

EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN COCOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Hadi Kurniawan Wljaya

NIM. 155070101111064

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

Halaman

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
--------------------------------------	----------

2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.1.1	Taksonomi.....	5
2.1.2	Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.1.3	Faktor virulensi.....	7
2.1.4	Manifestasi Klinis.....	10
2.1.5	<i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>	11
2.2	Identifikasi Bakteri MRSA.....	13
2.3	Antimikroba.....	15
2.4	Uji Antibakteri secara <i>In Vitro</i>	18
2.4.1	Metode Dilusi.....	18
2.4.2	Metode Difusi.....	20
2.5	Cocor Bebek (<i>Kalanchoe pinnata</i>).....	22
2.5.1	Taksonomi.....	22
2.5.2	Morfologi Cocor Bebek.....	23
2.5.3	Kandungan Aktif Cocor Bebek.....	23
2.5.4	Manfaat Cocor Bebek.....	26
2.6	Ekstraksi.....	26
2.6.1	Simplisia.....	27
2.6.2	Jenis-Jenis Ekstraksi.....	28

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN..... 31

3.1	Kerangka Konsep.....	31
3.2	Penjelasan Kerangka Konsep.....	32
3.3	Hipotesis Penelitian.....	32

BAB 4. METODE PENELITIAN	33
4.1 Rancangan Penelitian.....	33
4.2 Sampel Penelitian.....	33
4.2.1 Perhitungan Besar Sampel.....	33
4.3 Variabel Penelitian.....	35
4.3.1 Variabel Tergantung (Dependen).....	35
4.3.2 Variabel Bebas (Independen).....	35
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	35
4.4.1 Lokasi Penelitian.....	35
4.4.2 Waktu Penelitian.....	35
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	36
4.5.1 Alat Penelitian.....	36
4.5.2 Bahan Penelitian.....	36
4.6 Definisi Operasional.....	36
4.7 Prosedur Penelitian.....	37
4.7.1 Identifikasi bakteri <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>	38
4.7.1.1 Pewarnaan Gram.....	38
4.7.1.2 Tes Katalase.....	39
4.7.1.3 Tes Koagulase.....	39
4.7.1.4 Uji Resistensi Terhadap Cefoxitin dengan Metode <i>Disc Diffusion</i>	40
4.7.2 Persiapan Suspensi Bakteri Uji.....	41
4.7.3 Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek.....	42
4.7.4 Skema Prosedur Penelitian.....	44

4.8 Analisis Data	45
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	46
5.1 Hasil Penelitian.....	46
5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri	46
5.1.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek	48
5.1.3 Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri Metode Sumuran	49
5.2 Analisis Data	51
BAB 6. PEMBAHASAN	55
BAB 7. PENUTUP	59
7.1 Kesimpulan.....	59
7.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN.....	65



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN COCOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

Oleh :
Hadf Kurniawan Wijaya
NIM. 155070101111064

Telah diuji pada

Hari : Jumat

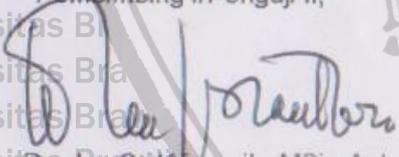
Tanggal : 26 Oktober 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

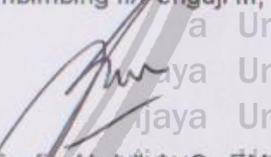
Penguji I


Dr. dr. Masruroh Rahayu, M.Kes.
NIP. 195909261984032003

Pembimbing I/Penguji II,


Dr. dra. Sri Winarsih, MSi., Apt.
NIP. 195408231981032001

Pembimbing II/Penguji III,


dr. Taufiq Abdullah, Sp.EM
NIP. 198408112009121004

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter


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

ABSTRAK

Wijaya, Hadi, Kurniawan. 2018. **Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) Sebagai Antibakteri Terhadap Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Secara In Vitro**. Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, MSi., Apt. (2) dr. Taufiq Abdullah, Sp.EM

Penyakit infeksi menjadi salah satu penyebab tersering kematian di dunia pada tahun 2016. Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah penyebab penyakit infeksi yang umum dijumpai. Pencegahan menggunakan antiseptik *chlorhexidine* menjadi salah satu cara terbaik dalam mencegah infeksi MRSA. Penggunaan *chlorhexidine* mudah diterapkan, relatif murah dan lebih efektif dibanding antiseptik yang lain. Sesuai dengan nama bakterinya, diperlukan suatu alternatif untuk mengatasi kasus resistensi akibat MRSA yang sudah mencapai 70% di Asia. Bahan dari alam yang jarang digunakan namun mempunyai potensi antibakteri salah satunya adalah daun cocor bebek. Senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun cocor bebek antara lain flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek dari pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) sebagai antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah difusi sumuran dengan empat kali pengulangan menggunakan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% terhadap bakteri MRSA. Hasilnya terbentuk zona inhibisi pada semua konsentrasi tersebut. Analisis menggunakan *One-way ANOVA test* didapatkan $p = 0.000$, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa terdapat pengaruh signifikan dari perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap diameter zona inhibisi. Kemudian, hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap diameter zona inhibisi ($p = 0.000$ dan $r = 0.988$). Hasil ini menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka semakin besar pula zona inhibisi yang terbentuk. Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri MRSA secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran.

Kata kunci: *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*, antibakteri, *chlorhexidine*, ekstrak etanol daun cocor bebek.

ABSTRACT

Wijaya, Hadi, Kurniawan. 2018. **Antibacterial Effectivity of Cocor Bebek Leaf (*Kalanchoe pinnata*) Ethanolic Extract Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* In Vitro**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, MSi., Apt. (2) dr. Taufiq Abdullah, Sp.EM

Infectious disease is one of the most common causes of death worldwide in 2016. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is the common agent of infectious disease. Prevention using chlorhexidine antiseptics is one of the best ways to prevent MRSA infections. Chlorhexidine is easy to apply, relatively inexpensive and more effective than other antiseptics. According to the name of the bacteria, an alternative therapy should be developed due to resistance problem of MRSA which have reached the percentage of 70% in Asia. A natural regiment which is still seldom used in Indonesia but able to perform antibacterial effect is cocor bebek leaf. There are several antimicrobial bioactive compounds contained in cocor bebek leaf such as flavonoids, alkaloids, saponins and tannins. The aim of this study is to determine the antibacterial effect of cocor bebek leaf (*Kalanchoe pinnata*) ethanolic extract against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in an *in vitro*. The method used in this study is well diffusion method with four repetitions using various extract concentrations which are 10%, 20%, 30%, 40%, and 50% to the MRSA bacteria. The result is the formation of inhibition zone at all of these concentrations. Statistical analysis using One-way ANOVA Test obtained $p = 0.000$ which can be interpreted that there was a significant effect of changes in the concentration of ethanolic extract of cocor bebek leaf on the diameter of the inhibition zone. The result of Spearman Correlation test showed a significant relationship between the administration of the extract and the inhibition zone diameter ($p = 0.000$ dan $r = 0.988$). This result means that the higher extract concentration, the bigger inhibition zone were formed. To conclude, the ethanolic extract of cocor bebek leaf had antibacterial effect againsts MRSA *in vitro* by well diffusion method.

Keywords: *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*, antibacterial, chlorhexidine, ethanolic extract of cocor bebek leaf.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogenik seperti bakteri, virus, parasit, dan fungi. Saat ini, penyakit infeksi telah menimbulkan banyak permasalahan di Indonesia, terutama berkaitan dengan dana yang harus dialokasikan untuk biaya terapi kasus komplikasi akibat penyakit infeksi (Kemenkes RI, 2015). Selain itu jika dilihat secara global menurut data dari WHO, sebanyak 56,9 juta kematian di seluruh dunia pada tahun 2016, lebih dari setengahnya (54%) disebabkan karena 10 penyebab tersering. Salah satunya adalah infeksi saluran pernafasan bawah yang menduduki peringkat keempat di bawah penyakit jantung iskemi, *stroke*, dan penyakit paru obstruktif kronis.

Salah satu penyebab infeksi saluran pernafasan bawah yang saat ini sedang menjadi perhatian dunia adalah bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Data dari Pusat Program Surveilans Antimikroba menunjukkan terjadinya peningkatan infeksi MRSA yang diisolasi dari pasien Intensive Care Unit (ICU) di seluruh dunia, terutama pada pasien yang menggunakan ventilator (Tilahun *et al*, 2015). Penelitian dari Chen menyebutkan bahwa rata-rata rumah sakit di Asia bersifat endemik untuk kasus infeksi MRSA dengan estimasi angka 28% di Indonesia dan Hongkong sampai lebih dari 70% di Korea pada awal tahun 2010.

Sesuai dengan namanya, bakteri MRSA termasuk dalam golongan *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik. MRSA

tidak hanya resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam, tetapi juga resisten terhadap golongan non-betalaktam seperti eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol dan kuinolon. Resistensi pada umumnya disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak rasional serta gen *mecA* yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Gen *mecA* mengkode protein *penicillin-binding protein 2a* (PBP2a) yang memiliki afinitas rendah terhadap antibiotik golongan betalaktam (Dewi *et al*, 2016).

Berdasarkan laporan terakhir dari WHO tahun 2015, disebutkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik di dunia, khususnya infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin. Sampai sekarang terapi antibiotik pilihan untuk pasien MRSA adalah vankomisin, namun penelitian terakhir yang dilakukan Nurkusuma pada tahun 2012 menyebutkan bahwa ada laporan resistensi terhadap vankomisin. Oleh karena itu, pencegahan menggunakan antiseptik *chlorhexidine* dalam dunia medis menjadi salah satu cara terbaik dalam mencegah infeksi ini. Penggunaan *chlorhexidine* mudah diterapkan, relatif murah dan lebih efektif dibanding antiseptik yang lain dalam mengurangi kejadian MRSA (Wensen *et al*, 2013). Karena cukup terbatasnya agen terapi untuk MRSA, maka diperlukan suatu sumber selain antibiotik dan antiseptik dengan efek antibakteri yang telah terbukti.

Hal ini mendorong pencarian agen antibakteri baru di antara berbagai jenis tanaman, dengan tujuan untuk menemukan bahan aktif yang berpotensi untuk sintesis obat antibakteri baru (Pattewar *et al*, 2013).

Salah satu dari keanekaragaman hayati yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional adalah cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*). Cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) termasuk tanaman sukulen (mengandung air) yang berasal dari Madagaskar (Lana, 2005). Tanaman ini memiliki batang kayu

yang tebal dengan daun lebat, akar adventif serta dapat tumbuh di semua negara.

Jus daun dari tanaman ini banyak dimanfaatkan untuk mengobati diabetes, batuk, sakit kuning dan asam urat (Biswal *et al*, 2011). Menurut Pattewar *et al* (2013), cocor bebek kaya akan alkaloid, triterpen, glikosida, flavonoid, kardiolida, steroid, bufadienolida dan lipid. Adanya senyawa fenolik yaitu triterpenoid menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas anti-mikroba. Meskipun begitu, belum banyak penelitian yang membahas mengenai manfaat antibakteri yang dimiliki oleh tanaman cocor bebek ini.

Berdasarkan uraian yang sudah dijelaskan di atas, maka dilakukan penelitian mengenai efek ekstrak etanol daun cocor bebek sebagai antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dalam usaha mendapatkan alternatif yang efektif dan memiliki efek samping yang relatif rendah.

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) memiliki efek sebagai antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* secara *in vitro*?
- b. Apakah ekstrak etanol daun cocor bebek mempunyai efek antibakteri yang sama dengan *chlorhexidine*?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Menganalisis hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap hambatan pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan metode difusi sumuran.

- b. Mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek yang setara dengan *chlorhexidine* 0,2%.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* yang dihambat dengan pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*).
- b. Sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang manfaat daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) sebagai antibakteri.

1.4.2 Manfaat Praktis

- a. Sebagai alternatif terapi yang relatif murah untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*.
- b. Dapat membantu mengurangi timbulnya daya resistensi bakteri terhadap antibiotik secara tidak langsung.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam bentuk menggerombol tidak teratur seperti anggur yang memungkinkan dirinya dapat terbagi dalam beberapa bentuk (Brown *et al*, 2005).

Menurut Maryati *et al* (2007), *Staphylococcus* hidup sebagai saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran usus. Salah satu genus dari *Staphylococcus* yang paling banyak menyerang manusia adalah *Staphylococcus aureus*.

2.1.1 Taksonomi

Staphylococcus berasal dari kata *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan *coccus* yang berarti benih bulat. *Aureus* berasal dari kata *aurum* yang berarti emas. Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Capuccino & Natalie (2007) adalah:

Kingdom : Monera

Divisio : Firmicutes

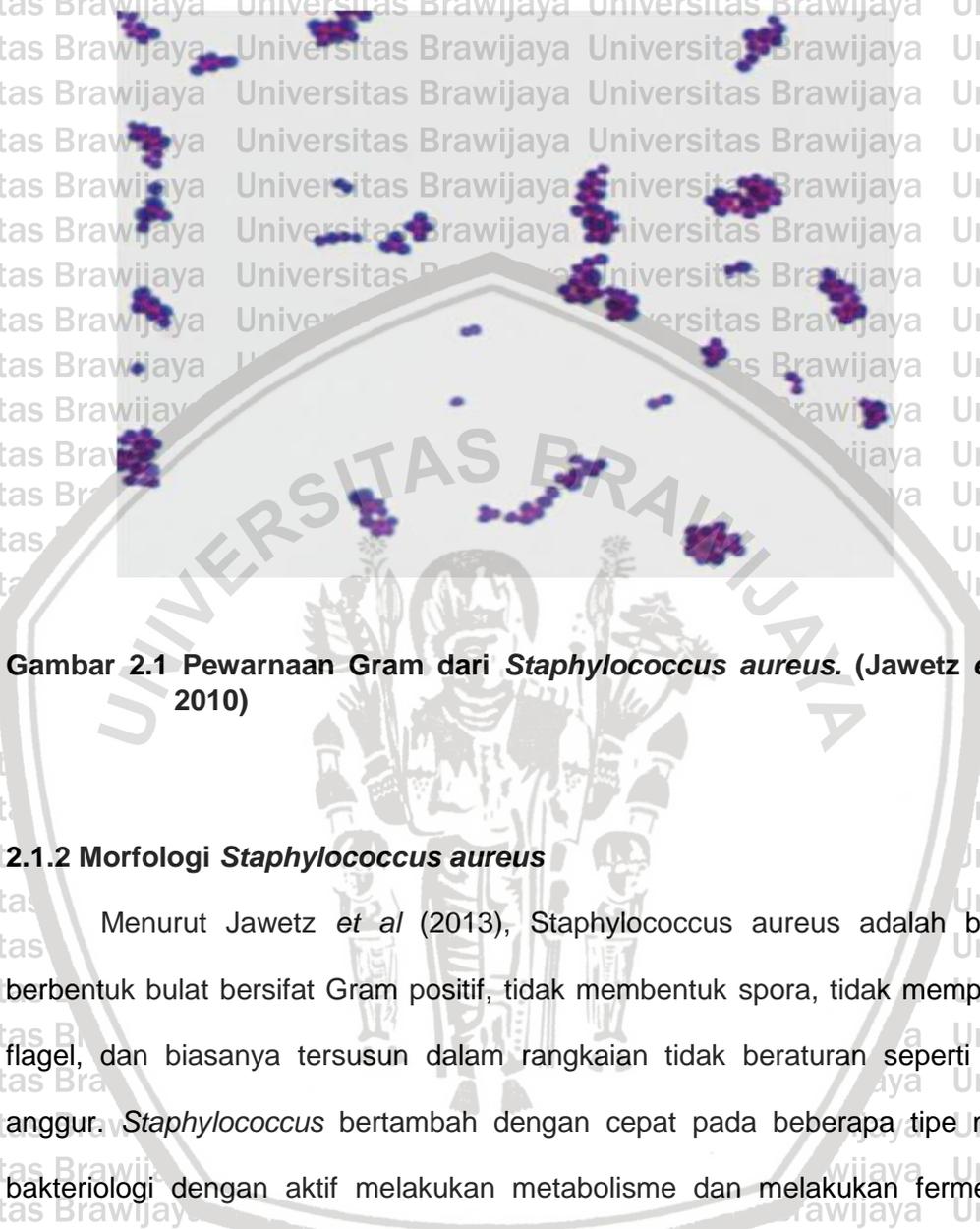
Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Family : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.1 Pewarnaan Gram dari *Staphylococcus aureus*. (Jawetz *et al.*, 2010)

2.1.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Menurut Jawetz *et al* (2013), *Staphylococcus aureus* adalah bakteri berbentuk bulat bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, tidak mempunyai flagel, dan biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. *Staphylococcus* bertambah dengan cepat pada beberapa tipe media bakteriologi dengan aktif melakukan metabolisme dan melakukan fermentasi karbohidrat. Pertumbuhan terbaiknya pada temperatur kamar (20-25°C). Koloni pada media padat berbentuk bulat, halus, menonjol, dan mengkilat. Secara umum bakteri ini termasuk *facultative anaerobes*, dimana organisme ini menjadi lebih efisien dalam menghasilkan energi pada kondisi aerob (Johnson *et al.*, 2010).

Staphylococcus aureus menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. Warna kuning berasal dari pigmen lipokrom yang

dimiliki oleh bakteri ini. Pigmen kuning tersebut membedakannya dari *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih. *Staphylococcus aureus* pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning dikelilingi zona kuning keemasan karena kemampuan memfermentasi mannitol (Todar, 2002).



Gambar 2.2 Koloni berwarna kuning dari *Staphylococcus aureus* di *Mannitol Salt Agar*. (<http://microbeonline.com>)

2.1.3 Faktor virulensi

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan tubuh.

Selain itu, adanya beberapa zat yang dapat diproduksi oleh bakteri ini juga berperan dalam patogenesis infeksi. Berikut merupakan faktor virulensi dari

Staphylococcus aureus menurut Jawetz et al (2013):

a. Kapsul

Beberapa strain *Staphylococcus aureus* mempunyai kapsul, yang mampu menghambat fagositosis bahkan oleh antibodi spesifik sekalipun. (Jawetz et al, 2013)

b. Peptidoglikan

Menurut Jawetz *et al* (2013), peptidoglikan merupakan polisakarida polimer penyusun eksoskeleton dari dinding sel. Peptidoglikan dapat hancur ketika terekspos oleh *lisozyme* maupun zat yang bersifat asam kuat. Peptidoglikan merangsang produksi dari *interleukin-1* yang merupakan substansi pirogen serta menyebabkan aktivasi komplemen.

c. Protein A

Menurut Carter & Wise (2004), protein A merupakan komponen permukaan pada kebanyakan genus *Staphylococcus aureus* yang virulen. Komponen ini termasuk dalam kelompok *adhesin* yang menyebabkan perlekatan bakteri ke sel hospes. Komponen ini mampu mengganggu sistem imun dengan mengikat *fc portion* dari antibodi IgG, menghalangi fagositosis serta mampu menyebabkan kolonisasi dalam jaringan hospes (Jawetz *et al*, 2013).

d. Katalase

Genus *Staphylococcus* memproduksi katalase, yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Oleh karena itu, tes yang digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dengan *streptococcus* adalah uji katalase, dimana hasilnya positif untuk *Staphylococcus* dan negatif untuk *streptococcus* (Jawetz *et al*, 2013).

e. Koagulase dan faktor pembekuan

Staphylococcus aureus memproduksi koagulase, suatu protein yang menyerupai enzim yang dapat menggumpalkan plasma sitrat dengan cara mengikat faktor pembekuan protrombin dan menyebabkan polimerisasi fibrin.

Selain itu, komponen koagulasi juga dapat menghambat fagositosis (Jawetz *et al*, 2013).

f. Eksotoksin

Staphylococcus aureus mempunyai banyak jenis eksotoksin, yaitu α -toxin, β -toxin, δ -toxin, dan γ -hemolysin. Masing-masing dari toksin tersebut mempunyai peran dalam patogenesis infeksi. α -toxin sebagai hemolisin, β -toxin bersifat toksik terhadap hampir semua jenis sel manusia, dan δ -toxin berperan dalam menyebabkan penyakit diare. Sedangkan γ -hemolysin menyebabkan lisisnya sel darah putih dengan cara membuat lubang pada membran sel yang meningkatkan permeabilitas dari kation. Hal ini menyebabkan lepasnya mediator-mediator inflamasi seperti IL-8, leukotrien, dan histamin yang menyebabkan nekrosis pada sel hospes (Jawetz *et al*, 2013).

g. Leukocidin

Menurut Jawetz *et al* (2013), leukocidin dapat membunuh sel darah putih dari manusia dan kelinci. Toksin ini berperan penting sebagai faktor virulensi dalam komunitas yang terinfeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*.

h. Exfoliatin

Menurut Jawetz *et al* (2013), toksin ini menyebabkan deskuamasi kulit dengan menghancurkan matriks mukopolisakarida dari epidermis pada anak-anak yang disebut *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSSS).

i. Toxic Shock Syndrome Toxin

Toksin ini didapat dari pasien yang menderita *toxic shock syndrome* yang disebut *Toxic Shock Syndrome Toxin-1* (TSST-1). Berhubungan dengan manifestasi demam, shock, serta ruam kulit. Gen dari TSST-1 ditemukan pada 20% dari isolat *Staphylococcus aureus*, termasuk MRSA (Jawetz *et al*, 2013).

j. Enterotoksin

Menurut Jawetz *et al* (2013), enterotoksin dihasilkan pada saat *Staphylococcus aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein sehingga menyebabkan keracunan makanan, muntah dan diare pada manusia. Efek muntah diduga disebabkan oleh stimulasi enterotoksin pada sistem saraf pusat setelah toksin ini bekerja pada reseptor saraf di usus.

2.1.4 Manifestasi Klinis

Staphylococcus aureus merupakan flora normal kulit, saluran pernafasan dan saluran pencernaan manusia, namun dapat bersifat patogen pada host yang rentan. Menurut Jawetz *et al* (2013), *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi setiap jaringan atau alat tubuh pada manusia serta dapat ditularkan secara langsung melalui selaput mukosa yang bertemu dengan kulit. Bakteri ini dapat menimbulkan manifestasi berbagai penyakit seperti furunkel, impetigo, osteomyelitis, SSSS (*Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*), *toxic shock syndrome*, bronkhitis, endokarditis, meningoensefalitis, pneumonia, bahkan sampai sepsis. Untuk menegakkan diagnosis dari penyakit yang disebabkan bakteri ini, dapat melalui spesimen berupa pus, aspirasi trakea, ataupun cairan spinal dari pasien. Selanjutnya dapat dilakukan smear, pewarnaan Gram dan dilihat melalui mikroskop. Selain itu, bisa juga dengan dikultur pada media agar dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C.

Infeksi lokal yang disebabkan *Staphylococcus aureus* seperti jerawat, infeksi folikel rambut, dan abses. Biasanya di tempat tersebut terdapat suatu reaksi inflamasi yang sangat nyeri dan akan sembuh dengan cepat ketika pusnya dikeluarkan. Dinding dari fibrin yang mengelilingi lokasi abses berfungsi untuk

mencegah penyebaran organisme dan tidak boleh terkena trauma. Infeksi dari *Staphylococcus aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, contohnya seperti luka pasca operasi atau infeksi setelah terjadinya suatu trauma (misalnya seperti osteomyelitis kronik karena fraktur terbuka, dan terjadinya meningitis setelah trauma di kepala). Jika infeksi dari bakteri ini menyebar dan sampai menyebabkan bakteremia, maka selanjutnya dapat terjadi endokarditis, osteomyelitis akut hematogen, sampai infeksi paru-paru (Jawetz *et al*, 2013).

Sedangkan keracunan makanan akibat enterotoxin dari *Staphylococcus aureus* mempunyai karakteristik masa inkubasi yang rendah (1-8 jam), mual parah, muntah, diare, masa penyembuhan yang cepat, dan tidak dijumpai adanya demam. *Toxic Shock Syndrome* dimanifestasikan dengan onset mendadak berupa demam tinggi, muntah, diare, myalgia, dan hipotensi dengan ancaman gagal jantung. *Toxic Shock Syndrome* yang disebabkan *Staphylococcus aureus* dapat terjadi pada luka yang terinfeksi, pada tenggorokan, vagina, tapi tidak pernah sampai aliran darah.

2.1.5 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan bakteri patogen terpenting penyebab infeksi terkait perawatan di rumah sakit di dunia.

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) muncul pertama kali di rumah sakit sekitar tahun 1960, kemudian menjadi infeksi yang sering terjadi di komunitas sekitar tahun 1990, sampai pada akhirnya sekarang ditemukan sebagai patogen yang resisten terhadap antibiotik (Ray, 2011). Menurut Gladwin & Tattler (2011), infeksi MRSA sering terjadi pada pasien rawat inap di pusat kesehatan seperti rumah sakit dan pusat dialisis. Ketika infeksi MRSA terjadi di pelayanan

kesehatan maka disebut dengan *health care-associated* MRSA (HA-MRSA).

Selain itu, tipe dari infeksi MRSA yang terjadi pada populasi yang lebih luas disebut sebagai *community-associated* MRSA (CA-MRSA). Kemudian untuk pasien yang dirawat di ruang perawatan intensif menggunakan bantuan ventilator, memiliki resiko yang lebih tinggi mengalami infeksi pneumonia yang disebabkan bakteri MRSA. Infeksi biasanya dimulai dengan rasa sakit yang timbul seperti kulit yang melepuh dan dapat menular melalui kontak dari kulit ke kulit. Hal ini memiliki risiko tinggi terjadi pada orang-orang yang tinggal di tempat yang ramai karena memudahkan penularan infeksi.

MRSA adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami kekebalan terhadap antibiotik jenis *methicillin*. Munculnya galur MRSA ini telah membuat pengobatan terhadap infeksi akibat *Staphylococcus aureus* semakin sulit. Berdasarkan laporan terakhir dari WHO tahun 2015, disebutkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik di dunia, khususnya infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicillin*, sehingga mengakibatkan menurunnya fungsi antibiotik tersebut. Menurut Dewi *et al* (2016), resistensi terhadap *methicillin* umumnya disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak rasional serta gen *mecA* yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Gen *mecA* mengkode protein *penicillin-binding protein 2a (PBP2a)* yang memiliki afinitas rendah terhadap antibiotik golongan betalaktam. Hal ini berbeda dengan resistensinya terhadap antibiotik penisilin yang disebabkan oleh enzim β -lactamase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut (Ray, 2011).

Vankomisin telah lama menjadi antibiotik pilihan untuk menangani infeksi MRSA. Namun, timbulnya kasus resistensi terhadap vankomisin telah dilaporkan

beberapa tahun terakhir ini (Nurkusuma, 2009). Selain itu, terapi antibiotik intravena vankomisin pada pasien lansia juga beresiko menimbulkan efek yang tidak diinginkan seperti hilangnya pendengaran, kerusakan ginjal, dan alergi.

Oleh karena itu, prevensi atau pencegahan infeksi MRSA menggunakan *chlorhexidine gluconate* secara reguler menjadi salah satu cara efektif yang dapat dilakukan. Antiseptik ini tidak hanya mengurangi jumlah organisme di kulit pasien jika digunakan mandi secara rutin, namun juga meninggalkan residu antibakteri yang bertahan selama 6 jam ke depan. Dengan mengurangi jumlah organisme, maka dapat mencegah kolonisasi bakteri yang dapat mengarah ke kasus infeksi (Ron, 2012). Molekul *chlorhexidine* memiliki muatan positif dan sebagian besar muatan molekul bakteri adalah negatif. Hal ini menyebabkan perlekatan yang kuat dari *chlorhexidine* pada membran sel bakteri. *Chlorhexidine* akan menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan keluarnya sitoplasma dan komponen sel dengan berat molekul rendah dari dalam sel sehingga akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri (Sinaredi *et al*, 2014).

Penggunaan *chlorhexidine* dalam dunia medis bukan merupakan sesuatu yang baru. Hal ini disebabkan karena selain biayanya yang relatif murah, penggunaannya juga mudah diterapkan dan lebih efektif dibandingkan antiseptik lain. Bahkan sampai sekarang, belum ditemukan adanya bukti resistensi antiseptik ini terhadap bakteri MRSA (Wensen *et al*, 2013).

2.2 Identifikasi Bakteri MRSA

Karena pada penelitian kali ini menggunakan bakteri MRSA, maka harus dilakukan beberapa tes untuk dapat mengidentifikasi bakteri tersebut. Langkah awalnya adalah dengan melakukan pewarnaan Gram untuk mengetahui apakah

bakteri tersebut masuk ke dalam golongan Gram negatif atau positif.

Staphylococcus aureus memiliki sifat pewarnaan Gram yang sama dengan bakteri

Streptococcus, yaitu Gram positif dan berbentuk kokus. Karena memiliki sifat pewarnaan yang sama, maka selanjutnya dilakukan uji katalase untuk

membedakan genus *Staphylococcus* dengan *Streptococcus* (Todar, 2005). Genus

Staphylococcus menghasilkan enzim katalase yang mampu mengubah hidrogen

peroksida menjadi air dan oksigen, sedangkan genus *Streptococcus* tidak

mempunyai enzim tersebut. Jadi, hasil tes katalase tersebut positif untuk golongan

Staphylococcus dan negatif untuk *Streptococcus*.

Setelah didapatkan bakteri *Staphylococcus* melalui pewarnaan Gram dan

uji katalase, tes selanjutnya yang akan dilakukan adalah tes koagulase. Menurut

Forbes (2007), tes koagulase merupakan tes lanjutan yang dilakukan setelah tes

katalase, tujuannya adalah untuk mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*,

dimana hanya spesies bakteri ini yang menghasilkan tes koagulase positif diantara

genus bakteri *Staphylococcus* lainnya. Hal ini disebabkan oleh enzim koagulase

yang hanya dimiliki oleh genus *Staphylococcus aureus*. Selain itu, untuk

membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* juga

dapat dilakukan dengan cara ditanam pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA).

Hasilnya adalah pertumbuhan koloni berwarna kuning yang dikelilingi zona kuning

keemasan karena kemampuan *Staphylococcus aureus* memfermentasi mannitol

(Todar, 2002).

Kemudian langkah identifikasi terakhir yang perlu dilakukan adalah uji

resistensi antibiotik untuk benar-benar mendapatkan genus *Staphylococcus*

aureus yang resisten terhadap *methicillin*. Metode yang digunakan ada dua cara,

yaitu metode dilusi dan metode difusi cakram menggunakan oksasilin (bukan

metisilin). Oksasilin digunakan karena secara kimia satu golongan dengan metisilin. Selain itu, hasil uji antara metisilin dan oksasilin sama, sedangkan pada saat ini metisilin tidak lagi diproduksi secara komersial sehingga yang ada di pasaran adalah oksasilin. Kemudian penelitian lanjutan mengatakan bahwa penggunaan *cefoxitine* lebih akurat dibandingkan dengan oksasilin dalam mendeteksi resistensi bakteri MRSA (Van Leeuwen, 2003).

2.3 Antimikroba

Menurut Maryati *et al* (2007), penyakit infeksi masih merupakan masalah utama di Indonesia. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri mudah menular dan berbagai cara pengobatan dilakukan mengatasi penyakit infeksi ini. Salah satunya adalah dengan menggunakan antibakteri. Salah satu zat antibakteri yang paling banyak digunakan pada penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah antibiotik. Antibiotik adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup termasuk struktur analognya yang dibuat secara sintetik, yang dalam kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu spesies atau lebih mikroorganisme (Siswando dan Soekardjo, 1995). Antibiotik telah banyak digunakan oleh masyarakat hampir di seluruh dunia untuk mengobati penyakit infeksi terutama infeksi yang disebabkan oleh bakteri, virus, fungi dan parasit (Strobel & Daisy, 2003). Menurut badan POM RI, prinsip penggunaan antibiotik untuk mengobati penyakit infeksi didasarkan pada dua pertimbangan utama, yaitu penyebab infeksi dan faktor pasien.

Menurut Nabira (2014), ada berbagai macam pengelompokan antibiotik. Beberapa diantaranya adalah berdasarkan sumber, spektrum, serta berdasarkan aktivitas antimikrobanya. Antibiotik berdasarkan sumbernya dibedakan menjadi

antibiotik sintetik dan alamiah. Antibiotik sintetik seperti sulfur, tembaga sulfat, kalsium hidroksida, dan arsenat. Antibiotik alami dapat berasal dari mikroba dan tumbuhan. Berdasar spektrumnya antibiotik meliputi spektrum luas dan sempit. Disebut spektrum luas (*broad spectrum*) jika mampu menghambat atau membunuh mikroorganisme Gram positif maupun negatif. Dikatakan termasuk spektrum sempit (*narrow spectrum*) jika hanya mampu menghambat atau membunuh suatu golongan mikroorganisme saja. Sedangkan berdasarkan aktivitas antimikrobanya, antibiotik yang hanya mampu menghambat pertumbuhan diberi akhiran –statik dan yang mampu mematikan baik pada fase tumbuh maupun fase istirahat diberi akhiran –sida atau –sidal. Misal bakterisida yang mempunyai arti substansi tersebut mampu membunuh mikroorganisme bakteri (Tjaya & Rahardja, 2007; Pratiwi, 2008).

Menurut Jawetz *et al* (2013), antimikroba yang ideal mempunyai *selective toxicity*, yang berarti obat tersebut hanya berbahaya bagi patogen saja tanpa membahayakan *host*. Mekanisme kerja antimikroba dalam menghambat dan membunuh mikroba terdiri dari :

a. Menghambat sintesis dinding sel

Bakteri mempunyai permukaan *rigid* yang disebut dengan dinding sel. Dinding sel bakteri tersusun dari kompleks polimer mukopeptida yang disebut peptidoglikan. Dinding sel berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan ukuran dari mikroorganisme tersebut. Kerusakan pada dinding sel atau hambatan pembentukannya dapat menyebabkan sel tersebut menjadi lisis.

Contoh obat yang bekerja dengan cara ini adalah semua obat golongan betalaktam. Obat ini akan menempel pada reseptor dari sel bakteri yang disebut *penicillin-binding proteins* (PBPs), yang menyebabkan terhambatnya reaksi enzim

transpeptidase dan sintesis peptidoglikan. Hal tersebut mengakibatkan dinding sel menjadi rapuh dan mudah lisis, atau tidak tahan terhadap tekanan osmotik plasma (Jawetz *et al*, 2013).

b. Menghambat fungsi membran plasma

Sitoplasma dari semua sel yang hidup dilindungi oleh suatu membran yang disebut membran plasma. Selain berfungsi sebagai proteksi, membran ini juga berperan dalam transpor aktif yang mengontrol komposisi internal dalam suatu sel. Apabila integritas fungsional dari membran ini terganggu, materi intraseluler seperti ion dan makromolekul akan keluar dari sel sehingga menyebabkan kerusakan sel. Antibiotik yang bekerja dengan cara ini adalah colistin, imidazoles dan amphotericin B (Jawetz *et al*, 2013).

c. Menghambat sintesis protein

Menurut Setiabudy (2009), sel mikroba memerlukan sintesis berbagai macam protein untuk kelangsungan hidupnya, sintesis ini berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Bakteri mempunyai ribosom 70S, sedangkan mamalia mempunyai ribosom 80S. Adanya perbedaan yang signifikan dari subunit, fungsi sampai komposisi kimia dari ribosom tersebut menyebabkan obat antimikroba hanya menghambat sintesis protein dari bakteri tanpa menimbulkan efek berarti pada mamalia. Contoh obat yang menghambat sintesis protein adalah eritromisin, tetrasiklin, aminoglikosida dan kloramfenikol (Jawetz *et al*, 2013).

d. Menghambat sintesis asam nukleat

Contoh antibiotik golongan ini adalah rifampin, kuinolon, dan sulfonamide. Masing-masing mempunyai cara kerja sendiri-sendiri dalam menghambat sintesis asam nukleat. Rifampin menghambat sintesis dari RNA dengan melekat pada RNA polimerases, sedangkan obat golongan kuinolon menghambat DNA girase.

Struktur dari sulfonamide yang menyerupai asam amino benzoat (PABA) menyebabkan hambatan pada pembentukan asam folat yang merupakan prekursor dari asam nukleat (Jawetz *et al*, 2013).

2.4 Uji Antibakteri secara *In Vitro*

Menurut Jawetz *et al* (2013), aktivitas antimikroba diukur untuk menentukan potensi dari agen antimikroba tersebut serta hubungan konsentrasi obat dengan mikroorganisme. Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba adalah pH lingkungan, stabilitas obat, banyaknya inokulum bakteri, lama inkubasi, serta aktivitas metabolisme dari bakteri uji. Dalam hal ini, penting untuk menggunakan metode yang sudah terstandar untuk mengontrol semua faktor yang mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba tersebut. Sampai saat ini, metode yang sering digunakan adalah metode dari CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Penentuan sensitivitas dari antimikroba terhadap bakteri patogen dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode di bawah ini, yaitu:

2.4.1 Metode Dilusi

Tes ini menggunakan prinsip menggabungkan sejumlah bahan antimikroba ke dalam media bakteri padat atau cair. Kemudian media tersebut diinokulasikan dengan bakteri uji dan diinkubasikan. Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yang diuji (Jawetz *et al*, 2013). Ada dua jenis metode dilusi, yaitu:

a. Metode Dilusi Tabung

Menurut Dzen *et al* (2003), pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi media cair. Kemudian ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan berbagai serial konsentrasi zat yang akan diuji aktivitas antibakterinya, kemudian diinokulasikan dengan bakteri uji serta diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Kemudian tabung tersebut dikeluarkan dari inkubator untuk diamati kekeruhannya. Tabung yang mulai tampak jernih (tidak keruh) menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri, disebut dengan KHM (Kadar Hambat Minimal) dari zat yang diuji tersebut.

Selanjutnya, biakan dari semua tabung yang jernih tadi diinokulasikan pada media agar padat dan diinkubasi. Keesokan harinya media agar padat tersebut dikeluarkan dari inkubator dan diamati pertumbuhan koloni dari bakteri uji. KBM ditentukan dari konsentrasi terendah dari zat uji pada biakan yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum*) pada medium NAP. *Original inoculum* (OI) adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL sebelum diinkubasi yang diinokulasikan pada media agar padat dan digunakan untuk mencari kategori KBM (Forbes *et al.*, 2007).

b. Metode Dilusi Agar

Menurut Prayoga (2013), metode ini menggunakan zat antibakteri yang sudah diencerkan secara serial dan dicampurkan ke dalam agar yang masih cair (tapi tidak terlalu panas) di cawan petri. Agar dibiarkan sampai memadat, kemudian diinokulasikan bakteri uji serta diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kepekaan bahan uji terhadap bahan antibakteri ditentukan dengan pengamatan secara makroskopis setelah masa inkubasi berakhir yaitu dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri uji dalam media agar.

2.4.2 Metode Difusi

Merupakan metode yang paling sering digunakan, dimana penentuan aktivitas antibakteri didasarkan pada kemampuan difusi dari zat yang diujikan ke dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang terbentuk disekeliling zat antimikroba setelah masa inkubasi selesai (Jawetz *et al*, 2013). Metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu:

a. Tes Kirby Bauer (*disc diffusion*)

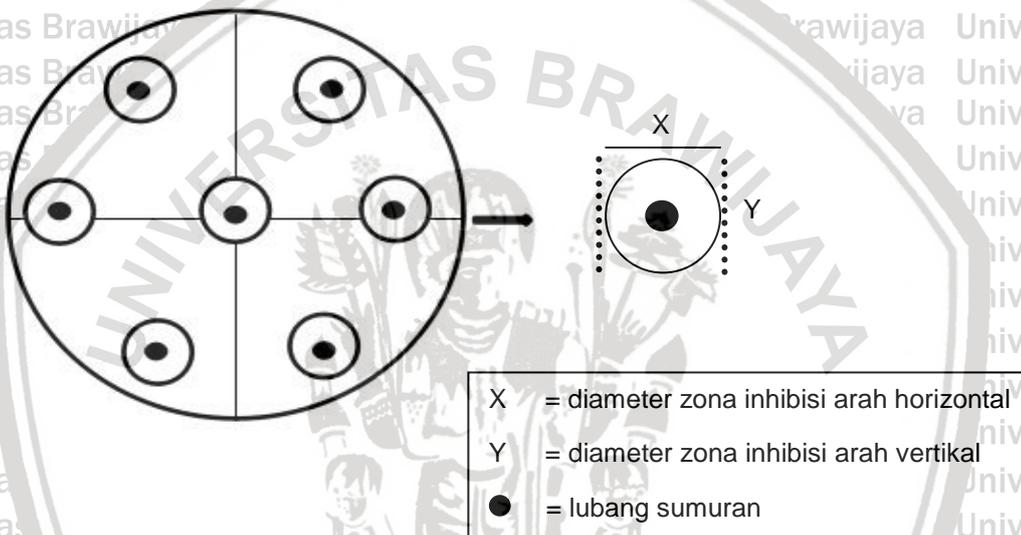
Tes Kirby Bauer disebut juga dengan *disc diffusion*. Menurut Jawetz *et al* (2013), caranya adalah dengan menggunakan kertas saring yang mengandung zat antibakteri yang akan diuji, kemudian kertas saring tersebut diletakkan di atas permukaan media padat yang sudah diinokulasikan dengan bakteri uji sehingga agen antibakteri dapat berdifusi pada media tersebut. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan pada area jernih yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring. Daerah tersebut disebut sebagai diameter zona hambatan atau kemampuan daya hambat zat terhadap bakteri uji. Langkah selanjutnya adalah membandingkan diameter area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Dari tabel tersebut, dapat diketahui apakah zat antibakteri yang diujikan termasuk dalam kriteria sensitif, sedang, atau resisten.

b. Cara Sumuran

Hampir serupa dengan *disc diffusion*, dimana dibuat lubang sumuran secara tersebar pada lempeng agar yang sudah diinokulasikan dengan bakteri uji

sebanyak 10^8 CFU/mL. Kemudian di setiap sumur itu diisi dengan zat uji dan selanjutnya diinkubasi dengan suhu dan waktu tertentu (di dalam inkubator).

Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan ada atau tidaknya diameter zona hambatan (*clear zone*) di sekeliling lubang sumuran. Diameter diukur dari batas terluar dari zona inhibisi dari satu sisi ke sisi lainnya dalam arah vertikal dan horizontal lalu dihitung rata-ratanya. (Prayoga, 2013).



c. Cara Parit

Pada metode parit (*ditch-plate technique*) ini, dibuat sebidang parit dengan cara memotong media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur. Parit tersebut kemudian diisi dengan zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk bakteri uji. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan ada tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekitar parit (Prayoga, 2013).

2.5 Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Indonesia dikenal secara luas sebagai *mega center* keanekaragaman hayati terbesar ke dua setelah Brazil di dunia, yang terdiri dari tumbuhan tropis dan biota laut. Di wilayah Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tumbuhan dan 7.000

diantaranya memiliki khasiat sebagai obat. Salah satu diantaranya yang sering digunakan sebagai tanaman obat adalah cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*).

Tanaman ini termasuk tanaman sukulen (mengandung air) yang berasal dari Madagaskar dan terkenal dikarenakan cara reproduksinya melalui tunas daun (tunas adventif). Pada umumnya cocor bebek dapat ditemukan di daerah tropis, ditanam di pekarangan, tumbuh liar di tepi jurang, di tepi jalan dan tempat-tempat yang berbatu (Sampurno, 2006).

Menurut Sjamsu (1991), cocor bebek adalah tanaman herbal yang dapat tumbuh sepanjang tahun di Indonesia. Dalam penyebarannya tanaman cocor bebek ini banyak terdapat di daerah beriklim tropis seperti Asia, Australia, Selandia Baru, India Barat, Makaronesia, Maskarenes, Galapagos, Melanesia, Polinesia dan Hawaii. Secara empiris, masyarakat menggunakan air rebusan daun cocor bebek untuk menghilangkan rasa nyeri ketika haid dan sakit kepala (Kazmi *et al*, 2012). Biasanya, masyarakat menggunakan daun cocor bebek yang telah dimemarkan untuk menghilangkan rasa nyeri dengan cara daun yang telah dimemarkan tadi ditempelkan pada bagian yang nyeri.

2.5.1 Taksonomi

Klasifikasi biologi dari tanaman cocor bebek menurut Depkes RI tahun 2000 :

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Rosales

Suku : Crassulaceae

Marga : *Bryophyllum*

Jenis : *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken

Sinonim : *Kalanchoe pinnata* Lam. Pers



Gambar 2.3 Daun Cocor

Bebek (Indra, 2015)

2.5.2 Morfologi Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Cocor bebek memiliki tinggi rata-rata sekitar 20-40 cm. Buahnya berwarna hijau dan berbentuk persegi dengan 4 daerah terpisah. Sedangkan bijinya berwarna hitam, bulat serta memiliki permukaan yang halus (Indra, 2015).

Tanaman ini memiliki batang yang basah, lunak dan berwarna hijau.

Bunganya memiliki mahkota berbentuk corong warna merah dan kelopak berdaun lekat. Daun cocor bebek banyak mengandung air, bentuknya lonjong dengan panjang 5-20 cm, lebar 2,5-15 cm, tebal, ujung daun tumpul, pangkal membundar, permukaan daun gundul, warna hijau sampai hijau keabu-abuan (Kristio, 2007).

2.5.3 Kandungan Aktif Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Tanaman cocor bebek kaya akan kandungan bufadienolida, triterpen, glikosida, steroid, dan lipid yang dapat digunakan sebagai obat untuk mengobati luka bakar, peradangan, inflamasi, rematik, wasir dan hipertensi (Hasyim *et al*, 2012). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Safitri *et al* pada tahun 2012 menunjukkan bahwa daun cocor bebek mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Namun, sebagian besar senyawa aktif yang terkandung dalam beberapa spesies cocor bebek adalah senyawa flavonoid,

terutama pada bagian daun (Biswas *et al*, 2011). Meskipun demikian, sampai sekarang belum ada penelitian mengenai jumlah spesifik kandungan rata-rata bahan aktif yang dapat berperan sebagai antibakteri di daun, akar dan batang tanaman cocor bebek.

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol (Sjahid, 2008). Senyawa ini dapat ditemukan pada sel yang berfotosintesis. Selain itu, flavonoid secara umum dapat ditemukan pada buah, sayur-sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, batang, bunga, teh dan madu. Fungsi flavonoid pada bunga adalah untuk memberikan warna yang menarik, sedangkan pada daun untuk meningkatkan fungsi fisiologis dalam pertahanan terhadap patogen fungi dan sinar UV-B. Banyak penelitian yang sudah dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi flavonoid sebagai antifungi, antivirus, dan antibakteri (Tim & Andrew, 2005).

Flavonoid yang terkandung dalam daun cocor bebek dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi kerja dari mikroorganisme seperti bakteri (Manoi, 2009). Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina, 2008).

b. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman. Berdasarkan struktur kimianya,

saponin dikelompokkan menjadi tiga kelas utama, yaitu kelas steroid, kelas steroid alkaloid, dan kelas triterpenoid. Sifat yang khas dari saponin antara lain berasa pahit dan berbusa dalam air. Salah satu kelompok saponin yang berfungsi sebagai antibakteri adalah triterpenoid. Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri sehingga mengakibatkan sel bakteri menjadi kekurangan nutrisi dan pada akhirnya pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Rachmawati, 2009).

c. Tannin

Tannin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol dan banyak dijumpai pada tumbuhan. Tannin memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tannin dapat merusak membran sel bakteri, selain itu juga menginduksi pembentukan kompleks ikatan tannin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tannin itu sendiri. Mekanisme kerja tannin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel tersebut. Akibatnya, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mati. Efek antibakteri tannin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi fungsi materi genetik (Aulia, 2004).

d. Alkaloid

Menurut Murphy (1999), alkaloid merupakan golongan senyawa nitrogen heterosiklik. Alkaloid juga memiliki sifat antibakteri, karena memiliki kemampuan menginterkalasi DNA. Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan

dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina, 2008). Selain itu, di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen. Nitrogen ini akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel dan DNA bakteri. Akibatnya, terjadi perubahan struktur dan susunan asam amino yang selanjutnya akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA bakteri. Pada akhirnya, rantai DNA akan mengalami kerusakan dan mendorong terjadinya lisis sel bakteri (Gunawan, 2009).

2.5.4 Manfaat Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Di Indonesia, cocor bebek populer dijadikan sebagai tanaman hias sehingga penyebarannya sangat luas dan mudah didapat. Secara ilmiah, beberapa penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan manfaat dari tanaman cocor bebek (Supratman *et al*, 2001). Penelitian yang dilakukan oleh Safitri *et al* (2012) telah menunjukkan bahwa daun cocor bebek memiliki khasiat sebagai analgetik. Selain itu, Matthew *et al* (2013) membuktikan bahwa tanaman cocor bebek juga memiliki khasiat sebagai anti inflamasi. Penelitian lain juga membuktikan bahwa sediaan gel ekstrak daun cocor bebek dengan basis carbopol mempunyai aktivitas untuk mengobati luka bakar (Hasyim *et al*, 2012).

Secara tradisional, tanaman cocor bebek bermanfaat untuk membunuh bakteri, virus, jamur, relaksasi otot, menyembuhkan batuk, melegakan saluran pernafasan, menurunkan kadar kolesterol, memperlancar haid, obat luka, demam, sakit kepala, sakit dada, bisul, dan penyakit kulit lainnya (Taylor, 2005). Menurut Lana (2005), pada bagian daun dari cocor bebek terdapat senyawa kimia yang

bernama bufadienolida yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibakteri.

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak tersebut bisa dalam bentuk ekstrak kering, ekstrak kental, dan ekstrak cair yang proses pembuatannya disesuaikan dengan bahan aktif yang dikandung serta maksud penggunaannya (POM, 2005).

2.6.1 Simplisia

Menurut Departemen Kesehatan RI, simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses sama sekali, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia terbagi menjadi 3 golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati bisa berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Keunggulan simplisia antara lain efek sampingnya relatif lebih kecil daripada obat-obatan karena berasal dari alam dan adanya komposisi yang saling mendukung untuk mencapai efektivitas pengobatan. Meskipun begitu, obat tradisional ini memiliki kekurangan yaitu memiliki efek farmakologis yang lemah, bahan baku belum terstandar, dan belum dilakukan uji klinik serta mudah tercemar berbagai mikroorganisme (Himakova, 2016).

2.6.2 Jenis-Jenis Ekstraksi

Macam-macam metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah:

a. Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerace* yang berarti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan metode yang simpel, sering digunakan sampai sekarang, dan cocok digunakan untuk ekstraksi dalam jumlah besar. Prosedurnya adalah melumatkan tanaman bersama pelarut dengan cara direndam dalam kontainer tertutup terlindung dari cahaya pada suhu ruang selama tiga hari.

Mekanisme yang terjadi selama perendaman tersebut adalah cairan pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan pelarut yang konsentrasinya rendah (proses difusi). Selama proses maserasi, cairan pelarut diganti setiap hari dan dilakukan pengadukan yang konstan menggunakan alat pengaduk atau *mixer* agar campuran bisa menjadi homogen. Karena keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Proses ekstraksi akan berhenti ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi metabolit dalam pelarut dengan konsentrasi metabolit dalam tanaman. Langkah selanjutnya adalah memisahkan residu dari simplisia tadi dengan pelarutnya dengan cara filtrasi atau bila perlu sentrifugasi. Kerugian dari metode maserasi adalah membutuhkan waktu yang lama mulai beberapa jam bahkan sampai beberapa minggu. Terkadang proses ini juga membutuhkan pelarut yang banyak sehingga ada kemungkinan menghilangkan bahan metabolit tertentu dari tanaman. Selain itu, beberapa senyawa tidak dapat diekstrak secara efisien jika sulit larut dalam suhu kamar. Namun di sisi lain karena metode maserasi ini

dilakukan pada suhu ruang, maka dapat mengurangi rusaknya metabolit yang bersifat termolabil (Sarker *et al*, 2006).

b. Ultrasonik

Metode ultrasonik ini merupakan modifikasi dari metode maserasi dimana ekstraksi difasilitasi dengan penggunaan suara ultrasonik (frekuensi 20000 Hz). Jadi, simplisia ditempatkan di botol kecil dan botol kecil tadi diletakkan suatu bak ultrasonik. Kemudian suara ultrasonik digunakan untuk menginduksi stres mekanik pada sel tanaman. Kerusakan seluler meningkatkan pelarutan metabolit tanaman dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi. Metode ini jarang diaplikasikan pada ekstraksi skala besar, dan lebih sering digunakan untuk mendapatkan bahan metabolit intraseluler dari tanaman (Sarker *et al*, 2006).

c. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk simplisia dimaserasi (direndam) terlebih dahulu, kemudian dipindah ke dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan sekat berpori dan kran pada bagian bawahnya). Cairan pelarut dialirkan dari atas ke bawah melalui simplisia tersebut dan akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui sampai keadaan jenuh. Hasil ekstrak dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Hasil ekstrak yang didapat ini tidak perlu difiltrasi lagi seperti pada metode maserasi karena sudah terdapat penyaring pada perkolator. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area, hal ini menyebabkan ekstraksi tidak bisa dilakukan. Kerugian lain dari metode ini membutuhkan banyak pelarut dan juga memakan banyak waktu (Sarker *et al*, 2006).

d. Soxhletasi

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk simplisia ditempatkan pada klonsong yang telah dilapisi selulosa (dapat digunakan kertas saring).

Klonsong ini ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu diatur hingga pelarut menguap.

Keuntungan dari metode soxhletasi adalah proses ekstraksi yang berkelanjutan, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus dipanaskan pada titik didih (Sarker *et al*, 2006).

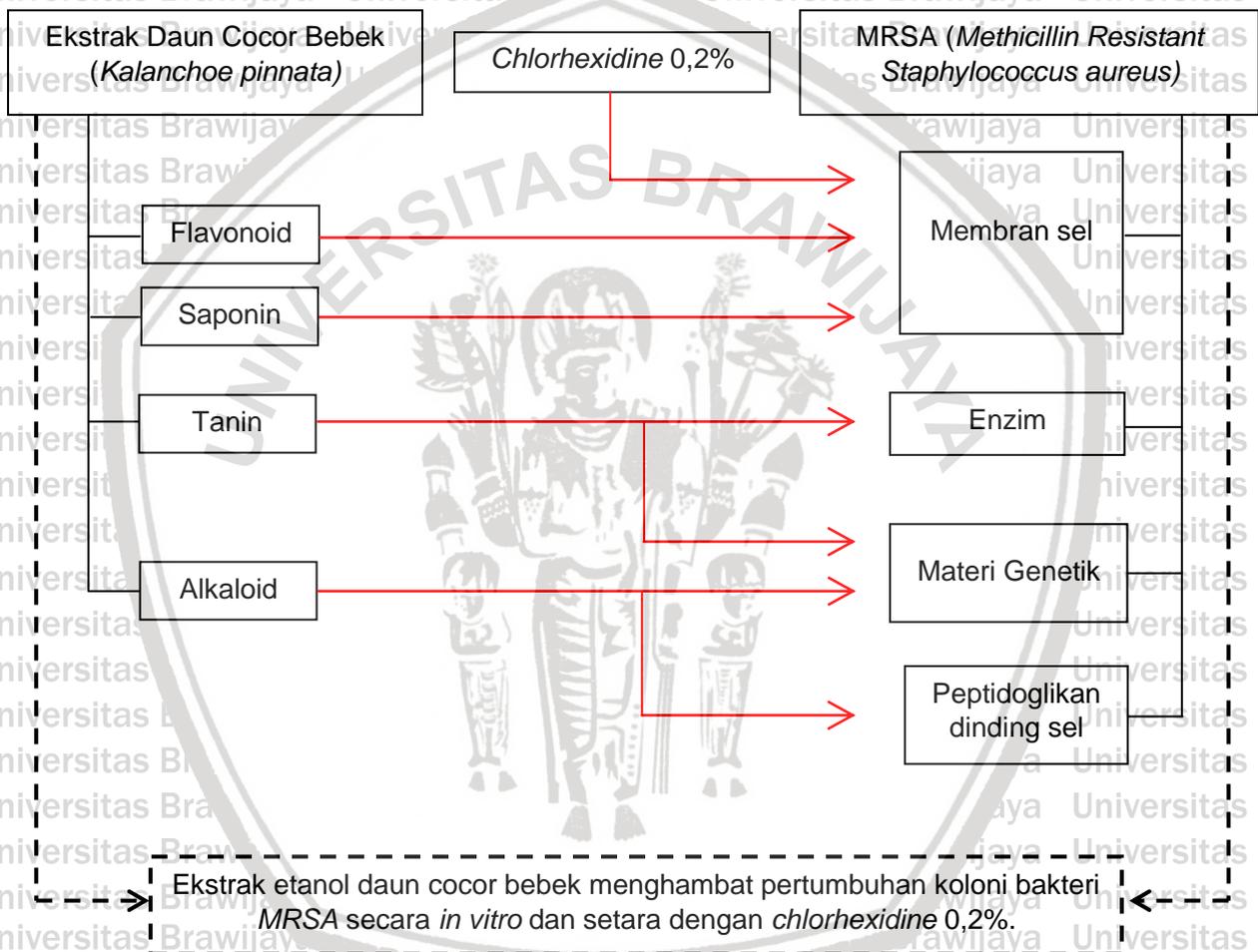
e. Refluks dan Destilasi Uap

Menurut Sarker *et al* (2006), pada metode reflux ini simplisia direndam bersama pelarut ke dalam labu alas bulat yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih (menjadi uap). Bersamaan dengan uap pelarut yang terkondensasi, pelarut kembali lagi ke dalam labu alas bulat dalam bentuk molekul cairan. Molekul cairan ini akan kembali menjadi pelarut simplisia dalam labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan. Selama pemanasan, uap yang terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari metode refluks dan destilasi uap ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

— : mengandung

→ : mempengaruhi

- - - - -> : target penelitian

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Daun cocor bebek mengandung beberapa zat aktif yang memiliki fungsi sebagai antibakteri, yaitu flavonoid, saponin, tannin dan alkaloid. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein ekstraseluler sel bakteri sehingga merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Sedangkan saponin bekerja dengan cara bereaksi dengan porin pada membran sel bakteri dengan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri sehingga mengakibatkan sel bakteri menjadi kekurangan nutrisi dan pada akhirnya pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Tannin bekerja dengan cara inaktivasi enzim dan destruksi fungsi materi genetik (DNA) dari bakteri. Sedangkan senyawa alkaloid memiliki kemampuan merusak peptidoglikan dinding sel dan menginterkalasi DNA sehingga mengganggu keseimbangan genetik dari sel bakteri. Sedangkan mekanisme kerja dari *Chlorhexidine* adalah perubahan permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan keluarnya sitoplasma dan komponen sel dengan berat molekul rendah dari dalam sel sehingga akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri. Pada akhirnya, semua kandungan aktif daun cocor bebek tersebut diharapkan dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri MRSA dan setara dengan *chlorhexidine* 0,2%.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dan setara dengan *chlorhexidine* 0,2%.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah menggunakan metode penelitian eksperimental, dengan fokus penelitian pada keadaan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* setelah perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) secara *in vitro* melalui metode difusi sumuran untuk menentukan zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini berupa koloni bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2.1 Perhitungan Besar Sampel

Menurut Nurhaedah (2017), rumus yang digunakan pada penelitian yang bertujuan untuk menganalisis keterkaitan antar variabel melalui penelitian eksperimental di laboratorium adalah rumus Federer. Dalam penelitian ini, sebelumnya dilakukan terlebih dahulu uji pendahuluan dengan meneteskan ekstrak etanol daun cocor bebek sebesar 10 mikroliter dengan konsentrasi 0%, 3.125%, 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, dan 100% di atas agar yang sudah dilakukan *streaking* bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Hasil yang

didapatkan menunjukkan bahwa zona inhibisi mulai terbentuk di sekitar lubang sumuran pada konsentrasi 3,125%, namun besar diameter zona inhibisinya baru terlihat signifikan pada konsentrasi 12,5%.

Berdasarkan hasil tersebut, maka dalam menguji potensi antimikroba terhadap bakteri MRSA melalui difusi sumuran digunakan 5 macam konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dengan kontrol negatif berupa aquades, serta kontrol positif berupa *chlorhexidine* 0,2%.

Tabel 4.1 Pembagian Kelompok Perlakuan

Nomor Perlakuan	Perlakuan
P1 (Kontrol Negatif)	Aquades (0% cocor bebek)
P2	10% cocor bebek
P3	20% cocor bebek
P4	30% cocor bebek
P5	40% cocor bebek
P6	50% cocor bebek
P7 (Kontrol Positif)	0,2% <i>chlorhexidine</i>

Berdasarkan penjelasan tersebut, jumlah pengulangan pada penelitian ini untuk masing-masing perlakuan dapat dihitung dengan rumus $(n - 1)(t - 1) \geq 15$ dengan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan; t = jumlah perlakuan.

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Berdasarkan perhitungan di atas, didapatkan $n = 3,5$ yang kemudian dibulatkan menjadi 4 kali pengulangan. Dalam hal ini, 4 kali pengulangan mempunyai pengertian bahwa penelitian ini menggunakan empat bakteri MRSA dari isolat yang berbeda.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Tergantung (Dependen)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran.

4.3.2 Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun cocor bebek dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Bahan daun cocor bebek berupa serbuk simplisia diperoleh dari Unit Pelaksana Teknis Matera Medika Kota Batu dan tempat ekstraksinya di Perguruan Tinggi Politeknik Negeri Malang.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan antara bulan April-Juni 2018.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini mencakup alat dan bahan untuk kultur bakteri, pewarnaan Gram, tes katalase, tes koagulase, *disc diffusion*, dan difusi sumuran.

4.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, ose, spektrofotometer, inkubator, lampu spiritus (bunsen), korek api, label, *object glass*, kaca penutup, mikroskop, minyak emersi, kertas karton hitam tahan air, larutan Stephaurex[®] (latex koagulase), lidi kayu, *disc* antibiotik *cefloxitin*, pinset, mikropipet, pelubang sumuran, cawan petri

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang dipakai untuk penelitian ini adalah koloni bakteri MRSA, medium *Nutrient Agar Plate* (NAP), akuades steril, larutan H₂O₂ 10%, ekstrak etanol daun cocor bebek serta bahan-bahan pewarnaan Gram seperti kristal violet, lugol, alkohol 96%, dan safranin.

4.6 Definisi Operasional

a. Ekstrak daun cocor bebek

Daun cocor bebek yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari Unit Pelaksana Teknis Materia Medika Kota Batu berupa serbuk simplisia dan tempat ekstraksinya di Perguruan Tinggi Politeknik Negeri Malang.

Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak daun cocor bebek

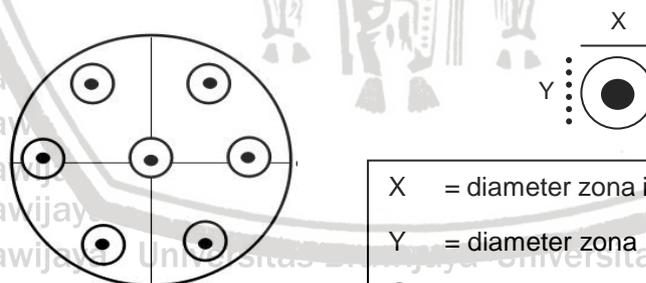
adalah menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan evaporasi (untuk memisahkan zat aktif dengan pelarutnya). Sedangkan konsentrasi ekstrak daun cocor bebek yang digunakan setelah melewati uji pendahuluan adalah 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%.

b. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah empat bakteri MRSA dari isolat yang berbeda, yaitu 2 isolat pus, 1 isolat ETT (*Endotracheal Tube*), dan 1 isolat darah.

c. Zona Inhibisi

Zona inhibisi adalah zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran yang menunjukkan bahwa bahan ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin lebar zona inhibisi, maka semakin besar pula potensi antibakterinya. Diameter zona inhibisi diukur dalam satuan milimeter (mm). Diameter diukur dari batas terluar dari zona inhibisi dari satu sisi ke sisi lainnya pada arah vertikal dan horizontal, lalu dihitung rata-ratanya (Krzysztof *et al*, 2000).



- | | |
|---|--|
| X | = diameter zona inhibisi arah horizontal |
| Y | = diameter zona inhibisi arah vertikal |
| ● | = lubang sumuran (5 mm) |

4.7 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi identifikasi bakteri uji *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), persiapan suspensi bakteri uji MRSA dan uji

sensitivitas ekstrak etanol daun cocor bebek sebagai antibakteri dengan difusi sumuran.

4.7.1 Identifikasi bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

4.7.1.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk melihat bentuk bakteri serta mengetahui apakah bakteri uji termasuk dalam Gram positif atau negatif. Prosedur pewarnaan Gram adalah:

- Dibuat sediaan dengan cara mengambil 1 ose bakteri uji dari kultur dan ditetaskan ke *object glass*.
 - Sediaan *object glass* dikeringkan di udara kemudian dilakukan fiksasi dengan cara melewatkan *object glass* di atas api bunsen.
 - Sediaan dituangi kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit.
 - Sisa bahan pewarna dibuang dan dibilas dengan air.
 - Sediaan dituangi larutan lugol (*mordant*), dibiarkan selama 1 menit.
 - Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
 - Sediaan dituangi alkohol 96% sebagai peluntur selama 5-10 detik.
 - Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
 - Sediaan dituangi safranin sebagai warna pembanding selama 30 detik.
 - Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
 - Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi minyak emersi dan dilihat di bawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 100x.
 - Dilakukan pengamatan bentuk dan warna bakteri di bawah mikroskop.
- Ditemukan bakteri kokus Gram positif (berwarna ungu).

4.7.1.2 Tes Katalase

Tes katalase digunakan untuk membedakan genus *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*. Hal ini disebabkan kedua genus tersebut memiliki sifat pewarnaan Gram yang sama, yaitu Gram positif berbentuk kokus. Perbedaannya adalah genus *Staphylococcus* mempunyai enzim katalase, sedangkan genus *Streptococcus* tidak mempunyai. Prosedur tes katalase adalah:

- Membersihkan *object glass* yang akan digunakan dengan cara melewatkannya di atas nyala api bunsen sebanyak 3 kali.
- Mengambil 2-3 koloni bakteri yang terpisah menggunakan ose steril, lalu diletakkan di atas *object glass*.
- Meneteskan 1 tetes hidrogen peroksida (H_2O_2) 10% di atas koloni bakteri yang sudah diletakkan di atas *object glass*.
- Mengamati hasil dari tes katalase berupa terbentuknya gelembung udara dengan cepat dan banyak (tes katalase positif) yang menandakan bahwa bakteri tersebut adalah golongan *Staphylococcus*.

4.7.1.3 Tes Koagulase

Setelah menentukan genus bakteri *Staphylococcus* melalui uji katalase, selanjutnya dilakukan tes koagulase dengan tujuan mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*, dimana hanya spesies bakteri tersebut yang menghasilkan tes koagulase positif diantara genus bakteri *Staphylococcus* lainnya.

Prosedur tes koagulase adalah:

- Menyiapkan satu lembar kertas karton hitam tahan air yang khusus digunakan untuk tes koagulase dari Remel®.

- Meneteskan 1 tetes larutan Stephaurex[®] (Latex koagulase) di atas kertas karton tersebut.
- Mengambil satu koloni bakteri yang telah teridentifikasi katalase positif dari medium perbenihan bakteri menggunakan lidi kayu lalu diletakkan di atas larutan Stephaurex[®].
- Kertas karton yang sudah terdapat campuran antara koloni bakteri dengan larutan Stephaurex[®] tersebut digoyang-goyangkan selama 30-60 detik. Hasilnya adalah timbul bentukan endapan seperti pasir-pasir kecil berwarna putih keabu-abuan (tes koagulase positif), yang menandakan bahwa isolat tersebut adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

4.7.1.4 Uji Resistensi Terhadap Cefoxitin dengan Metode *Disc Diffusion*

Tes ini dilakukan setelah proses identifikasi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* selesai. Metode yang digunakan adalah *disc diffusion (Kirby Bauer method)*

dan pedoman menurut tabel *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*

2014. Prosedurnya adalah:

- Menyiapkan 4 koloni bakteri uji MRSA dan kertas cakram dengan diameter 6 mm yang telah berisi antibiotika cefoxitin.
- Mengambil 4 koloni bakteri uji menggunakan ose steril lalu digoreskan di atas agar Mueller Hinton (yang sudah dibagi 4 bagian untuk masing-masing koloni MRSA) untuk membuat *streaking* pada permukaan agar tersebut. Tujuan *streaking* ini adalah untuk menumbuhkan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada seluruh permukaan agar.

- Agar Mueller Hinton yang sudah di *streaking* tadi dibiarkan mengering selama 2 menit, kemudian kertas cakram antibiotik *cefoxitin* diletakkan di atas agar tersebut.
- Agar Mueller Hinton diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam setelah kertas cakram antibiotik terpasang.
- Setelah waktu inkubasi selesai, diukur diameter hambatan pertumbuhan bakteri di sekitar kertas cakram antibiotik *cefoxitin* dan dibandingkan dengan tabel CLSI, sehingga dapat ditentukan apakah bakteri tersebut sensitif atau resisten. Bakteri *Staphylococcus aureus* strain MRSA teridentifikasi dengan didapatkan hasil resisten terhadap antibiotik *cefoxitin* (diameter hambatan ≤ 21 mm).

4.7.2 Persiapan Suspensi Bakteri Uji

Perbenihan cair bakteri MRSA dari NAP dinilai absorbansinya dengan spektrofotometer pada gelombang cahaya 625 nm. Dari nilai absorbansi tersebut, dapat diperkirakan jumlah bakteri pada perbenihan cair dengan kalibrasi yang sudah diketahui yaitu absorbansi 0,1 ekuivalen dengan jumlah bakteri sebesar 10^8 CFU/mL. Dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

N_1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V_1 = Volume suspensi bakteri uji yang akan ditambah pengencer (mL)

N_2 = Optical density (0,1 setara dengan 10^8 /mL)

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 mL)

N_1 sama dengan nilai absorbansi yang didapat sedangkan N_2 adalah absorbansi 0,1 yang ekuivalen dengan jumlah bakteri 10^8 CFU/mL. V_2 adalah volume suspensi bakteri uji MRSA. Dari rumus tersebut, akan diperoleh volume suspensi bakteri uji yang akan ditambah pengencer (V_1) untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/mL sebanyak 10 mL (Forbes *et al.*, 2007).

4.7.3 Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek

Uji sensitivitas ini dilakukan dengan metode difusi sumuran menggunakan 5 macam konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dengan kontrol negatif berupa aquades, serta kontrol positif berupa *chlorhexidine* 0,2%. Prosedurnya adalah:

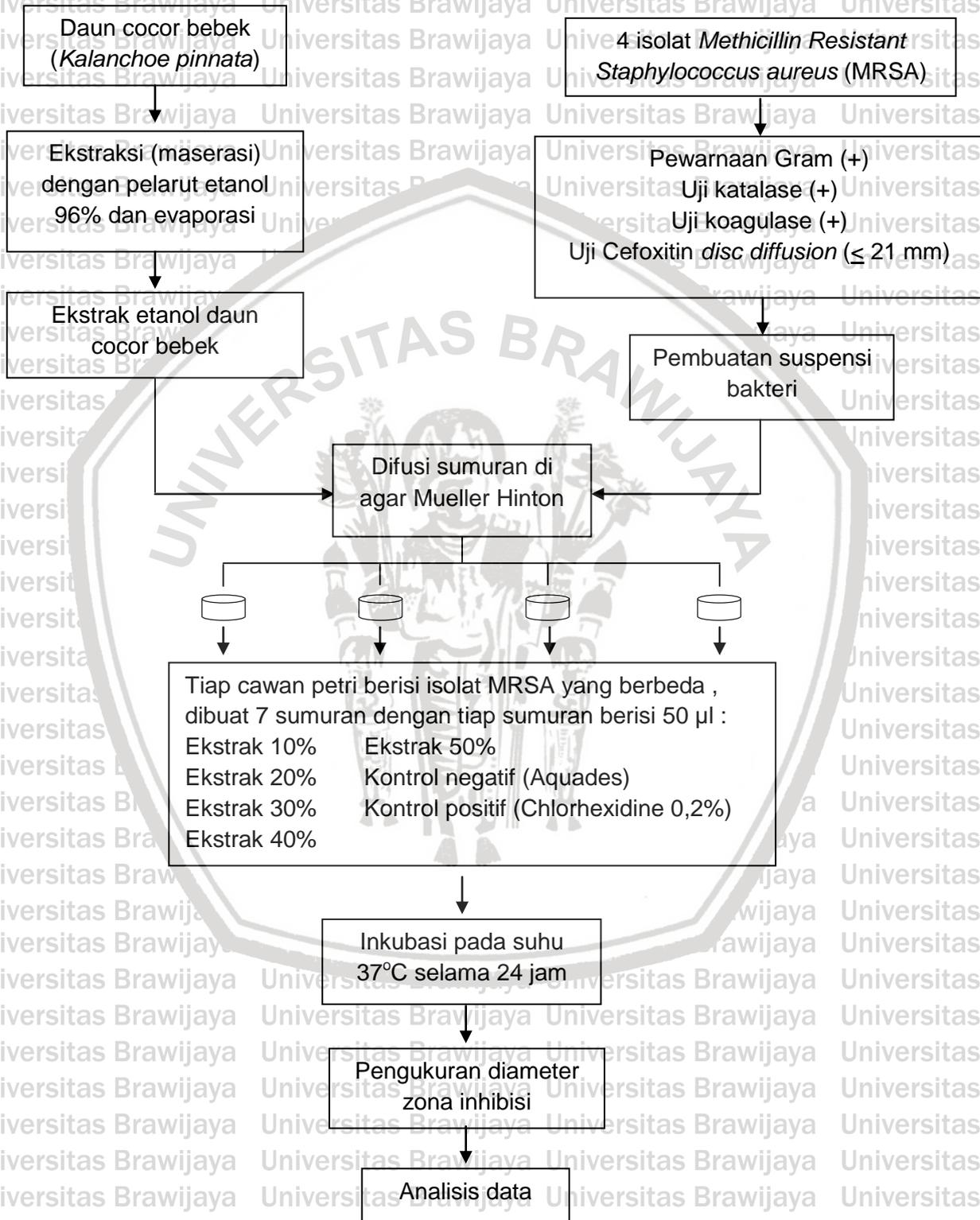
- Menyiapkan cawan petri (empat buah) yang berisi masing-masing bakteri MRSA dari isolat yang berbeda sebanyak 10^8 CFU/mL.
- Masing-masing suspensi bakteri MRSA sebanyak 0,5 mL dicampurkan dengan agar cair Mueller Hinton sebanyak 15 mL dalam masing-masing 4 cawan petri.
- Menggoyang-goyangkan cawan petri sehingga suspensi bakteri MRSA dengan agar Mueller Hinton tercampur dengan rata, lalu didiamkan beberapa saat hingga agar mengeras.
- Membuat lubang sumuran di tiap cawan petri pada ketujuh sisi dengan menggunakan pelubang sumuran.
- Lubang sumuran pertama diisi 50 μ L akuades sebagai kontrol negatif, lubang sumuran kedua sampai keenam berisi 50 μ L larutan ekstrak etanol daun cocor bebek dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan

50%. Dan lubang sumuran ketujuh (yang letaknya di tengah) berisi 50 μ L *chlorhexidine* 0,2% sebagai kontrol positif.

- Cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator selama 18-24 jam dengan suhu 37°C.
- Mengukur diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dalam satuan millimeter (mm).



4.7.4 Skema Prosedur Penelitian



4.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) untuk windows versi 17 (Dahlan, 2008).

Adapun langkah-langkah pengujian sebagai berikut.

1. Uji normalitas data dengan menggunakan *Shapiro Wilk* test dan uji homogenitas menggunakan *Levene statistic*.

2. Uji komparasi dilakukan dengan cara *One-Way ANOVA* > 2 kelompok untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap pertumbuhan MRSA, dengan syarat:

- a. Sebaran data harus normal
- b. Varian data harus sama (homogen)

Namun jika data tidak homogen atau tidak tersebar normal, maka digunakan metode *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan ukuran zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran pada setiap perlakuan.

3. Uji *Post Hoc Tukey / Tukey Homogenous Subsets* dilakukan untuk mengetahui pasangan kelompok sampel yang memberikan perbedaan yang signifikan.

4. Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan konsentrasi pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek serta potensinya.

Sedangkan uji regresi dilakukan untuk mengetahui besar pengaruh variabel independen (ekstrak dengan berbagai konsentrasi) terhadap variabel dependen (zona inhibisi).

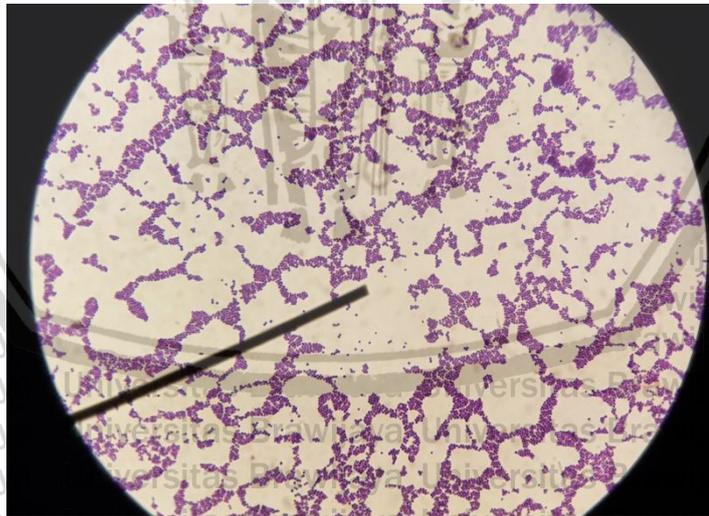
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri

Penelitian ini menggunakan sampel berupa empat isolat *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari dua isolat pus, darah dan ETT (*Endotracheal tube*) di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Uji identifikasinya berupa pewarnaan Gram, tes katalase, tes koagulase dan uji sensitifitas difusi cakram menggunakan antibiotik cefoxitin. Hasil dari pewarnaan Gram dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100x didapatkan gambaran bakteri dengan bentuk bulat (*coccus*) berwarna ungu, yang merupakan ciri dari bakteri Gram positif.



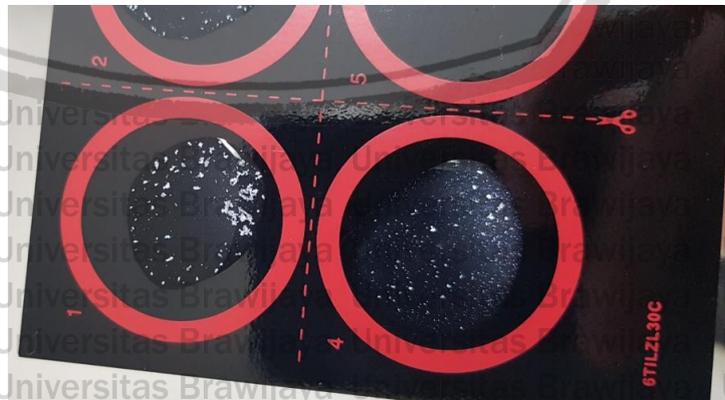
Gambar 5.1 Pewarnaan Gram. Didapatkan Gambaran Bulat (*coccus*) Berwarna Ungu (Bakteri Gram Positif) pada Pengamatan Menggunakan Mikroskop Perbesaran Lensa Objektif 100x.

Tes katalase didapatkan hasil katalase positif pada bakteri MRSA yang diuji. Hal ini dapat dibuktikan dengan terbentuknya gelembung udara dengan cepat dan banyak. Ini merupakan tanda bahwa bakteri uji tersebut adalah genus *staphylococcus*, bukan *streptococcus*.



Gambar 5.2 Didapatkan Hasil Tes Katalase Positif dengan Terbentuknya Gelembung Udara.

Kemudian pada uji koagulase didapatkan hasil positif dengan terbentuknya endapan seperti pasir-pasir kecil berwarna putih keabu-abuan. Hal ini menandakan bahwa isolat tersebut adalah *Staphylococcus aureus*, bukan *staphylococcus* yang lain.

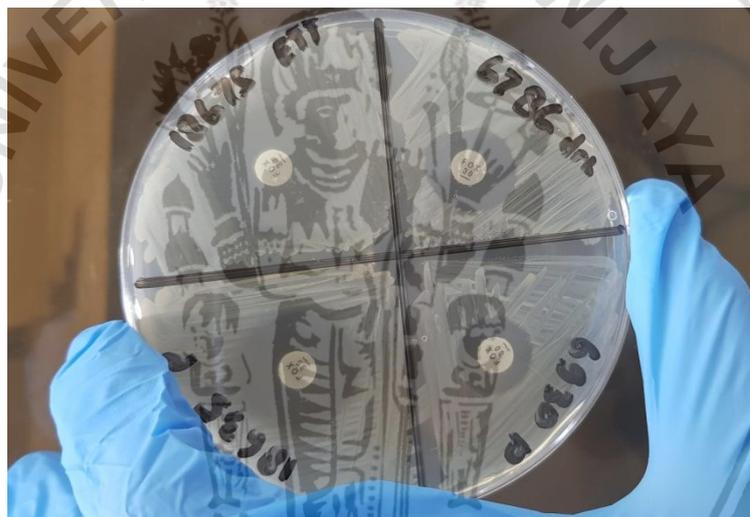


Gambar 5.3 Tes Koagulase Positif dengan Didapatkan Bentuk Endapan Seperti Pasir Berwarna Putih.

Langkah terakhir dalam identifikasi bakteri MRSA adalah dengan membuktikan bahwa bakteri tersebut resisten terhadap antibiotik cefoxitin bila didapatkan diameter zona inhibisi ≤ 21 mm.

Tabel 5.1 Diameter Zona Inhibisi Cakram Cefoxitin

Identifikasi Bakteri MRSA metode difusi cakram antibiotik cefoxitin		
Jenis isolat MRSA	Diameter zona inhibisi	Interpretasi
ETT	20,5 mm	Resisten dikarenakan diameter zona inhibisinya ≤ 21 mm
Darah	16,5 mm	
Pus 18635	19 mm	
Pus 6930	13,5 mm	



Gambar 5.4 Hasil Uji Resistensi Antibiotik Cefoxitin Didapatkan Diameter Zona Inhibisi ≤ 21 mm

5.1.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek

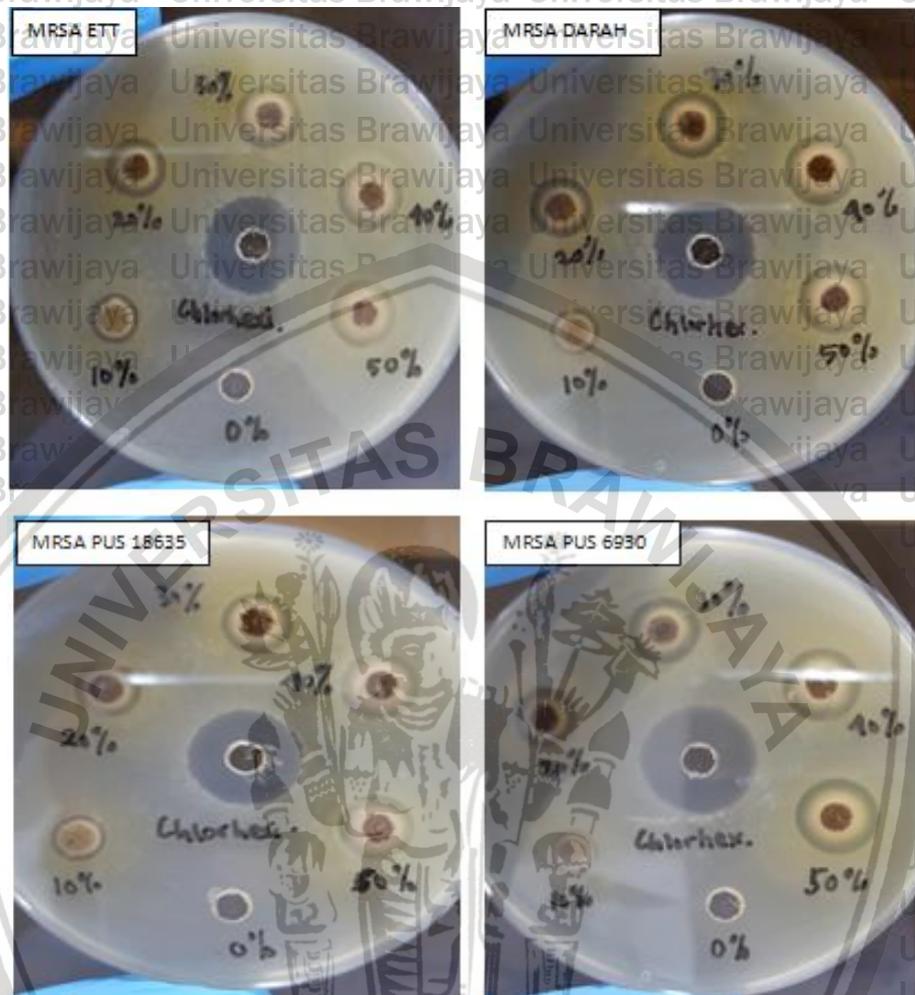
Dari serbuk simplisia daun cocor bebek sebanyak 500 gram yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%, didapatkan hasil ekstrak berupa pasta sebanyak 100 gram dengan menggunakan metode maserasi. Ekstrak etanol daun cocor bebek berwarna coklat kehijauan pekat.



Gambar 5.5 Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek

5.1.3 Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri Metode Sumuran

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi berbeda ekstrak etanol daun cocor bebek, yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% serta diberi perlakuan menggunakan kontrol negatif berupa aquades dan kontrol positif berupa *chlorhexidine* 0,2%. Efek antibakteri ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* didapatkan dengan uji difusi sumuran dengan mengamati besar diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dan diamati menggunakan penggaris dalam satuan milimeter (mm). Hasil pengamatan pada cawan petri setelah diinkubasi di dalam suhu ruang selama 18-24 jam (Gambar 5.6) didapatkan bahwa zona inhibisi dapat terlihat pada konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, serta pada kontrol positif. Diameter zona inhibisi terbesar diperoleh dari pengamatan terhadap kontrol positif. Sedangkan dengan perlakuan ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap MRSA, diameter zona inhibisi mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Hal ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek maka semakin besar pula potensi antibakterinya terhadap MRSA.



Gambar 5.6 Hasil Pengamatan pada Uji Difusi Sumuran dengan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek 10%, 20%, 30%, 40%, 50% serta Kontrol Negatif dan Kontrol Positif (*Chlorhexidine* 0,2%).

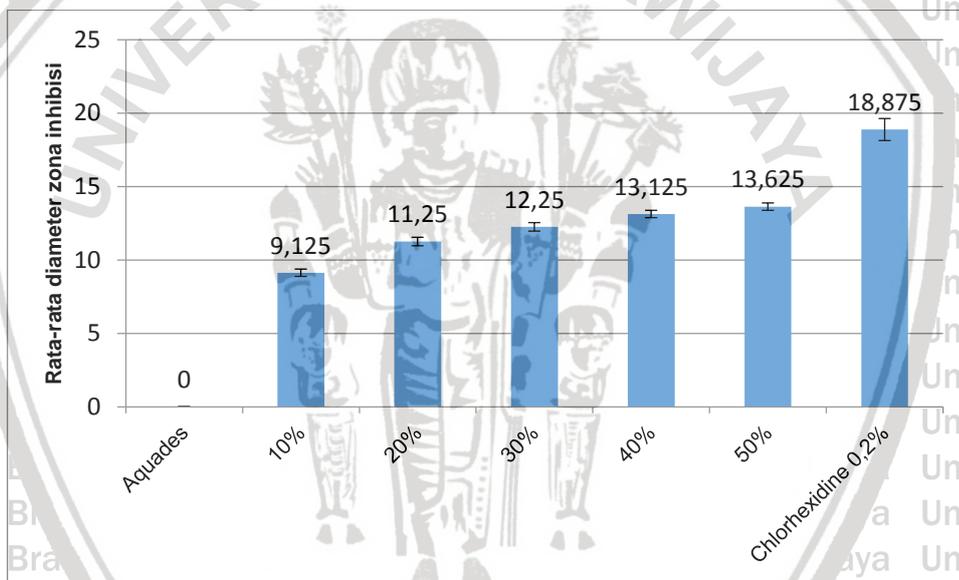
Hasil perhitungan dari pengaruh tiap konsentrasi ekstrak etanol daun cocor

bebek terhadap diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dapat dilihat pada tabel 5.2, sedangkan grafiknya dapat dilihat pada gambar 5.7

berikut.

Tabel 5.2 Diameter Zona Inhibisi yang Terbentuk di sekitar Lubang Sumuran dalam Pemberian Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Cocor Bebek

Konsentrasi	Pengulangan - Isolat Bakteri MRSA (mm)				Rata-rata diameter \pm SD (mm)
	ETT	Darah	Pus 18635	Pus 6930	
Aquades	0	0	0	0	0
10%	9	9,5	9	9	9 \pm 0,25
20%	11	11,5	11,5	11	11,25 \pm 0,29
30%	12	12,5	12,5	12	12,25 \pm 0,29
40%	13	13,5	13	13	13,125 \pm 0,25
50%	13,5	14	13,5	13,5	13,625 \pm 0,25
Chlorhexidine 0,2%	18,5	20	18,5	18,5	18,875 \pm 0,75



Gambar 5.7 Rata-rata Diameter Zona Inhibisi yang Terbentuk di Sekitar Lubang Sumuran Setelah Perlakuan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek Terhadap 4 Isolat Bakteri MRSA yang Berbeda.

5.2 Analisis Data

Dalam analisis data ini, langkah pertama yang dilakukan adalah dengan melakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk Test* (dikarenakan jumlah sampel hanya 28 atau kurang dari 50) untuk mengetahui data sampel penelitian

berasal dari populasi yang berdistribusi normal. Hasil uji normalitas (Lampiran 3) didapatkan nilai signifikansi 0.096 ($p > 0.05$) dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal (parametrik). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian dengan tujuan untuk mengetahui bahwa dua kelompok atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki variasi yang sama. Hasil uji homogenitas varian (Lampiran 3) dengan *Levene Test Homogeneity of Variance* didapatkan nilai signifikansi 0.167 ($p > 0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa variasi tiap sampel sama atau homogen.

Hasil uji normalitas dan homogenitas di atas menunjukkan bahwa sampel berdistribusi normal dan memiliki variasi homogen, hal ini berarti dapat dilakukan uji statistik parametrik yaitu *One-way ANOVA Test* untuk mengetahui adanya perbedaan rata-rata diameter zona inhibisi yang disebabkan adanya perlakuan berupa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap bakteri MRSA. Hasil *One-way ANOVA Test* (Lampiran 4) didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$) dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh signifikan dari perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dilihat dari zona inhibisi.

Langkah berikutnya setelah dilakukan *One-way ANOVA Test*, dilakukan uji *Tukey Homogenous Subsets* yang merupakan *multiple comparison* (perbandingan antara kelompok konsentrasi dan kelompok kontrol, serta antar kelompok konsentrasi). Pada hasil *Homogenous Subsets* (Lampiran 5), 7 kelompok sampel masuk pada 6 *subsets* yang berbeda kecuali pada *subsets* 5 yang diisi kelompok sampel konsentrasi 40% dan 50%. Hal ini menunjukkan

adanya perubahan rata-rata diameter zona inhibisi yang signifikan di semua konsentrasi ekstrak kecuali pada konsentrasi 40% dan 50%.

Sedangkan uji korelasi non parametrik *Spearman* dilakukan dengan tujuan mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi ekstrak daun cocor bebek dan zona inhibisi yang terbentuk. Hasil uji korelasi *Spearman* (Lampiran 6) diperoleh angka signifikansi yaitu 0.000 ($p < 0.05$) dan nilai koefisien korelasi *Spearman* sebesar 0.988 ($r > 0.799$) yang berarti nilai korelasinya sangat kuat. Koefisien korelasi menunjukkan kekuatan korelasi dengan nilai $r < 0.500$ dianggap lemah, $r = 0.500 - 0.599$ dianggap korelasi sedang, $r = 0.600 - 0.799$ dianggap korelasi kuat, $r > 0.799$ dianggap korelasi sangat kuat. Selain itu dari hasil angka korelasi yang didapat merupakan bilangan positif, maka hal ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek, semakin besar pula diameter zona inhibisi yang terbentuk, dan sebaliknya.

Uji regresi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bagaimana besaran potensi ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap zona inhibisi pertumbuhan bakteri MRSA. Hasil uji regresi (Lampiran 7) didapatkan nilai R Square (R^2) sebesar 0.720 menunjukkan bahwa potensi ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap terbentuknya zona inhibisi pada pertumbuhan bakteri MRSA adalah sebesar 72%. Sedangkan sisa dari nilai tersebut sebesar 28% adalah variabel lain yang tidak diteliti dan ikut mempengaruhi hasil penelitian misalnya berapa lama waktu penyimpanan ekstrak etanol daun cocor bebek, suhu penyimpanan, atau dari resistensi bakteri itu sendiri. Hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap besarnya zona inhibisi dapat dinyatakan dengan rumus $Y = A + BX$ dengan Y adalah interval zona inhibisi dan X adalah konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek. Angka koefisien dari A dan B

didapat dalam uji regresi (Lampiran 7). A sebesar 4.101 dan B sebesar 0.232 sehingga rumus di atas dapat dinyatakan dengan $Y = 4.101 + (0.232X)$. Dengan menggunakan persamaan tersebut, maka peneliti dapat memprediksi besaran konsentrasi ekstrak daun cocor bebek yang dibutuhkan agar dapat menyamai potensi kontrol positif (Y dimasukkan angka 18,875 sebagai rata-rata diameter zona inhibisi *chlorhexidine* 0,2%).

$$18,875 = 4,101 + 0,232X$$

$$X = (18,875 - 4,101) / 0,232$$

$$X = 14,774 / 0,232$$

$$X = 63,681$$

Dengan menggunakan persamaan regresi tersebut, diasumsikan bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek yang efek antibakterinya setara dengan *chlorhexidine* adalah 64%.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*. Metode di dalam penelitian ini menggunakan difusi sumuran. Metode ini digunakan untuk mengetahui ekstrak etanol daun cocor bebek yang memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan mengukur dan mengamati diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Zona inhibisi dapat diketahui dengan terbentuknya zona berwarna jernih yang terlihat di sekitar lubang sumuran, sehingga dapat disimpulkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri MRSA terhadap pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek. Namun, metode difusi sumuran ini tidak dapat digunakan untuk mengetahui suatu zat antimikroba bersifat bakteriostatik maupun bakteriosidal, sifat bakteriostatik dan bakteriosidal dari suatu zat antimikroba dapat diketahui dengan metode dilusi tabung dengan mengamati Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Jawetz *et al*, 2013).

Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa besar diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran meningkat sesuai dengan pemberian jumlah konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek, jadi semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek dari 10%, 20%, 30%, 40%, 50% masih belum mampu menyamai potensi antibakteri dari pemberian *chlorhexidine* 0,2% sebagai kontrol positif yang

merupakan antiseptik untuk mandi dan kumur pasien yang terinfeksi bakteri MRSA.

Namun dengan menggunakan persamaan regresi, dapat diketahui bahwa untuk bisa menandingi potensi antibakteri dari *chlorhexidine* 0,2% maka diperlukan konsentrasi ekstrak cocor bebek sebesar 64%. Berdasarkan hasil analisis data statistik, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek efektif sebagai antibakteri terhadap MRSA.

Efek antibakteri dari ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap pertumbuhan koloni bakteri MRSA dikarenakan adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak. Senyawa aktif yang terdapat di dalam daun cocor bebek antara lain flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid (Safitri *et al*, 2012).

Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein ekstraseluler sel bakteri sehingga merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina, 2008). Sedangkan saponin bekerja dengan cara merusak porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa sehingga mengakibatkan sel bakteri menjadi kekurangan nutrisi dan pada akhirnya pertumbuhan bakteri menjadi terhambat atau mati (Rachmawati, 2009). Tanin bekerja dengan cara inaktivasi enzim dan destruksi fungsi materi genetik (DNA) dari bakteri.

Sedangkan senyawa alkaloid memiliki kemampuan merusak peptidoglikan dinding sel dan menginterkalasi DNA sehingga mengganggu keseimbangan genetik dari sel bakteri.

Bersamaan dengan penelitian ini, telah dilaksanakan penelitian secara *in vitro* mengenai aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli* menggunakan difusi sumuran oleh Ratih dan Rahadiyan (2009). Hasilnya didapatkan bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek dengan berbagai konsentrasi tidak memiliki daya

hambat sama sekali terhadap bakteri *Escherichia coli*, namun masih mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan penelitian lain dari Widyanti (2015) mencoba menguji potensi antifungi ekstrak daun cocor bebek terhadap *Candida albicans*. Kesimpulan dari hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa ekstrak daun cocor bebek mempunyai potensi sebagai antifungi terhadap *Candida albicans*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun cocor bebek memiliki potensi sebagai antifungi dan juga antibakteri untuk bakteri gram positif seperti MRSA, namun tidak memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli*. Hal ini dapat terjadi dikarenakan adanya perbedaan komponen penyusun dinding sel dari kedua bakteri tersebut yang menyebabkan bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* lebih bersifat resisten (Jawetz *et al*, 2013).

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan pemeriksaan kandungan bahan-bahan aktif dalam ekstrak etanol daun cocor bebek dan kandungan bahan aktif apa yang memiliki potensi antibakteri paling besar. Selain itu, pada hasil uji antibakteri difusi sumuran masih dijumpai adanya endapan ekstrak di dasar lubang sumuran sehingga membuat pengukuran potensi antibakteri dari ekstrak daun cocor bebek menjadi kurang akurat. Keterbatasan lainnya dari penelitian ini adalah penelitian ini dilakukan hanya dengan satu metode, yaitu metode difusi sumuran yang hanya dapat meneliti potensi suatu senyawa terhadap hambatan pertumbuhan bakteri.

Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *In vitro* maupun secara *In vivo* untuk dapat mengetahui dosis efektif, toksisitas, dan efek samping yang dapat disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek.

Salah satu metode yang disarankan adalah metode dilusi tabung untuk

mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Penelitian lanjutan ini diharapkan dapat mendasari perkembangan penggunaan ekstrak etanol daun cocor bebek terhadap bakteri MRSA sebelum diaplikasikan secara klinis pada manusia sebagai terapi alternatif antibiotik dan antiseptik yang selama ini digunakan.



BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan :

- a) Ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) memiliki potensi antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*, yang ditunjukkan dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang digunakan, maka semakin besar diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran
- b) Konsentrasi ekstrak etanol daun cocor bebek sebesar 64% diasumsikan dapat menyamai efek antibakteri dari *chlorhexidine* 0,2%.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah:

- a) Perlu dilakukan sentrifugasi ekstrak terlebih dahulu agar tidak meninggalkan endapan di hasil akhir lubang sumuran.
- b) Perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik mengenai zat aktif yang terkandung dalam daun cocor bebek yang berperan sebagai antibakteri.
- c) Perlu dilakukan penelitian lain baik dengan uji *in vivo* atau *in vitro* untuk dapat mengetahui dosis efektif, toksisitas, dan efek samping yang dapat disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol daun cocor bebek sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan terhadap bakteri MRSA.

DAFTAR PUSTAKA

Aulia A. Sensitifitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Journal bioscientiae*, 2004, 1 (1): 31-38.

Badan POM RI. 2005. *Standardisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting Dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia*. PIO Nas, Jakarta, hal. 2-3.

Badan POM RI. 2015. *Antibakteri*, (Online), (<http://pionas.pom.go.id/ioni/bab-5-infeksi/51-antibakteri>), diakses 14 September 2017)

Barata R.M. 2009. *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (Kalanchoe pinnata) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 6538 dan Escherichia coli ATCC 11229 secara in vitro*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

Biswas S.K., Chowdhury A., Das J., Karmakar U.K., and Shill M.C. Assessment of Cytotoxicity and Antibacterial Activities of Ethanolic Extracts of *Kalanchoe pinnata* Leaves and Stems. *Int J Pharm Sci Res*, 2011, 2 (10): 748-752.

Boerlin P., P. Kuhnert, D. Hussy and M. Schaellibaum. Methods for Identification of *Staphylococcus aureus* Isolates in Cases of Bovine Mastitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41 (2): 767 - 769.

Brooks G.F., Jawetz E., Melnick J.L., and Adelberg E.A., 2013. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*, 26th Ed., McGraw-Hill Medical, New York.

Brown D.F.J., Edwards D.I., Hawkey P.M., Morrison D., Ridgway G.L., Towner K.J. *et al.* Guidelines For The Laboratory Diagnosis and Susceptibility Testing of *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Antimicrob Chemother*, 2005, 56 (6): 1000-1018.

Cappuccino J. and Sherman N., 2007. *Microbiology : A Laboratory Manual*, 8th Ed., Benjamin-Cummings Publishing Company, San Fransisco.

Carter G.R. and Wise D.J., 2004. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*, 6th Ed., Iowa State Press, Iowa.

Chen C. J. and Huang Y. C. New Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014, 20 (7): 605-623.

Erikawati D., Santosaningsih D., Santoso S. Tingginya Prevalensi MRSA pada Isolat Klinik Periode 2010-2014 di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, Indonesia. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2016, 29 (2): 149-156.

Forbes B.A., Sahm D.F., and Weissfeld A.S., 2007. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 12th Ed., Elsevier Mosby, St. Louis.

Gunawan G.S., 2009. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 5, Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Hasyim N., Pare K.L., Junaid I., Kurniati A. Formulasi dan Uji Efektifitas Gel Luka Bakar Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 2012, 16 (2): 89-94.

Illarya N. 2014. *Uji Aktivitas dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Jamur Endofit Dp10 yang Diisolasi Dari Tanaman Artemisia Annu Linn Dengan Metode Bioautografi*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Indra N.A. 2015. *Identification of Ornamental Plant which Possess Medicinal Function Based on Its Leaf Shape, Texture, and Color Features*. Doctoral Thesis. Department of Science and Advanced Technology of Saga University, Japan.

Irmawartini dan Nurhaedah, 2017. *Metodologi Penelitian*. Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Jakarta, hal. 113.

Istiana, Sarah, Tanti A., Suprpto. 2016. *Formulasi Sediaan Gel Basis Na-Cmc Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (Kalanchoe Pinnata (Lmk.) Pers.) Sebagai Penyembuh Luka Bakar Pada Kelinci*. Tesis. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

Johnson A.G., Ziegler R.J., Hawley L., 2010. *Microbiology and Immunology*, 5th Ed., Wolters Kluwers Health, Philadelphia.

Juliantina F.R., Citra D.A., Nirwani B., Nurmasitoh T., Tri E.B. Manfaat Sirih Merah Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 2008, 1 (1).

Kazmi I., Khan R., Singh R., Chauhan M., Anwar F., and Bist T. *Bryophyllum Pinnatum: A review*. *International Journal of Research in Biological Sciences*, 2012, 2 (4): 143-149.

Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2015. *Pengendalian Penyakit Infeksi di Indonesia untuk Hadapi Zona Bebas Asia Tenggara*, (Online), (<http://www.depkes.go.id/article/view/15050700002/pengendalian-penyakit-infeksi-di-indonesia-untuk-hadapi-zona-bebas-asia-tenggara.html>), diakses 10 September 2017)

Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2015. *Penggunaan Antibiotik Bijak Dan Rasional Kurangi Beban Penyakit Infeksi*, (Online), (<http://www.depkes.go.id/article/print/15081100001/penggunaan-antibiotik-bijak-dan-rasional-kurangi-beban-penyakit-infeksi.html>), diakses 12 September 2017)

Kristio. 2007. *Tanaman Obat Indonesia – Indonesian Biodiversity Conservation Trust Fund*, (Online), (<http://www.kehati.or.id/prohati/printer.php?photoid=179>), diakses 15 September 2017)

Krzysztof T, Ben S. C., Waleria H., Christopher G. D. Expression of Resistance to Tetracyclines in Strains of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2000, 45: 763-770.

Kuntaman. 2017. *Angka Kasus MRSA Meningkat*, (Online), (<http://nasional.republika.co.id/berita/nasional/umum/17/01/19/ojzivy359-aangka-kasus-mrsa-meningkat>), diakses 30 Agustus 2017)

Manoi F. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 2009, 15 (1): 3-4.

Maryati R.S dan Fauzia T.R. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 2007, 6 (1): 30-38.

Matthew S., Jain A.K., James M., Matthew C., Bhownick D. Analgesic and Inflammatory Activity of *Kalanchoe pinnata*. *Journal of Medicine Plants Studies*, 2013, 1 (2): 24-48.

Murphy M.C. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbial*, 1999, 12: 564-582.

Nurkusuma, D. 2009. *Faktor yang Berpengaruh Terhadap 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.

Nurwantoro dan Abbas S., 2001. *Mikrobiologi Pangan Hewani Nabati*, Kanisius, Yogyakarta.

Pattewar S.V., Patil D.N., and Dahikar S.B. Antimicrobial Potential of Extract From Leaves of *Kalanchoe pinnata*. *Int J Pharm Sci Res*, 2013, 4 (12): 4577-4580.

Prayoga E. 2013. *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Teh Hijau (Piper betle L.) dengan Metode Disc Diffusion dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Tesis. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Putri A. 2015. *Pengaruh Pemberian Minyak Nigella Sativa dan Kombinasinya Dengan Seftriakson Terhadap Jumlah Kuman MRSA pada Kultur Hati Mencit BALB/c. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.*

Rachel J.G. and Franklin D.L. 2008. *Pathogenesis of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Infection.* Department of Medicine, Division of Infectious Disease, Columbi University College of Physician and Surgeons, New York.

Rachmawati S. 2009. *Studi Makroskopi Mikroskopi dan Skrining Fitokimia Daun Anredera cordtfolia (Ten.) Steenis. Tesis. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.*

Ratih P., Rahadiyan W. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Atcc 6538 dan *Escherichia coli* Atcc 11229 Secara Invitro. *Biomedika*, 2009, 1 (2): 43-50.

Ray P., Gautam V., and Singh R. *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Developing and Developed Countries: Implications and Solutions. Proceeding Regional Health Forum*, 2011, 15 (1): 74-82.

Ron Zimmerman. 2012. *An Expert Interview With Chingiz Amirov, MPH, CIC : Daily Use of Chlorhexidine Reduces MRSA By 82%, (Online), (https://www.medscape.com/viewarticle/765066#vp_2, diakses 20 Oktober 2018)*

Safitri A. 2012. *Studi Pembuatan Fruit Leather Mangga-Rosella.* Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Hasanudin, Makassar.

Sampurno. 2006. *Obat Herbal Dalam Perspektif Medik Dan Bisnis.* Tesis. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Sarker S.D., Latif Z., Gray A.I., 2006. *Methods in Biotechnology: Natural Product Isolation*, 2th Ed., Humana Press, Totowa.

Sinaredi B. R., Pradopo S., dan Wibowo T. B. Daya Antibakteri Obat Kumur *Chlorhexidine, Povidone Iodine, Fluoride* Suplementasi Zinc terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Dental Journal (Majelis Kedokteran Gigi)*, 2014, 47 (4): 211–214.

Siswandono dan Soekardjo, 1995. *Kimia Medisinal*, Edisi 1, Airlangga University Press, Surabaya.

Sjamsu H.S. dan Hutapea J.R., 1991. *Tanaman Obat Indonesia.* Badan Penelitian dan Pengembangan, Departemen Kesehatan, Jakarta, halaman 220-221.

Strobel G. and Daisy B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology*, 2003, 67 (4): 491–502.

Taylor L., 2005. *The Healing Power of Rainforest Herbs*, Raintree Nutrition, Inc., Carson City, Nevada.

Tilahun B, Faust AC, McCrostin P, Ortegon A. Nasal Colonization and Lower Respiratory Tract Infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *American Journal of Critical Care*, 2015, 24 (1): 8-12.

Tim T.P. and Andrew J.L. Antimicrobial Activity of Flavonoid. *International Journal Of Antimicrobial Agents*, 2005, 26 (5): 343-356.

Todar K. 1998. *Bacteriology 330 Lecture Topics: Staphylococcus*. University of Wisconsin Department of Bacteriology, Wisconsin, USA.

Todar K. 2002. *Staphylococcus Bacteriology at UW-Bacteriology 330*. University of Wisconsin Department of Bacteriology, Wisconsin. Home Page 1-7.

Todar K, 2005. *Todar's Online Textbook of Bacteriology - Staphylococcus*, (Online), (http://textbookbacteriology.net/stap_2.html), diakses 12 September 2017)

Van Leeuwen WB. 2003. Molecular approaches for the epidemiological characterization of *S. aureus* strain, p 55-95. In Fluit Ad C, and Franz-Josef Schitz (editors), *MRSA: Current perspectives*. Caister Academic Press, Norfolk England.

Wensen Chen, Songgin Li, Lianhong Li, Xin Wu, Weihong Zhang. Effect of Daily Bathing with Chlorhexidine and Acquired Infection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin-resistant *Enterococcus*. *Journal of Thoracic Disease*, 2013, 5 (4): 518-524.

Widyanti H. 2015. *Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Cocor Bebek (Kalanchoe pinnata (Lam.) Pers.) Terhadap Candida albicans dengan Metode Bioautografi*. Tugas Akhir. Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

World Health Organization. 2018. *The top 10 causes of death* (Online), (<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>), diakses 20 Oktober 2018)

World Health Organization. 2015. *Antibiotic Resistance* (Online), (<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>), diakses 14 November 2017)