meninggalkan ruangan pasien yang terinfeksi (CDC, 2010).

Tabel 2.1 Faktor Risiko Infeksi MRSA (Biantoro, 2008)

Faktor-faktor <i>community-acquired</i> atau tempat khusus
<ul style="list-style-type: none"> • Kondisi tempat tinggal yang berdesakan dan kumuh (penjara, barak militer, penampungan gelandangan) • Populasi (penduduk kepulauan pasifik, asli Alaska, asli Amerika) • Kontak olahraga (sepakbola, rugby, gulat) • Laki-laki yang berhubungan seks dengan laki-laki • Berbagi handuk, alat-alat olahraga, barang-barang pribadi • Higiene personal yang buruk
Faktor-faktor <i>hospital-acquired</i> atau tradisional
<ul style="list-style-type: none"> • Perawatan di rumah sakit sebelumnya (dalam 1 tahun terakhir) • Dilakukan operasi sebelumnya (rawat inap atau rawat jalan dalam 1 tahun terakhir) • Riwayat abses yang rekuren, folikulitis, furunkulosis atau infeksi kulit lainnya • Riwayat infeksi kulit yang rekuren dalam keluarga atau yang tinggal bersama • Terbukti secara laboratorium adanya kasus MRSA dalam keluarga atau yang tinggal bersama • Tinggal di fasilitas perawatan jangka lama atau kontak dengan penghuninya berkali-kali • Pengguna obat intavena • Terpasang kateter • Kondisi medis (misalnya diabetes, HIV, gagal ginjal)

2.2.7 Manifestasi Klinik dan Penyakit

Manifestasi klinik MRSA dan *Staphylococcus aureus* tidak berbeda. Bakteri ini dapat menyerang seluruh tubuh. Bentuk klinisnya tergantung dari bagian tubuh yang terkena infeksi (Dzen dkk., 2010). Manifestasi klinik yang ditimbulkan diantaranya sebagai berikut:

- Pada kulit: furunkel, impetigo, dan *scalded skin syndrome*
- Pada kuku: paronikhia
- Pada tulang: osteomielitis
- Pada sistem pernapasan: tonsilitis, bronkhitis dan pneumonitis
- Pada otak: meningitis dan ensefalitis
- Pada traktus urogenitalis: sistitis dan pielitis
- *Toxic shock syndrome* yaitu suatu keadaan ditandai dengan panas mendadak, diare, syok, *diffuse maculo erythematous rash*, hiperemi pada konjungtiva, orofaring dan membran mukus vagina. Terutama timbul pada wanita yang mengalami menstruasi dan berhubungan dengan pemakaian tampon.
- Keracunan makanan terjadi akibat menelan makanan yang telah terkontaminasi dengan enterotoksin staphylococcus. Jenis keracunan makanan seperti ini disebut tipe toksik. Masa inkubasi singkat (2-6 jam) dan gejala yang timbul biasanya muntah dan diare, tetapi biasanya dapat sembuh spontan (dalam 24-36 jam).

Dari bentuk klinis diatas yang sering menimbulkan kematian adalah:

- Septisemia
- Endokarditis
- Ensefalitis

- *Toxic syok syndrome* (Dzen dkk., 2010).

2.2.8 Diagnosis Laboratorium

Bahan pemeriksaan yang diambil tergantung pada bentuk klinisnya, misalnya eksudat (pus), sputum, feses, urine, dll. Dari bahan-bahan tersebut dilakukan hal-hal berikut:

- a. Hapusan langsung dengan pewarnaan Gram
- b. Perbenihan pada medium: *Blood Agar Plate* (BAP) atau pada medium selektif *Manitol Salt Agar* (MSA), kemudian dari koloni yang tumbuh dilakukan pewarnaan Gram
- c. Tes biokimia untuk keperluan:
 - Identifikasi
Dengan tes katalase yang memberikan hasil positif untuk membedakannya dengan streptokokus yang memberikan hasil negatif
 - Tes Patogenisitas
Untuk ini dilakukan sesuai kemampuan laboratorium, dapat berupa tes koagulase, tes produksi DNase, dan fermentasi manitol
- d. Penentuan tipe bakteriofaga

2.2.9 Epidemiologi

Di negara-negara Eropa barat, Jepang, dan Amerika Serikat didapatkan data tentang naiknya insiden infeksi karena MRSA selama 10 tahun terakhir. Sebenarnya angka kejadian tersebut tidak hanya di rumah sakit (*Hospital-acquired MRSA*), namun ternyata juga di komunitas masyarakat (*community-acquired MRSA*) melalui pelayanan kesehatan umum didaerah. Di Amerika

Serikat insiden CA MRSA tahun 2001 sampai 2002 mencapai 18-25 kasus per 100.000 penduduk (Nurkusuma, 2009).

Healthcare-associated MRSA (HA-MRSA) oleh *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)* didefinisikan sebagai infeksi MRSA yang terdapat pada individu yang pernah dirawat di rumah sakit atau menjalani tindakan operasi dalam 1 tahun terakhir, memiliki alat bantu medis permanen dalam tubuhnya, bertempat tinggal di fasilitas perawatan jangka panjang, atau individu yang menjalani dialisis (Biantoro, 2008).

HA-MRSA secara tipikal dihubungkan dengan seseorang yang memiliki faktor risiko perawatan di rumah sakit atau panti, dialisis, mendapat terapi antibiotik, atau terpapar oleh alat atau prosedur yang invasif. HA-MRSA memiliki resistensi yang sangat tinggi dan merupakan penyakit nosokomial yang penting. Faktor risiko independen untuk memprediksi infeksi HA-MRSA adalah pada pasien dengan luka operasi, ulkus dekubitus, dan kateter intravena yang sebelumnya telah terkolonisasi. Pasien yang dirawat di ICU (*intensive care unit*) memiliki risiko lebih tinggi untuk timbulnya MRSA dibanding dengan pasien yang dirawat di ruangan biasa (Biantoro, 2008).

Pada awal 1990-an telah muncul MRSA yang didapatkan pada individu yang sebelumnya tidak memiliki faktor risiko yang berhubungan dengan MRSA. Keadaan ini disebut sebagai *community-associated MRSA (CA-MRSA)*. Secara genetik dan fenotipe strain HA-MRSA berbeda dengan strain CA-MRSA. CA MRSA memiliki komposisi yang lebih kecil, mengalami kejadian virulensi yang lebih tinggi, dan jarang terjadi *multidrug resistant* pada antimikroba non β -laktam (misalnya terhadap tetracyclin, trimetoprim-sulfametoksazol [TMP-SMX], rifampin, clindamycin, dan fluoroquinolone) (Biantoro, 2008).

2.3 Antimikroba

2.3.1 Asal Obat Antimikroba

Berdasarkan cara memperoleh obat antimikroba, diketahui ada beberapa jenis golongan antimikroba.

- Antimikroba Sintetik

Antimikroba ini secara kimiawi dibuat di laboratorium, beberapa buku menyebut obat ini dengan kemoterapeutika. Contoh golongan sulfonamid, INH (*isonicotinic acid hydrazid*), dan kuinolon (Dzen dkk., 2010).

- Antimikroba Alamiah

Sejak abad ke-19 diketahui adanya penghambatan pertumbuhan suatu spesies mikroba yang satu oleh spesies mikroba yang lainnya oleh karena produk atau metabolit yang dihasilkan oleh suatu jenis mikroorganisme. Bahan metabolit yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme lain disebut antibiotika dan cara kerjanya disebut antibiosis. Contoh penisilin, tetrasiklin, eritromisin, dll. (Dzen dkk., 2010).

- Antimikroba Semisintetik

Obat ini diperoleh dengan cara melakukan modifikasi rumus kimia dari senyawa alamiah. Hal ini bertujuan untuk memperluas spektrum, menurunkan toksisitas, meningkatkan stabilitas, atau memperbaiki farmakokinetik. Contoh ampisilin dan metisilin (Dzen dkk., 2010).

2.3.2 Mekanisme Kerja Obat Antimikroba

Obat antimikroba memiliki susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda antara obat satu dengan lainnya, antara lain:

- Menghambat sintesis dinding sel (Penisilin, sefalosporin, karbapenem, dll.)
- Merusak membran sel (polimiksin B, amfoterisin B, senyawa azol)

- Menghambat sintesis protein (kloramfenikol, linkomisin, eritromisin, dll)
- Menghambat sintesis asam nukleat (asam nalidiksat, siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasin, mitomisin)
- Sebagai antagonis metabolit (sulfonamid, trimetoprim, pirimetamin)(Dzen dkk., 2010).

2.3.3 Resistensi Mikroba Terhadap Antimikroba

Terjadinya resistensi bakteri terhadap obat dapat dibagi menjadi dua yaitu non genetik dan genetik.

a) Resistensi Non-Genetik

Hampir semua obat antimikroba bekerja dengan baik pada masa pembelahan sel bakteri, sehingga bakteri yang tidak aktif membelah pada umumnya resisten terhadap obat. Mikroba juga dapat menghilangkan struktur target pada generasinya, contohnya bakteri yang tidak memiliki dinding sel (*L-form*) akan resisten terhadap obat yang bekerja pada dinding sel. Mikroba yang menginfeksi di bagian tubuh yang tidak dapat dicapai oleh obat akan resisten terhadap obat antimikroba, contohnya resistensi *Salmonella typhi* oleh karena bakteri tersebut berada di dalam sel (Dzen dkk., 2010).

b) Resistensi Genetik

Dibedakan menjadi dua yaitu kromosomal dan ekstrakromosomal.

- Resistensi kromosomal terjadi karena mutasi spontan akibat mekanisme seleksi terhadap supresi oleh obat. Mutasi spontan terjadi dengan frekuensi sekitar 10^{-12} sampai 10^{-7} (Dzen dkk., 2010).
- Resistensi ekstrakromosomal terjadi dengan pemindahan materi genetik (plasmid) yang bisa terjadi antar bakteri atau terjadi dalam

satu sel bakteri melalui beberapa mekanisme: transduksi, transformasi, konjugasi, dan transposisi (Dzen dkk., 2010).

Mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap obat antimikroba, antara lain:

- Memproduksi enzim yang merusak obat
- Mengubah permeabilitas membran selnya
- Mengubah struktur target terhadap obat
- Mengembangkan jalan metabolisme baru
- Mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya tapi tidak dipengaruhi oleh obat
- Memperbesar produksi bahan metabolit (Dzen dkk., 2010).

2.3.4 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji kepekaan bakteri terhadap antimikroba secara *in vitro* diperlukan untuk membantu para klinisi untuk memberikan pengobatan yang sesuai. Pada dasarnya uji kepekaan antimikroba dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu:

- **Metode Dilusi**

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan yaitu metode dilusi tabung dan metode dilusi agar. Prinsip dari metode ini adalah menanam bakteri uji pada media cair atau agar. Pada metode dilusi tabung, obat diencerkan secara serial dan ditambahkan biakan bakteri dengan kepadatan 10^6 CFU/ml. Lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, setelah itu diamati kekeruhannya. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang menampilkan kejernihan pada hasil biakan (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM (Kadar Hambat Minimum). Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasi pada biakan media agar padat, diinkubasi, keesokannya diamati ada

tidaknya koloni yang tumbuh. KBM (Kadar Bunuh Minimum) adalah kadar agen antimikroba terendah yang menunjukkan pertumbuhan bakteri $< 0,1\%$ dari inokulum asal. Metode dilusi agar tidak bisa digunakan untuk menentukan nilai KBM, sedangkan metode dilusi tabung bisa digunakan untuk menentukan KHM dan KBM (Baron, 1986).

- **Metode Difusi Cakram (*disk diffusion test*)**

Pada uji *in vitro* ini digunakan cakram kertas yang mengandung antimikroba tertentu dengan konsentrasi tertentu pula. Prinsip dari metode ini yaitu antimikroba dijenuhkan ke dalam cakram kertas kemudian cakram kertas tersebut diletakkan pada medium perbenihan agar padat yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian diamati zona jernih sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen dkk., 2010).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut, dapat dilakukan melalui dua cara yaitu :

- a. *Cara Kirby Bauer*

Prinsip dari cara *Kirby Bauer* ini adalah dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan menggunakan tabel standar yang dibuat oleh *NCCLS (National Committee Centre for Laboratory Standard)*. Dengan tabel *NCCLS* ini dapat diketahui apakah bakteri uji tersebut masuk dalam kriteria sensitif, sensitif sedang atau resisten (Dzen dkk., 2010).

- b. *Cara Joan-Stokes*

Prinsip dari cara *Joan-Stokes* ini adalah dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap antimikroba tersebut dengan bakteri yang akan diuji.

Pada cara ini, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu cawan petri (Dzen dkk., 2010).

2.4 Tanaman Sukun (*Artocarpus altilis*)



Gambar 2.2 Pohon Sukun (*Artocarpus altilis*) (Ragone, 2006)

Tanaman sukun, *Artocarpus altilis* Park. dapat digolongkan menjadi sukun yang berbiji disebut *breadnut* dan yang tanpa biji disebut *breadfruit*. Sukun tergolong tanaman tropik sejati, tumbuh paling baik di dataran rendah yang panas. Tanaman ini tumbuh baik di daerah basah, tetapi juga dapat tumbuh di daerah yang sangat kering asalkan ada air tanah dan aerasi tanah yang cukup. Sukun bahkan dapat tumbuh baik di pulau karang dan di pantai. Di musim kering, disaat tanaman lain tidak dapat atau merosot produksinya, justru sukun dapat tumbuh dan berbuah dengan lebat (Koswara, 2006).

Di Indonesia, daerah penyebaran hampir merata di seluruh daerah, terutama Jawa Tengah dan Jawa Timur. Mengingat penyebaran sukun terdapat di sebagian besar kepulauan Indonesia, serta jarang terserang hama dan penyakit yang membahayakan, maka hal ini memungkinkan sukun untuk dikembangkan. Pohon sukun mulai berbuah setelah berumur lima sampai tujuh tahun dan akan terus berbunga hingga umur 50 tahun. Produktivitasnya cukup tinggi. Dalam satu tahun akan diperoleh buah sukun sebanyak 400 buah pada umur 5 sampai 6 tahun, dan 700 – 800 buah per tahun pada umur 8 tahun (Koswara, 2006).

2.4.1 Taksonomi

Taksonomi tanaman sukun yaitu:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Urticales
Famili	: Moraceae
Genus	: <i>Artocarpus</i>
Species	: <i>Artocarpus altilis</i> (Ramadhani, 2009)

Setiap negara memiliki nama yang berbeda untuk tanaman sukun. Diantaranya yaitu Beta (Vanuatu), Bia, Bulu, Nimbalu (P. Solomon), Breadfruit (Inggris), Kapiak (Papua Nugini), Kuru (P. Cook), meduu (Palau), Mos (Kosrae), 'ulu (Hawaii), buco (Fiji), Rimas (Filipina), *Árbol a pan* (Spanyol), dan *l'arbre à pan* (Prancis) (Ragone, 2006).

2.4.2 Morfologi

Tanaman sukun berupa pohon dengan tinggi rata-rata \pm 12-15 m, bila usia lebih bisa mencapai 21 m. Batangnya besar, agak lunak dan bergetah banyak dengan permukaan batang kasar. Diameter batang bisa mencapai 2 m, dan tumbuh tinggi hingga 4 m atau lebih sebelum bercabang (Ragone, 2006).



Gambar 2.3 Buah dan Daun Sukun (Ragone, 2006)

Daun lebar menjari dan berbulu kasar. Tersusun berseling dengan panjang \pm 50-70 cm dan lebar 25-50 cm. Pertulangannya menyirip tebal dan daun berwarna hijau. Bunga-bunga sukun berkelamin tunggal, tetapi berumah satu. Bunga keluar dari ketiak daun di ujung cabang dan ranting. Bunga jantan berbentuk tongkat panjang disebut ontel, panjang 10-20 cm berwarna kuning. Bunga wanita berbentuk bulat bertangkai pendek seperti pada nangka (*Artocarpus heterophyllus*) (Ramadhani, 2009).

Buah sukun terbentuk dari keseluruhan jambak bunganya. Buahnya terbentuk bulat atau oval dengan diameter 9-30 cm (Ragone, 2006). Berat buah sukun antara 1-3 kg. Kulit buah sukun berwarna hijau kekuningan dan terdapat

segmen-segmen petak berbentuk poligonal. Segmen poligonal ini dapat menentukan tahap kematangan buah sukun. Poligonal yang lebih besar menandakan buahnya telah matang, namun bila segmen poligonal lebih kecil dan padat menandakan buah belum matang. Buah sukun mirip dengan buah kluwih (*Artocarpus communis*). Perbedaannya adalah duri buah sukun tumpul, bahkan tidak tampak pada permukaan buahnya. Biji buah sukun berbentuk ginjal dengan panjang 3-5 cm dan berwarna hitam (Ramadhani, 2009).

Tanaman sukun mempunyai akar tunggang yang dalam dan akar samping yang dangkal. Akar samping dapat tumbuh tunas yang sering digunakan untuk bibit (Ramadhani, 2009).

2.4.3 Kandungan

2.4.3.1 Kandungan Nutrisi

**Tabel 2.2 Komposisi kimia dan zat gizi buah sukun per 100 gram buah
(Considine, 1982 dalam Koswara, 2006)**

Unsur-unsur	Sukun muda	Sukun masak
Air (g)	87,1	69,1
Kalori (kal)	46	108
Protein (g)	2,0	1,3
Lemak (g)	0,7	0,3
Karbohidrat (g)	9,2	28,2
Kalsium (mg)	59	21
Fosfor (mg)	46	59
Besi (mg)	-	0,4
Vitamin B1 (mg)	0,12	0,12
Vitamin B2 (mg)	0,06	0,06
Vitamin C (mg)	21	17
Abu (g)	1,0	0,9
Serat (g)	2,2	-

Sukun mempunyai komposisi gizi yang relatif tinggi. Dalam 100 gram berat basah sukun mengandung karbohidrat 35,5%, protein 0,1%, lemak 0,2%, abu 1,21%, fosfor 0,048%, kalsium 0,21%, besi 0,0026%, kadar air 61,8% dan serat 2%. Buah sukun yang matang cukup bagus sebagai sumber vitamin A dan B kompleks tetapi miskin vitamin C. Komposisi kimia buah sukun yang muda dan tua atau masak dapat dilihat pada tabel di bawah ini (Koswara, 2006).

2.4.3.2 Kandungan Non-Nutrisi

Buah *A. altilis* mengandung senyawa triterpenoid tetrasiklik dengan kerangka sikloartan yaitu sikloartenol (Altman, 1976 dalam Rostinawati dkk., 2009). Bunga *A. altilis* mengandung senyawa kelompok piranoflavon sikloartilisin dan kudraflavon A (Chen, 1993 dalam Rostinawati dkk., 2009). Dalam akar *A. altilis* ditemukan senyawa sikloartobilosanton (Sultanbawa, 1989 dalam Rostinawati dkk., 2009). Dari kulit akar *A. altilis* yang terdapat di Indonesia telah diisolasi senyawa artonol B. Senyawa fenolik turunan 2-arilbenzofuran yang ditemukan pada tumbuhan *Artocarpus* yaitu artoindonesianin Z telah berhasil diisolasi dari bagian kayu akar *A. altilis* (Hakim, 2001 dalam Rostinawati dkk., 2009). Berdasarkan hasil skrining fitokimia, daun tanaman sukun mengandung flavonoid, tanin, polifenol, saponin, steroid/triterpenoid, dan kuinon (Rostinawati dkk., 2009).

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol yang terbesar. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur senyawa flavonoida, yaitu flavonoida (1,3-

diarilpropana), isoflavonoida (1,2-diarilpropana), dan neoflavonoida (1,1-diarilpropana). Flavonoida dapat ditemukan sebagai mono-, di- atau triglikosida dimana satu, dua atau tiga gugus hidroksil dalam molekul flavonoid terikat oleh gula. Poliglikosida larut dalam air dan sedikit larut dalam pelarut organik seperti eter, benzen, kloroform, dan aseton (Lenny, 2006).

Tanin adalah senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Senyawa tanin dibagi menjadi dua yaitu tanin terhidrolisis dan tanin yang terkondensasi. Tanin terhidrolisis biasanya berikatan dengan karbohidrat membentuk jembatan oksigen, sehingga bisa dihidrolisis dengan menggunakan asam sulfat atau asam klorida. Tanin terkondensasi terdiri dari polimer flavonoid yang bila dikondensasi menghasilkan flavonoid jenis flavan dengan bantuan nukleofil berupa floroglusinol (Hagerman, 2002 dalam Novianti, 2010). Tanin bila dilarutkan ke dalam air membentuk koloid dengan rasa asam dan sepat. Senyawa ini merupakan senyawa kompleks dalam bentuk cairan polifenol yang sukar mengkristal. Senyawa fenol dalam tanin mempunyai aksi adstrigensia, antiseptic, dan pemberi warna (Najebb, 2009 dalam Novianti, 2010).

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Saponin larut dalam air tapi tidak larut dalam eter. Saponin mengandung gugus gula terutama glukosa, galaktosa, xylosa, rhamnosa atau methylpentosa yang berikatan dengan suatu aglikon hidrofobik (sapogenin) berupa triterpenoid, steroid atau steroid alkaloid. Saponin mempunyai aktivitas farmakologis yang sangat berguna antara lain anti kolesterol, antimikroba, dan antikanker (Suparjo, 2008).

Polifenol merupakan senyawa yang memiliki subkomponen berupa fenol. Polifenol dibagi menjadi tiga jenis berdasarkan unit dasarnya yaitu asam galic (asam gallat), flavon (epicatechin), dan asam sinamat (lignin). Bila dilihat dari subkomponen fenolnya, maka dibagi menjadi enam golongan utama yaitu fenol (capsaisin), pyrocatecol (ecatechin), pyrogallol (myricetin), resorsinol (resveratrol), phloroglusinol dan hydroquinon. Polifenol bisa melakukan reaksi esterifikasi karena adanya gugus $-OH$ dan oksidasi menjadi senyawa keton (Novianti, 2010).

Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari enam unit isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualen. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Terpenoida dapat digolongkan menjadi empat golongan, yaitu triterpena, steroida, saponin, dan glikosida jantung. Triterpena dikenal karena rasanya, terutama rasa pahit. Triterpena dalam tumbuhan berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba (Harborne, 1987).

2.4.4 Keamanan Penggunaan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tjandrawati dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), telah dilakukan uji daya toksisitas dari ekstrak daun sukun. Uji toksisitas subkronis dilakukan selama 90 hari pada tikus putih galur Sprague. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak etil asetat daun sukun dengan dosis bervariasi, yakni dosis uji 83,33 mg/kg berat badan per hari, 166,65 mg/kg berat badan per hari, dan 333,35 mg/kg berat badan per hari tidak memengaruhi fungsi jantung, ginjal, hati ataupun profil darah (Permanasari, 2010).

Selain itu, uji toksisitas akut pada mencit ICR jantan dan betina menggunakan dosis tinggi total flavonoid 4,5 g/kg berat badan dan Beta-sitoserol 2,5 g/kg berat badan tidak menunjukkan penurunan berat badan, bahkan berat badan cenderung naik. Observasi terhadap perilaku hewan uji selama eksperimen seperti bagaimana hewan uji berjalan, makan, minum serta dan kecerahan mata dan bulu juga tidak menunjukkan tanda-tanda keracunan (Permanasari, 2010).

2.4.5 Potensi Pemanfaatan Sukun dalam Pengobatan

Hampir seluruh bagian tanaman sukun dapat dimanfaatkan untuk keperluan hidup manusia. Daun sukun yang sudah kering dapat dibuat minuman untuk obat penyakit tekanan darah tinggi dan kencing manis, karena mengandung *phenol*, *quercetin* dan *champorol* dan juga dapat digunakan sebagai bahan ramuan obat penyembuh kulit yang bengkak atau gatal. Ada juga yang memanfaatkan batangnya untuk obat mencairkan darah bagi wanita yang baru 8-10 hari melahirkan. Zat-zat yang terkandung di daunnya pun juga mampu untuk mengatasi peradangan (Ramadhani, 2009).

2.5 Metode Ekstraksi Bahan Aktif dari Bahan Alam

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Pemikiran metode ekstraksi senyawa bukan atom dipergunakan oleh beberapa faktor, yaitu sifat jaringan tanaman, sifat kandungan zat aktif serta kelarutan dalam pelarut yang digunakan. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar dalam senyawa non polar. Secara umum ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksan), lalu pelarut

kepolarannya menengah (diklor metan atau etilasetat) kemudian pelarut bersifat polar (metanol atau etanol) (Harborne, 1987).

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan penyulingan uap air dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet (Ditjen POM, 2000).

a. Ekstraksi Panas

- Ekstraksi secara refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Ditjen POM, 2000).

- Ekstraksi secara penyulingan

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka penyari dilakukan dengan penyulingan (Ditjen POM, 2000).

b. Ekstraksi Dingin

- Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur

kamar. Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya yakni cara pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna (Ditjen POM, 2000).

- Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Untuk menentukan akhir dari pada perkolasi dapat dilakukan pemeriksaan zat secara kualitatif pada perkolat akhir (Ditjen POM, 2000).

- Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan menggunakan alat soxhlet sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Ditjen POM, 2000).

2.6 Hubungan Tanaman Sukun (*Artocarpus altilis*) dengan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Seperti yang telah dibahas sebelumnya, Daun sukun mengandung flavonoid, tanin, polifenol, saponin, steroid/triterpenoid, dan kuinon (Rostinawati dkk., 2009). Zat-zat tersebut bisa digunakan sebagai antimikroba dan memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda.

Aktivitas antibakteri flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat adhesin, membentuk kompleks dengan protein

ekstraseluler dan terlarut, dan juga membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta sifat lipofilik flavonoid dapat merusak membran bakteri. Tannin bekerja dengan cara berikatan pada adhesin faktor pada bakteri dan membentuk kompleks dengan polisakarida dinding sel bakteri, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut (Cowan, 1999). Selain itu sifat tannin yang dapat membentuk kompleks dengan ion logam menyebabkan tannin bersifat toksik bagi membran mikroba (Akiyama, 2001). Saponin dapat menghambat sintesis enzim esensial yang diproduksi mikroba dan menghancurkan membran sel (Rosyidah, 2010). Selain itu, terdapat Steroid/Triterpenoid yang diduga sifat lipofiliknya mampu merusak membran sel (Jasmine, 2011).

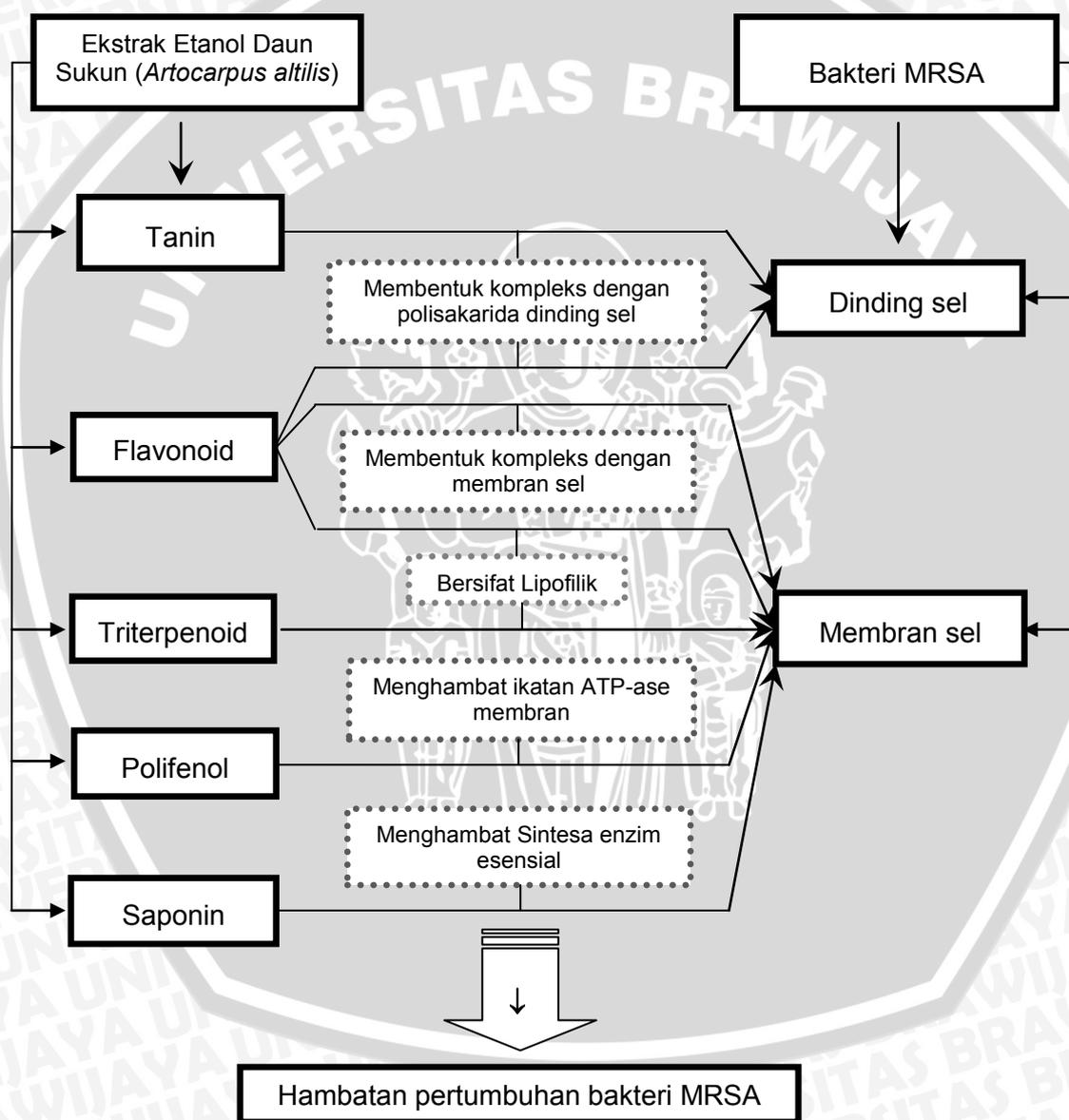
Mekanisme antibakteri polifenol antara lain adalah dengan cara :

- Mengganggu pembentukan dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah, molekul fenol lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein dan dapat larut pada fase lipid dari membran bakteri.
- Bereaksi dengan membran sel. Komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Kunaepah, 2008).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan: : Mekanisme kerja

Ekstrak etanol daun sukun mengandung flavonoid, tanin, polifenol, saponin, steroid/triterpenoid, dan kuinon (Rostinawati dkk., 2009). Zat-zat tersebut bisa digunakan sebagai antimikroba dan memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda. Aktivitas antibakteri flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat adhesin, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan juga membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta sifat lipofilik flavonoid dapat merusak membran bakteri. Tannin bekerja dengan cara berikatan pada adhesin faktor pada bakteri dan membentuk kompleks dengan polisakarida dinding sel bakteri, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut (Cowan, 1999). Selain itu sifat tannin yang dapat membentuk kompleks dengan ion logam menyebabkan tannin bersifat toksik bagi membran mikroba (Akiyama, 2001). Saponin dapat menghambat sintesis enzim esensial yang diproduksi mikroba dan menghancurkan membran sel (Rosyidah, 2010). Selain itu, terdapat Steroid/Triterpenoid yang diduga sifat lipofiliknya mampu merusak membran sel (Jasmine, 2011).

Mekanisme antibakteri polifenol antara lain adalah dengan cara :

- Mengganggu pembentukan dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah, molekul fenol lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein dan dapat larut pada fase lipid dari membran bakteri.
- Bereaksi dengan membran sel. Komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Kunaepah, 2008).

3.2 Hipotesa

Ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) memiliki efek antimikroba terhadap MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) secara *in vitro*.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *True experimental – Post test only Control Group Design* dengan menggunakan metode dilusi tabung untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai antimikroba terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. *Tube dilution test* meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada medium cair untuk menentukan KHM dan tahap *streaking* pada media *NAP* untuk mengetahui KBM.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret hingga Juli 2012 di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi

Populasi adalah keseluruhan dari individu dalam penelitian ini, yaitu bakteri MRSA.

4.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri MRSA didapat dari sediaan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.4 Estimasi Jumlah Pengulangan

Besarnya konsentrasi yang digunakan, ditetapkan melalui eksperimen pendahuluan. Pada penelitian ini digunakan 5 konsentrasi ekstrak etanol daun Sukun yang berbeda, serta 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif, maka jumlah pengulangan yang dipakai dalam penelitian ini dihitung dengan rumus sebagai berikut (Solimun, 2001 dalam Rahmawati, 2010):

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

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14 \approx 4$$

Keterangan : n = jumlah pengulangan
p = jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak etanol daun Sukun)

Jadi jumlah pengulangan yang perlu dilakukan pada penelitian ini paling sedikit 4 kali.

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) adalah hasil ekstrak dari daun Sukun yang berasal dari lingkungan sekitar di Malang, Indonesia dan menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi. Daun Sukun yang digunakan adalah yang berwarna hijau.

4.5.2 Konsentrasi ekstrak daun Sukun yang dipakai dalam penelitian ini adalah konsentrasi awal sebelum ditambahkan 1 ml bakteri MRSA

4.5.3 MRSA yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang yaitu berasal dari penderita *Staphylococcus aureus* yang dites resistensinya dengan Cefoxitin 30 μ g

discs pada agar (Santosaningsih, 2008), CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) merekomendasikan penggunaan cefoxitin ketimbang oxacillin ketika menggunakan metode difusi cawan untuk menentukan resistensi terhadap methicillin untuk *Staphylococcus aureus* karena lebih mudah diinterpretasi sehingga lebih sensitif untuk pendeteksian resistensi berperantara *mecA*. Titik maksimum resistensi dan kerentanan yang direkomendasikan untuk uji cawan cefoxitin 30- μ g adalah ≥ 22 mm (Masdin, 2010).

4.5.4 Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji (MRSA), yaitu dengan penampakan yang jernih pada biakan, setelah diinkubasikan selama 18-24 jam. Kejernihan larutan ekstrak etanol daun Sukun ini dikonfirmasi dengan larutan kontrol bahan yang terdiri dari ekstrak etanol daun Sukun sebanyak 2 ml.

4.5.5 Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol daun Sukun yang mampu membunuh bakteri uji (MRSA), yaitu tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba setelah biakan yang jernih diinokulasikan ke medium agar padat yang nantinya diinkubasi dan kemudian diamati keesokan harinya, atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum*/OI) pada medium NAP yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose.

4.5.6 Kontrol positif yaitu tabung dengan konsentrasi 0% ν atau tanpa larutan ekstrak daun Sukun.

4.5.7 Kontrol negatif yaitu tabung dengan konsentrasi 100% v/v atau dengan larutan ekstrak daun Sukun saja.

4.5.8 *Original inoculum* adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL yang diinokulasikan pada media agar padat sebelum diinkubasi dan digunakan untuk mencari kategori KBM.

4.6 Variabel Penelitian

4.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun Sukun dengan konsentrasi 0,2% v/v ; 0,4% v/v ; 0,6% v/v ; 0,8% v/v ; dan 1% v/v .

4.6.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kekeruhan pada tabung untuk menentukan KHM dan jumlah koloni MRSA pada media agar padat untuk menentukan KBM.

4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Untuk Pembuatan Ekstrak

Alat:

- Oven
- Timbangan Ukur
- Labu erlenmeyer
- Corong gelas
- Kertas saring
- Evaporator set
- *Vacuum pump*
- *Water bath*
- *Water pump*
- Pendinginspiral/rotary evaporator

Bahan:

- Daun Sukun
- Etanol 95%
- Aquades
- Botol hasil ekstrak

4.7.2 Untuk Identifikasi Bakteri

- Biakan murni MRSA
- NAP (*Nutrient Agar Plate*)
- Bahan pengecatan Gram: Kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin
- *Objects glass*, minyak imersi, ose, mikroskop
- Pembakar bunsen

4.7.3 Untuk Pembuatan Bahan Cair Bakteri Kepadatan 10^6 bakteri/ml

- Tabung reaksi
- *Mueller Hinton broth*
- *Pipet steril*
- Larutan NaCl
- Vortex

4.7.4 Untuk Uji Sensitivitas Bakteri Terhadap Antimikroba (Metode Dilusi

Tabung)

- Tabung reaksi dengan label konsentrasi
- Tabung reaksi untuk kontrol bakteri dan ekstrak
- Pipet steril
- Inkubator

- Hasil ekstraksi
- Perbenihan cair bakteri dengan kepadatan 10^6 bakteri/ml
- Aquades
- Vortex

4.7.5 Untuk Uji *Streaking Plate*

- NAP
- Ose
- Pembakar bunsen
- Vortex

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sukun

a. Proses Ekstraksi

150 gram daun Sukun basah dikeringkan dengan dioven pada suhu 80°C selama ± 45 menit. Kemudian daun tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender. Setelah halus, dicampur dengan 0,8 L etanol 96% dalam labu Erlenmeyer ukuran 1 L dan kocok selama 30 menit. Kemudian didiamkan selama ± 12 jam. Etanol 96% yang digunakan untuk merendam, diganti beberapa kali sampai air ekstrak jernih. Kemudian hasil ekstraksi siap dievaporasi.

b. Proses Evaporasi

Evaporator set dipasang pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan $30-40^{\circ}$ terhadap meja dengan susunan dari bawah ke atas alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator* dan tabung pendingin. Tabung pendingin dihubungkan dengan pompa sirkulasi air dingin

yang terhubung dengan bak penampung air dingin melalui pipa plastik. Tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan penampung hasil penguapan.

Hasil ekstraksi dimasukkan dalam labu penampung sedangkan *rotary evaporator*, lat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum dinyalakan. Pemanas akuades juga dinyalakan sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi mendidih dengan suhu 80° C (sesuai titik didih etanol) dan etanol mulai menguap. Hasil penguapan etanol dikondensasikan menuju labu penampung etanol sehingga tidak tercampur hasil evaporasi dan uap lain tersedot pompa vakum.

Proses evaporasi dilakukan hingga volume hasil ekstraksi berkurang dan menjadi kental. Setelah kental, evaporasi dihentikan dan hasil evaporasi diambil. Hasil evaporasi ditampung dalam cawan penguap kemudian di oven selama 2 jam pada suhu 80° C untuk menguapkan etanol yang tersisa sehingga didapatkan hasil ekstrak etanol 100%.

4.8.2 Identifikasi MRSA

Isolat bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* di NAP diidentifikasi ulang dengan pewarnaan Gram, dengan cara seperti berikut ini.

Alat dan bahan:

- Biakan bakteri
- Bahan pewarna untuk pewarnaan Gram
- Gelas obyek dan ose
- Air dan kertas penghisap

Prosedur:

- Membuat sediaan hapusan bakteri pada gelas obyek

- Sediaan hapusan dituangi Kristal violet selama 1 menit, kemudian sisa Kristal violet dibuang dan dibilas air
- Sediaan hapusan dituangi lugol selama 1 menit, kemudian sisa lugol dibuang dan dibilas air
- Sediaan hapusan dituangi alkohol 96% selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur, kemudian sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air
- Sediaan hapusan dituangi safranin selama $\frac{1}{2}$ menit kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas air
- Sediaan hapusan dikeringkan menggunakan kertas penghisap
- Setelah kering, diamati di bawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 1000x
- Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang teramati di bawah mikroskop berupa bakteri kokus gram positif.

Selanjutnya, bakteri MRSA ditanam pada medium *MH broth* selama 18-24 jam, kemudian diidentifikasi kembali dengan pengecatan Gram dan uji sensitivitas cefoxitin untuk konfirmasi bakteri yang tumbuh adalah benar MRSA.

4.8.3 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan 10^6 bakteri/ml

- Koloni MRSA pada medium *MH broth* diambil, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *MH broth*
- Tabung reaksi diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- Dilakukan spektrofotometri pada tabung reaksi dengan panjang gelombang (λ) 625 nm untuk mengetahui kepadatan bakteri ($\text{OD} = \text{Optical Density}$) (Balows, 1991 dalam Wijaya 2010).

- Untuk mendapatkan konsentrasi sebesar 10^8 CFU/ml yang setara dengan OD = 0,1 dilakukan perhitungan sebagai berikut:

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

Keterangan :

N_1 = Hasil spektrofotometri

V_1 = Volume bakteri stock

N_2 = OD (0,1 setara dengan 10^8 CFU/ml pada $\lambda = 625$ nm)

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

Dari hasil perhitungan tersebut diperoleh volume bakteri (ml) yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan konsentrasi 10^8 CFU/ml sebanyak 10 ml.

- Dari 10 ml bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml aquades sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^7 CFU/ml.
- Diambil 1 ml larutan dengan konsentrasi bakteri 10^7 CFU/ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml aquades sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^6 CFU/ml.

4.8.4 Uji Sensitivitas Antimikroba

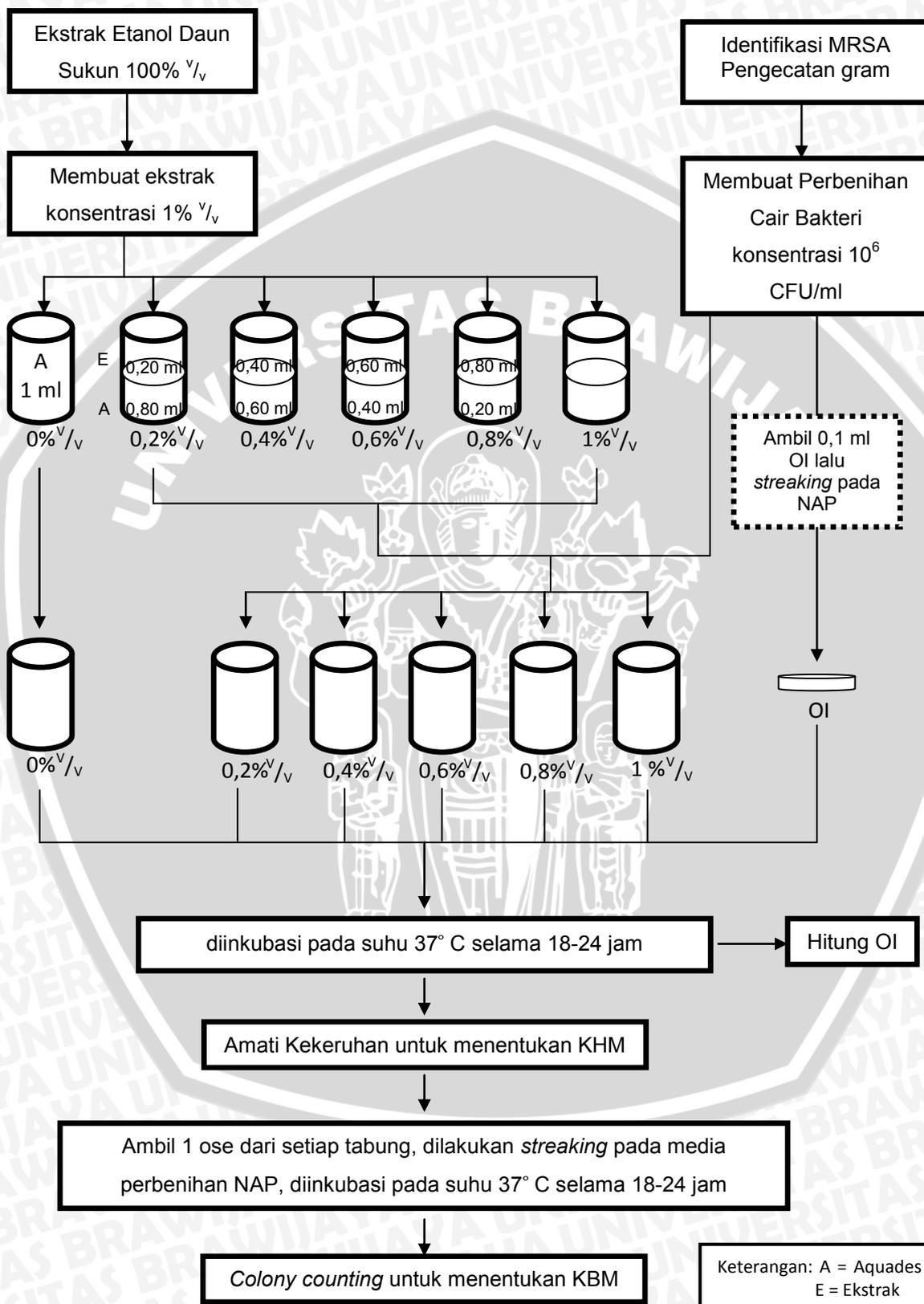
Uji sensitivitas antimikroba terhadap MRSA menggunakan metode dilusi tabung.

Prosedur metode dilusi tabung:

- Masing-masing tabung steril diberi label konsentrasi ekstrak yang telah ditentukan
- Ke dalam masing-masing tabung, dimasukkan 1 ml suspensi bakteri dengan kepadatan 10^6 bakteri/ml

- Sesuai konsentrasi ekstrak yang telah ditentukan, ke dalam masing-masing tabung dimasukkan ekstrak etanol daun Sukun, pada konsentrasi ekstrak tertentu
- Kemudian ditambahkan aquades ke dalam masing-masing tabung sesuai dengan proporsi konsentrasi ekstraknya, pada konsentrasi ekstrak tertentu
- Dengan demikian dalam 1 tabung berisi total larutan sebanyak 2 ml
- 2 tabung masing-masing sebagai kontrol positif (KP) berisi suspensi bakteri tanpa ekstrak, dengan proporsi bakteri 1 ml + aquades 1 ml dan kontrol negatif (KN) berisi konsentrasi ekstrak 100% $\frac{1}{v}$ tanpa biakan maupun aquades
- Semua tabung dieramkan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam
- Keesokan harinya, dari masing-masing tabung diambil sebanyak 1 ose kemudian ditanam (digoreskan) pada NAP, kemudian dieramkan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan esok harinya dilihat ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri.
- Dihitung jumlah koloni bakteri pada NAP untuk masing-masing konsentrasi ekstrak, kemudian dianalisis.

4.8.5 Skema Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh untuk uji statistik adalah data konsentrasi daun Sukun (*Artocarpus altilis*) dan jumlah koloni MRSA. Jika sebaran data normal dan varians sama maka dipilih uji *one way* ANOVA. Jika tidak memenuhi syarat, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya sebaran menjadi normal dan varian menjadi sama. Jika variabel hasil transformasi tidak berdistribusi normal atau varians tetap tidak sama, maka dipilih uji Kruskal-Wallis.

Analisis statistik dilakukan dengan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for windows versi 20.0 dengan signifikansi 0,05 (5%). Hipotesis dilakukan melalui H_0 diterima bila nilai signifikansi yang diperoleh $p > 0,05$, sedangkan H_0 ditolak bila nilai signifikansi yang diperoleh $p < 0,05$. Adapun H_0 dari penelitian ini adalah tidak ada perbedaan efek antibakteri pada pemberian ekstrak etanol daun Sukun antara setiap perlakuan terhadap jumlah koloni bakteri MRSA yang dihasilkan pada medium NAP. Sedangkan H_1 -nya adalah terdapat perbedaan efek entibakteri pada pemberian ekstrak etanol daun Sukun antara setiap perlakuan terhadap jumlah koloni MRSA yang dihasilkan pada medium NAP.

Langkah-langkah dalam *One-Way* ANOVA adalah sebagai berikut:

- a) Memeriksa syarat uji ANOVA untuk > 2 kelompok yaitu
 - Sebaran data harus normal
 - Varian data harus sama
- b) Melakukan Analisis *One-Way* ANOVA, untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri MRSA pada masing-masing perlakuan khususnya yang diakibatkan pemberian ekstrak daun Sukun (*Artocarpus altilis*) (Dahlan, 2008 dalam Rahmawati, 2010).

Bila pada uji ANOVA atau Kruskal-Wallis menghasilkan nilai $p < 0,05$, dilanjutkan dengan analisis *post hoc*. Analisis *post hoc* untuk ANOVA adalah uji Turkey, sedangkan untuk Kuskal-Wallis adalah uji Mann-Whitney. Analisis *post hoc test* bertujuan untuk mengetahui perlakuan mana yang menyebabkan jumlah koloni bakteri MRSA menunjukkan perbedaan yang bermakna dan tidak bermakna.

Setelah itu diteruskan dengan uji korelasi regresi di mana menggunakan uji Spearman atau uji Pearson. Hal tersebut bertujuan mengetahui keeratan hubungan pemberian perlakuan ekstrak etanol daun Sukun dengan jumlah koloni bakteri MRSA serta uji regresi, untuk mengetahui arah hubungan tersebut.



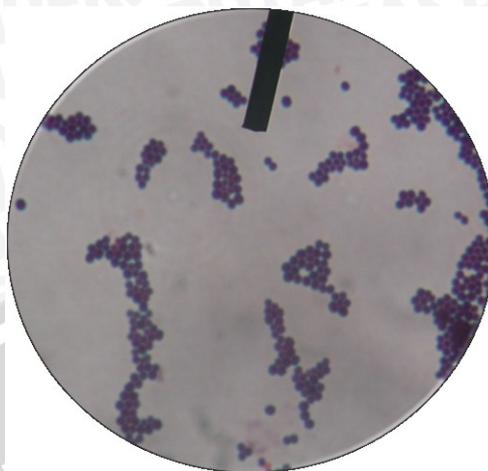
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Penelitian ini menggunakan empat isolat bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, yaitu dengan kode 162-P, 201-P, 281-P dan 285-P, yang keempatnya berasal dari sampel pus penderita infeksi MRSA yang disediakan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum digunakan untuk penelitian, keempat isolat bakteri tersebut terlebih dahulu diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, penanaman pada medium CHROMagar, uji resistensi terhadap methicillin, dan uji katalase. Secara makroskopis, koloni bakteri yang tumbuh pada medium NAP berbentuk bulat dengan tepi rata. Pada pewarnaan gram didapatkan bakteri berwarna ungu (Gram positif) berbentuk coccus. Bakteri juga ditanam pada medium CHROMagar dan diinkubasi selama 18 jam, didapatkan koloni bakteri yang tumbuh berwarna merah muda. Hasil uji sensitifitas terhadap methicillin didapatkan bakteri resisten terhadap methicillin yang ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat pada plate. Sedangkan hasil uji katalase bereaksi positif ditunjukkan dengan adanya gelembung udara setelah bakteri ditetesi H_2O_2 .



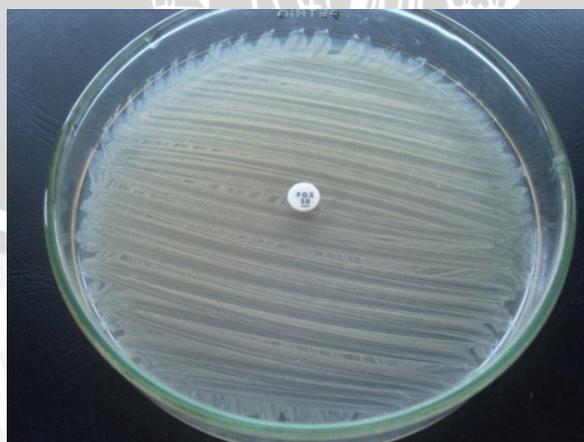
Gambar 5.1 Morfologi MRSA dengan Pengecatan Gram

Koloni bakteri MRSA tampak berbentuk kokus dan berwarna ungu menunjukkan bakteri bersifat Gram positif



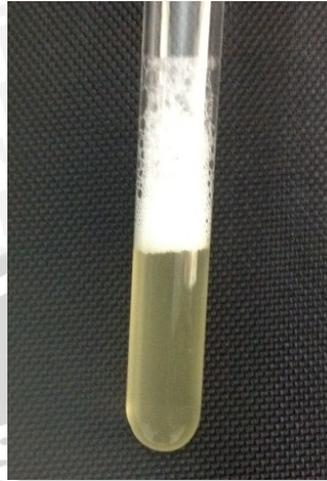
Gambar 5.2 Isolasi MRSA pada medium CHROMagar

Koloni bakteri MRSA yang tumbuh berwarna merah muda pada medium CHROMagar



Gambar 5.3 Uji Resistensi MRSA terhadap Methicillin

Resistensi bakteri ditandai dengan tidak adanya zona hambat



Gambar 5.4 Uji Katalase terhadap MRSA

Hasil uji katalase bereaksi positif ditandai dengan adanya gelembung udara

5.1.2 Menentukan Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum

5.1.2.1 Menentukan Kadar Hambat Minimum

Penelitian ini dikerjakan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak daun Sukun, dengan variasi 0%_v; 0,2%_v; 0,4%_v; 0,6%_v; 0,8%_v; dan 1%_v. Ekstrak daun Sukun berwarna hijau tua berbentuk cair. Setelah ditambahkan bakteri MRSA sebanyak 1 ml dan diinkubasikan selama 18-24 jam kemudian tingkat kekeruhan ekstrak daun Sukun diamati untuk menentukan KHM.



Gambar 5.5 Perbandingan Tingkat Kekeruhan Tiap Konsentrasi Ekstrak Pada Medium MH Broth

Hasil pengamatan tingkat kekeruhan tiap konsentrasi ekstrak dari empat kali pengulangan dapat dilihat pada Tabel 5.1

Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Tingkat Kekeruhan tiap Konsentrasi Ekstrak

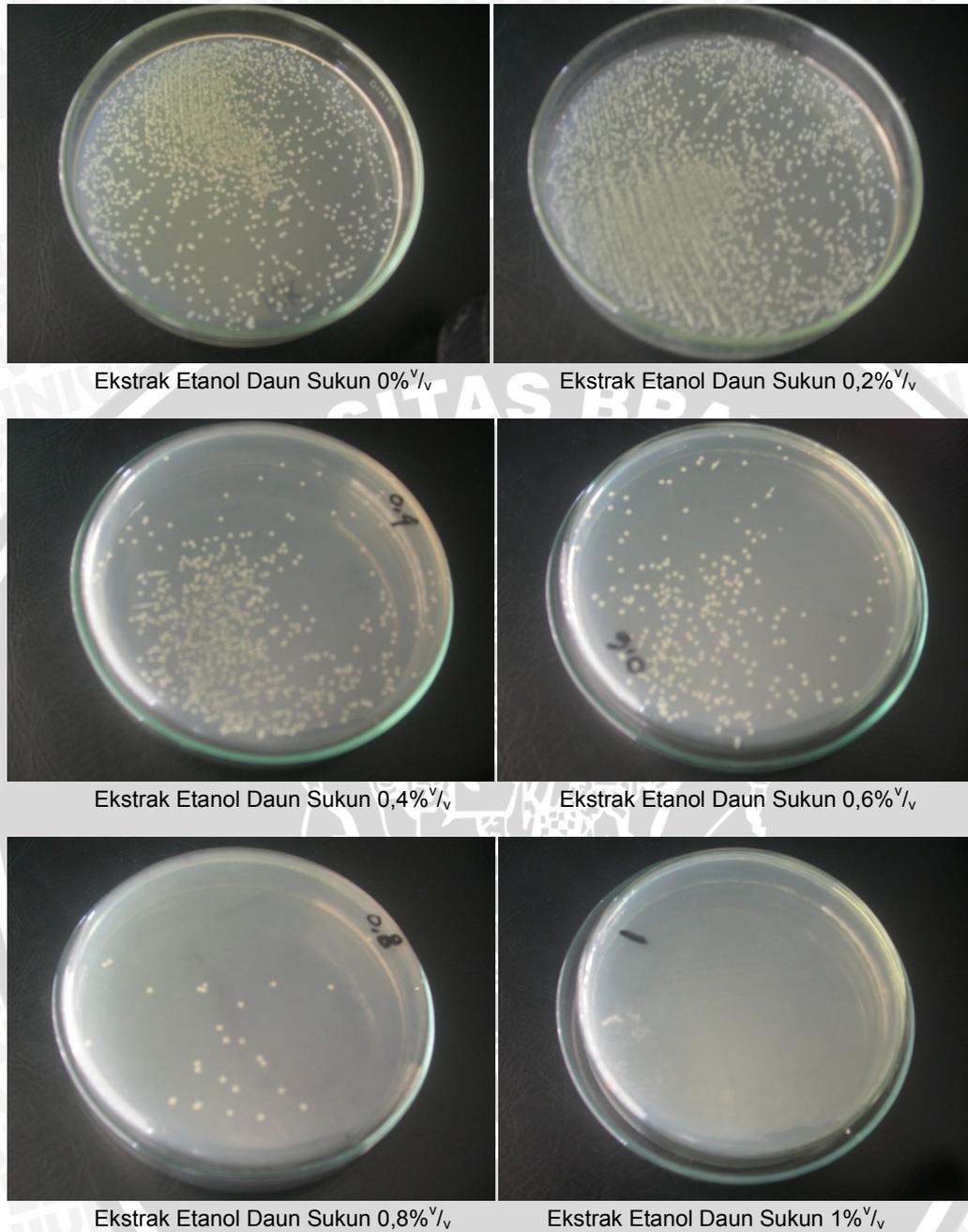
	Pengulangan				Rerata
	1	2	3	4	
KHM	0,60%	0,60%	0,60%	0,60%	0,60% ± 0%

Berdasarkan Gambar 5.5 dapat diamati bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka akan terlihat semakin jernih. Pada keempat pengulangan, ekstrak terlihat jernih pertama kali pada konsentrasi 0,6%_v. Konsentrasi 0,1%_v (Gambar 5.5) digunakan untuk memastikan bahwa jernih pertama memang benar berada pada konsentrasi 0,6%. Maka dapat ditentukan bahwa Kadar Hambat Minimum ekstrak daun Sukun terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* berada pada konsentrasi ekstrak 0,6%_v.

Selanjutnya setelah diamati tingkat kekeruhan ekstrak, dari masing-masing tabung berisi ekstrak diambil sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada medium NAP dan diinkubasikan selama 18-24 jam. Dari cawan yang telah diinkubasikan diamati pertumbuhan koloni bakteri MRSA dan dihitung jumlah koloni bakteri dengan menggunakan *colony counter*.

5.1.2.2 Hasil Perhitungan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* pada Media NAP dan Analisis Terhadap KBM

Dari setiap tabung hasil kultur pada *tube dilution test*, kemudian dilakukan penggoresan pada medium padat NAP.



Gambar 5.6 Jumlah Koloni MRSA pada Medium NAP setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Sukun

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Methicillin-Resistant*

Staphylococcus aureus pada media NAP dapat dilihat pada Tabel 5.2

Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni MRSA Pada Media NAP per 0,1 ml

Konsentrasi (%)	Pengulangan				Rerata	Standar Deviasi
	1	2	3	4		
KK	2875455	3059145	3115665	3052080	3025586,3	±104053,96
0,20%	1880	2141	2169	1958	2037	±140,39
0,40%	473	580	696	574	580,75	± 91,18
0,60%	223	247	255	239	241	± 13,66
0,80%	12	24	27	19	20,5	± 6,56
1,00%	0	0	0	0	0	± 0
OI	147000	252000	198000	252000	212250	± 50400,89

Pertumbuhan koloni pada tabung konsentrasi 0%_v, terlalu rapat sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan penghitungan. Maka dari itu tabung pada konsentrasi 0%_v pada semua pengulangan diencerkan terlebih dahulu dengan larutan NaCl sebanyak 1000× sebelum digoreskan pada medium NAP. Kemudian pada setiap plate dihitung jumlah koloninya dengan menggunakan *colony counter*. Untuk konsentrasi 0%_v dan 0,2%_v penghitungan dilakukan dengan menggunakan perwakilan dari 9 kotak. Jumlah hasil perhitungan tersebut nantinya dibagi 9 kemudian dikalikan dengan luas plate dan pengenceran. Untuk plate konsentrasi lainnya dihitung semuanya tanpa perlu dikalikan dengan luas plate.

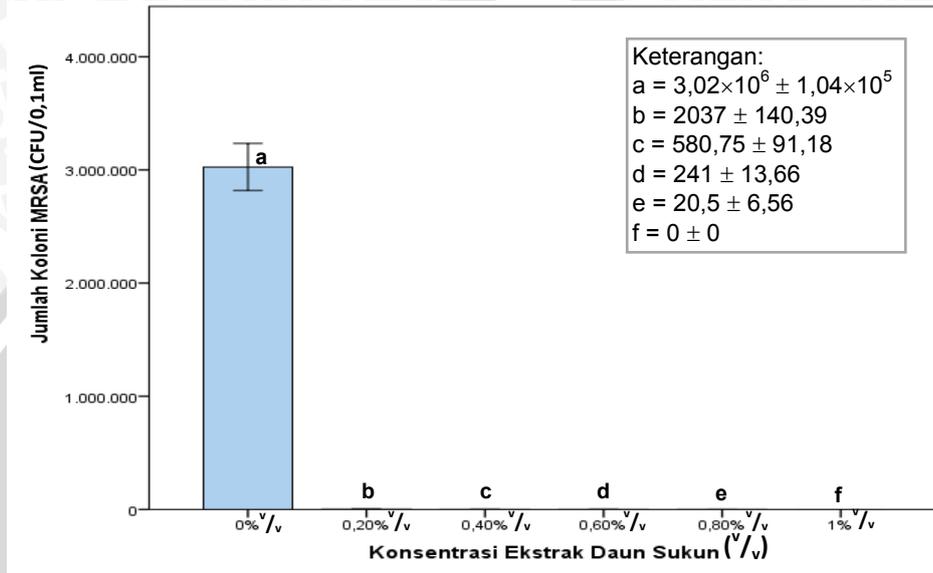
Tabel 5.3 Hasil Perhitungan Kadar Bunuh Minimum

	Pengulangan				Rerata
	1	2	3	4	
Konsentrasi KBM*	0,80%	0,60%	0,80%	0,60%	0,70% ± 0,11%

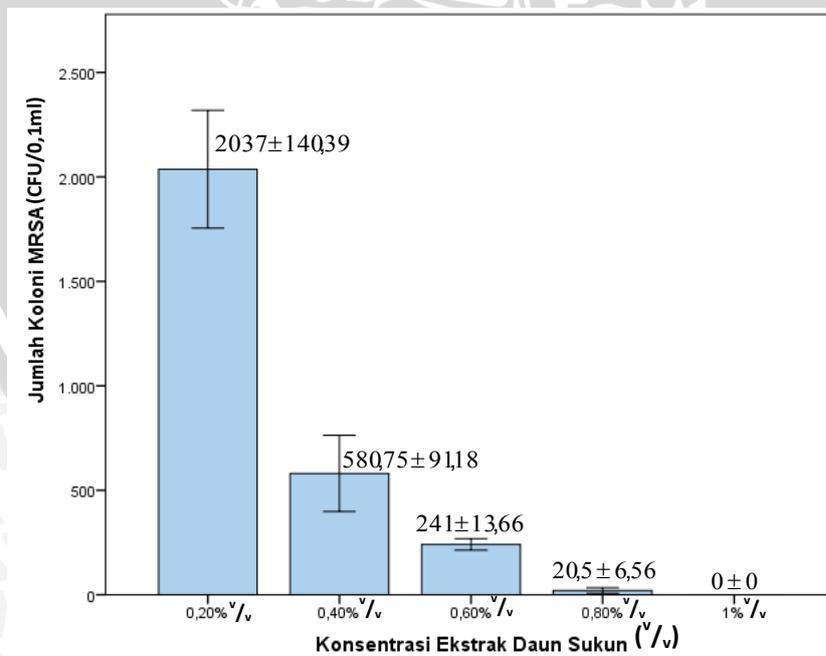
Keterangan: * = KBM < 0,1% jumlah koloni inokulum awal

Dari perhitungan jumlah koloni bisa ditentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Konsentrasi ekstrak dinyatakan sebagai KBM bila pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum/OI*). Dari keempat hasil pengulangan, maka KBM didapat pada konsentrasi 0,70%_v karena pada konsentrasi tersebut rerata jumlah koloninya lebih kecil dari 0,1%

dari *Original inoculum*. Adanya perbedaan jumlah koloni bakteri MRSA pada media NAP pada setiap perlakuan bisa digambarkan dalam bentuk grafik seperti pada Gambar 5.7 dan Gambar 5.8



Gambar 5.7 Grafik Rerata Jumlah Koloni Bakteri MRSA Setelah Perlakuan Dengan Ekstrak Etanol Daun Sukun



Gambar 5.8 Grafik Rerata Jumlah Koloni Bakteri MRSA Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Sukun (tanpa Konsentrasi 0% v/v)

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Kolmogorov – Smirnov

Untuk menguji apakah sampel memiliki distribusi normal atau tidak, dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan metode Kolmogorov – Smirnov test. Nilai signifikansi $< 0,05$ menunjukkan distribusi data tidak normal sedangkan nilai signifikansi $> 0,05$ menunjukkan distribusi data normal. Berdasarkan hasil pengujian, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000. Hal ini menunjukkan distribusi data tidak normal.

5.2.2 Uji Homogenitas

Untuk mengetahui terdapatnya heterogenitas maka dilakukan uji kesamaan ragam yaitu uji Levene (*Levene test homogeneity of variances*) dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,003. Karena $p < 0,05$, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa varians data tidak homogen (heterogen) dan dilakukan transformasi data agar varians data sama. Namun setelah dilakukan transformasi data tetap tidak memenuhi syarat ($p = 0,030$), maka digunakan uji non parametrik yaitu Kruskal – Wallis. Uji Kruskal – Wallis bertujuan mengetahui perbedaan diantara sampel.

5.2.3 Uji Kruskal – Wallis

Dari hasil uji Kruskal – Wallis, didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), berarti terdapat perbedaan jumlah koloni setelah perlakuan dengan ekstrak daun Sukun. Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan, maka dilakukan analisis *post hoc* Mann - Whitney.

5.2.4 Uji Mann – Whitney

Langkah selanjutnya dilakukan analisis *post hoc* dengan uji Mann – Whitney. Jika $p < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan diantara perlakuan yang diuji. Berdasarkan uji Mann-Whitney dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan pada semua konsentrasi.

Tabel 5.4 Hasil Uji Mann - Whitney

Konsentrasi	0% ^{v/v}	0,2% ^{v/v}	0,4% ^{v/v}	0,6% ^{v/v}	0,8% ^{v/v}	1% ^{v/v}
0% ^{v/v}	-	0,021*	0,021*	0,021*	0,021*	0,014*
0,2% ^{v/v}	-	-	0,021*	0,021*	0,021*	0,014*
0,4% ^{v/v}	-	-	-	0,021*	0,021*	0,014*
0,6% ^{v/v}	-	-	-	-	0,021*	0,014*
0,8% ^{v/v}	-	-	-	-	-	0,014*

Keterangan: * = berbeda signifikan

5.2.5 Uji Korelasi Spearman

Tabel 5.5 Uji Korelasi Spearman

			MRSA	Konsentrasi
Spearman's rho	MRSA	Correlation Coefficient	1,000	-,989**
		Sig. (2-tailed)	.	,000
		N	24	24
	Konsentrasi	Correlation Coefficient	-,989**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	.
		N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Untuk mengetahui besarnya hubungan pemberian ekstrak daun Sukun sebagai antimikroba terhadap jumlah koloni bakteri MRSA yang tumbuh di

medium NAP, dilakukan uji korelasi. Dari hasil pengujian didapatkan angka signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti ada hubungan yang bermakna antara konsentrasi ekstrak daun Sukun terhadap jumlah koloni bakteri MRSA. Nilai koefisien korelasi Spearman sebesar $R = - 0,989$ menunjukkan korelasi yang sangat kuat dan mempunyai hubungan terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Sukun yang diberikan maka jumlah koloni bakteri yang tumbuh akan semakin sedikit.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun Sukun terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*). Berdasarkan metode ini, Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol daun Sukun dapat diamati secara kualitatif dengan melihat penampakan yang jernih pada biakan di medium cair. Sedangkan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ditunjukkan dengan pertumbuhan koloni bakteri pada medium NAP <0,1% dari *original inoculum*.

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari empat isolat MRSA yang berasal dari pus penderita infeksi MRSA yang disediakan Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sebelum digunakan dalam penelitian, keempat isolat bakteri diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, penanaman pada medium CHROMagar, uji resistensi terhadap methicillin, dan uji katalase. Dengan pewarnaan Gram dan pengamatan dibawah mikroskop, didapatkan gambaran sel bakteri berbentuk kokus dan berwarna ungu yang menandakan bakteri bersifat Gram positif. Penanaman pada medium CHROMagar didapatkan koloni bakteri yang tumbuh berwarna merah muda sedangkan pada medium NAP tampak koloni berwarna putih kekuningan. Dari hasil uji resistensi didapatkan tidak adanya zona hambat sedangkan uji katalase dinyatakan positif yang ditandai dengan adanya gelembung udara setelah H₂O₂ diteteskan pada biakan di medium cair.

Ekstrak etanol daun Sukun yang dipergunakan pada penelitian ini diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Sebelum dilakukan ekstraksi, daun Sukun yang segar dikeringkan terlebih dahulu untuk mengurangi kadar air pada daun. Setelah kering, dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol kemudian dilakukan evaporasi dengan *evaporator*.

Sebelum mendapatkan konsentrasi perlakuan, terlebih dahulu dilakukan penelitian eksplorasi. Dari hasil penelitian eksplorasi didapatkan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 1% $\%_v$, akan tetapi masih didapatkan pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,125% $\%_v$ hingga 0,5% $\%_v$. Oleh karena itu, dipilih rentang konsentrasi 0,2% sehingga konsentrasi perlakuan yang digunakan adalah 0% $\%_v$ (kontrol positif), 0,2% $\%_v$; 0,4% $\%_v$; 0,6% $\%_v$; 0,8% $\%_v$, dan 1% $\%_v$.

Ekstrak etanol daun Sukun berwarna hijau dan larut dalam air. Sebelum diinkubasikan, masing-masing tabung tampak jernih. Setelah diinkubasikan, terdapat perbedaan tingkat kejernihan pada masing-masing tabung. Dari hasil pengamatan tingkat kejernihan, didapatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan terlihat semakin jernih. Dari keempat pengulangan, ekstrak tampak jernih pada konsentrasi 0,6% $\%_v$ sehingga dapat ditentukan KHM ekstrak daun Sukun terhadap bakteri MRSA adalah sebesar 0,6% $\%_v$. Selanjutnya dari masing-masing tabung perlakuan ditanam pada medium NAP dan diinkubasikan pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh menggunakan *colony counter*.

Dari hasil perhitungan koloni bakteri pada medium NAP dapat ditentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Konsentrasi ekstrak menunjukkan KBM jika jumlah

koloni yang tumbuh $<0,1\%$ dari *original inoculum*. Dari keempat isolat, ditentukan konsentrasi ekstrak yang menunjukkan KBM masing-masing isolat, kemudian dirata-rata. KBM isolat 1 berada pada $0,6\% \text{ } \frac{1}{v}$, isolat 2 pada $0,8\% \text{ } \frac{1}{v}$, isolat 3 pada $0,6\% \text{ } \frac{1}{v}$, dan isolat 4 pada $0,8\% \text{ } \frac{1}{v}$. Sehingga didapatkan rata-rata KBM pada konsentrasi $0,7\% \text{ } \frac{1}{v}$.

Berdasarkan hasil analisis data dengan uji Kruskal-Wallis didapatkan signifikansi sebesar $0,000$ ($p < 0,05$) yang dapat disimpulkan bahwa minimal ada satu konsentrasi ekstrak daun Sukun yang memberikan beda signifikan terhadap jumlah koloni bakteri MRSA. Setelah dilakukan uji Kruskal wallis, dilakukan *post hoc test* dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan beda signifikan terhadap jumlah koloni bakteri MRSA. Dari hasil uji Mann-Whitney didapatkan antara setiap perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan jumlah koloni bakteri MRSA yang tumbuh pada semua konsentrasi ekstrak. Dari analisis uji korelasi, didapatkan nilai signifikansi $p = 0,000$ dan koefisien korelasi $R = -0,989$ yang berarti bahwa pemberian ekstrak etanol daun Sukun mempunyai hubungan (korelasi) yang signifikan dengan jumlah koloni bakteri MRSA dengan arah hubungan negatif, artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Sukun yang diberikan cenderung akan menurunkan jumlah koloni bakteri MRSA yang tumbuh. Dari hasil ini diduga semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Sukun, konsentrasi bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak juga semakin banyak, sehingga jumlah koloni bakteri MRSA yang tumbuh pada medium *NAP* akan semakin sedikit.

Efek antimikroba daun Sukun terhadap bakteri MRSA diperkirakan diperankan oleh zat-zat aktif yang larut dalam etanol, sebab metode ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% . Berdasarkan hasil uji

fitokimia, ekstrak daun Sukun dengan pelarut metanol mengandung flavonoid, tanin, polifenol, saponin, triterpenoid dan kuinon (Rostinawati dkk., 2009). Dari zat aktif tersebut, diduga yang dapat larut dalam etanol adalah flavonoid, tanin, polifenol, saponin, dan triterpenoid (Cowan, 1999; Ramalingam 2009).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang berperan sebagai zat warna pada tumbuh-tumbuhan (Lenny, 2006). Aktivitas antibakteri flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat adhesin, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan juga membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta sifat lipofilik flavonoid dapat merusak membran bakteri. Tannin adalah senyawa golongan polifenol yang dibedakan menjadi dua, yaitu tannin terhidrolisis dan tannin terkondensasi. Tannin bekerja dengan cara berikatan pada adhesin faktor pada bakteri dan membentuk kompleks dengan polisakarida dinding sel bakteri, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut (Cowan, 1999). Selain itu sifat tannin yang dapat membentuk kompleks dengan ion logam menyebabkan tannin bersifat toksik bagi membran mikroba (Akiyama, 2001).

Saponin merupakan glikosida yang banyak ditemukan pada tanaman yang dikonsumsi manusia dan hewan (Soetan, 2006). Saponin dapat menghambat sintesis enzim esensial yang diproduksi mikroba dan menghancurkan membran sel (Rosyidah, 2010). Steroid/Triterpenoid merupakan senyawa yang tersusun isoprena dan diduga sifat lipofiliknya mampu merusak membran sel (Jasmine, 2011). Polifenol bekerja dengan cara mengganggu pembentukan dinding sel akibat akumulasi senyawa antibakteri yang dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi dan bereaksi dengan membran sel sehingga mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat

pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Kunaepah, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data diatas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Sukun memiliki efek antimikroba terhadap bakteri MRSA secara *in vitro*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesa yang telah disusun sebelumnya adalah benar. Nilai KHM dan KBM yang berdekatan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Sukun ini memiliki efek bakterisidal. Mengingat tingginya efektifitas ekstrak etanol daun Sukun sebagai antimikroba terhadap MRSA, maka perlu dilakukan penelitian untuk melihat efektifitasnya terhadap patogen selain MRSA. Keterbatasan penelitian ini antara lain pada metode pembuatan ekstrak kasar (*crude extract*) sehingga tidak dapat diketahui jumlah pasti zat aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun Sukun. Bahan aktif itu bisa bekerja sendiri-sendiri atau bersama-sama untuk menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Selain itu, tidak ada standarisasi dosis dari masing-masing bahan aktif yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA, sehingga hasil yang didapatkan juga bisa berbeda-beda. Adanya variasi biologis, misalnya darimana asal daun Sukun yang digunakan, juga bisa mempengaruhi jumlah kandungan bahan aktif yang ada. Faktor lain yang bisa mempengaruhi penelitian ini adalah lamanya penyimpanan ekstrak. Semakin lama ekstrak tersebut disimpan, maka potensi ekstrak biasanya akan menurun. Namun, ada beberapa ekstrak yang mengalami peningkatan potensi ekstrak.

Untuk aplikasi secara klinis dari penelitian ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan aktif yang bekerja sebagai antimikroba dan konsentrasi berapa yang efektif sebagai antibakteri secara *in vivo*. Sebaiknya dilakukan isolasi bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak untuk

mengetahui bahan aktif apa yang paling efektif sebagai antimikroba. Selain itu juga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang batasan dosis aman yang memiliki efek antimikroba dan efek samping yang mungkin ditimbulkan oleh ekstrak daun Sukun sehingga bisa dipakai sebagai pengobatan yang aman bagi masyarakat luas.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) memiliki efek antimikroba terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, yang dibuktikan dengan:

7.1.1 Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka jumlah koloni bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* yang tumbuh semakin sedikit.

7.1.2 Kadar Hambat Minimum ekstrak etanol daun Sukun terhadap bakteri MRSA berada pada konsentrasi ekstrak 0,60%_v dan Kadar Bunuh Minimum berada pada konsentrasi 0,70%_v.

7.2 Saran

- Perlu penelitian lebih lanjut untuk menentukan dosis standar bahan aktif dalam ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai antimikroba terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*.
- Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai antimikroba terhadap patogen selain MRSA.
- Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat efektivitas ekstrak etanol daun Sukun (*Artocarpus altilis*) secara *in vivo* (hewan coba dan uji klinik) sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek lamanya penyimpanan ekstrak etanol daun Sukun sebagai antimikroba.



DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, dan Iwatsuki K. Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2001, 48: 487 - 491
- Baron JE, Peterson L, Finegold MS. 1986. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 7th Ed., Mosby Company, United State..
- Biantoro IK. 2008. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Karya Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 2010. *Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology*, 25th Ed., The McGraw-hill companies, United State.
- CDC. 2010. MRSA. (Online). (<http://www.cdc.gov/mrsa>, Diakses tanggal 3 Desember 2011).
- Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, October 1999: 564 – 582
- Ditjen POM, (2000), "Sediaan Galenik", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dzen SM, Roekistiningsih, Santosa, Sanarto, Winarsih S. 2010. *Bakteriologi Medik*, Bayumedia, Malang, hal. 132-141.
- Harborne JB, 1987. Metode Fitokimia, Penuntun Modern Menganalisa Tumbuhan, terbitan ke-2, Terjemahan Kosasih Padmawinata dan iwang Soediro, ITB Bandung
- Jasmine R, Selvakumar BN, dan Daisy P. Investigating The Mechanism of Action of Terpenoids and The Effect of Interfering Substances On an Indian Medicinal Plant Extract Demonstrating Antibacterial Activity. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research*, April – June 2011, 2 (2): 19-24
- Koswara S. 2006. *Sukun sebagai Cadangan Pangan Alternatif*. (<http://ebookpangan.com/artikel/potensisukunsebagaicadanganpangannasional.pdf>. Diakses tanggal 6 Desember 2011)
- Kunaepah U. 2008. *Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah*. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida*. Karya Ilmiah. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Masdin. 2010. Perbandingan Metode Difusi Cawan Cefoxitin dan Oxacillin untuk Pendeteksian Resistensi Berperantara mecA pada *Staphylococcus aureus*

dalam Sebuah Penelitian Skala Besar. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 2009, 10 (4): 58-60.

Melviani. 2010. *Efek Antibakteri Alfa Mangostin dan Kombinasinya Dengan Beberapa Antibiotik Terhadap Staphylococcus aureus Multiresisten*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Modric, J. 2011. Staphylococcus Aureus and Staphylococcal Disease, (Online), (<http://healthhype.com/staphylococcus-aureus.html>). Diakses tanggal 19 Desember 2011)

Novianti D. 2011. *Karakterisasi Simplisia dan Isolasi Senyawa Flavonoida Dari Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis (Park.) Fosberg)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, Medan.

Nurkusuma DD. 2009. *Faktor yang Berpengaruh Terhadap Kejadian Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) pada Kasus Infeksi Luka Pasca Operasi di Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Dokter Kariadi Semarang*. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Permanasari, I. 2010. Sukun Sebagai Pembuluh Darah. *Harian Kompas* edisi Selasa, 11 Mei 2010 (<http://kesehatan.kompas.com/read/2010/05/11/07222917/Sukun.bagi.Pembuluh.Darah>, diakses tanggal 2 Desember 2011)

Ragone D. 2006. *Artocarpus altilis* (Breadfruit). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*, April 2006. www.traditionaltree.org/A.althilis-breadfruit.pdf.

Rahmawati V. 2010. *Uji Ekstrak Gel Lidah Buaya (Aloe Vera) Sebagai Antimikroba Terhadap Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Ramadhani NR. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Larva Artemia Salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Ramalingam RT, Krishnan K, dan Venkatesan GK. Antibacterial Activity of Saponin Isolated From The Leaves of *Solanum trilobatum* Linn. *Journal of Pharmacy Research*, Februari 2009, 2 (2): 273-276

Rostinawati T, Sulistyaningsih, dan Ariani D. Penentuan Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Sukun (*Artocarpus communis* Forst.) Sebagai Penghambat Pertumbuhan *Candida albicans* dan *Mycrosporium gypseum*. *Farmaka*, Desember 2009, 7 (3): 56-71

Rosyidah K, Nurmuhammad SA, Komari N, dan Astuti MD. Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*). *Bioscientiae*, Juli 2010, 7 (2): 25-31

Santosaningsih D, Santoso S, Budayanti NS, Suata K, Widodo ADW, Kuntaman K, Lestari ES, Wahyono H, Nuryastuti T, Sudigdoadi S, Karuniawati A, Suryawati B, Djamal A, Massi N, Severin J, Verbrugh HA. 2008. *The first*

multicenter survey of methicillin resistant Staphylococcus aureus in Indonesian hospital. Makalah disajikan dalam Kongres Nasional VII Perhimpunan Ahli Mikrobiologi Klinik, Yogyakarta, 12-14 Nopember 2009.

Soetan KO, Oyekunie MA, Aiyelaagbe OO, dan Fafunso MA. Evaluation of The Antimicrobial Activity of Saponins Extract of *Sorghum Bicolor* L. Moench. *African Journal of Biotechnology*, Desember 2006, 5 (23): 2405-2407

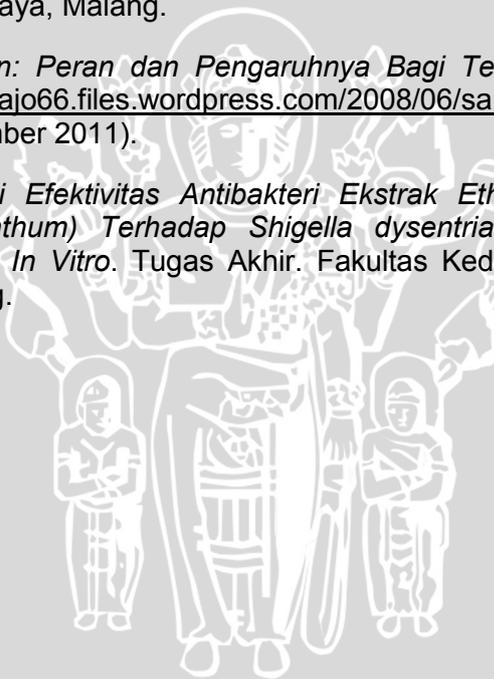
Sulistiono DA. 2010. TANNIN, (Online), (http://www.scribd.com/doc/33507735/TANNIN_24, diakses 3 Desember 2011).

Sulistyaningsih, Rostinawati T, dan Permana C. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* [Parkins.] Fosbberg Terhadap Bakteri *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, dan Jamur *Candida albicans*, *Microsporium gypsiun*. *Farmaka*, April 2009, 7 (1): 1-14

Solimun. 2001. *Diktat Penelitian LKIP dan PKM Kelompok Agrokompleks*. Universitas Brawijaya, Malang.

Suparjo. 2008. *Saponin: Peran dan Pengaruhnya Bagi Ternak dan Manusia*. (Online). (<http://jajo66.files.wordpress.com/2008/06/saponin.pdf>, diakses tanggal 13 Desember 2011).

Wijaya, HD. 2010. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Ethanol Daun Salam (Sizygium polyanthum) Terhadap Shigella dysentriae Isolat Labkesda Surabaya Secara In Vitro*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.



Lampiran 1: Pernyataan Keaslian Tulisan**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Yennie Ayu Setianingsih

NIM : 0910714056

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan Tugas Akhir ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 3 Desember 2012

Yang Membuat Pernyataan,

Yennie Ayu Setianingsih
0910714056

Lampiran 2: Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Uji Normalitas

Mengetahui distribusi data normal atau tidak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		MRSA
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	504744,17
	Std. Deviation	1152215,039
Most Extreme Differences	Absolute	,502
	Positive	,502
	Negative	-,331
Kolmogorov-Smirnov Z		2,459
Asymp. Sig. (2-tailed)		,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Nilai signifikansi ($p < 0.05$) = data berdistribusi tidak normal

Uji Homogenitas

Mengetahui homogenitas data

Test of Homogeneity of Variances

MRSA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,794	5	18	,001

Nilai signifikansi ($p < 0.05$) = data tidak mempunyai ragam (varians) yang homogen

Lampiran 3: Uji Kruskal Wallis

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank
MRSA	0%	4	22,50
	0,20%	4	18,50
	0,40%	4	14,50
	0,60%	4	10,50
	0,80%	4	6,50
	1%	4	2,50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	MRSA
Chi-Square	22,498
df	5
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi

Nilai signifikansi = 0.000 ($p < 0,05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni

Lampiran 4: Uji Mann Whitney

Pengaruh perbedaan perlakuan terhadap jumlah koloni bakteri

Antara 0% dengan 0.2%

Ranks			
Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
0%	4	6,50	26,00
MRSA 0,20%	4	2,50	10,00
Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0% dengan 0,2%

Antara 0% dengan 0,4%

Ranks			
Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
0%	4	6,50	26,00
MRSA 0,40%	4	2,50	10,00
Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0% dengan 0,4%

Antara 0% dengan 0,6%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6,50	26,00
MRSA	0,60%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0% dengan 0,6%

Antara 0% dengan 0,8%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6,50	26,00
MRSA	0,80%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0% dengan 0,8%



Antara 0% dengan 1%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0%	4	6,50	26,00
MRSA	1%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,014 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0% dengan 1%

Antara 0,2% dengan 0,4%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,20%	4	6,50	26,00
MRSA	0,40%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,2% dengan 0,4%

Antara 0,2% dengan 0,6%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,20%	4	6,50	26,00
MRSA	0,60%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,2% dengan 0,6%

Antara 0,2% dengan 0,8%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,20%	4	6,50	26,00
MRSA	0,80%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,2% dengan 0,8%



Antara 0,2% dengan 1%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,20%	4	6,50	26,00
MRSA	1%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,014 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,2% dengan 1%

Antara 0,4% dengan 0,6%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,40%	4	6,50	26,00
MRSA	0,60%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,4% dengan 0,6%

Antara 0,4% dengan 0,8%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,40%	4	6,50	26,00
MRSA	0,80%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,4% dengan 0,8%

Antara 0,4% dengan 1%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,40%	4	6,50	26,00
MRSA	1%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,014 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,4% dengan 1%

Antara 0,6% dengan 0,8%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,60%	4	6,50	26,00
MRSA	0,80%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,021 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,6% dengan 0,8%

Antara 0,6% dengan 1%

Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,60%	4	6,50	26,00
MRSA	1%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,014 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,6% dengan 1%



Antara 0,8% dengan 1%

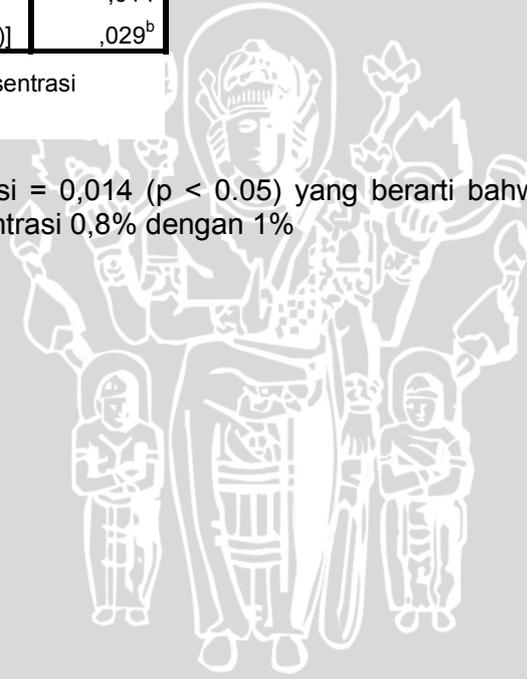
Ranks				
	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	0,80%	4	6,50	26,00
MRSA	1%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	MRSA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Konsentrasi

b. Not corrected for ties.

Nilai signifikansi = 0,014 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,8% dengan 1%



Lampiran 5: Analisis Deskriptif

Descriptives

MRSA						
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
0%	4	3025586,25	104053,963	52026,982	2875455	3115665
0,20%	4	2036,50	140,953	70,476	1879	2169
0,40%	4	580,75	91,175	45,588	473	696
0,60%	4	241,00	13,663	6,831	223	255
0,80%	4	20,50	6,557	3,279	12	27
1%	4	,00	,000	,000	0	0
Total	24	504744,17	1152215,039	235194,910	0	3115665

Lampiran 6: Uji Korelasi Spearman

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
KoloniMRSA	2,7080	2,04284	24
Konsentrasi	3,50	1,745	24

Correlations

		Konsentrasi	MRSA
Spearman's rho	Konsentrasi	Correlation Coefficient	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000
		N	24
MRSA	MRSA	Correlation Coefficient	-,989**
		Sig. (2-tailed)	,000
		N	24

** . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

- Nilai signifikansi = 0,000 ($p < 0,05$) berarti ada hubungan yang signifikan antara perlakuan dan jumlah koloni.
- Nilai koefisien korelasi ($R = -0,989$) berarti kekuatan korelasinya sangat kuat dan mempunyai hubungan terbalik.

