

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK BALI
(*Jatropha podagrica*) TERHADAP BAKTERI SHIGELLA**

DYSENTERIAE DAN MRSA SECARA IN VITRO

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari

NIM 155070101111039

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

MALANG

2018

HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK BALI
(*Jatropha podagrica*) TERHADAP BAKTERI SHIGELLA
DYSENTERIAE DAN MRSA SECARA IN VITRO**

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari
NIM 155070101111039

Menyetujui untuk diuji pada tanggal: ...

Pembimbing-I,

Pembimbing-II

Prof. Dr. dr. Noorhamdani, AS., Sp.MK(K)
NIP. 195011101980021001

dr. Dian Hasanah, M.Biomed, Sp.PD
NIP. 197904112009122002

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA Secara *In Vitro*

Oleh:

Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari

NIM 155070101111039

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 5 Desember 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dr. Aulia Abdul Hamid Abdullah, M.Biomed.Sc, Sp.M

NIP. 197706012003121005

Pembimbing-I/Penguji-II,

Pembimbing-II/ Penguji-III,

Prof. Dr. dr. Noorhamdani, AS., Sp.MK(K)
NIP. 195011101980021001

dr. Dian Hasanah, M.Biomed., Sp.PD
NIP. 197904112009122002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran

Dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)

NIP. 196319221996012001

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Om Awignam Astu Namō Sidham.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari

NIM : 155070101111039

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

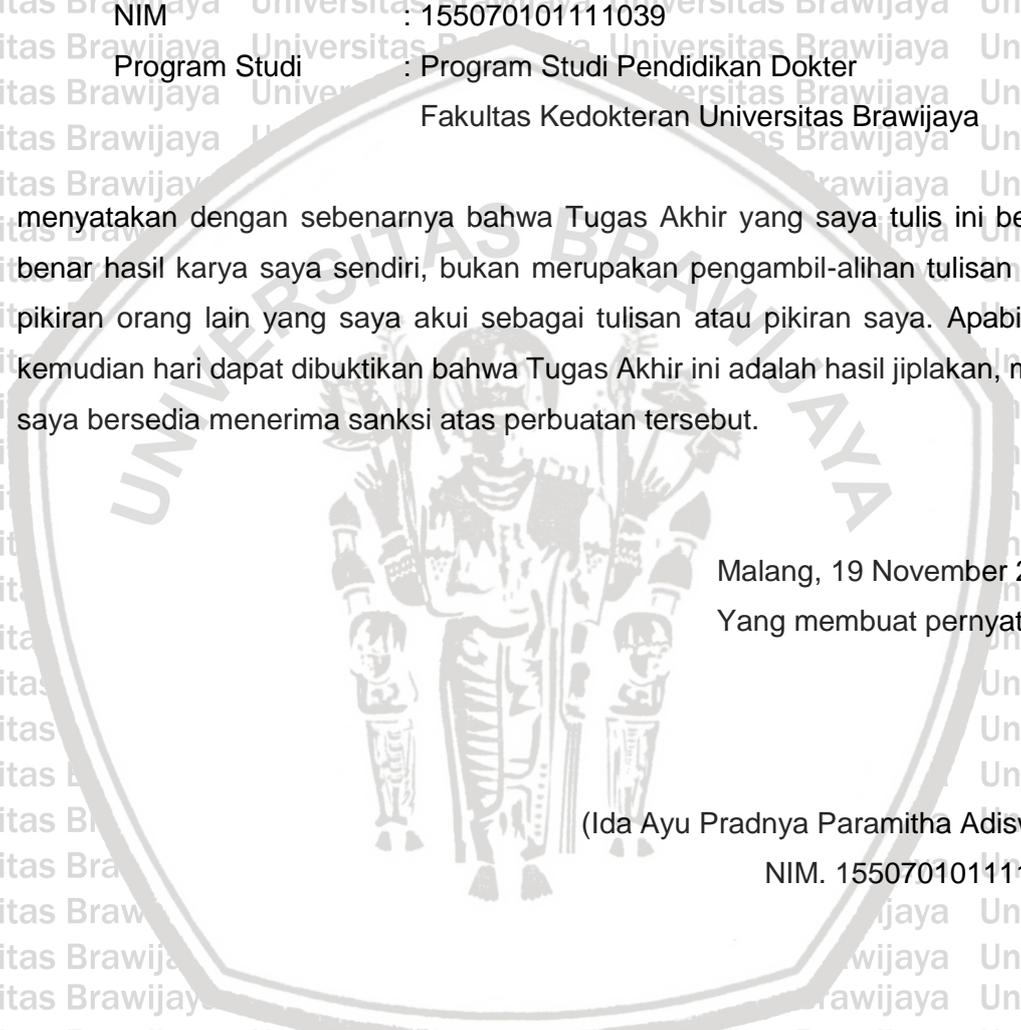
menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan,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

Malang, 19 November 2018

Yang membuat pernyataan,

(Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari)

NIM. 155070101111039



KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas kasih dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA Secara *In Vitro*.” Penelitian ini dibuat untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Kedokteran.

Dengan selesainya tugas akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. dr. Noorhamdani, AS., Sp.MK(K) sebagai pembimbing pertama yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan saran dan dukungan ilmu, serta semangat dalam penelitian ini sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir.
2. dr. Dian Hasanah, M.Biomed, Sp.PD sebagai pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing dalam penulisan naskah Tugas Akhir dan memberikan dukungan ilmu sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir.
3. dr. Ratih Paramita Suprpto, M.Biomed sebagai pembimbing kedua terdahulu yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing penulisan naskah proposal Tugas Akhir.
4. Dr. Aulia Abdul Hamid Abdullah, M.Biomed.Sc, Sp.M sebagai Ketua Tim Penguji Ujian Tugas Akhir yang telah meluangkan waktu dan bersedia menjadi dosen penguji dalam sidang Tugas Akhir, serta memberikan saran untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.
5. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K) sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Dokter di Program Studi Pendidikan Dokter di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
7. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir yang telah membantu dalam administrasi Tugas Akhir sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir.

8. Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes sebagai Kepala Laboratorium Mikrobiologi yang telah memberikan ijin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi.

9. Bu Uci sebagai analis Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang dengan sabar membantu dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian.

10. Seluruh staff Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

11. Yang tercinta Aji, Ida Bagus Adiatmaja, dan Bunda, Gusti Ayu Adi Erawati, serta Adik, Ida Bagus Dharmaprasada Adiswara atas kasih sayang, dukungan dan doa yang selalu menyertai penulis.

12. Sahabat-sahabat penulis selama menjalani pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, yaitu Thea, Lisa, Zalfa, Dela, Faiza, Sofi, Bila, Zuke, Nila, Irma, dan Isna yang telah memberikan doa, semangat, dan motivasi kepada penulis selama penyusunan Tugas Akhir.

13. Teman-teman Program Studi Pendidikan Dokter angkatan 2015 terutama Kelas A yang telah berjuang bersama penulis selama menempuh pendidikan kedokteran.

14. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari kata sempurna.

Pleh karena itu penulis terbuka untuk saran dan kritik yang membangun.

Akhir kata, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Malang, 19 November 2018

Penulis

ABSTRAK

Adiswari, Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari. 2018. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani, AS., Sp.MK(K) (2) dr. Dian Hasanah, M.Biomed, Sp.PD.

Penyakit infeksi bakteri masih menjadi masalah serius di Indonesia, termasuk infeksi *Shigella dysenteriae* yang menyebabkan diare tipe disentri dan infeksi *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang menyebabkan infeksi kulit. Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) merupakan tanaman hias yang pada penelitian sebelumnya diketahui bagian akarnya memiliki aktivitas antimikroba karena mengandung senyawa aktif yaitu *fitosterol*, *flavonoid*, dan *tanin*. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antimikroba pada ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap *Shigella dysenteriae* dan MRSA secara *in vitro* menggunakan metode difusi sumuran. Penelitian dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sehingga didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan penggaris dengan satuan milimeter. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan beberapa konsentrasi yaitu 0% sebagai kontrol negatif dan 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5% sebagai kontrol positif. Hasil menunjukkan diameter zona hambat *Shigella dysenteriae* terkecil 6,25 mm pada konsentrasi 12,5% dan terbesar 13,24 mm pada konsentrasi 100%. Sedangkan diameter zona hambat MRSA terkecil 5,25 mm pada konsentrasi 12,5% dan terbesar 14,26 mm pada konsentrasi 100%. Analisis data dengan uji *One-Way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap perubahan konsentrasi ekstrak terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Analisis data dengan uji Korelasi *Pearson* yang menunjukkan adanya hubungan sangat kuat dengan arah korelasi positif sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat semakin besar. Dari hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* dan MRSA secara *in vitro*.

Kata Kunci: *Shigella dysenteriae*, MRSA, daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*), aktivitas antibakteri.

ABSTRACT

Adiswari, Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari. 2018. **The Antibacterial Activity of Ethanol Extract of *Jatropha podagrica* Leaf Against *Shigella dysenteriae* and MRSA In Vitro**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani, AS., Sp.MK(K) (2) dr. Dian Hasanah, M.Biomed, Sp.PD.

Infectious disease is remaining a serious problem in Indonesia, including *Shigella* infection that causes dysentery and *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) infection that causes skin infection. *Jatropha podagrica* is a house-plant that the root is known for its antimicrobial activity and it contains active compounds such as fitosterol, flavonoid, and tannin. The study was aimed to perceive the antimicrobial activity of ethanol extract of *Jatropha podagrica* leaf against *Shigella dysenteriae* and MRSA in vitro using the well diffusion method. The study was repeated 4 times so the diameter zone of bacterial growth inhibition was obtained using a millimeter ruler. Antimicrobial activity test was carried out with several concentrations; 0% as a negative control and 100%, 75%, 50%, 25%, and 12.5% as positive controls. The results showed the smallest diameter of *Shigella dysenteriae* inhibition zone was 6.25 mm at concentration of 12.5% and the largest was 13.24 mm at concentration of 100%. While the smallest diameter of MRSA inhibition zone was 5.25 mm at concentration of 12.5% and the largest was 14.26 mm at concentration of 100%. Data analysis with *One-Way ANOVA* test showed there was a significant difference in each concentration to the diameter of the inhibition zone with a significance value of 0.000 ($p < 0.05$). Data analysis with Pearson Correlation test showed a very strong relationship with positive correlation so the higher the concentration of the extract, the wider the diameter of the inhibition zone. From the results of this study, it can be concluded that the ethanol extract of *Jatropha podagrica* leaf has antimicrobial activity against *Shigella dysenteriae* and MRSA in vitro.

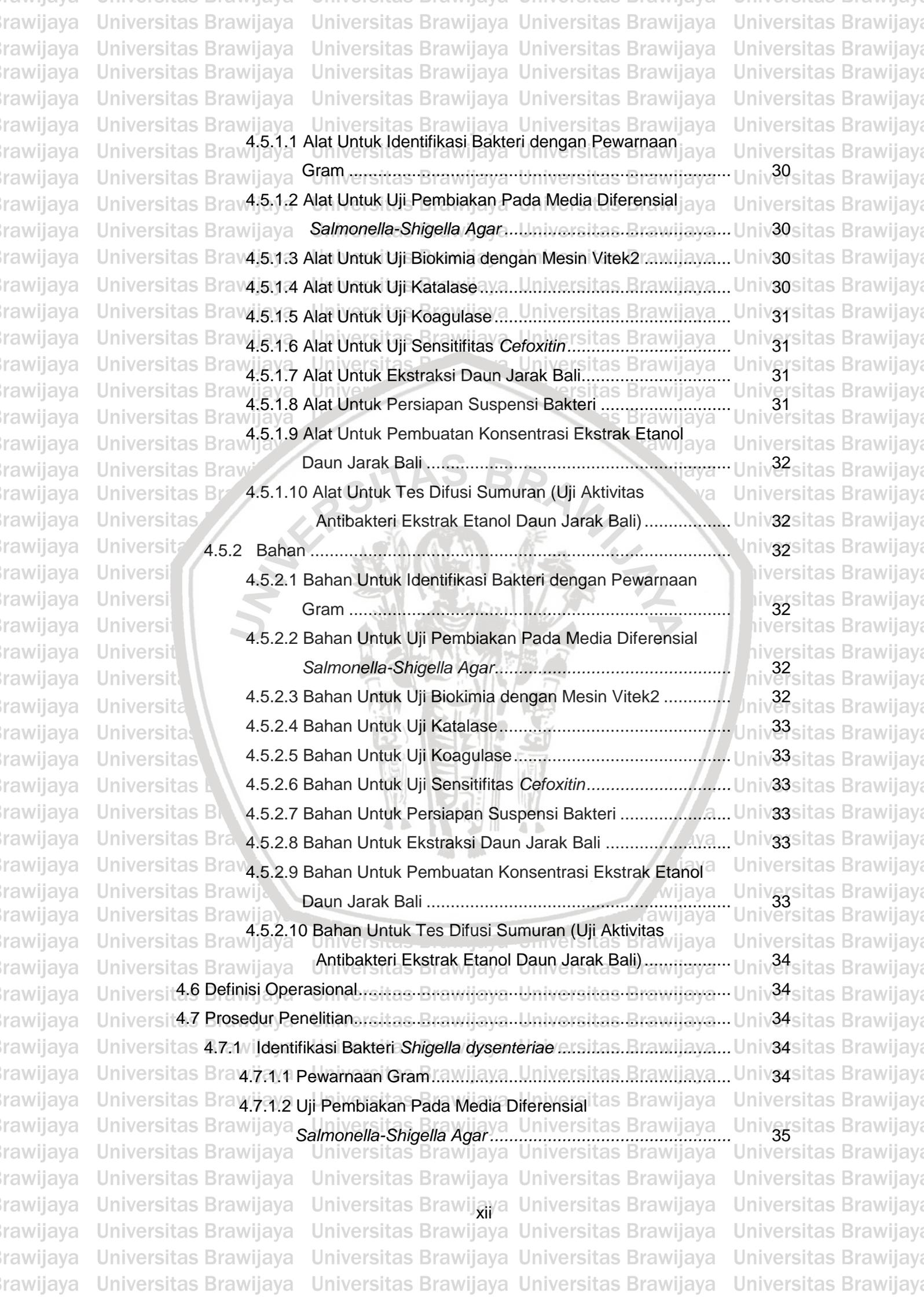
Keywords: *Shigella dysenteriae*, MRSA, *Jatropha podagrica* leaf, antimicrobial activity.

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERUNTUKAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.2.1 Sub Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Uraian Tanaman Jarak Bali.....	7
2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	7
2.1.2 Nama Lain.....	7
2.1.3 Morfologi Tanaman Jarak Bali.....	8
2.1.4 Sterol.....	10
2.1.4.1 Senyawa Fitosterol.....	10
2.2 Uraian Mikroorganisme.....	11

2.2.1	Fase Pertumbuhan Bakteri.....	11
2.3	Uraian Mikroorganisme Pada Penelitian.....	12
2.3.1	<i>Shigella dysenteriae</i>	12
2.3.2	<i>Methicilin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	13
2.3.3	Penyakit.....	16
2.3.3.1	<i>Shigella dysenteriae</i>	16
2.3.3.2	<i>Methicilin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	17
2.4	Uraian Antimikroba.....	18
2.4.1	Pengertian Antimikroba.....	18
2.4.2	Sifat Antimikroba.....	19
2.4.3	Prinsip Kerja Antimikroba.....	19
2.4.4	Mekanisme Antimikroba.....	19
2.5	Ekstraksi.....	20
2.5.1	Definisi Ekstrak.....	20
2.5.2	Tujuan Ekstraksi.....	21
2.5.3	Ekstraksi Secara Maserasi.....	21
2.6	Ekstrak.....	21
2.7	Etanol.....	21
2.8	Uji Aktivitas Antimikroba.....	23
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		
3.1	Kerangka Konsep.....	26
3.2	Uraian Kerangka Berpikir Penelitian.....	26
3.3	Hipotesis Penelitian.....	27
BAB 4. METODE PENELITIAN		
4.1	Rancangan Penelitian.....	28
4.2	Sampel Penelitian.....	28
4.2.1	Estimasi Jumlah Pengulangan.....	28
4.3	Variabel Penelitian.....	29
4.3.1	Variabel Bebas.....	29
4.3.2	Variabel Terikat.....	29
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	29
4.5	Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian.....	29
4.5.1	Alat.....	29



4.5.1.1	Alat Untuk Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram	30
4.5.1.2	Alat Untuk Uji Pembiakan Pada Media Diferensial <i>Salmonella-Shigella Agar</i>	30
4.5.1.3	Alat Untuk Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2	30
4.5.1.4	Alat Untuk Uji Katalase	30
4.5.1.5	Alat Untuk Uji Koagulase	31
4.5.1.6	Alat Untuk Uji Sensitifitas <i>Cefoxitin</i>	31
4.5.1.7	Alat Untuk Ekstraksi Daun Jarak Bali.....	31
4.5.1.8	Alat Untuk Persiapan Suspensi Bakteri	31
4.5.1.9	Alat Untuk Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	32
4.5.1.10	Alat Untuk Tes Difusi Sumuran (Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali)	32
4.5.2	Bahan	32
4.5.2.1	Bahan Untuk Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram	32
4.5.2.2	Bahan Untuk Uji Pembiakan Pada Media Diferensial <i>Salmonella-Shigella Agar</i>	32
4.5.2.3	Bahan Untuk Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2	32
4.5.2.4	Bahan Untuk Uji Katalase.....	33
4.5.2.5	Bahan Untuk Uji Koagulase	33
4.5.2.6	Bahan Untuk Uji Sensitifitas <i>Cefoxitin</i>	33
4.5.2.7	Bahan Untuk Persiapan Suspensi Bakteri	33
4.5.2.8	Bahan Untuk Ekstraksi Daun Jarak Bali	33
4.5.2.9	Bahan Untuk Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	33
4.5.2.10	Bahan Untuk Tes Difusi Sumuran (Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali)	34
4.6	Definisi Operasional.....	34
4.7	Prosedur Penelitian.....	34
4.7.1	Identifikasi Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	34
4.7.1.1	Pewarnaan Gram.....	34
4.7.1.2	Uji Pembiakan Pada Media Diferensial <i>Salmonella-Shigella Agar</i>	35

4.7.1.3 Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2	35
4.7.1.3.1 Persiapan Organisme	35
4.7.1.3.2 Persiapan Inokulasi	36
4.7.1.3.3 Pemasukan Data ke Sistem Vitek pada Komputer	36
4.7.1.3.4 Mengisi Kartu	36
4.7.1.3.5 Hasil	37
4.7.1.4 Persiapan Suspensi Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> pada <i>Mueller Hinton Agar</i>	37
4.7.2 Identifikasi Bakteri MRSA	37
4.7.2.1 Pewarnaan Gram	37
4.7.2.2 Tes Katalase	38
4.7.2.3 Tes Koagulase	38
4.7.2.4 Uji Sensitifitas <i>Cefoxitin</i>	39
4.7.2.5 Persiapan Suspensi Bakteri MRSA pada <i>Mueller Hinton Agar</i>	39
4.7.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	40
4.7.4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	40
4.7.4.1 Penelitian Pendahuluan	40
4.7.4.2 Penelitian Lanjutan	41
4.7.5 Penelitian Pendahuluan	41
4.7.6 Tes Difusi Sumuran untuk Uji Coba Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	42
4.7.7 Pengamatan dan Pengukuran	43
4.7.8 Skema Prosedur Penelitian	44
4.8 Analisis Data	45

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian dan Analisis Data Pada Bakteri *Shigella*

<i>dysenteriae</i>	47
5.1.1 Identifikasi <i>Shigella dysenteriae</i>	47
5.1.1.1 Pewarnaan Gram	47
5.1.1.2 Uji Pembedaan Pada Media Diferensial <i>Salmonella-Shigella Agar</i>	48
5.1.1.3 Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2	48

5.1.2	Hasil Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	49
5.1.3	Hasil Hambatan Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> Pada Penelitian Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran	49
5.1.4	Hasil Penelitian Lanjutan Menggunakan Metode Difusi Sumuran	51
5.1.5	Analisis Data	54
5.1.5.1	Hasil Pengujian Normalitas Data dan Homogenitas Varian Pada Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	54
5.1.5.2	Hasil Uji <i>One-Way ANOVA</i> Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri Pada Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	55
5.1.5.3	Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	56
5.1.5.4	Hasil Uji Korelasi <i>Pearson</i>	57
5.2.1.5	Hasil Uji Regresi	58
5.2	Hasil Penelitian dan Analisis Data Pada Bakteri <i>Methicilin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	58
5.2.1	Identifikasi MRSA	58
5.2.1.1	Pewarnaan Gram	59
5.2.1.2	Uji Katalase	59
5.2.1.3	Uji Koagulase	60
5.2.1.4	Uji Kultur pada <i>Mannitol Salt Agar</i> dan Uji Sensitivitas <i>Cefoxitin</i>	61
5.2.2	Hasil Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	62
5.2.3	Hasil Hambatan Pertumbuhan Bakteri MRSA Pada Penelitian Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran	62
5.2.4	Hasil Penelitian Lanjutan Menggunakan Metode Difusi Sumuran	64
5.2.5	Analisis Data	67
5.2.5.1	Hasil Pengujian Normalitas Data dan Homogenitas Varian Pada Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali	67
5.2.5.2	Hasil Uji <i>One-Way ANOVA</i> Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri Pada Pemberian Ekstrak Etanol Daun	

Jarak Bali.....	68
5.2.5.3 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	69
5.2.5.4 Hasil Uji Korelasi <i>Pearson</i>	70
5.2.5.5 Hasil Uji Regresi.....	71
5.3 Uji Komparasi dari Uji <i>Post Hoc Tukey</i> Gabungan Menggunakan Tabel <i>Homogeneous Subsets</i>	71
BAB 6. PEMBAHASAN	
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian.....	73
6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran.....	76
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	77
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan.....	78
7.2 Saran.....	79
DAFTAR PUSTAKA	80
LAMPIRAN	90



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>).....	52
Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> pada Ekstrak Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>).....	54
Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas <i>Levene</i> pada Ekstrak Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>).....	55
Tabel 5.4 Uji <i>One-Way ANOVA</i> antara Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>) terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	56
Tabel 5.5 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	57
Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi <i>Pearson</i> Antara Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>) Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	57
Tabel 5.7 Hasil Uji Regresi	58
Tabel 5.8 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri MRSA Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>).....	66
Tabel 5.9 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> pada Ekstrak Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>).....	67
Tabel 5.10 Hasil Uji Homogenitas <i>Levene</i> pada Ekstrak Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>)	68
Tabel 5.11 Uji <i>One-Way ANOVA</i> antara Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>) terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	69
Tabel 5.12 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	69
Tabel 5.13 Hasil Uji Korelasi <i>Pearson</i> Antara Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>) Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	70
Tabel 5.14 Hasil Uji Regresi	71

Tabel 5.15 Hasil Uji *Post Hoc Tukey* Gabungan Menggunakan

Tabel *Homogeneous Subsets*.....



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Jarak Bali.....	9
Gambar 2.2 Tanaman Jarak Bali.....	9
Gambar 2.3 <i>Shigella dysenteriae</i>	13
Gambar 2.4 <i>Methicilin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	16
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	26
Gambar 4.1 Skema Prosedur Penelitian.....	44
Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Gram Negatif.....	47
Gambar 5.2 Hasil Uji Pembiakan Pada Media Diferensial <i>Salmonella-Shigella Agar</i>	48
Gambar 5.3 Hasil Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2.....	48
Gambar 5.4 Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali.....	49
Gambar 5.5 Hasil Penelitian Pendahuluan Pada Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	50
Gambar 5.6 Hasil Penelitian Lanjutan Pada Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	51
Gambar 5.7 Grafik Rata-Rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>).....	53
Gambar 5.8 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Gram Positif.....	59
Gambar 5.9 Hasil Uji Katalase <i>Staphylococcus</i>	60
Gambar 5.10 Hasil Uji Koagulase <i>Staphylococcus aureus</i>	61
Gambar 5.11 Hasil Uji Sensitivitas <i>Cefoxitin</i>	62
Gambar 5.12 Hasil Penelitian Pendahuluan Pada Bakteri MRSA.....	63
Gambar 5.13 Hasil Penelitian Lanjutan Pada Bakteri MRSA.....	64
Gambar 5.14 Grafik Rata-Rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri MRSA Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (<i>Jatropha podagrica</i>).....	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Alat Dan Bahan.....	86
Lampiran 2. Analisis Data Pada Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	88
Lampiran 3. Analisis Data Pada Bakteri MRSA.....	92
Lampiran 4. Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey</i> Gabungan Menggunakan Tabel <i>Homogeneous Subsets</i>	95

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR SINGKATAN

KBM	: Kadar Bunuh Minimal
KHM	: Kadar Hambat Minimal
ml	: Mililiter
mm	: Milimeter
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
MRSA	: <i>Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
MSA	: Mannitol Salt Agar
OD	: <i>Optical Density</i>
PBP	: <i>Penicillin Binding Protein</i>
PVL	: <i>Panton Valentine Leukocidin</i>
TSS	: <i>Toxic Shock Syndrome</i>
TSST	: <i>Toxic Shock Syndrome Toxin</i>
SSSS	: <i>Staphylococcal Scalded Skin Syndrome</i>
Uji K-S	: Uji Normalitas Kolmogrov-Smirnov

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)
Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA Secara *In Vitro*

Oleh:

Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari

NIM 155070101111039

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 5 Desember 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dr. Aulia Abdul Hamid Abdullah, M.Biomed.Sc, Sp.M

NIP. 197706012003121005

Pembimbing-I/Penguji-II,

Prof. Dr. dr. Noorhamdani, AS., Sp.MK(K)
NIP. 195011101980021001

Pembimbing-II/ Penguji-III,

Dr. Dian Hasanah, M.Biomed, Sp.PD
NIP. 197904112009122002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran



Dr. Truwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)

NIP. 196319221996012001

ABSTRAK

Adiswari, Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari. 2018. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani, AS., Sp.MK(K) (2) dr. Dian Hasanah, M.Biomed, Sp.PD.

Penyakit infeksi bakteri masih menjadi masalah serius di Indonesia, termasuk infeksi *Shigella dysenteriae* yang menyebabkan diare tipe disentri dan infeksi *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang menyebabkan infeksi kulit. Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) merupakan tanaman hias yang pada penelitian sebelumnya diketahui bagian akarnya memiliki aktivitas antimikroba karena mengandung senyawa aktif yaitu *fitosterol*, *flavonoid*, dan *tanin*. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antimikroba pada ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap *Shigella dysenteriae* dan MRSA secara *in vitro* menggunakan metode difusi sumuran. Penelitian dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sehingga didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan penggaris dengan satuan milimeter. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan beberapa konsentrasi yaitu 0% sebagai kontrol negatif dan 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5% sebagai kontrol positif. Hasil menunjukkan diameter zona hambat *Shigella dysenteriae* terkecil 6,25 mm pada konsentrasi 12,5% dan terbesar 13,24 mm pada konsentrasi 100%. Sedangkan diameter zona hambat MRSA terkecil 5,25 mm pada konsentrasi 12,5% dan terbesar 14,26 mm pada konsentrasi 100%. Analisis data dengan uji *One-Way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap perubahan konsentrasi ekstrak terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Analisis data dengan uji Korelasi *Pearson* yang menunjukkan adanya hubungan sangat kuat dengan arah korelasi positif sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat semakin besar. Dari hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* dan MRSA secara *in vitro*.

Kata Kunci: *Shigella dysenteriae*, MRSA, daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*), aktivitas antibakteri.

ABSTRACT

Adiswari, Ida Ayu Pradnya Paramitha Adiswari. 2018. **The Antibacterial Activity of Ethanol Extract of *Jatropha podagrica* Leaf Against *Shigella dysenteriae* and MRSA In Vitro**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani, AS., Sp.MK(K) (2) dr. Dian Hasanah, M.Biomed, Sp.PD.

Infectious disease is remaining a serious problem in Indonesia, including *Shigella* infection that causes dysentery and *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) infection that causes skin infection. *Jatropha podagrica* is a house-plant that the root is known for its antimicrobial activity and it contains active compounds such as fitosterol, flavonoid, and tannin. The study was aimed to perceive the antimicrobial activity of ethanol extract of *Jatropha podagrica* leaf against *Shigella dysenteriae* and MRSA in vitro using the well diffusion method. The study was repeated 4 times so the diameter zone of bacterial growth inhibition was obtained using a millimeter ruler. Antimicrobial activity test was carried out with several concentrations; 0% as a negative control and 100%, 75%, 50%, 25%, and 12.5% as positive controls. The results showed the smallest diameter of *Shigella dysenteriae* inhibition zone was 6.25 mm at concentration of 12.5% and the largest was 13.24 mm at concentration of 100%. While the smallest diameter of MRSA inhibition zone was 5.25 mm at concentration of 12.5% and the largest was 14.26 mm at concentration of 100%. Data analysis with *One-Way ANOVA* test showed there was a significant difference in each concentration to the diameter of the inhibition zone with a significance value of 0.000 ($p < 0.05$). Data analysis with Pearson Correlation test showed a very strong relationship with positive correlation so the higher the concentration of the extract, the wider the diameter of the inhibition zone. From the results of this study, it can be concluded that the ethanol extract of *Jatropha podagrica* leaf has antimicrobial activity against *Shigella dysenteriae* and MRSA in vitro.

Keywords: *Shigella dysenteriae*, MRSA, *Jatropha podagrica* leaf, antimicrobial activity.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab penyakit yang masih menjadi masalah serius di negara tropis seperti di Indonesia dimana angka kejadiannya di masyarakat masih tinggi (Davey, 2005). Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh berbagai macam jenis mikroorganisme patogen seperti bakteri, jamur, parasit, atau virus yang dapat tumbuh dan berkembang biak sehingga dapat menyebabkan berbagai manifestasi klinis pada jaringan tubuh yang menjadi predileksi tempat mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak (World Health Organization, 2014). Penyebab infeksi yang paling sering ialah infeksi bakteri (Gibson, 1996). Salah satu contoh bakteri yang menyebabkan infeksi pada usus besar ialah bakteri *Shigella dysenteriae* sehingga salah satu manifestasi klinisnya ialah diare yang dapat disertai dengan mukus maupun darah, serta salah satu contoh bakteri yang menyebabkan infeksi pada kulit ialah *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Jawetz and Adelberg, 2013).

Shigella dysenteriae merupakan bakteri yang ditularkan melalui makanan atau air dan menimbulkan inflamasi pada usus besar dengan menginvasi dan menghasilkan enterotoksin yang disebut disentri basiler atau Shigellosis. Gejala awal yang timbul ialah demam, diare tanpa cairan darah, feses berlendir, dan nyeri abdomen. Gejala memberat setelah 3 sampai 5 hari dengan ditandai feses yang disertai darah. Gejala yang timbul muncul selama 7 hari pada orang dewasa, namun bisa menetap 3 sampai 4 minggu. Pada kondisi kronis, Shigellosis dapat menyebabkan kolitis ulseratif (Zein *et al.*, 2004). Berdasarkan data epidemiologi, jumlah pasien Shigellosis di seluruh dunia yang meninggal setiap tahun ialah 600 ribu dari 140 juta pasien. Di Indonesia, Shigellosis menjadi salah satu penyebab kematian pada anak umur 1 sampai 4 tahun (Nafianti dkk., 2005). MRSA merupakan jenis *Staphylococcus aureus* yang mengalami resistensi terhadap antibiotik golongan *beta-lactam*, yaitu penicillin akibat perubahan genetik yang disebabkan paparan antibiotik dalam jangka waktu yang lama (Brooks *et al.*, 2009). Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai macam

manifestasi klinis seperti *diffuse maculo erythematous rash*, furunkel, hiperemia pada konjungtiva, orofaring, dan membran mukosa vagina, impetigo, karbunkel, osteomyelitis, pielitis, *scalded skin syndrome*, sistitis, tonsillitis, serta *toxic shock syndrome* dengan diare, panas mendadak, dan syok (Dzen, 2003). Infeksi MRSA termasuk penyebab dari infeksi nosokomial yang biasa terjadi di pusat kesehatan dan menjadi permasalahan yang terus meningkat angka kejadian dan angka mortalitasnya di Indonesia dikarenakan mudahnya transmisi bakteri yang dapat berpindah melalui berbagai media, seperti tangan tenaga medis yang tidak dicuci setelah memegang pasien, alat medis yang tidak steril, prosedur invasif yang dilakukan secara tidak steril seperti pada katerisasi, pemasangan infus, atau operasi (Gladwin and Tattler, 2011). Infeksi MRSA juga disebarkan melalui perantara manusia (pasien, pegawai di Rumah Sakit, pengunjung) dan lingkungan (air, udara, makanan) (Mims *et al.*, 2004). Pemeran utama dalam pembawa infeksi *Staphylococcus aureus* adalah pekerja kesehatan yaitu sekitar 16,9 – 56,15% (Kluytmans, 1997). Persentase angka kejadian MRSA di Indonesia yaitu 83,3% dan angka mortalitasnya mencapai 50% (Hanberger *et al.*, 1999; Bayram and Balci, 2006).

Tingginya angka kejadian penyakit infeksi di Indonesia disebabkan oleh berbagai faktor, yaitu iklim, rendahnya perilaku higienitas masyarakat akibat kurangnya pengetahuan mengenai kesehatan, masyarakat tinggal di daerah padat penduduk, penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan ketentuan, serta kurangnya kebijakan dari pemerintah untuk meregulasi pemasaran antibiotik (Nursidika dkk., 2014). Di Indonesia, antibiotik masih menjadi pengobatan utama untuk penyakit infeksi. Masyarakat pun dapat mengakses antibiotik dengan harga yang terjangkau. Walaupun manfaat antibiotik sudah dibuktikan secara *evidence-based*, namun penggunaan yang tidak sesuai dengan ketentuan seperti penggunaan yang berlebihan maupun tidak mengonsumsi obat secara teratur dapat menyebabkan superinfeksi, yang merupakan infeksi sekunder yang muncul saat dilakukan pengobatan terhadap infeksi primer (Tjay dkk., 2007) atau resistensi bakteri terhadap antibiotik sehingga aktivitas antibiotik terhadap bakteri akan menurun. Jika terinfeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik, maka diperlukan antibiotik lini kedua maupun ketiga dengan aktivitas antibiotik yang semakin menurun dan tingginya kemungkinan efek samping yang dapat muncul (Borong, 2012). Berdasarkan hasil laporan dari Lembaga Peduli Sehat Yayasan Orang Tua Peduli, 86,4% pasien yang terinfeksi virus mendapatkan pengobatan

antibiotik (Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia, 1991). Kasus kepatuhan pasien terhadap instruksi pengobatan antibiotik hanya mencapai 7% dari 300 kasus dan 37% pasien tidak mengonsumsi antibiotik sesuai dengan instruksi pengobatan (Gennaro, 2000). Hal ini disebabkan oleh rendahnya pemahaman masyarakat Indonesia terhadap pengaruh ketidakpatuhan terhadap instruksi pengobatan antibiotik yang dapat menyebabkan terjadinya resistensi obat. Dengan adanya permasalahan tersebut, diperlukan pengobatan alternatif yang memiliki potensi daya antibakteri efektif, serta yang lebih mudah untuk diolah dan dikonsumsi oleh masyarakat tanpa harus memperhatikan instruksi pengobatan dan mengeluarkan biaya yang tinggi.

Di Indonesia terdapat beraneka macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan manusia untuk pengobatan alternatif sehingga dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit yang disebut tanaman obat tradisional (Atanasov, *et al.*, 2015). Pengobatan tradisional sekarang banyak diminati oleh masyarakat dari berbagai kalangan karena memiliki kelebihan, yaitu harga yang terjangkau, masyarakat dapat mengolah sendiri tanamannya, mudah diperoleh, dan efek samping yang minimal jika dibandingkan dengan obat-obatan di pasaran yang mengandung bahan kimia. Salah satu jenis tumbuhan yang dapat dijadikan pengobatan alternatif adalah Jarak Bali (*Jatropha podagrica*). Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) merupakan tanaman yang sering ditemukan sebagai tanaman hias dan belum banyak digunakan sebagai penelitian. Namun diketahui bahwa bagian daun Jarak Bali mengandung senyawa aktif, yaitu fitosterol, flavonoid, dan tanin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Aiyelaagbe *et al.*, 2014). Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) dapat digunakan sebagai analgetik, meredakan gejala inflamasi seperti bengkak, mengobati demam, dan penetralisir racun (Irvine, 1961).

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan dari bagian tanaman Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) adalah bagian daunnya. Hal ini dikarenakan sedikitnya informasi ilmiah mengenai manfaat daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) sebagai antibakteri. Komponen senyawa aktif pada akar Jarak Bali untuk menghambat pertumbuhan bakteri diperkirakan juga terkandung dalam daun Jarak Bali sehingga dapat memiliki potensi untuk dijadikan sebagai antibakteri (Thomas, 2012). Selain itu, penggunaan daun lebih mudah untuk diolah oleh masyarakat seperti direbus dan air hasil rebusan dapat diminum maupun dioleskan secara

topikal ke kulit. Sejauh ini penggunaan tumbuhan *Jatropha podagrica* maupun tanaman *Jatropha* dengan species lain aman digunakan secara topikal maupun oral. Ekstrak biji Jarak Bali diaplikasikan secara topikal di India untuk menyembuhkan jerawat (Salave *et al.*, 2011). Tumbuhan Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia*) yang merupakan tumbuhan dengan genus yang sama, juga telah diteliti memiliki efek anti diare pada mencit dengan memberikan minyak jarak dari bagian biji Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia*) yang sudah diambil bagian kulitnya yang mengandung racun yaitu ricin dengan dosis 0,2 mL secara oral. Diketahui bahwa efek anti diare dipengaruhi oleh kandungan flavonoid yang terdapat pada Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia*) (Apu *et al.*, 2013). Walaupun pada dasarnya tanaman *Jatropha* memiliki toksisitas dari kandungan curcin, namun toksin ini tidak didapatkan pada akar, batang, maupun daunnya (Yang *et al.*, 2012). Pada Jarak Bali, bagian yang berpotensi memiliki efek toksik pada intraperitoneal adalah biji yang diambil ekstrak akuadesnya (Devappa *et al.*, 2010).

Maka dari itu, perlu dilakukan uji penelitian terhadap daun Jarak Bali untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antibakteri yang terkandung dalam daun Jarak Bali sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* maupun MRSA.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah aktivitas antibakteri pada pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)?

1.2.1 Sub Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*?
2. Apakah pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA?
3. Apakah pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* atau MRSA?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

1.3.1 Tujuan Khusus

1. Mengetahui hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap besar hambatan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan mengamati diameter zona hambat.
2. Mengetahui hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap besar hambatan pertumbuhan bakteri MRSA dengan mengamati diameter zona hambat.
3. Mengetahui perbandingan efektivitas ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Meningkatkan wawasan ilmu pengetahuan mengenai manfaat ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA.
2. Menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya mengenai pemanfaatan dari tumbuhan Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) sebagai obat antibakteri.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memberikan informasi baru kepada masyarakat mengenai manfaat ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA.

2. Mengurangi progresifitas penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA setelah pemberian terapi alternatif dengan daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tanaman Jarak Bali

Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) merupakan tanaman hias yang biasa digunakan untuk pengobatan tradisional. Di Indonesia, nama lain dari Jarak Bali adalah Jarak Batang Gajah. Di luar negeri Jarak Bali dikenal dengan nama Tanaman Perut Buddha (*Buddha Belly Plant*) dan Semak Botol (*Bottleplant Shrub*). Tanaman Jarak Bali berasal dari Amerika Selatan yang beriklim tropis dan disebarkan ke berbagai belahan dunia sebagai tanaman hias (Hariana, 2004).

Ciri-ciri batang Jarak Bali membesar seperti botol dengan tipe batang tunggal dan sangat sedikit cabang dan berisi getah. Getah tanaman ini berwarna putih. Tanaman Jarak Bali memiliki bunga karang berwarna merah yang dapat berbunga sepanjang tahun. Menurut suatu studi, getah tanaman Jarak Bali, terutama biji, mengandung racun curcin. Tanaman Jarak Bali dapat tumbuh setinggi 0,5 hingga 1,5 meter. Ciri-ciri daun Jarak Bali bertangkai yang panjangnya antara 20 hingga 30 cm. Bentuknya bulat telur melebar, ujung runcing atau membulat. Tanaman Jarak Bali memiliki bunga yang didalamnya terdapat bunga betina dan jantan. Selain itu, Jarak Bali juga berbuah yang berbentuk elips melebar sepanjang 1,5 cm. Didalamnya terdapat biji yang berbentuk lonjong atau bulat panjang (Dalimartha, 2007).

Tanaman Jarak Bali sangat mudah beradaptasi terhadap lingkungan. Tanaman ini dapat tumbuh pada tanah yang kurang subur, tetapi memiliki pengairan yang baik dan dipastikan air tidak tergenang dan pH tanah optimal antara 5 hingga 6,5. Tanaman daun Jarak Bali dapat menghasilkan buah pada kondisi curah hujan sedikit. Jarak Bali juga termasuk tanaman yang dapat tumbuh selama puluhan tahun. Metode untuk memperbanyak Jarak Bali bisa dengan cara stek cabang atau batang dan benih. Stek batang sebaiknya menggunakan cabang yang telah cukup dewasa atau berkayu. Sementara perbanyak dari benih dapat dipilih dari biji yang telah tua. Cara stek Jarak Bali yaitu persiapkan media tanam dalam *polybag* yang berisi campuran tanah, pasir dan kompos. Potong batang sepanjang 15-20 cm, dan sisakan 2-3 lembar daun. Tancapkan stek batang pada

media tanam, kemudian letakkan dibawah tempat yang teduh. Memperbanyak tanaman dengan benih sebaiknya dengan memilih biji unggulan. Pilih kualitas biji yang paling baik dan letakkan dalam *polybag* kecil berisi kompos. Pembibitan benih dapat berlangsung selama 2 hingga 3 bulan sebelum memindahkannya ke pot yang lebih besar (Dalimartha, 2007).

Manfaat tanaman Jarak Bali telah dikenal luas dalam pengobatan tradisional. Daun Jarak Bali dapat menyembuhkan sakit demam, bengkak karena pukulan, dan gigitan serangga atau ular berbisa. Cara membuat ramuannya yaitu dengan merebus 10 gram daun segar. Kemudian peras daun untuk diambil sarinya dan langsung dapat diminum. Sisa ampas dari rebusan dapat digunakan untuk pengobatan kulit luar (Kurdi, 2010).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiosperma
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub Kelas	: Apetalalae
Bangsa	: Euphorbiales (Tricoccae)
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>Jatropha podagrica</i>

2.1.2 Nama Lain

Indonesia	: Jarak Bali
	: Jarak Batang Gajah
Lainnya	: Buddha Belly Plant, Buddha Belly, Bottleplant Shrub, Bottle Euphorbia, Purgingnut, Gout Plant, Gout Stick, Purging Nut, Guatemalan Rhubarb, Guatemala Rhubarb, White Rhubarb, Goutstalk Nettlepurge, Tartogo.



Gambar 2.1 Daun Jarak Bali (Susetio, 2003)



Gambar 2.2 Tanaman Jarak Bali (Susetio, 2003)

Keterangan: Pada gambar menunjukkan gambar batang, bunga, dan daun tanaman Jarak Bali

2.1.3 Morfologi Tanaman Jarak Bali

Tanaman Jarak Bali memiliki batang yang tebal, agak berdaging, gundul, berwarna coklat kehijauan pucat, sederhana tanpa cabang dan sedikit bercabang dengan tinggi 40-80 cm dengan menggembung tidak beraturan dan berair yang berisi getah berair atau sedikit seperti susu. Bagian yang lebih muda dari cabang-cabang tanaman memiliki ketebalan sekitar 2,5 cm. Kulit batang berwarna abu-abu. Daun Jarak Bali muncul pada satu waktu dan terbatas di bagian apikal batang

pada 10-20 cm panjang tangkai daun. Daun berupa helaian berwarna hijau terang atau gelap di atas dan lebih pucat di bawah dengan ukuran 10–20 × 10–20 cm (Setiawan, 2001).

Bunga Jarak Bali berwarna oranye kemerahan dan berukuran kecil. Bunga jantan dengan kelopak berbentuk cangkir memiliki panjang 1,5-2 mm dengan 5 kelopak. Daun kelopak berukuran 0,5 × 1 mm, lurus, dan berombak bulat. Daun bunga memiliki panjang 5–6 mm, lebar 2 mm, tumpul, dan berwarna merah tua. Terdapat 6-8 benang sari berwarna kuning dengan panjang 5 mm. Filamen muncul di dasar dan memiliki lima kelenjar yang menyatu menjadi cincin. Panjang kepala sari yaitu 2 mm dan berwarna oranye. Tumbuhan Jarak Bali dapat berbunga di hampir semua musim sepanjang tahun terutama selama musim hujan (Heyne, 1987).

Buah-buahan yang dihasilkan Jarak Bali berwarna hitam, berukuran 1,4 × 1,3 cm ketika dikeringkan, dan berbentuk *ellipsoid-ovoid* dengan 3 lobus. Biji Jarak Bali berukuran 1,2 × 0,6 × 0,4 cm, *ellipsoid*, dan berwarna coklat. Bibit Jarak Bali terletak di batang yang ada dibawah keping biji yang menebal ke atas dari 5 mm di dasar sampai 8 mm dekat puncak dengan panjang 7 cm. Kotiledon secara umum berbentuk persegi panjang, membulat di puncaknya dan membentuk seperti aurikula pada telinga secara tidak beraturan di dasar, serta *palmly trinervated*. Ukuran kotiledon yaitu 8,1 cm, lebar, gundul dan halus, dengan tangkai daun yang memilki panjang 1,5 cm berwarna merah (Siswadi, 2006).

2.1.4 Sterol

Sterol sering ditemukan bersama-sama dengan lemak. Sterol dapat dipisahkan dari lemak setelah penyabunan. Persenyawaan sterol yang terdapat dalam minyak terdiri dari kolesterol dan fitosterol. Senyawa kolesterol umumnya terdapat dalam lemak hewani, sedangkan fitosterol terdapat dalam minyak nabati.

2.1.4.1 Senyawa Fitosterol

Fitosterol merupakan sterol yang secara alami didapatkan dari tanaman. Secara kimiawi, fitosterol mirip dengan kolesterol yang di dapat dari hewan. Sterol terdiri dari gabungan tiga cincin sikloheksana dengan berbagai macam sterol (lebih dari 40 fitosterol). Fitosterol pada tanaman merupakan komponen alami dari

minyak tumbuhan seperti minyak biji bunga matahari dan beberapa konstituen alami dalam makanan manusia (Dewanti, 2006). Pada tanaman terdapat lebih dari 40 senyawa sterol yang didominasi oleh beberapa senyawa dari kelompok fitosterol. Fitosterol terdapat dalam bahan makanan nabati, seperti minyak, sereal, buah-buahan, dan sayur-sayuran, dalam jumlah yang hanya sedikit.

Mekanisme kerja fitosterol yaitu dengan merusak membran lipid yang menyebabkan kebocoran liposom (Madduluri *et al.*, 2013). Hal ini terjadi karena proses absorpsi fitosterol sangat rendah sehingga dapat menghambat penyerapan kolesterol dan membantu menurunkan jumlah kolesterol serta mempercepat ekskresi kolesterol. Berkurangnya kadar kolesterol yang memasuki akan memperkecil kemungkinan terjadinya penumpukan lemak (Granfa, 2007).

2.2 Uraian Mikroorganism

2.2.1 Fase Pertumbuhan Bakteri

1. Fase Penyesuaian Diri (*Lag Phase*)

Pada fase ini, tidak adanya peningkatan jumlah sel. Lama fase lag tergantung pada kondisi dan jumlah awal mikroorganism dan media pertumbuhan.

2. Fase Logaritmik (*Exponential Phase*)

Pada fase ini mikroorganism tumbuh dan membelah pada kecepatan maksimum, tergantung pada genetika mikroorganism, sifat media, dan kondisi pertumbuhan. Sel baru terbentuk dengan laju konstan dan massa yang bertambah secara eksponensial.

3. Fase Stasioner (*Stationary Phase*)

Pada fase ini, pertumbuhan mikroorganism berhenti dan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang membelah dengan jumlah sel yang mati. Pada fase ini terjadi akumulasi produk buangan yang toksik.

4. Fase Kematian (*Period of Decline*)

Jumlah sel yang mati meningkat dan semakin melebihi jumlah bakteri yang berkembang biak. Faktor penyebabnya adalah ketidaktersediaan nutrisi dan akumulasi produk buangan yang toksik (Nurfajariah, 2010).

2.3 Uraian Mikroorganisme Pada Penelitian

2.3.1 *Shigella dysenteriae*

Klasifikasi *Shigella dysenteriae* adalah sebagai berikut:

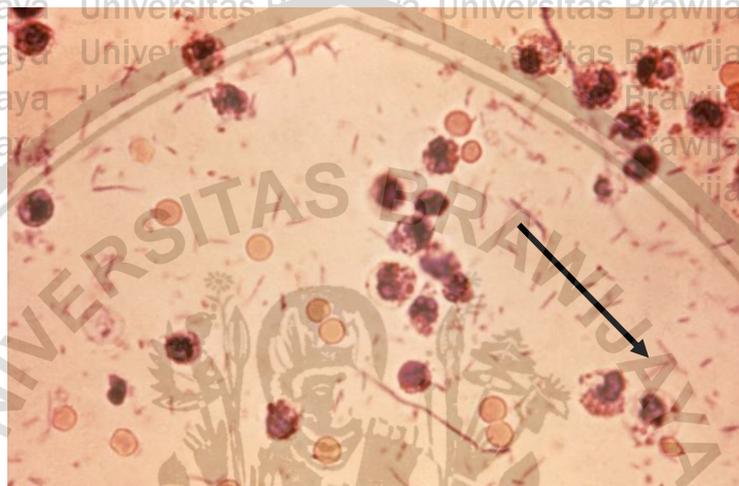
Divisio	: Monomychota
Subdivisio	: Schizomycetea
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Tribe	: Eschericeae
Genus	: <i>Shigella</i>
Species	: <i>Shigella dysenteriae</i> (Anonim, 1993).

Kelompok bakteri *Shigella* adalah kuman patogen usus yang telah lama dikenal sebagai agen penyebab penyakit Shigellosis atau sering disebut disentri basiler (Supardi dan Sukamto, 1999). Disentri basilar merupakan penyakit yang dikarenakan adanya bakteri *Shigella* dimana terjadi infeksi pada usus besar (Volk and Wheeler, 1990). Infeksi *Shigella* hampir selalu terbatas pada saluran pencernaan, perpindahan ke aliran darah sangatlah jarang. Gejala yang ditimbulkan diantaranya adalah mulas dan kejang perut, diare yang bercampur darah dan mukosa, demam sampai 40 derajat Celcius, *malaise*, dan kadang disertai muntah (Supardi dan Sukamto, 1999).

Disentri basilar adalah penyakit endemis di Indonesia. Hal ini disebabkan karena sanitasi lingkungan yang kurang memadai (Anonim, 1994). *Shigella dysenteriae* memproduksi eksotoksin tidak tahan panas dan mempengaruhi saluran pencernaan. Eksotoksin merupakan enterotoksin yang dapat menimbulkan diare. Untuk menimbulkan infeksi diperlukan dosis kurang dari 103 organisme (Jawetz *et al.*, 2005).

Shigella dysenteriae berbentuk batang, dengan pewarnaan Gram bersifat gram negatif dan tidak berflagel. Sifat pertumbuhan adalah aerob dan fakultatif anaerob, pH pertumbuhan 6,4-7,8, dan suhu pertumbuhan optimum 37 derajat Celcius. Semua *Shigella* meragikan glukosa. Bakteri ini tidak meragikan laktosa kecuali *Shigella sonnei*. Ketidakmampuannya untuk meragikan laktosa dapat membedakan jenis bakteri *Shigella*. Bakteri ini membentuk asam dari karbohidrat, tetapi jarang menghasilkan gas. Bakteri ini dapat juga dibagi menjadi bakteri yang

meragikan manitol dan yang tidak (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan tipis yakni 5-10%. Membran luar gram negatif terdiri atas tiga lapis, yaitu lipopolisakarida, lipoprotein, dan fosfolipid, terdapat porin yang terbentuk dari protein. Porin merupakan saluran yang dapat dilalui beberapa molekul. Membran luar ini berfungsi sebagai penghalang terhadap antibiotik, enzim pencernaan, dan kondisi kekeringan, namun tidak bisa menjadi penghalang terhadap semua substansi (Ayen dkk., 2017).



Gambar 2.3 *Shigella dysenteriae* (Kunkel and Butcher 2002)

Keterangan: Pada gambar menunjukkan gambaran bakteri batang berwarna merah (Gram negatif)

2.3.2 *Methicilin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Dari Rosenbach (1884), klasifikasi *Staphylococcus aureus* yaitu:

Domain	: Bacteria
Kerajaan	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus atau MRSA adalah jenis *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik metisilin. MRSA juga

resisten terhadap antibiotik betalaktam, makrolida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan kuinolon. Infeksi MRSA merupakan infeksi oportunistik, sama halnya dengan infeksi *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* adalah kuman gram positif berbentuk bulat dan tersusun bergerombol seperti anggur. Bakteri tersebut tidak memiliki spora dan tidak motil (Klevens, 2007).

Staphylococcus aureus merupakan jenis kuman *Staphylococcus* yang menghasilkan katalase dan memberikan hasil positif bila dilakukan tes koagulase. *Staphylococcus aureus* berubah menjadi resisten terhadap metisilin karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut SCCmec. SCCmec selalu mengandung *mecA* yaitu gen yang menyandi PBP2a yang mendasari terjadinya resistensi MRSA. Resistensi MRSA terhadap metisilin dan terhadap semua antimikroba golongan betalaktam disebabkan perubahan pada PBP yang normal yaitu PBP2 menjadi PBP2a. PBP2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap betalaktam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakkan pada media mengandung konsentrasi tinggi betalaktam, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesa dinding sel. Pengamatan pada struktur PBP2a menunjukkan adanya perubahan pada tempat pengikatan yang mengakibatkan rendahnya afinitas (Wertheim *et al.*, 2005).

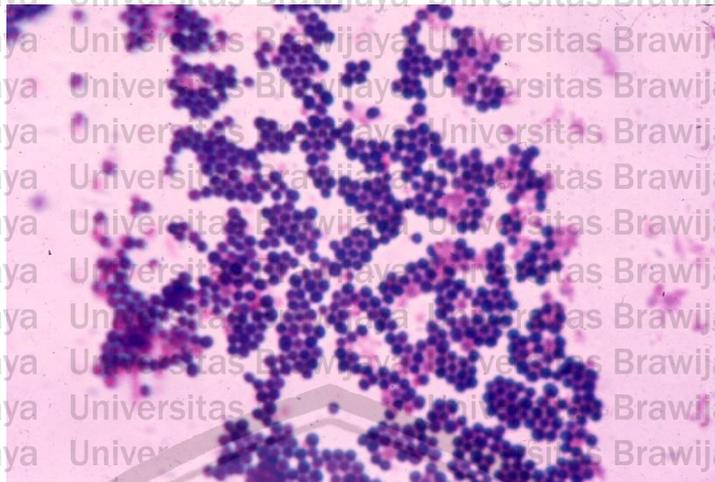
Faktor genetik lain seperti gen betalaktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, tekanan oksigen, kandungan ion, osmolaritas dan cahaya juga mempengaruhi ekspresi resistensi. *Protein binding penicillin* ikut berperan dalam biosintesa peptidoglikan yaitu mengkatalisa reaksi transpeptidasi. Peptidoglikan tersebut merupakan tempat di mana antibiotik betalaktam bekerja. PBP 1, 2 dan 3 memiliki aktivitas transpeptidase primer sedangkan PBP4 memiliki aktivitas transpeptidase sekunder. Resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi karena diproduksinya enzim betalaktamase seperti pada *Staphylococcus aureus* penghasil betalaktamase dan perubahan struktur PBP seperti yang terjadi pada MRSA (Popovich *et al.*, 2008).

Selain berperan dalam reaksi transpeptidasi, PBP2 juga memiliki aktivitas transglikolasi. Reaksi transglikolasi tersebut tidak berhubungan dengan aktivitas reseptor penisilin. Afinitas PBP2a yang rendah terhadap betalaktam menyebabkan antibiotik betalaktam tidak dapat mempengaruhi reaksi transpeptidasi sehingga sintesis dinding sel tidak terganggu. Reaksi transglikolasi tidak terpengaruh oleh aktivitas betalaktam sehingga reaksi transglikolasi dari PBP2a ini tetap utuh. Hal tersebut juga menentukan adanya resistensi MRSA (Enright *et al.*, 2002).

Gen *mecA* memiliki struktur dan mekanisme yang serupa dengan gen *bla_Z* pada plasmid *Staphylococcus aureus* penghasil betalaktamase. Regulator pada gen *bla_Z* adalah *blaI* dan *blaR1*. Gen regulator *blaI* menyandi *DNA binding protein* yang berfungsi menekan transkripsi gen betalaktamase, sedangkan *blaR1* merupakan PBP yang akan menginduksi transkripsi jika ada betalaktam.

Mekanisme ini analog dengan yang terjadi pada gen *mecA* yang dikendalikan oleh *mecI* dan *mecR1*. Gen *mecI* akan menekan transkripsi *mecA* dan *mec* complex (kompleks *mecR1* – *mecI*) pada keadaan tidak terinduksi, sedangkan pada saat terinduksi akan terjadi transkripsi *mecA* dan *mec* complex (Davis *et al.*, 2004). Antibiotik yang dapat menginduksi transkripsi tersebut di antaranya adalah metisilin dan antibiotik betalaktam lainnya. Induksi *mecI* juga dapat terjadi karena proses autolitik yang disebabkan oleh enzim protease pada membran sel. Enzim tersebut juga mengkatalisis pembentukan septum yang diperlukan untuk pertumbuhan dan pembelahan *Staphylococcus aureus*. Antibiotik betalaktam bekerja dengan menghambat enzim autolitik tersebut. MRSA dengan derajat resistensi tinggi mengalami aktivasi gen *lytH* yang mengkode enzim autolitik. Oleh karena itu derajat resistensi dapat meningkat apabila aktivitas autolitik meningkat (Graffunder and Venezia, 2002)

Bakteri gram positif memiliki peptidoglikan relatif tebal yakni 10-50%. Struktur dinding sel berlapis tunggal dengan ketebalan 15- 80 nm. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal dimana di dalamnya mengandung senyawa teikoat dan lipoteikoat. Faktor primer rusaknya dinding sel dimulai dari lipopolisakarida dan porin. Senyawa antibakteri bekerja dengan cara menembus lipopolisakarida. Molekul-molekul yang bersifat hidrofilik akan mudah melewati lipopolisakarida dibandingkan molekul hidrofobik. Mekanisme kerja antibakteri dari masing-masing senyawa metabolit sekunder berbeda beda. Senyawa metabolit sekunder menghambat pertumbuhan bakteri dimulai dengan merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran sitoplasma, mendenaturasi protein dan mengubah sistem metabolisme (Ayen dkk., 2017).



Gambar 2.4 Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Köck et.al., 2011)

Keterangan: Pada gambar menunjukkan gambaran bakteri kokus berwarna ungu yang tersusun irregular (gram positif)

2.3.3 Penyakit

2.3.3.1 *Shigella dysenteriae*

Shigellosis menyebar dengan cara transmisi *fecal-oral*. Cara penularan lain meliputi konsumsi makanan yang terkontaminasi atau air, kontak dengan benda mati yang terkontaminasi, dan kontak seksual. Vektor seperti lalat dapat menyebarkan penyakit dengan fisik mengangkut kotoran yang terinfeksi. Sedikitnya 10 *Shigella dysenteriae* basil dapat menyebabkan penyakit klinis, sedangkan 100-200 basil diperlukan untuk *Shigella sonnei* atau infeksi *Shigella flexneri*. Virulen *Shigella* dapat menahan pH rendah asam lambung. Masa inkubasi bervariasi dari 12 jam sampai 7 hari, tapi biasanya 2-4 hari masa inkubasi berbanding terbalik dengan beban bakteri. Penyakit ini menular selama orang yang terinfeksi mengeluarkan organisme tersebut dalam tinja. Pengeluaran bakteri biasanya berhenti dalam waktu 4 minggu dari onset penyakit dan jarang dapat bertahan selama berbulan-bulan (Sureshbabu, 2016).

2.3.3.2 Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Staphylococcus aureus merupakan flora normal di tubuh manusia, sekitar 30% – 50% orang dewasa terkolonisasi bakteri ini. Nares anterior, aksila dan

saluran pencernaan adalah bagian tubuh yang sering menjadi tempat kolonisasi kuman *Staphylococcus aureus*. Infeksi dapat terjadi apabila terjadi intervensi dan mengganggu pertahanan tubuh, misalnya mencukur, pemasangan kateter, aspirasi dan pembedahan (Klevens *et al.*, 2007). Bakteri ini dapat ditularkan antar manusia melalui kontak langsung dengan kulit yang terinfeksi maupun transmisi melalui udara. Kontak tidak langsung juga dapat menyebarkan bakteri, misalnya, menyentuh barang seperti handuk, peralatan, pakaian, atau benda lain yang telah kontak dengan orang yang terinfeksi sehingga dapat menyebarkan bakteri ke individu lain yang tidak terinfeksi. Infeksi lokal *Staphylococcus aureus* tampak sebagai furunkel atau abses, disertai radang yang terlokalisasi dan nyeri. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat terjadi akibat kontaminasi langsung pada luka, misalnya infeksi *Staphylococcus* pasca operasi atau pasca trauma. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan bakterimia dan menyebar ke berbagai organ, sehingga menimbulkan endokarditis, osteomielitis hematogen akut, meningitis, atau infeksi paru. Keracunan makanan akibat enterotoksin stafilokokus ditandai dengan waktu inkubasi yang pendek, disertai dengan mual hebat, muntah, diare, dan tidak ada demam. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang paling sering menyebabkan abses hati piogenik, terutama pada anak (Reipert *et al.*, 2003)

Penelitian yang dilakukan oleh (Nielsen *et al.*, 2009) menunjukkan bahwa inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan terbentuknya mikroabses pada paru, limpa, dan hati babi. *Staphylococcus aureus* memiliki banyak faktor virulensi yang potensial. Faktor – faktor tersebut dapat memiliki banyak fungsi dalam pathogenesis dan beberapa faktor juga dapat memiliki fungsi yang sama. *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan berbagai macam enzim, seperti protease, lipase, dan hyaluronidase yang memudahkan bakteri tersebut untuk masuk dan menghancurkan jaringan serta menyebar ke jaringan sekitarnya selama proses infeksi.

Enzim betalaktamase adalah enzim yang menginaktivasi penisilin, sedangkan *Penicillin Binding Protein* (PBP) adalah enzim yang berada di membran sitoplasma dan ikut berperan dalam pembentukan dinding sel. PBP inilah yang menjadi salah satu faktor utama terjadinya resistensi. *Staphylococcus aureus* memproduksi berbagai macam toksin yang dikelompokkan sesuai dengan mekanisme kerjanya. Sitotoksin seperti toksin α , β , γ dan δ menyerang membran sel mamalia termasuk salah satunya adalah sel darah merah sehingga sering

disebut juga dengan hemolisin. Toksin tersebut dapat merusak membran kemudian menyebabkan hilangnya komponen – komponen sel hingga terjadi lisis.

Panton Valentine Leukocidin (PVL) adalah toksin yang dapat melisis PMN. Toksin ini banyak diproduksi oleh kuman MRSA khususnya CA – MRSA. Produksi toksin PVL dapat menyebabkan kuman menjadi lebih resisten. Eksotoksin superantigen adalah toksin yang memiliki afinitas terhadap kompleks reseptor sel T dengan MHC kelas II. Kompleks tersebut memacu proliferasi sel T dan pelepasan sitokin (Lowy, 2003).

Eksotoksin superantigen dapat dibedakan menjadi enterotoksin, toksin eksfoliatif, dan *Toxic Shock Syndrome Toxin* (TSST-1). Enterotoksin diproduksi oleh 65% bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri tersebut memicu sekresi enterotoksin saat bakteri mengkontaminasi dan tumbuh di makanan. Proses ini yang menyebabkan terjadinya keracunan makanan. Toksin eksfoliatif, termasuk toksin epidermolitik A dan B menyebabkan *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSSS) dengan gejala yaitu eritema dan pengelupasan kulit. TSST-1 adalah penyebab *Toxic Shock Syndrome* (TSS). Toksin tersebut memiliki kemiripan struktur molekuler dengan enterotoksin (Mishra *et.al.*, 2016). Saat ini pengobatan efektif untuk infeksi MRSA yaitu dengan menggunakan antibiotik vancomycin. Beberapa antibiotik pilihan lain yaitu termasuk daptomycin, linezolid, tedizolid, telavancin, oritavancin, dalbavancin, ceftaroline dan ceftobiprole yang telah dikembangkan dan disetujui untuk penggunaan klinis (Boswihi *and* Udo, 2018).

2.4 Uraian Antimikroba

2.4.1 Pengertian Antimikroba

Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk penyakit yang disebabkan oleh infeksi mikroba pada manusia. Obat-obatan yang baik digunakan untuk memusnahkan mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia adalah yang memiliki sifat toksik selektif yang berarti obat atau zat tersebut harus bersifat toksik terhadap mikroorganisme penyebab penyakit dan tidak toksik terhadap inang atau hospes (Djide *dkk.*, 2008).

2.4.2 Sifat Antimikroba

1. Bakteriostatik

Zat atau bahan yang terkandung dalam antimikroba dan dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme sehingga mikroorganisme tidak dapat lagi bermultiplikasi dan berkembang biak.

2. Bakteriosida

Zat atau bahan yang terkandung dalam antimikroba dan dapat membunuh mikroorganisme (Djide dkk., 2008).

2.4.3 Prinsip Kerja Antimikroba

Suatu antimikroba memperlihatkan toksisitas yang selektif, dimana obat lebih toksik terhadap mikroorganismenya dibanding pada sel hospes. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh obat yang selektif terhadap mikroorganisme atau karena obat pada reaksi biokimia yang penting pada sel parasit lebih unggul dari pada pengaruhnya dari pada hospes. Disamping itu struktur sel mikroorganisme berbeda dengan struktur sel manusia (Naiola, 1986).

2.4.4 Mekanisme Antimikroba

1. Menghambat Biosintesis Dinding Sel Mikroba

Penghambatan biosintesis dinding sel menyebabkan kelemahan jaringan dinding sel mikroba, terjadi kerusakan membran sel diikuti dengan pecahnya sel karena lisis osmotik sehingga mikroorganisme mengalami kematian (Siswandono dan Bambang Soekardjo, 2008). Dinding sel bakteri menunjukkan bentuk karakteristik dan berfungsi melindungi bahan dalam sel terhadap perubahan tekanan osmotik dan kondisi lingkungan lainnya. Didalam sel terdapat sitoplasma yang merupakan tempat berlangsungnya proses biokimia sel (Suwandi, 1992; Mycek, 2001).

2. Menghambat Biosintesis Protein

Protein adalah komponen yang penting dalam sistem kehidupan mikroba. Penghambatan biosintesis protein dapat menyebabkan kematian mikroba (Siswandono dan Bambang Soekardjo, 2008). Hidupnya suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi atau substansi mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasi protein dengan merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi atau konsentrasi beberapa zat dapat mengakibatkan koagulasi komponen-komponen seluler yang vital ini. Antimikroba mempunyai fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terlambat. Dimana dapat berikatan dengan ribosom 30S yang dapat menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks, sehingga salah dalam menerjemahkan tanda m-RNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Selain itu juga dapat berikatan dengan ribosom 50S yang dapat menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang (Ganiswara, 1995).

3. Menghambat Biosintesis Asam Nukleat

Asam nukleat berperan penting pada proses pembelahan sel. Penghambatan biosintesis asam nukleat dapat menyebabkan kematian mikroba (Siswandono dan Bambang Soekardjo, 2008). Asam nukleat merupakan bagian yang sangat vital bagi perkembangbiakan sel, untuk pertumbuhannya kebanyakan sel bergantung pada sintesis DNA, sedangkan RNA diperlukan untuk transkripsi dan penentuan informasi sintesis protein dan enzim (Suwandi, 1992). Begitu pentingnya DNA dan RNA dalam proses kehidupan sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Dalam hal ini mempengaruhi metabolisme asam nukleat (Pelczar *et.al.*, 2008).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses melarutkan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan

komponen yang diinginkan, dimana zat aktif yang berada di dalam sel akan ditarik oleh cairan penyari tersebut (Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

2.5.2 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Ekstraksi ini didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel secara osmosis yang mengandung dinding sel zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif ke luar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel. Jenis-jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara dingin seperti maserasi, perkolasi, ekstraksi secara panas seperti refluks, sokletasi dan destilasi uap air (Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

2.5.3 Ekstraksi Secara Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat akan di desak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam larutan penyari, tidak mengandung zat aktif yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stiraks, dan lain-lain. Untuk penyarian, Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air, atau eter. Penyari pada perusahaan obat tradisional makin terbatas pada penggunaan penyari air, etanol atau etanol-air.

Keuntungan penyarian dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Pada penyarian

cara ini, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir simplisia, dimana dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dan di luar sel.

Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara, 10 bagian simplisia dengan derajat halus tertentu dimasukkan ke dalam bejana maserasi, kemudian ditambahkan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya, sambil diaduk berulang-ulang (Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

2.6 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh matahari langsung (Depkes RI, 1995).

Ekstrak kental adalah sediaan yang di peroleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia hewan atau tumbuhan menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang ditetapkan (Istiqomah, 2013).

2.7 Etanol

Uji fitokimia adalah uji kualitatif kandungan senyawa aktif dalam suatu sampel. Uji fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa tumbuhan berdasarkan golongannya sebagai informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman. Etanol merupakan pelarut polar yang banyak digunakan untuk mengekstrak komponen polar suatu bahan alam dan dikenal sebagai pelarut universal. Komponen polar dari suatu bahan alam dalam ekstrak etanol dapat diambil dengan teknik ekstraksi melalui proses pemisahan (Santana *et al.*, 2009). Menurut Sudarmadji (2003) etanol dapat mengekstrak senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya. Etanol mempunyai titik didih yang rendah yaitu 79 derajat Celcius sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan.

Berdasarkan hasil uji yang dilakukan pada skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96 % mengandung flavonoid, saponin, fitosterol, dan tanin.

Ekstrak etanol dapat mengidentifikasi senyawa metabolit lebih banyak daripada ekstrak air, hal ini dikarenakan ekstrak etanol mempunyai kesamaan tingkat kepolaran dengan senyawa yang didapatkan. Menurut Markham (1988), aglikon flavonoid adalah polifenol yang mempunyai sifat kimia senyawa fenol. Adanya sejumlah gugus hidroksil, flavonoid juga bersifat polar dan karenanya cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol (Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 2000).

2.8 Uji Aktivitas Antimikroba

1. Metode Difusi

a. Metode disc diffusion (Tes Kirby & Bauer)

Menurut Hermawan, dkk (2017), metode *disc diffusion* menggunakan cakram berfungsi sebagai tempat menentukan agen antimikroba. Cakram yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar. Terdapat dua zona hambat yang terbentuk:

- Zona radikal

Merupakan daerah yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri di sekeliling disk. Aktivitas antibakteri diukur pada diameter zona radikal.

- Zona irradikal

Merupakan daerah yang terdapat pertumbuhan bakteri di sekeliling disk dan dapat dihambat oleh antibakteri tetapi tidak mematikan bakteri.

Uji *disc diffusion* dilakukan dengan mengukur zona bening yang tidak memperlihatkan pertumbuhan bakteri di sekeliling senyawa antibakteri pada permukaan media dengan penggaris. Keadaan ini merupakan indikasi adanya respon penghambatan pertumbuhan mikroorganisme.

b. E-test

Metode *E-test* yang digunakan untuk mengukur kadar kambat minumim, merupakan konsentrasi minimal agen antibakteri dapat

menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Metode ini menggunakan strip plastic yang mengandung antibakteri dari kadar terendah hingga tertinggi yang diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Hasil dapat diamati dari zona bening yang menunjukkan aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (College of Physicians & Surgeons of Saskatchewan, 2010).

c. *Ditch-plate technique*

Metode ini meletakkan agen antibakteri pada parit yang telah dipotong dalam media agar di cawan petri pada bagian tengahnya secara membujur. Bakteri yang akan diujikan digoreskan ke dalam parit yang telah berisi agen antibakteri (Amsterdam, 1984).

d. *Cup-plate technique*

Media agar yang telah ditanami bakteri akan dibuat sumur yang akan diisi oleh agen antibakteri (Society for General Microbiology, 2006).

e. *Gradient-plate technique*

Metode ini menggunakan beberapa konsentrasi antibakteri di media agar yang dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran dituangkan ke dalam cawan petri dalam posisi miring. Bakteri uji digoreskan dari konsentrasi tinggi ke rendah dan hasilnya dihitung dari panjang total pertumbuhan bakteri maksimum dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan (Zwenger, 2008).

2. Metode Dilusi

a. Metode dilusi cair

Menurut Andrews (2001), metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) dari bahan antibakteri uji terhadap bakteri uji dengan cara mengencerkan bahan antibakteri uji pada medium cair sampai diperoleh beberapa konsentrasi dan masing-masing konsentrasi ditambahkan bakteri uji.

b. Metode dilusi padat

Menurut Jilani *et al.*, (2007), metode ini menggunakan media padat.

Dengan metode ini, satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat menguji beberapa bakteri lain.

3. Metode turbidimetri

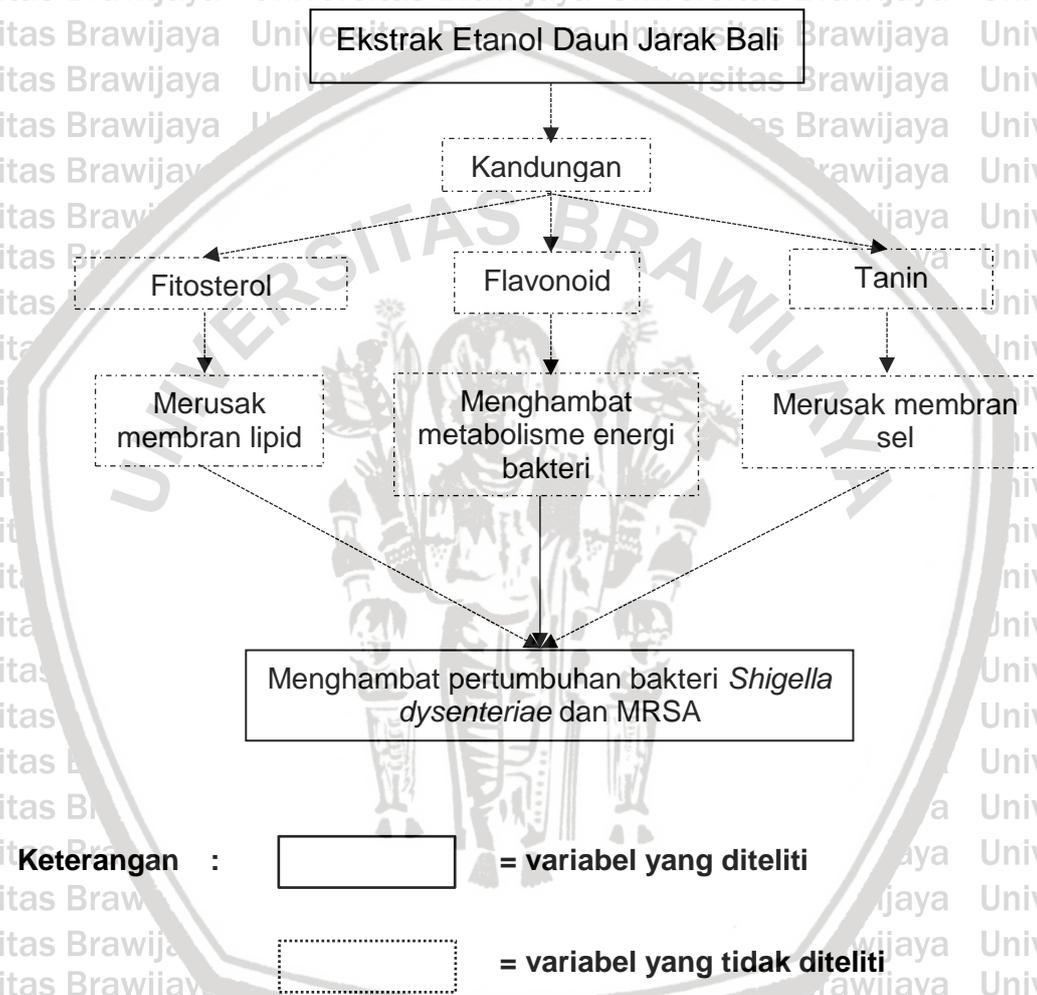
Metode turbidimetri dilakukan berdasarkan hambatan pertumbuhan mikroba dalam media cair yang mengandung antibiotik. Hambatan pertumbuhan mikroba ditentukan dengan mengukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm (Nurfajariah, 2010).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Uraian Kerangka Berpikir Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas, dapat dijelaskan bahwa pada daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) dapat digunakan sebagai bahan untuk diteliti

karena memiliki kandungan senyawa aktif yaitu fitosterol, flavonoid, dan tanin dengan mekanisme yang berbeda-beda dalam berperan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja fitosterol yaitu dengan merusak membran lipid yang menyebabkan kebocoran liposom (Madduluri *et al.*, 2013). Senyawa flavonoid bekerja untuk menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri sehingga dapat merusak membran sel bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein seluler (Nuria dkk, 2009). Flavonoid juga dapat menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri sehingga metabolisme energi bakteri terganggu dan pertumbuhan bakteri dapat dihambat (Cushnie and Lamb, 2005). Dan senyawa tanin memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga merusak membran sel bakteri yang menyebabkan metabolit-metabolit intraseluler keluar dari dalam sel (Bylka *et al.*, 2004). Dengan berbagai mekanisme kerja senyawa aktif tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA yang ditentukan dari diameter zona hambat.

3.3. Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) memiliki aktivitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA dengan mengamati diameter zona hambat.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan studi eksperimental laboratorik *in vitro* dengan rancangan *true experiment-post test only group design* dengan fokus penelitian yaitu pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) setelah pemberian ekstrak daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) secara *in vitro*. Penelitian dilakukan untuk membuktikan aktivitas antibakteri pada ekstrak daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan MRSA secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah bakteri *Shigella dysenteriae* dan bakteri MRSA yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2.1 Estimasi Jumlah Pengulangan

Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian dihitung menggunakan rumus (Solimun, 2011):

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

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

Pada masing-masing penelitian terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA, dilakukan 5 perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) dan 1 perlakuan dengan pemberian akuades. Maka:

$$\begin{aligned}
 p(n-1) &\geq 15 \\
 6(n-1) &\geq 15 \\
 6n - 6 &\geq 15 \\
 6n &\geq 21 \\
 n &\geq 3,5 \text{ (dibulatkan keatas menjadi 4)}
 \end{aligned}$$

Jumlah perlakuan ulang (n) yang digunakan adalah 3,5 dan dibulatkan keatas menjadi 4 kali pengulangan.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian adalah ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA pada media *Muller Hinton Agar* dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk dalam satuan milimeter (mm) menggunakan penggaris.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) didapatkan di Kuta, Bali dan diproses hingga diperoleh bubuk simplisia di Materia Medica Batu dan proses ekstraksi pada bubuk simplisia dilakukan di Politeknik Negeri Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September dan Oktober 2018 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat

4.5.1.1 Alat Untuk Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram

1. Gelas objek
2. Pipet
3. Api bunsen
4. Ose
5. Korek api
6. Mikroskop
7. Wadah pewarnaan
8. Tisu
9. Kapas steril
10. Penjepit

4.5.1.2 Alat Untuk Uji Pembiakan Pada Media Diferensial *Salmonella-Shigella*

Agar

1. Cawan petri
2. Kapas steril
3. Inkubator

4.5.1.3 Alat Untuk Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2

1. Mesin Vitek2
2. Ose steril
3. DensiCHECK Plus Meter dengan McFarland Standards untuk kalibrasi
4. Cotton swab
5. Komputer

4.5.1.4 Alat Untuk Uji Katalase

1. Kertas
2. Ose

4.5.1.5 Alat Untuk Uji Koagulase

1. Kertas
2. Ose

4.5.1.6 Alat Untuk Uji Sensitifitas Cefoxitin

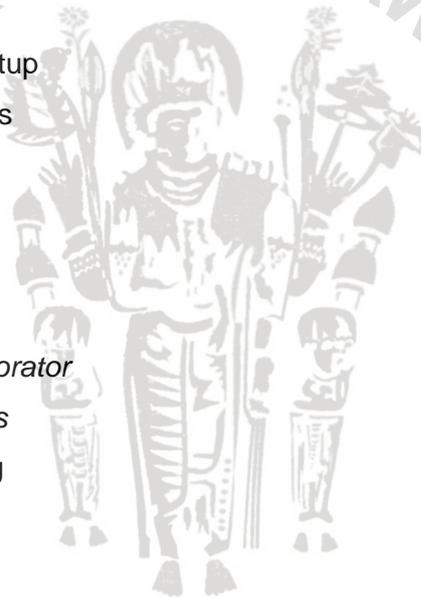
1. Kapas steril
2. Inkubator
3. Penggaris
4. Spidol

4.5.1.7 Alat Untuk Ekstraksi Daun Jarak Bali

1. Toples Bertutup
2. Corong Gelas
3. Timbangan
4. Gelas Ukur
5. Botol
6. Erlenmeyer
7. Rotary *Evaporator*
8. *Beaker Glass*
9. Kertas saring
10. *Water bath*
11. Gunting

4.5.1.8 Alat Untuk Persiapan Suspensi Bakteri

1. Spektrofometri
2. Tabung 15 ml
3. Cawan petri
4. Ose



4.5.1.9 Alat Untuk Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

1. Tabung
2. Micropipet
3. Alat vorteks

4.5.1.10 Alat Untuk Tes Difusi Sumuran (Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali)

1. Cawan petri
2. Alat pelubang
3. Micropipet
4. Inkubator
5. Penggaris ukuran millimeter (mm)
6. Api bunsen

4.5.2 Bahan

4.5.2.1 Bahan Untuk Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram

1. Pewarna gram (kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin)
2. Biakan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA
3. Akuades steril

4.5.2.2 Bahan Untuk Uji Pembiakan Pada Media Diferensial *Salmonella-Shigella Agar*

1. Biakan bakteri *Shigella dysenteriae*
2. Media *Salmonella-Shigella Agar*

4.5.2.3 Bahan Untuk Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2

1. Biakan bakteri *Shigella dysenteriae*
2. Kartu Reagen
3. Tabung polystyrene jernih ukuran 75 mm x 12 mm
4. Larutan NaCl steril

5. Holder kartu kaset (*bar-coded*)

6. Internal Carousel

4.5.2.4 Bahan Untuk Uji Katalase

1. Hidrogen peroksida

2. Suspensi bakteri MRSA

4.5.2.5 Bahan Untuk Uji Koagulase

1. Lateks *staphaurex* atau serum mamalia

2. Suspensi bakteri MRSA

3. Akuades

4.5.2.6 Bahan Untuk Uji Sensitifitas Cefoxitin

1. Media *Muller Hinton Agar (MHA)*

2. Suspensi bakteri MRSA

3. *Cefoxitin disk* 30 mikrogram

4.5.2.7 Bahan Untuk Persiapan Suspensi Bakteri

1. Suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA

2. *Mueller Hinton Agar (MHA)*

3. *Nutrient broth*

4.5.2.8 Bahan Untuk Ekstraksi Daun Jarak Bali

1. Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

2. Pelarut etanol 96%

4.5.2.9 Bahan Untuk Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

1. Aquades

2. Ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

4.5.2.10 Bahan Untuk Tes Difusi Sumuran (Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali)

1. Aquades
2. Ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

4.6 Definisi Operasional

1. Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) didapatkan di Kuta, Bali dan diproses di Materia Medica Kota Batu untuk mendapatkan bubuk simplisia yang telah dihaluskan. Setelah itu dilakukan proses ekstraksi di Politeknik Negeri Malang dengan bahan pengeksrak etanol 96%. Ekstraksi dilakukan melalui proses maserasi menghilangkan pelarut etanol. Hasil ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) akan dibagi dalam kelompok konsentrasi yang berbeda sebagai kontrol positif yaitu konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%.
2. Kontrol negatif adalah perlakuan dengan akuades yaitu kelompok yang mengandung konsentrasi 0% ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*).
3. Bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA diperoleh dari Laborium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang berasal dari stock bakteri yang ada di Laboratorium dan telah dilakukan diidentifikasi bakteri sebelumnya.
4. Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi sumuran dan hasil dapat dilihat dari adanya zona hambat. Zona hambat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada suatu bahan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat ditandai dengan daerah disekitar sumuran dan diameter zona hambat diukur menggunakan penggaris dengan satuan millimeter.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Identifikasi Bakteri *Shigella dysenteriae*

4.7.1.1 Pewarnaan Gram

1. Bersihkan gelas objek dengan kapas steril.

2. Lewatkan gelas objek di atas api Bunsen lalu dinginkan.
3. Berikan satu tetes aquades steril pada gelas obyek.
4. Letakkan satu oca bakteri *Shigella dysenteriae* pada gelas objek lalu tunggu hingga kering.
5. Fiksasi dengan melewati gelas objek di atas api.
6. Teteskan larutan crystal violet pada gelas objek, lalu diamkan selama satu menit.
7. Buang sisa larutan crystal violet dan bilas gelas objek dengan air mengalir.
8. Teteskan larutan alkohol 96% pada gelas objek selama 5-10 detik.
9. Buang sisa alkohol 96% dan bilas gelas objek dengan air mengalir.
10. Teteskan larutan safranin pada gelas objek, lalu biarkan selama 30 detik.
11. Buang sisa larutan safranin dan bilas gelas objek dengan air mengalir.
12. Sediaan dikeringkan dengan tisu (Barrow, 2004).
13. Gelas objek yang sudah kering ditetesi minyak imersi dan letakkan gelas objek dibawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 100x (Acharya, 2015).
14. Cari bakteri *Shigella sp.* berupa bakteri batang berwarna merah (gram negatif).

4.7.1.2 Uji Pembedaan Pada Media Diferensial *Salmonella-Shigella Agar*

1. Bakteri *Shigella dysenteriae* diinokulasikan pada media agar *Salmonella-Shigella* dengan cara *streaking*.
2. Inkubasi pada 37 derajat Celcius selama 18-24 jam.
3. Hasil akan menunjukkan sebagai koloni bening tidak berwarna jika bakteri positif *Shigella sp.* karena tidak meragikan laktosa.

4.7.1.3 Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2

4.7.1.3.1 Persiapan Organisme

Siapkan bakteri *Shigella dysenteriae* pada suhu ruangan.

4.7.1.3.2 Persiapan Inokulasi

1. Pilih kartu reagen yang tepat untuk *Shigella dysenteriae* dan dikeluarkan pada suhu ruangan sebelum bungkus dibuka.
2. Teteskan larutan NaCl steril sebanyak 3 kali pada tabung tes *polystyrene* berukuran 75 mm x 12 mm.
3. Koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dipindahkan ke tabung berisi NaCl steril menggunakan *cotton swab*.
4. Suspensi disesuaikan dengan standard McFarland menggunakan V2C DensiCHECK Plus Meter yang terkalibrasi.
5. Letakkan suspensi pada kaset.
6. Masukkan sedotan pada kartu V2C ke tabung yang telah disuspensi dalam kaset.

4.7.1.3.3 Pemasukan Data ke Sistem Vitek pada Komputer

1. Klik icon V2V pada komputer dan masukkan *username* dan *password*.
2. Klik dua kali icon *Manage Cassette View* untuk memasukkan informasi mikroorganisme.
3. Klik icon *Maintain Virtual Cassette*.
4. Klik icon *Create New Virtual Cassette* untuk menyimpan data.
5. Masukkan informasi mengenai kaset.
6. Lakukan scanning *bar-code* data pada kartu reagen.

4.7.1.3.4 Mengisi Kartu

1. Letakkan kaset pada filler box pada sisi kiri V2C dan tekan tombol *fill*.
2. Setelah proses pengisian selesai, *load door* akan terbuka dan letakkan kaset pada *load door*. *Bar-code* yang telah discan akan diverifikasi dengan kaset virtual yang dimasukkan lewat komputer. Kartu akan tersegel dan otomatis masuk ke mesin.
3. Setelah kartu berada pada *load door*, singkirkan kaset dan buang tabung, dan sedotan di wadah bio-hazard.
4. Setelah itu mesin V2C akan memproses kartu.
5. Setelah proses selesai, buang kartu ke tempat sampah.

4.7.1.3.5 Hasil

Hasil akan tercetak dan data akan terkirim ke folder *Results View* pada sisi kanan layar komputer.

4.7.1.4 Persiapan Suspensi Bakteri *Shigella dysenteriae* pada *Mueller Hinton Agar*

1. Ambil koloni *Shigella dysenteriae* dengan menggunakan ose.
2. Masukkan ke dalam tabung steril berisi *nutrient broth*.
3. Tabung reaksi diinkubasi dengan inkubator pada suhu 37 derajat Celcius selama 18-24 jam.
4. Lakukan spectofotometri pada tabung reaksi dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui OD dari suspensi tersebut.
5. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 CFU/ml yang setara dengan OD = 0,1 (Murray *et al.*, 2003), dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan:

- | | |
|----|---|
| N1 | = OD hasil spektrofometri (1,849) |
| V1 | = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer |
| N2 | = OD (0,1 atau setara dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml) |
| V2 | = Volume bakteri akhir (15 ml) |

6. Setelah itu diperoleh volume bakteri ($V1 = 0,81$ mL) yang akan ditambah 14,19 ml MHA hangat dan dimasukkan di dalam tabung 15 ml.
7. Masukkan campuran volume bakteri dan MHA hangat dalam tabung 15 ml ke cawan petri.
8. Tunggu hingga memadat selama 15 menit.

4.7.2 Identifikasi Bakteri MRSA

4.7.2.1 Pewarnaan Gram

1. Bersihkan gelas objek dengan kapas steril.
2. Lewatkan gelas objek di atas api Bunsen lalu dinginkan.
3. Berikan satu tetes aquades steril pada gelas obyek.
4. Letakkan satu oce bakteri pada gelas objek lalu tunggu hingga kering.
5. Fiksasi dengan melewati gelas objek di atas api.
6. Teteskan larutan crystal violet pada gelas objek, lalu diamkan selama satu menit.
7. Buang sisa larutan crystal violet dan bilas gelas objek dengan air mengalir.
8. Teteskan larutan alkohol 96% pada gelas objek selama 5-10 detik.
9. Buang sisa alkohol 96% dan bilas gelas objek dengan air mengalir.
10. Teteskan larutan safranin pada gelas objek, lalu biarkan selama 30 detik.
11. Buang sisa larutan safranin dan bilas gelas objek dengan air mengalir.
12. Sediaan dikeringkan dengan tisu (Barrow, 2004).
13. Gelas objek yang sudah kering ditetesi minyak imersi dan letakkan gelas objek dibawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 100x (Acharya, 2015).
14. Cari bakteri *Staphylococcus aureus* berupa bakteri kokus berwarna ungu (gram positif) (Dzen, 2003)

4.7.2.2 Tes Katalase

1. Koloni bakteri diambil dari media dengan menggunakan oce dan diletakkan pada kertas.
2. Koloni bakteri ditetesi hidrogen peroksida (Benson, 2001).
3. Jika terbentuk gelembung-gelembung gas O₂, hal itu menunjukkan bahwa koloni bakteri adalah *Staphylococcus sp* (Dzen, 2003).

4.7.2.3 Tes Koagulase

1. Suspensi kuman dibuat diatas kertas dari 1 tetes akuades dengan 1 koloni kuman dari biakan padat.
2. Suspensi kuman dan dicampur dengan menggoyangkan gelas objek dalam arah melingkar dalam waktu 5-10 detik.

3. Teteskan satu tetes serum mamalia.

4. Tes koagulase positif jika terbentuk gumpalan putih (*clumping*) (Parija, 2012). Hasil tes koagulase *Staphylococcus aureus* adalah positif (Dzen, 2003).

4.7.2.4 Uji Sensitifitas Cefoxitin

1. Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA *distreaking* pada medium MHA.
2. Antibiotik *Cefoxitin* 30 mikrogram ditempelkan pada permukaan medium MSA yang telah *distreaking* bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.
3. Medium MHA diinkubasi pada suhu 37 derajat Celcius selama 18-24 jam.
4. Zona hambat diukur menggunakan penggaris dengan satuan milimeter.

Jika terdapat diameter zona hambat >22 mm maka bakteri sensitif terhadap antibiotik golongan *methicillin* (*cefoxitin*) dan dapat dinyatakan bahwa bakteri pada media MHA adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Jika terdapat diameter zona hambat <22 mm maka bakteri resisten terhadap antibiotik golongan *methicillin* (*cefoxitin*) dan dapat dinyatakan bahwa bakteri pada media MHA adalah bakteri MRSA (Fernandes dkk., 2005).

4.7.2.5 Persiapan Suspensi Bakteri MRSA pada *Mueller Hinton Agar*

1. Ambil koloni MRSA dengan menggunakan ose.
2. Masukkan ke dalam tabung reaksi steril berisi *nutrient broth*.
3. Tabung reaksi diinkubasi dengan inkubator pada suhu 37 derajat Celcius selama 18-24 jam.
4. Lakukan spectofotometri pada tabung reaksi dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui OD dari suspensi tersebut.
5. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 CFU/ml yang setara dengan OD = 0,1 (Murray *et al.*, 2003), dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan:

N1 = OD hasil spektrofometri (2,412)

V1 = Volume bakteri yang akan dicampur dengan pengencer

N2 = OD (0,1 atau setara dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml)

V2 = Volume bakteri akhir (15 ml)

6. Setelah itu diperoleh volume bakteri ($V1 = 0,62$ mL) yang akan ditambah 14,38 ml MHA hangat dan dimasukkan di dalam tabung 15 ml.

7. Masukkan campuran volume bakteri dan MHA hangat dalam tabung 15 ml ke cawan petri.

8. Tunggu hingga memadat selama 15 menit.

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

1. Sebanyak 1 kilogram simplisia daun Jarak Bali dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% hingga seluruh bagian simplisia terendam sempurna.
2. Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam sebanyak dua kali (remaserasi), dimana tiap 1x24 jam dilakukan pengadukan.
3. Kemudian disaring dan setelah itu dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu pemanasan 70 derajat Celcius dengan kecepatan 100 rpm sampai pelarut tidak menguap lagi dan diperoleh ekstrak kental (Torokano *et.al.*, 2018).

4.7.4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

4.7.4.1 Penelitian Pendahuluan

1. Masukkan ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) pada 10 tabung 0,5 ml yang sudah diberi tanda 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, dan 1,675.
2. Masukkan 0,5 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali pada tabung bertanda 100.
3. Masukkan 0,25 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,25 ml akuades pada tabung bertanda 50.

4. Masukkan 0,125 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,375 ml akuades pada tabung bertanda 25.
5. Masukkan 0,0625 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,4375 ml akuades pada tabung bertanda 12,5.
6. Masukkan 0,0312 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,4688 ml akuades pada tabung bertanda 6,25.
7. Masukkan 0,0156 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,4844 ml akuades pada tabung bertanda 3,125.
8. Masukkan 0,008375 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,4916 ml akuades pada tabung bertanda 1,675.
9. Masing-masing tabung dihomogenkan dengan cara divortex dengan mesin vorteks.

4.7.4.2 Penelitian Lanjutan

1. Masukkan ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) pada 10 tabung 0,5 ml yang sudah diberi tanda 12,5, 25, 50, 75, dan 100.
2. Masukkan 0,5 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali pada tabung bertanda 100.
3. Masukkan 0,375 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,125 ml akuades pada tabung bertanda 75.
4. Masukkan 0,25 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,25 ml akuades pada tabung bertanda 50.
5. Masukkan 0,125 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,375 ml akuades pada tabung bertanda 25.
6. Masukkan 0,0625 ml ekstrak etanol daun Jarak Bali dan 0,4375 ml akuades pada tabung bertanda 12,5.
7. Masing-masing tabung dihomogenkan dengan cara divortex dengan mesin vorteks.

4.7.5 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran dengan melakukan pengukuran zona hambat yang dapat dilihat disekitar sumuran yang berisi ekstrak etanol daun Jarak Bali menggunakan penggaris dengan satuan

milimeter (mm). Pada dua cawan petri yang terinokulasi bakteri *Shigella dysenteriae* dan dua cawan petri yang terinokulasi bakteri MRSA diberikan ekstrak dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,675% sebagai kontrol positif dan 0% dengan pemberian akuades sebagai kontrol negatif.

1. Buat 4 lubang sumuran pada 4 cawan petri dengan diameter 5 mm menggunakan alat pelubang.
2. Masing-masing lubang sumuran pada cawan petri diisi ekstrak etanol sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan dan dituliskan nilai konsentrasi menggunakan spidol permanen.
3. Pada cawan petri pertama masukkan 30 mikroliter akuades untuk kontrol negatif 0% dan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 6,25%, 3,125%, dan 1,675% sebanyak 30 mikroliter. Serta pada cawan petri kedua masukkan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 100%, 50%, 25%, 12,5% sebanyak 30 mikroliter.
4. Masukkan cawan petri kedalam inkubator pada suhu 37 derajat Celcius selama 18-24 jam.
5. Setelah diinkubasi, hitung zona hambat yang terbentuk menggunakan penggaris dengan satuan milimeter.

4.7.6 Tes Difusi Sumuran untuk Uji Coba Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran (Prayoga, 2013):

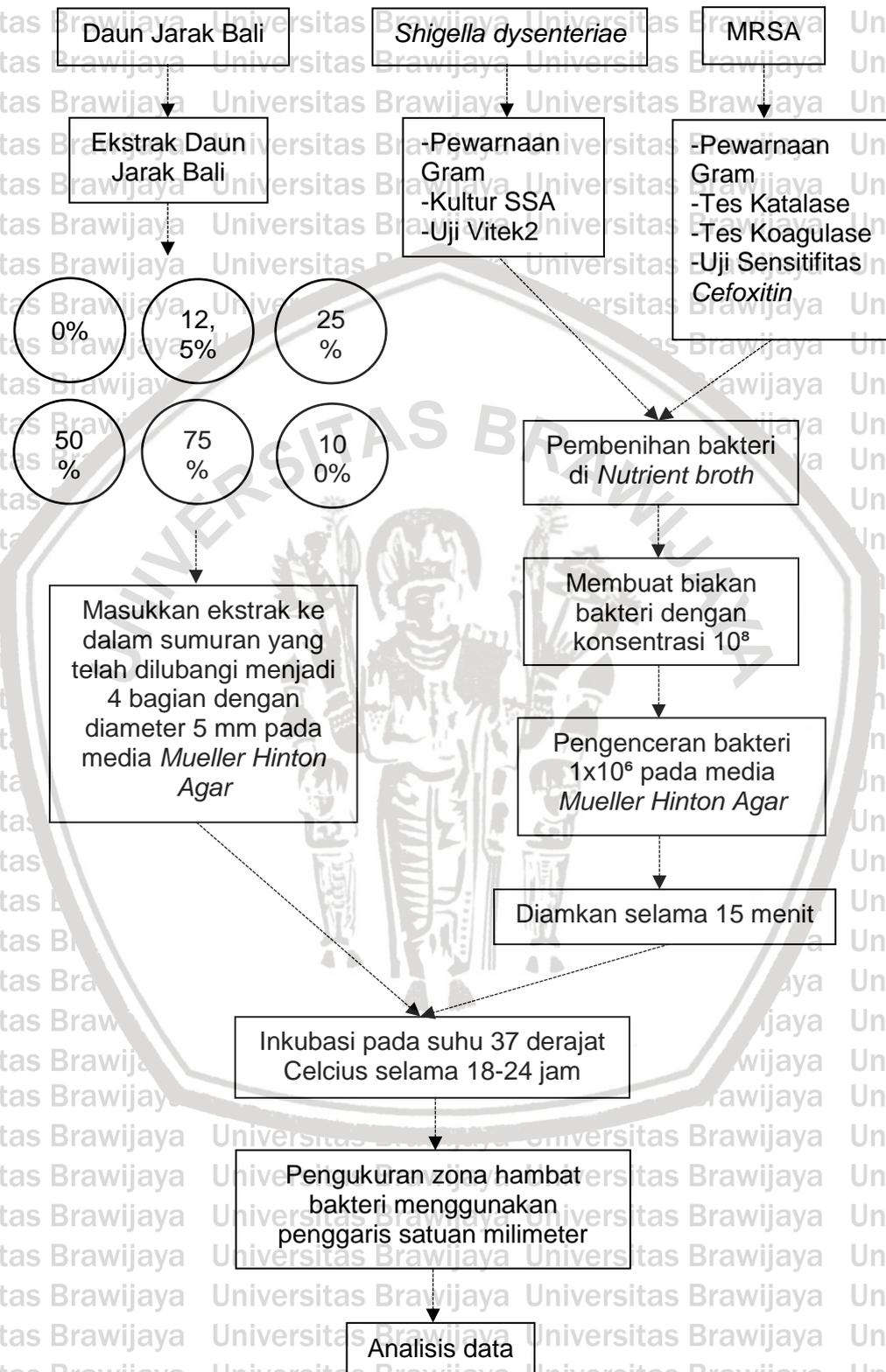
1. Siapkan 12 cawan petri yang telah diinokulasikan bakteri dan tiap cawan petri dibagi menjadi 4 daerah.
2. Tiap daerah dengan spidol permanen dituliskan 0 (ekstrak konsentrasi 0%) sebagai kontrol negatif pada 2 cawan petri yang berbeda, 12,5 (ekstrak konsentrasi 12,5%), dan 25 (ekstrak konsentrasi 25%), 50 (ekstrak konsentrasi 50%), 75 (ekstrak konsentrasi 75%), dan 100 (ekstrak konsentrasi 100%) pada tiap 2 cawan petri yang berbeda sebagai kontrol positif.
3. Buat 4 lubang sumuran di tiap cawan petri yang telah diinokulasikan bakteri pada daerah 0, 12,5, 25, 50, 75, dan 100 dengan diameter 5 mm dengan memanaskan alat pelubang dengan api Bunsen.

4. Buang sisa agar yang sudah dipanaskan sehingga agar membentuk lubang.
5. Masukkan ekstrak daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) sebanyak 30 mikroliter di tiap sumuran sesuai dengan konsentrasi untuk kontrol positif dan akuades untuk kontrol negatif.
6. Tunggu selama 30 menit.
7. Masukkan cawan petri ke dalam inkubator dengan suhu 37 derajat Celcius selama 24 jam.
8. Amati zona hambat disekitar lubang sumuran.
9. Ukur diameter zona hambat menggunakan penggaris dengan satuan millimeter.

4.7.7 Pengamatan dan Pengukuran

Larutan pada sumuran akan memberikan zona hambat mengelilingi daerah sumuran yang menunjukkan bahwa diameter zona hambat berbanding lurus dengan kekuatan aktivitas antibakteri sampel untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat dapat diamati dalam bentuk lingkaran dan pengukuran diameter dilakukan menggunakan penggaris dengan satuan millimeter (mm). Berdasarkan pernyataan Morales *et al.*, (2003) zona hambat dibagi dalam 4 kategori yaitu aktifitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (>10-20 mm), dan sangat kuat (>20-30 mm). Pengukuran diameter zona hambat dilakukan 4 kali (arah vertikal, horizontal, dan 2 arah diagonal) dan hitung rata-ratanya (Toy dkk., 2015).

4.7.8 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 4.1 Skema Prosedur Penelitian

4.8 Analisis Data

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri pada ekstrak daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) dianalisis dengan menggunakan uji statistik sebagai berikut (Nisbet et al., 2009):

1. Uji Normalitas *Kolmogrov-Smirnov* (Uji K-S) atau *Saphiro-Wilk* untuk mendeteksi normalitas data.
2. Uji Homogenitas (*Levene*) untuk mengetahui kesamaan atau homogenitas varian beberapa sampel.

Jika data hasil analisis terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji statistik sebagai berikut (Stevens, 2009):

1. Uji analisis varian satu arah (ANOVA) atau *One-Way ANOVA* untuk melihat perbedaan aktivitas antibakteri pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan MRSA.
2. Uji *Post-Hoc Tukey Test* untuk mengetahui sampel mana yang memberikan perbedaan signifikan dengan membandingkan dua sampel (konsentrasi dan zona hambat).
3. Uji Korelasi (*Pearson*) untuk mengetahui hubungan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap besar diameter zona hambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan MRSA.
4. Uji Regresi untuk mengetahui besarnya pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan MRSA.

Jika data hasil analisis tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, selanjutnya dilakukan uji statistik sebagai berikut (Walpole, 1992):

1. Uji Komparasi *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Mann-Whitney* untuk menentukan variabel mana yang memiliki kebermaknaan terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan MRSA.
2. Uji Korelasi (*Spearman*) untuk mengetahui hubungan pada jumlah konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan MRSA.

3. Uji Regresi untuk mengetahui besarnya hubungan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dan MRSA.



BAB 5

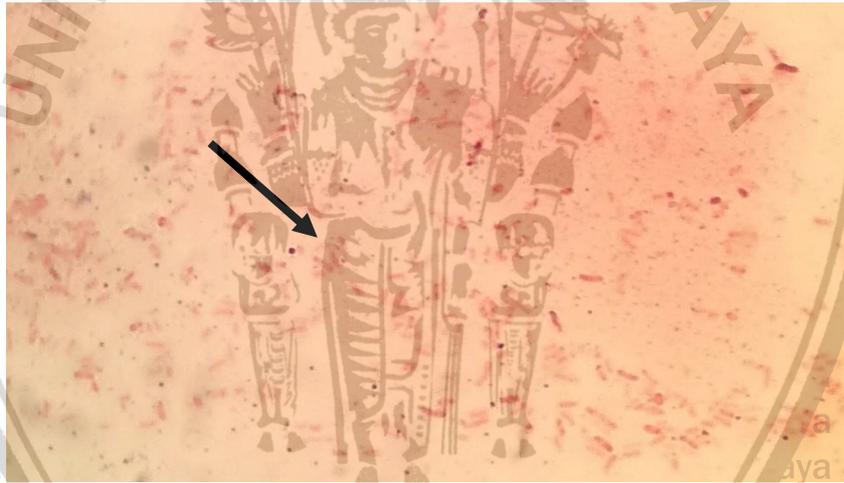
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian dan Analisis Data Pada Bakteri *Shigella dysenteriae*

5.1.1 Identifikasi *Shigella dysenteriae*

Pada penelitian ini bakteri *Shigella dysenteriae* diperoleh dan dilakukan identifikasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Identifikasi yang dilakukan yaitu Pewarnaan Gram, Uji Pemiakan Pada Media Diferensial *Salmonella-Shigella Agar* dan Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2.

5.1.1.1 Pewarnaan Gram



Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Gram Negatif

Keterangan: Pada gambar menunjukkan gambaran bakteri batang berwarna merah (Gram negatif)

5.1.1.2 Uji Pembiakan Pada Media Diferensial *Salmonella-Shigella* Agar



Gambar 5.2 Hasil Uji Pembiakan Pada Media Diferensial *Salmonella-Shigella* Agar

Keterangan: Pada gambar menunjukkan gambaran koloni bening yang menunjukkan koloni *Shigella sp*

5.1.1.3 Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2

bioMérieux Customer: RS dr SYAIFUL ANWAR MALANG
Microbiology Chart Report
Printed Sep 22, 2018 08:13 ICT

Patient Name: MR. X
Location: Lab ID: 21092018.13833
Patient ID: 0000000025
Physician: Isolate Number: 1

Organism Quantity:
Selected Organism: Shigella group

Source: ?
Collected:

Comments:

Identification Information	Analysis Time: 4.75 hours	Status: Final
Selected Organism	97% Probability Shigella group	
ID Analysis Messages	BiNumber: 0005210140440211	

Confirm by serological tests

Biochemical Details																																																																																																																																												
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	ARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-	10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+	17	BIGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-	23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-	33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	38	SKG	-	40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	46	PHOS	+	48	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	WISA	-	56	CMT	+	57	BGUR	(-)	58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	ILATa	-

Gambar 5.3 Hasil Uji Biokimia dengan Mesin Vitek2

Keterangan: Lingkaran orange menunjukkan bahwa 97% kemungkinan bakteri yang diuji adalah *Shigella dysenteriae*

5.1.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

Daun Jarak Bali sebanyak 1 kilogram dilakukan proses ekstraksi di Politeknik Negeri Malang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil dari proses ekstraksi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali berwarna hitam pekat dengan konsistensi kental.



Gambar 5.4 Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

5.1.3 Hasil Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Pada Penelitian Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Sebelum dilakukan penelitian lanjutan, diperlukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali yang akan digunakan pada penelitian difusi sumuran. Konsentrasi ekstrak yang diberikan yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,675% sebagai kontrol positif dan 0% dengan pemberian akuades sebagai kontrol negatif. Setelah dilakukan penelitian pendahuluan, amati zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* disekeliling sumuran yang merupakan tanda dari aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun Jarak Bali.



Gambar 5.5 Hasil Penelitian Pendahuluan Pada Bakteri *Shigella dysenteriae*

Keterangan gambar:

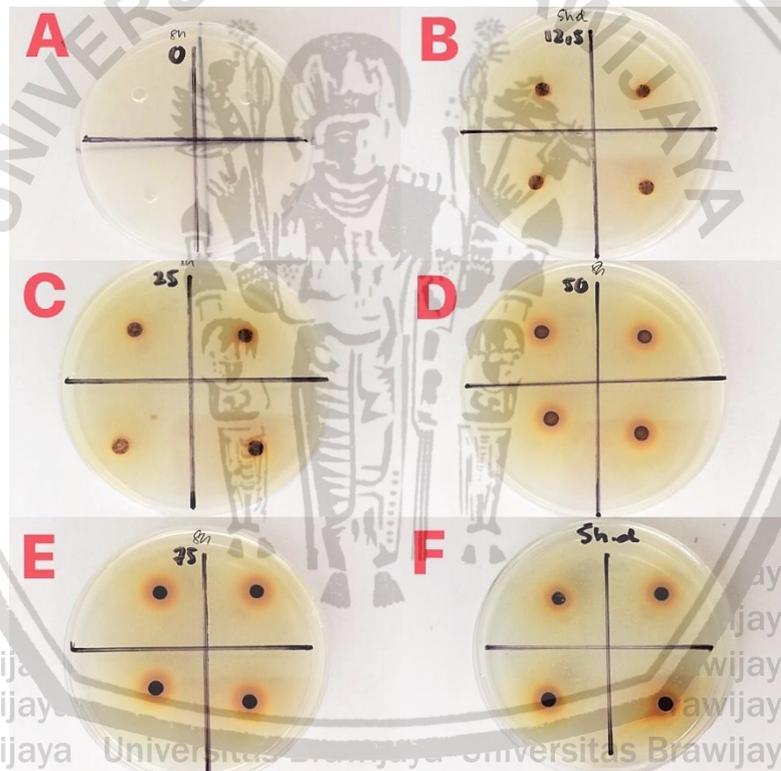
- 1 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 100% dengan rata-rata zona hambat 13,78 mm (aktivitas antibakteri kuat).
- 2 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 50% dengan rata-rata diameter zona hambat 12,50 mm (aktivitas antibakteri kuat).
- 3 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 25% dengan rata-rata diameter zona hambat 10,91 mm (aktivitas antibakteri kuat).
- 4 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 12,5% dengan rata-rata diameter zona hambat 10,31 mm (aktivitas antibakteri kuat).
- 5 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 6,25% dengan rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).
- 6 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 3,125% dengan rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).
- 7 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 1,675% dengan rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).
- 8 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 0% dengan rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).

Hasil pada penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa zona hambat mulai muncul pada konsentrasi 12,5% (10,31 mm). Berdasarkan pernyataan Morales *et al.*, (2003), zona hambat dibagi dalam 4 kategori yaitu aktifitas antibakteri lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (>10-20 mm), dan sangat kuat (>20-30 mm). Untuk penelitian lanjutan digunakan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali mulai dari konsentrasi 12,5% karena zona hambat 10,31 mm

masuk dalam kategori aktifitas antibakteri kuat. Sehingga konsentrasi yang digunakan untuk penelitian lanjutan adalah konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% sebagai kontrol positif dan 0% sebagai kontrol negatif.

5.1.4 Hasil Penelitian Lanjutan Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Pada difusi sumuran dapat ditentukan zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang diamati dari zona disekeliling sumuran. Zona hambat berbentuk lingkaran dan diukur menggunakan penggaris dengan satuan milimeter. Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali yang digunakan adalah 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5% sebagai kontrol positif dan 0% sebagai kontrol negatif. Hasil yang didapat dari difusi sumuran dapat diamati pada gambar 5.6.



Gambar 5.6 Hasil Penelitian Lanjutan Pada Bakteri *Shigella dysenteriae*

Keterangan gambar:

A : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 0% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).

B : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 12,5% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 6,25 mm (aktivitas antibakteri sedang).

C : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 25% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata zona diameter hambat 7,83 mm (aktivitas antibakteri sedang).

D : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 50% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata zona diameter hambat 10,58 mm (aktivitas antibakteri kuat).

E : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 75% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 12,31 mm (aktivitas antibakteri kuat).

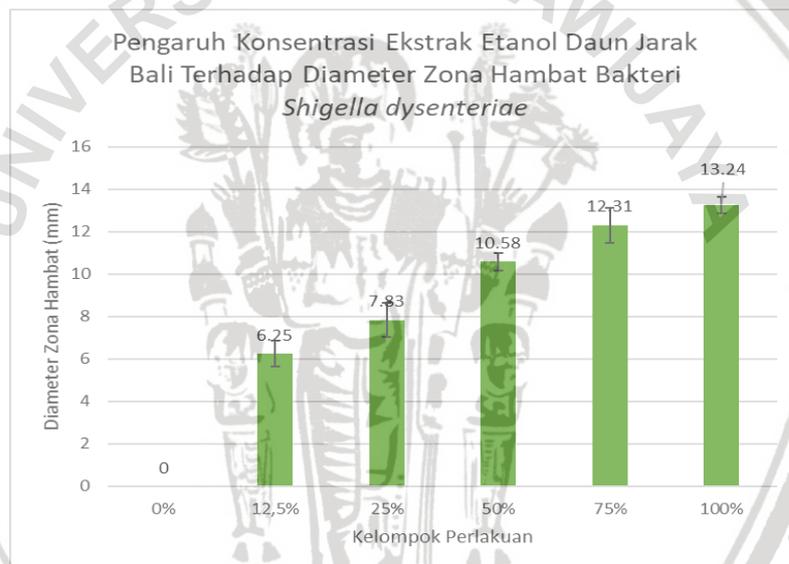
F : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 100% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 13,24 mm (aktivitas antibakteri kuat).

Pada gambar 5.6 menunjukkan adanya variasi ukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* setelah pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali dengan konsentrasi yang berbeda. Dari hasil difusi sumuran juga dapat dilihat peningkatan besaran diameter zona hambat dengan pemberian konsentrasi ekstrak daun Jarak Bali yang semakin tinggi. Pada penelitian lanjutan diberikan perlakuan dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% sebagai kontrol positif dan 0% sebagai kontrol negatif. Metode yang dilakukan adalah untuk melihat adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun Jarak Bali yaitu dengan menggunakan metode difusi sumuran. Metode uji sumuran dilakukan dengan mencampur medium *Mueller Hinton Agar* dengan isolat bakteri *Shigella dysenteriae* pada cawan petri. Media pada cawan petri kemudian dilubangi dengan alat pelubang untuk membentuk sumur dengan diameter 5 mm. Lubang sumuran kemudian ditetesi ekstrak etanol daun Jarak Bali dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 derajat Celcius.

Dari hasil uji difusi sumuran dapat dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri untuk menentukan besar zona hambat pada tiap konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali. Zona hambat yang terbentuk memiliki rata-rata diameter yang berbeda tergantung konsentrasi ekstrak sehingga dapat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, maka aktivitas antibakteri juga semakin besar. Hasil perhitungan diameter zona hambat ditunjukkan dalam tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-Rata (mm)	Standar Deviasi
	Pengulangan (mm)					
	1	2	3	4		
0%	0	0	0	0	0	0
12,5%	6,75	5,36	6,35	6,55	6,25	0,62
25%	7,14	7,93	7,34	8,93	7,83	0,80
50%	11,10	10,51	10,61	10,11	10,58	0,41
75%	12,70	11,11	12,95	12,50	12,31	0,82
100%	12,99	13,29	12,90	13,78	13,24	0,40



Gambar 5.7 Grafik Rata-Rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Berdasarkan gambar 5.7 dapat dilihat adanya perbedaan rata-rata diameter zona hambat yang menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antibakteri pada tiap konsentrasi yang berbeda. Kelompok pada konsentrasi 100% menunjukkan zona hambat terbesar dengan rata-rata 13,24 mm (aktivitas antibakteri kuat). Ekstrak etanol daun Jarak Bali pada konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% juga dapat menghasilkan zona hambat yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

5.1.5. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji statistik yang diperoleh berdasarkan hasil perhitungan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada *Mueller Hinton Agar*. Sebelum dilakukan uji statistik, perlu dilakukan uji normalitas data dan homogenitas varian untuk menentukan uji statistik yang tepat sehingga dapat digunakan untuk menganalisis data.

5.1.5.1 Hasil Pengujian Normalitas Data dan Homogenitas Varian Pada Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

Setelah mendapatkan data hasil penelitian, perlu dilakukan uji normalitas sebagai syarat untuk melakukan uji *One Way ANOVA* dan uji *Shapiro-Wilk* untuk menentukan apakah data sampel terdistribusi normal.

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* Pada Ekstrak Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji <i>Shapiro-Wilk</i>
		Angka Signifikansi Zona Hambat
0%	0,00	0,000
12,5%	6,25	0,245
25%	7,83	0,490
50%	10,58	0,887
75%	12,31	0,159
100%	13,24	0,470

Keterangan Tabel: distribusi normal ($p > 0,05$)

Tabel 5.2 menunjukkan bahwa data rata-rata diameter zona hambat terdistribusi normal yang dapat dilihat dari nilai signifikansi zona hambat pada tiap konsentrasi ($>0,05$). Setelah dilakukan Uji *Shapiro-Wilk*, kemudian dilakukan uji homogenitas varians data untuk menentukan apakah data sampel merupakan data yang homogen.

Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas Levene pada Ekstrak Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji Homogenitas
		Angka Signifikansi Zona Hambat
0%	0,00	0,521
12,5%	6,25	
25%	7,83	
50%	10,58	
75%	12,31	
100%	13,24	

Keterangan Tabel: $p = 0,521$: homogen ($p > 0,05$)

Tabel 5.3 menunjukkan bahwa nilai signifikansi zona hambat adalah 0,521 ($> 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* adalah data sampel yang homogen.

5.1.5.2 Hasil Uji *One-Way ANOVA* Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri Pada Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

Setelah diketahui bahwa data sampel pada penelitian terdistribusi normal dan homogen, maka data dapat dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun Jarak Bali terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 5.4 Uji One-Way ANOVA Antara Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*

Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji One-Way ANOVA
		Angka Signifikansi Zona Hambat
0%	0,00	0,000
12,5%	6,25	
25%	7,83	
50%	10,58	
75%	12,31	
100%	13,24	

Keterangan Tabel: $p = 0,000$: signifikan ($p < 0,05$)

Tabel 5.4 menunjukkan nilai signifikansi adalah 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara keenam kelompok perlakuan, yaitu antara konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% sebagai kontrol positif dan 0% (akuades) sebagai kontrol negatif terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

5.1.5.3 Hasil Uji *Post Hoc Tukey*

Setelah melakukan uji *One-Way ANOVA*, analisis data dilanjutkan dengan menggunakan uji *Post Hoc Tukey* untuk membandingkan dua data (kelompok perlakuan atau konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali dan zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*) dan dilihat dari kedua data sampel manakah yang memberikan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Tabel 5.5 Hasil Uji *Post Hoc* Tukey

Kelompok	0% (Kontrol)	12,5%	25%	50%	75%	100%
0% (Kontrol)		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
12,5%	0,000*		0,013*	0,000*	0,000*	0,000*
25%	0,000*	0,013*		0,000*	0,000*	0,000*
50%	0,000*	0,000*	0,000*		0,006*	0,000*
75%	0,000*	0,000*	0,000*	0,006*		0,264
100%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,264	

Keterangan Tabel: signifikan ($p < 0,05$). * = terdapat perbedaan signifikan

Tabel 5.5 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) pada konsentrasi 75% tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi 100% ($p=0,264$), sedangkan data lainnya menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap tiap konsentrasi yang berbeda.

5.1.5.4 Hasil Uji Korelasi *Pearson*

Pada penelitian ini dilakukan uji Korelasi *Pearson* untuk mengetahui hubungan pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali dengan tiap konsentrasi yang berbeda terhadap besarnya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Dari hasil uji Korelasi *Pearson* disajikan pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi *Pearson* Antara Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*

Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji <i>One-Way</i> ANOVA	
		Angka Signifikansi Zona Hambat	Hubungan Korelasi
0%	0,00		
12,5%	6,25		
25%	7,83		
50%	10,58	0,000	0,949
75%	12,31		
100%	13,24		

Keterangan Tabel: $R = 0,949$; korelasi sangat kuat dan benilai positif

Berdasarkan hasil uji Korelasi *Pearson* diketahui bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali dengan berbagai konsentrasi terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan ($R=0,949$, $p= 0,000$) dan kekuatan korelasi adalah sangat kuat ($0,949$), serta arah korelasi positif. Hal tersebut dapat dinyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol Jarak Bali memiliki potensi yang kuat untuk memperbesar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

5.1.5.5 Hasil Uji Regresi

Uji regresi dilakukan untuk mengetahui besarnya distribusi konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Uji regresi didapatkan dari nilai *R Square* sebesar $0,900$ yang memiliki makna bahwa pengaruh ekstrak etanol daun Jarak Bali terhadap terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* adalah sebesar 90% . Sisa dari nilai persen tersebut sebesar 10% dapat disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk faktor ketelitian dan lama penyimpanan ekstrak.

Tabel 5.7 Hasil Uji Regresi

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.949 ^a	.900	.895	1.48072

a. Predictors: (Constant), KonsentrasiEkstrakEtanolDaunJarakBali

5.2 Hasil Penelitian dan Analisis Data Pada Bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

5.2.1 Identifikasi MRSA

Pada penelitian ini bakteri MRSA diperoleh dan dilakukan identifikasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Identifikasi yang dilakukan yaitu Pewarnaan Gram, Tes Katalase, Tes Koagulase, dan Uji Sensitifitas *Cefoxitin*.

5.2.1.1 Pewarnaan Gram



Gambar 5.8 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Gram Positif

Keterangan: Pada gambar menunjukkan gambaran bakteri kokus berwarna ungu yang tersusun irregular (gram positif)

Gambar 5.8 menunjukkan gambaran bakteri gram positif yang dapat dilihat dari warna ungu yang tersusun bergerombol seperti anggur. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri MRSA.

5.2.1.2 Uji Katalase

Hasil uji katalase pada bakteri *Staphylococcus sp.* menunjukkan adanya gelembung udara setelah koloni bakteri ditetesi hydrogen peroksida sehingga uji katalase dapat dikatakan positif. Gelembung udara dapat terjadi karena *Staphylococcus sp.* membentuk enzim katalase sehingga terjadi pemecahan ikatan hydrogen peroksida pada koloni bakteri *Staphylococcus sp.* Hasil ini dapat diamati pada gambar 5.9.



Gambar 5.9 Hasil Uji Katalase *Staphylococcus*

Keterangan: Pada gambar menunjukkan hasil uji katalase positif berupa adanya gelembung udara

5.2.1.3 Uji Koagulase

Hasil uji koagulase pada bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya gumpalan sehingga uji koagulase dapat dikatakan positif. Gumpalan dapat terjadi karena *Staphylococcus aureus* bersifat menggumpalkan serum mamalia sehingga faktor serum bereaksi membentuk esterase dan mengaktifasi protrombin menjadi thrombin sehingga thrombin membentuk fibrin yang memicu penggumpalan plasma. Hasil ini dapat diamati pada gambar 5.10 yang menunjukkan adanya butiran-butiran kecil seperti pasir.

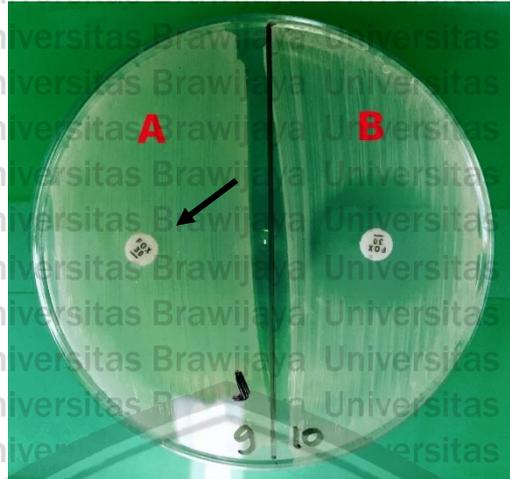


Gambar 5.10 Hasil Uji Koagulase *Staphylococcus aureus*

Keterangan: Pada gambar menunjukkan hasil uji koagulase positif berupa adanya gumpalan plasma

5.2.1.4 Uji Sensitivitas *Cefotixin*

Pada penelitian ini dilakukan uji Sensitivitas *Cefotixin* untuk membedakan MRSA dan *Staphylococcus aureus* non-MRSA. Bakteri MRSA sudah resisten dengan pemberian obat golongan *methicillin* karena MRSA memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim beta laktamase. Pada uji ini, jika terdapat diameter zona hambat >22 mm maka bakteri sensitif terhadap antibiotik golongan *methicillin* (*cefotixin*) dan dapat dinyatakan bahwa bakteri pada media MHA adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Jika diameter zona hambat < 22 mm maka bakteri resisten terhadap antibiotik golongan *methicillin* (*cefotixin*) dan dapat dinyatakan bahwa bakteri pada media MHA adalah bakteri MRSA (Medigan, 2008).



Gambar 5.11 Hasil Uji Sensitivitas Cefoxitin

Keterangan Gambar:

A : Hasil pengukuran diameter zona hambat adalah 0 mm. Sehingga bakteri pada cawan petri adalah MRSA karena tidak terbentuk zona hambat (< 22 mm) setelah pemberian *Cefoxitin*.

B : Hasil pengukuran diameter zona hambat adalah 25 mm. Sehingga bakteri pada cawan petri adalah *Staphylococcus aureus* karena terbentuk zona hambat (> 22 mm) setelah pemberian *Cefoxitin*.

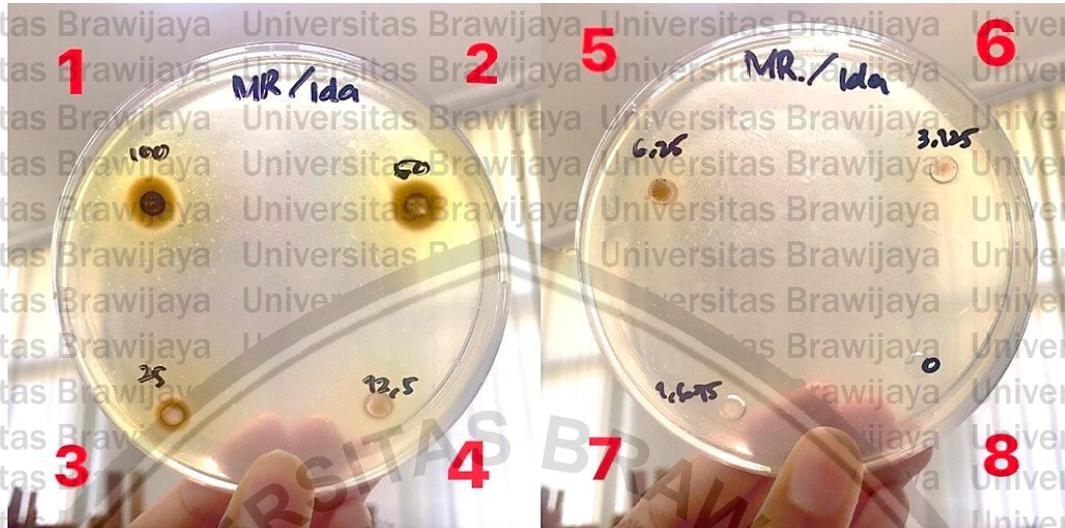
5.2.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

Daun Jarak Bali sebanyak 1 kilogram dilakukan proses ekstraksi di Politeknik Negeri Malang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil dari proses ekstraksi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali berwarna hitam pekat dengan konsistensi kental.

5.2.3 Hasil Hambatan Pertumbuhan Bakteri MRSA Pada Penelitian Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Sebelum dilakukan penelitian lanjutan, diperlukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali yang akan digunakan pada penelitian difusi sumuran. Konsentrasi ekstrak yang diberikan yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,675% sebagai kontrol positif dan 0% dengan pemberian akuades sebagai kontrol negatif. Setelah dilakukan penelitian pendahuluan, amati zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA

disekeliling sumuran yang merupakan tanda dari aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun Jarak Bali.



Gambar 5.12 Hasil Penelitian Pendahuluan Pada Bakteri MRSA

Keterangan gambar:

- 1 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 100% dengan rata-rata diameter zona hambat 14,48 mm (aktivitas antibakteri kuat).
- 2 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 50% dengan rata-rata diameter zona hambat 12,70 mm (aktivitas antibakteri kuat).
- 3 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 25% dengan rata-rata diameter zona hambat 11,50 mm (aktivitas antibakteri kuat).
- 4 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 12,5% dengan rata-rata diameter zona hambat 11,11 mm (aktivitas antibakteri kuat).
- 5 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 6,25% dengan rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).
- 6 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 3,125% dengan rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).
- 7 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 1,675% dengan rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).
- 8 : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 0% dengan rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).

Hasil pada penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa zona hambat mulai muncul pada konsentrasi 12,5% (11,11 mm). Berdasarkan pernyataan Morales *et al.*, (2003), zona hambat dibagi dalam 4 kategori yaitu aktifitas lemah

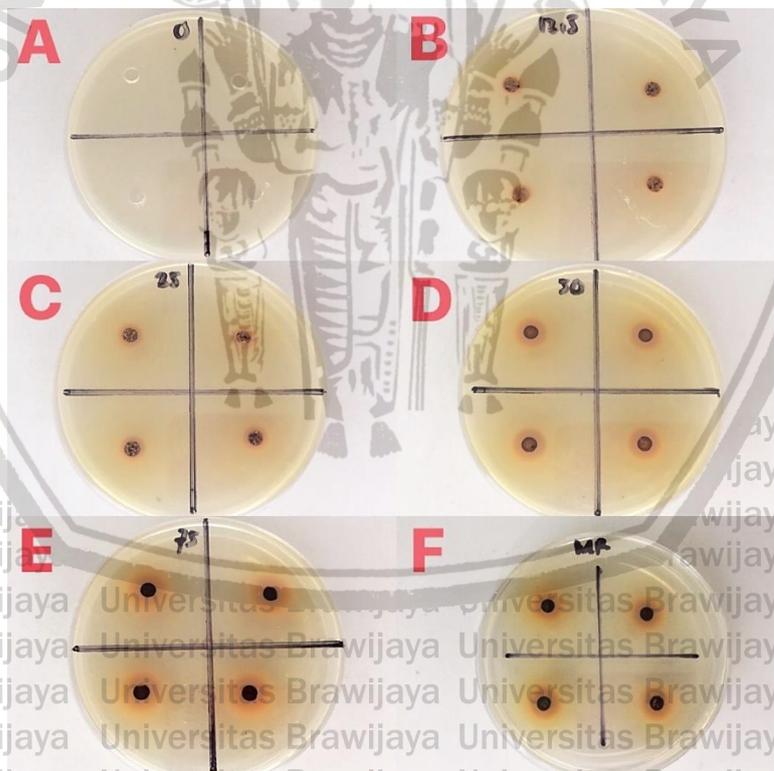
(<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (>10-20 mm), dan sangat kuat (>20-30 mm).

Untuk penelitian lanjutan digunakan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali mulai dari konsentrasi 12,5% karena zona hambat 11,11 mm masuk dalam kategori aktifitas antibakteri kuat. Sehingga konsentrasi yang digunakan untuk penelitian lanjutan adalah konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% sebagai kontrol positif dan 0% sebagai kontrol negatif.

5.2.4 Hasil Penelitian Lanjutan Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Pada difusi sumuran dapat ditentukan zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA yang diamati dari zona sekeliling sumuran. Zona hambat berbentuk lingkaran dan diukur menggunakan penggaris dengan satuan milimeter.

Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali yang digunakan adalah 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% sebagai kontrol positif dan 0% sebagai kontrol negatif. Hasil yang didapat dari difusi sumuran dapat diamati pada gambar 5.13.



Gambar 5.13 Hasil Penelitian Lanjutan Pada Bakteri MRSA

Keterangan gambar:

A : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 0% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 0 mm (tidak ada aktivitas antibakteri).

B : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 12,5% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 5,25 mm (aktivitas antibakteri sedang).

C : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 25% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 7,29 mm (aktivitas antibakteri sedang).

D : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 50% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 11,41 mm (aktivitas antibakteri kuat).

E : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 75% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 12,90 mm (aktivitas antibakteri kuat).

F : Konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 100% dengan pengulangan 4 kali. Hasil rata-rata diameter zona hambat 14,26 mm (aktivitas antibakteri kuat).

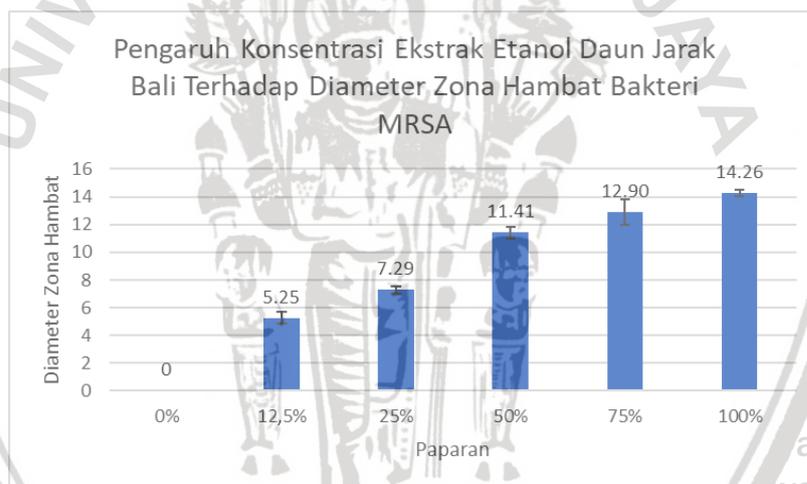
Pada gambar 5.13 menunjukkan adanya variasi ukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA setelah pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali dengan konsentrasi yang berbeda. Dari hasil difusi sumuran juga dapat dilihat peningkatan besaran diameter zona hambat dengan pemberian konsentrasi ekstrak daun Jarak Bali yang semakin tinggi. Pada penelitian lanjutan diberikan perlakuan dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5% sebagai kontrol positif dan 0% sebagai kontrol negatif. Metode yang dilakukan untuk melihat adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun Jarak Bali yaitu dengan menggunakan metode difusi sumuran. Metode uji sumuran dilakukan dengan mencampur medium *Mueller Hinton Agar* dengan isolat bakteri MRSA pada cawan petri. Media pada cawan petri kemudian dilubangi dengan alat pelubang untuk membentuk sumur dengan diameter 5 mm. Lubang sumuran kemudian ditetesi ekstrak etanol daun Jarak Bali dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 derajat Celcius.

Dari hasil uji difusi sumuran dapat dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri untuk menentukan besar zona hambat pada tiap konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali. Zona hambat yang terbentuk memiliki rata-rata diameter yang berbeda tergantung dari pemberian konsentrasi sehingga dapat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, maka aktivitas antibakteri juga semakin besar. Hasil perhitungan diameter zona hambat ditunjukkan dalam tabel

5.8.

Tabel 5.8 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri MRSA Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-Rata (mm)	Standar Deviasi
	Pengulangan (mm)					
	1	2	3	4		
0%	0	0	0	0	0	0
12,5%	4,76	5,16	5,95	5,16	5,25	0,43
25%	7,14	6,94	7,54	7,54	7,29	0,26
50%	11,11	11,51	12,01	11,00	11,41	0,40
75%	13,29	11,31	13,69	13,29	12,90	0,93
100%	14,38	13,89	14,48	14,48	14,26	0,22



Gambar 5.14 Grafik Rata-Rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri MRSA Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Berdasarkan gambar 5.14 dapat dilihat adanya perbedaan rata-rata diameter zona hambat yang menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antibakteri pada tiap konsentrasi yang berbeda. Kelompok pada konsentrasi 100% menunjukkan zona hambat terbesar dengan rata-rata 14,26 mm (aktivitas antibakteri kuat). Ekstrak etanol daun Jarak Bali pada konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% juga dapat menghasilkan zona hambat yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.

5.2.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji statistik yang diperoleh berdasarkan hasil perhitungan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA pada *Mueller Hinton Agar*. Sebelum dilakukan uji statistik, perlu dilakukan uji normalitas data dan homogenitas varian untuk menentukan uji statistik yang tepat sehingga dapat digunakan untuk menganalisis data.

5.2.5.1 Hasil Pengujian Normalitas Data dan Homogenitas Varian Pada Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

Setelah mendapatkan data hasil penelitian, perlu dilakukan uji normalitas sebagai syarat untuk melakukan uji *One Way ANOVA* dan uji *Shapiro-Wilk* untuk menentukan apakah data terdistribusi normal.

Tabel 5.9 Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* Pada Ekstrak Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji <i>Shapiro-Wilk</i>
		Angka Signifikansi Diameter Zona Hambat
0%	0,00	0,000
12,5%	5,25	0,245
25%	7,29	0,490
50%	11,41	0,887
75%	12,90	0,159
100%	14,26	0,470

Keterangan Tabel: distribusi normal ($p > 0,05$)

Tabel 5.9 menunjukkan bahwa data rata-rata diameter zona hambat terdistribusi normal yang dapat dilihat dari nilai signifikansi zona hambat pada tiap konsentrasi ($>0,05$). Setelah dilakukan Uji *Shapiro-Wilk*, kemudian dilakukan uji homogenitas varians data untuk menentukan apakah sampel merupakan data yang homogen.

Tabel 5.10 Hasil Uji Homogenitas Levene pada Ekstrak Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*)

Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji Homogenitas	
		Angka Signifikansi	Diameter Zona Hambat
0%	0,00	0,097	
12,5%	5,25		
25%	7,29		
50%	11,41		
75%	12,90		
100%	14,26		

Keterangan Tabel: $p = 0.097$: homogen ($p > 0,05$)

Tabel 5.10 menunjukkan bahwa nilai signifikansi zona hambatan adalah 0,097 ($> 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri MRSA adalah data yang homogen.

5.2.5.2 Hasil Uji *One-Way ANOVA* Zona Hambatan Pertumbuhan Bakteri Pada Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali

Setelah diketahui bahwa data sampel pada penelitian terdistribusi normal dan homogen, maka data sampel dapat dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun Jarak Bali terhadap rata-rata diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri.

Tabel 5.11 Uji One-Way ANOVA antara Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri MRSA

Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji One-Way ANOVA
		Angka Signifikansi Diameter Zona Hambat
0%	0,00	0,000
12,5%	5,25	
25%	7,29	
50%	11,41	
75%	12,90	
100%	14,26	

Keterangan Tabel: $p = 0,000$: signifikan ($p < 0,05$)

Tabel 5.11 menunjukkan nilai signifikansi adalah 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara keenam kelompok perlakuan, yaitu antara konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% sebagai kontrol positif dan 0% (akuades) sebagai kontrol negatif terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA.

5.2.5.3 Hasil Uji *Post Hoc* Tukey

Setelah melakukan uji *One-Way ANOVA*, analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji *Post Hoc Tukey* untuk membandingkan dua data (kelompok perlakuan atau konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali dan zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA) dan dilihat dari kedua data sampel manakah yang memberikan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Tabel 5.12 Hasil Uji *Post Hoc* Tukey

Kelompok	0% (Kontrol)	12,5%	25%	50%	75%	100%
0% (Kontrol)		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
12,5%	0,000*		0,001*	0,000*	0,000*	0,000*
25%	0,000*	0,001*		0,000*	0,000*	0,000*
50%	0,000*	0,000*	0,000*		0,012*	0,000*
75%	0,000*	0,000*	0,000*	0,012*		0,024*
100%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,024*	

Keterangan Tabel: signifikan ($p < 0,05$). * = terdapat perbedaan signifikan

Tabel 5.12 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) memiliki perbedaan signifikan terhadap tiap konsentrasi yang berbeda.

5.2.5.4 Hasil Uji Korelasi *Pearson*

Pada penelitian ini dilakukan uji Korelasi *Pearson* untuk mengetahui hubungan pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali dengan tiap konsentrasi yang berbeda terhadap besarnya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA.

Dari hasil uji Korelasi *Pearson* disajikan pada tabel.

Tabel 5.13 Hasil Uji Korelasi *Pearson* Antara Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri MRSA

Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji <i>One-Way ANOVA</i>	
		Angka Signifikansi Diameter Zona Hambat	Hubungan Korelasi
0%	0,00	0,000	0,971
12,5%	5,25		
25%	7,29		
50%	11,41		
75%	12,90		
100%	14,26		

Keterangan Tabel: $R=0,971$: korelasi sangat kuat dan benilai positif

Berdasarkan hasil uji Korelasi *Pearson* diketahui bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali dengan berbagai konsentrasi terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan ($R=0,971$, $p=0,000$) dan kekuatan korelasi adalah sangat kuat ($0,971$), serta arah korelasi positif. Hal tersebut dapat dinyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol Jarak Bali memiliki potensi yang kuat untuk memperbesar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA.

5.2.5.5 Hasil Uji Regresi

Uji regresi dilakukan untuk mengetahui besarnya distribusi konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA. Uji regresi didapatkan dari nilai *R Square* sebesar 0,943 yang memiliki makna bahwa pengaruh ekstrak etanol daun Jarak Bali terhadap terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan bakteri MRSA adalah sebesar 94,3%. Sisa dari nilai persen tersebut sebesar 5,7% dapat disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk faktor ketelitian dan lama penyimpanan ekstrak.

Tabel 5.14 Hasil Uji Regresi

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.971 ^a	.943	.940	1.23429

a. Predictors: (Constant), KonsentrasiEkstrakEtanolDaunJarakBali

5.3 Uji Komparasi dari Uji *Post Hoc Tukey* Gabungan Menggunakan Tabel

Homogeneous Subsets

Pada penelitian ini menggunakan dua jenis bakteri yaitu bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA. Untuk itu dilakukan analisis data dengan menggunakan Uji *Post Hoc Tukey* Gabungan menggunakan tabel *Homogeneous Subsets* untuk mengetahui apakah adanya perbedaan yang signifikan antara diameter zona hambat bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA terhadap pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali yang sama.

Tabel 5.15 Hasil Uji Post Hoc Tukey Gabungan Menggunakan Tabel Homogeneous Subsets

Kelompok	Subset 1	Subset 2	Subset 3	Subset 4	Subset 5	Subset 6
MRSA Konsentrasi 0% Shigella Konsentrasi 0%	0,0000					
MRSA Konsentrasi 12,5% Shigella Konsentrasi 12,5%	0,0000	5,2575 6,2525				
MRSA Konsentrasi 25% Shigella Konsentrasi 25%			7,2900 7,8350			
MRSA Konsentrasi 50% Shigella Konsentrasi 50%				11,4075 10,5825		
MRSA Konsentrasi 75% Shigella Konsentrasi 75%					12,8950 12,3150	
MRSA Konsentrasi 100% Shigella Konsentrasi 100%						14,2575 13,2400

Berdasarkan tabel 5.15 dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara diameter zona hambat bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA terhadap pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali yang sama dikarenakan hasil diameter zona hambat pada setiap konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali yang sama terdapat pada kolom yang sama. Hal ini dapat dicontohkan diameter zona hambat pada M12.5 dan S12.5 berada pada kolom yang sama yaitu kolom 2. Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali memiliki efektivitas yang sama terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Alasan digunakannya metode difusi sumuran yaitu karena hasil ekstrak etanol daun Jarak Bali berwarna hitam gelap, pekat, dan kental sehingga tidak dapat dilakukan metode dilusi tabung maupun dilusi agar. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5% sebagai kontrol positif dan sebagai kontrol negatif yaitu dengan pemberian akuades (konsentrasi 0%). Penentuan konsentrasi ditetapkan setelah dilakukannya uji pendahuluan pada awal penelitian dengan pengenceran serial ekstrak menjadi beberapa konsentrasi ekstrak. Hasil penelitian ini didapatkan dengan cara mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri yang terdapat disekitaran sumuran menggunakan penggaris dengan satuan milimeter. Jika diameter zona hambat semakin besar, maka dapat dikatakan bahwa aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun Jarak Bali semakin tinggi.

Pada hasil penelitian dapat diketahui bahwa diameter zona hambat pertumbuhan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA akan semakin besar seiring dengan peningkatan pemberian konsentrasi ekstrak. Berdasarkan hasil data uji statistik yang telah dilakukan menyatakan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis penelitian dapat diterima. Hambatan pada pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA dapat terjadi karena pada ekstrak etanol daun Jarak Bali mengandung beberapa senyawa aktif, yaitu fitosterol, flavonoid, dan tanin (Kolawole *et al.*, 2017) dengan mekanisme yang berbeda-beda dalam berperan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja fitosterol yaitu dengan merusak membran lipid yang menyebabkan kebocoran liposom (Madduluri *et al.*, 2013). Senyawa flavonoid bekerja untuk menghambat fungsi membran sel bakteri *Shigella*

dysenteriae dan MRSA dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein seluler (Nurjaya dkk, 2009). Flavonoid juga dapat menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri sehingga metabolisme energi bakteri terganggu dan pertumbuhan bakteri dapat dihambat (Cushnie *and* Lamb, 2005). Dan senyawa tanin memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang menyebabkan metabolit-metabolit intraseluler keluar dari dalam sel (Bylka *et al.*, 2004).

Salah satu variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol yang dilakukan proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% pada daun Jarak Bali karena akan mengandung lebih banyak senyawa aktif daripada menggunakan pelarut lain (Félix-Silva *et al.*, 2014). Untuk mendapatkan ekstrak etanol dilakukan dua langkah yaitu maserasi dan evaporasi. Walaupun proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol, aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Jarak Bali bukan disebabkan oleh etanol, melainkan oleh senyawa aktif yang terkandung pada daun Jarak Bali karena dalam proses pembuatan ekstrak dilakukan proses evaporasi untuk menghilangkan pelarutnya dan dapat diasumsikan bahwa seluruh pelarut etanol sudah menguap (Harmita dan Radji, 2008).

Hasil dari penelitian ini dapat didukung oleh penelitian pada ekstrak Jarak Bali oleh Aiyelaagbe (2014). Pada penelitian didapatkan hasil bahwa ekstrak Jarak Bali memiliki aktivitas antibakteri pada *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, dan *Candida albicans* dengan diameter zona hambat mulai dari 9-25 mm (aktivitas antibakteri sedang sampai sangat kuat). Penelitian lain mengenai ekstrak Jarak Bali yang dilakukan oleh Rampadarath (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak Jarak Bali juga memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri gram positif, yaitu *Listeria innocua* dengan diameter zona hambat 10,80 mm (aktivitas antibakteri kuat), *Staphylococcus epidermis* dengan diameter zona hambat 15,4 mm (aktivitas antibakteri kuat), dan *Viridibacillus arenosi* dengan diameter zona hambat 11,20 mm (aktivitas antibakteri kuat). Serta pada bakteri gram negatif, yaitu *Klebsiella oxytoca* dengan diameter zona hambat 8 mm (aktivitas antibakteri sedang). Dari kedua penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri pada ekstrak Jarak Bali sebagai antibakteri sangat baik karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, serta sebagai anti jamur.

Pada penelitian lain telah dilakukan uji mengenai potensi antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* yaitu dengan menggunakan ekstrak Bunga Peony (*Paeonia Officinalis*). Pada penelitian tersebut menyatakan bahwa sensitifitas ekstrak pada bakteri *Shigella dysenteriae* adalah resisten karena tidak terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* (0 mm) (Abid and Mahdi, 2017). Kedua penelitian lain pada *Shigella dysenteriae* adalah uji ekstrak etanol daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) yang dapat menghambat *Shigella dysenteriae* dengan pemberian konsentrasi 70% didapatkan zona hambat 9 mm (Cahyono, 2013), serta uji ekstrak daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan pemberian konsentrasi 10% didapatkan rata-rata zona hambat 3 mm (aktivitas antibakteri lemah) dan konsentrasi 15% didapatkan rata-rata zona hambat 3,33 mm (aktivitas antibakteri lemah) (Karmila, 2016). Penelitian ini dapat menjadi pembandingan antara aktivitas antibakteri ekstrak daun Jarak Bali, Bunga Peony, daun Sirih Merah, dan daun Mengkudu sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Jarak Bali memiliki potensi antibakteri yang lebih kuat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Hal ini juga dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif yang berbeda pada keempat tanaman tersebut. Pada penelitian lain juga telah dilakukan uji mengenai potensi antibakteri terhadap bakteri MRSA yaitu dengan pemberian ekstrak etanol kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*), namun sensitivitasnya resisten karena tidak terbentuk zona hambat (0 mm) (Pesewu *et al.*, 2008). Penelitian ini dapat menjadi pembandingan antara aktivitas antibakteri ekstrak daun Jarak Bali, Bunga Rosella dan Daun Afrika sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Jarak Bali memiliki potensi antibakteri yang lebih kuat terhadap bakteri MRSA yang dapat dapat membentuk zona hambat setelah pemberian ekstrak. Hal ini juga dipengaruhi oleh kandungan flavonoid dan tanin yang lebih sedikit pada Bunga Rosella dan Daun Afrika dibandingkan pada daun Jarak Bali.

Walaupun diketahui bahwa ekstrak daun Jarak Bali memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA, pada hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak 75% dan 100% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p=0,558$; signifikan= $p<0,05$) pada bakteri *Shigella dysenteriae*, tidak terdapat perbedaan signifikan antara diameter zona hambat pada bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA, serta diameter zona hambat bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA pada penelitian lanjutan menurun dibandingkan dengan diameter zona

hambat pada penelitian pendahuluan. Pertama adalah pada konsentrasi ekstrak 75% dan 100% tidak menunjukkan perbedaan diameter zona hambat yang signifikan ($p=0,558$; signifikan= $p<0,05$) pada bakteri *Shigella dysenteriae* dan hasil diameter zona hambat terhadap setiap konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali pada bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat terjadi karena bakteri MRSA merupakan bakteri gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal pada dinding selnya dengan kandungan lipidnya lebih rendah (1-4%) dan bakteri *Shigella dysenteriae* yang merupakan bakteri gram negatif dimana lapisan peptidoglikan yang kompleks pada dinding selnya dengan kandungan lipid yang lebih tinggi (11-12%) (Fatisa, 2013).

Dan kedua adalah diameter zona hambat bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA pada penelitian lanjutan menurun dibandingkan dengan diameter zona hambat pada penelitian pendahuluan. Hal ini dapat terjadi karena berbagai faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun Jarak Bali yaitu penurunan kualitas ekstrak akibat lama simpan ekstrak daun Jarak Bali sehingga potensi senyawa aktif untuk menghambat pertumbuhan bakteri menurun, adanya kontaminan mikroorganisme lain, dan aktivitas antioksidan yang menurun sehingga kemampuan aktivitas antibakteri pada ekstrak untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA juga menurun (Kusuma dkk., 2017).

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran

Pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang merupakan bakteri gram negatif dan MRSA yang merupakan bakteri gram positif sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Jarak Bali memiliki potensi sebagai antibakteri *broad spectrum*.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan pada penelitian ini yaitu penelitian hanya melakukan satu metode yaitu metode difusi sumuran yang hanya dapat digunakan untuk melihat hubungan zona hambat pertumbuhan bakteri terhadap perubahan konsentrasi ekstrak serta tidak dapat menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) karena ekstrak berwarna hitam pekat dan kental sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan modifikasi penelitian untuk dapat menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) atau dilakukan penelitian secara in vivo untuk mengetahui dosis efektif, efek toksisitas, serta efek samping yang kemungkinan terjadi setelah pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali sebelum dilakukan uji coba pada manusia sehingga dapat diaplikasikan secara klinis pada masyarakat sebagai terapi alternatif pada penyakit infeksi *Shigella dysenteriae* dan MRSA.

Keterbatasan lainnya adalah pada penelitian ini tidak dilakukannya penelitian untuk mengetahui kadar kandungan masing-masing senyawa aktif pada ekstrak etanol daun Jarak Bali yang memiliki peran paling besar dalam aktivitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA. Selain itu pada penelitian ini tidak dibandingkan dengan antibakteri untuk *Shigella dysenteriae* yaitu *Ciprofloxacin* dan untuk MRSA yaitu *Vancomycin* dan pada penelitian ini tidak dilakukan penelitian mengenai faktor-faktor yang dapat mempengaruhi penurunan aktivitas antibakteri pada ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri seperti lama penyimpanan ekstrak etanol daun Jarak Bali sehingga perlu penelitian lebih lanjut.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran.
2. Ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran.
3. Terdapat hubungan yang berbanding lurus antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap besar hambatan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan mengamati diameter zona hambat. Sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* semakin besar.
4. Terdapat hubungan yang berbanding lurus antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) terhadap besar hambatan pertumbuhan bakteri MRSA dengan mengamati diameter zona hambat. Sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA semakin besar.
5. Ekstrak etanol daun Jarak Bali (*Jatropha podagrica*) memiliki efektivitas yang sama terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk menentukan dosis efektif serta adanya efek toksisitas dan efek samping yang

2. kemungkinan terjadi setelah pemberian ekstrak etanol daun Jarak Bali sebelum dilakukan uji coba pada manusia sehingga dapat diaplikasikan secara klinis pada masyarakat sebagai terapi alternatif pada penyakit infeksi *Shigella dysenteriae* dan MRSA.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar masing-masing kandungan senyawa aktif pada ekstrak etanol daun Jarak Bali sehingga dapat ditentukan senyawa aktif manakah yang memiliki peran paling besar dalam aktivitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan MRSA.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Jarak Bali dengan antibiotik untuk infeksi *Shigella dysenteriae* yaitu *Ciprofloxacin* dan untuk infeksi MRSA yaitu *Vancomycin*.
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui faktor yang dapat mempengaruhi penurunan aktivitas antibakteri pada ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri seperti lama penyimpanan ekstrak etanol daun Jarak Bali.



DAFTAR PUSTAKA

Abid, M. and A.A. Mahdi. 2017. *Research Strategies for Identification and Mechanism of Action of Virus Inhibitory Proteins Occurring in Some Higher Plants*. In: *New Dimensions in Microbiology*. **Lenin Media Pvt. Ltd.** Pages 371-393.

Acharya, 2015. Gram Staining: Principle, Procedure, and Results (online), (<http://www.microbeonline.com/gram-staining-principle-procedure-results.html>, diakses 12 Juli 2018).

Aiyelaagbe, Dr. O. O., E. K. Adesogan O., Ekundayo, B. A., Adeniyi. 2014. *The antimicrobial activity of roots of Jatropha podagrica (Hook)*. **John Wiley & Sons, Ltd.** Pages 38.

Amsterdam, D., C, Kalinka., and W. R, Bartholomew. 1984. *Comparative immunoassays for quantitation of tobramycin serum levels*. **Journal of Microbiology and Antimicrobial Agents, Volume 1, Issue 12**. Pages 56–57.

Apu, A. S., Bhuyan, S. H., Matin, M., Hossain, F., Khatun, F., Taiab, A., Jamaluddin. 2013. *Analgesic, neuropharmacological, anti-diarrheal, and cytotoxic activities of the extract of Solanum sisymbriifolium (Lam.) leaves*. **Avicenna journal of phytomedicine, Volume 3, Issue 4**, Pages 302-312.

Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E. H., Rollinger, J. M., Schuster, D., Breuss, J. M., Bochkov, V., Mihovilovic, M. D., Kopp, B., Bauer, R., Dirsch, U. V. M., Stuppner, H. 2015. *Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review*. **Biotechnology advances, Volume 33, Issue 8**, Pages 1582-1614.

Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Penetapan Kadar Borat dalam Makanan (07/MM/00). Metode Analisis PPOM 2000*. Penerbit: Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional. Jakarta.

Bayram, A and Balci, I. 2006. *Patterns of Antimicrobial Resistance in a Surgical Intensive Care Unit of a University Hospital in Turkey*. **Bimed Central Infectious Disease 2006. Volume 6, Issue 155**, Pages 1-6.

Benson. 2001. *Microbial Application Lab Manual*. 8th ed. California: The McGraw-Hill Companies.

Borong, Meyta. F. 2012. *Kerasionalan Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Rawat Inap Anak Rumah Sakit M.M Dunda Limboto Tahun 2011*. Laporan Hasil Karya Tulis Ilmiah Program Studi D-III Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan dan Keolahragaan Universitas Negeri Gorontalo.

Brooks, GF., Butel, JS., Morse, SA. 2009. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 1 diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga*. Jakarta: Salemba Medika.

Boswihi, Samar S and Edet E. Udo. 2018. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: An update on the epidemiology, treatment options and infection control*. **Elsevier. Volume 134, Issue 7**, Pages 7-8.

Bylka, W.E., I. Matlawska, N.A., Pilewski. 2004. *Natural flavonoids as antimicrobial agents*. **JANA. Volume 7 Issue 2**, Pages 21-28.

Cahyono dan Indrayudha. 2013. *Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz and Pav) dan Kloramfenikol Terhadap Bakteri Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, dan Staphylococcus aureus Beserta Bioautografinya*. Surakarta.

College of Physicians & Surgeons of Saskatchewan Laboratory Quality Assurance Program. *Procedures/Guidelines for the Microbiology Laboratory*. Saskatchewan, Canada: College of Physicians & Surgeons of Saskatchewan Laboratory Quality Assurance Program; 2010.

Cushnie, A.J and Lamb. 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids*. **International Journal Antimicrobial Agents**. **Volume 26, Issue 5**, Pages 343-356.

Dalimartha, S. 2007. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Davey, Patrick, 2005. *Medicine At A Glance*. Jakarta: Erlangga.

Devappa, R.K., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2010. *Jatropha toxicity — a review*. **Journal of Toxicology and Environmental Health**. Pages 476–507.

Djide., Natsir., Sartini. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Laboratorium Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Universitas Hasanuddin.

Dzen, J. M., 2003. *Bakteriologik Medik*. Malang: Bayumedia.

Dzen, S. M., Santoso, S., Santosaningsih, D. 2007. *Evaluation of latex agglutination test and oxacillin resistant screening agar base (ORSAB) medium for the detection oxacillin resistant coagulase negative staphylococci (ORCoNS) (Preliminary study)*. **Med J Indonesia**. Pages 228–232.

Dzen, S. M., Santoso, S., Santosaningsih, D. 2005. *Perbedaan Pola Resistensi Staphylococcus koagulase negative Isolat Darah Terhadap Antibiotika di RSU Dr Saiful Anwar Malang Tahun 2000-2001 Dengan 2004-2005*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. XXI, No. 3 Hal: 130-132.

Fatisa, Y. 2013. *Daya Antibakteri Estrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (Nephelium mutabile) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Secara in Vitro* (<http://ejournal.uin-suska.ac.id/index.php/peternakan/article/view/156>, diakses tanggal 13 Agustus 2018).

Félix-Silva, J., Giordani, RB., Silva Jr, AA., Zucolotto, SM, Fernandes-Pedrosa MF. 2014. *Jatropha gossypifolia L. (Euphorbiaceae): a review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of this medicinal plant. Evidence Based Complement Alternative*. Pages 1–32.

Fernandes, Clarence., J, Lorna, A., Fernandes, Peter Collignon. 2005. *Cefoxitin resistance as a surrogate marker for the detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Australian Group on Antimicrobial Resistance: Volume 55, Issue 4*, Pages 506–510.

Ganiswarna, S. 1995. *Farmakologi dan Terapi, edisi IV*. Jakarta: Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Gennaro, A.R. 2000. *Remington : The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition*. Pennsylvania: Mack Publishing Company.

Hanberger, H., Garcia-Rodriguez, JA, Gobernado, M., Goossens, H., Nilsson, LE., Struelens, MJ. 1999. *Antibiotic susceptibility among gram negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. JAMA*. Pages 67-71.

Harmita dan Radji, M. 2008. *Kepekaan Terhadap Antibiotik. Dalam: Buku Ajar Analisis Hayati, Ed.3*. Jakarta: EGC.

Hermawan, A. 2007. *Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Dengan Metode Difusi Disk*. Artikel Ilmiah Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid I dan II*. Terj. Badan Libang Kehutanan. Cetakan I. Koperasi Karyawan Departemen Kehutanan Jakarta Pusat.

Istiqomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

Jawetz, Melnick, Adelberg. 2005. *Medical microbiology. 23th Edition*. USA: Mc Graw Hill Company.

Jawetz, Melnick, Adelberg. 2013. *Medical microbiology. 26th Edition*. USA: Mc Graw Hill Company.

Jilani, G., A. Akram, R.M., Ali, F.Y., Hafeez, I.H., Shamsi, A.N., Chaudhry, A.G. 2007. *Enhancing crop growth, nutrients availability, economics and beneficial rhizosphere microflora through organic and biofertilizers*. **Annals of Microbiology. Volume 57, Issue 2**, Pages 177-183.

Karmila. 2016. *Daya Hambat Ekstrak Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.

Klevens, R. M. 2007. *Estimating Health Care-Associated Infections And Deaths In U.S. Hospitals*. Public Health Report.

Kluytmans, J., van Belkum, A., Verbrugh, H. 1997. *Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks*. **Clinical microbiology reviews, Volume 10, Issue 3**, Pages 505-520.

Köck, R., Mellmann, A., Schaumburg, F., Friedrich, A. W., Kipp, F., Becker, K. 2011. *The epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Germany*. **Deutsches Arzteblatt international, Volume 108, Issue 45**, Pages 761-762.

Kolawole, Opeyemi Shaeed., Jimoh, Mahboob Adekilekun., Yakubu, Jimoh., Chukwuma, Emmanuel Chukwudi. 2017. *Taxonomic value of the leaf micro-morphology and quantitative phytochemistry of *Jatropha integerrima* Jacq. and *Jatropha podagrica* Hook. (Euphorbiaceae)-known horticultural plants in Nigeria.* **Anales de Biologia** **39**, Pages 55-62.

Kunkel, E.J., E.C, Butcher. 2002. *Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes.* **Immunity**. Pages 1-4

Kurdi, A. 2010. *Tanaman Herbal Indonesia Cara Mengolah dan Manfaatnya Bagi Kesehatan.* Jakarta: Rineka Cipta.

Madduluri, S., Rao, K.B., Sitaram, B. 2013. *In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts against Five Bacteria Pathogens of Humans.* **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. Pages 679-684.

Markham, K.R.1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.* Bandung: Penerbit ITB.

Mims, C., Playfair, J., Roitt, I. 2004. *Medical microbiology. 3rded.* London: Mosby International.

Mishra, A. K., Yadav, P., Mishra, A. 2016. *A Systemic Review on Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS): A Rare and Critical Disease of Neonates.* **The open microbiology journal**. Pages 150-159.

Morales: Glauco., Sierra, Patricia., Mancilla, Arlett., Paredes, Adrian., Loyola, Luis A., Gallardo, Oscar., Borquez, Jorge. 2003. *Secondary Metabolites From Four Medicinal Plants from Northern Chile: Antimicrobial Activity and Biototoxicity Against *Artemia Salina*.* **Journal of Chilean Chemical Society**. Pages 44.

Murray, Robert K. 2003. *Biokimia Harper ed. 25.* Jakarta: EGC.

Mycek, M. J., Harvey, R.A., Champe, P.C. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar 2nd ed.* Jakarta: Widya Medika.

Nafianti, S., Sinuhaji, A.B. 2005. *Resistensi Trimetoprim-Sulfametoksazol terhadap Shigellosis.* Sari Pediatri, Vol 7, No.1. Halaman: 39-44.

Naiola. 1986. *Tanaman Budidaya Indonesia.* Jakarta: C.V.

Nielsen, A., Nielsen, K. F., Frees, D., Larsen, T. O., Ingmer, H. 2009. *Method for screening compounds that influence virulence gene expression in Staphylococcus aureus.* **Antimicrobial agents and chemotherapy. Volume 54, Issue 1**, Pages 509-512.

Nisbet, R., Elder, J., Miner, G. 2009. *Handbook of statistical analysis & data mining application.* USA: Elsevier.

Nuria, M.C., A, Faizatun., Sumantri. 2009. *Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas L) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, dan Salmonella typhi ATCC 1408.* **Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian.** Halaman 26 – 37.

Nursidika, P., Saptarini, O., Rafiqua, N. 2014. *Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pinang (Areca catechu L) pada Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus.* MKB, Vol. 46, No. 2. Halaman 95.

Parija, Subhash Chandra. 2012. *Textbook of Microbiology & Immunology 2nd Edition.* India: Elsevier India

Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I.* Jakarta: UI Press.

Pesewu, G.A., Cutler, R.R., Humber, D.P. 2008. *Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. Journal of Ethnopharmacology*. Pages 102–111.

Popovich, Kyle J., Weinstein, Robert A., Hota, Bala. 2008. *Are Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Strains Replacing Traditional Nosocomial MRSA Strains?.* **Clinical Infectious Disease**. Pages 787-789.

Prayoga, E. 2013. *Perbandingan efek ekstrak daun sirih hijau (Piper betle L.) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus*. Laporan Penelitian. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.

Rampadarath. 2014. *Antimicrobial, Phytochemical, and Insecticidal Properties of Jatropha Spesies and Wild Ricinus communis L. Found in Mauritius*. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research.

Reipert, A., Ehlert, K., Kast, T., Bierbaum, G. 2003. *Morphological and genetic differences in two isogenic Staphylococcus aureus strains with decreased susceptibility.* **Antimicrobial Agents Chemother. Volume 47, Issue 2**, Pages 568-576.

Santana, C.M., Z.S, Ferrera., M.E.T, Padron., J.J.S, Rodriquez. 2009. *Methodologies for The Extraction of Phenolic Compounds from Enviromental Samples: New Approaches.* **Molecules. Vol. 14**, Pages 298-320

Setiawan, Dalimartha. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor: Trobus.

Siswadi. 2006. *Budidaya Tanaman Palawija*. Yogyakarta: PT Citra Aji Parama.

Siswandono dan Bambang Soekardjo. 2008. *Kimia Medisinal Edisi 2*. Surabaya: Erlangga.

Solimun. 2011. *Analisis Variabel moderasi dan Mediasi*. Program Studi Statistika FMIPA Universitas Brawijaya. Malang.

Stevens, J.P. 2009. *Applied Multivariate Statistics for the Social Sciences*. 5th Edition. New York: Routledge.

Sudarmadji, S. 2003. *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta.

Supardi dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan Dan Keamanan Produk Pangan*. Bandung: Penerbit Alumnus.

Susetio. 2003. *Kimia Farma Budidayakan Tanaman Jarak* (<http://www.pikiranrakyat.com/cetak/0103/29/08.htm> diakses pada 10 Agustus 2018).

Suwandi, U. 1992. *Mekanisme Kerja Antibiotik*. Cermin Dunia Kedokteran No. 76. Jakarta. Pusat Penelitian dan Pengembangan P.T. Kalbe Farma.

Tjay., Tan, Hoan., Raharja, Kirana. 2007. *Obat-obat Penting*. Jakarta: Elex Media Komputindo.

Thomas, A.N.S. 2012. *Tanaman Obat Tradisional 1*. Yogyakarta: Kanisius.

Torokano, Samuel., Khumaidi, Akhmad., Nugrahani, Arsa Wahyu. 2018. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Merah (Jatropha gossypifolia) Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Natural Science: Journal of Science and Technology. Vol. 7 No. 1. Halaman: 117-124.

Toy Torar S.S., Lampus, Benedictus, S., Hutagalung, Bernat S.P. 2015. *Uji Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut Gracilaria Sp Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Jurnal E-GiGi (eG). Vol 3 No 1. Halaman 154-158.

Volk dan Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid Dua*. Jakarta: Erlangga.

Walpole, Ronald E. 1992. *Pengantar Statistika*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

World Health Organization (WHO), 2014. Global Report for Research on Infectious Diseases of Poverty (http://who.int/entity/tdr/capacity/global_report/en/29k diakses tanggal **11 September 2015**)

Yayasan Lembaga Konsumen. 1991. *Perlindungan Konsumen Indonesia, Suatu Sumbangan Pemikiran tentang Rancangan Undang-undang Perlindungan Konsumen*. Penerbit: Yayasan Lembaga Konsumen. Jakarta.

Zein, Umar. 2004. *Diare Akut Disebabkan Bakteri*. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara

Zwenger, SR., Welsch, T., Gillock, ET. 2008. *Bacteria resistant to ciprofloxacin, chloramphenicol, and tetracycline isolated from western Kansas feedlots*. **Transactions of the Kansas Academy of Science. Volume 111, Issue 1**, Pages 125–135.

