

**UJI POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT SALAK PONDOKH
(SALACCA ZALACCA) SEBAGAI ANTIMIKROBA
TERHADAP BAKTERI SHIGELLA DYSENTERIAE**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

**Ngakan Gde Arya Ratmaja Putra
NIM 155070100111037**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2018

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ngakan Gde Arya Ratmaja Putra

NIM : 155070100111037

Program Studi : Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya,

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 13 September 2018

Yang membuat pernyataan,

Ngakan Gde Arya Ratmaja Putra

NIM. 155070100111037

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat dan anugerah-Nya sehingga dapat menyelesaikan

Tugas Akhir yang berjudul "UJI POTENSI EKSTRAK ETANOL KULIT SALAK PONDOH (*Salacca zalacca*) SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTER

Shigella dysenteriae". Tujuan dari penyusunan skripsi ini adalah untuk memenuhi persyaratan dalam mencapai gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Dengan terselesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. dr. SANARTO SANTOSO., Sp. MK (K), sebagai pembimbing pertama yang telah mencurahkan dedikasinya serta memberi semangat, bimbingan, dan solusi atas masalah-masalah yang muncul saat penelitian ini berjalan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. dr.ETTY KURNIA, Sp F, sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bantuan ide-ide, kritik, dan saran yang membangun dalam proses pengambilan data hingga penulisan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. Dr. HARUN ALRASYID, MPH, sebagai penguji yang sudah memberi masukan, bantuan kritik, dan waktu nya untuk menguji saya.
4. dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K), sebagai Ketua Program Studi Kedokteran yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes., dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.

7. Analis di laboratorium mikrobiologi FKUB, Pak Selamat, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

8. Kedua orang tua penulis Ngakan Putu Parsama Putra Dan ibu Nyoman Sri Mahayuni, adik penulis Ngakan Made Yoga Widinugraha atas segala doa, bantuan, pengertian, dan kasih sayangnya.

9. Kepada Dian Kartika Mahardhika yang selalu membantu, menemani dalam proses pembuatan penelitian ini.

10. Sahabat-sahabat ku SMA : Sari, Raras, Illya, Ayunda, Adly, Rizal, Tanzha yang telah memberi dukungan dan doa agar penelitian ini selesai.

11. Sahabat-sahabat ku Kuliah : Edit, Galih, Wahyu, Ageng, Geng Gabut, Main Bentar, dan teman-teman sepenelitian Kulit Salak Pondoh

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun sehingga dapat meningkatkan kemampuan menulis di masa yang akan datang. Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi semua yang membutuhkan.

Malang, 13 September 2018

Penulis

ABSTRAK

Shigella dysenteriae adalah bakteri yang merupakan salah satu penyebab paling banyak dari infeksi saluran pencernaan. Bakteri ini termasuk dalam kokus gram negatif. Bakteri ini sangat jarang berada di saluran pencernaan pada hewan maupun pada manusia. Karena tingginya resistensi terhadap antibiotik dan belum ditemukan antibiotik terbaru maka diperlukan mencari alternatif lain dari bahan tradisional. Salah satunya adalah Kulit salak pondoh (*Salacca Zalacca*). Kulit tersebut memiliki bahan positif seperti flavonoid, tanin, alkaloid. Penelitian ini dilakukan untuk mengukur kadar hambat dan kadar bunuh dari *Shigella dysenteriae*. Konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh digunakan adalah 10%, 12,5% ,15% ,17,5% ,20%, 22,5%. Tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Kadar bunuh nya dihitung menggunakan colony counter. Kadar Bunuh Minimum (KBM) tidak ketahui karena tingkat kekeruhan yang relatif sama. Uji Kruskal- Wallis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan untuk kadar bunuh dari kulit salak pondoh terhadap *Shigella dysenteriae* ($p < 0,05$). Uji korelasi menunjukkan hubungan ekstrak dengan jumlah koloni, (Korelasi, $R = -0.940$; $p = 0,000$). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca Zalacca*) mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

Kata Kunci : *Shigella dysenteriae*, Kulit Salak Pondoh (*Salacca Zalacca*), dilusi tabung.



ABSTRAC

Shigella dysenteriae is a bacteria that is one of the most common causes of gastrointestinal infections. These bacteria are included in gram negative cocci. These bacteria are very rare in the digestive tract in animals and in humans. Because of the high resistance to antibiotics and the latest antibiotics have not been found, it is necessary to look for other alternatives of traditional ingredients. One of them is Salak Pondoh peel (*Salacca Zalacca*). The skin has positive ingredients such as *flavonoids*, *tannins*, *alkaloids*. This study was conducted to measure the inhibitory levels and levels of suicide of *Shigella Dysenteriae*. The concentration of ethanol extract of Salak Pondoh peel was 10%, 12.5%, 15%, 17.5%, 20%, 22.5%. Each treatment was repeated four times. The kill rate is calculated using a colony counter. Analysis of the data using Kruskal-Wallis showed a significant difference in the level of killing of salak pondoh peel on *Shigella dysenteriae* ($p < 0.05$). Correlation test showed the relationship between extract and number of colonies, (Correlation, $R = -0.940$; $p = 0.000$). From these data it can be concluded that salak pondoh peel extract (*Salacca Zalacca*) has an antibacterial effect on *Shigella dysenteriae* bacteria by tube dilution method of 17.5% while the Minimum Bacterisidal Concentration (MBC) is not known because of the relatively similar turbidity level.

KeyWords : *Shigella Dysenteriae*, Salak Pondoh peel (*Salacca Zalacca*), tube dillution



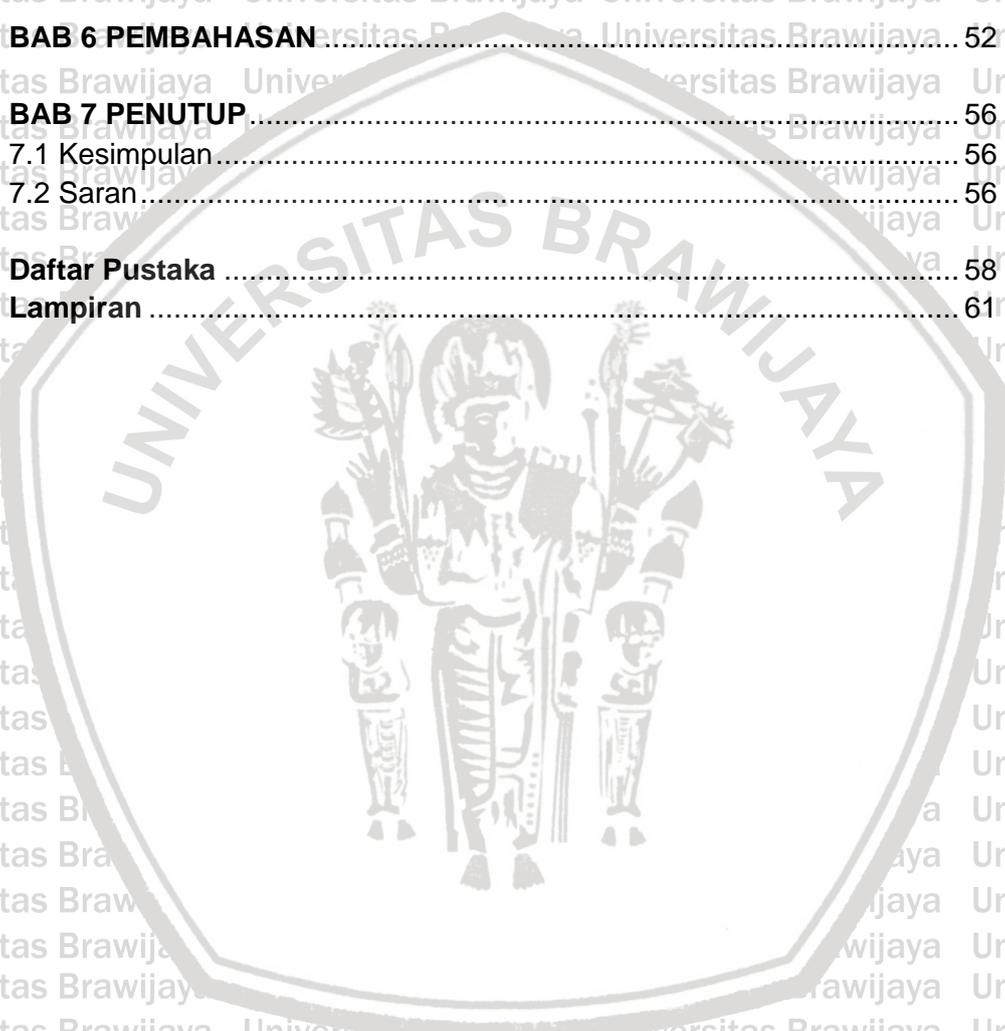
DAFTAR ISI

Halaman

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Bagan.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Akademik.....	6
1.4.2 Manfaat Klinis.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Shigella dysenteriae</i>	7
2.1.1 Epidemiologi.....	7
2.1.2 Taksonomi.....	8
2.1.3 Morfologi dan identifikasi bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	8
2.1.4 Struktur antigen.....	10
2.1.5 Toksin.....	10
2.1.6 Patogenesis dan Patologi.....	11
2.1.7 Patofisiologi.....	11
2.1.8 Manifestasi Klinis.....	12
2.1.9 Diagnosis Laboratorium.....	13
2.1.9.1 Spesimen.....	13
2.1.9.2 Metode Biakan.....	14
2.1.9.3 Metode Serologi.....	14
2.2 Terapi Antimikroba.....	15
2.2.1 Spektrum Antimikroba.....	15
2.2.2 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	15
2.2.3 Mekanisme Resistensi Mikroba Terhadap Obat.....	17

2.2.4 Mekanisme Resistensi <i>Shigella</i> Terhadap Antibiotik	18
2.2.5 Uji Kepekaan Terhadap Antomikroba in vitro	20
2.3 Tanaman Salak Pondoh (<i>Salacca zalacca</i>).....	20
2.3.1 Karakteristik Umum Tanaman Salak Pondoh	20
2.4.2 Klasifikasi Salak Pondoh (<i>Salacca zalacca</i>)	21
2.5.3 Kandungan Kimia Kulit Salak Pondoh (<i>Salacca zalacca</i>)	22
2.6.4 Peran Ekstrak Kulit Salak Pondoh (<i>Salacca zalacca</i>) sebagai Antimikroba	22
2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif Dari Bahan Alam	24
2.5 Cara Kerja Antimikroba	25
2.5.1 Menghambat Sintesa Dinding Sel	25
2.5.2 Menghambat Fungsi Membran Sel	26
2.5.3 Menghambat Sintesa Protein	26
2.5.4 Menghambat Sintesa Asam Nukleat	26
2.5.5 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri	26
2.6 Uji Kepekaan Antimikroba	27
2.6.1 Metode Dilusi Tabung	27
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	28
3.1 Kerangka Konsep	28
3.2 Hipotesis Penelitian	29
BAB IV METODE PENELITIAN	30
4.1 Desain Penelitian	30
4.2 Tempat dan Waktu	30
4.3 Sampel Penelitian	30
4.4 Variabel Penelitian	31
4.4.1 Variabel Bebas	31
4.4.2 Variabel Tergantung	31
4.5 Definisi Operasional	32
4.5.1 Kadar Hambat Minimum	32
4.5.2 Kadar Bunuh Minimum	32
4.5.3 Kontrol Positif	32
4.5.4 Kontrol Negatif	32
4.6 Alat dan Bahan Penelitian	33
4.6.1 Alat-alat Untuk Pembuatan Ekstrak Kulit Salak Pondoh	33
4.6.2 Bahan-bahan Untuk Pembuatan Ekstrak Kulit Salak Pondoh	33
4.6.3 Alat Untuk Pewarnaan Gram Bakteri	33
4.6.4 Bahan Untuk Pewarnaan Gram Bakteri	34
4.6.5 Alat untuk Tes Kepekaan Bakteri	34
4.7 Prosedur Penelitian	35
4.7.1 Identifikasi <i>Shigella dysenteriae</i>	35
4.7.2 Pembuatan Suspensi <i>Shigella dysenteriae</i>	37
4.7.3 Uji Sensitivitas Antimikroba	38
4.7.4 Alur Kerja Penelitian	40
4.8 Analisis Data	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	42

5.1 Hasil Penelitian	42
5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri	42
5.2 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Perhitungan	43
5.3 Analisis Data	47
5.3.1 Uji Homogenitas data	47
5.3.2 Uji Normalitas data	48
5.3.3 Uji Kruskal Wallis	49
5.3.4 Uji Man Whitney	49
5.3.3 Uji Kolerasi Spearman	50
BAB 6 PEMBAHASAN	52
BAB 7 PENUTUP	56
7.1 Kesimpulan	56
7.2 Saran	56
Daftar Pustaka	58
Lampiran	61



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar Bunuh Minimum *Shigella Dysentriae*.....

42

Tabel 5.2 Hasil Uji Homogenitas.....

44

Tabel 5.3. Hasil Uji Normalitas.....

44

Tabel 5.4. Hasil Uji Kruskal-Wallis.....

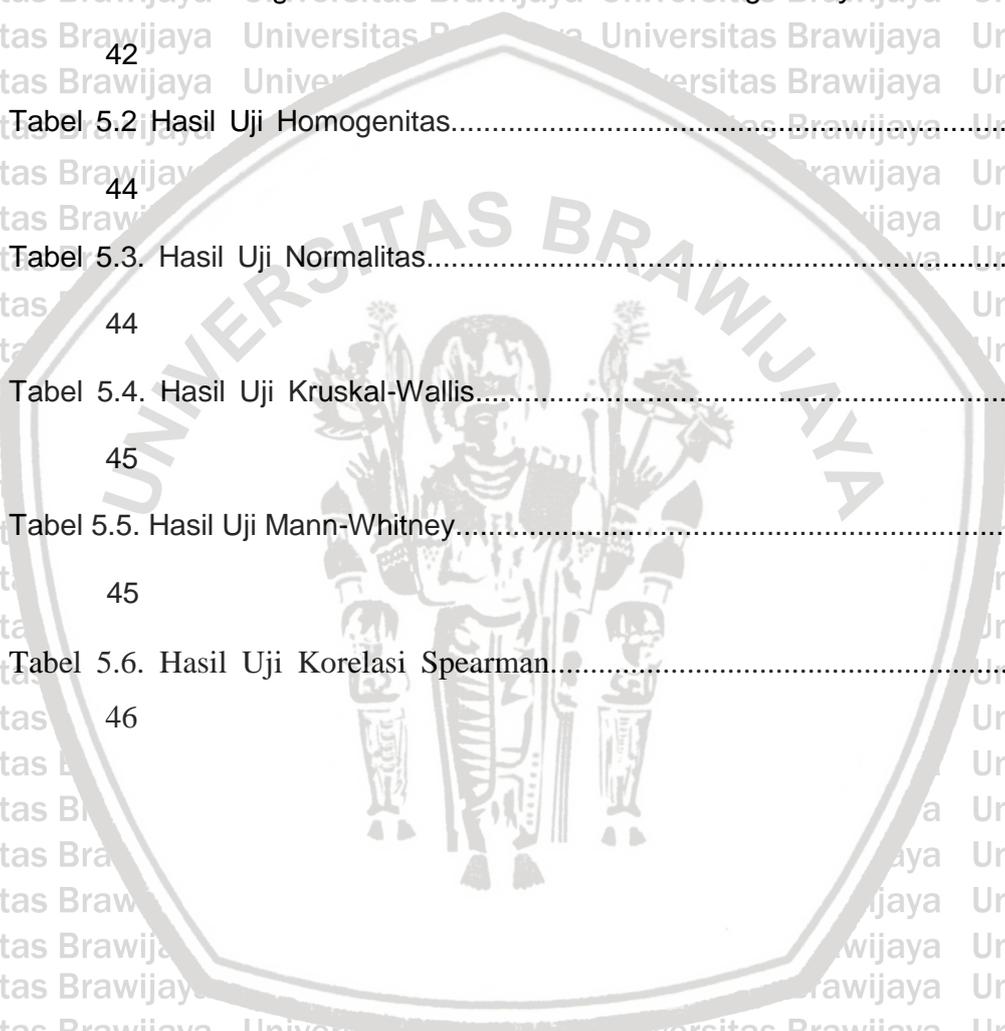
45

Tabel 5.5. Hasil Uji Mann-Whitney.....

45

Tabel 5.6. Hasil Uji Korelasi Spearman.....

46



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Gambaran pewarnaan gram pada bakteri *Shigella Dysentriae*.....

6

Gambar 2.2 Gambaran Buah Salak Pondoh.....

17

Gambar 2.3 Gambaran Struktur Kimia Tanin.....

19

Gambar 3.1 Skema kerangka Konsep Penelitian.....

24

Gambar 5.1 Pewarnaan Gram.....

38

Gambar 5.2 Gambar 5.2 Identifikasi *Shigella dysenteriae* dengan *Microbact*.....

39

Gambar 5.3 Uji Dilusi Tabung Perbandingan Tingkat Kekeruhan.....

40

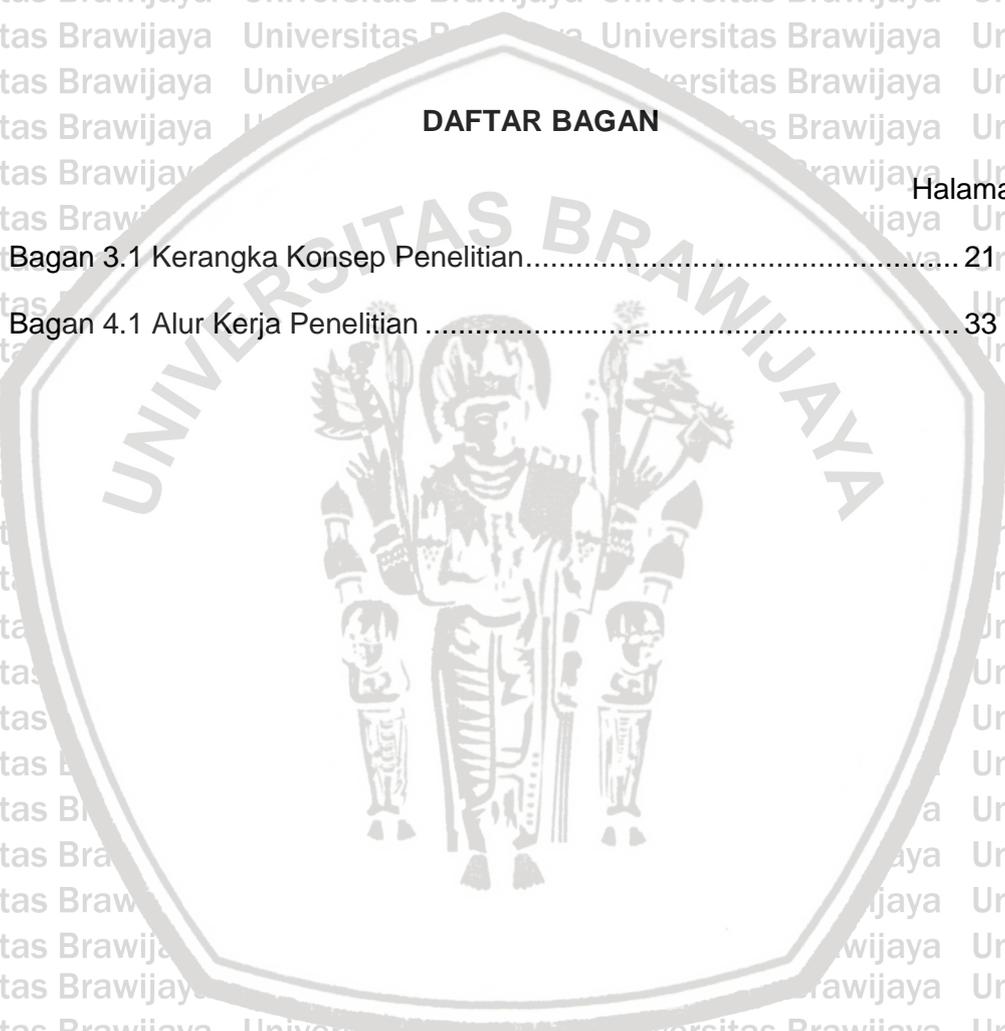
Gambar 5.4. Pertumbuhan koloni *Shigella Dysentriae* Medium NAP.....

41

DAFTAR BAGAN

Halaman

Bagan 3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	21
Bagan 4.1 Alur Kerja Penelitian	33



DAFTAR SINGKATAN

KHM	: Kadar Hambat Minimum
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
DCA	: Deoxycholate Citrate Agar
SS	: <i>Salmonella-Shigella</i>
XLD	: <i>Xylose-lysine-deoxycholate</i>
EMB	: <i>Eosine-Methylene Blue</i>
TSI	: <i>Triple Sugar Iron</i>
SPSS	: Statistical Product Of Service Solution

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut WHO diperkirakan 165 juta kasus *Shigellosis* terjadi setiap tahun, dimana 99% terjadi di negara berkembang, terutama pada anak-anak. Pada tahun 1999, tinjauan sistematis melaporkan *Shigella* bertanggung jawab atas 1,1 juta kematian per tahun, 61 % di antaranya pada anak-anak kurang dari 5 tahun, berdasarkan prevalensi pada kasus diare dan data terbatas pada tingkat fatalitas anak-anak yang dirawat di rumah sakit (WHO,2016) Pada tahun 2013, diperkirakan antara 28.000 dan 48.000 kematian setiap tahun di antara anak-anak di bawah 5 tahun karena *Shigellosis*. Pada tahun 2016, analisis molekuler kuantitatif dari *Global Enteric Multicentre Study (GEMS)* mengidentifikasi peningkatan beban *Shigellosis* dan melaporkannya sebagai patogen terkemuka di antara enam patogen terkait yang menyebabkan diare pada anak (WHO, 2016).

Berat ringannya penyakit dan "*case fatality rate*" tergantung dari fungsi dari inang (umur dan status gizi dari inang) serta tipe dari *Shigella*. *Shigella dysenteriae* dapat menyebabkan penyakit serius dan komplikasi berat seperti toksic megacolon dan sindroma uremia hemolitik. Sebaliknya infeksi oleh *Shigella sonnei* menimbulkan penyakit dengan gejala klinik yang pendek dan hampir tidak ada kematian kecuali pada orang dengan masalah kekebalan tubuh (Jawetz, 2005).

Sejumlah penelitian telah menguraikan tentang meningkatnya prevalensi resistensi pada kuman-kuman patogen enterik seperti yang terjadi pada *Shigella dysenteriae*, salah satu kuman enterik penyebab diare. Hal ini penting karena diare akut memberikan kontribusi yang cukup besar sebagai penyebab kematian pada

anak-anak berusia ≤ 5 tahun di negara berkembang, termasuk Indonesia. Menurut Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001 penyakit diare di Indonesia menduduki urutan ke dua dari penyakit infeksi dengan angka morbiditas sebesar 4% dan mortalitas 3,8%. Pada bayi-bayi, penyakit diare menempati urutan tertinggi sebagai penyebab kematian dengan angka sebesar 9,4% dari seluruh kematian bayi. Menurut WHO angka kesakitan diare pada tahun 2010 yaitu sebanyak 411 penderita per 1.000 penduduk. Berdasarkan data profil kesehatan Indonesia tahun 2010 jumlah kasus diare yang ditemukan sekitar 213.435 penderita dengan jumlah kematian 1.289, dan sekitar 70–80% dari jumlah tersebut terjadi pada anak-anak terutama usia dibawah 5 tahun. Dari data tersebut dapat diperkirakan bahwa selama 20–30 tahun ke depan diare dan beberapa penyakit infeksi lainnya akan tetap menjadi perhatian sebagai penyebab masalah kesehatan di dunia (Depkes, 2010)

Shigella dysenteriae adalah bakteri gram negatif, bersifat fakultatif anaerobik yang dengan beberapa kekecualian tidak meragikan laktosa tetapi meragikan karbohidrat yang lainnya, ukuran $0,5-0,7\mu\text{m} \times 2-3\mu\text{m}$, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. pH pertumbuhan 6.4-7.8, secara morfologi tidak dapat dibedakan dari Salmonella, tetapi dibedakan berdasarkan reaksi-reaksi fermentasi dan uji serologis, suhu pertumbuhan optimal 37°C . Habitat alamiah *Shigella* terbatas pada saluran pencernaan manusia dan primata lainnya dimana sejumlah spesies menimbulkan disentri basiler (Pelczar dan Chan, 2001).

Shigella dysenteriae memproduksi eksotoksin yang dapat mempengaruhi saluran pencernaan dan susunan saraf pusat. Eksotoksin merupakan protein yang bersifat antigenik yaitu merangsang produksi antitoksin sehingga dapat mematikan penderita. Aktivitas yang bersifat toksik ini menyebabkan diare awal yang encer,

kemudian mengakibatkan disentri lebih lanjut dengan tinja yang disertai darah dan nanah (Jawetz et al., 1996).

Sejauh ini, upaya yang dilakukan untuk mengobati penyakit disentri akibat bakteri *Shigella dysenteriae* terbatas pada antibiotik. Selain memberikan keuntungan bagi manusia, namun antibiotik juga menimbulkan dampak negatif yaitu kemampuan bakteri dalam mempertahankan diri sehingga makin sulit untuk diberantas (Winarsih dkk., 2010). Menurut Jawetz et al., (1996) *Shigella dysenteriae* memiliki resistensi terhadap beberapa antibiotik diantaranya seperti tetrasiklin, ampisilin, dan siprofloksasin. Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dan tidak tepat dosis juga dapat mengganggu fungsi kinerja pada organ ginjal, jantung, dan hati (WHO, 2014). Menurut Wahyuningsih (2010), beberapa orang yang mengkonsumsi antibiotik dapat mengalami jantung berdebar-debar, detak jantung abnormal, dan masalah hati seperti penyakit kuning. Oleh karena itu, perlu dikembangkan alternatif pengobatan dengan menggunakan bahan nabati yang diharapkan lebih efektif, efisien, dan aman dalam upaya menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Untuk membunuh dan melemahkan bakteri seringkali digunakan antimikroba. Saat ini, sudah banyak bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis obat antimikroba sehingga bakteri lebih berkembang didalam tubuh manusia. Dengan membunuh dan melemahkan bakteri seringkali digunakan antimikroba. Saat ini banyak bakteri yang resisten terhadap obat antimikroba sehingga bakteri lebih berkembang didalam tubuh manusia. Obat-obatan tradisional menggunakan ramuan obat dari tumbuhan. Pengobatan tradisional masih banyak digunakan sebagai alternatif dalam masyarakat, hal ini menjadi bukti bahwa masyarakat masih mengakui khasiat dari pengobatan tradisional, dengan demikian jenis-jenis

tanaman yang dapat dijadikan obat harus tetap dilestarikan dan dijaga agar dapat dimanfaatkan sebagai resepresep tradisional warisan orang tua terdahulu dalam upaya menunjang pelayanan kesehatan (Wijayakusuma dan Dalimartha, 2001). Pengobatan tradisional dan obat tradisional telah menyatu dengan masyarakat, digunakan dalam mengatasi berbagai masalah kesehatan. Kemampuan masyarakat untuk mengobati sendiri, mengenai gejala penyakit dan memelihara kesehatan perlu ditingkatkan dalam rangka menjaga kesehatan. Untuk ini obat tradisional merupakan potensi yang besar karena sudah dikenal oleh masyarakat, mudah diperoleh, serta sudah merupakan bagian dari sosial budaya masyarakat (Agoes dan Jacob, 1996).

Tanaman salak pondoh (*Salacca zalacca*) merupakan salah satu tanaman tradisional yang memiliki senyawa yang dapat digunakan sebagai antimikroba. Sejauh ini masyarakat hanya memanfaatkan daging pada buah salak, sedangkan kulitnya hanya menjadi limbah dan tidak dimanfaatkan. Menurut (Mahaputra, 2008), pada uji fitokimia daging dan kulit buah salak menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dan tanin lebih dominan serta mengandung sedikit senyawa alkaloid. Ekstrak kulit buah salak (*S.zalacca*) berpengaruh terhadap pertumbuhan *E. coli* dan konsentrasi kulit buah salak (*S.zalacca*) yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* adalah konsentrasi 100% (Rahmah,2016).

Berdasarkan penelitian Atta-ur-Rahman (2001), senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid, fenolat dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan polifenolat bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan anti inflamasi, sedangkan senyawa alkoloid mempunyai sifat antineoplastik yang juga ampuh menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Ryan, 2006; Sudewa, 2005). Pada penelitian

sebelumnya ekstrak kulit buah salak (*Salacca zalacca*) berpengaruh terhadap pertumbuhan *E. coli* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% (Rahmah,2016).

Berdasarkan beberapa informasi diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lanjutan dan lebih terfokus untuk mengetahui apakah ekstrak etanol pada kulit salak pondoh yang tumbuh di Indonesia memiliki efek antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*.

Sehingga nantinya dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*?

1.3 Tinjauan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1.3.1.1. Mengetahui efektifitas ekstrak etanol kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae*

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol kulit salak pondoh terhadap *Shigella dysenteriae*

1.3.2.2. Mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol kulit salak pondoh terhadap *Shigella dysenteriae*

1.3.2.3. Menganalisis efektifitas kadar ekstrak etanol kulit salak pondoh berdasarkan KHM dan KBM

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

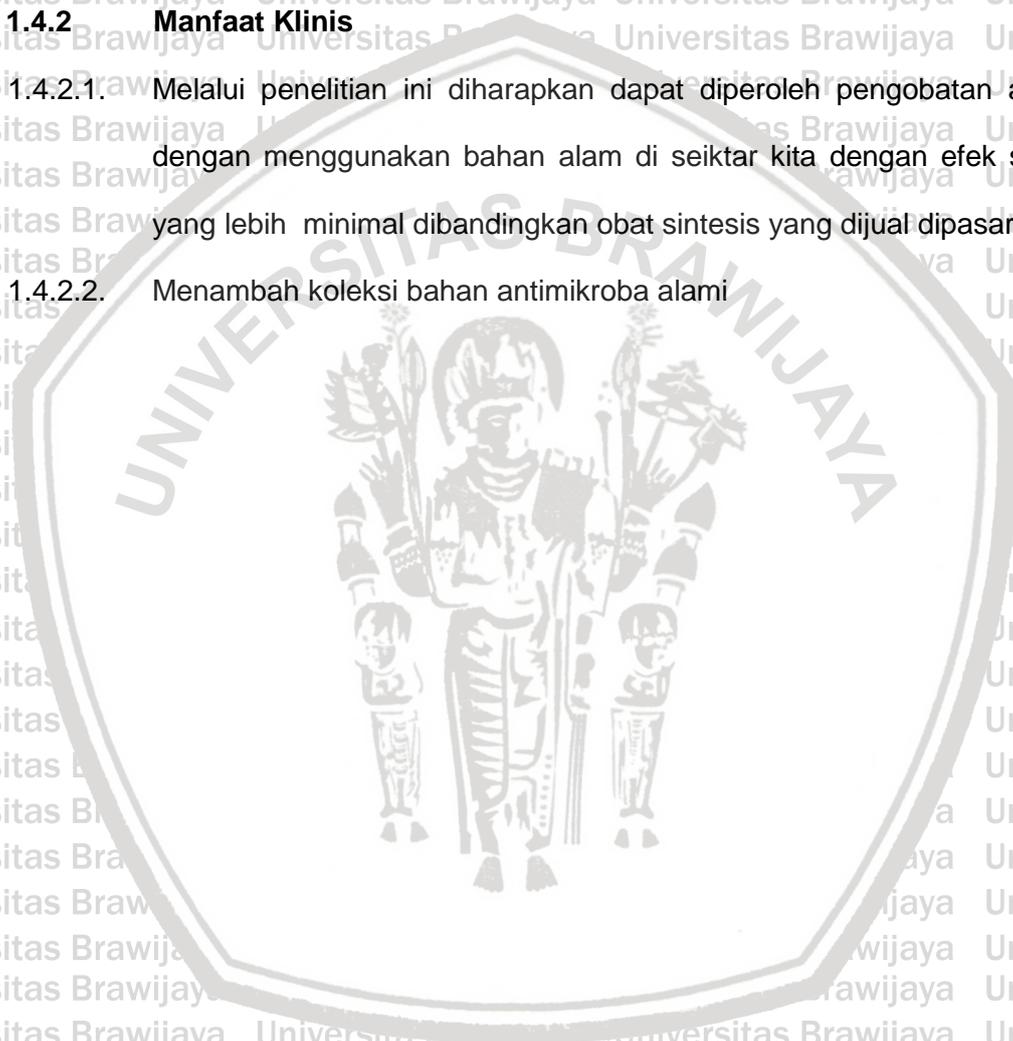
1.4.1.1. Memberikan informasi yang dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba kulit salak pondoh

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

1.4.2 Manfaat Klinis

1.4.2.1. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh pengobatan alternatif dengan menggunakan bahan alam di sekitar kita dengan efek samping yang lebih minimal dibandingkan obat sintesis yang dijual dipasaran.

1.4.2.2. Menambah koleksi bahan antimikroba alami



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Shigella dysenteriae*

Bakteri *Shigella dysenteriae* dapat menyebabkan penyakit disentri basilar. Disentri basilar adalah infeksi usus besar oleh bakteri patogen genus *Shigella*. *Shigella dysenteriae* merupakan penyebab penyakit yang paling ganas dan menimbulkan epidemi hebat di daerah tropis dan subtropis (Soedarto, 1996). Pengobatan infeksi dapat digunakan dengan antibiotik yang telah diresepkan secara luas seperti pada saat sekarang ini (Gould and Brooker, 2003).

Shigella merupakan bakteri bersifat fakultatif anaerobik, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Habitat alamiah *Shigella* terbatas pada saluran pencernaan manusia dan primata lainnya dimana sejumlah spesies menimbulkan disentri basilar. Morfologi *Shigella* yaitu batang ramping, tidak berkapsul, tidak bergerak, tidak membentuk spora, G-. Koloninya konveks, bulat, transparan dengan pinggir-pinggir utuh mencapai diameter kira-kira 2 mm dalam 24 jam (Nathania, 2008).

2.1.1 Epidemiologi

Diare merupakan salah satu masalah kesehatan yang masih menjadi penyebab utama tingginya morbiditas dan mortalitas pada anak di negara berkembang termasuk di Indonesia.

Menurut WHO angka kesakitan diare pada tahun 2010 yaitu sebanyak 411 penderita per 1.000 penduduk. Berdasarkan data profil kesehatan Indonesia tahun 2010 jumlah kasus diare yang ditemukan sekitar 213.435 penderita dengan jumlah kematian 1.289, dan sekitar 70–80% dari jumlah tersebut terjadi pada anak-anak terutama usia dibawah 5 tahun. Dari data tersebut dapat diperkirakan bahwa selama 20–30 tahun ke depan diare dan beberapa

penyakit infeksi lainnya akan tetap menjadi perhatian sebagai penyebab masalah kesehatan di dunia (Depkes, 2010)

2.1.2 Taksonomi

Berdasarkan Todar's Online Textbook of Bacteriology, *Shigella Dysenteriae*

digolongkan dalam taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Divisi : Proteobacteria

Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Shigella*

Spesies : *Shigella dysenteriae* (Todar, 2008)

2.1.3 Morfologi dan identifikasi

Shigella spesies adalah bakteri patogen usus yang telah lama dikenal sebagai agen penyebab penyakit disentri basiler. Berada dalam *tribe* escherichiae karena sifat genetik yang saling berhubungan, tetapi dimasukkan dalam genus tersendiri yaitu genus *Shigella* karena gejala klinik yang disebabkan nya bersifat khas. Sampai saat ini terdapat empat spesies *Shigella* yaitu : *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* dan *Shigella sonnei* (Staf Pengajar Fakultas Kedokteran UI, 1994). *Shigella dysenteriae* termasuk kedalam *Enterobacteriaceae*, yaitu kelompok batang gram negatif yang besar dan heterogen, dengan habitat alam nya disaluran cerna manusia dan hewan (Jawetz, *et al.*, 2008). *Shigella dysenteriae* adalah bakteri berbentuk cocus atau batang, gram negatif, fakultatif anaerob, tidak mampu bergerak, tidak mampu membentuk

spora, dan pada manusia menyebabkan disentri basiler dengan masa inkubasi 1-7 hari (Entjang, 2003).



Shigella dysenteriae
(basil)

Gambar 2.1 *Shigella dysenteriae* (Dennis Kunkel Microscopy, 2004)



Gambar 2.2 Kultur Bakteri *Shigella dysenteriae* (Scalan E, dkk. 2011)

2.1.4 Struktur Antigen

Shigella mempunyai susunan antigen yang kompleks. Terdapat banyak tumpang tindih dalam sifat serologis berbagai spesies. Sebagian besar bakteri ini mempunyai antigen O yang juga dimiliki oleh bakteri enterik lainnya. Antigen somatic O dari *shigella* adalah lipopolisakarida. Kekhususan serologiknya tergantung pada polisakarida. Terdapat lebih dari 40 serotipe. Sedangkan klasifikasi *Shigella* didasarkan pada sifat-sifat biokimia dan antigeniknya (Dzen. Et al., 2003).

Shigella dibagi empat grup berdasarkan antigen O mayor yang diberi tanda A, B, C, dan D. Saat ini, ada 12 tipe serologis dari grup A, 6 tipe serologis dari grup B, 18 tipe serologis dari grup C, dan 1 tipe serologis dari grup D. Beberapa galur memiliki antigen K, yang tidak penting untuk *serotyping*, tetapi dapat mengganggu reaksi serologis dari antigen O. Gangguan ini dapat dihilangkan dengan memanaskan suspensi bakteri sebelum dilakukan reaksi (Dzen dkk, 2003).

Fimbria terdapat pada serotipe 1 sampai 5 dari serogrup B tetapi tidak pada serotipe 6 atau *Shigella* yang lain. Semua antigen fimbrial secara imunologis identik. Karena semua *Shigella* nonmotil, maka bakteri ini tidak memiliki antigen H (Dzen dkk, 2003).

2.1.5 Toksin

Shigella menghasilkan toksin yang disebut Shigatoksin. *Shigella* mengadakan multiplikasi tanpa invasi di dalam jejunum kemudian memproduksi toksin. Toksin ini kemudian berikatan dengan reseptor dan menyebabkan aktivasi proses sekresi. Diare cair yang tampak pada awal penyakit merupakan tanda dari sifat enterotoksik shigatoksin.

Selanjutnya, perjalanan penyakit melibatkan usus besar dan invasi jaringan di mana aksi shigatoksin akan memperberat gejalanya. Efek enterotoksik shigatoksin lebih pada penghambatan absorpsi elektrolit, glukosa, dan asam amino dari lumen intestinal (Dzen dkk, 2003).

2.1.6 Patogenesis dan Patologi

Mekanisme terjadinya diare akibat kuman enteropatogen termasuk yang diakibatkan *Shigella* meliputi perlekatan (adhesi) bakteri pada sel epitel kemudian berkembang biak sehingga jumlahnya meningkat, kemudian invasi ke dalam mukosa. Pada fase adhesi ini bias dengan atau tanpa kerusakan pada mukosa. Satu bakteri dapat menggunakan satu atau lebih mekanisme tersebut untuk mengatasi pertahanan mukosa usus. Bakteri *Shigella* selain melakukan invasi melalui membran basolateral usus untuk masuk ke epitel, juga menghasilkan toksin shiga yang bersifat sitotoksik (Houghton Mifflin Company, 2006).

Pada autolisis, semua *Shigella* mengeluarkan toksin liposakaridanya. Endotoksin ini mungkin berpengaruh pada iritasi dinding usus. *Shigella dysenteriae* tipe 1 (*shiga bacillus*) memproduksi eksotoksin yang tidak tahan panas yang mempengaruhi usus dan susunan saraf pusat. Eksotoksin merupakan sebuah protein yang antigenik (merangsang produksi antitoksin) dan mematikan pada binatang percobaan. Berlaku seperti enterotoksin, mereka menyebabkan diare seperti *E. coli* verotoksin, mungkin dengan mekanisme yang sama. Pada manusia, eksotoksin juga menghambat penyerapan gula dan asam amino pada usus kecil.

Berlaku seperti "neurotoksin", materi ini menyebabkan rasa sakit yang hebat dan infeksi *Shigella dysenteriae* yang fatal dan pada reaksi susunan saraf pusat yang diamati pada penderita disentri (Brooks *et al*, 2004).

Eksotoksin yang diproduksi oleh *Shigella dysenteriae* tipe 1 ini sangat berpotensi untuk meningkatkan kerusakan vaskuler lokal dan dapat menyebabkan apoptopsis pada sel-sel tertentu. Distribusi sistemik dari toksin ini dapat mengakibatkan mikroangiopati pada ginjal yang dapat menyebabkan terjadinya HUS (*Haemolytic Uremic Syndrome*) (Gillespie, 2006).

2.1.7 Patofisiologi

Sebanyak 200 basil *Shigella* masuk ke dalam usus dapat mengakibatkan

infeksi dan *Shigella* dapat bertahan terhadap keasaman sekresi lambung selama 4 jam.

Sesudah masuk melalui mulut dan mencapai usus, bakteri invasif ini di dalam usus besar memperbanyak diri. *Shigella* sebagai penyebab diare mempunyai 3 faktor virulensi yaitu :

- Dinding polisakarida sebagai antigen halus
- Kemampuan mengadakan invasi enterosit dan proliferasi
- Mengeluarkan toksin sesudah menembus sel (Jawetz *et al*, 2004).

Struktur kimiawi dari dinding sel tubuh bakteri ini dapat berfungsi sebagai antigen O (somatik) adalah sesuatu yang penting dalam proses interaksi bakteri *shigella* dengan sel enterosit.

Dupont tahun 1972 dan Levine tahun 1973 mengutarakan bahwa *Shigella* seperti *Salmonella* setelah menembus enterosit dan berkembang didalamnya sehingga menyebabkan kerusakan sel enterosit tersebut. Peradangan mukosa memerlukan hasil metabolit dari kedua bakteri dan enterosit, sehingga merangsang proses endositosis sel-sel yang bukan fagositik untuk menarik bakteri ke dalam vakuola intrasel, yang mana bakteri akan memperbanyak diri sehingga menyebabkan sel pecah dan bakteri akan menyebar ke sekitarnya serta menimbulkan kerusakan mukosa usus. Sifat invasive dan pembelahan intrasel dari bakteri ini terletak dalam plasmid yang luas dari kromosom bakteri *shigella* (Jawetz *et al*, 2004).

2.1.8 Manifestasi Klinis

Shigellosis yang merupakan kumpulan gejala yang ditimbulkan oleh bakteri *Shigella* timbul dengan gejala nyeri abdomen, demam, buang air besar berdarah, dan feses berlendir.

Keadaan yang lebih buruk dapat menunjukkan tanda-tanda dehidrasi, kejang, dan meningeal.

Selain itu, pada bayi dan orang-orang yang malnutrisi, *Shigella* ini dapat menyebabkan terjadinya sepsis (Gillespie, 2006). Pada disentri *shigellosis*, pada permulaan sakit, bisa terdapat diare encer tanpa darah dalam 6- 24 jam pertama, dan setelah 12-72 jam sesudah permulaan sakit

didapatkan darah dan lendir dalam tinja (Muhsin, 2009). Lamanya gejala rata-rata pada orang dewasa adalah 7 hari, pada kasus yang lebih parah menetap selama 3-4 minggu (Houghton Mifflin Company, 2006). Manifestasi ekstrakranial shigellosis dapat terjadi, termasuk gejala pernafasan, gejala neurologis seperti meningismus, dan Hemolytik Uremic Syndrome. Arthritis oligoartikular asimetris dapat terjadi hingga 3 minggu sejak terjadinya disentri (Houghton Mifflin Company, 2006).

Pada fase pemulihan, kebanyakan orang mengeluarkan basil disentri dalam waktu singkat, tetapi beberapa orang tetap menjadi karier usus kronik dan dapat mengalami rekurensi. Setelah sembuh dari infeksi, kebanyakan orang membentuk antibodi sirkulasi terhadap *Shigella*, tetapi antibodi ini tidak mencegah terjadinya reinfeksi (Brooks *et al*, 2004).

2.1.9 Diagnostik Laboratorium

2.1.9.1 Spesimen

Organisme ini pada umumnya ditemukan dalam jumlah yang banyak di mukosa usus atau pada feses. Pemeriksaan sebaiknya dilakukan pada feses segar atau dapat juga dilakukan hapusan rektum yang dapat digunakan untuk biakan. Pada feses yang dalam keadaan basa, *Shigella* dapat bertahan hidup beberapa hari, namun jika keadaan feses asam maka *Shigella* hanya dapat bertahan beberapa jam saja. Oleh karena itu, feses sebaiknya disimpan dalam cairan *buffer* yaitu gliserol salin 30%. Untuk diagnosis pada area epidemik, dapat ditegakkan jika *Shigella* ditemukan pada sumber air di daerah yang bersangkutan.

Bahan yang sudah didapatkan dapat dibiakkan di *deoxycholate citrate agar* (DCA), *Salmonella-Shigella* (SS) agar atau media *xylose-lysine-deoxycholate* (XLD). Koloni *Shigella* tampak kecil-kecil, pucat, atau merah muda pada DCA.

Sedangkan pada XLD, koloni dapat berwarna merah muda atau merah tua namun di daerah tepinya berwarna merah muda atau kuning (Gillespie, 2006).

2.1.9.2. Metode Biakan

Bahan pemeriksaan diinokulasikan pada medium diferensial, yaitu media yang digunakan untuk menumbuhkan mikroba tertentu serta penentuan sifat-sifatnya, misalnya agar *Mac Conkey*, media EMB (*Eosine-Methylene Blue*) agar untuk *Coliform*, media agar darah untuk menumbuhkan bakteri hemolitik. Dapat juga pada medium selektif, media yang hanya dapat ditumbuhi oleh satu atau lebih mikroorganisme tertentu, tetapi akan menghambat atau mematikan jenis lainnya, misalnya agar enterik *Hektoen*, media SS (*Salmonella-Shigella*) agar untuk *Salmonella* serta *Shigella* yang menekan *Enterobacteriaceae* lain dan organisme gram positif, media agar EMB untuk *Coliform*.

Koloni yang tidak berwarna (*lactose-negative fermenter*) selanjutnya diinokulasi ke medium agar TSI (*Triple Sugar Iron*) digunakan untuk membantu membedakan *Shigella* dan *Salmonella* dari bakteri enterik batang gram negative lain (Todar, 2008). Organisme yang menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas pada pangkal dan bagian miring yang basa di medium agar TSI, tidak menghasilkan H₂S, dan tidak motil sebaiknya dilakukan pemeriksaan aglutinasi *slide* dengan antiserum spesifik *Shigella* (Dzen dkk, 2003).

2.1.9.3. Metoda Serologi

Orang normal sering memiliki aglutinin terhadap beberapa spesies *Shigella*. Namun, serangkaian penentuan titer antibodi dapat menunjukkan peningkatan antibodi yang spesifik.

Serologi tidak digunakan untuk mendiagnosis infeksi *Shigella* (Brooks *et al*, 2004).

2.2 Terapi Antimikroba

2.2.1 Spektrum Antimikroba

Agan antimikroba yang ideal memperlihatkan prinsip toksisitas selektif, yang berarti bahwa obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Prinsip toksisitas selektif adalah perbedaan antara struktur sel mikroba dengan sel hospes. Toksisitas selektif juga bersifat relatif, dapat berupa reseptor spesifik untuk perlekatan atau hambatan proses biokimia obat antimikroba terhadap mikroba tetapi tidak terhadap hospes. Obat antimikroba mempunyai selektif toksisitas yang tinggi oleh karena sel manusia dengan sel bakteri (prokariot) berbeda dalam hal dinding sel, komponen membran sel, struktur ribosom, dan metabolismenya (Dzen dkk, 2003).

Secara umum, obat antimikroba yang ideal mempunyai sifat-sifat sebagai berikut (Dzen dkk, 2003):

1. Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak hospes;
2. Bersifat bakterisidal dan bukan bakteriostatik;
3. Tidak menyebabkan resistensi pada kuman;
4. Berspektrum luas;
5. Tidak bersifat alergenik atau tidak menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu yang lama;
6. Tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh atau eksudat;
7. Larut di dalam air dan stabil;
8. Kadar bakterisidal di dalam tubuh cepat tercapai dan bertahan untuk waktu lama.

2.2.2 Mekanisme Kerja Obat Antimikroba

Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja yang

berbeda antara obat satu dengan yang lainnya. Antimikroba mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka yaitu dinding sel, protein, asam nukleat, dan metabolit intermedier.

2.2.2.1 Menghambat Sintesa Dinding Sel

Dinding sel bakteri berfungsi sebagai pelindung osmotik protoplasma di bawahnya dari trauma baik osmotik maupun mekanik. Tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel akan mendorong cairan dari dalam sel bakteri sehingga terjadi kebocoran dan kematian sel kuman.

Hal ini menjadi dasar efek bakterisidal pada bakteri. Contoh antimikroba jenis ini adalah β -laktam (penisilin dan cephalosporin) (Cowman, 1999).

2.2.2.2 Menghambat Fungsi Membran Sel

Membran sel merupakan pembatas membran bagi bebasnya difusi antara lingkungan dalam dan luar sel. Gangguan dalam keutuhan membran sel tersebut dapat menyebabkan terjadinya kebocoran dan kematian sel, mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi dalam sel, menghambat proses pernafasan dan aktivitas biosinteti tertentu yang secara keseluruhan mempengaruhi kehidupan sel bakteri itu sendiri. Contohnya antimikroba jenis ini adalah polimksin yang berikatan dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri sehingga merusak struktur membran sel tersebut (Cowman, 1999).

2.2.2.3 Menghambat Sintesa Protein

Sintesa protein merupakan hasil dari 2 proses utama yaitu transkripsi dan translasi. Sintesa ini terjadi pada ribosom. Streptomisin dapat berikatan dengan ribosom 30S sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA

dan terbentuk protein abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri (Cowman, 1999).

2.2.2.4 Menghambat Sintesa Asam Nukleat

Sintesa asam nukleat erat kaitannya dengan proses duplikasi dan transkripsi. Setiap zat yang mengganggu sintesa ini akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme sel bakteri. Rifampisin dapat berkaitan dengan enzim Polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Cowman, 1999).

2.2.2.5 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme seringkali dihambat oleh senyawa-senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa ini bergabung dengan enzim tersebut sehingga mencegah kombinasi substrat-enzim dan reaksi-reaksi katalitik. Sulfonamid berkompetisi dengan PABA (*Para-AminoBenzoic Acid*) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kelangsungan hidup bakteri terganggu (Cowman, 1999).

2.2.3 Mekanisme Resistensi Mikroba terhadap Obat

Ada beberapa mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap obat antimikroba.

- Mikroba memproduksi enzim yang merusak obat

Contoh : Stafilokokus memproduksi enzim β -laktamase yang memecah cincin β -laktam dari obat penisilin. Bakteri Gram negatif dapat menghasilkan enzim adenilase, asetilase, fosforilase yang merusak obat aminoglikosida, atau

menghasilkan enzim asetiltransferase yang merusak kloramfenikol (Dzen dkk, 2003).

- Mikroba mengubah permeabilitas membran selnya
Resistensi mikroba terhadap obat yang bekerja menghambat sintesis protein, karena golongan obat tersebut perlu menembus membran sel bakteri untuk mencapai titik tangkap kerjanya, yaitu ribosom (Dzen dkk, 2003).
- Mikroba mengubah struktur target obat terhadap mikroba
Resistensi bakteri terhadap obat aminoglikosida, eritromisin oleh karena terjadi perubahan pada struktur ribosom (Dzen dkk, 2003).
- Mikroba mengembangkan jalan metabolisme baru
Bakteri yang resisten terhadap sulfonamid mampu mengambil asam folat dari luar selnya (Dzen dkk, 2003).
- Mikroba mengembangkan enzim yang tetap berfungsi untuk metabolismenya, tetapi tidak dipengaruhi oleh obat
Pada bakteri yang resisten trimetoprim, asam dihidrofolat reduktase dihambat kurang efisien daripada terhadap bakteri yang rentan trimetoprim (Brooks *et al*, 2004).
- Mikroba memperbesar produksi bahan metabolit
Bakteri yang resisten terhadap sulfonamid mampu menghasilkan PABA dalam jumlah besar. Keadaan ini justru mengakibatkan bakteri-bakteri tergantung terhadap sulfonamid untuk kelangsungan hidupnya. Mekanisme ini disebut dengan '*drug dependence*' (Dzen dkk, 2003).

2.2.4 Mekanisme Resistensi *Shigella* terhadap Antibiotik

Plasmid tertentu yang terdapat di *Shigella* mengandung gen yang bersifat memutasi.

Plasmid ini dapat mempengaruhi resisten pada kromosom bakteri.

Resisten terhadap obat salah satunya dikarenakan adanya faktor resistensi

(Faktor R). Faktor R bisa berpindah ke enteropatogen lain seperti *Salmonella*, baik secara langsung atau tidak langsung melalui organisme enterik lain seperti *E. coli*. Peralihan resistensi terhadap mikroba lain juga ditentukan oleh perantaranya yaitu plasmid yang dapat bergerak, sehingga resisten dapat menyebar dengan lebih mudah (Sack *et al*,2001).

Antibiotik TMP (Trimetoprim) dan SMZ (Sulfametoksazol) telah resisten terhadap famili *Enterobacteriaceae*. TMP mengandung senyawa diaminopirimidin, yang bersifat menghambat DHFR (Dihidrofolat Reduktase). Enzim DHFR ini mengkatalisa reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat, yang merupakan kofaktor untuk sintesis asam nukleat.

Jika terjadi variasi pada DHFR ini maka afinitas pada TMP akan turun. Antibiotik SMZ bersifat menghambat enzim yang terlibat dalam metabolisme asam folat, yaitu DHPS (*dihydroopterate synthase*). Mekanisme resistensi SMZ pada gram negatif dikarenakan perubahan pada DHPS yang disertai dengan penurunan afinitas SMZ (Sack *et al*,2001).

Antibiotik lain yang resisten terhadap bakteri gram negatif, termasuk *Shigella* adalah tetrasiklin. Tetrasiklin mengikat subunit 30S pada ribosom bakteri, mencegah ikatan *aminoacyl-tRNA*, dan menghambat sintesis protein bakteri. Mekanisme resistensi pada *Shigella* ini berhubungan dengan plasmid R. Gen yang dibawah oleh transposon atau plasmid mengodekan protein transmembran untuk mengeluarkan antibiotik tersebut (Sack *et al*,2001).

Selain itu, agen antimikroba sendiri juga berperan dalam resistensi ini. Antimikroba yang kualitasnya buruk, dapat menyebabkan penurunan atau kurangnya keseimbangan biologis pada obat-obat generik. Hal ini dapat menyebabkan konsentrasi serum dalam obat tidak optimal (Sack *et al*,2001).

2.2.5 Uji Kepekaan terhadap Antimikroba *In Vitro*

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi. Dengan penggunaan bakteri standar dan obat pembanding yang telah diketahui, metode ini dapat dipergunakan untuk mengukur potensi antibiotik lain dalam sampel atau kepekaan mikroba (Brooks *et al*, 2004).

2.2.5.1 Metode Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) dari obat antimikroba. Prinsip metode ini adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen *et al*, 2003).

2.3 Tanaman Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)

2.2.1 Karakteristik Umum

Tanaman salak pondoh memiliki golongan pohon palem rendah (Suica-Bunghez *et al*, 2016). Tanaman salak Pondoh memiliki tinggi pada umumnya tidak

lebih dari 4,5 meter, dengan batang pendek dan juga mempunyai pelepah daun yang tersusun rapat (Nazaruddin et al., 1990). Akarnya berjenis serabut, menjalar datar di bawah tanah tidak luas serta dangkal. Daun tanaman salak tersusun roset, bersirip terputus, panjang 2,5 – 7 m. Batang, pangkal pelepah, tepi daun dan permukaan buahnya dilapisi duri tempel (Santoso, 1990).

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

2.2.2 s Klasifikasi Tanaman Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)

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

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Principes
Familia : Palmae

Genus : *Salacca*

Spesies : *Salacca zalacca* (Gaert.) Voss.

Sinonim : *Salacca edulis* Reinw.



Gambar 2.2 Buah Salak Pondh (*Salacca zalacca*)

2.2.3 Kandungan Kimia Salak Pondoh (*Salacca zalacca*)

Buah dan kulit salak memiliki kandungan kimia diantaranya adalah alkaloid, flavonoid dan tanin setelah diuji secara fitokimia (Syahputra, 2008). Senyawa-senyawa alkaloid pada buah salak pondoh tersebut memiliki efek antimikroba dan antiviral sebagai pembunuh virus, dan juga mempunyai senyawa alkaloid mempunyai efek yang sama persis.

2.2.4 Peran Ekstrak Kulit Buah Salak Pondoh (*Salacca zalacca*) sebagai Antibakteri

2.2.4.1 Alkaloid

Senyawa alkaloid adalah metabolit basa yang memiliki beragam struktur kimia dan mengandung nitrogen. Sebagian besar senyawa alkaloid dibentuk dari asam amino (Herbert, 1988). Banyak senyawa alkaloid yang khas dari suatu tumbuhan tertentu. dalam dosis kecil dapat memberikan efek farmakologis pada

manusia. Sebagai contoh, morfina sebagai pereda rasa sakit, reserfina sebagai obat penenang, atrofina berfungsi sebagai antispasmodia, kokain sebagai anestetik lokal, dan strisina sebagai stimulan syaraf (Mohamed et al., 1994).

Alkaloid diprediksi dapat menjadi antimikroba melalui penghambatan sintesis dinding sel (peptidoglikan) bakteri yang akan membuat dinding sel tidak utuh dan kemudian menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Robinson, 1995).

2.2.4.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa polifenol yang terdiri dari 3000 struktur yang mempunyai inti flavon C-15 yang sama yaitu cincin benzena (A dan B) yang berikatan dengan oksigen (Karou, 2010). Flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler, flavonoid tersusun dari dua cincin aromatis yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga dengan susunan C₆-C₃-C₆. (Cowan, 1999).

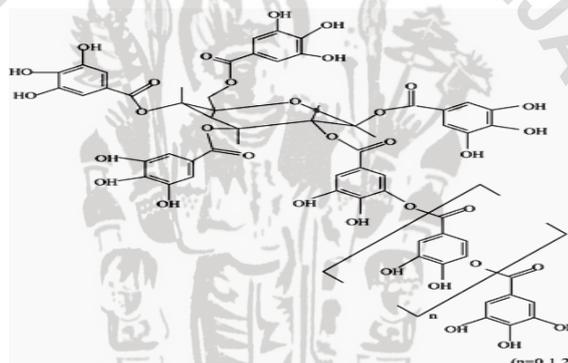
Selain itu flavonoid juga berperan dalam menghambat sintesis DNA – RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat. Senyawa ini juga berperan dalam menghambat metabolisme energy dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul (Cushnine et al (2005).

2.2.4.3 Tanin

Tanin adalah senyawa fenolik yang larut dalam air serta dapat mengendapkan protein dari larutan (Gunawan 2007). Mekanisme kerja tanin adalah dengan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nurita et al., 2009). Tannin memiliki

aktifitas sebagai antibakteri karena memiliki kemampuan untuk menginaktivkan adhesin sel mikroba, enzim, dan mengganggu transport protein pada pada lapisan dalam sel (Cowan, 1994). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari et al., 2011).

Selain itu, mikroorganismenya yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menyebabkan toksisitas. Hal ini disebabkan oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin (Akiyama et al., 2001). Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antibakteri. Senyawa ini akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel bakteri (Arsyi, 2008).



Gambar 2.3 Struktur kimia tanin (Liu L et.al., 2004)

2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif dari Bahan Alam

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu (Tobo, 2001). Ekstraksi bertujuan sebagai penyarian suatu komponen kimia dari bagian tanaman maupun hewan. Dalam sel tanaman, proses pengekstraksian komponen kimia adalah pelarut akan

menembus dinding sel tanaman, lalu masuk ke dalam rongga sel yang mengandung komponen kimia, komponen kimia tersebut nantinya akan larut dalam pelarut di luar sel, larutan terpekat akan berdifusi dari dalam ke luar sel dan proses ini akan berlangsung terus-menerus hingga terjadi keseimbangan konsentrasi komponen kimia di luar dan di dalam sel (Adrian, 2000).

Jenis ekstraksi dari bahan alam yang sering digunakan adalah secara panas dengan cara sokletasi, refluks, infus, dan secara dingin dengan perkolasi dan maserasi (Hamdani, 2011). Metode maserasi ini bertujuan untuk ekstraksi simplisia dengan kandungan komponen kimia yang mudah larut dalam cairan pelarut. Kelebihan metode maserasi adalah cara dan peralatan pengerjaan yang digunakan sederhana dan mudah (Adrian, 2000). Tetapi metode ini memiliki beberapa kekurangan yaitu waktu yang digunakan cukup lama, dan bahan pelarut yang digunakan lebih banyak (Luthana, 2013).

Pelarut untuk ekstraksi terdiri dari, pelarut non polar, seperti diklorometan, benzena, dan kloroform. Pelarut semipolar seperti aseton, dan etil asetat. Pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol (Ansel, 2008). Etanol adalah sering digunakan sebagai pelarut pada banyak bahan kimia. Cairan etanol yang tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar, dan merupakan jenis alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari (Lifton, 2012).

2.5 Cara Kerja Antimikroba

2.5.1 Menghambat Sintesa Dinding Sel

Dinding sel bakteri berfungsi sebagai pelindung osmotik protoplasma di bawahnya dari trauma baik osmotik maupun mekanik. Tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel akan mendorong cairan dari dalam sel bakteri sehingga terjadi kebocoran dan kematian sel kuman.

Hal ini menjadi dasar efek bakterisidal pada

bakteri. Contoh antimikroba jenis ini adalah β -laktam (penisilin dan cephalosporin) (Cowan, 1999).

2.5.2 Menghambat Fungsi Membran Sel

Membran sel merupakan pembatas membran bagi bebasnya difusi antara lingkungan dalam dan luar sel. Gangguan dalam keutuhan membran sel tersebut dapat menyebabkan terjadinya kebocoran dan kematian sel, mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi dalam sel, menghambat proses pernafasan dan aktivitas biosintesis tertentu yang secara keseluruhan mempengaruhi kehidupan sel bakteri itu sendiri. Contohnya antimikroba jenis ini adalah polimksin yang berikatan dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri sehingga merusak struktur membran sel tersebut (Cowan, 1999).

2.5.3 Menghambat Sintesa Protein

Sintesa protein merupakan hasil dari 2 proses utama yaitu transkripsi dan translasi. Sintesa ini terjadi pada ribosom. Streptomisin dapat berikatan dengan ribosom 30S sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA dan terbentuk protein abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri (Cowan, 1999).

2.5.4 Menghambat Sintesa Asam Nukleat

Sintesa asam nukleat erat kaitannya dengan proses duplikasi dan transkripsi. Setiap zat yang mengganggu sintesa ini akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme sel bakteri. Rifampisin dapat berkaitan dengan enzim Polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Cowan, 1999).

2.5.5 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme seringkali dihambat oleh senyawa-senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa ini bergabung dengan enzim tersebut sehingga mencegah kombinasi substrat-enzim dan reaksi-reaksi katalitik. Sulfonamid berkompetisi dengan PABA (Para-AminoBenzoic Acid) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kelangsungan hidup bakteri terganggu (Cowan, 1999).

2.6 Uji Kepekaan Antimikroba

2.6.1 Metode Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari obat antimikroba. Prinsip metode ini adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen et al, 2003).

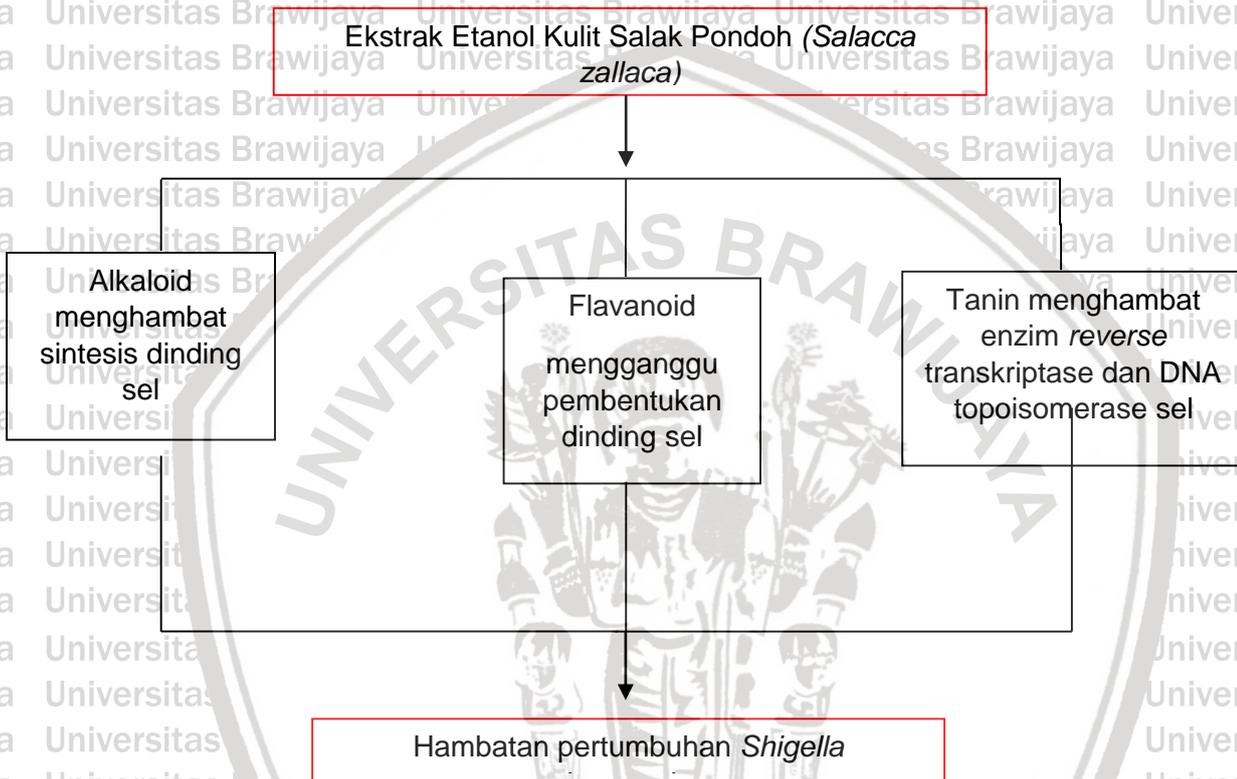
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Skema kerangka konsep penelitian

Keterangan :

Universitas = diteliti

Universitas = tidak diteliti

Pada penelitian ini digunakan ekstrak kulit salak pondoh yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shyggella dysenteriae*. Bahan aktif penghambat pertumbuhan pada kulit salak pondoh adalah Flavonoid, alkaloid dan tannin. Aktivitas flavonoid merupakan suatu zat aktif yang memiliki efek anti mikroba. Mekanisme flavonoid berkaitan dengan kemampuan membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kerusakan pada membrane sitoplasma dan terjadi gangguan pada dinding bakteri dan bakteri lisis. Sedangkan tannin memiliki efek yang hampir sama dengan flavonoid, yaitu mengganggu proses pembentukan dinding sel bakteri. Dimana tannin juga dapat menghambat enzim *reverse transkriptase* dan *DNA topoisomerase*. Tannin dapat berikatan dan menginaktivasi protein adesin yang terdapat pada reseptor permukaan bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa alkaloid dapat menjadi antimikroba melalui penghambatan sintesis dinding sel (peptidoglikan) bakteri yang akan membuat dinding sel tidak utuh dan kemudian menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Gunawan, 2009).

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) efektif sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella Dysenteriae*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Uji antimikroba secara *in vitro* dengan menggunakan *tube dilution test* untuk mengetahui aktivitas ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) sebagai antimikroba terhadap *Shigella Dysenteriae*. Proses pengekstrakan kulit salak pondoh menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Sedangkan pengujian ekstrak kulit salak pondoh sebagai antimikroba menggunakan metode dilusi tabung. *Tube dilution test* meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada media *broth* dan tahap penanaman pada medium McKonkey dengan metode *streaking* (penggoresan) yang bertujuan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal). Besarnya konsentrasi yang digunakan, ditetapkan melalui eksperimen pendahuluan.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada Februari – April tahun 2018.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit salak pondoh dan menggunakan bakteri uji *Shigella Dysenteriae* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Isolat bakteri *Shigella Dysenteriae* yang digunakan adalah bakteri dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang

berasal dari darah penderita pneumonia di Rumah Sakit Saiful Anwar (RSSA) Malang. Salak pondoh yang digunakan adalah salak pondoh yang Didapat dari salah satu penjual kripik salak di Malang.

Pada penelitian ini, digunakan 6 macam dosis konsentrasi perlakuan berbeda serta 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif, sehingga jumlah pengulangan yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus estimasi pengulangan sbb (Lukito, 1998) :

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

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7 \geq 22$$

$$n \geq 22/7$$

$$n \geq 3,1 \rightarrow 3$$

jadi besarnya pengulangan yang dilakukan adalah 3 kali

keterangan : n = jumlah pengulangan

p = jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak salak pondoh)

4.4 Variable Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak salak pondoh yang dibuat dengan konsentrasi kadar ekstrak antara lain : 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5%, KN, dan KP berdasarkan eksplorasi awal atau penelitian pendahuluan.

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar kekeruhan tabung dilusi dan jumlah koloni bakteri *Shigella Dysenteriae* yang tumbuh pada medium McKonkey.

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak salak pondoh yang mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *Shigella Dysenteriae*. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi ekstrak kulit salak pondoh dan suspensi bakteri tersebut dalam tabung setelah diinkubasikan 18-24 jam. Definisi ini tidak berlaku jika ada reaksi antara bahan aktif ekstrak dengan media *Nutrient Broth* yang menyebabkan kekeruhan pada seluruh tabung.

4.5.2 Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi minimal ekstrak salak pondoh yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri *Shigella Dysenteriae*. Hal ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni pada medium NAP setelah diinkubasikan selama 18-24 jam yang dibandingkan dengan control negatif.

4.5.3 Kontrol positif/kontrol bakteri adalah konsentrasi 0 % yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah bakteri yang digunakan terkontaminasi dengan bakteri lain. Isolat bakteri *Shigella Dysenteriae* yang digunakan adalah bakteri dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang berasal dari darah penderita pneumonia di Rumah Sakit Saiful Anwar (RSSA) Malang. Kontrol positif berasal dari larutan bakteri uji yang telah distandardisasi dengan standar *Mc Farland* 0,5 sebanyak 2 ml.

4.5.4 Kontrol negatif/control bahan adalah konsentrasi yang digunakan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril. kontrol negatif dibuat dari kulit

salak pondoh yang telah diekstraksi dengan etanol sebanyak 1 ml dengan aquades sebanyak 1 ml.

4.5.5 Ekstrak etanol kulit salak pondoh adalah hasil ekstraksi cair kulit salak pondoh dengan pelarut etanol dan nanti akan didapatkan senyawa aktif yang terkandung di dalam kulit ekstrak etanol kulit salak pondoh.

4.5.6 Proses ekstraksi kulit salak pondoh dilakukan di Materia Medika Batu dengan menggunakan teknik maserasi dan evaporasi. Maserasi adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstrasi bahan yaitu direndam menggunakan senyawa etanol. Evaporasi adalah penguapan etanol agar didapatkan bahan aktif yang terkandung didalamnya.

4.5.7 Untuk kadar rentang dosis yang digunakan didapatkan berdasarkan hasil penelitian pendahuluan dengan rentang 100% - 3,25%, didapatkan bakteri yang hidup dengan jumlah paling sedikit pada konsentrasi 12,5% dan koloni tidak tumbuh pada konsentrasi 25%. Pada penelitian lanjutan konsentrasi ekstrak dirapatkan menjadi 10% - 22,5%.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat untuk Pembuatan Ekstrak kulit salak pondoh

- Oven
- Timbangan
- Gelas Erlenmeyer
- Kertas saring
- Pendingin spiral/*rotator evaporator*
- Corong gelas
- Labu penampang *etanol*
- Labu evaporator

- Selang water pump
- Water pump
- Water bath
- Vacum pump

4.6.2 Bahan untuk Pembuatan Ekstrak kulit salak pondoh

- Kulit salak pondoh
- Etanol 96 %
- Aquades

4.6.3 Alat untuk Identifikasi Bakteri

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

4.6.4 Bahan untuk Identifikasi Bakteri

- Isolat *Shigella dysenteriae* pewarna gram (kristal violet, lugol, alkohol 96 %, safranin)
- Nutrient Broth
- Medium agar Mac Conkey
- Kit untuk identifikasi biokimia dengan sistem *microbact*

4.6.5 Alat untuk Tes Kepekaan Bakteri

4.6.5.1 Alat untuk Dilusi Tabung

- Tabung reaksi steril
- Rak tabung
- Ose dengan ukuran 1 μ l
- Mikropipet 1 ml
 - *Blue tip*
- Lampu spiritus
- Label
- *Vortex*
- Spektrofotometer
- Korek api
- Kapas
- Inkubator
- *Colony counter*

4.6.5.2 Alat untuk Difusi Cakram

- Mikropipet 1 ml
- *Blue tip*
- *Yellow tip*
- Cakram kosong steril
 - *Eppendorf*
- Lampu Spiritus
- Label
- *Vortex*
- Spektrofotometer
- Korek api
- Kapas



- Inkubator

4.6.6 Bahan untuk Tes Kepekaan Bakteri

- Perbenihan cair bakteri *Shigella dysenteriae*
- NaCl
- Ekstrak kulit salak pondoh
- Medium *Nutrient Broth*
- Medium NAP
- Aquades steril

4.7 Prosedur penelitian

4.7.1 Identifikasi *Shigella dysenteriae*

4.7.1.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk menyaring bakteri *Shigella dysenteriae* yang termasuk di dalam famili *Enterobacteriaceae* yang bersifat gram negatif.

Prosedur pewarnaan:

- Gelas obyek dibersihkan dengan kapas steril, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak. Lalu dibiarkan dingin.
- Satu tetes aquades steril atau larutan salin steril diteteskan pada gelas obyek.
- Dengan ose jarum yang steril, diambil sedikit koloni *Shigella dysenteriae* yang tumbuh pada medium padat kemudian disuspensikan dengan satu tetes aquades steril atau larutan salin steril yang sudah diteteskan terlebih dahulu pada gelas obyek. Hapusan sebaiknya dibuat tipis.

- Hapusan dibiarkan kering di udara. Setelah kering, hapusan difiksasi dengan cara melewatkan sediaan diatas api sebanyak tiga kali. Sediaan siap diwarnai.
- Sediaan dituangi kristal violet selama 1 menit, kemudian sisa kristal violet dibuang, lalu sediaan dibilas dengan air.
- Sediaan dituangi lugol selama 1 menit, kemudian sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
- Sediaan dituangi alkohol 96 % selama 5 - 10 detik atau sampai warna cat luntur, kemudian sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
- Sediaan dituangi safranin selama 30 detik, kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
- Dikeringkan dengan kertas penghisap.
- Dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa obyektif 100 kali, ditambahkan juga minyak imersi.
- Hasil positif: bakteri *Shigella dysenteriae* berbentuk batang dan tercat merah (Gram negatif).

4.7.1.2 Agar Mac Conkey

Agar *Mac Conkey* merupakan medium diferensial untuk bakteri yang meragikan dan tidak meragikan laktosa.

Prosedurnya:

- Dilakukan inokulasi bakteri *Shigella dysenteriae* dengan metode penggoresan pada medium *Mac Conkey* agar.
- Diinkubasi pada inkubator dengan suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 18 - 24 jam dan diamati hasilnya.
- Pengamatan mikroskopis dikatakan hasil positif jika pada pengamatan pada media agar, ditemukan morfologi koloni bakteri *Shigella dysenteriae*.

- yang berbentuk konveks, bulat, transparan dengan tepi yang utuh dan mencapai diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam, serta khas pada medium didapatkan koloni tidak berwarna (*non lactose fermenter*).

4.7.2 Pembuatan Suspensi *Shigella dysenteriae*

Cara membuat larutan *Shigella dysenteriae* dengan kepadatan akhir 10^6 CFU/ml yaitu:

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

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

Keterangan :

N_1 = Hasil spektrofotometri

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

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

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

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

- Dilakukan pengenceran suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml sebanyak 100 kali untuk mendapatkan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml, caranya:
Dari 10 ml bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml *Nutrient broth* sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^7 CFU/ml. Lalu dari larutan dengan konsentrasi bakteri 10^7 CFU/ml tersebut diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml *Nutrient broth* sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^6 CFU/ml (Dzen dkk, 2003).

4.7.3 Uji Sensitivitas Antimikroba

- 1) Ekstrak Kulit salak pondoh disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit agar larutan ekstrak menjadi homogen dan tidak mengendap. Untuk perlakuan yang diambil adalah larutannya.
- 2) Sediakan 8 tabung reaksi steril kemudian diberi label 0% , 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% dan KB (kontrol bahan). Kontrol bahan adalah ekstrak. Konsentrasi ekstrak 0% adalah biakan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml.
- 3) Tabung reaksi 1 diisi dengan 2 ml suspense bakteri.
- 4) Tabung 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 diisi dengan aquades steril sebanyak 0,992 ml; 0,984 ml; 0,969 ml; 0,937 ml; 0,875 ml; 0,750 ml kemudian diisikan dengan ekstrak kulit salak pondoh sebanyak 0,008 ml; 0,016 ml; 0,031 ml; 0,063 ml; 0,125 ml; 0,250 ml.
- 5) Selanjutnya ditambahkan suspense bakteri sebanyak 1 ml pada tabung 2-7 sedangkan pada tabung 8 sebagai control bahan ditambahkan 2 ml ekstrak kulit salak pondoh.

6) Dari tabung reaksi 1 diambil larutan sebanyak 1 ose kemudian dilakukan penggoresan pada NAP untuk membuat *original inoculum*.

7) Tabung 1-8 diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37-37,5°C.

8) Hari ke-2 semua tabung dikeluarkan dari incubator. Tabung no. 2-7 dibandingkan kekeruhannya dengan tabung no. 1 untuk menentukan KHM lalu dari tabung no. 1-8 diambil larutan sebanyak 1 ose kemudian dilakukan penggoresan pada 8 NAP.

9) Untuk mengetahui KBM dilakukan penggoresan tabung hasil inkubasi hari k-2 pada NAP kemudian diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37-37,5°C.

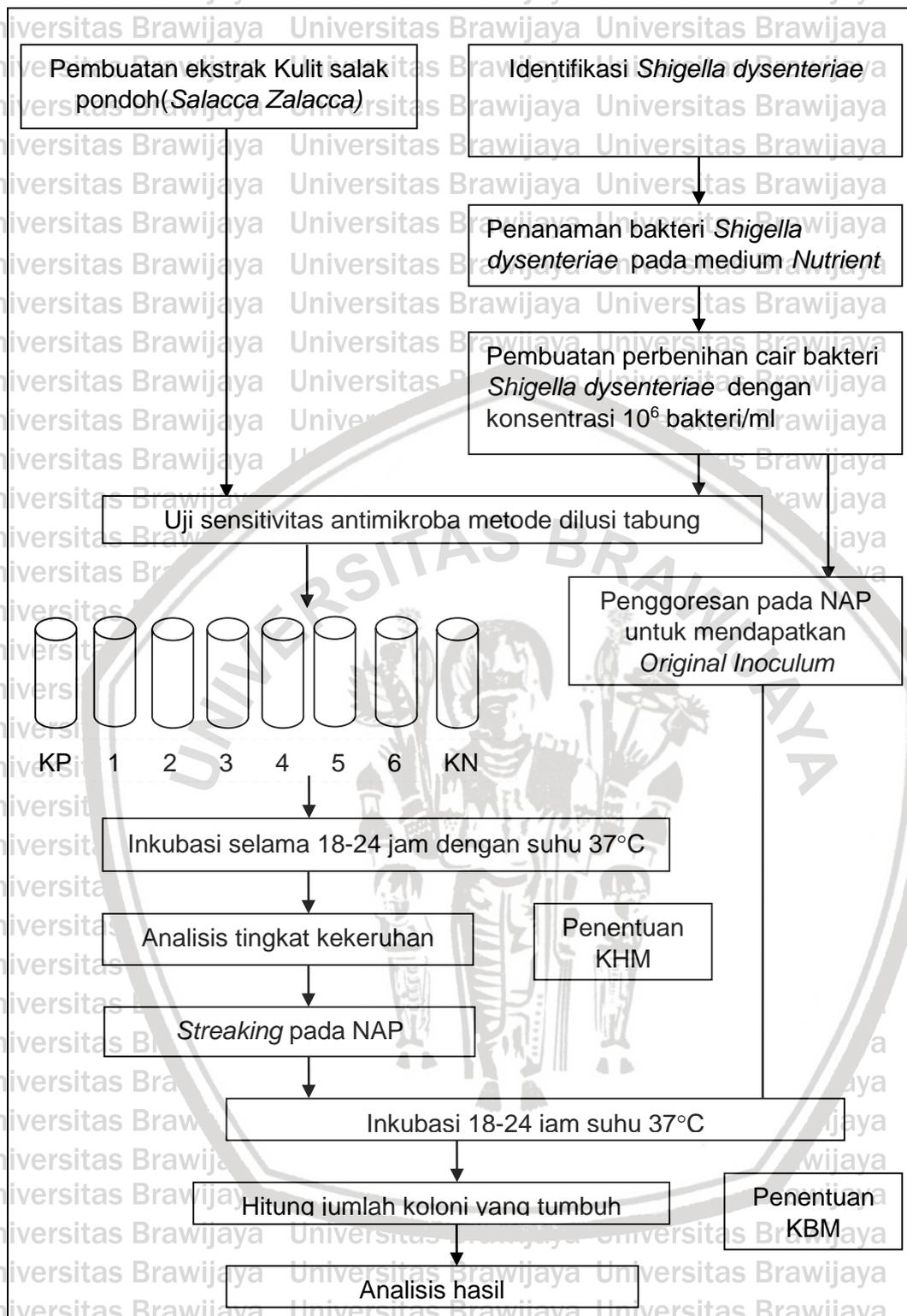
10) Jumlah koloni pada masing-masing NAP dihitung dengan *colony counter*. Konsentrasi terendah dengan jumlah koloni kurang dari 0,1% *original inoculum* adalah KBM.

11)

4.7.4 Alur penelitian

Alur kerja penelitian dapat dilihat pada skema dibawah ini.

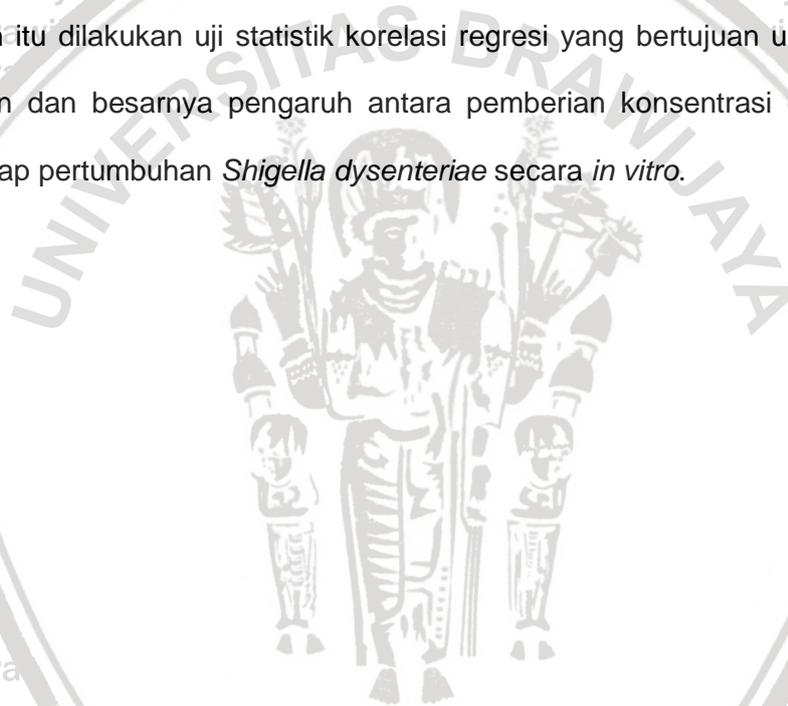




4.8 Analisis Data

Dari data penelitian yang diperoleh dapat dibuat analisis statistiknya. Data penelitiannya adalah jumlah koloni *Shigella dysenteriae* dan analisis data yang digunakan adalah *one-way* ANOVA. Dengan menggunakan *one-way* ANOVA, maka akan diketahui apakah ada perbedaan pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh terhadap jumlah koloni *Shigella dysenteriae*. Dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc test* (*Tukey's Test*), untuk mengetahui konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh yang menyebabkan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* yang dihasilkan pada medium NAP cenderung berbeda secara signifikan atau tidak.

Setelah itu dilakukan uji statistik korelasi regresi yang bertujuan untuk menentukan arah hubungan dan besarnya pengaruh antara pemberian konsentrasi ekstrak kulit salak pondoh terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

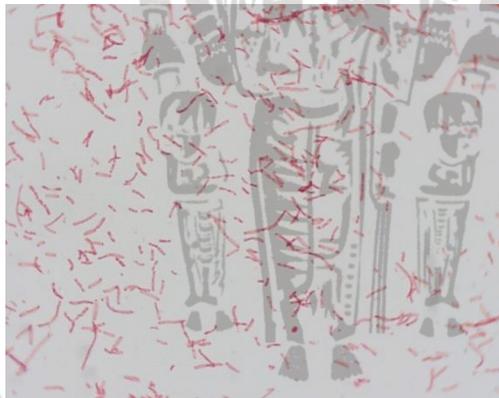
5.1 Hasil penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Shigella Dysenteriae*

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Shigella dysenteriae* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum melakukan penelitian, dilakukan identifikasi ulang yang meliputi pewarnaan gram dan uji biokimiawi dengan menggunakan *microbact identification kit*. Sebelum dilakukan uji *microbact*, bakteri diuji oksidase dengan menggoreskan koloni bakteri pada stick oksidase dan dibiarkan 5 menit.

Hasilnya menunjukkan oksidase negatif, yaitu dengan tidak adanya perubahan warna stick menjadi biru tua. Setelah itu dilanjutkan uji *microbact* dengan memasukan *suspense* bakteri ke dalam 12A/E sumuran *microbact* system dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C.

Hasil identifikasi bakteri dapat dilihat pada gambar 5.1 dan Gambar 5.2



Gambar 5.1 Pewarnaan Gram (bentuk batang, gram negatif, dan berwarna merah)

Result / Resultado / Ergebnis / Resultat / Risultato / Resultat / Resultat / Αποτέλεσμα	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sum / Συνα / Summa / Somme / Σομα / Σομ / Αθροισμα	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
				0			6			2			0														

Identification / Identificación / Identifikation / Identificazione / Identification / *Shigella dysenteriae* 87,21%

Gambar 5.2 Hasil Identifikasi *Shigella dysenteriae* dengan *Microbact system* (Akurasi bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar 87,21%)

5.2 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Shigella dysenteriae*

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan enam macam konsentrasi ekstrak etanol kulit salak pondoh, dengan variasi konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5%, 25% serta konsentrasi 0% (bakteri tanpa ekstrak) dan konsentrasi 100% (bahan ekstrak) sebagai kontrol positif dan negatif. Pengamatan pertumbuhan bakteri untuk menentukan KHM menggunakan dilusi tabung dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung yang dibantu kertas putih bergaris garis hitam yang diposisikan tepat di belakang tabung.

Pada tabung dengan konsentrasi ekstrak paling tinggi merupakan tabung yang paling jernih. Hal ini disebabkan oleh sudah tidak adanya koloni bakteri *Shigella dysenteriae* pada tabung konsentrasi tertinggi. Sedangkan untuk konsentrasi dibawahnya terlihat semakin kurang jernih, demikian seterusnya.

Perbandingan tingkat kejernihan pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada:

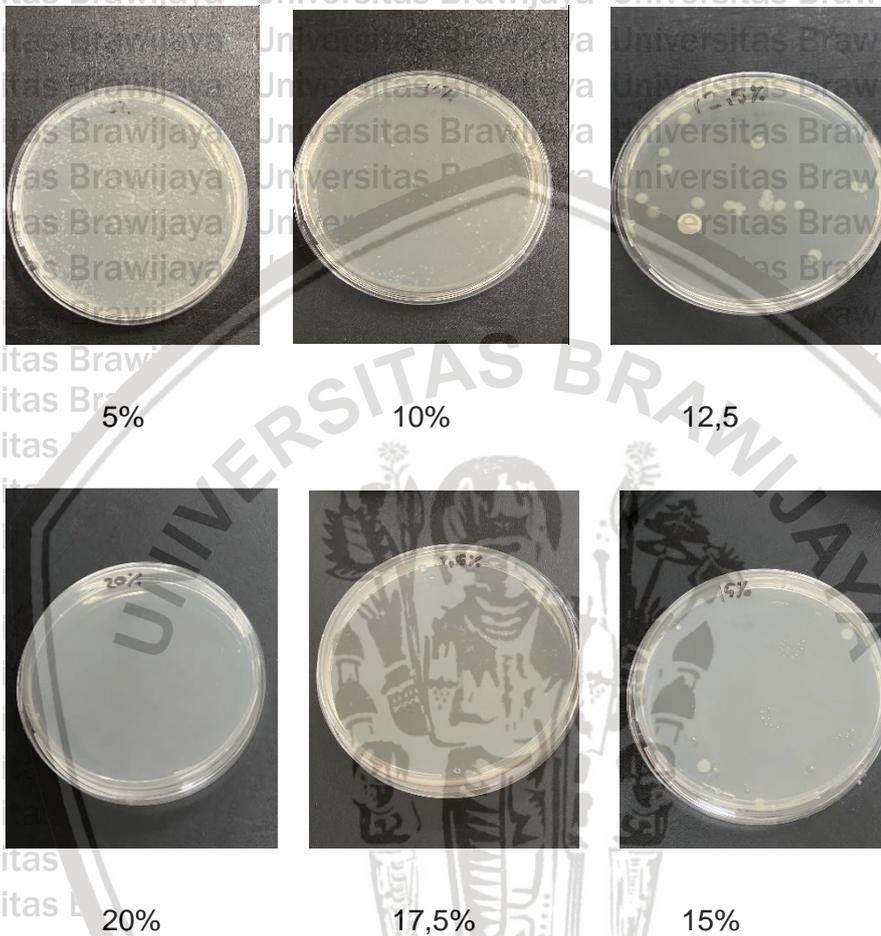


Gambar 5.3 Uji Dilusi Tabung Perbandingan Tingkat Kekeruhan Tiap Konsentrasi Ekstrak Setelah Diinkubasi

Dari Gambar . setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dapat dilihat bahwa dari konsentrasi 10% sampai dengan 22,5% tidak tampak perbedaan warna yang signifikan karena semua konsentrasi terlihat jernih dan cenderung sama. Maka Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak etanol kulit salak podoh terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* tidak dapat ditentukan.

Masing-masing konsentrasi kemudian di *streaking* pada NAP (Nutrient Agar Plate) kemudian di inkubasikan pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, maka dilakukan pengamatan dan perhitungan jumlah pertumbuhan koloni bakteri pada masing-masing *plate*.

Hasil pengamatan dapat dilihat pada sampel gambar berikut



Gambar 5.4. Pertumbuhan koloni *Shigella Dysenteriae* Medium NAP

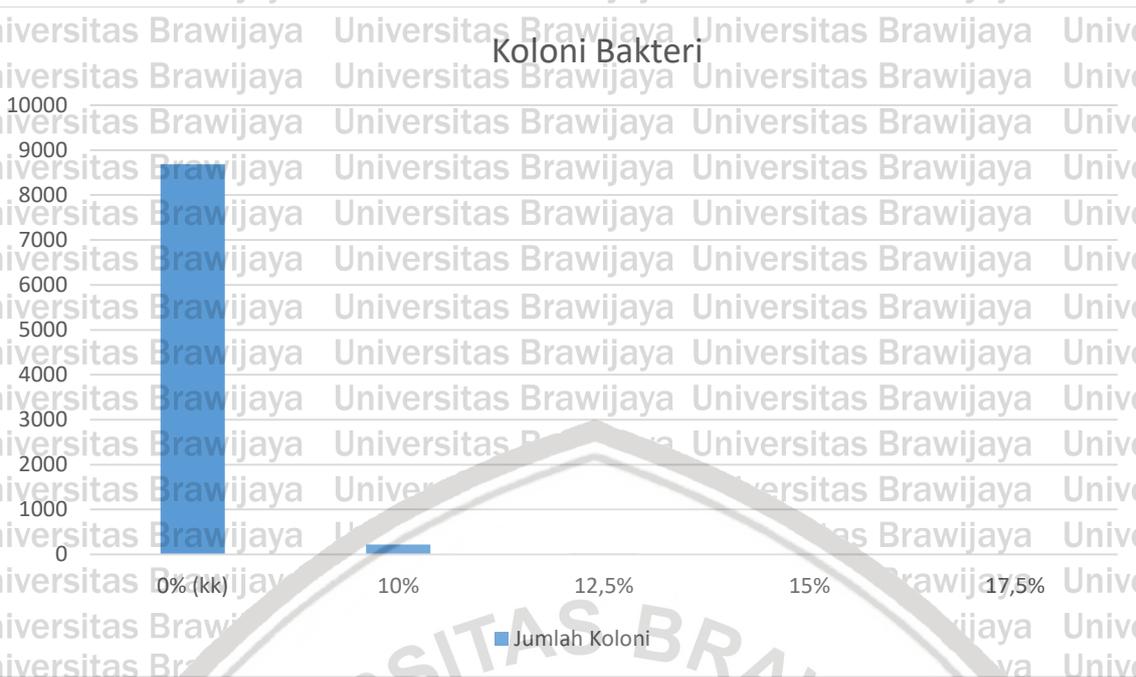
Pada tabung dengan konsentrasi ekstrak 0% (kontrol positif) dilakukan pengenceran suspensi bakteri dengan larutan NaCl sebanyak 1000x sebelum di streaking pada NAP, Sedangkan pada konsentrasi 10%; 12,5%; 15%; 17,5%, 20% tidak diencerkan karena dapat dihitung. Apabila pada ekstrak 0% tidak dilakukan pengenceran maka akan didapatkan pertumbuhan koloni bakteri yang sangat padat dan tidak dapat dihitung secara kuantitatif pada *colony counter*, oleh sebab itu pengenceran ini bertujuan untuk memudahkan dalam perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada NAP dengan konsentrasi ekstrak sebenarnya. Untuk mengetahui jumlah koloni bakteri pada berbagai kelompok perlakuan maka disajikan dalam tabel:

Tabel 5.1. Hasil Pengukuran Kadar Bunuh Minimum *Shigella Dysenteriae*

Konsentrasi Ekstrak	Pengulangan				Jumlah Koloni*	Rata-Rata Koloni (SD)
	1	2	3	4		
0% (kk) **	12.811	10.952	5.727	5.225	34.715	8.678,7 (± 3780,8)
10% *	334	230	184	124	872	218 (± 88,8)
12,5% *	22	20	7	0	49	12.2 (± 10,5)
15% *	4	1	1	1	7	1,7 (± 1,5)
17,5% *	0	0	0	0	0	0

Keterangan : Ekstrak 0% dikalikan pengenceran 1000x dengan rumu $\pi \chi r^2$

Dari pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysenteriae* tersebut dapat ditentukan KBM dari ekstrak etanol daun kulit salak pondoh yaitu pada konsentrasi 17,5 % dimana pada konsentrasi ini tidak didapatkan pertumbuhan koloni sama sekali.



Gambar 5.5. Grafik rata-rata jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dengan kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak etanol Kulit Salak Pondoh

5.3 Analisis Data

5.3.1 Uji homogenitas data

Sebelum dilakukan pengujian dengan menggunakan ANOVA, data yang diperoleh untuk setiap perlakuan dianalisa kehomogean ragamnya dengan menggunakan uji *homogeneity of variance* (uji lavene) dengan tujuan untuk mengetahui apakah data yang digunakan mempunyai ragam yang sama.

Pada hasil pengujian menunjukkan nilai dari levane test memiliki signifikansi lebih kecil dari alpha 0,05. Nilai $p(0,000) < 0,05$, maka H_0 ditolak dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang tidak homogen.

Tabel 5.2. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

jml_koloni			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
61,189	4	15	,000

5.3.2 Uji Normalitas Data

Selain uji kehomogenan ragam juga dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan uji *kolmogorov-smirnov test*.

Dari hasil pengujian menunjukkan nilai dari *kolmogorov-smirnov test* dengan hasil signifikansi ($p=0,135$) > 0,05 untuk konsentrasi, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang ada terdistribusi normal. Dengan demikian pengujian dengan menggunakan ANOVA tidak dapat dilakukan karena data tidak homogen.

Tabel 5.3. Hasil Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	23,54688819
Most Extreme Differences	Absolute	,169
	Positive	,169
	Negative	-,097
Test Statistic		,169
Asymp. Sig. (2-tailed)		,135 ^c

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.

5.3.3 Uji Kruskal-Wallis

Tabel 5.4. Hasil Uji Kruskal-Wallis

Nilai Uji	Jumlah koloni
Chi-Square	17,167
df	4
Asymp. Sig.	,002

Hasil uji kruskal wallis didapatkan nilai p ($0,002 < 0,05$) menunjukkan minimal salah satu dari konsentrasi yang diunakan berbea dengan konsentrasi yang lain. Hal ini menunjukkan konsentrasi ini menimbulkan perbedaan signifikan terhadap jumlah koloni.

5.3.4 Uji Mann-Whitney

Tabel 5.5. Hasil Uji Mann-Whitney

Konsentrasi (i)	Konsentrasi (j)	p-value	alfa	Keterangan
0%	10%	0,021	0,05	Berbeda nyata
	12,5%	0,021	0,05	Berbeda nyata
	15%	0,018	0,05	Berbeda nyata
	17,5%	0,014	0,05	Berbeda nyata
10%	12,5%	0,021	0,05	Berbeda nyata
	15%	0,018	0,05	Berbeda nyata
	17,5%	0,014	0,05	Berbeda nyata
12,5%	15%	0,237	0,05	Berbeda nyata
	17,5%	0,047	0,05	Berbeda nyata
15%	17,5%	0,011	0,05	Berbeda nyata

Berdasarkan tabel di atas, maka didapatkan bahwa konsentrasi ekstrak 0% mempunyai perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, dan 17,5% karena memiliki p-value < 0,05. Konsentrasi 10% mempunyai perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 12,5%, 15%, dan 17,5% karena memiliki p-value < 0,05. Konsentrasi 12,5% tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 15% karena memiliki p-value > 0,05. Konsentrasi 12,5% mempunyai perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 17,5% karena memiliki p-value < 0,05. Konsentrasi 15% mempunyai perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 17,5% karena memiliki p-value < 0,05.

5.3.5 Uji Korelasi Spearman

Uji ini digunakan untuk menganalisa hubungan antara dua variabel. Data yang digunakan tidak hanya satu sumber saja, tetapi bisa lebih. Pada penelitian ini terdapat dua sumber data yaitu variabel X dan Y.

Tabel 5.6. Hasil Uji Korelasi Spearman

Parameter	Parameter	Korelasi	p-value
Konsentrasi	Jumlah koloni	-0.940	0,000

Berdasarkan pada Tabel didapat koefisien korelasi yg dapat ditunjukkan besar hubungan antara variabel konsentrasi dan jumlah koloni. Nilai R (koefisien korelasi) sebesar 0,940. Nilai tersebut menunjukan bahwa hubungan antara variabel konsentrasi tersebut dan jumlah koloni termasuk kategori sangat kuat karena berada diantara. Hubungan arah yang negatif menunjukkan jika semakin meningkat konsentrasi maka akan diikuti penurunan jumlah koloni. Korelasi antara konsentrasi dan jumlah koloni memiliki nilai P- value sebesar 0,000 < 0,05 sehingga memiliki hubungan bermakna.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan bakteri *Shigella dysenteriae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum bakteri digunakan untuk penelitian, dilakukan beberapa uji identifikasi ulang terhadap *Shigella dysenteriae*. Dari hasil pewarnaan gram didapatkan bakteri gram negative, sel berbentuk batang pendek dan berwarna merah. Sedangkan dari uji Microbact 12A/E didapatkan akurasi bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar 87,2% artinya bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 87,2% benar-benar *Shigella dysenteriae*, sebagian tidak menunjukkan hasil 100% pada laboratorium Mikrobiologi FKUB dikarenakan banyak faktor seperti suhu, tekanan osmosis, kadar oksigen dan kadar air.

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dengan cara ekstraksi bahan proses *maserasi* dengan etanol 96%. Ekstrak telah mengalami proses evaporasi dan oven pada suhu 80° sedangkan titik didih etanol 78° celcius sehingga diperkirakan ethanol sudah menguap (Siswandono,SB.1995). Ekstrak yang dipakai yaitu kulit salak pondoh berwarna coklat gelap tingkat kekeruhan ekstrak tersebut tidak dapat diamati sehingga kurang efektif menentukan kadar hambat minimum (KHM). Namun KHM dapat ditentukan melalui metode lain yaitu *Agar dilution test*, metode cakram, dan spektrofotometri.

Untuk menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM), perlu dilakukan penelitian eksplorasi terlebih dahulu. Konsentrasi yang digunakan adalah 22,5%, 20%, 17,5%, 15%, 12,5%, 10%, dan 0%. Dapat dilihat langsung kadar bunuh nya terdapat di 20%.

Aktifitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Selanjutnya senyawa ini juga akan kontak dengan DNA pada inti sel bakteri dan dengan adanya perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid dapat terjadi reaksi sehingga akan merusak struktur lipid dari DNA bakteri sehingga inti sel bakteri juga akan lisis dan bakteri mati (Gunawan, 2009).

Mekanisme kerja tanin adalah dengan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria et al., 2009). Tannin memiliki aktifitas sebagai antibakteri karena memiliki kemampuan untuk menginaktivkan adhesin sel mikroba, enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1994). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari et al., 2011).

Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antibakteri. Senyawa ini akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel bakteri (Arsyi, 2008). Saponin memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks protein dan merusak dinding sel dan menyebabkan lisis. (Davidson, 2005). Protein yang dibentuk adalah RIPs (*Ribosome Inactivating Proteins*)

Pada penelitian yang dilakukan oleh Egwim *et.a.l* (2001), ditemukan bahwa *Cassia eucalyptus* (Ce) mempunyai bahan aktif saponin dan tanin lebih efektif dibandingkan hanya salah satu zat saja sebagai efek antimikroba dibandingkan *Euphobia hirta* (Eh); *Citrus aurantifolia* (Ca), dan *Cassia occidentalis* (Co) yang

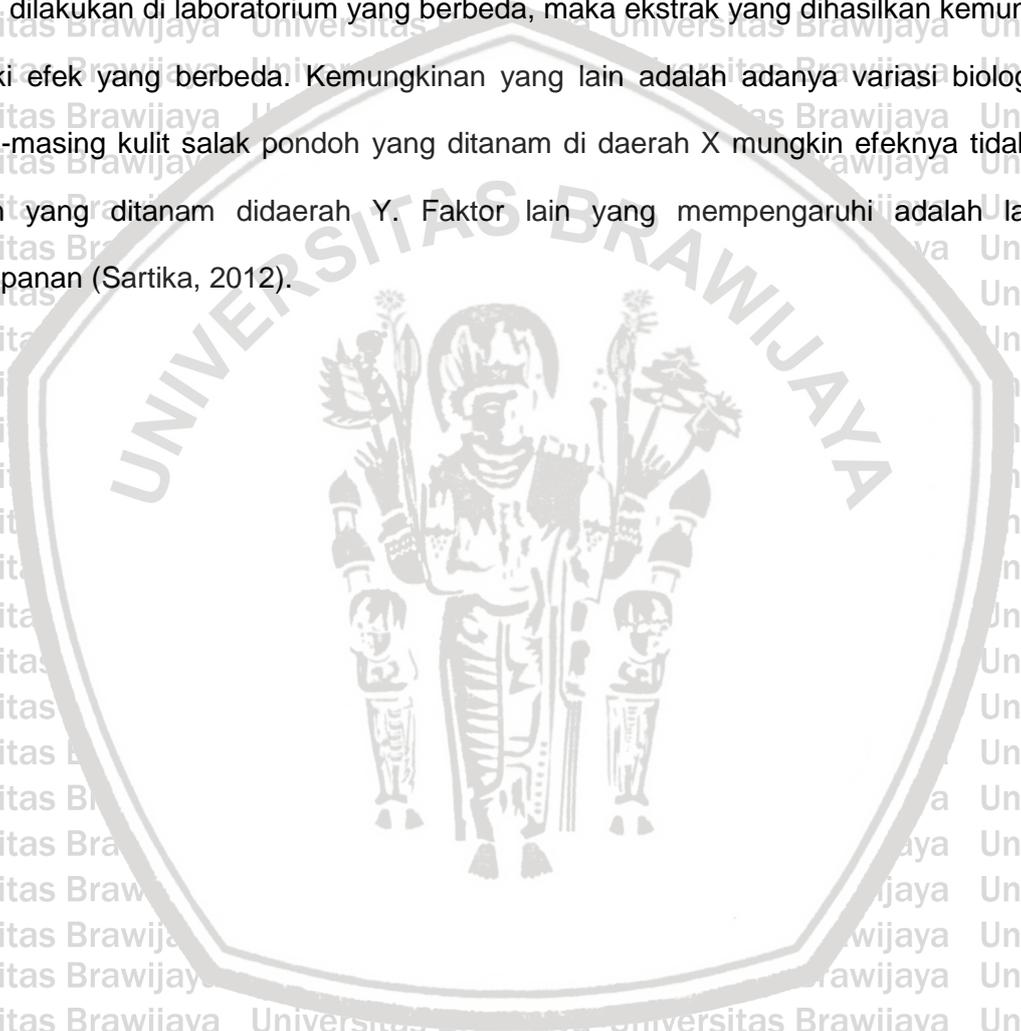
hanya mempunyai salah satu zat tersebut. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dita Artanti (2012) yang meneliti pengaruh ekstrak etanol ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) terhadap pertumbuhan *Shigella Dysenteriae* didapatkan hasil Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah 50%. Maka dapat disimpulkan jika ekstrak ini efektif pada Bakteri *Shigella Dysenteriae*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terdapat penurunan jumlah koloni dari bakteri *Shigella Dysenteriae* seiring dengan peningkatan konsentrasi dan diperkuat dengan adanya bahan-bahan yang bersifat membunuh bakteri *Shigella dysenteriae*. Maka dapat dikatakan bahwa kulit salak pondoh terbukti sensitif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesa yang telah disusun sebelumnya adalah benar. Hasil penelitian ekstrak etanol kulit salak pondoh sebagai antibakteri berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Shigella dyesnteriae*. Bahan ekstrak kulit salak pondoh merupakan bahan yang mudah didapatkan dan murah. Selain itu penelitian ini juga dapat mengurangi limbah karena kulit salak yang biasa dibuang dapat dimanfaatkan. Sampai saat ini belum ada informasi mengenai efek toksisitas dari mengkonsumsi kulit salak pondoh.

Aplikasi klinis dari penelitian ini adalah penggunaan ekstrak etanol kulit salak pondoh untuk penyakit yang diakibatkan oleh bakteri *Shigella dysentiae*. Ekstrak kapsul dibuat dari hasil serbuk yang diekstrak dengan menggunakan etanol 70%. Ekstrak kental yang didapat ditambahkan bahan pengisi tepung beras 50% dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C, setelah kering dimasukkan ke dalam kapsul. Keterbatasan penelitian ini antara lain pada metode pembuatan ekstrak kulit salak pondoh ini bersifat acak karena tidak mengambil senyawa aktif yang spesifik seperti flavonoid saja, atau tannin saja tetapi langsung

menggunakan semua bahan aktif yang ada di kulit salak pondoh yang sudah ditarik oleh etanol sehingga tidak dapat diketahui secara pasti bahan aktif antimikroba apa saja yang terkandung didalamnya. Selain itu proporsi jumlah bahan aktif yang terkandung didalamnya juga tidak diketahui secara pasti. Mungkin bahan aktif itu bekerja sendiri atau mungkin semua bahan aktif bekerja bersama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Selain itu tidak ada standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam, sehingga ada kemungkinan apabila dilakukan di laboratorium yang berbeda, maka ekstrak yang dihasilkan kemungkinan memiliki efek yang berbeda. Kemungkinan yang lain adalah adanya variasi biologis dari masing-masing kulit salak pondoh yang ditanam di daerah X mungkin efeknya tidak sama dengan yang ditanam di daerah Y. Faktor lain yang mempengaruhi adalah lamanya penyimpanan (Sartika, 2012).



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

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

1. Ekstrak etanol kulit salak pondoh efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shyggella dysenteriae*.
2. Kadar Hambat Minimal (KHM) dari penelitian ini tidak dapat ditentukan karena sebelum maupun sesudah diinkubasi pertumbuhan bakterinya tetap keruh sehingga KHM tidak dapat diinterpretasikan.
3. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak kulit salak pondoh yang dapat membunuh bakteri *Shyggella dysenteriae* adalah pada konsentrasi 17,5%.
4. Semakin besar ekstrak kulit salak pondoh yang digunakan maka jumlah bakteri akan semakin menurun.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah :

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi masing-masing bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*).
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) terhadap *Shyggella dysenetriae* dengan metode lain seperti agar dilution test, metode cakram, dan spektrofotometri.

3. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek antimikroba kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*) pada bakteri lain, *fungi* maupun virus.

4. Perlu ada standarisasi dalam pembuatan ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca*), maupun dalam pemilihan bahan serta lama masa simpan ekstrak yang masih dapat digunakan sebagai antimikroba.



DAFTAR PUSTAKA

Agoes, A., dan Jacob T, 1996, Antropologi Kesehatan Indonesia, Jilid I, ECG, Jakarta.

Aisyah, S. 2011. Perbedaan Daya Hambat Pasta Gigi yang Mengandung Propolis dan Bunga Cengkeh Terhadap *Streptococcus mutans* (in vitro)

Ayuningtyas, F. 2008. *Shigella Dysenteriae*. <http://mikrobia2.files.wordpress.com/2008/05/klebsiella-pneumoniae.pdf>. Diakses tanggal 5 desember 2017.

Brooks, G.F., Butel, J.S., Morse, S.A. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg: Edisi 23*. Diterjemahkan oleh Huriwati Hartanto, Chaerunisa Rachman, Alife Dimanti, Aryana Diani. Jakarta: EGC. Hal: 258-260.

Cowman, M.M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10515903>

Davidson. 2005. *Tanaman herbal*. (Online), (<http://www.deherba.com/index.php>, diakses tanggal 28 November 2017).

Dennis Kunkel Microscopy. 2004. *Shigella dysenteriae*. (Online), (http://www.denniskunkel.com/product_info.php?products_id=787, diakses tanggal 3 November 2017).

Dorland. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*, edisi 29, Alih bahasa: Huriawati Hartanto dkk, editor: Huriawati Hartanto dkk. Jakarta: EGC. Hal: 846; 1940.

Dzen, S.J., Roekistiningsih, Santoso, S., Winarsih, S. 2003. *Bakteriologi Medik: Edisi Pertama*. Malang: Bayumedia Publishing. Hal: 216-223.

Gillespie, S.H., Peter, M.H. 2006. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*

Second Edition. John Wiley & Sons Ltd, England, p. 356-360.

Gould, Dinah & Brooker Christine, 2003, *Mikrobiologi Terapan untuk Perawat*. Jakarta : ECG

Gunawan, D., Mulyani, S. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jakarta : Swadaya

Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Jilid II. Penerbit ITB. Bandung. 4 – 5.

Hariana, A. 2007. Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya. Jakarta : Swadaya

Houghton Mifflin Company. 2006. The American Heritage® Stedman's Medical Dictionary, 2nd Edition, (online), (<http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/shigellosis>, diakses tanggal 14 Februari 2011).

National Tropical Botanical Garden. 2011. http://www.ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=2799

Rismunandar dan Farry B. Paimin. 2001. Kayu Manis Budi Daya dan Pengolahan, Edisi Revisi. Jakarta : Swadaya

Sack, D.A., Lyke, C., McLaughlin, C., Suwanvanichkij V. 2001. *Antimicrobial resistance in shigellosis, cholera and campylobacteriosis*. Johns Hopkins University School of Hygiene and Public Health Baltimore, MD, United States of America. p. 26-29.

Sartika, Deby. 2012. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Laporan Penelitian. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Sastrohamidjojo, H. 2004. Kimia Minyak Atsiri. Yogyakarta : Gama Press

Soedarto, 1996, Parasitologi Kedokteran, Jakarta : ECG.

Süßmuth, R., Eberspächer, J., Haag, R., Springer, W. 1999. *Mikrobiologisch-Biochemisches Praktikum*. Georg Thieme Verlag-Stuttgart, New York.

Todar, K. 2008. *Todar's Online Textbook of Bacteriology: Shigella and Shigellosis*. (Online), (<http://www.textbookofbacteriology.net/Shigella.html>, diakses tanggal 9 November 2017).

Wijayakusuma, H., dan Dalimartha, S., 2001, Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah Tinggi Cetakan ke-7, Penebar Swadaya, Jakarta

WHO. 2009. Shigellosis <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/en/>