

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI *MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION*
RIMPANG RUMPUT TEKI (*CYPERUS ROTUNDUS*) TERHADAP
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DENGAN METODE PROPORSI
RESISTENSI SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR
Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :
Giovanno Oroh Vicky Hermawan
NIM : 155070100111018

**PROGRAM STUDI S1 KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Singkatan	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat	5
1.4.1. Manfaat Akademis	5
1.4.2. Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Cyperus rotundus</i>	6
2.1.1. Persebaran.....	6
2.1.2. Taksonomi.....	7
2.1.3. Kandungan Rumput Teki (<i>Cyperus rotundus</i>).....	8
2.1.4 Manfaat <i>Cyperus rotundus</i>	9
2.1.5 Antimikroba	10
2.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	11
2.2.1 Taksonomi.....	12

2.2.2 Morfologi <i>Mycobacterium Tuberculosis</i>	13
2.2.3 Patofisiologi.....	15
2.3 Tuberkulosis Paru	15
2.3.1 Diagnosis	16
2.3.2 Gejala.....	16
2.3.3 Terapi.....	18
2.3.4 Mekanisme resistensi antituberkulosis	18
2.4 Metode Ekstraksi.....	19
2.5 Metode Proporsi	22
2.6 Proporsi Resistensi	23

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS..... 24

3.1. Kerangka Konsep.....	24
3.2. Hipotesis	26

BAB 4 METODE PENELITIAN..... 27

4.1. Rancangan Penelitian	27
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian.....	27
4.2.1 Waktu	27
4.2.2 Tempat Penelitian	27
4.3.2. Sampel dan Besar Sampel.....	28
4.4. Variabel Penelitian	28
4.4.1 Variabel Terikat	28
4.4.2 Variabel Bebas	28
4.5. Definisi Operasional	29
4.6. Instrumen Penelitian.....	30
4.6.1. Alat.....	30
4.6.2. Bahan.....	30
4.7. Prosedur Penelitian	31
4.7.1. Pembuatan Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki	31
4.7.1.1. Tahap Pengeringan	31
4.7.1.2. Tahap Ekstraksi.....	31

4.7.1.3. Tahap Evaporasi	31
4.7.2. Identifikasi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	32
4.7.2.1 Pewarnaan <i>Ziehl-Neelsen</i>	32
4.7.2.2 Tes Kepekaan PNB	32
4.7.2.3 Tes Niacin.....	33
4.7.2.4 Uji Imunokromatografi.....	33
4.7.3. Pembuatan Suspense Bakteri Uji	34
4.7.5. Uji Antimikroba	35
4.8. Alur Kerja Penelitian	36
4.9. Analisis Data	37
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	38
5.1. Hasil Penelitian	38
5.1.1 Hasil Ekstraksi <i>Cyperus rotundus</i>	38
5.1.2 Hasil Identifikasi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	39
5.1.3 Hasil Pengamatan Koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	40
5.1.4 Hasil Uji Proporsi Resistensi Koloni.....	43
5.2 Analisis Data	45
5.2.1 Uji normalitas dan homogenitas	45
5.2.2 Uji <i>One-way Anova</i>	45
5.2.3 Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	45
BAB 6 PEMBAHASAN	46
BAB 7 PENUTUP	50
7.1 Kesimpulan	50
7.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN.....	56

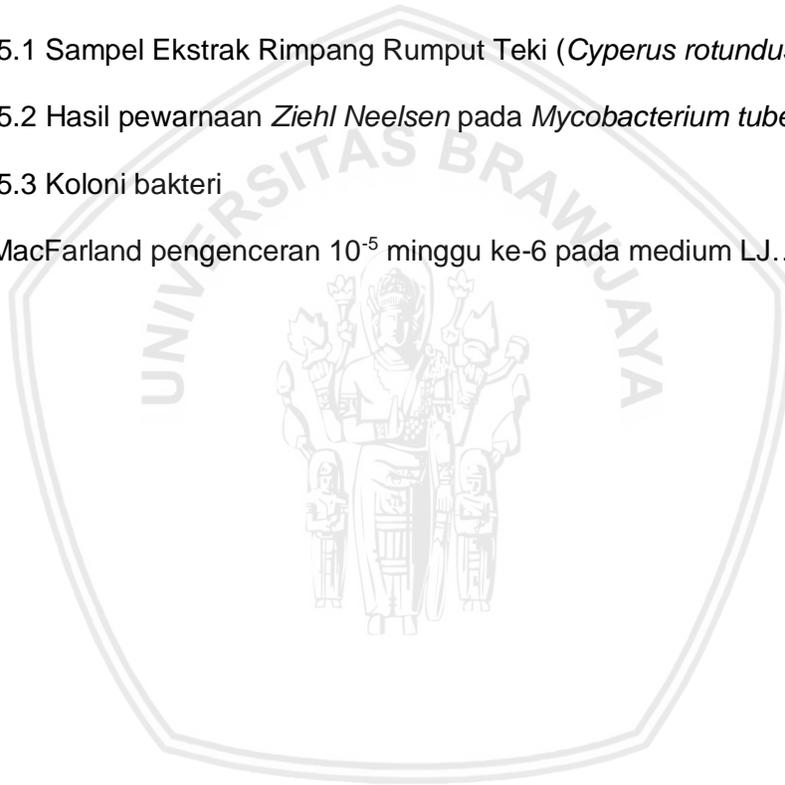
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Hasil dari perhitungan jumlah koloni <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada minggu ke-6.....	42
Tabel 5.2 Hasil dari perhitungan proporsi resistensi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada minggu ke-6.....	44



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Cyperus rotundus</i>	7
Gambar 2.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada pewarnaan <i>Ziehl-Neelsen</i>	13
Gambar 2.3 Kultur bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada media <i>Lowenstein-Jensen</i>	14
Gambar 2.4 <i>Closed Vessel Microwave Assisted Extraction</i>	21
Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian.....	36
Gambar 5.1 Sampel Ekstrak Rimpang Rumput Teki (<i>Cyperus rotundus</i>).....	38
Gambar 5.2 Hasil pewarnaan <i>Ziehl Neelsen</i> pada <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ...	40
Gambar 5.3 Koloni bakteri MacFarland pengenceran 10^{-5} minggu ke-6 pada medium LJ.....	41



DAFTAR SINGKATAN

- BTA : Basil Taham Asam
KN : Kontrol Negatif
KP : Kontrol Positif
LJ : *Lowenstein-Jensen*
MAE : *Microwave Assisted Extraction*
MDR : *Multiple Drug Resistant*
MTB : *Mycobacterium tuberculosis*
OI : *Original Inoculum*
PDPI : Perhimpunan Dokter Paru Indonesia
PDR : *Poly Drug Resistant*
PNB : *P-Nitrobenzoic Acid*
TB : *Tuberculosis*



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION RIMPANG RUMPUT TEKI (CYPERUS ROTUNDUS) TERHADAP MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DENGAN METODE PROPORSI RESISTENSI SECARA IN VITRO

Oleh:

Giovanno Greh Vicky Hermawan

NIM: 185070100111018

Telah diuji pada Hari: Senin Tanggal: 7 Januari 2019 dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

[Signature]

dr. Danik Agustin Furwaningrum, M.Kes
NIK. 197208221990022002

Pembimbing-I/Penguji-II

[Signature]

Dr. dr. DWI YUNI NUR HIDAYATI, M.Kes
NIP. 195011101980021001

Pembimbing-II/Penguji-III

[Signature]

dr. Suryanti Dwi Pratiwi, SpP(K)
NIP. 195602011985032001



Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran

dr. Iqbal Wahyu Astuti, M.Kes, Sp.P (K)
NIP. 198310221996012001

repository.ub.ac.id

UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION RIMPANG RUMPUT TEKI (*CYPERUS ROTUNDUS*) TERHADAP *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* DENGAN METODE PROPORSI RESISTENSI SECARA IN VITRO

Giovanno Hermawan¹, Dwi Yuni Nur Hidayati², dan Suryanti Dwi Pratiwi³

1 Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

2 Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

3 Departemen Pulmonologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Abstrak

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Secara global, pada tahun 2017, terdapat 10 juta kasus insiden TB dan 558.000 kasus resisten terhadap rifampicin, dan 82% dari kasus memerlukan pengobatan MDR-TB. Maka, dibutuhkan terapi adjuvan yang lebih terjangkau seperti ekstrak rimpang rumput teki. Penelitian membuktikan bahwa senyawa flavonoid dan alkaloid pada tanaman ini bersifat sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara in vitro. Penelitian ini menggunakan metode *true eksperimental* dengan design *post-test control design only*. Penghitungan penelitian menggunakan metode proporsi resistensi. Dari hasil penelitian didapatkan, *Mycobacterium tuberculosis* yang diujikan resisten terhadap ketiga konsentrasi dengan proporsi resistensi terkecil yaitu 11.7% pada konsentrasi 75 µg/ml. Hasil dari uji normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai sig $p=0.629$ ($p>0,05$). Uji homogenitas *Levene* menunjukkan nilai sig $p=0,838$ ($p>0,05$). Hasil uji komparatif *One-way Anova* didapatkan nilai sig $p=0,00$ ($p<0,05$), yang berarti signifikan. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang rumput teki memiliki aktivitas anti bakteri yang kurang poten terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

Kata Kunci: *Mycobacterium tuberculosis*, antibakteri, ekstrak rimpang Rumput Teki

ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease caused by the bacterium *Mycobacterium tuberculosis*. Globally, in 2017, there were 10 million cases of TB incidence and 558,000 cases were resistant to rifampicin, and 82% of cases needed MDR-TB treatment. More affordable adjuvant therapy such as the extract of the nut grass' rhizomes are required. Research shows that majority of the components were flavonoids and alkaloids in this plant, which function as an antimicrobial. The aim of this study was to determine the effect of giving nut grass' rhizomes extract (*Cyperus rotundus*) to the growth of *Mycobacterium tuberculosis* in vitro. This study uses the true experimental method with *post-test control design* only. The calculation of the study uses the method of resistance proportion. From the results of the study, it was found that *Mycobacterium tuberculosis* was resistant to the three concentrations given, with the smallest resistance proportion of 11.7% at a concentration of 75 μg / ml. The results of the *Shapiro-Wilk* normality test obtained sig p = 0.629 ($p > 0.05$). The *Levene homogeneity* test showed sig value p = 0.838 ($p > 0.05$). *One-way Anova* comparative test results obtained sig p = 0.00 ($p < 0.05$), which means significant. Based on these studies, it can be concluded that the nut grass' rhizome extract has less potent anti-bacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*.



Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, antibacterial, extract of Nut Grass' rhi

BAB 1

PENDAHULUAN

Secara global, pada tahun 2016 terdapat 10.4 juta kasus insiden TB yang setara dengan 120 kasus per 100.000 penduduk. Lima negara dengan kasus tertinggi yaitu India, Indonesia, China, Philipina, dan Pakistan. Badan kesehatan dunia mendefinisikan negara dengan beban tinggi/high burden countries (HBC) untuk TBC berdasarkan 3 indikator yaitu TBC, TBC/HIV, dan MDR-TBC. Terdapat 48 negara yang masuk dalam daftar tersebut. Indonesia masuk dalam daftar HBC untuk ke 3 indikator tersebut. Artinya Indonesia memiliki permasalahan besar dalam menghadapi penyakit TBC. Di Indonesia sendiri jumlah kasus baru TB sebanyak 420.994 penduduk pada tahun 2017 (Kemenkes RI, 2018).

Tuberkulosis paru merupakan suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Penularan penyakit ini melalui *droplet* yang terhirup sehingga mencapai permukaan alveoli. Saat pasien batuk, bersin, dan berbicara *droplet* yang mengandung bakteri dapat terhirup sehingga menyebabkan infeksi pada parenkim paru dengan gejala umum seperti batuk lebih dari 2 minggu, berat badan menurun tanpa sebab dan gejala khusus seperti keringat pada malam hari, cairan di rongga pleura, dan sumbatan sebagian pada bronkus (Wahyuningsih, 2014)

Selama ini PDPI (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia) merekomendasikan pemberian obat *Fixed Dose Combination* (FDC) dengan *Directly Observed Treatment* (DOT). Untuk pengobatan TB sendiri dibagi dengan 2 fase: intensif (2 bulan) dan fase lanjutan (4 bulan). Dengan 2 lini pengobatan sebagai berikut: lini

pertama dengan Rifampisin, Isoniazid, Pirazinamid, Streptomisin, Etambutol dan lini kedua dapat diberikan dengan Kanamisin, Kuinolon, Makrolid, Amoksisilin+Derivat Asam Klavulanat, derivat Rifampisin dan Isoniazid. Ditambahkan dengan pengobatan simtomatis untuk mengurangi efek samping pengobatan TB (PDPI,2016).

WHO menyatakan pada tahun 2017 bahwa terdapat 558.000 penduduk yang resisten terhadap rifampicin, dan 82% dari kasus tersebut menjalani pengobatan untuk kasus (WHO, 2018) Sehingga dibutuhkan penelitian yang dapat memberi terapi adjuvan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan sebelumnya dan juga untuk mengurangi kasus resistensi terhadap tuberkulosis yang meningkat.

Cyperus rotundus atau juga disebut *nut grass*, *nut sedge*, *purple nut sedge* merupakan rumput liar yang tumbuh dan tersebar luas di Indonesia. Tumbuhan ini tumbuh pada dataran rendah sampai ketinggian 1000m di atas permukaan laut. Tersebar luas, dan cenderung mudah untuk ditemukan di berbagai negara. Dapat tumbuh di berbagai keadaan tanah dan dapat beradaptasi pada suhu lingkungan agrikultur yang cenderung tinggi (USDA,2017)

Rumput teki sudah digunakan sebagai pengobatan tradisional di berbagai negara seperti india, Pakistan, Bangladesh, Nepal, China, Jepang, Arab, dan Afrika. Dari penelitian yang dilakukan, terdapat senyawa kimia rumput teki yang dapat berfungsi sebagai antimikroba dengan komponen utama yaitu flavonoid, alkaloid dan senyawa yg lainnya seperti polyphenol, dan tannin (Kumar, 2013 ; Kilani-Jaziri, 2011 ; Brennan, 2013).

Kandungan flavonoid seperti butein dan isoliquirigenin mempunyai efek dalam menghambat sintesis dari *mycolyl arabinogalactan-peptidoglycan* (mAGP) kompleks sementara kandungan alkaloid seperti diarylquinolines yang menarget F1F0 proton ATP synthase dan Oxazolidinones yang menghambat sintesa protein dari bakteri (Brennan, 2013; Kishore, 2009)

Proses ekstraksi tumbuhan memakai *Microwave Assisted Extraction (MAE)*, merupakan teknik untuk mengekstraksi bahan-bahan terlarut di dalam bahan tanaman dengan bantuan energi dari gelombang mikro. MAE sangat cocok untuk pengambilan senyawa yang bersifat termolabil karena memiliki kontrol terhadap temperatur yang lebih baik dibandingkan proses pemanasan dengan metode konvensional. Selain kontrol suhu yang lebih baik, MAE juga memiliki kelebihan lain, yaitu waktu ekstraksi yang lebih singkat, konsumsi energi dan solven yang lebih sedikit, akurasi dan presisi yang lebih tinggi dibanding dengan metode konvensional (Tatke, 2011)

Penelitian ini menggunakan ethanol 96% sebagai pelarut ekstrak karena sering direkomendasikan dan lebih umum dipakai oleh peneliti karena lebih aman dibandingkan methanol. Sifat ethanol yang dapat melarutkan senyawa polar dan non polar lebih diuntungkan dibandingkan pelarut seperti *acetone* dan *ethyl acetate* untuk ekstraksi senyawa antibakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini (Do, 2014)

Metode proporsi yang akan digunakan pada penelitian ini merupakan *gold standard* dalam uji kepekaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terhadap suatu pengobatan. Dimana media LJ sebagai media kultur bakteri dicampur dengan berbagai konsentrasi obat dan diobservasi jika terdapat pertumbuhan bakteri pada

minggu ke enam (Purnamasari, 2015) yang akan dilanjutkan dengan penghitungan proporsi resistensi untuk menentukan bahwa pengobatan dapat dipakai secara klinis atau tidak (Sandjaja, 2012)

Berdasarkan uraian diatas, maka diperlukan penelitian tentang pemberian ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*. Karena masih belum ada penelitian sebelumnya yang meneliti efektivitas antibakteri ekstrak ini dan semakin banyaknya kasus resisten tuberkulosis di dunia, maka saya akan menguji ekstrak dari rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction (MAE)* terhadap bakteri TB dengan harapan adanya terapi adjuvan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan TB dan juga untuk mengurangi kasus resistensi pada TB.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus*) mempunyai efek antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek antibakteri dari pemberian ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui apakah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai efek antibakteri terhadap ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) dengan metode proporsi resistensi..

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan tentang bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang pertumbuhannya dihambat dengan pemberian ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*).
- b. Memberikan informasi tentang penggunaan ekstrak rimpang rumput teki sebagai inovasi dalam penelitian selanjutnya terhadap tuberkulosis.

1.4.2 Manfaat Praktis

- a. Memberikan terapi adjuvan untuk penanganan pasien dengan kasus *Mycobacterium tuberculosis*.
- b. Meningkatkan pengetahuan manfaat tanaman rumput teki sebagai antibakteri untuk pengobatan pasien dengan kasus infeksi.

BAB 2

TINJAUAN TEORI

2.1 *Cyperus rotundus*

Rumput teki (*Cyperus rotundus*) atau juga disebut *nut grass*, *nut sedge*, *purple nut sedge* merupakan rumput palsu yang tumbuh dan tersebar luas lebih dari 90 negara dan merupakan salah satu hama yang sangat invasive. Berbatang segitiga dan mempunyai tinggi sekitar 30cm. Beberapa negara menamai tanaman ini: *Tiririca-vermelha* (Portuguese-Brazil), *Oniani lau* (Maori, Cook Island), *vuthesa* (Fijian), *Chufa* (Spanish), *Xiang fu zi* (Chinese), *Souchet rond* (French), (GISD,2017).

2.1.1 Persebaran

Rumput teki (*Cyperus rotundus*) banyak tumbuh di dataran rendah sampai di ketinggian 1000m di atas permukaan laut. Tersebar luas, dan cenderung mudah untuk ditemukan di berbagai negara. Dapat tumbuh di berbagai keadaan tanah dan dapat beradaptasi pada suhu lingkungan agrikultur yang cenderung tinggi. Di amerika, rumput teki banyak di temukan di ladang, daerah limbah, tepi jalan, padang rumput, dan di hutan. Tanaman ini susah untuk dibasmi sehingga menyusahkan bagi petani. Karena pertumbuhannya yang cepat di perkebunan dan dapat menyebabkan gagal panen (USDA,2017)

2.1.2 Taksonomi

Kingdom: *Plantae*

Phylum: *Magnoliophyta*

Class: *Liliopsida*

Order: *Cyperales*

Family: *Cyperaceae*

Species: *Cyperus rotundus*



Gambar 2.1 *Cyperus rotundus* (CABI, 2018)

2.1.3 Kandungan Rumput Teki (*Cyperus rotundus*)

Pada penelitian yang dilakukan, melalui metode ekstraksi menggunakan ethanol. Didapatkan polyphenols, flavonoid, sesquiterpenes, tannin, dan flavonoid (Kumar, 2013 ; Kilani-Jaziri, 2011 ; Brennan, 2013).

a. Polyphenols

Merupakan phytochemical yang berfungsi sebagai antioksidan, anti-inflammation, antimikrobia. Dapat ditemukan pada tumbuhan dan makanan seperti: buah, sayur, teh, sereal, tumbuhan medis, alga, dan tumbuhan liar. Polyphenols dapat dibagi lagi menjadi beberapa grup sesuai dengan jumlah ring fenol dan dasar elemen struktur yang menyatukan ring ini seperti asam fenol, flavonoid, stilbenes, dan ligans (Kumar, 2014).

b. Flavonoid

Merupakan bagian dari grup polifenol. Flavonoid merupakan fenol terhidroksilasi yang dihasilkan sebagai respon terhadap infeksi mikrobial. Flavonoid dapat ditemukan di tumbuhan. Flavonoid dibagi lagi menjadi beberapa kelas seperti: flavones (flavone, apigenin, and luteolin), flavonols (quercetin, kaempferol, myricetin, and fisetin), flavanones (flavanone, hesperetin, and naringenin). Dan berfungsi sebagai Antioksidan, Hepatoprotective, Antibakteri, Anti-inflamasi, Anti kanker, dan Anti virus (Kumar, 2013).

Penelitian yang sudah dilakukan oleh Tulin (2015) tentang potensi dari flavonoid sebagai obat anti-tuberkulosis dimana kandungan flavonoid seperti butein dan isoliquirigenin mempunyai efek dalam menghambat sintesis dari *mycolyl arabinogalactan-peptidoglycan* (mAGP) complex.

c. Tannins

Merupakan senyawa larut air yang berasal dari grup polyphenols. Mempunyai berat molekul sebesar 500 sampai 3000 dalton. Tannin terbagi lagi menjadi 2 kelompok mayor berdasarkan strukturnya yaitu: tannin terhidrolisa dan kental. Dapat berfungsi salah satunya sebagai antioksidan, inhibisi enzyme, Peroksidasi lemak, anti inflamasi, anti alergi, anti kanker, dan anti mikroba (Wafa, 2016).

Tannin menurut penelitian yang dilakukan dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri dengan cara mengikat secara tidak spesifik terhadap enzim dari bakteri, mengganggu metabolisme dari bakteri dengan fosforilasi oksidatif, dan mempersulit transisi ion besi dari bakteri (Wafa, 2016).

d. Alkaloids

Merupakan kumpulan senyawa yang dihasilkan oleh bakteri, jamur, tumbuhan dan hewan. Ditandai dengan adanya atom nitrogen yang menyatukan senyawa. Dalam struktur kimiawi, alkaloid dibagi menjadi 2 kelompok yaitu: *heterocyclic alkaloids (typical alkaloids)* yang mempunyai nitrogen diantara rantai senyawa dan *non-heterocyclic alkaloids (atypical alkaloids)* yang mempunyai nitrogen pada ujung rantai senyawa alkaloid (Cushnie, 2014).

Kandungan alkaloid seperti diarylquinolines yang menarget F1F0 proton ATP synthase dan Oxazolidinones yang menghambat sintesa protein dari bakteri (Kishore, 2009)

2.1.4 Manfaat *Cyperus rotundus*

Rumput teki sudah digunakan sebagai pengobatan tradisional di berbagai negara seperti India, Pakistan, Bangladesh, Nepal, China, Jepang, Arab, dan Afrika. Digunakan sebagai pengobatan terhadap berbagai macam variasi klinis seperti inflamasi, nyeri, panas, luka, lepuh, gangguan perut, spasme, diare, dismenore, dan siklus haid tidak normal (Dhar, 2017)

Dari penelitian yang telah dilakukan, terdapat agen-agen yang mempunyai banyak fungsi dalam tubuh manusia. Salah satunya seperti analgesik, anti inflamasi, anti alergi, anti androgenic, anti artritis, antikariogenik, anti konvulsant, anti depresan, dan anti microbial (Dhar, 2017)

2.1.5 Antimikroba

Berikut ini merupakan mekanisme kerja dari antimikroba dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan dari mikroba:

- **Menghambat sintesa asam nukleat**

Antimikroba akan berikatan dengan enzim polymerase RNA dari bakteri yang akan mengakibatkan terhambatnya sintesis RNA dan DNA dari bakteri. Selain itu anti mikroba ini menghambat enzim gyrase yang berfungsi menata kromosom menjadi bentuk spiral (Setiabudy, 2009)

- **Menghambat sintesis protein**

Pada dasarnya mikroba membutuhkan berbagai macam protein untuk kelangsungan hidup. Sintesa dari protein ini terjadi di ribosom dimana peran mRNA dan tRNA membantu dalam proses sintesa. Pada mikroba terbagi

lagi menjadi 2 sub grup berdasarkan konstanta sedimentasi yaitu: 50S dan 30S. Kedua subgroup menyatu dan membentuk ribosom 70S untuk dapat memproduksi protein. Antimikroba dapat menghambat sintesis protein dengan berikatan terhadap ribosom 70S. Menyebabkan tRNA salah menginterpretasikan kode dari mRNA (Setiabudy, 2009)

- **Mengganggu keutuhan membran**

Antimikroba menyerang membrane sel dan mempengaruhi integritas dari sel tersebut. Dari kerusakan membrane tersebut akan menyebabkan peningkatan permeabilitas dan akan menyebabkan sel mengalami kebocoran atau lisis dimana komponen intra sel keluar (Setiabudy, 2009)

- **Menghambat sintesis dari dinding sel**

Antimikroba menghambat sintesa dinding sel dengan menghambat dinding sel mikroba untuk bertumbuh. Dimana antimikroba ini menghambat peptidoglikan yang merupakan salah satu komponen utama dari dinding sel mikroba. Menyebabkan tekanan osmotik intrasel lebih tinggi dari pada yang diluar sehingga lisis (Setiabudy, 2009)

- **Menghambat metabolisme**

Antimikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidup yang didapatkan dari sintesa PABA, senyawa asam benzoate. Analog asam folat non fungsional terbentuk ketika mikroba mempunyai kemampuan untuk sintesa asam folat yang berasal dari PABA, menyebabkan gangguan dari pertumbuhan mikroba tersebut (Setiabudy, 2009)

2.2 *Mycobacterium tuberculosis*

Merupakan sebuah agen bakteri dan sudah berada sejak jutaan tahun yang lalu dan telah beradaptasi terhadap lingkungan bumi seperti air, tanah, debu, dan udara. Nama *Mycobacterium* berasal dari cara bakteri itu bertumbuh seperti jamur pada kultur cair. Karakteristik utama dari bakteri ini yaitu: tidak motil, berbentuk basil, dan resisten terhadap asam alkohol setelah pewarnaan menggunakan *carbol fuschin*. *Mycobacterium tuberculosis* ini menjadi salah satu perhatian dibidang medis karena dapat menyebabkan infeksi tuberculosis paru dan ekstra paru (Chunyan, 2017)

Mycobacterium tuberculosis dapat menjadi agen yang resisten terhadap terapi, yang juga disebut MDR (multi drug resistant). Tuberculosis yang terdapat dalam tubuh manusia menetap di sel mekrofag dimana bakteri ini dapat menghindari system imun dari tubuh (Velayati, 2017)

Bakteri ini tebagi menjadi 4 grup. Dimana grup 1,2, dan 3 merupakan tipe yang bertumbuh lama saat di kultur. Sedangkan tipe 4 merupakan bakteri yang bertumbuh cepat, kurang dari 1 minggu agar dapat bertumbuh pada medium kultur (Nahid, 2017)

2.2.1 Taksonomi

Kingdom: *Bacteria*

Phylum: *Actinobacteria*

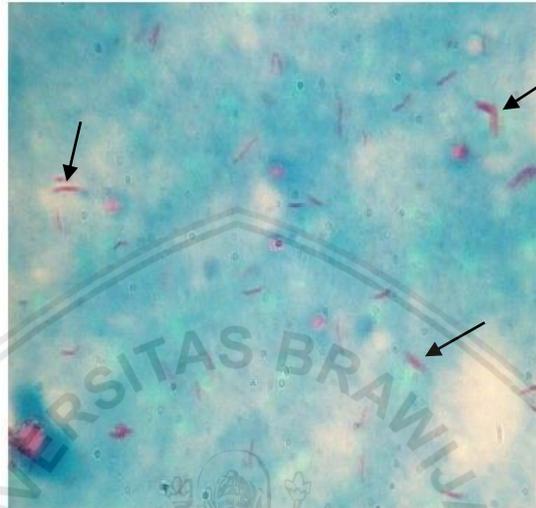
Order: *Actinomycetales*

Suborder: *Corynebacterineae*

Family: *Mycobacteriaceae*

Genus: *Mycobacterium*

Species: *Mycobacterium tuberculosis*



Gambar 2.2 *Mycobacterium tuberculosis* pada perwarnaan Ziehl-Neelsen (Khutlang, 2010)

2.2.2 Morfologi *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri ini berbentuk batang aerob yang tidak dapat membentuk spora. Di jaringan, basil tuberkulosis berupa bakteri batang tipis dan lurus berukuran sekitar $0,4 \times 3 \mu\text{m}$. Basil tuberkulosis mempunyai sifat tahan asam dimana pada pengecatan Ziehl-Neelsen bakteri tidak luntur dengan pemberian warna kedua yaitu methylene blue dan tetap pada pewarnaan yang pertama seperti pada gambar 2.2. Sifat tahan asam ini tergantung pada integritas selubung yang dibuat dari lilin (Jawetz, 2008)

Mikobakterium kaya akan lipid yang terdiri dari fosfat, asam mikolat, dan lilin. Di dalam sel bakteri ini, kebanyakan lipid terikat dengan polisakarida dan protein. Muramil dipeptide yang membuat kompleks dengan asam mikolat dapat

menyebabkan pembentukan granuloma fosfolipid yang nanti dapat menimbulkan nekrosis caseosa. Penghilangan lipid menggunakan asam yang panas dapat menghancurkan sifat tahan asam dari bakteri ini, yang tergantung dari integritas dinding sel dan adanya lipid-lipid tertentu dalam bakteri (Jawetz, 2008)

Bakteri ini dapat dikultur memakai medium Lowenstein-Jensen. Koloni berwarna putih pucat menyerupai krem. Dan pada grup bakteri TB yang bertumbuh cepat, dapat berwarna kuning terang (Velayati, 2017)



Gambar 2.3 Kultur bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada media Lowenstein-Jensen (Essa *et al*, 2013)

2.2.3 Patofisiologi

Paru merupakan *port d'entrée* pertama dari 98% kasus TB. Karena ukuran dari bakteri ini sangat kecil. Droplet yang dihirup dapat mencapai alveolus, dan pada tahap ini imun non spesifik berperan dalam menyerang bakteri ini. Pada normalnya, makrofag dapat menyerang dan menghancurkan bakteri ini. Akan tetapi pada sebagian kecil kasus, makrofag tidak akan mampu untuk membunuh bakteri ini, dan bakteri akan bereplikasi di dalam makrofag. Bakteri TB ini akan bereplikasi dan membentuk sebuah koloni pertama yang berada di paru, yang disebut Fokus Primer GOHN. Dari fokus primer, bakteri akan menuju kelenjar limfe terdekat dan menyebabkan limfadenitis dan limfangitis (Werdhani,2012)

Masa inkubasi TB berlangsung hingga 2 sampai 12 minggu, dimana jumlah bakteri mencapai $10^3 - 10^4$ yang cukup untuk menimbulkan respon imun seluler. TB primer dikatakan telah terjadi ketika hipersensitivitas terbentuk terhadap tuberkuloprotein, dengan hasil positif dari tes tuberkulin. Pada saat inkubasi, tes tuberkulin ini dipastikan negative dan hanya akan muncul ketika imunitas seluler terhadap TB sudah terbentuk. Pada individu yang mempunyai system imun yang baik, proliferasi dari bakteri TB akan berhenti namun beberapa bakteri akan berada dalam fase istirahat dan membentuk granuloma. Dan pada kasus tertentu bakteri TB saat masa inkubasi (sebelum imunitas seluler terbentuk) akan menyebar secara hematogen atau limfogen yang disebut dengan TB ekstra paru (Werdhani, 2012)

2.3 Tuberkulosis Paru

Penyakit infeksius, berasal dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Yang menyerang pada parenkim dari paru. Awal mula kata tuberkulosis berasal dari kata

tuberkel yang dapat diartikan sebagai tonjolan kecil dan keras yang akan terbentuk ketika sistem imun tubuh membuat dinding untuk mengelilingi bakteri agar tidak menyerang disekitarnya. Bersifat kronis dan mempunyai ciri khas yaitu nekrosis jaringan dan granuloma. Menular melalui *airborne* dan *droplet*, mulai dari batuk, bersin, hingga berbicara (Wahyuningsih, 2014)

2.3.1 Diagnosis

Diagnosis ditentukan setelah melalui pemeriksaan klinis, radiologi, mikrobiologi, dan patologi klinik. Penemuan BTA melalui pengambilan sputum pasien merupakan standar diagnosis utama sementara pemeriksaan seperti radiologi, uji kepekaan, dan kultur merupakan penunjang diagnosis. Dikatakan positif apabila 2 dari 3 spesimen yang di ambil positif, 1 spesimen positif disertai dengan gambaran radiologis TB, 1 spesimen yang diambil positif disertai kultur TB positif. 1 spesimen positif, setelah 3 spesimen negative disertai dengan tidak membaiknya kondisi klinis pasien setelah diberi antibiotika non OAT (Wayuningsih, 2014)

2.3.2 Gejala

a. Gejala umum:

- Batuk lebih dari 2 minggu
- Nafsu makan menurun
- Demam yang tidak tinggi tapi berlangsung lama biasa pada malam hari
- Berat Badan menurun tanpa sebab
- Mudah capek

b. Gejala khusus

- Keringat Malam
- Cairan di rongga pleura, dapat disertai dengan nyeri dada
- Sumbatan sebagian pada bronkus

2.3.3 Terapi

Penatalaksan tuberkulosis berfokus pada penyembuhan pasien individu dan meminimalisir transmisi *Mycobacterium tuberculosis* ke orang lain, sehingga penatalaksanaan yang baik dapat bermanfaat untuk pasien individu dan komunitas dimana pasien tinggal (Nahid, 2016)

Mikobakteri merupakan kuman tahan asam yang sifatnya berbeda dengan kuman lain karena tumbuhnya sangat lambat dan cepat timbul resistensi bila terpajan dengan satu obat. Umumnya antibiotika bekerja lebih aktif terhadap kuman yang cepat membelah dibandingkan dengan kuman yang lambat membelah. Sifat lambat membelah yang dimiliki mikobakteri merupakan salah satu faktor yang menyebabkan perkembangan penemuan obat antimikobakteri baru jauh lebih sulit dan lambat dibandingkan antibakteri lain (Wahyuningsih, 2014)

PDPI merekomendasikan pemberian obat *Fixed Dose Combination* (FDC) dengan *Directly Observed Treatment* (DOT). Untuk pengobatan TB sendiri dibagi dengan 2 fase: intensif (2 bulan) dan fase lanjutan (4 bulan). Dengan 2 lini pengobatan sebagai berikut: lini pertama dengan Rifampisin, Isoniazid, Pirazinamid, Streptomisin, Etambutol dan lini kedua dapat diberikan dengan Kanamisin, Kuinolon, Makrolid, Amoksisilin + Derivat Asam Klavulanat, derivat Rifampisin dan Isoniazid.

Ditambahkan dengan pengobatan simtomatis untuk mengurangi efek samping pengobatan TB (PDPI, 2016)

2.3.4 Mekanisme resistensi antituberkulosis

Resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) disebabkan oleh mutasi kromosomal terhadap masing - masing OAT. Penderita dengan jumlah kuman mutan dan jumlah kuman yang banyak mempunyai risiko besar untuk terjadinya resistensi terhadap OAT. Penggunaan satu jenis antibiotik seperti isoniazid – rifampisin meningkatkan resiko terjadinya resistensi, sehingga kombinasi jenis antibiotik lini pertama dianjurkan menggunakan rifampisin, isoniazid, pirazinamid, streptomisin, dan etambutol, sesuai pedoman yang telah ditentukan oleh PDPI (Nugrahaeni, 2015).

Resistensi dari antituberkulosis ini juga dibagi menjadi dua:

a. Resistensi Primer

Keadaan resistensi terhadap OAT pada penderita yang belum pernah mendapat pengobatan dengan OAT sebelumnya. Faktor risiko terjadinya resistensi primer dari OAT adalah kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang sudah resisten terhadap OAT. Keadaan *Poly Drug Resistant* (PDR) ini dijumpai secara geografis pada tempat yang mempunyai risiko tinggi untuk resistensi OAT, atau secara etnis pada orang bukan kulit putih, pada orang muda, pada infeksi HIV, atau pada pemakaian berbagai obat-obat suntik (Nugrahaeni, 2015).

b. Resistensi Sekunder

Keadaan resistensi yang terjadi pada penderita yang pernah mendapat OAT sebelumnya. Timbulnya situasi ini disebabkan oleh penggunaan obat tunggal dimana bakteri mutan sudah resisten terhadap beberapa pemberian OAT, atau pada terapi yang menggunakan obat-obat yang fungsinya mirip dengan penggunaan obat tunggal (misalnya penderita tidak patuh melaksanakan pengobatan, penulisan resep paket pengobatan yang tidak tepat atau terjadi malabsorpsi selektif obat-obatan) (Nugrahaeni, 2015).

2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan cara pemisahan kandungan aktif sari bahan alami dengan obat yang belum mengalami perubahan, yang biasanya merupakan bahan yang dikeringkan. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut (Alfi, 2017).

Berikut ini merupakan metode ekstraksi yang dapat digunakan:

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling umum digunakan. Cara ini sesuai untuk skala rumahan maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan

banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

b. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Sama seperti metode maserasi, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

c. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel ke dalam sarung selulosa dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu dapat diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini ialah proses ekstraksi yang kontinyu dan sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga hemat pelarut dan akan mempersingkat waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang telah diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014)

d. Reflux dan Destilasi uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama dengan pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut akan dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan akan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya akan digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat dapat ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dan dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014)

e. Microwave Assisted Extraction

Teknologi Microwave Assisted Extraction (MAE) adalah teknik untuk mengekstraksi senyawa terlarut di dalam bahan tanaman dengan bantuan dari energi gelombang mikro. Teknologi tersebut cocok untuk pengambilan senyawa yang cenderung bersifat termolabil karena memiliki kontrol terhadap temperatur yang jauh lebih baik dibandingkan proses pemanasan konvensional. Selain kontrol suhu yang lebih baik, MAE juga memiliki beberapa kelebihan lain, salah satunya adalah waktu ekstraksi yang lebih singkat, konsumsi dari energi dan solven yang lebih sedikit, konsentrasi yang cenderung lebih tinggi, akurasi dan presisi yang lebih tinggi, dan setting peralatan yang menggabungkan fitur soklet dan kelebihan dari MAE (Tatke, 2011).



Gambar 2.4 *Closed Vessel Microwave Assisted Extraction* (Tatke, 2011)

2.5 Metode Proporsi

Metode proporsi yang akan digunakan pada penelitian ini merupakan *gold standard* dalam uji kepekaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terhadap suatu pengobatan, karena memiliki nilai sensitivitas, spesifisitas, Nilai Prediksi Positif (NPP), dan Nilai Prediksi Negatif (NPN) 100 %. Dimana media LJ sebagai media kultur bakteri dicampur dengan berbagai konsentrasi obat dan diobservasi jika terdapat pertumbuhan bakteri pada minggu ke enam pada suhu 37°C. Jika ditemukan koloni bakteri yang berwarna putih menyerupai kembang kol maka hasil dikatakan positif. (Purnamasari, 2015)

2.6 Proporsi Resistensi

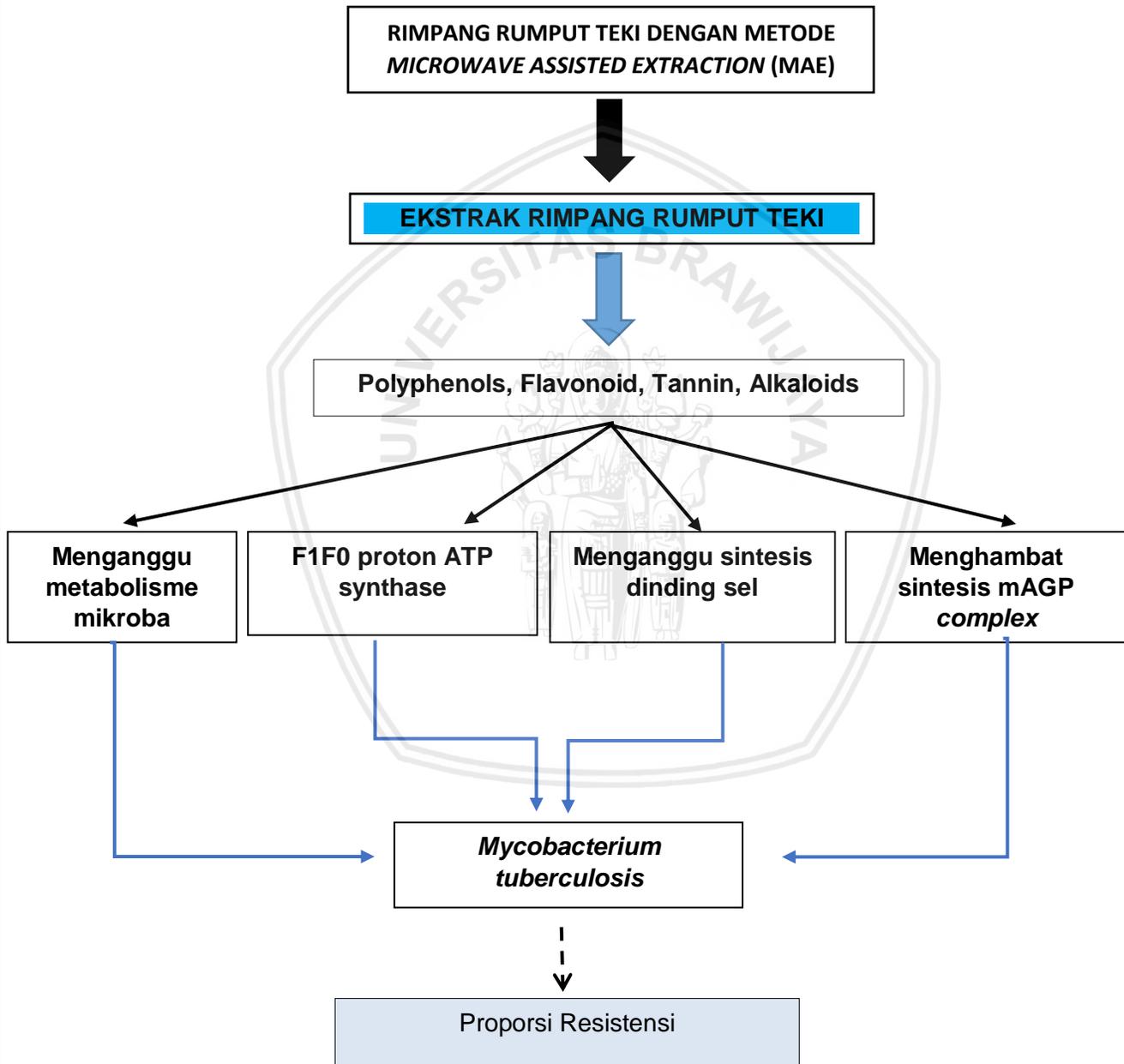
Merupakan presentase hasil pertumbuhan koloni pada media yang telah dicampur pengobatan terhadap media control pada suspense bakteri yang sama. Pada metode ini dapat digunakan media Lowenstein-Jensen atau Middlebrook 7H10. Jika suatu proporsi melebihi 1% maka obat tersebut ditanyakan resisten terhadap bakteri yang diuji dan secara klinis tidak dapat digunakan untuk terapi. Jika kurang dari 1% maka obat tersebut dinyatakan sensitive terhadap bakteri yang diuji (Sandjaja, 2012)



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



- Keterangan :
-  : variabel yang diteliti
 -  : mekanisme kerja antimikroba
 -  : observasi
 -  : menghambat pertumbuhan
 -  : menghasilkan
 -  : mempunyai kandungan aktif

Pada ekstrak rimpang Rumpus Teeki terdapat kandungan senyawa-senyawa seperti flavonoid, tanin, polyphenols dan sesquiterpenes yang dapat digunakan sebagai antimikroba. Flavonoid diketahui dapat menghambat sintesis DNA-RNA pada sel bakteri dengan penumpukan basa asam nukleat serta mampu menghambat metabolisme energi. Flavonoid juga dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak sel membran bakteri. Tannin menurut penelitian yang dilakukan dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri dengan cara mengikat secara tidak spesifik terhadap enzim dari bakteri, mengganggu metabolisme dari bakteri dengan fosforilasi oksidatif, dan mempersulit transisi ion besi dari bakteri. Mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam

sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel. Senyawa sesquiterpen dalam rumput teki merupakan turunan dari senyawa terpen seperti alkohol yang bersifat bakterisida dengan merusak struktur tersier protein bakteri atau denaturasi protein (Kumar, 2014; Kilani-Jaziri, 2011; Chadwick, 2013; Wafa, 2016). Alkaloid memiliki beberapa mekanisme kerja dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan dari bakteri. Menghambat sintesa dari asam nukleat yang diobservasi dari penghambatan tipe 1 dan 2 topoisomerase yang berfungsi untuk rekombinasi untai yang pecah, merapatkan kromosom, dan mencegah terjadinya *detangling* pada DNA sehingga inhibisi pada enzyme ini dapat mengganggu pertumbuhan dari bakteri, mengganggu homeostasis bakteri dengan menginhibisi enzyme BCG3185c, merusak integritas dari membrane terluar dan sitoplasma dengan cara penetrasi pada pada lapisan *lipopolysaccharide*, depolarisasi dari membrane sitoplasma yang dapat menyebabkan keluarnya isi sitoplasma bakteri.

3.2 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disampaikan, hipotesis dari penelitian ini bahwa ekstrak rimpang Rumput Teki memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dilakukan secara *in vitro*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain dari penelitian yang digunakan dalam penelitian ini ialah eksperimental laboratory secara invitro. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui efek antibakteri dari ekstrak rimpang Rumput Teki terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Dilakukan dengan desain *posttest control design only*.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

4.2.1 Waktu

Januari, 2018: Pengambilan & Pembuatan ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) menggunakan *Microwave Assisted Extraction*.

Februari, 2018: Pembuatan proposal penelitian.

Maret – Agustus, 2018: Uji efektivitas antibakteri dari ekstrak pada *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro* melalui media Lowenstein Jensen.

Agustus – November, 2018: Pendataan dan Pembuatan hasil penelitian.

4.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Mikrobiologi RSSA Saiful Anwar, Pengekstrakan dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, dan evaporasi ekstrak dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Sampel dan Besar Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah koloni *Mycobacterium tuberculosis* yang dikultur di Laboratorium Mikrobiologi RSUD dr. Saiful Anwar Malang. Jumlah pengulangan penelitian menggunakan rumus berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 20$$

$$(9-1)(r-1) \geq 20$$

$$8r-4 \geq 20$$

$$8r \geq 24 \rightarrow r \geq 3$$

Keterangan:

t = jumlah *treatment* atau perlakuan (9, yaitu 3 perlakuan dengan penambahan ekstrak rimpang rumput teki dengan konsentrasi 25 µg/ml, 50 µg/ml, dan 75 µg/ml pada suspensi bakteri 10^{-3} , 3 perlakuan dengan penambahan ekstrak rimpang rumput teki dengan konsentrasi 25 µg/ml, 50 µg/ml, dan 75 µg/ml pada suspensi bakteri 10^{-5} , 1 kontrol positif 10^{-3} , 1 kontrol positif 10^{-5} dan 1 kontrol negatif)

r = jumlah *replication* atau pengulangan (3 kali pengulangan)

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Terikat

Variable pada penelitian ini adalah proporsi resistensi dari *Mycobacterium tuberculosis* pada media.

4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak rimpang rumput teki terhadap bakteri dengan konsentrasi yang berbeda-beda

4.5 Definisi Operasional

1. Rimpang rumput teki diperoleh dari Materia Medica, Batu, yang telah dihaluskan menjadi serbuk. Kemudian diekstrak menggunakan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dengan pelarut etanol 96% lalu melalui proses evaporasi agar hasil ekstrak menjadi pekat dan menghilangkan kadar ethanol pada ekstrak.
2. *Mycobacterium tuberculosis* yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang dengan *strain H37Rv*.
3. Kontrol positif adalah suspensi dari *original inoculum* dengan pengenceran 10^{-3} dan 10^{-5} tanpa pemberian ekstrak rimpang rumput teki.
4. Kontrol negatif adalah suspensi dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* tanpa pemberian apapun.
5. *Original Inoculum* adalah suspensi bakteri dengan konsentrasi 1 mg/ml atau Mc Farland 0.5-1.0, digunakan sebagai konsentrasi awal bakteri yang akan diencerkan sebelum diuji sensitivitasnya.
6. Metode proporsi merupakan *gold standard* dalam uji kepekaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terhadap suatu pengobatan, dimana media LJ sebagai media kultur bakteri dicampur dengan berbagai konsentrasi obat dan diobservasi.
7. Proporsi resistensi adalah hasil perbandingan dari pertumbuhan koloni pada media yang sudah dicampur pengobatan terhadap media kontrol positif. Jika suatu proporsi melebihi 1% maka obat tersebut resisten terhadap bakteri yang diuji. Jika kurang dari 1% maka obat tersebut dinyatakan sensitif terhadap bakteri yang diuji.

8. Terapi adjuvan adalah penambahan pengobatan atau substansi ke pengobatan utama, yang dilakukan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan.
9. Kandungan flavonoid yaitu butein dan isoliquirigenin mempunyai efek dalam menghambat sintesis dari *mycolyl arabinogalactan-peptidoglycan* (mAGP) complex
10. Kandungan alkaloid seperti diarylquinolines yang menarget F1F10 proton ATP synthase dan Oxazolidinones yang menghambat sintesa protein dari bakteri

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pipet, tabung reaksi, rak tabung, gelas ukur, *beaker glass*, petrisidik, pipa plastik, tabung pendingin, labu evaporator, bak penampung hasil evaporasi, pompa sirkulasi air, pompa vakum, alat pemanas air, Erlenmeyer, corong *Buchner*, pengaduk, Bunsen, ose (diameter 3 mm), inkubator, *rotary evaporator*, timbangan analitik, korek api, autoklaf, spektrofotometer, sentrifugator, botol Mc Cartney, mikroskop cahaya, masker, dan *handscoon*.

4.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain rimpang Rumpuk teki, pelarut etanol 96%, air, isolasi *Mycobacterium tuberculosis*, *object glass*, media *Lowenstein-Jensen*, alkohol 70%, asam alkohol 3%, *methylene blue*, *carbol fuschin*, minyak inersi, kertas penghisap, kapas, H₂O₂ 3%, NaCl, akuades, minyak inersi.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Rimpang Rumput Teki

4.7.1.1 Tahap Pengeringan

1. Mencuci bersih Rumput Teki
2. Menjemur Rumput Teki hingga kering
3. Memotong akar serabut yang ada pada Rumput Teki hingga tertinggal rimpangnya saja
4. Menggiling rimpang Rumput Teki untuk dijadikan bubuk

4.7.1.2 Tahap Ekstraksi Menggunakan *Microwave Assisted Extraction (MAE)*

1. Memasukkan bubuk simplisia rimpang Rumput Teki
2. Memasukkan etanol sebagai pelarut ke dalam *vesse/* dan menutup *vesse/*
3. Memasukkan *vesse/* ke dalam microwave dan menyatel daya dan waktu yang diinginkan.
4. Hasilnya dilakukan penyaringan dengan corong Buncher sehingga didapatkan filtrate yang terpisah dari ampas

4.7.1.3 Tahap Evaporasi

1. Memasang evaporator set dengan kemungkinan 30°- 40° terhadap meja dengan susunan yang terdiri dari alat pemanas, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, dan tabung pendingin.
2. Hasil ekstraksi dipindahkan ke labu penampung
3. Menyalakan *rotary evaporator*, alat pompa air dingin dan alat pompa vakum
4. Alat pemanas aquades dinyalakan dengan suhu 50°C dan etanol dibiarkan menguap

5. Hasil penguapan etanol dikondensasikan menuju labu penampung etanol agar tidak tercampur dengan hasil evaporasi
6. Proses ini dilakukan sampai volume ekstrak berkurang dan menjadi pekat

4.7.2 Identifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

Isolat bakteri dari Laboratorium Mikrobiologi RSSA diambil satu koloni dengan menggunakan ose. Kemudian dibiakkan pada media Lowenstein Jensen hingga dihasilkan koloni setelah diinkubasi selama 6 minggu dan diamati karakteristik dari koloni.

4.7.2.1. Pewarnaan Ziehl Neelsen

1. Bersihkan *object glass* dengan tissue dan lewatkan diatas api bunsen
2. Ambil satu ose dari specimen bakteri. Oleskan pada *object glass* dan lakukan fiksasi diatas api bunsen
3. Biarkan kering dan teteskan carbol fuschin dan panaskan selama 5 menit (tidak boleh mendidih atau kering)
4. Cuci dengan air
5. Dekolorisasi dengan asam alkohol selama 5 – 10 detik
6. Cuci dengan air
7. Teteskan methylene blue selama 30 detik
8. Cuci dengan air
9. Keringkan dengan tisu
10. Teteskan minyak imersi pada *object glass* dan observasi di mikroskop dengan perbesaran 100x. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* berwarna merah dan berbentuk basil.

4.7.2.2 Tes Kepekaan PNB(*P-Nitrobenzoid Acid*)

- a. Membuat medium LJ yang mengandung PNB 500mg/L

- b. Menginokulasikan suspensi bakteri pada media yang mengandung PNB
- c. Menginkubasi dengan suhu 37°C, dan mengamati setelah 28 hari
- d. *Mycobacterium tuberculosis* tidak akan tumbuh pada media LJ yang diberi PNB

4.7.2.3 Tes Niacin

- a. Memilih media dengan pertumbuhan koloni paling sedikit 100 koloni (semakin banyak semakin baik) yang berumur 3-4 minggu
- b. Menggores permukaan media dengan ose
- c. Menambahkan 1 mL akuades
- d. Memanaskan media dengan autoklaf 121°C selama 30 menit dengan posisi miring sehingga seluruh permukaan media tergenangi akuades
- e. Menunggu hingga media dingin
- f. Mengambil cairan 0,5 mL dan memasukkan cairan tersebut dalam tabung reaksi
- g. Menambahkan 0,5 mL larutan chloramin T dan 0,5 mL KCN 1%
- h. Menunggu hingga 5 menit, kemudian mengamati perubahan warna
- i. Hasil positif jika terbentuk warna kuning

4.7.2.4 Uji Imunokromatografi (dengan Antigen MPT64)

- a. Mengambil 200µL dapar, kemudian memindahkan ke dalam tabung
- b. Mengambil 3-5 koloni tersangka dengan sengkeli steril
- c. Memasukkan dalam tabung berisi dapar ekstraksi, mencampur dengan vortex kemudian dibiarkan 15 menit
- d. Mengambil 100µL suspensi kuman kemudian dimasukkan ke dalam lubang kit TBAg MPT64
- e. Menginkubasi selama 15 menit

- f. Hasil positif MTB kompleks jika tampak dua pita (pada garis C dan T), negatif jika tampak satu pita kontrol (pada garis C), dan tidak dapat diinterpretasi jika pita kontrol tidak tampak

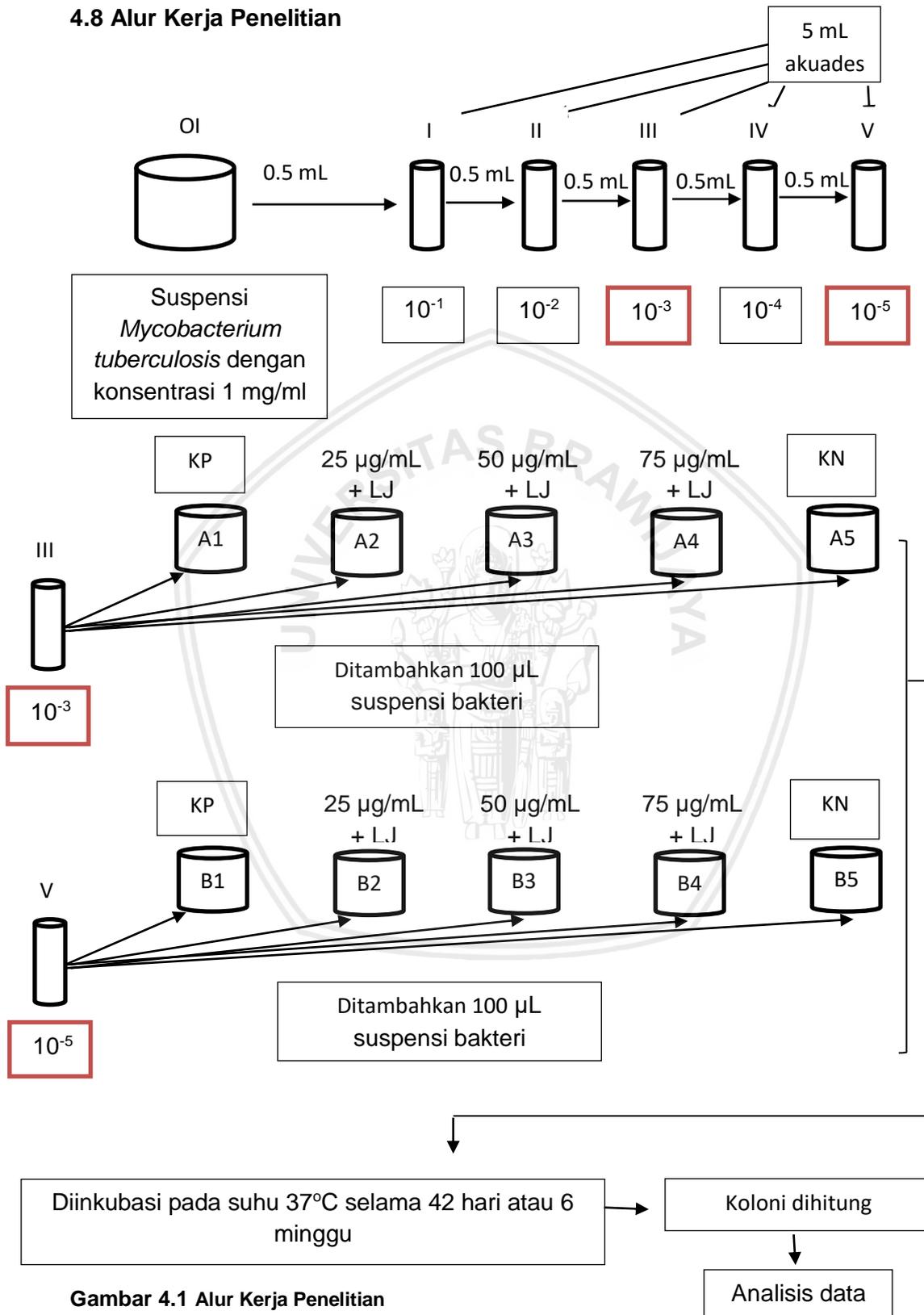
4.7.3 Pembuatan suspensi bakteri uji

- a. Mempersiapkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dari media *Lowenstein-Jensen* yang telah diuji konfirmasi
- b. Mempersiapkan suspensi bakteri dengan konsentrasi 1 mg/ml atau Mc Farland 0.5-1.0
- c. Menyiapkan 5 buah tabung reaksi steril (tabung I, II, III, IV, dan V)
- d. Masing-masing tabung diisi dengan 4.5 ml akuades steril
- e. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri konsentrasi 1 mg/ml kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi I dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran c
- f. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri pengenceran 10^{-1} kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi II dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran 10^{-2}
- g. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri pengenceran 10^{-2} kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi III dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran 10^{-3}
- h. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri pengenceran 10^{-3} kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi IV dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran 10^{-4}
- i. Mengambil 0.5 ml suspensi bakteri pengenceran 10^{-4} kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi V dan dicampur sampai homogen, sehingga dihasilkan larutan bakteri dengan pengenceran 10^{-5}

4.7.4 Uji Anti Mikroba

1. Menyiapkan 10 buah botol media LJ dengan label A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, B3, B4, dan B5
2. Botol A1 dan B1 sebagai kontrol positif tidak ekstrak rimpang rumput teki
3. Media pada botol A3 dan B3 mengandung ekstrak rimpang rumput teki dengan konsentrasi 25 µg/mL, media pada botol A4 dan B4 mengandung 50 µg/mL, dan media pada botol A5 dan B5 mengandung 75 µg/mL
4. Botol A2 dan B2 sebagai kontrol negatif tanpa diberi ekstrak rimpang rumput teki
5. Mengambil 100 µL suspensi bakteri pengenceran 10^{-3} , kemudian diinokulasikan pada botol A1, A2, A3, A4, dan A5 kemudian inokulum diratakan pada seluruh permukaan media dengan menggerakkan botol perlahan-lahan
6. Mengambil 100 µL suspensi bakteri pengenceran 10^{-5} menggunakan tip baru dan diinokulasikan pada botol B1, B2, B3, B4, dan B5, kemudian ratakan inokulum pada seluruh permukaan media dengan menggerakkan botol perlahan-lahan
7. Menutup semua botol dengan agak longgar
8. Semua botol yang telah diberi perlakuan diinkubasi dalam inkubator dengan posisi horizontal, sudut kemiringan 30° , dan suhu 37°C selama 8 hari.
9. Tutup semua botol dirapatkan dan botol ditegakkan pada hari berikutnya
10. Dilakukan pembacaan pertumbuhan koloni pada minggu ke enam

4.8 Alur Kerja Penelitian

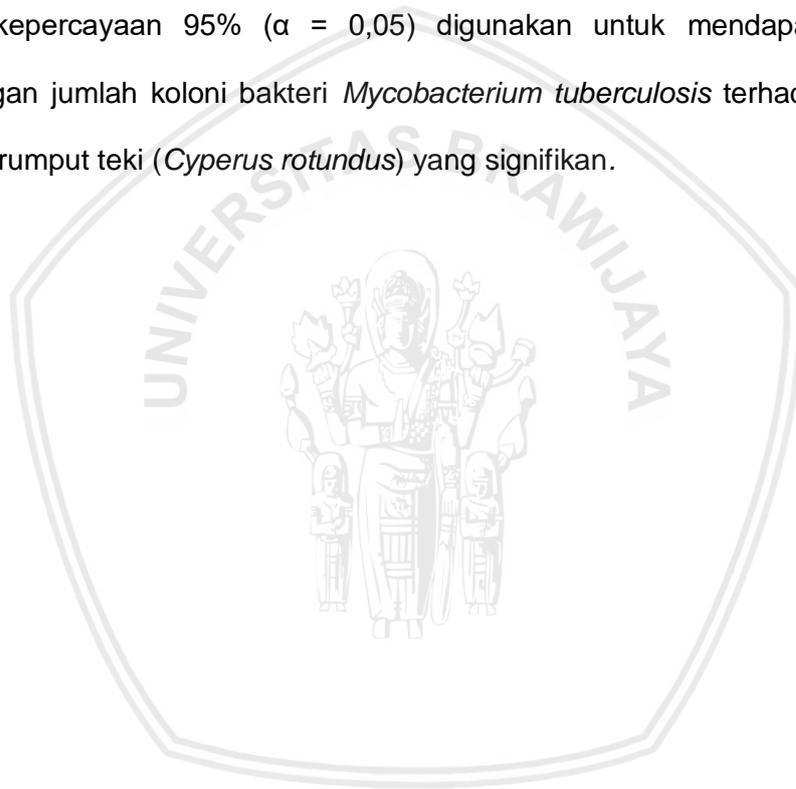


Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian

Keterangan : KP: Kontrol Positif, KN: Kontrol Negatif, Oi: Original Inoculum

4.9 Analisis data

Penelitian ini dianalisis menggunakan analisis kuantitatif statistik *One Way ANOVA*. Program yang digunakan untuk analisis data adalah SPSS (Statistical Product of Service Solution) for Windows versi 23.0. Tetapi sebelumnya dilakukan uji distribusi dan homogenitas varian terlebih dahulu menggunakan *Shapiro-Wilk* terlebih dahulu. Uji statistik *one-way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) digunakan untuk mendapatkan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terhadap ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) yang signifikan.



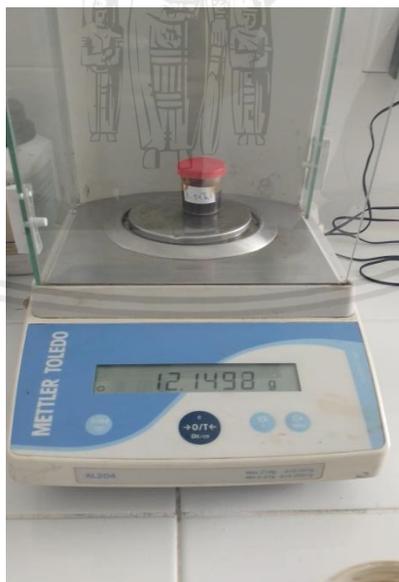
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Ekstraksi Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*)

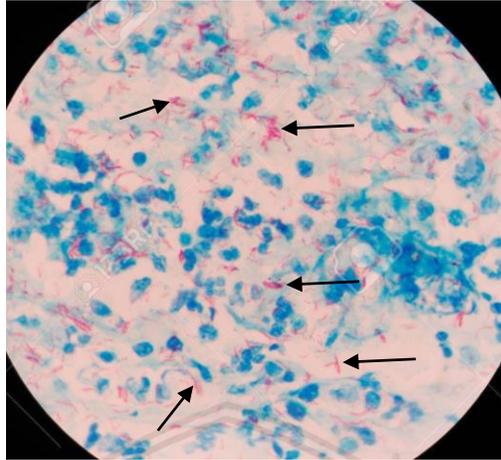
Ekstrak dibuat dari rimpang rumput teki sebanyak 480 gram bubuk. Proses pengeringan dilakukan dengan dijemur selama 24jam untuk mengeluarkan kadar air dalam rimpang rumput teki. Setelah proses pengeringan, ekstrak digiling hingga menjadi bubuk. Dari 480 gram rimpang rumput teki dilakukan ekstraksi dengan metode *Microwave Assisted Extraction*, dari hasil *MAE* dilakukan evaporasi untuk menghilangkan kadar etanol dari ekstrak. Dari evaporasi tersebut didapatkan ekstrak sebanyak 44 gram.



Gambar 5.1 Sampel Ekstrak Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus*)

5.1.2 Hasil Identifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

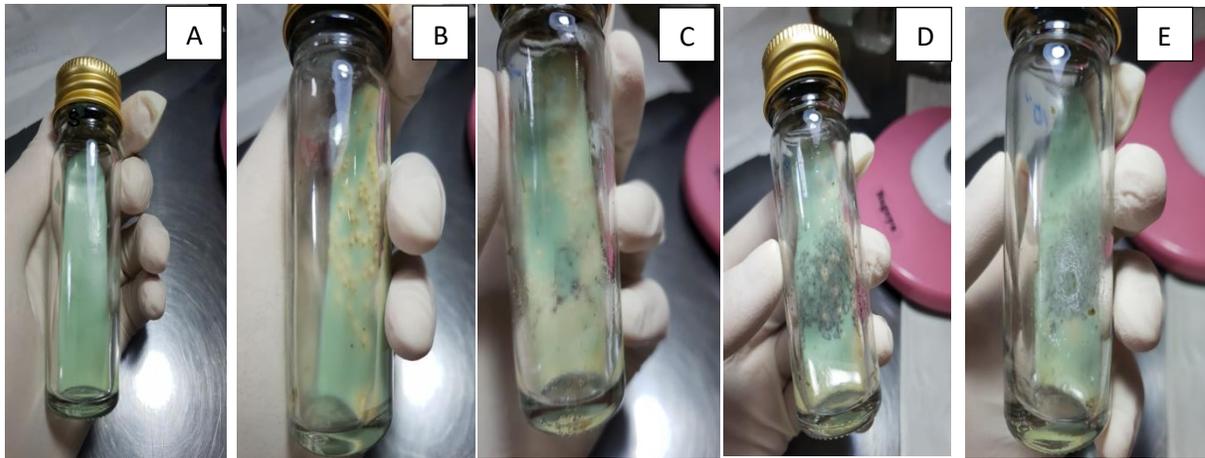
Penelitian ini menggunakan isolat *Mycobacterium tuberculosis* yang disediakan oleh Laboratorium Mikrobiologi RSSA FKUB. Isolat tersebut didapatkan dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Isolat tersebut di-streaking ulang pada media Lowenstein Jensen (LJ) kemudian dilakukan identifikasi menggunakan pewarnaan Ziehl-Neelsen, uji *Paranitro-Benzoic-Acid* (PNB), uji *Niacin* dan uji imunokromatografi (Antigen MPT64). Bakteri yang dipakai merupakan subkultur generasi ketiga. *Mycobacterium tuberculosis* menghasilkan koloni yang berbentuk bulat berwarna putih pucat menyerupai krem, permukaan kering dan rapuh, tepi tidak beraturan seperti bunga kol dan berbau kas seperti buah, Pada pewarnaan Ziehl-Neelsen serta pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x didapatkan gambaran bakteri *Mycobacterium tuberculosis* berwarna merah dan berbentuk batang. Dalam uji *Paranitro-Benzoic-Acid* (PNB) didapatkan pertumbuhan koloni dalam media LJ dihambat oleh PNB yang diamati setiap minggu dan tidak didapatkannya koloni setelah minggu keempat hingga minggu kedelapan. Didapatkan hasil positif dalam uji *niacin*, ditandai dengan terbentuknya warna kuning pada tabung reaksi. Sedangkan dalam uji imunokromatografi didapatkan hasil positif MTB kompleks ditandai dengan tampaknya 2 pita (pada garis C dan T) pada indikator TBAg MPT64 kit.



Gambar 5.2 Hasil pewarnaan *Ziehl Neelsen* pada *Mycobacterium tuberculosis*

5.1.3 Hasil Pengamatan Koloni *Mycobacterium tuberculosis* dalam Media LJ

Dalam penelitian ini digunakan 3 macam konsentrasi ekstrak rimpang Rumpus Teki yaitu 25 µg/ml, 50 µg/ml, dan 75 µg/ml, dan dua konsentrasi suspensi bakteri, yaitu 10^{-3} dan 10^{-5} dari suspensi bakteri 1 Mc Farland. Sebagai kontrol negatif digunakan media LJ tanpa penambahan ekstrak rimpang rumput teki dan tanpa inokulasi bakteri, dan sebagai kontrol positif digunakan media LJ tanpa penambahan ekstrak rimpang rumput teki. Pengamatan pertumbuhan koloni kemudian dilakukan setiap minggu, dan proporsi resistensi ditentukan dari pengamatan pertumbuhan koloni bakteri pada minggu ke enam



Gambar 5.3 Koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* suspensi 0,5 McFarland pengenceran 10^{-5} minggu ke-6 pada medium LJ; A. Kontrol negatif; B. Kontrol positif; C. Pemberian ekstrak konsentrasi 25 $\mu\text{g/ml}$; D. Pemberian ekstrak konsentrasi 50 $\mu\text{g/ml}$; E. Pemberian ekstrak konsentrasi 75 $\mu\text{g/ml}$.



Tabel 5.1 Hasil dari perhitungan jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada minggu ke-6

Suspensi Bakteri	Konsentrasi	Pengulangan					
		1	2	3	4	5	6
	Kontrol -	0	0	0	0	0	0
10 ⁻³	Kontrol +	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	25 µg/ml	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	50 µg/ml	++	++	++	++	++	++
	75 µg/ml	+ (55)	+ (40)	+ (35)	+ (43)	+ (37)	+ (49)
10 ⁻⁵	Kontrol +	+++ (282)	+++ (271)	+++ (297)	+++ (286)	+++ (269)	+++ (277)
	Kontrol -	0	0	0	0	0	0
	25 µg/ml	++ (149)	++ (157)	++ (166)	++ (153)	++ (151)	++ (142)
	50 µg/ml	87	75	69	84	73	79
	75 µg/ml	32	25	41	35	23	28

Keterangan tabel:

+ : 50-99 koloni

++ : 100-199 koloni

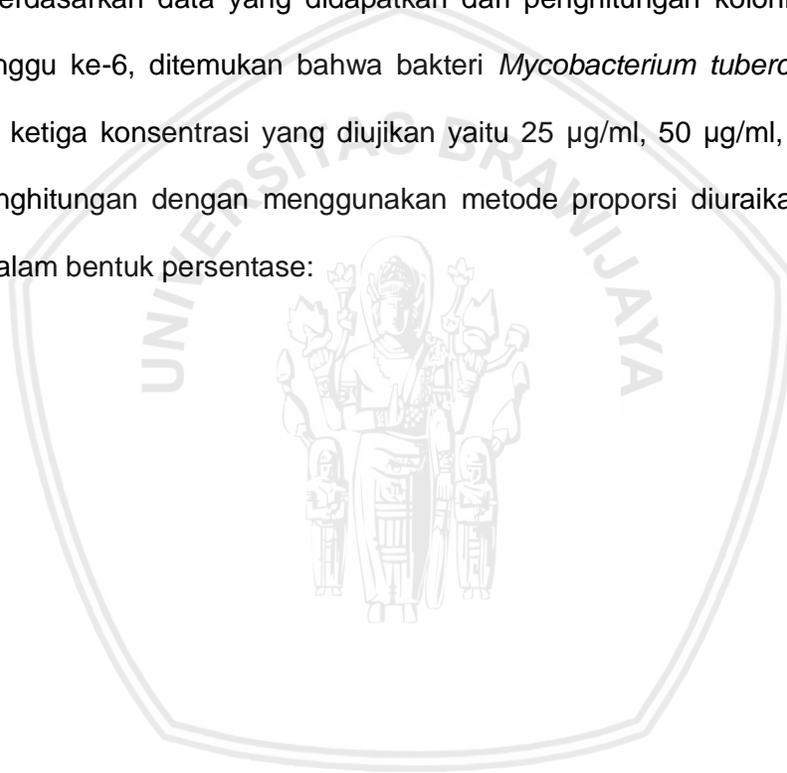
+++ : 200-500 koloni

++++ : >500 koloni

5.1.4 Hasil Uji Proporsi Resistensi Koloni *Mycobacterium tuberculosis*

Metode proporsi dilakukan berdasarkan pemikiran bahwa pada setiap strain yang sensitif terdapat beberapa kuman yang resisten. Metode ini dilakukan dengan cara membandingkan jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada media padat LJ dengan ekstrak rimpang rumput teki dan jumlah koloni pada kontrol (+).

Berdasarkan data yang didapatkan dari penghitungan koloni yang tumbuh pada minggu ke-6, ditemukan bahwa bakteri *Mycobacterium tuberculosis* resisten terhadap ketiga konsentrasi yang diujikan yaitu 25 µg/ml, 50 µg/ml, dan 75 µg/ml. Hasil penghitungan dengan menggunakan metode proporsi diuraikan dalam tabel berikut dalam bentuk persentase:



Tabel 5.2 Hasil dari perhitungan proporsi resistensi koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada minggu ke-6

Pengulangan	Konsentrasi		
	25 µg/ml	50 µg/ml	75 µg/ml
1	52.83%	30.85%	11.3%
2	57.93%	27.67%	9.22%
3	55.89%	23.21%	13.8%
4	53.49%	29.37%	12.23%
5	56.13%	27.13%	13.6%
6	52.2%	28.51%	10.1%
Rata-rata	54.74%	27.79%	11.7%
Interpretasi	R	R	R

Keterangan tabel:

S : Sensitif, didapatkan hasil perhitungan rata-rata proporsi resistensi <1%

R : Resisten, didapatkan hasil perhitungan rata-rata proporsi resistensi >1%

Pada hasil dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) resisten terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada konsentrasi 25 µg/ml, 50 µg/ml, dan 75 µg/ml. Tetapi menurut hasil proporsi resistensi yang telah dicantumkan, bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan semakin rendah hasil proporsi resistensi yang didapatkan.

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan *software* SPSS for Windows versi 23.0, hasil signifikansi dari uji normalitas Shapiro-Wilk adalah $p > 0,05$ untuk semua konsentrasi yang berarti data berdistribusi normal. Dari hasil uji homogenitas Levene didapatkan nilai sig $p = 0,838$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa data bervariasi sama.

5.2.2 Uji *One-way Anova*

Syarat untuk melakukan uji komparatif *One-way Anova* adalah data berdistribusi normal dan homogen. Hasil dari uji *One-way Anova* adalah sig $p = 0,000$ ($p < 0,05$) pada perubahan konsentrasi ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) terhadap proporsi resistensi *Mycobacterium tuberculosis*, artinya hasil penelitian signifikan.

5.2.3 Uji *Post hoc Tukey*

Uji perbandingan *Post hoc Tukey* dilakukan untuk mengetahui perbandingan konsentrasi dan proporsi resistensi yang signifikan. Didapatkan hasil signifikansi $p = 0,000$ pada ketiga konsentrasi ($p < 0,05$), artinya hasil perbandingan ketiga konsentrasi tersebut signifikan.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv yang dibeli dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Bakteri tersebut kemudian dikembangbiakkan di Laboratorium Mikrobiologi RSUD Saiful Anwar dalam media *Lowenstein Jensen* (LJ). Ekstrak rimpang rumput teki yang digunakan didapatkan dari Materia Medika, Batu. Proses pembuatan ekstrak rimpang rumput teki menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE), dikarenakan kadar ekstrak yang didapatkan bisa lebih tinggi, tidak menggunakan solvent sebanyak metode konvensional, dan proses ekstraksi yang lebih cepat. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena kandungan air yang sedikit, sehingga dapat menghasilkan konsentrasi ekstrak yang lebih pekat dan murni (Arifianti, 2014). Setelah proses ekstraksi selesai dilakukan evaporasi memakai *Rotary Evaporator* dan inkubator untuk memisahkan pelarut dan ekstrak.

Penelitian ini menggunakan metode proporsi resistensi karena lebih umum dipakai dan lebih dikenal luas dibandingkan metode uji sensitifitas obat yang lain terkait resistensi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Konsentrasi awal yang dipakai adalah 5 µg/ml, 25 µg/ml, dan 50 µg/ml. Pada minggu ke enam diobservasi dan ditemukan persentase proporsi resistensi >1% yang menandakan bahwa ekstrak resisten terhadap bakteri tersebut sehingga diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi pada percobaan berikutnya.

Pada percobaan berikutnya digunakan konsentrasi 25 µg/ml, 50 µg/ml, dan 75 µg/ml. Observasi minggu keenam didapatkan persentase proporsi

resistensi >1%, 3 kali pengulangan dengan hasil: 55.5% pada 25 µg/ml, 27.25% pada 50 µg/ml, dan 11.44% pada konsentrasi 75 µg/ml. Diduga hal ini disebabkan karena pencampuran ekstrak dan larutan LJ kurang baik sehingga media ekstrak tidak terlarut sempurna. Percobaan untuk pencampuran yang lebih baik sudah dilakukan pada penelitian, dengan hasil yang sama.

Menyesuaikan penelitian yang sudah dilakukan oleh Cheyperatub *et al.* (2018) tentang “*The synergy and Mode of Action of Cyperus rotundus L. Extract plus Ampicillin against Ampicillin-Resistant Staphylococcus aureus*” bahwa komponen *phytochemical* utama pada ekstrak rumput teki adalah flavonoid dan alkaloid. Aktivitas antimikroba yang dimiliki senyawa flavonoid seperti kaempferol, myricetin, naringin, quercetin di dalam ekstrak rimpang rumput teki dapat dibagi dalam beberapa mekanisme kerja dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan dari bakteri. Mekanisme pertama yaitu merusak integritas membran sitoplasma dengan adanya ikatan hidrogen yang dibentuk oleh flavonoid dengan protein mikroba sehingga terjadi denaturasi protein pada sitoplasma bakteri, mengganggu sintesa dari asam nukleat dengan menghambat enzim RNA polymerase dan DNA girase yang dapat mengganggu replikasi dari RNA dan DNA bakteri (Hendra, 2011). Penggunaan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dapat dicoba mengikuti penelitian yang sudah dilakukan oleh Tulin (2015) tentang potensi dari flavonoid sebagai obat anti-tuberkulosis dimana kandungan flavonoid seperti butein dan isoliquirigenin mempunyai efek dalam menghambat sintesis dari *mycolyl arabinogalactan-peptidoglycan* (mAGP) complex dan asam lemak dari *Mycobacterium tuberculosis* yang kompleks (Brennan, 2013). Meskipun pada komponen antibakteri dalam ekstrak tanaman tidak terlalu poten dan memiliki aktivitas antibakteri yang terbatas sehingga

kurang mampu dalam menghambat pertumbuhan dari *Mycobacterium tuberculosis*.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Rajesh NG & Archana DJ. (2016) menyimpulkan kandungan alkaloid yang tinggi pada daun *A. paniculata* memiliki aktivitas antimikobakterial paling tinggi. Kurangnya pencampuran yang baik serta konsentrasi ekstrak yang kurang mencukupi dapat menyebabkan tumbuhnya bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada media.

Aktivitas antimikroba yang dimiliki senyawa alkaloid seperti ascididemin, Xinghiamine A, Eudistomin Y4, Hapalindole1 di dalam ekstrak rimpang rumput teki memiliki beberapa mekanisme kerja dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan dari bakteri. Mekanisme kerja pertama yaitu menghambat sintesa dari asam nukleat yang diobservasi dari penghambatan tipe 1 dan 2 topoisomerase yang berfungsi untuk rekombinasi untai yang pecah, merapatkan kromosom, dan mencegah terjadinya *detangling* pada DNA sehingga inhibisi pada enzyme ini dapat mengganggu pertumbuhan dari bakteri, mengganggu homeostasis bakteri dengan menginhibisi enzyme BCG3185c, merusak integritas dari membrane terluar dan sitoplasma dengan cara penetrasi pada lapisan *lipopolysaccharide*, depolarisasi dari membrane sitoplasma yang dapat menyebabkan keluarnya isi sitoplasma bakteri (Cushnie, 2014)

Dari uraian pembahasan dan penelitian yang telah dilakukan, maka hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak rimpang rumput teki tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* melalui media LJ pada konsentrasi 25 µg/mL, 50 µg/mL, 75 µg/ml

Kekurangan dari penelitian ini adalah pencampuran ekstrak dan medium yang tidak sempurna sehingga tidak diketahui apakah hal tersebut

mempengaruhi potensi antimikroba oleh ekstrak yang diberikan. Dalam penelitian ini penghitungan koloni menggunakan proses manual dengan mata telanjang sehingga untuk menghitung koloni yang konfluen, peneliti kesulitan untuk menghitung jumlah koloni dengan akurat dan bersifat obyektif. Terdapat rentang waktu antara persiapan ekstrak dan pembuatan media LJ sehingga penyimpanan ekstrak hanya disimpan di freezer dengan kondisi tidak steril. Kualitas dari telur bebek harus kurang dari 7 hari, sementara kualitas telur bebek yang dipakai untuk media LJ bervariasi dari 0-2 minggu karena ada keterbatasan pada pihak produsen telur bebek.

Selain itu biaya untuk membuat ekstrak rimpang rumput teki menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* cukup mahal dan pembuatan media LJ yang sudah dicampur dengan berbagai konsentrasi ekstrak membutuhkan waktu 6 minggu agar hasil kultur dapat diobservasi, sehingga peneliti tidak dapat melakukan pengulangan kembali dikarenakan keterbatasan biaya dan waktu.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- a. *Mycobacterium tuberculosis* resisten terhadap ekstrak rimpang rumput teki pada konsentrasi 25 µg/ml, 50 µg/ml, 75 µg/ml.
- b. Hasil proporsi resistensi tiap konsentrasi ekstrak menunjukkan bahwa seiringnya peningkatan ekstrak, menghasilkan proporsi resistensi yang lebih rendah.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah :

- a. Perlu dilakukan penambahan konsentrasi ekstrak dengan harapan ekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada media LJ.
- b. Perlu ditemukan alat penghitungan koloni yang lebih cepat, akurat pada pertumbuhan bakteri yang konfluen agar tidak bersifat objektif..
- c. Dapat dipertimbangkan untuk memakai bahan media LJ, ekstrak yang sesuai standar untuk menghindari bias.
- d. Dapat dilakukan partisi khusus fitokemikal pada ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) seperti flavonoid atau alkaloid agar dapat memaksimalkan efektivitas antimikrobal dari ekstrak.

- e. Perlu dilakukan penelitian dengan metode lain yang lebih cepat dan ekonomis mengingat pertumbuhan bakteri yang lama pada media sehingga dibutuhkan 6 minggu dalam satu kali pengulangan untuk melakukan uji efektivitas anti bakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.
- f. Dapat dilakukan penelitian mengenai efektivitas antimikroba ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*) terhadap bakteri lain.



DAFTAR PUSTAKA

- Askun, Tulin. 2015. The Significance of Flavonoids as a Potential Anti-Tuberculosis Compounds. Research & Reviews: Journal of Pharmacology and oxicological Studies.
- Brennan, P.J. 2013. *Structure, function, and biogenesis of the cell wall of Mycobacterium tuberculosis*. Department of Microbiology, Colorado State University, Fort Collins, USA.
- Chadwick M, Trewin H, Gawthrop F, Wagstaff C. 2013. *Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People*. International Journal of Molecular Sciences.
- Cheyperatub, Prairadda. 2018. *The synergy and Mode of Action of Cyperus rotundus L. Extract plus Ampcillin against Ampicillin resistant. Staphylococcus aureus*. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.
- Cushnie, Tim., Cushnie, Benjamart., Lamb, Andrew. 2014. *Alkaloids: An overview of their antibacterial activities*. Faculty of Medicine, Masarakham University, Khamriang, Thailand.
- Dhar, Priyanka., Dhar, Debasmita Ghosh., Rawat, A.K.S., and Srivasta, Sharad. 2017. *Medical Chemistry and biological potentiall of Cyperus Rotundus Linn.: An Overview to discover elite chemotype(s) for industrial use*.108: 232-247.
- Do, Ouy Diem., Angkawijaya, Artik Elisa. 2014. *Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica*. Journal of Food and Drug Analysis.
- Garmana, A.N., Sukandar, E.Y. & Fidrianny. 2011. Uji Aktivitas Ekstrak beberapa Tumbuhan terhadap M ycobacterium tuberculosis Galur Sensitif dan Resisten
- Global Invasive Species Database. 2017. Species profile: *Cyperus rotundus*. <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=1448>. Diakses pada tanggal 27 Oktober 2017 pukul 20:00
- Hendra R., Ahmad S., Sukari A., Shukor MY., and Oskoueian E. 2011. Flavonoid analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl Fruit. *Int. J. Mol. Sci*.
- Jawetz, E, Melnick, J.L, and Adelberg's. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran, edisi 23*. Alih bahasa: Huriwati Hartanto. Jakarta: EGC

- Kamaliyah, Alfi. 2017. Efek Ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleriamacrocarpa*) terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.). Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Kasempimolporn, S., Thaveekarn, W., Kerdpanich, P., Skulpichetrat, U., Saekhow, O., Boonchang, S., Bharnthong, T., Sitprija, V. 2015. *Performance of a rapid strip test for the serologic diagnosis of latent tuberculosis in children. Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 9(1), DC11-4.
- Khutlang R, Krishnan S, Whitelaw A, Douglas TS. 2010. *Automated detection of tuberculosis in Ziehl-Neelsen-stained sputum smears using two one-class classifiers. J Microsc.*
- Kilani-Jaziri, S., Bhouri, W., et al. 2011. *Phytochemical, antimicrobial, antioxidant and antigenotoxic potentials of Cyperus rotundus extracts. South African Journal of Botany, Volume 77, Issue 3, 2011, Pages 767-776.*
- Kishore, Navneet., Mishra, Bhuwan. 2009. *Alkaloids as potential anti-tubercular agents. Department of chemistry, Faculty of Science, University of Banaras Hindu, India.*
- Kumar, Kandikattu Hemanth, et al. 2014. *Phytochemical analysis and biological properties of Cyperus rotundus.* 815-826.
- Kumar S, Pandey AK. 2013. *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The Scientific World Journal.*
- Manalu, Helper Sahabat P. 2010. Faktor-faktor yang mempengaruhi kejadian TB paru dan upaya penanggulangannya. *Jurnal Ekologi Kesehatan.*
- Mukhriani, Tetti. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif.
- Mulyani, Sri. 2006. *Anatomi Tumbuhan.* Yogyakarta: Kanisius.
- Nahid, Payam., Dorman, Susan E. Alipanah, Narges., et al. 2016. *Official American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines: Treatment of Drug-Susceptible Tuberculosis.*
- Nugrahaeni, Dyan. 2015. Analisis Penyebab Resistensi Obat Anti Tuberkulosis. *Jurnal Kesehatan Masyarakat.*

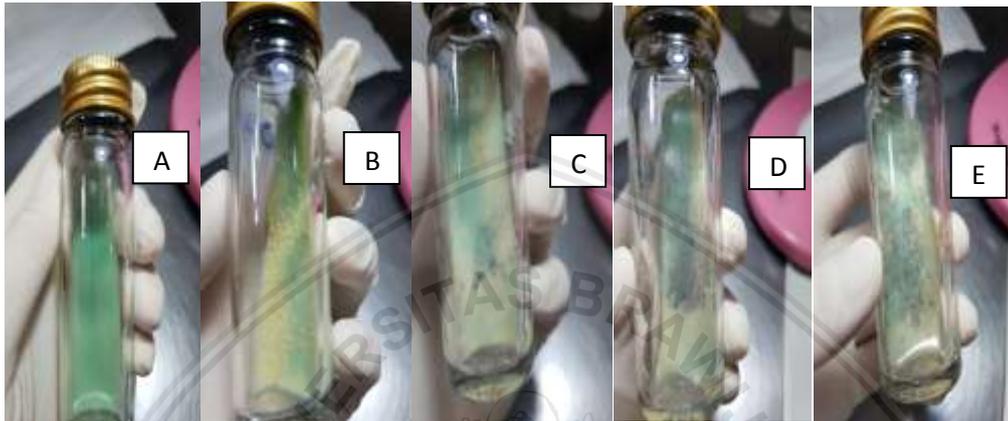
- PDPI. 2006. Tuberkulosis: Pedoman Diagnosis & Penyalaksanaan di Indonesia. <https://www.klikpdpi.com/konsensus/tb/tb.html>. Diakses pada tanggal 9 Oktober 2018
- Rajesh, N. & Archana, D. 2017. Natural Products Chemistry & Anti-mycobacterial Activity of Selected Indian Botanicals Using Surrogate Mycobacterium Strains.
- Sandhya, Chauhan. 2017. *An extremely rare association of Sweet's syndrome with active pulmonary tuberculosis*. Indian Journal of Tuberculosis.
- Sandjaja, B. 1992. Isolasi dan Identifikasi Mikobakteria. Widya Medika.
- Setiabudy, R. 2009. *Farmakologi dan Terapi, edisi 5*. Balai Penerbit FKUI: Jakarta. Hal: 585-587
- Shakoor S., Ahsan T. 2014. *Use of p-nitrobenzoic acid in 7H10 agar for identification of Mycobacterium tuberculosis complex: a field study*. Clinical Microbiology Laboratory, Aga Khan University Hospital, Karachi, Pakistan.
- Sherif Ahmed Essa. 2013. *Comparative study between using Lowenstein Jensen and Bio-FM media in identification of Mycobacterium tuberculosis*. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*.
- Takashima T, Higuchi T. 2008. *Mycobacterial test*. Pubmed PMID: 18283915
- Tatke, P., Jaiswal, Y. 2011. *An overview of Microwave Assisted Extraction and its Applications in Herbal Drug Research*. Research Journal of Medicinal Plants.
- Tsany, Rosy Mutiara., Kasno. 2011. Gambaran Klinis Tuberkulosis Paru di RSUP Dr. Kariadi Semarang Periode Januari-Juni 2011.
- USDA. 2017. *Plant profile for Cyperus Rotundus (nutgrass)*. <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=cyro>. Di akses pada tanggal 29 oktober 2017 pukul 13:30.
- Velayati, Ali Akbar., Farnia, Parissa. 2016. *Atlas of Mycobacterium Tuberculosis*.
- Wafa, Nouioua., Sofiane, Gaamoune., and Mouhamed, Kaabache. 2016. *The antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids and tannins extracted from Phlomis bovei de noe*. *European journal of Experimental Biology* 6(3): 55-61

- Wahyuningsih, Esther. 2014. *Pola Klinik Tuberkulosis Paru di RSUP Dr. Kariadi Semarang Periode Juli 2012-Agustus 2013*. Diss. Faculty of Medicine Diponegoro University.
- Werdhani, Retno Asti. 2012. *Patofisiologi, Diagnosis, Dan Klafisikasi Tuberkulosis." Departemen Ilmu Kedokteran Komunitas, Okupasi, Dan Keluarga. FKUI.*
- WHO. 2018. *Global Tuberculosis Report 2017*. http://www.who.int/tb/publications/global_report. Diakses pada tanggal; 18 Oktober 2018

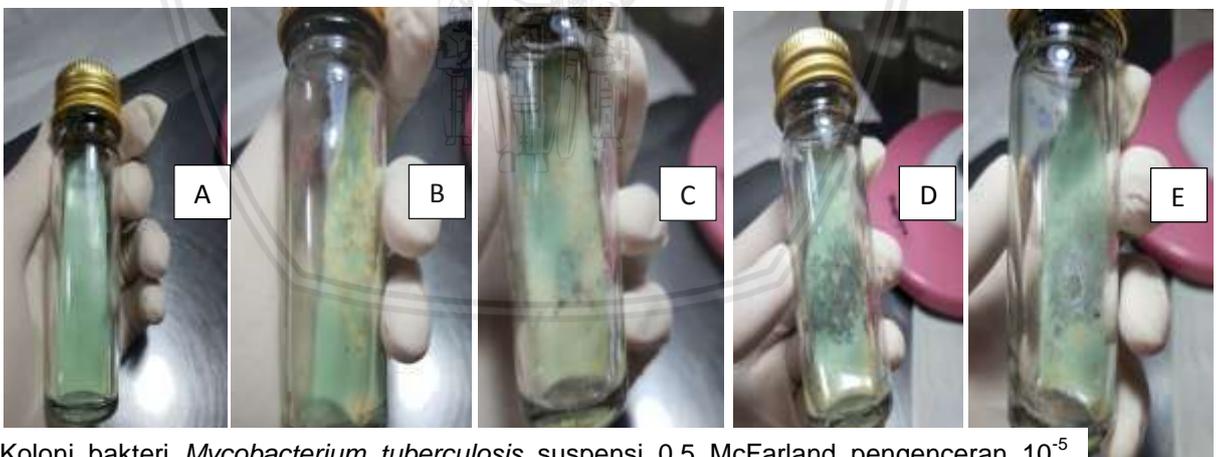


LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Penelitian



Koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* suspensi 0,5 McFarland pengenceran 10^{-3} minggu ke-6 pada medium LJ; A. Kontrol negatif; B. Kontrol Positif C. Pemberian ekstrak konsentrasi 25 $\mu\text{g/ml}$; D. Pemberian ekstrak konsentrasi 50 $\mu\text{g/ml}$; E. Pemberian ekstrak konsentrasi 75 $\mu\text{g/ml}$.



Koloni bakteri *Mycobacterium tuberculosis* suspensi 0,5 McFarland pengenceran 10^{-5} minggu ke-6 pada medium LJ; A. Kontrol negatif; B. Kontrol positif; C. Pemberian ekstrak konsentrasi 25 $\mu\text{g/ml}$; D. Pemberian ekstrak konsentrasi 50 $\mu\text{g/ml}$; E. Pemberian ekstrak konsentrasi 75 $\mu\text{g/ml}$.

Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian



Etanol



Media LJ cair



Microwave untuk ekstraksi



Ekstrak Rimpang Rumpuk Teki



Rotary Evaporator



Inkubator



Pipet mikro



Rak botol Mc Cartney

Lampiran 3. Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan *One Way ANOVA Test*

Hasil dari *Shapiro Wilk Normality Test*

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Proporsi_Resistensi	Rumput Teki 25	.212	6	.200	.927	6	.555
	Rumput Teki 50	.233	6	.200	.933	6	.601
	Rumput Teki 75	.180	6	.200	.936	6	.629

Hasil dari *Homogeneity Lavene Test*

Proporsi_Resistensi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.179	2	15	.838

Hasil dari *One Way ANOVA Test*

Proporsi_Resistensi

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.567	2	.284	559.499	.000
Within Groups	.008	15	.001		
Total	.575	17			

Lampiran 4. *Post Hoc Tukey Test*

Proporsi Resistensi

Tukey HSD^a

Kode	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Rumput Teki 75 µg/ml	6	,1170833		
Rumput Teki 50 µg/ml	6		,2779000	
Rumput Teki 25 mcg/ml	6			,5474500
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Dependent Variable: Proporsi Resistensi
Tukey HSD

Multiple Comparisons

(I) Kode	(J) Kode	Mean Difference			95% Confidence Interval	
		(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
ekstrak rumput teki 25 mcg/ml	ekstrak rumput teki 50 mcg/ml	,2695500*	,01300158	,000	,2357788	,3033212
	ekstrak rumput teki 75 mcg/ml	,43036667*	,01300158	,000	,3965955	,4641379
ekstrak rumput teki 50 mcg/ml	ekstrak rumput teki 25 mcg/ml	-,2695500*	,01300158	,000	-,3033212	-,2357788
	ekstrak rumput teki 75 mcg/ml	,16081667*	,01300158	,000	,1270455	,1945879
ekstrak rumput teki 75 mcg/ml	ekstrak rumput teki 25 mcg/ml	-,43036667*	,01300158	,000	-,4641379	-,3965955
	ekstrak rumput teki 50 mcg/ml	-,16081667*	,01300158	,000	-,1945879	-,1270455

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.