



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL PARE
(*Momordica charantia L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

Faruq Akbar Al Rosyad

NIM 072010101064

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2012



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL PARE
(*Momordica charantia L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Escherichia coli SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Faruq Akbar Al Rosyad

NIM 072010101064

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orangtua saya, Alm. Arik Larasati, Drs. H. Rushadi, S.H.,M.M.,M.H. dan dr. Hj. Endang Astuti M.M. yang selalu senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang telah dilakukan kepada saya tanpa mengharapkan adanya imbalan. Membuat mereka bangga adalah salah satu impian terbesar dalam kehidupan saya;
2. Keluarga besar saya, Budhe Erna, Mas Rizal, Mila, Mas Tyo, Icha, Mas Hendrik, Mbak Gita, Mbak Ratna, Mbak Wahyu, Alm Mak Tun dan Lek Mar, terima kasih atas dukungan dan doanya selama ini dalam menggapai cita-cita sebagai seorang dokter;
3. Guru-guruku tercinta dari bangku TK hingga kuliah, yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk saya sebagai manusia yang berguna dan bertakwa kepada ALLAH SWT;
4. Seluruh teman-teman dan orang terdekat yang selalu mendukung serta memotivasi perjuangan saya agar cepat segera lulus dan menyelesaikan skripsi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

"Jalan terbaik untuk bebas dari masalah adalah dengan memecahkannya"

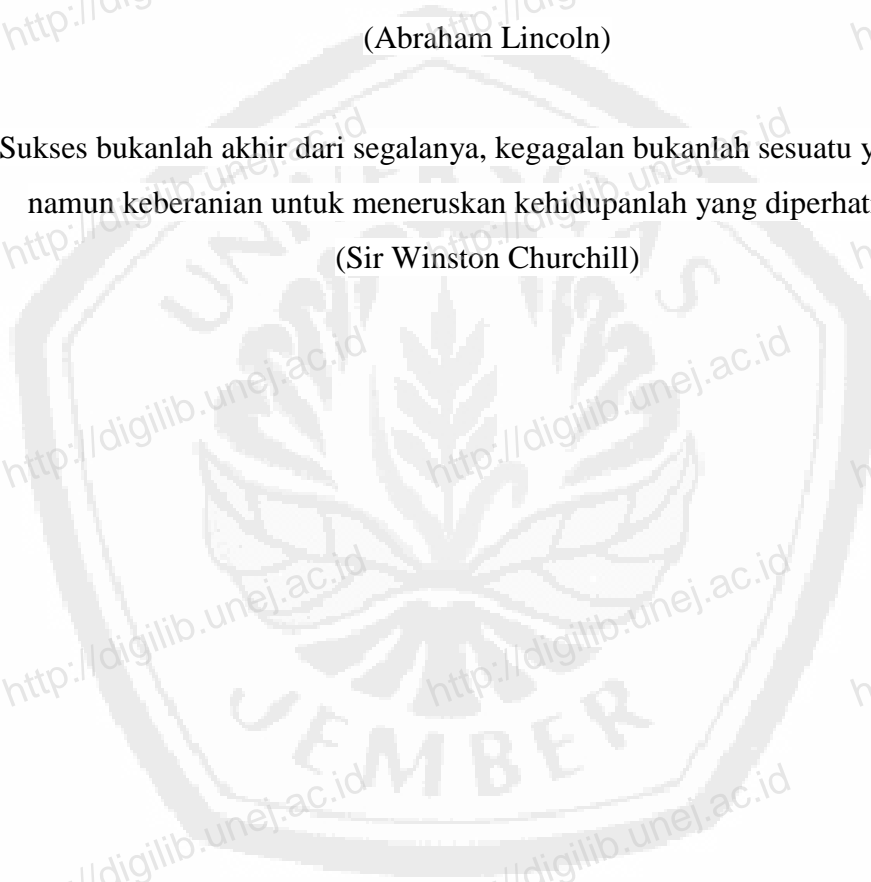
(Alan Saporita)

"Sesuatu mungkin mendatangi mereka yang mau menunggu, namun hanya didapatkan oleh mereka yang bersemangat mengejarnya"

(Abraham Lincoln)

"Sukses bukanlah akhir dari segalanya, kegagalan bukanlah sesuatu yang fatal: namun keberanian untuk meneruskan kehidupanlah yang diperhatikan "

(Sir Winston Churchill)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Faruq Akbar Al Rosyad

NIM : 072010101064

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,

Yang menyatakan,

Faruq Akbar Al Rosyad
NIM 072010101064

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
BUAH PARE (*Momordica charantia* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli*
SECARA *IN VITRO***

Oleh

Faruq Akbar Al Rosyad
NIM 072010101064

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Heni Fatmawati, M. Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 21 Juni 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 19700214 199903 2 001

dr. Edy Junaidi, M.Sc
NIP 19750801 200312 1 003

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes
NIP 197 203 182 003 122 001

dr. Heni Fatmawati, M. Kes
NIP 19760212 200501 2 001

Mengesahkan
Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*; Faruq Akbar Al Rosyad, 072010101064; 2012: 54 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyakit infeksi masih menempati urutan teratas penyebab kesakitan dan kematian di negara berkembang termasuk Indonesia. Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri. Salah satu penyebab infeksi adalah *Escherichia coli*. *E. coli* merupakan anggota flora usus normal yang pada umumnya tidak menyebabkan penyakit dan dalam usus mungkin berperan terhadap pengaturan fungsi dan absorpsi nutrisi makanan secara normal di dalam usus. Tapi, bakteri ini menjadi bersifat patogen apabila bakteri ini berada di luar usus. Penyakit infeksi termasuk oleh bakteri *E. coli* dapat diobati dengan menggunakan obat antibiotik. Namun, dalam beberapa tahun terakhir, banyak dilaporkan adanya resistensi obat terhadap bakteri patogen pada manusia. Hal ini mendorong ditemukannya produk alternatif untuk mengatasi infeksi *E. coli*, salah satunya adalah buah pare. Buah pare mengandung banyak senyawa kimia, antara lain *flavonoids* yaitu salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui: (1) adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap *E. coli* secara *in vitro*, (2) adanya perbedaan radius zona hambat pada aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare konsentrasi 0,12 mg/ml; 0,24 mg/ml; 0,49 mg/ml; 0,98mg/ml; 1,95 mg/ml; 3,9 mg/ml; 7,8 mg/ml 15,6 mg/ml terhadap pertumbuhan *E. coli*, serta (3) Mengetahui Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) *breakpoint* ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli*. Jenis penelitian yang digunakan adalah *True Experimental Design* dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah bakteri *E. Coli*, dengan besar sampel 48. Konsentrasi

larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol buah pare dengan konsentrasi 0,12 mg/ml; 0,24 mg/ml; 0,49 mg/ml; 0,98mg/ml; 1,95 mg/ml; 3,9 mg/ml; 7,8 mg/ml 15,6 mg/ml sedangkan kontrol negatifnya adalah larutan NaCMC 0,5%, dan kontrol positifnya adalah suspensi siprofloksasin.

Pada penelitian didapatkan rata-rata radius zona hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* pada media Mueller Hinton untuk tiap konsentrasi 15,6 mg/ml; 7,8 mg/ml; 3,9 mg/ml; 1,95 mg/ml; 0,98 mg/ml; 0,49 mg/ml; 0,24 mg/ml; dan 0,12 mg/ml berturut-turut yaitu 8,02 mm; 6,58 mm; 5,83 mm; 3,88 mm; 3,03 mm; 1,99 mm; 0,48 mm; dan 0 mm. Pengukuran dilakukan dengan menghitung zona hambat yang terbentuk dihitung dari tepi lubang sumuran hingga batas tepi zona bening yang terbentuk. Dengan ketetapan bahwa suatu konsentrasi dianggap mempunyai zona hambat apabila radius zona bening yang dihasilkan di atas 0 mm, maka dapat dikatakan bahwa pada konsentrasi 0,12 mg/ml tidak terbentuk zona hambat. Data kemudian dianalisis dengan uji *One Way* ANOVA untuk mengevaluasi perbedaan rata-rata antar populasi dan Uji Regresi Linear untuk menentukan KHM secara kuantitatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya radius zona hambat pada media Mueller Hinton. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah pare maka daya hambat terhadap pertumbuhan *E. coli* semakin besar. Selain itu, ekstrak etanol buah pare memiliki Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) *breakpoint* terhadap pertumbuhan *E. coli* secara kualitatif sebesar 7,8 mg/ml, sedangkan secara kuantitatif menggunakan Metode Regresi Linear didapatkan KHM sebesar 4,2 mg/ml.

PRAKATA

Puji syukur kepada ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku dosen penguji dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Heni Fatmawati, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. dr. Edy Junaidi, M.Sc sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Kedua orangtua saya, Drs. H. Rushadi, S.H.,M.M.,M.H. dan dr. Hj. Endang Astuti M.M. tercinta atas dukungan moril, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang selalu diberikan kepada saya;
5. Keluarga besar saya, Budhe Erna, Mas Rizal, Mila, Mas Tyo, Icha, Mas Hendrik, Mbak Gita, Mbak Ratna, Mbak Wahyu, Alm Mak Tun dan Lek Mar, terima kasih atas dukungan dan doa nya selama ini dalam menggapai cita-cita sebagai seorang dokter;
6. Rekan kerja saya, Okta dan Noverio yang telah senantiasa membantu saya;

7. Teman-teman angkatan 2007 tercinta, semua anggota TBM VERTEX dan rekan-rekan sejawat yang selalu mendukung dan telah berjuang bersama-sama selama ini berjuang untuk menyelesaikan studi di kampus FK UNEJ;
8. Teman terdekat yang selalu mendukung saya, Dito, Chandra dan Dayah;
9. Keluarga besar Mabes 2007 yang selalu mengingatkan saya baik dengan halus maupun kurang halus untuk segera menyelesaikan skripsi;
10. Guru-guru saya selama menempuh pendidikan selama ini di RA Perwanida, SDN Bendogerit III, SMPN 1 Blitar, SMAN 1 Sutojayan. Terima kasih atas semua ilmu yang telah diberikan kepada saya dan berusaha menjadikan saya sebagai sosok yang berguna bagi nusa dan bangsa;
11. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Univeritas Jember, Mbak Lilis dan seluruh staff kampus FK UNEJ, terima kasih atas bantuan dan kerjasama, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
12. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juni 2012

Penulis

DAFTAR ISI

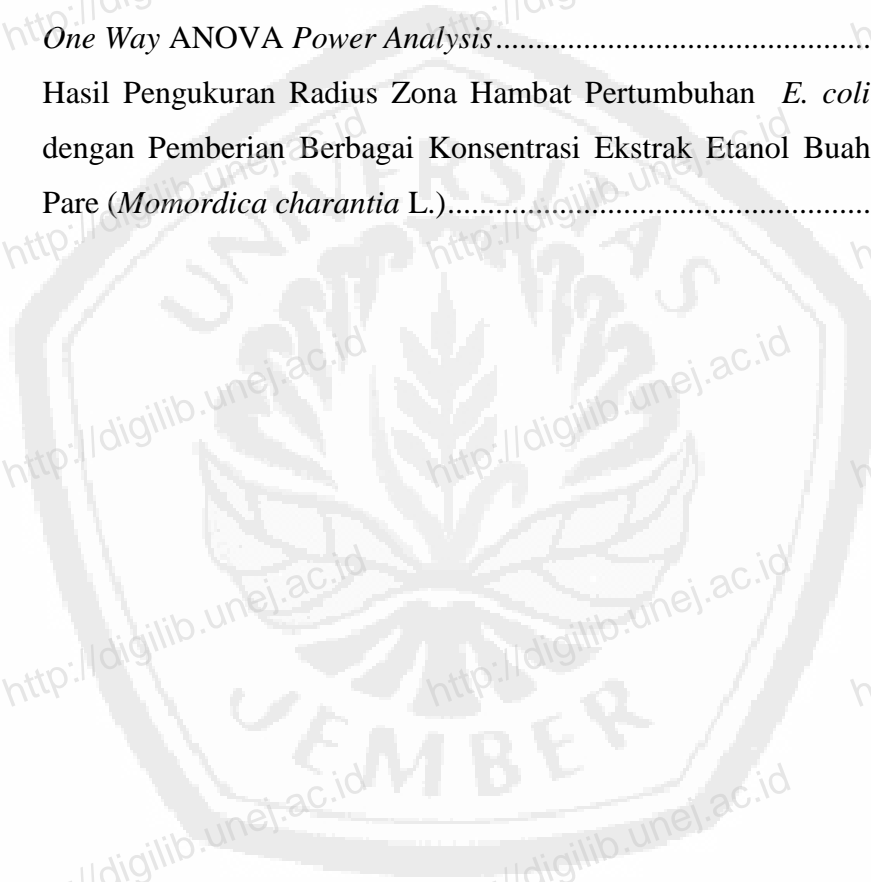
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Escherichia coli</i>	4
2.1.1 Klasifikasi <i>E. coli</i>	4
2.1.2 Morfologi <i>E. coli</i>	4
2.1.3 Struktur antigen.....	6
2.1.4 Penyakit yang disebabkan <i>E. coli</i>	6

2.2 Pare (<i>Momordica charantia L.</i>)	7
2.2.1 Klasifikasi Pare	8
2.2.2 Morfologi Pare (<i>Momordica charantia L.</i>).....	8
2.2.3 Kandungan Senyawa Pare (<i>Momordica charantia L.</i>).....	10
2.2.4 Pare (<i>Momordica charantia L.</i>) sebagai Antibakteri	13
2.2.5 Kontraindikasi dan Efek Samping Pare	13
2.3 Siprofloksasin	14
2.3.1 Efek samping antibiotik siprofloksasin.....	15
2.4 Metode Uji Kepekaan Antimikroba	16
2.4.1 Difusi.....	16
2.4.2 Dilusi.....	18
2.4.3 E-Test.....	18
2.5 Kerangka Konseptual Penelitian	19
2.6 Hipotesis Penelitian	20
BAB 3. METODE PENELITIAN	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Rancangan Penelitian	21
3.3 Metode Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibakteri	23
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.4.1 Tempat.....	23
3.4.2 Waktu.....	23
3.5 Sampel	23
3.5.1 Sampel Penelitian.....	23
3.5.2 Ukuran Sampel (<i>sample size</i>).....	23
3.6 Variabel penelitian	24
3.6.1 Variabel Bebas	24
3.6.2 Variabel Terikat	24
3.6.3 Variabel Terkendali.....	25
3.7 Definisi Operasional	25
3.8 Alat dan Bahan Penelitian	26
3.8.1 Bahan Penelitian	26

3.8.2	Alat Penelitian.....	26
3.9	Prosedur Penelitian.....	27
3.9.1	Persiapan Alat	27
3.9.2	Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Pare.....	27
3.9.3	Pembuatan Larutan NaCMC 0,5%	27
3.9.4	Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pare...	28
3.9.5	Pembuatan Larutan 0,5 McFarland.....	29
3.9.6	Pembuatan Suspensi <i>Escherichia coli</i>	29
3.9.7	Pembuatan Media Agar Mueller Hinton.....	29
3.9.8	Pembuatan Suspensi Siprofloksasin	30
3.9.9	Tahap Perlakuan.....	30
3.9.10	Tahap Pengamatan	30
3.10	Analisis Data.....	31
3.11	Alur Penelitian	32
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1	Hasil Penelitian.....	33
4.2	Analisis Data.....	36
4.3	Pembahasan	38
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
5.1	Kesimpulan.....	41
5.2	Saran	41
DAFTAR PUSTAKA.....		42
LAMPIRAN.....		47

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi <i>E. coli</i>	4
2.2 Klasifikasi Ilmiah Pare	8
2.3 Pare Import	10
3.1 <i>One Way ANOVA Power Analysis</i>	24
4.1 Hasil Pengukuran Radius Zona Hambat Pertumbuhan <i>E. coli</i> dengan Pemberian Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	33

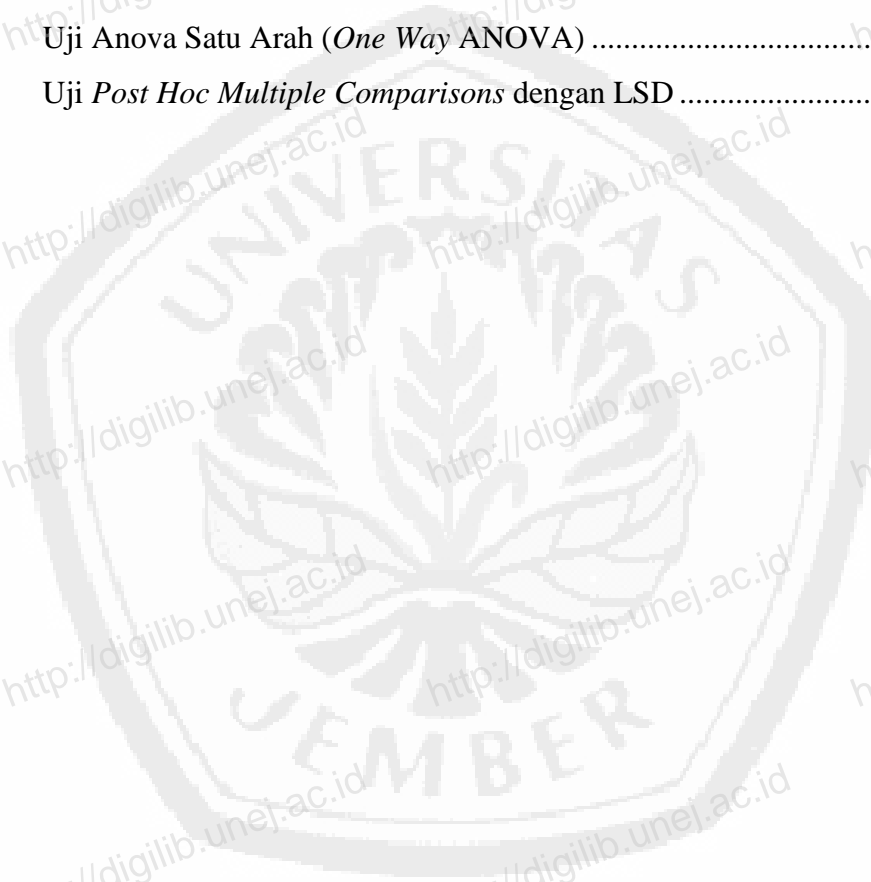


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Escherichia coli</i>	5
2.2 Koloni <i>Escherichia coli</i>	5
2.3 Pare	9
2.4 <i>Susceptibility Interpretive Criteria for Ciprofloxacin</i>	15
2.5 Skema Kerangka Konseptual Penelitian	19
3.1 Skema Rancangan Penelitian	22
3.2 Skema Alur penelitian	32
4.1 Grafik Rata-rata Radius Zona Hambat Pertumbuhan <i>E.coli</i> Setelah Kontak dengan Berbagai Tingkat Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pare (<i>Momordica charantia</i> L.), serta Kontak dengan Kontrol (-) dan Kontrol (+)	35
4.2 Zona Hambat Berbagai Tingkat Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pare (<i>Momordica charantia</i> L.) terhadap Pertumbuhan <i>E. coli</i> pada Media Mueller Hinton	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Uji Regresi Linear	47
B. Uji Normalitas Sampel dengan Prosedur Kolmogorov-Smirnov	48
C. Uji Homogenitas Sampel dengan Metode Levene's	49
D. Uji Anova Satu Arah (<i>One Way ANOVA</i>)	50
E. Uji <i>Post Hoc Multiple Comparisons</i> dengan LSD	51



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi masih menempati urutan teratas penyebab kesakitan dan kematian di negara berkembang termasuk Indonesia. Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri. Kasus infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme patogen yang masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan (Haptiasari, 2009). Salah satu penyebab infeksi adalah *Escherichia coli*. *E. coli* merupakan anggota flora usus normal yang pada umumnya tidak menyebabkan penyakit dan dalam usus mungkin berperan terhadap pengaturan fungsi dan absorpsi nutrisi makanan secara normal di dalam usus. Tapi, bakteri ini menjadi bersifat patogen bila bakteri ini berada di luar usus. Tempat yang paling sering terkena infeksi adalah saluran kemih, saluran empedu, dan tempat-tempat lain di rongga perut (Jawetz, 2005).

Penyakit infeksi termasuk oleh bakteri *E. coli* dapat diobati dengan menggunakan obat antibiotik. Namun, dalam beberapa tahun terakhir, banyak dilaporkan adanya resistensi obat terhadap bakteri patogen pada manusia. *E. coli* mempunyai tingkat resistensi yang tinggi terhadap ampisilin, penisilin G, amoksisilin, kloramfenikol, tetrasiklin dan sulbenisilin (Refdanita, *et al.* 2004). Resistensi ini terjadi apabila terdapat suatu mutasi genetik selama atau setelah terapi antibiotika sehingga kuman tersebut yang sebelumnya sensitif berubah menjadi resisten dengan peningkatan yang sangat tinggi *Minimum inhibitor concentration* (MIC), yang tidak dapat dicapai dengan pemberian antibiotik dengan dosis terapi (Sudoyo *et al.*, 2006). Selain itu, timbulnya beberapa efek samping pada beberapa obat sintesis menjadi alasan tersendiri untuk mengalihkan perhatian pada terapi alternatif (Ernawati, 2001:473). Hal tersebut mengharuskan dilakukannya penelitian untuk mencari substansi antibakteri baru dari berbagai bahan, termasuk dari tanaman (Rajendran dan Ramakrishnan, 2008; Kresnawaty dan Zainuddin, 2009).

Indonesia adalah negeri yang cukup kaya akan kekayaan alam. Sejak dulu, masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman daripada penggunaan obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif sedikit daripada obat modern (Sari, Lusua O.R.K, 2006).

Saat ini telah banyak dikembangkan obat tradisional dari tumbuhan, salah satunya adalah buah pare. Buah pare yang lazimnya digunakan sebagai makanan, saat ini telah digunakan dalam berbagai pengobatan, seperti dismenore, eksim, gout, hepatitis, nyeri perut, batu ginjal, lepra, keputihan, hemoroid, pneumonia, psoriasis, rematik, demam, skabies, antimalaria, antelmintik, dan antidiabet (Grover & Yadav, 2004). Dari penelitian yang dilakukan oleh Setyaningsih (2006) dan Tjiptasurasa *et al.* (2006), didapatkan kandungan dalam pare berupa *flavonoid* dan *alkaloid* yang mempunyai sifat anti bakteri. Mekanisme kerja *flavonoid* sebagai antibakteri adalah dengan menghambat sintesis DNA, mengganggu fungsi dari membran sitoplasma, dan menghambat transfer energi yang diperlukan untuk metabolisme bakteri (Cushnie *et al.*, 2005). Sedangkan *alkaloid* memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995). Pare juga dilaporkan mempunyai beberapa aktivitas seperti antihelmintik, antibakteri, antidiabetik, antioksidan, antiviral, antitumor (Taylor, 2002) serta immunomodulator (Chan *et al.*, 2005).

Tingginya manfaat buah pare, memungkinkan buah pare dapat menggantikan peran obat-obatan modern termasuk dalam hal mengobati infeksi khususnya infeksi *E. coli*. Sehubungan dengan hal tersebut, penulis ingin mengetahui ada tidaknya aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* secara *in vitro*?
- b. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) *breakpoint* ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap *E. coli* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) *breakpoint* ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Hasil penelitian ini dapat menjadi pertimbangan pemilihan ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) sebagai terapi alternatif untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *E. coli*.
- b. Memberikan sumbangan terhadap ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran, tentang efek antibakteri buah pare (*Momordica charantia* L.).
- c. Sebagai dasar penelitian lebih lanjut tentang efek antibakteri buah pare (*Momordica charantia* L.).

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah kuman oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. *E. coli* merupakan anggota dari *Enterobacteriaceae*. Kuman ini berbentuk batang pendek (*coccobasil*), Gram negatif, berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm (Guarner, 2003 dalam Astari, 2008). *E. coli* termasuk flora normal yang terdapat dalam usus, bakteri ini menjadi patogen ketika mereka mencapai jaringan di luar intestinal normal. *E. coli* dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksi.

2.1.1 Klasifikasi *E. coli*

Berikut adalah klasifikasi dari bakteri *E. coli*

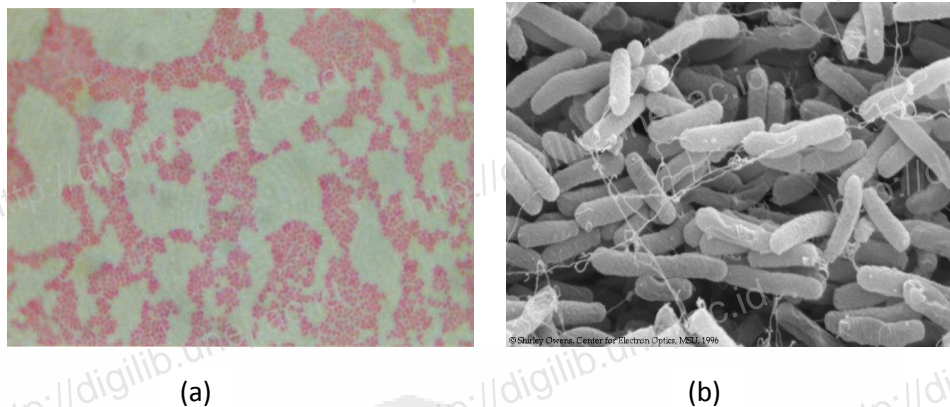
Tabel 2.1 Klasifikasi ilmiah *Escherichia coli*

Klasifikasi Ilmiah <i>Escherichia coli</i>	
Kingdom	<i>Prokaryota</i>
Divisio	<i>Gracilicutes</i>
Class	<i>Scotobacteria</i>
Ordo	<i>Eubacteriales</i>
Family	<i>Entobacteriaceae</i>
Genus	<i>Escherichia</i>
Species	<i>Escherichia coli</i>

Sumber: Bischoff *et al* (2007)

2.1.2 Morfologi *E. coli*

E. coli dapat tumbuh dengan baik pada media pembedihan untuk membiakkan kuman *Enterobacteriaceae*. Pada media differential seperti McConkey memberikan koloni dengan warna merah jambu dan pada media EMB berwarna seperti tetesan tinta dilantai yang disebut *metallic sheen* (Jawetz *et al*, 1996). *E. coli* berbentuk batang pendek (kokobasil) dengan ukuran panjang 1-4 mikron, lebar 0,4-0,7 mikron. Bakteri ini tidak berspora, bersifat negatif terhadap pewarnaan Gram, serta dapat bergerak menggunakan *peritrichus flagella*, dengan susunan kuman umumnya menyebar (Jawetz *et al*, 1996).



(a) pengamatan dengan mikroskop cahaya; (b) pengamatan dengan mikroskop electron

Gambar 2.1 *Escherichia coli*



(a) Media Mc Conkay ; (b) Media EMB agar

Gambar 2.2 Koloni *escherichia coli*

E. coli adalah anggota *coliform* yang bersifat predominan pada daerah intestinal terutama kolon. *E. coli* mempunyai sifat fakultatif anaerob. Sifat fakultatif anaerob berarti bahwa kuman itu secara normal menggunakan jalur aerobik untuk memproduksi ATP apabila dalam lingkungannya tersedia cukup oksigen. Namun, apabila oksigen tidak ada, kuman ini dapat memproduksi asam laktat dan alkohol (Brooks *et al.*, 1996).

2.1.3 Struktur Antigen

E. coli memiliki 3 jenis antigen yaitu antigen somatik (antigen O) yang bersifat tahan panas, antigen permukaan (antigen K) yang tidak tahan panas, antigen flagel (antigen H). Antigen O yang merupakan bagian terluar dari lipopolisakarida dinding sel dan terdiri atas unit polisakarida yang berulang. Antigen O tahan terhadap panas dan alkohol dan biasanya dideteksi dengan aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O terutama adalah IgM. Antigen K *E. coli* berada di luar antigen O. Antigen K pada *E. coli* adalah polisakarida. Antigen K dapat mengganggu aglutinasi melalui antiserum O dan dapat berhubungan dengan virulensi misalnya antigen K pada *E. coli* menyebabkan pelekatan bakteri pada sel epitel sebelum invasi ke saluran cerna atau saluran kemih. Sedangkan antigen H *E. coli* terletak pada flagel dan didenaturasikan atau dirusak oleh panas atau alkohol. Antigen H dipertahankan dengan memberikan formalin pada varian bakteri yang bergerak seperti pada *E. coli*. Antigen H semacam ini beraglutinasi dengan antibodi anti-H terutama IgG (Brooks *et al.*, 1996).

2.1.4 Penyakit yang Disebabkan *E. coli*

E. coli adalah anggota flora usus normal yang pada umumnya tidak menyebabkan penyakit, dan dalam usus mungkin berperan terhadap fungsi dan nutrisi normal. (Jawetz, 2005). *E. coli* dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksi, seperti infeksi saluran kemih (ISK) dan diare. Beberapa strain *E. coli* menyebabkan diare yaitu: *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC) merupakan penyebab umum diare pada wisatawan. *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC) dihubungkan dengan hemoragik kolitis, *Enteroinvasive E. coli* (EIEC) menyebabkan penyakit mirip shigellosis sedangkan *Enterogregative E. coli* (EAEC) menyebabkan diare yang akut dan kronis (Brooks, 2001).

Menurut Nataro dan Kaper (1998), strategi infeksi *E. coli* adalah membentuk koloni di mukosa, menghindari pertahanan tubuh manusia, memperbanyak jumlah koloni bakteri itu sendiri, dan merusak jaringan

tubuh. Semua strain diarrheogenic dapat menjajah permukaan mukosa usus, meskipun terdapat gerak peristaltik dan persaingan nutrisi makanan oleh flora normal usus lainnya. Tiga cara umum di mana *E. coli* dapat menyebabkan diare adalah dengan produksi enterotoksin, invasi, dan / atau menjalin keterikatan dengan sinyal membran.

E. coli sering dihubungkan dengan diare yang terjadi pada manusia. Strain *E. coli* yang menyebabkan diare pada manusia sangat banyak, yaitu EHEC (*Enterohemorrhagic E. coli*), EPEC (*Enteropathogenic E. coli*), ETEC (*Enterotoxigenic E. coli*), EIEC (*Enteroinvasive E. coli*), EaggEC (*Enteraggregative E. coli*) (Mufida et al, 2006). EPEC menyebabkan diare terutama pada bayi dan anak-anak di negara sedang berkembang dengan mekanisme yang belum jelas diketahui. ETEC menyebabkan *secretory diarrhea* seperti pada kolera, strain kuman ini mengeluarkan toksin LT atau ST. EIEC menyebabkan penyakit diare dengan cara menginvasi sel mukosa, menimbulkan kerusakan sel dan terlepasnya lapisan mukosa dengan ciri khas tinja yang dihasilkan adalah tinja yang mengandung darah, mukus, dan pus. *E. coli* merupakan 50% penyebab pneumonia (Mardiastuti, 1994).

2.2 Pare (*Momordica charantia* L.)

Tanaman pare tumbuh di daerah tropis, seperti Amazon, Afrika Timur, Asia, India, Amerika Selatan, dan Karibia, dan biasanya digunakan sebagai makanan dan obat tradisional (Taylor, 2002). Tidak diketahui kapan pastinya tanaman pare ini masuk ke Indonesia (Rukmana, 2006). Tanaman pare tumbuh dengan baik di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar, tegalan, dibudidayakan atau ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar. Tanaman ini tidak memerlukan banyak sinar matahari sehingga dapat tumbuh subur di tempat-tempat yang agak terlindung (Anonim, 2005).

Sebutan pare di negara lain adalah: bitter melon, papailla, melao de sao caetano, bittergourd, sorosi, a'jayib al maasi, assorossie, balsam apple, balsam pear, chin li chih, ejinrin gile khandan, fu-kua, karela, k'u kua kurela, kor-kuey, ku gua, lai p'u t'ao, pava-aki, salsamino, sorci, sorossi (Taylor, 2002).

2.2.1 Klasifikasi Pare

Dalam ilmu botani, Klasifikasi tanaman pare (*Momordica charantia* L.) adalah sebagai berikut:

Tabel 2.2 Klasifikasi Ilmiah Pare

Kingdom	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Sub-divisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledoneae
Ordo	Cucurbitales
Family	Cucurbitaceae
Genus	Momordica
Species	<i>Momordica charantia</i> L.

Sumber: Rukmana, Rahmat. 2006. *Budi Daya Pare*. Yogyakarta: Kanisius

2.2.2 Morfologi Pare (*Momordica charantia* L.)

Tanaman pare (*Momordica charantia* L.) adalah tanaman herba semusim (*annual*) yang tumbuh menjalar atau merambat dengan batang yang ramping, tidak berkayu, mempunyai sulur-sulur pembelit yang berbentuk pilin. Daunnya tunggal, besar, menjari, mempunyai tangkai panjang, dan berwarna hijau. Bunganya berwarna kuning, alat reproduksi jantan dan betina terpisah tetapi masih dalam satu tanaman, dan terletak pada ketiak daun. (Jagessar *et al.*, 2008). Buah bulat memanjang seperti mentimun, dengan 8-10 rusuk memanjang, berbintil-bintil tidak beraturan, panjangnya 8-30 cm, daging buahnya agak tebal, dan di dalamnya terdapat sejumlah biji (Rukmana, 2006). Biji pare berbentuk bulat, berkulit agak tebal dan keras, serta permukaannya tidak rata (Ram *et al.*, 2006).



Gambar 2.3 Pare

Menurut Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian DKI Jakarta (1996) dan Rukmana (2006) ada beberapa jenis pare:

a. Pare gajih

Pare ini paling banyak dibudidayakan dan paling disukai. Pare ini biasa disebut pare putih atau pare mentega. Bentuk buahnya panjang dengan ukuran 30-50 cm, diameter 3-7 cm, berat rata-rata antara 200-500 gram/buah. Pare ini berasal dari India dan Afrika.

b. Pare hijau

Pare hijau berbentuk lonjong, kecil dan berwarna hijau dengan bintil-bintil agak halus. Pare ini banyak sekali macamnya, diantaranya pare ayam, pare kodok, pare alas atau pare ginggae. Dari berbagai jenis tersebut paling banyak ditanam adalah pare ayam. Buah pare ayam mempunyai panjang 15-20 cm. Sedangkan pare ginggae buahnya kecil hanya sekitar 5 cm. Rasanya pahit dan daging buahnya tipis. Pare hijau ini mudah sekali pemeliharaannya, tanpa lanjutan atau para-para tanaman pare hijau ini dapat tumbuh dengan baik.

c. Pare import

Jenis pare ini berasal dari Taiwan. Benih pare ini merupakan hybrida yang final stock sehingga jika ditanam tidak dapat menghasilkan bibit baru. Jika dipaksakan juga akan menghasilkan produksi yang jelek dan menyimpang dari asalnya. Di Indonesia terdapat tiga varietas yang telah beredar yaitu *Known-you green*, *known-you no. 2*, dan *Moonshine*. Perbedaan ketiga jenis pare

import ini adalah mengenai permukaan kulit, kecepatan tumbuh, kekuatan penampilan, bentuk buah, dan ukuran buah, dapat dilihat pada Tabel 2.2 berikut ini.

Tabel 2.3 Pare Import

Ciri-ciri khas	<i>Known-you green</i>	<i>Known-you no. 2</i>	<i>Moonshine</i>
Kulit buah	Halus, tidak berbintil, bergalur lebar	Berbintil-bintil besar	Berbintil-bintil besar
Warna buah	Hijau	Putih susu	Putih salju
Bentuk	Lonjong meruncing	Bulat lonjong	Bulat lonjong
Berat buah	350-650 gram	500 gram	600-700 gram
Daging buah	Daging tebal	Daging tebal	Daging tebal
Pertumbuhan	Cepat dan kuat	Cepat dan kuat	Cepat dan kuat

Sumber: Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian DKI Jakarta (1996).

d. Pare belut

Bentuknya memanjang seperti belut. Panjangnya antara 30-110 cm dan berdiameter 4-8 cm. Pare belut ini tidak termasuk *Momordica sp*, melainkan tergolong jenis *Trichosanthus anguina* L.

2.2.3 Kandungan Senyawa Pare (*Momordica charantia* L.)

Pare sering dijadikan sebagai bahan makanan oleh sebagian besar masyarakat di Indonesia. Selain itu, kandungan dalam pare juga berfungsi sebagai obat (Rukmana, 2006). Secara alami setiap tumbuhan memiliki kandungan senyawa kimia di dalamnya, begitu juga dengan pare. Hal ini yang memberikan warna, rasa, bau, dan tekstur khas pada pare (Sarin, 2005).

Kandungan kimia yang terdapat dalam pare antara lain *alkaloid*, *charantin*, *charine*, *cryptoxanthin*, *cucurbitins*, *cucurbitacins*, *cucurbitanes*, *cycloartenols*, *diosgenin*, *elaeostearic acids*, *erythrodiol*, *flavonoid*, *galacturonic acids*, *gentisic acid*, *goyaglycosides*, *goyasaponins*, *guanylate cyclase inhibitors*, *gypsogenin*, *hydroxytryptamines*, *karounidiols*, *lanosterol*, *lauric acid*, *linoleic acid*, *linilenic acids*, *momorcharasides*, *momorcharins*, *momordenol*, *momordicilin*, *momordicins*, *momordicinin*, *momordicosides*, *momordin*,

momordolo, multiflorenol, myristic acid, nerolidol, oleanolic acid, oleic acid, oxalic acid, pentadecans, peptides, petroselinic acids, polifenol, rubixanthin, spinasterol, steroidal glycosides, stigmasta-diols, stigmasterol, taraxerol, trehalose, trypsin inhibitors, triterpenes, uracil, vacine, v-insulin, verbascoside, vicine, zeatin, zeatin riboside, zeaxanthin, zeinoxanthin (Taylor, 2002; Xie *et al.*, 1998; Thenmozhi dan Subramanian, 2009)

Kandungan Pare yang penting untuk kaitannya dengan aktivitas antibakteri adalah sebagai berikut :

a. *Flavonoid*

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga dan *hornwort*. *Flavonoid* terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, bunga, nectar serta biji (Markham, 1988:10). Senyawa *flavonoid* adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Lenny, 2006:14). Senyawa ini merupakan pigmen larut air yang ditemukan hampir disetiap tumbuhan tingkat tinggi dan berkontribusi memberikan warna pada bunga dan buah (Sarin, 2005). Selain itu, *flavonoids* juga dapat ditemukan pada seluruh bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, dan biji (Markham, 1988).

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. *Flavonoid* memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, cincin benzena (C6) terikat pada suatu rantai propana (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan 3 jenis struktur yakni *1,3-diarilpropan* atau *flavonoid*, *1,2 diarlpropan* atau *isofalvonoid*, dan *1,1 diarlpropan* atau *neoflavonoid*. *Flavonoid* merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau kecuali pada alga. *Flavonoid* yang lazim ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (*angiospermae*) adalah *flavon*, *flavonol*, *isoflavon*, *flavanon*, *khalkon*, *dihidrokhalkon*, *proantosianidin* dan antosianin. Senyawa-

senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah. *Flavonoid* dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat *flavonoid* antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Markham, 1988).

Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melawan *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium* dan *Stenotrophomonas maltophilia*. Beberapa teori menyatakan mekanisme kerja *flavonoid* sebagai antibakteri adalah dengan menghambat sintesis DNA, mengganggu fungsi dari membran sitoplasma dan menghambat transfer energi yang diperlukan untuk metabolisme bakteri (Cushnie *et al*, 2005).

b. Polifenol

Senyawa *polifenol* terdiri dari beberapa subkelas yakni, flavonol, isoflavon (dalam kedelai), flavanon, antosianidin, katekin, dan biflavan (Purwatiwidiastuti, 2009). Rata-rata konsumsi *polifenol* dalam seharinya sampai 23 mg. Khasiat dari *polifenol* adalah antimikroba dan menurunkan kadar gula darah (Arnelia, 2004). *Polifenol* juga berperan melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas sehingga mencegah proses inflamasi dan peradangan pada sel tubuh serta bermanfaat menurunkan risiko penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, alzheimer, dan kanker (Purwatiwidiastuti, 2009).

c. Alkaloid

Alkaloids adalah suatu golongan senyawa organik yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua *alkaloids* mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa. Senyawa ini dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting, dan kulit batang. *Alkaloids* umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (Lenny, 2006).

Menurut Karou *et al.* (2006) senyawa *alkaloid* dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. *Alkaloid* memiliki

kemampuan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

2.2.4 Pare (*Momordica charantia* L.) sebagai Antibakteri

Buah pare (*Momordica charantia* L.) memiliki aktivitas antibakteri (Jagessar *et al.* 2008). Hal ini disebabkan adanya kandungan flavonoid dan *alkaloid* yang berperan sebagai antibakteri pada pare (Taylor, 2002; Saeed *et al.*, 2005).

Dalam fungsinya sebagai antibakteri, *flavonoids* memiliki kemampuan untuk terlarut dan berikatan dengan protein ekstraseluler dan protein integral (Cowan, 1999). Akibat mekanisme tersebut, permeabilitas dinding sel terganggu sehingga dinding sel pecah karena tidak mampu menahan tekanan sitoplasma (Lasmayanty, 2007). Ada tiga jenis *flavonoids* pada pare, antara lain *kampherol*, *luteolin*, dan *quercetin* (Agarwal & Kamal, 2007). Di antara ketiga jenis *flavonoids* tersebut, *quercetin* memiliki aktivitas antibakteri terkuat (Akroum *et al.*, 2009). Sedangkan *alkaloids* mampu merubah struktur dan susunan asam amino dari sel bakteri sehingga mengganggu pembentukan lapisan dinding sel dan merusak DNA bakteri, hal inilah yang menyebabkan kematian bakteri tersebut (Robinson, 1995).

2.2.5 Kontraindikasi dan Efek Samping Pare (*Momordica charantia* L.)

Pemakaian jangka panjang tanaman ini dapat mengakibatkan kematian pada flora normal tubuh, dengan konsekuensi jamur atau kandida oportunistik tumbuh secara berlebihan. Pare juga mempunyai efek merangsang kontraksi rahim/uterus, sehingga kontraindikasi selama kehamilan. Bahan aktif yang terkandung dalam pare juga dapat masuk ke dalam ASI, sehingga kontraindikasi pada wanita yang sedang menyusui (Taylor, 2002). Konsumsi pare perlu diperhatikan bagi penderita diabetes yang juga mengkonsumsi obat antidiabetes karena berdasarkan studi yang menyatakan bahwa pare dapat menurunkan kadar

gula darah sehingga ditakutkan terjadinya hipoglikemi. Disarankan, pare dikonsumsi dengan dosis maksimal 20 mg/kg BB (Erden, 2010).

2.3 Siprofloksasin

Siprofloksasin merupakan agen antibakteri golongan kuinolon yang bekerja dengan cara menghambat DNA girase, suatu enzim yang menekan DNA bakteri menjadi superkoil. Untuk memasukkan DNA untai ganda yang panjang ke dalam sel bakteri, DNA diatur dalam loop (DNA terelaksasi) yang kemudian diperpendek oleh proses superkoil. Siprofloksasin merupakan agen antibakteri spektrum luas. Selain itu, siprofloksasin merupakan bakterisida karena menghambat lepasnya untai-untai DNA yang terbuka pada proses superkoil. Salah satu sifat penting dari siprofloksasin ini adalah penetrasinya yang baik ke dalam jaringan dan sel dan toksisitasnya yang rendah (Neal, 2006). Cara kerja siprofloksasin yang merusak DNA ini mirip dengan mekanisme kerja flavonoid yang juga sama-sama menghambat sintesis DNA (Cushnie *et al*, 2005).

Siprofloksasin mempunyai substituen 6-fluoro yang sangat memperkuat potensi antibakteri melawan organisme Gram positif dan terutama Gram negatif, termasuk *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella*, dan *Campylobacter*. Sejauh ini resistensi tidak sering terjadi. Siprofloksasin diabsorpsi dengan baik secara oral dan dapat diberikan secara intravena. Siprofloksasin dieliminasi oleh ginjal dan sebagian besar dieliminasi dalam bentuk yang tidak berubah (Neal, 2006).

Pada salah satu penelitian, Siprofloksasin diperoleh nilai KHM rata-rata antara 0,33-0,67 µg/ml terhadap bakteri Gram positif dan rata-rata antara 0,21-0,42 µg/ml terhadap bakteri Gram negatif. Siprofloksasin secara umum dikatakan mempunyai daya anti bakteri baik terhadap golongan bakteri Gram negatif karena mempunyai KHM antara 0,004-2 µg/ml (Fauzia, *et al*. 2005),

Penggunaan siprofloksasin ditujukan antara lain untuk pengobatan infeksi saluran kemih, infeksi gastrointestinal, demam tifoid, infeksi saluran napas, pencegahan infeksi intraabdomen pada penderita gangguan hepar, luka bakar, ulkus, dan prevensi luka operasi (Chandra, 2004). Mekanisme kerja dari Siprofloksasin adalah menghambat DNA girase yang terdapat dalam bakteri dan

mencegahnya untuk berkembang biak. Berdasarkan gambar tabel di bawah, nilai MIC untuk Siprofloksasin terhadap *enterobacter* salah satu nya *E. coli* adalah sebesar 1 µg/ml.

Gambar 2.4 *Susceptibility Interpretive Criteria for Ciprofloxacin*

Species	MIC (µ g/mL)		
	S	I	R
Enterobacteriaceae	≤ 1	2	≥ 4
Enterococcus faecalis	≤ 1	2	≥ 4
Methicillin susceptible Staphylococcus species	≤ 1	2	≥ 4
Pseudomonas aeruginosa	≤ 1	2	≥ 4
Haemophilus influenzae	≤ 1 ^a	9	9
Haemophilus parainfluenzae	≤ 1 ^a	9	9
Penicillin susceptible Streptococcus pneumoniae	≤ 1 ^c	2 ^c	≥ 4 ^c
Streptococcus pyogenes	≤ 1 ^c	2 ^c	≥ 4 ^c
Neisseria gonorrhoeae	≤ 0.06 ^e	0.12 – 0.5 ^e	≥ 1 ^e

S=Susceptible, I=Intermediate, and R=Resistant.

Sumber: *Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Tenth Edition. CLSI Document M2-A10 Vol. 29, No. 1, CLSI, Wayne, PA, January, 2009.*

2.3.1 Efek samping antibiotik siprofloksasin

Efek samping penggunaan antibiotik ini yaitu:

1. Efek terhadap saluran cerna meliputi mual, diare, muntah, dispepsia, nyeri abdomen, flatulensi, anoreksia, dan disfagia.
2. Efek terhadap sistem saraf meliputi pusing, sakit kepala, rasa letih, insomnia, agitasi, tremor, sangat jarang terjadi paralgesia perifer, berkeringat, kejang, anxietas, mimpi buruk, konvulsi, depresi, halusinasi, gangguan pencapaian, penciuman, dan penglihatan. Reaksi tersebut kadang-kadang timbul setelah pemakaian siprofloksasin untuk pertama kalinya.

3. Reaksi hipersensitifitas meliputi kemerahan pada kulit, pruritus, drug fever, bahkan bisa terjadi reaksi anafilaktik sindrom Steven Johnson yang dapat mengancam jiwa.
4. Efek terhadap renal/urogenital meliputi nefritis interstitial, gagal ginjal, retensi urin dan asidosis.
5. Efek terhadap hati, biasanya terjadi hepatitis. Sangat jarang terjadi nekrosis hati.
6. Efek terhadap kardiovaskuler meliputi takikardi, palpitasi, atrial flutter, ventrikular ektopi, sinkop, hipertensi, angina pectoris, dan infark miokard tapi semua itu jarang terjadi (Dexa, 2009).

2.4 Metode Uji Kepekaan Antimikroba

Uji aktivitas antibakteri merupakan uji kepekaan kuman terhadap antibiotika tertentu, dalam hal ini yang diuji adalah ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.). Tujuan utama dari uji kepekaan kuman adalah untuk menentukan apakah suatu bakteri tertentu resisten terhadap antibakteri yang menjadi pilihan dari terapi suatu infeksi tertentu (Bailey, 2002).

Penentuan aktivitas antimikroba suatu ekstrak tanaman dapat dilakukan bila terpenuhi tiga syarat, yaitu (1) ekstrak tanaman harus bisa kontak dengan dinding sel mikroorganisme, (2) kondisi pengujian diatur sedemikian rupa sehingga mikroorganisme dapat tumbuh saat tidak ada bahan antimikroba, dan (3) ada parameter ukur tingkat pertumbuhan mikroorganisme (Hostettman dalam Triatmoko, 2009).

Metode uji kepekaan mikroba dibagi menjadi tiga tipe berdasarkan teknik yang diterapkan dalam sistem-sistem tersebut, diantaranya (Suswati dan Mufidah, 2009) :

2.4.1 Difusi

Teknik ini merupakan uji kepekaan yang paling sering digunakan karena pelaksanaannya mudah dan tidak mahal, serta pengukurannya tidak sulit. Metode difusi ini memiliki beberapa modifikasi, yaitu (Suswati dan Mufida, 2009):

a. Cara Kirby Bauer.

Pada uji ini inokulum standar organismenya dihapuskan pada permukaan media Mueller Hinton agar plate, kemudian cakram antibiotik atau kertas filter yang terimpregnasi dengan agen antimikroba diletakkan pada agar yang telah dihapus dengan mikroorganisme tersebut. Setelah diinkubasi dengan suhu 35°C selama semalam (24 jam), diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram diukur.

b. Cara Sumuran

Langkah-langkah pada cara sumuran hampir sama seperti pada cara Kirby Bauer. Namun, yang membedakan adalah dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan kemudian ke dalam sumuran tersebut ditetaskan larutan antibiotika yang digunakan sebagai pengganti cakram antibiotika atau kertas filter yang terimpregnasi dengan agen antimikroba.

c. Cara Pour Plate

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan biakan kuman dengan agar base 1,5% yang bertemperatur 50°C sampai homogen kemudian dituangkan pada media Mueller Hinton agar. Setelah membeku, diletakkan cakram antibiotika lalu dieramkan selama 15-20 jam dengan temperature 37°C .

Dari berbagai cara di atas, pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri oleh aktivitas agen antimikroba dilakukan dengan cara yang sama, dilakukan dengan menggunakan jangka sorong (Lalitha, 2008). Ukuran zona hambat bersifat berbanding terbalik dan proporsional terhadap MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dari mikroorganisme. Untuk masing-masing antibiotika dan jenis kumannya, mempunyai diameter yang berbeda-beda untuk dinilai sebagai antibiotika yang sensitif. Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan dapat diketahui data kualitatif berupa sensitif atau intermediate atau resisten (Forbes *et al*, 2002).

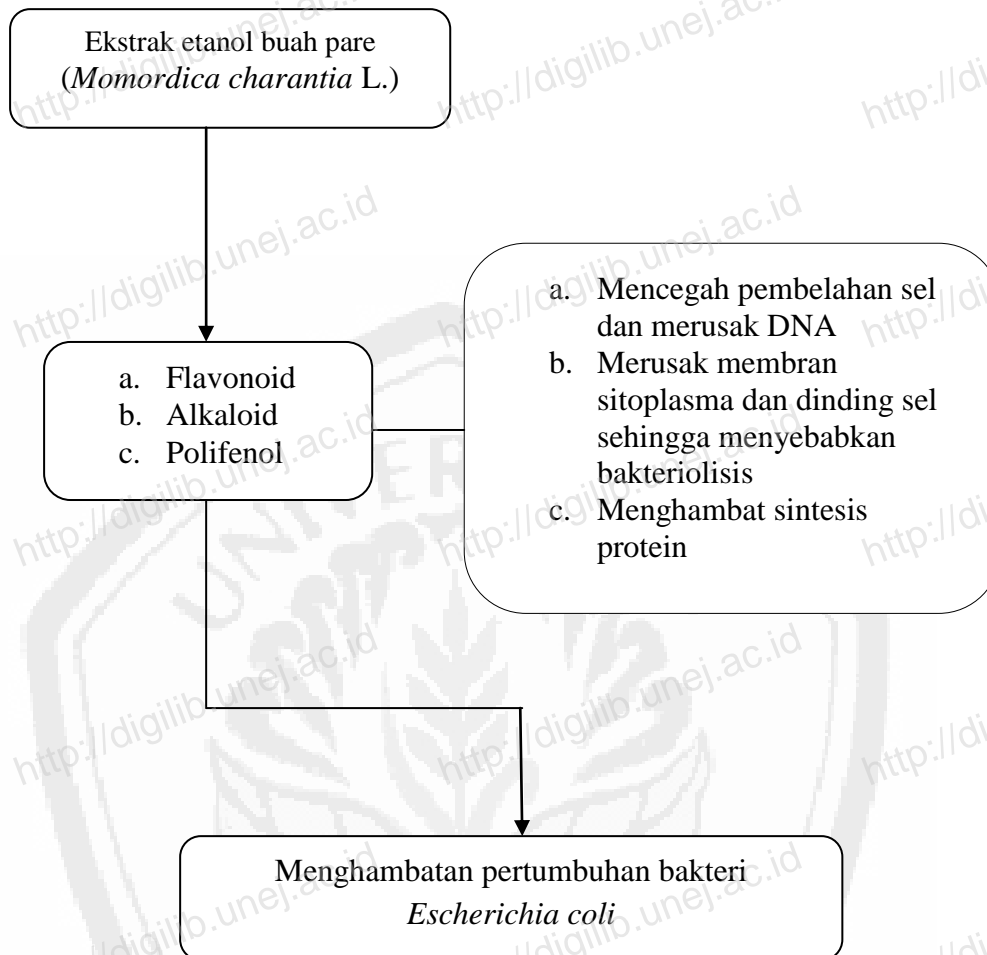
2.4.2 Dilusi

Berbeda dengan cara difusi, cara dilusi ini kurang praktis dan ekonomis karena satu media hanya dapat digunakan untuk satu penelitian. Tapi kelebihanannya yaitu cara ini bisa digunakan untuk zat-zat yang tidak mudah larut dalam media. Cara dilusi ini bisa dilakukan dengan dilusi cair dan dilusi padat. Pada dilusi cair dibedakan menjadi dua kategori yaitu makrodilusi dan mikrodilusi bergantung pada volumenya. Prinsipnya, antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi dapat ditambah suspensi kuman dalam media sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi antibakteri dicampur dengan media lalu ditanami kuman (Bailey, 2002).

2.4.3 E-Test

E-Test digunakan untuk uji kepekaan antimikroba yaitu menentukan MIC. Metode ini menggunakan strip plastik yang mengandung gradient agen antimikroba yang diaplikasikan pada satu sisi strip dan interpretasi skala pada sisi yang lain. Sisi yang mengandung antibiotik pada strip ditempelkan di permukaan agar plate yang telah diinokulasi dengan bakteri. Kemudian akan terbentuk zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar strip. Besarnya zona hambat ditentukan oleh konsentrasi agen antimikroba. MIC ditentukan dengan membaca skala pada titik zona hambat yang memotong strip (Baron *et al.*, 1994).

2.5 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.5 Skema kerangka konseptual penelitian

2.6 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) mempunyai aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.



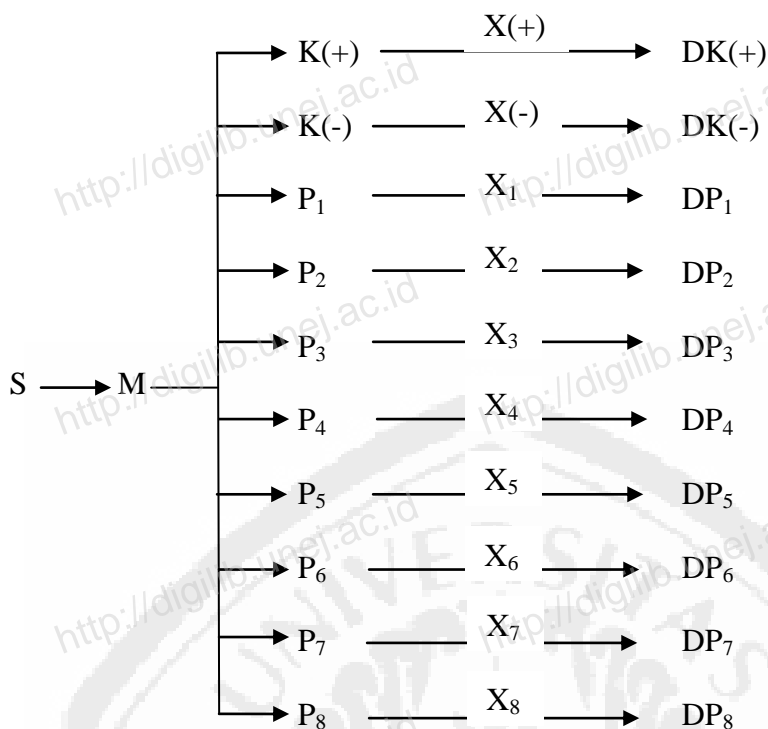
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *True Eksperimental*. Sedangkan rancangan yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design* (Rancangan Postes dengan kelompok kontrol). Karena kasus-kasus telah dirandomisasi baik pada kelompok eksperimen maupun kelompok kontrol, kelompok-kelompok tersebut dianggap sama sebelum dilakukan perlakuan. (Soekidjo, 2010)

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Posttest Only Control Group Design*. Dengan rancangan ini, memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Soekidjo, 2010). Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1 dibawah ini.



Keterangan :

S : Sampel (suspensi bakteri *E. coli*)

M : Media agar Mueller Hinton

K(+): Kelompok kontrol positif (suspensi siprofloksasin)

K(-): Kelompok kontrol negatif (NaCMC 0,5%)

P₁₋₈ : Berturut-turut kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8

X(+): Perlakuan berupa kontak dengan kontrol positif (suspensi siprofloksasin) selama 24 jam (inkubasi)

X(-): Perlakuan berupa kontak dengan kontrol negatif (NaCMC 0,5%) selama 24 jam (inkubasi)

X₁₋₈ : Berturut-turut perlakuan berupa kontak dengan ekstrak etanol buah pare konsentrasi 0,12 mg/ml; 0,24 mg/ml; 0,49 mg/ml; 0,98mg/ml; 1,95 mg/ml; 3,9 mg/ml; 7,8 mg/ml 15,6 mg/ml selama 24 jam (inkubasi)

DK(+): Data perlakuan dengan kontrol positif (suspensi siprofloksasin)

DK(-): Data perlakuan dengan kontrol negatif (NaCMC 0,5%)

DP₁₋₈ : Berturut-turut data perlakuan dengan ekstrak etanol buah pare konsentrasi 0,12 mg/ml; 0,24 mg/ml; 0,49 mg/ml; 0,98mg/ml; 1,95 mg/ml; 3,9 mg/ml; 7,8 mg/ml 15,6 mg/ml

Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

3.3 Metode Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibakteri

Metode uji kepekaan kuman terhadap antibakteri yang digunakan adalah metode difusi dengan cara sumuran (Suswati *et al*, 2007). Metode ini paling sensitif di antara metode difusi lainnya (Jagessar *et al.*, 2008) dan paling baik jika digunakan untuk *screening* aktivitas antibakteri (Saeed dan Tariq, 2005).

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

3.4.1 Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol pare dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember sedangkan penelitian uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2012.

3.5 Sampel

3.5.1 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kuman *E.coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.5.2 Ukuran Sample (*Sample Size*)

Ukuran Sample (*Sample size*) dari hasil perhitungan *One Way ANOVA Power Analysis* didapatkan data sebagai berikut:

Tabel 3.1 Hasil perhitungan sampel menggunakan *One Way ANOVA Power Analysis*

One Way ANOVA Power Analysis								
Numeric Results								
	Average		Total			Std Dev	Standard	Effect
Power	n	k	N	Alpha	Beta	of Means (Sm)	Deviation (S)	Size
0.24344	2.00	8	16	0.05000	0.75656	0.70	1.00	0.6960
0.70000	4.00	8	32	0.05000	0.30000	0.70	1.00	0.6960
0.92192	6.00	8	48	0.05000	0.07808	0.70	1.00	0.6960
0.98470	8.00	8	64	0.05000	0.01530	0.70	1.00	0.6960
0.99756	10.00	8	80	0.05000	0.00244	0.70	1.00	0.6960

Keterangan:

n : jumlah sampel

k : jumlah kelompok

N : total jumlah sampel dari semua kelompok

Dari tabel ketentuan di atas, untuk memperoleh power di atas 80% dengan jumlah kelompok perlakuan sebanyak 8, minimal jumlah sampel yang harus digunakan pada masing-masing kelompok adalah sebanyak 6. Jadi *sample size* pada penelitian ini adalah sebanyak 48.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol pare (*Momordica charantia* L.) dengan konsentrasi 15,6 mg/ml; 7,8 mg/ml; 3,9 mg/ml; 1,95 mg/ml; 0,98 mg/ml; 0,49 mg/ml; 0,24 mg/ml; dan 0,12 mg/ml.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah radius zona hambat koloni *E. coli* pada media Mueller Hinton di sekitar sumuran setelah kontak dengan ekstrak etanol dengan konsentrasi 15,6 mg/ml; 7,8 mg/ml; 3,9 mg/ml; 1,95 mg/ml; 0,98 mg/ml; 0,49 mg/ml; 0,24 mg/ml; dan 0,12 mg/ml.

3.6.3 Variabel Terkendali

1. Pembuatan biakan bakteri *E. coli*, pembuatan ekstrak etanol buah pare, media Mueller Hinton, inkubator, autoklaf, suspensi siprofloksasin, dan NaCMC 0,5%.
2. Suhu pengeraman 37⁰C dan lama inkubasi 24 jam.
3. Cara pengukuran zona hambat koloni *E. coli*.
4. Prosedur penelitian.

3.7 Definisi Operasional

- a. Ekstrak etanol buah pare adalah ekstrak yang diperoleh dari simplisia pare sebanyak 430 gram serbuk kering diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.
- b. Larutan NaCMC 0,5% adalah suatu larutan yang didapatkan dengan cara mencampurkan serbuk NaCMC sebanyak 500 mg dengan 100 ml aquades.
- c. Kontrol positif adalah siprofloksasin konsentrasi 1 µg/ml.
- d. Kontrol negatif adalah larutan NaCMC 0,5% tanpa penambahan ekstrak etanol pare sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak pare 0 mg/ml.
- e. Zona hambat ekstrak etanol pare adalah radius zona bening yang tercipta dihitung dari tepi lubang sumuran hingga tepi zona bening yang tidak ditumbuhi oleh koloni *E. coli* dengan pemberian ekstrak etanol pare konsentrasi 15,6 mg/ml; 7,8 mg/ml; 3,9 mg/ml; 1,95 mg/ml; 0,98 mg/ml; 0,49 mg/ml; 0,24 mg/ml; dan 0,12 mg/ml. Dikatakan mempunyai zona hambat apabila radius zona bening yang terbentuk lebih dari sama dengan 6 mm.
- f. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi terendah ekstrak etanol pare yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*.

3.8 Alat dan Bahan Penelitian

3.8.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Aquades steril
- b. Serbuk NaCMC (Natrium Carboxil Methyl Cellulose)
- c. Bubuk Mueller Hinton (MH)
- d. *Nutrien Broth* (NB)
- e. Ekstrak etanol buah pare
- f. Suspensi *E. coli*
- g. Suspensi ciprofloksasin

3.8.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Tabung reaksi dan rak tabung reaksi
- b. Corong *Buchner*
- c. Cawan petri
- d. Autoklaf
- e. Pipet ukur
- f. *Rotary evaporator*
- g. Timbangan atau neraca
- h. Ose
- i. Maserator
- j. Kertas saring
- k. Inkubator
- l. Lampu *Bunsen*
- m. Blender
- n. Gelas ukur
- o. Spatula
- p. Erlenmeyer
- q. *Vortex mixer*
- r. *Disposable syringe*

- s. Jangka sorong
- t. Kompor listrik
- u. Sterilisator panas kering
- v. Cawan porselin

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Persiapan alat

Semua alat yang akan digunakan dalam penelitian ini disucihamakan dalam sterilisator panas kering selama 15 menit dengan suhu 110⁰C terlebih dahulu. Kemudian bahan media disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121⁰C (Suswati dan Mufida, 2009:7).

3.9.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Pare

Metode ekstraksi yang akan dipakai dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Sebelumnya, pare yang telah diiris tipis-tipis dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung (diangin-anginkan) sampai kering, kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk. Sebanyak 430 gram serbuk kering pare yang dihasilkan dimasukkan ke dalam maserator, ditambahkan etanol 96% sebanyak 7½ kali bobot serbuk dan diaduk. Biarkan termaserasi selama 3 hari dalam maserator tertutup dengan pengadukan setiap hari. Setelah itu saring maserat dari ampas dengan corong *Buchner*. Maserat yang terbentuk kemudian diuapkan melalui penguap putar (*Rotary evaporator*) sehingga diperoleh ekstrak kental (Ningsih, *et al.*, 2009:15).

3.9.3 Pembuatan Larutan NaCMC 0,5%

Serbuk NaCMC ditimbang sebanyak 500 mg kemudian dicampur dengan aquades panas sebanyak 10 ml lalu aduk sampai merata dan dibiarkan selama 15 menit. Setelah itu ditambah aquades panas sampai volume akhir 100 ml (Ningsih *et al.*, 2009).

3.9.4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Pare

Ekstrak kental pare yang telah ditimbang sebanyak 500 mg dimasukkan ke dalam tabung vial kemudian ditambahkan dengan 0,5 ml NaCMC 0,5% lalu divortex selama 60 detik sehingga mengdanung konsentrasi ekstrak etanol pare 500 mg/ml. Larutan ini kemudian ditambah dengan 1 ml NaCMC 0,5% dan divortex selama 60 detik sehingga mengdanung konsentrasi ekstrak etanol pare 250 mg/ml. Dari larutan tersebut 1 ml dibuang dan sisanya ditambahkan 1 ml NaCMC 0,5% kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 125 mg/ml. Dari larutan konsentrasi 125 mg/ml, dibuang 1 ml dan sisanya ditambahkan 1 ml NaCMC 0,5% kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 62,5 mg/ml. Dari larutan konsentrasi ini, larutan dibuang 1 ml dan sisanya ditambahkan lagi dengan 1 ml NaCMC 0,5% kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 31,25 mg/ml. Selanjutnya dari larutan konsentrasi 31,25 mg/ml dibuang 1 ml dan sisanya ditambahkan 1 ml NaCMC 0,5% kemudian divortex lagi selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 15,6 mg/ml. Tabung vial yang berisi larutan dengan konsentrasi tersebut diberi label tabung 1 (Suswati dan Mufida, 2009:93).

Untuk membuat konsentrasi lainnya, dipersiapkan 7 tabung vial yang masing-masing telah diisi dengan 1 ml NaCMC 0,5% dan diberi label tabung 2 sampai tabung 8. Ke dalam tabung 2 dimasukkan 1 ml larutan dari tabung 1 yang mengandung konsentrasi ekstrak etanol pare 15,6 mg/ml kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 7,8 mg/ml. Dari tabung 2 diambil 1 ml dan dimasukkan tabung 3 kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 3,9 mg/ml. Dari tabung 3 diambil lagi 1 ml dan dimasukkan ke tabung 4 kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 1,95 mg/ml. Selanjutnya diambil 1 ml dari tabung 4 dan dimasukkan ke tabung 5 kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 0,98 mg/ml. Diambil lagi 1 ml dari tabung 5 untuk dimasukkan ke dalam tabung 6 kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 0,49 mg/ml. Dari konsentrasi 0,49 mg/ml ini diambil 1 ml dan dimasukkan tabung 7 kemudian divortex selama 60 detik sehingga didapatkan

konsentrasi 0,24 mg/ml. Selanjutnya diambil lagi 1 ml dari tabung 7 dan dimasukkan ke tabung 8 kemudian divortex selama 60 detik, lalu dibuang 1 ml larutan dari tabung ini sehingga didapatkan konsentrasi 0,12 mg/ml (Suswati dan Mufida, 2009:93).

Pada dua tabung vial yang lain diberi label tabung 9 dan tabung 10. Ke dalam tabung 9 dimasukkan suspensi siprofloksasin sebagai kontrol positif dan ke dalam tabung 10 dimasukkan NaCMC 0,5% sebagai kontrol negatif (Suswati dan Mufida, 2009:93).

3.9.5 Pembuatan Larutan 0,5 McFarland

Standar McFarland 0,5 dibuat dengan cara mencampur 9,95 ml asam sulfur 1% dengan 0,05 ml barium klorida 1%. Sebelum digunakan untuk membandingkan kekeruhan larutan pada pembuatan suspensi bakteri, larutan tersebut divortex selama 60 detik (Saeed dan Tariq, 2005; Suswati dan Mufida, 2009).

3.9.6 Pembuatan Suspensi *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Suspensi bakteri *E. coli* yang dipergunakan dibuat dengan cara mengambil satu ose kuman dari kultur, kemudian dimasukkan ke dalam media *Nutrient Broth*, selanjutnya diinkubasi dengan temperatur 37⁰C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi kuman yang telah diinkubasi disesuaikan dengan standar McFarland (1×10^8 CFU/ml) dengan menambahkan aquades steril (Suswati dan Mufida, 2009:23).

3.9.7 Pembuatan Media Agar Mueller Hinton

Agar nutrien Mueller Hinton ditimbang sebanyak 2 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer. Ditambahkan 100 cc aquades, dicampur dan diaduk sampai rata kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut. Kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C selama 30 menit, setelah dikeluarkan dari autoklaf, larutan dalam tabung Erlenmeyer dituang

ke dalam cawan petri steril dengan cara aseptik lalu dimasukkan inkubator dengan suhu 37⁰C (Suswati dan Mufida, 2009:19).

3.9.8 Pembuatan Suspensi Siprofloksasin

Siprofloksasin sediaan IV dosis 2 mg/ml diambil menggunakan spet sebanyak 1 cc kemudian ditambahkan aquades steril sebanyak 1 cc sehingga terbentuk konsentrasi sebesar 1 mg/ml. Kemudian campuran siprofloksasin dan aquades steril dibuang hingga tersisa 0,3 cc lalu dilarutkan ke dalam 300 ml aquades steril sehingga nantinya akan menghasilkan suspensi siprofloksasin dengan konsentrasi 1 µg/ml dan divorex selama 60 detik.

3.9.9 Tahap Perlakuan

Lidi kapas steril dicelupkan ke dalam biakan cair kuman kemudian lidi kapas yang telah basah diperas pada dinding tabung. Selanjutnya lidi kapas tersebut diusapkan pada seluruh permukaan medium agar Mueller Hinton dan mengulang prosedur tersebut dua kali lagi sambil memutar plate 60⁰, kemudian membiarkan plate 3-5 menit pada suhu ruang tapi tidak lebih dari 15 menit supaya medium benar-benar kering sebelum dibuat sumuran. Pada agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan, kemudian ke dalam sumuran tersebut ditetaskan ekstrak etanol pare dengan beberapa konsentrasi yang telah dibuat (Suswati dan Mufida, 2009:85).

3.9.10 Tahap Pengamatan

Setelah diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37⁰C cawan petri diambil dari inkubator dan diamati zona hambat pada masing-masing cawan petri. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur radius zona hambatan pertumbuhan *E. coli* pada media Mueller Hinton dengan menggunakan jangka sorong (Suswati dan Mufida, 2009:86; dan Lalitha, 2008).

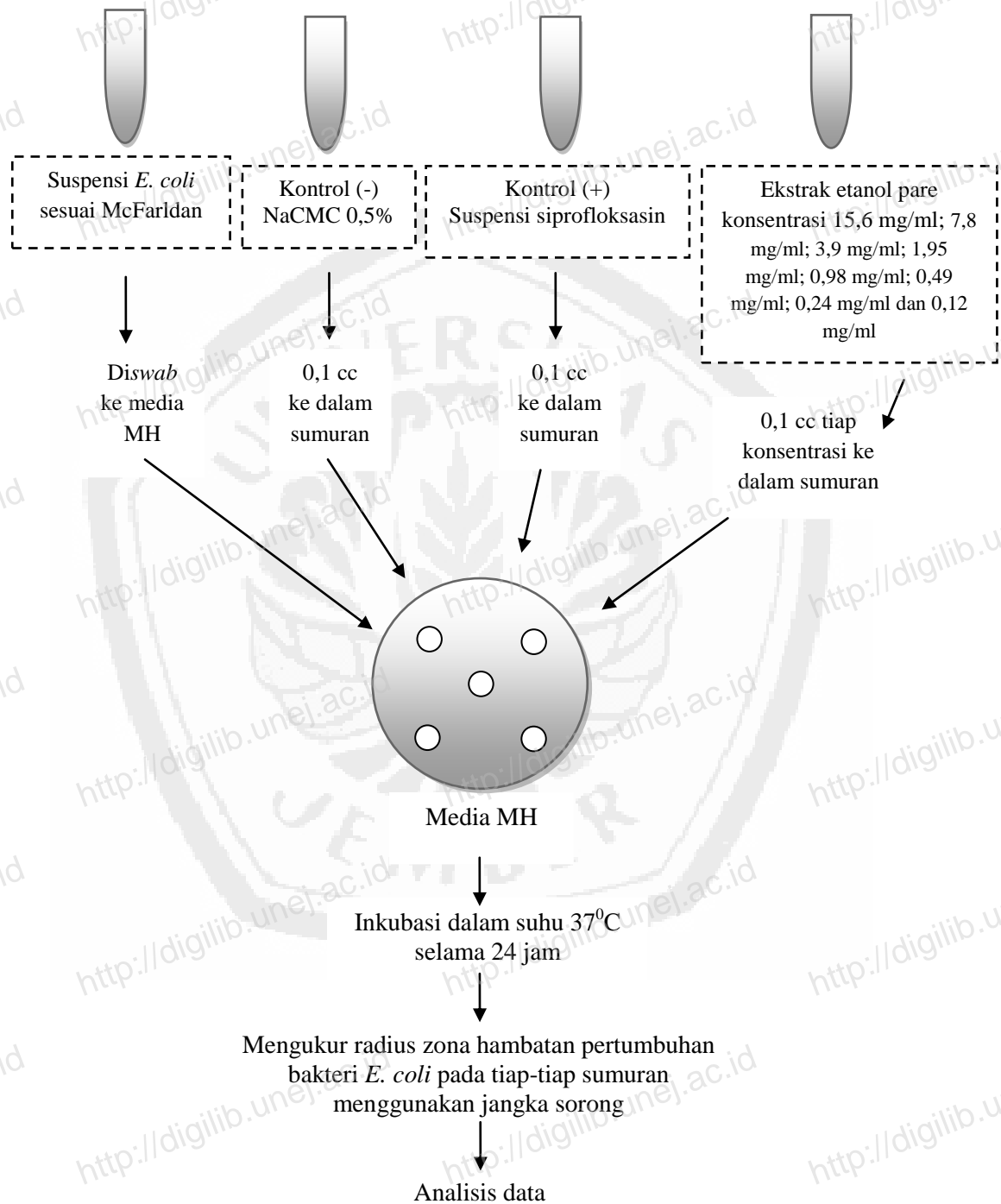
3.10 Analisis Data

Analisis data penelitian ini dilakukan dengan metode statistik analisis variansi satu arah (*One Way ANOVA*). ANOVA merupakan prosedur pengujian hipotesis yang digunakan untuk mengevaluasi perbedaan rata-rata antar dua populasi atau lebih dengan mempertimbangkan satu faktor yang menyebabkan variasi. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan yang bermakna, maka dilakukan Uji *Post Hoc* (Liche, 2008; dan Trihendradi, 2009). Sedangkan untuk mencari KHM secara kuantitatif dilakukan Uji Regresi Linear.



3.11 Alur Penelitian

Alur penelitian adalah sebagai berikut:



Gambar 3.2 Skema Alur Penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian yang dilaksanakan pada bulan April sampai Mei 2012, maka didapatkan data yang disajikan dalam Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Radius Zona Hambat Pertumbuhan *E. coli* terhadap Pemberian Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Pare (*Momordica charantia* L.)

Serial Konsentrasi (mg/ml)	Radius Zona Hambat (mm)						Rata-rata (mm)
	I	II	III	IV	V	VI	
15,6	8,25 [^]	8,10 [^]	7,50 [^]	7,90 [^]	8,40 [^]	7,95 [^]	8,02 [^]
7,8	6,70 [^]	6,60 [^]	6,20 [^]	6,25 [^]	7,35 [^]	6,40 [^]	6,58 [^]
3,9	5,80 [*]	5,70 [*]	5,40 [*]	6,05 [^]	6,55 [^]	5,50 [*]	5,83 [*]
1,95	3,75 [*]	4,00 [*]	3,25 [*]	4,20 [*]	4,10 [*]	3,95 [*]	3,88 [*]
0,98	2,30 [*]	3,40 [*]	2,80 [*]	3,35 [*]	3,05 [*]	3,30 [*]	3,03 [*]
0,49	1,35 [*]	2,20 [*]	2,00 [*]	2,15 [*]	1,90 [*]	2,35 [*]	1,99 [*]
0,24	0,05 [*]	0,20 [*]	0,20 [*]	0,30 [*]	0,95 [*]	1,20 [*]	0,48 [*]
0,12	0	0	0	0	0	0	0
K (-)	0	0	0	0	0	0	0
K (+)	8,85 [^]	8,85 [^]	8,85 [^]	8,85 [^]	8,85 [^]	8,85 [^]	8,85 [^]

[^] : sensitif

^{*} : resisten

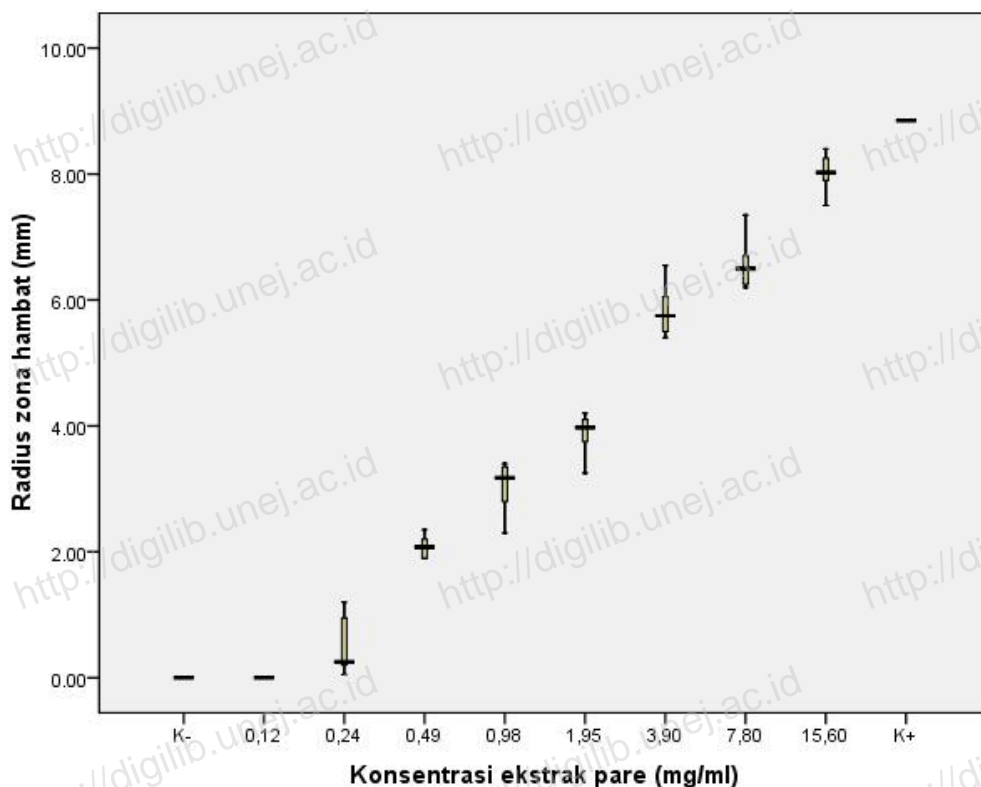
Suatu konsentrasi dalam penelitian ini ditetapkan mempunyai radius zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli* apabila dalam pengukurannya dengan menggunakan jangka sorong terbentuk zona bening yang diukur dari batas tepi lubang sumuran hingga batas tepi zona hambat. Untuk menentukan KHM suatu zat anti bakteri dengan menetapkan *minimum breakpoint*. Nilai *breakpoint* merupakan nilai batas dimana suatu bakteri dinyatakan sensitif atau resisten. Pada penelitian ini nilai *breakpoint* yang ditetapkan adalah 6 mm. Secara umum, apabila diameter zona hambat ≥ 6 mm, maka bakteri dinyatakan sensitif terhadap ekstrak dan apabila diameter zona hambat < 6 mm, maka bakteri dinyatakan resisten terhadap ekstrak (Bell *et al.*, 2009) .

Dalam pengisian data pada tabel di atas, berdasarkan hasil pengukuran, pada konsentrasi 0,12 mg/ml dan kontrol negatif radius zona bening tidak terbentuk sehingga dituliskan angka nol karena pada konsentrasi 0,12 mg/ml dan kontrol negatif sama sekali tidak menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

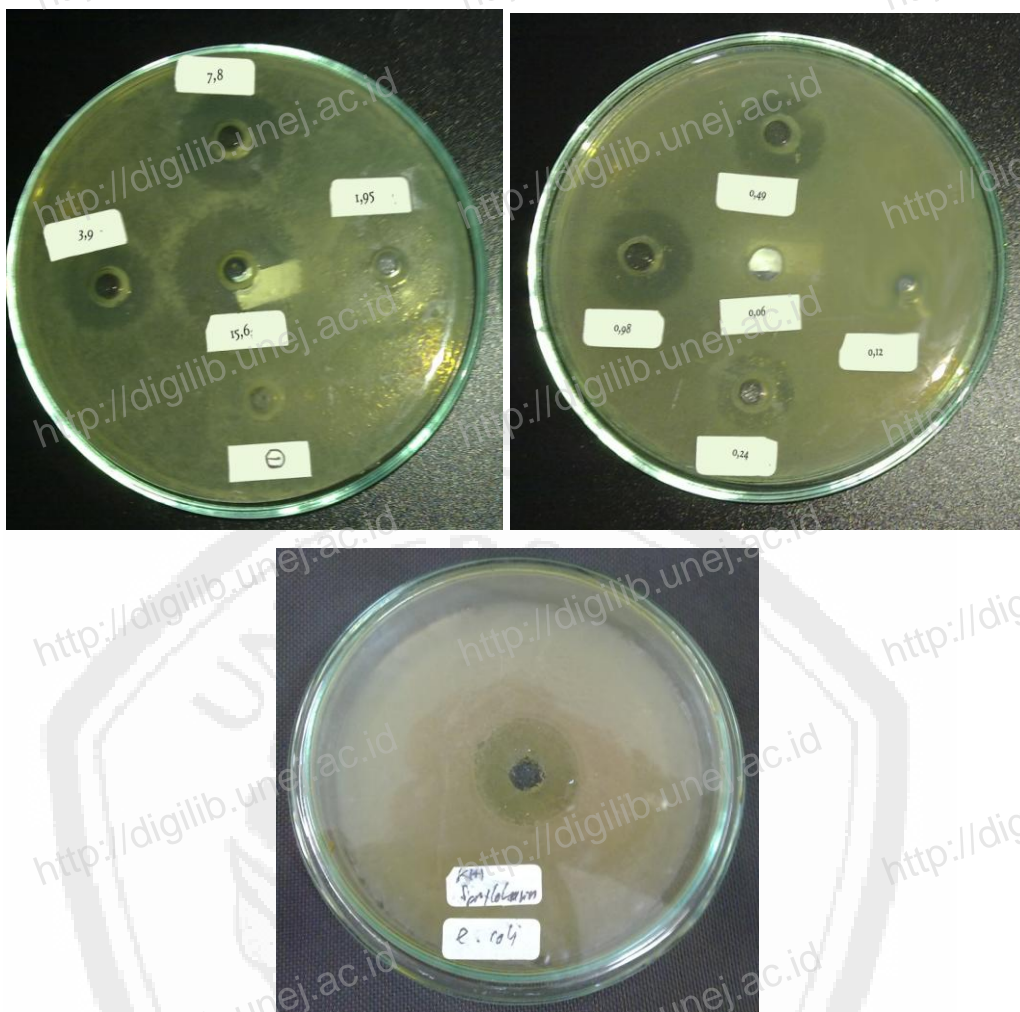
Pada Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa dari konsentrasi ekstrak etanol pare (*Momordica charantia* L.) sebesar 15,6 mg/ml sampai 0,24 mg/ml terbentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli*, namun hanya konsentrasi 15,6 mg/ml dan 7,8 mg/ml saja yang mempunyai klasifikasi sensitif sebagai antibakteri karena mempunyai rata-rata radius zona hambat lebih dari 6 mm. Pada konsentrasi 3,9 mg/ml; 1,95 mg/ml; 0,98 mg/ml; 0,49 mg/ml; dan 0,24 mg/ml tergolong resisten karena radius zona hambat yang kurang dari 6 mm. Sedangkan pada konsentrasi 0,12 mg/ml tidak terbentuk zona hambat.

Dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol pare yang diberikan ke dalam sumuran, rata-rata radius zona hambat terbesar dihasilkan oleh pemberian dengan konsentrasi 15,6 mg/ml yaitu sebesar 8,02 mm dan rata-rata radius zona hambat terkecil dihasilkan oleh pemberian ekstrak etanol pare dengan konsentrasi 0,24 mg/ml yaitu 0,48 mm. Sedangkan pada konsentrasi 7,8 mg/ml; 3,9 mg/ml; 1,95 mg/ml; 0,98 mg/ml dan 0,49 mg/ml masing-masing memberikan rata-rata radius zona hambat sebesar 6,58 mm; 5,83 mm; 3,88 mm; 3,03 mm dan 1,99 mm.

Grafik rata-rata radius zona hambat pertumbuhan *E. coli* setelah kontak dengan ekstrak etanol pare dengan berbagai konsentrasi serta radius zona hambat setelah kontak dengan kontrol (-) dan kontrol (+) disajikan pada Gambar 4.1, sedangkan foto hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.1 Grafik Rata-rata Radius Zona Hambat Pertumbuhan *E. coli* Setelah Kontak dengan Berbagai Tingkat Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.), serta Kontak dengan Kontrol (-) dan Kontrol (+)



Gambar 4.2 Zona Hambat Berbagai Tingkat Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Pertumbuhan *E. coli* pada Media Mueller Hinton

4.2 Analisis data

Dari data penelitian yang didapat, yaitu dari perhitungan radius zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada masing-masing konsentrasi seperti pada Tabel 4.1, dilakukan uji analisis statistik. Analisis ini dilakukan untuk mencari adanya perbedaan yang bermakna pada masing-masing konsentrasi yang menghasilkan zona hambat.

Analisis yang pertama kali dilakukan adalah menguji distribusi data menggunakan Uji *Kolmogorov-Smirnov* (Lampiran B). Uji ini dilakukan untuk

melihat apakah data telah terdistribusi secara normal atau tidak. Hasil yang didapat bahwa data berdistribusi normal karena nilai $Sig > \alpha$ ($\alpha=0,05$).

Setelah diketahui bahwa distribusi data normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas data menggunakan uji varians Levene's (Lampiran C), yaitu untuk menguji keragaman varians dari masing-masing kelompok perlakuan. Dari uji varians Levene's ini, didapatkan nilai $Sig > \alpha$ ($\alpha = 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan varians antara kelompok data yang dibandingkan. Dengan kata lain varians data adalah homogen sehingga analisis variansi satu arah dengan menggunakan *One Way* ANOVA dapat dilakukan.

Analisis data dilanjutkan dengan uji analisis variansi satu arah (*One Way* ANOVA) (Lampiran D) untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pada rata-rata radius zona hambat pertumbuhan *E. coli* masing-masing kelompok perlakuan. Dari uji analisis tersebut, diperoleh nilai $Sig = 0,000$. Karena didapatkan nilai $Sig < \alpha$ ($\alpha = 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa variansi rata-rata radius zona hambat pertumbuhan *E.coli* pada masing-masing kelompok perlakuan setelah kontak dengan berbagai tingkat konsentrasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) memiliki perbedaan yang bermakna.

Setelah mengetahui antar kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post Hoc* menggunakan LSD (Lampiran E). Analisis *Post Hoc* ini digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang rata-rata radius zona hambat pertumbuhan *E.coli* berbeda secara bermakna, dengan syarat nilai $Sig < \alpha$ ($\alpha = 0,05$). Dari hasil uji LSD ini diketahui bahwa kontrol (-) memiliki perbedaan yang bermakna dengan semua konsentrasi dan kontrol, kecuali konsentrasi 0,12 mg/ml. Pada ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) konsentrasi 0,12 mg/ml memiliki perbedaan yang bermakna dengan semua konsentrasi dan kontrol, kecuali kontrol (-). Pada konsentrasi 15,6 mg/ml; 7,8 mg/ml; 3,9 mg/ml; 1,95 mg/ml; 0,98 mg/ml; 0,49 mg/ml dan 0,24 mg/ml semua masing-masing memiliki perbedaan yang bermakna dengan semua konsentrasi dan kontrol.

Dari data-data yang sudah didapatkan, dapat ditarik kesimpulan bahwa berdasarkan nilai *minimum breakpoint* (≥ 6 mm), KHM ekstrak etanol pare terhadap pertumbuhan *E. coli* secara kualitatif adalah sebesar 7,8 mg/ml. Sedangkan untuk menentukan KHM ekstrak etanol pare terhadap pertumbuhan *E. coli* secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan Uji Regresi Linear. Dari analisis menggunakan metode ini didapatkan KHM secara kuantitatif sebesar 4,2 mg/ml (Lampiran A). Sehingga pada konsentrasi 4,2 mg/ml *E. coli* mulai sensitif terhadap ekstrak etanol pare dan di bawah 4,2 mg/ml, *E. coli* resisten terhadap ekstrak etanol pare.

4.3 Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) ternyata terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Hal ini dapat diketahui dari terbentuknya zona hambat pertumbuhan *E. coli* setelah kontak dengan berbagai tingkat konsentrasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) di sekitar sumuran pada media Mueller Hinton. Sedangkan pada kontrol negatif, dianggap tidak memiliki daya antibakteri sehingga tidak terbentuk zona hambat.

Dari Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa dari konsentrasi ekstrak etanol pare (*Momordica charantia* L.) sebesar 15,6 mg/ml sampai 0,24 mg/ml terbentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli*, sedangkan pada konsentrasi 0,12 mg/ml tidak terbentuk zona hambat. Jadi, dapat disimpulkan Kadar Hambat Minimal (KHM) *breakpoint* pemberian ekstrak etanol pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli* secara kualitatif (menggunakan jangka sorong) adalah 7,8 mg/ml atau dengan kata lain terbentuknya zona hambat pertumbuhan *E. coli* yang masuk dalam kriteria sensitif didapatkan dengan pemberian ekstrak etanol pare konsentrasi 7,8 mg/ml. Sedangkan untuk menentukan KHM secara kuantitatif berdasarkan data yang telah dikumpulkan, dilakukan Uji Regresi Linear. Dari uji ini didapatkan rumus untuk menentukan KHM. Dengan memasukkan $y = 6$ maka didapatkan KHM sebesar 4,2 mg/ml (Lampiran A). Dimasukkan angka y sebesar 6 karena angka tersebut merupakan nilai ambang

batas perbedaan resisten dan sensitif untuk uji antibakteri. KHM secara kuantitatif mempunyai makna bahwa pada konsentrasi pare 4,2 mg/ml sebenarnya sudah mempunyai aktivitas antibakteri yang tergolong sensitif.

Radius zona hambat terbesar dimiliki oleh Ekstrak etanol pare konsentrasi 15,6 mg/ml dibandingkan dengan konsentrasi yang lain, sedangkan pada konsentrasi 0,24 mg/ml memiliki zona hambat terkecil. Pada pengenceran ekstrak etanol pare dari konsentrasi 15,6 mg/ml menjadi 7,8 mg/ml; 3,9 mg/ml; 1,95 mg/ml; 0,98 mg/ml; 0,49 mg/ml dan 0,24 mg/ml terjadi pengurangan zat aktif dari pare sehingga aktivitas antibakterinya pun ikut berkurang. Hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya penurunan radius zona hambat pertumbuhan *E. coli* seiring dengan penurunan konsentrasi ekstrak etanol pare. Jadi, dari pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol pare maka semakin besar radius zona hambat pertumbuhan *E. coli* yang terbentuk karena semakin tinggi pula kandungan zat aktif di dalamnya yang berperan sebagai antibakteri.

Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang memiliki perbedaan secara bermakna, maka dilakukan analisis *Post Hoc* menggunakan LSD. Dari uji ini diketahui bahwa kontrol (-) memiliki perbedaan yang bermakna dengan semua konsentrasi dan kontrol, kecuali konsentrasi 0,12 mg/ml. Pada ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) konsentrasi 0,12 mg/ml memiliki perbedaan yang bermakna dengan semua konsentrasi dan kontrol, kecuali kontrol (-). Pada kedua konsentrasi tersebut tidak dihasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli*.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa setiap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol buah pare memiliki hambatan pertumbuhan yang berbeda secara bermakna. Semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula kandungan zat aktif sehingga aktivitas antibakterinya akan semakin besar. Jika aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) semakin tinggi, maka semakin besar pula efek hambatnya terhadap pertumbuhan *E. coli*.

Aktivitas antibakteri pada pare telah dibuktikan baik dengan menggunakan ekstrak air, etanol maupun metanol terhadap *E.coli*,

Staphylococcus, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptobacillus* dan *Streptococcus* secara *in vitro*. Selain itu juga dibuktikan bahwa ekstrak buah pare bersifat antibakteri terhadap *Helicobacter pylori*. Aktivitas antibakteri tersebut diduga berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalam pare, antara lain *flavonoids*, *tannins*, *alkaloids*, dan *terpenoids* (Saeed and Tariq, 2005)

Dalam fungsinya sebagai antibakteri, *flavonoids* memiliki kemampuan mengikat protein ekstraseluler dan protein integral yang nantinya akan mengganggu permeabilitas dinding sel. (Cowan, 1999). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi *DNA gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri dihambat. Golongan flavonoid yang paling poten sebagai antibakteri adalah *quercetin* (Subroto, 2008). Aktifitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak membran sitoplasma dari bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino dengan mereaksikannya dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Proses ini akan menyebabkan dinding sel rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Selanjutnya senyawa ini akan kontak dengan DNA pada inti sel bakteri dan melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid akan terjadi reaksi yang merusak struktur lipid dari DNA bakteri sehingga bakteri akan mengalami lisis dan mati (Gunawan, 2009).

Polifenol mempunyai mekanisme menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu pembentukan dinding sel dan membran sel. Pada konsentrasi rendah, molekul fenol lebih hidrofobik sehingga dapat berikatan dengan membran protein dan dapat melarutkan lipid membran bakteri. Komponen bioaktif fenol juga dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel. (Alberto *et al.*, 2006).

Sebagai antibakteri, *alkaloids* mampu merubah struktur dan susunan asam amino dari sel bakteri sehingga mengganggu pembentukan lapisan dinding sel dan merusak DNA bakteri, hal inilah yang menyebabkan kematian bakteri. (Robinson, 1995).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* secara *in vitro*.
- b. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) *breakpoint* ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli* secara kualitatif adalah sebesar 7,8 mg/ml dan secara kuantitatif adalah sebesar 4,2 mg/ml. Namun kemampuan ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antibakteri masih belum seefektif siprofloksasin.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang:

- a. Uji fitokimia (isolasi dan identifikasi) zat-zat aktif yang terkandung dalam buah pare (*Momordica charantia* L.) terutama yang bersifat antibakteri seperti *flavonoid*, *alkaloid* dan *polifenol* untuk mencari zat yang mempunyai sifat antibakteri terbesar.
- b. Uji toksisitas buah pare (*Momordica charantia* L.).
- c. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap bakteri lain.
- d. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli* dengan metode uji kepekaan antibakteri lain.
- e. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, M. and Kamal, R. 2007. Studies on Flavonoid Production Using In Vitro Cultures of *Momordica charantia* L. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol. 6: 277-279.
- Akroum, Bendjeddou, Satta, & Lalaoui. 2009. Antibacterial Activity and Acute Toxicity Effect of Flavonoids Extract from *Mentha longifolia*. *American-Eurasian Jurnal of Sciencetific Research*. Vol. 4(2): 93-96.
- Alberto, M. R., Canavosio, M. A. R., & Nadra, M. C. M. 2006. *Antimicrobial Effect of Polifenol from Apple Skins on Human Bacterial Pathogen*. *Electronic journal of Biotechnology*. Pontificia: Universidad Catolica de Valparaiso-Chile.
- Anonim. 2005. *Tanaman Obat Indonesia: Pare*. <http://www.iptek.net.id> [26 Februari 2012].
- Arnelia. 2004. *Fito-kimia Komponen Ajaib Cegah PJK, DM dan Kanker* [online]. <http://www.kimianet.lipi.go.id> [20 Januari 2012].
- Astari, D. S. 2008. *Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Daya Antibakterial Susu Multiprobiotik pada Pertumbuhan Escherichia coli secara In Vitro*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Bailey, and Scott's. 2002. *Diagnostic Microbiology*. Elevent Edition. 16: 229-240.
- Baron, E. J, Peterson, L. R., and Finegold, S. M. 1994. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. Ninth Edition. USA: Mosby, Inc.
- Bell, S.M., Pham, J.N., Carter, I.W. 2009. *Antibiotic Susceptibility Testing by the CDS Method*. Edisi 5. Australia: South Eastern Area Laboratory Services.
- Bischoff, Edrington, Callaway, Genovese, dan Nisbet, 2004, *Characterization of antimicrobial resistant Salmoneela Kinshasa from dairy calves in Texas*. Southern Plains Agricultural Research Center, pubmed.com. 2004;38(2):140-5
- Brooks, G. F., Janet, S. B., & Stephen, A. M. *Jawetz, Melnick & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20* Alih Bahasa oleh Nugroho, Edi., dan Maulany, R. 1996. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Brooks, G. F., Janet, S. B., & Stephen, A. M. *Jawetz, Melnick, and Adelberg's, Mikrobiologi Kedokteran*, Alih bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L. 2001. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., and Morse, S. A. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick dan Adelberg*. Edisi 23. Alih bahasa oleh Huriawati Hartono *et al.* 2007. Jakarta: EGC.
- Chan, Chen, Go, and Lam. 2005. Reduce Adiposity in Bitter Melon (*Momordica charantia*)-Fed Rats is Associated with Increased Lipid Oxidative Enzyme Activities an Uncoupling Protein Expression. *JN*, 2517-2523.
- Chandra, Elizabeth. 2004. Evaluasi Penggunaan Siprofloksasin pada Pasien Rawat Inap RSAL Dr. Ramelan Surabaya Periode 25 Agustus-25 Oktober 2003. Jogjakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* Vol. 12(4): 564-582.
- Cushnie, T. P. T., Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial Activity of Flovanoid. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 343.356.
- Dexa, 2009. Ciprofloxacin Infus. Cikarang: Dexa Medika.
- Erden, Ordu, Erden, and Caglar. 2010. A Case of Atrial Fibrillation due to *Momordica charantia L.* (Bitter Melon). *Ann Saudi Med* [serial online]. Vol 30: 86-87. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2850191/> [26 Februari 2012].
- Ernawati, S.D. 2001. Madu Sebagai Terapi Alternatif Stomatitis Afto Rekaren (RAS). *Majalah Kedokteran Gigi*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Fauzia, Wiryanto, Sofyan Lubis. 2005. Pemeriksaan Potensi Tablet Ciprofloxacin yang Beredar di Apotek Kota Medan dengan Metode Pengenceran. *Majalah Kedokteran Nusantara* vol. 38, no. 4, Desember 2005: 302-304. [online]. <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/15592> . [15 Maret 2012]
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. 2002. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. Eleventh edition. USA: Mosby Inc.

- Grover, J. K., & Yadav, S. P. 2004. Pharmacological Actions and Potential Uses of *Momordica charantia*: a review. *J. Ethnopharmacol.* Vol. 93(1): 123-132.
- Gunawan, I. W. A. 2009. *Potensi buah Pare (Momordica charantia L) sebagai antibakteri Salmonella Typhimurium.* Denpasar: Universitas Mahasaraswati.
- Haptiasari, E. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Pepaya (Carica papaya) terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus Multiresisten Antibiotik.* Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian DKI Jakarta. 1996. *Usaha Tani Tanaman Pare.* Jakarta: Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian DKI Jakarta.
- Jagessar, R. C., Mohamed, A., & Gomes, G. 2008. An Evaluation of the Antibacterial and Antifungal Activity of Leaf Extracts of *Momordica charantia* Against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nature and Science.* ISSN 1545-0740. Vol. 6(1): 1-14.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran.* Jakarta: EGC.
- Karou, Savadogo, Canini, Yameogo, Montesano, Simpre, Colizzi, and Traore. 2005. Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology.* ISSN 1684-5315. Vol. 1(12): 1452-1457.
- Karsinah, Luky H. M., Suhato & Mardiasuti, H. W., Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran, Edisi Revisi.* Hal : 168-173. Jakarta : Binapura Aksara.
- Kresnawaty, I. dan Zainuddin, A. 2009. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Derivat Metil Ekstrak Etanol Daun Gambir (*Uncaria gambir*). *Jurnal Littri.* ISSN 0853-8212. Vol. 15 (4): 145-151.
- Lalitha, M. K. 2008. *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing.* Vellore: Indian Association of Medical Microbiologists.
- Lasmayanty, M. 2007. *Potensi Antibakteri Propolis Lebah Madu Trigona spp. Terhadap Bakteri Kariogenik (Streptococcus mutans).* Bogor: Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.

- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida*. Karya Ilmiah. Medan: Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatra Utara.
- Liche. 2008. *Analisis Varian* [online]. <http://staff.ui.ac.id/internal/131998622/material/ANOVA.pdf>. [10 Maret 2011].
- Markham, K, R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavanoid*. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Nataro, James P. and James B. Kaper. 1998. "Diarrheagenic *Escherichia coli*." *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 11, no. 1. American Society for Microbiology. (142-201)
- Neal, M.J. 2006. *At a Glance Farmakologi Medis*. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga Medical Series.
- Ningsih, I. Y., Nuri, Puspitasari, E. Amrun, M. 2009. *Buku Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Edisi Revisi IV. Jember: Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Purwatiwidiastuti. 2009. *Mengenal Polifenol* [online]. <http://purwatiwidiastuti.wordpress.com/2009> [24 Maret 2011].
- Rajendran, N. K. and Ramakrishnan, J. 2009. In vitro Evaluation of Antimicrobial Activity of Crude Extract of Medical Plants Against Multi Drug Resistance Pathogens. *Biyoloji Bilimleri Arastirma Dergisi*. ISSN 1308-3961. Vol. 2 (2): 97-101.
- Refdanita, Maksum, Nurgan, Endang. 2004. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001 – 2002. *Makara, Kesehatan*, vol. 8, no. 2, Desember 2004: 41-48. [online]. <http://repository.ui.ac.id/dokumen/lihat/82.pdf> . [15 Maret 2012]
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Rukmana, R. 2006. *Budi Daya Pare*. Yogyakarta: Kanisius.
- Saeed, S. and Tariq, P. 2005. Antibacterial Activities of *Mentha piperita*, *Pisum sativum* and *Momordica charantia*. *Pak. J. Bot.* Vol. 37 (4): 997-1001.

- Sastroasmoro, S., dan Ismael, S. 1995. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta: Binarupa Aksara
- Sari, Lusiana O.R.K. 2006. *Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian, vol.III, no.1, April 2006, 01-07. [serial on line]. <http://jurnal.farmasi.ui.ac.id/pdf/2006/v03n01/lusia0301.pdf> . [02 Februari 2011]
- Sarin, R. 2005. Useful Metabolites from Plant Tissue Cultures. *Biotechnology*. Vol. 4(2): 79-93.
- Soekidjo, Notoadmodjo. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Subroto, M. A. 2008. *Riset Ilmiah Sarang Semut* [online]. <http://sarangsemut.net/pdf.html> [24 mei 2012].
- Sudoyo, W. A., Setiyohadi, B., dan Alwi, I. 2006. *Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Suswati, E., & Mufida, D., C. 2007. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi II*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Suswati, E. dan Mufida, D. C. 2009. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Fakultas Farmasi*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Taylor, L. 2002. *Bitter Melon. Herbal Secrets of the Rainforest*. Second Edition. Austin: Saga Press, Inc.
- Thenmozhi, A. J. and Subramanian, P. 2010. Antioxidant Potential of *Momordica charantia* in Ammonium Chloride-Induced Hyperammonemic Rats [online]. <http://ecam.oxfordjournals.org> [24 Maret 2010].
- Triatmoko, B. 2009. Tinjauan tentang Cara Penentuan Potensi Antimikroba [online]. <http://bawontriatmoko-kuliah.blogspot.com/2009/12/cara-penentuan-potensi-antimikroba.html> [28 Februari 2012].
- Trihendradi, C. 2009. *7 Langkah Mudah Melakukan Analisis Statistik Menggunakan SPSS 17*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Xie, Huang, Deng, Wu, and Ji. 1998. Study on Chemical Components of *Momordica charantia*. *Zhong Yao Cai*. Vol 21: 458-459.

Lampiran A. Uji Regresi Linear

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	3.650	.338		10.796	.000
	Konsentrasi	.560	.055	.955	10.211	.000

a. Dependent Variable: DiameterZonaHambat

Dari uji regresi di atas didapatkan rumus

$$y = 3,650 + 0,560x$$

Dengan rumus tersebut, dapat dicari KHM ekstrak etanol pare (*Momordica charantia* L.) secara kuantitatif, yaitu

$$y = 3,650 + 0.560x$$

$$6 = 3,650 + 0.560x$$

$$x = \frac{6 - 3,650}{0,560}$$

$$x = \frac{2,35}{0,560}$$

$$= 4,1964286 \text{ mg/ml}$$

Jadi KHM ekstrak etanol pare (*Momordica charantia* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli* dari perhitungan menurut Uji Regresi Linear adalah 4,2 mg/ml.

Lampiran B. Uji Normalitas Sampel dengan Prosedur One Sample

Kolmogorov-Smirnov

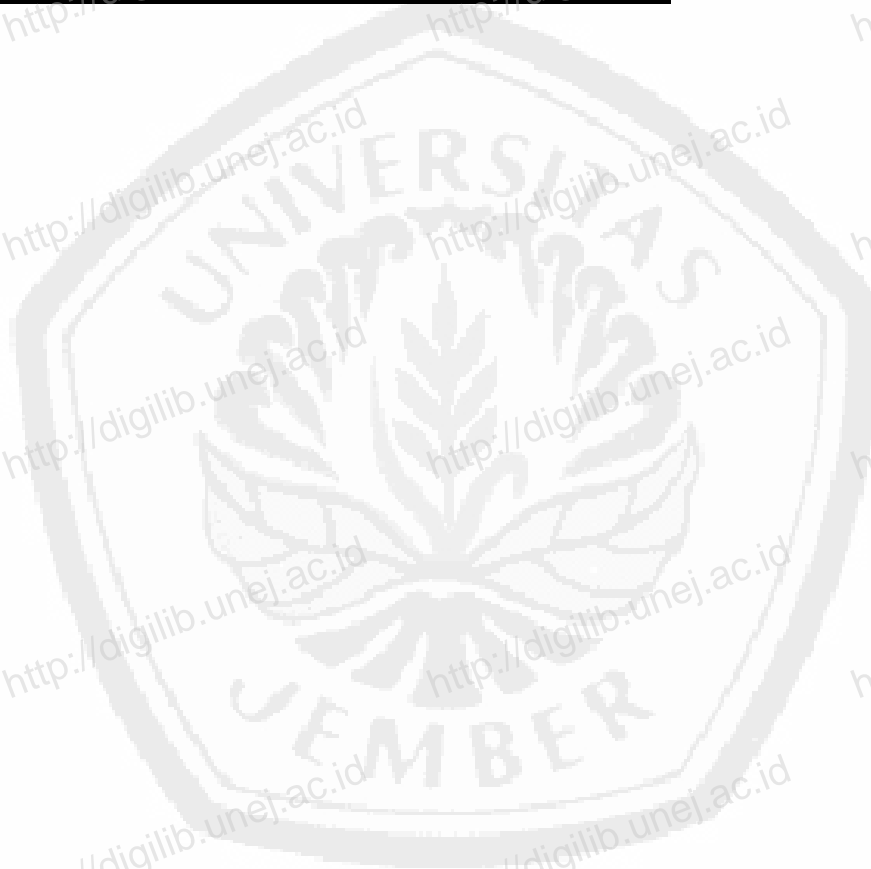
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter zona hambat
N		60
Normal Parameters ^a	Mean	3.8667
	Std. Deviation	3.18540
Most Extreme Differences	Absolute	.135
	Positive	.135
	Negative	-.112
Kolmogorov-Smirnov Z		1.048
Asymp. Sig. (2-tailed)		.222
a. Test distribution is Normal.		

Lampiran C. Uji Homogenitas Sampel dengan Metode Levene**Test of Homogeneity of Variances**

Diameter zona hambat

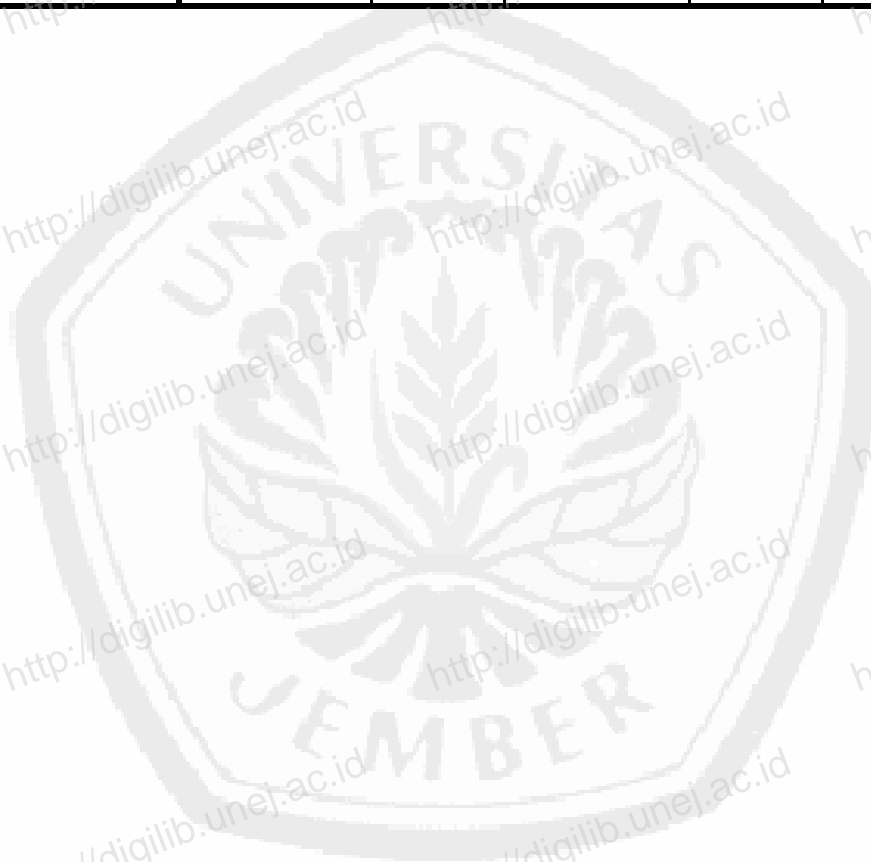
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.346	9	50	.087



Lampiran D. Uji Anova Satu Arah (*One Way Anova*)**ANOVA**

Diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	593.181	9	65.909	601.634	.000
Within Groups	5.478	50	.110		
Total	598.658	59			



Lampiran E. Uji Post Hoc Multiple Comparisons dengan LSD

POST HOC

Multiple Comparisons

Radius zona hambat

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	Konsent rasi	.00000	.19109	1.000	-.3838	.3838
	0.12	-.48333*	.19109	.015	-.8672	-.0995
	0.24	-1.99167*	.19109	.000	-2.3755	-1.6078
	0.49	-3.03333*	.19109	.000	-3.4172	-2.6495
	0.98	-3.87500*	.19109	.000	-4.2588	-3.4912
	1.95	-5.83333*	.19109	.000	-6.2172	-5.4495
	3.9	-6.58333*	.19109	.000	-6.9672	-6.1995
	7.8	-8.01667*	.19109	.000	-8.4005	-7.6328
	15.6	-8.85000*	.19109	.000	-9.2338	-8.4662
0.12	K-	.00000	.19109	1.000	-.3838	.3838
	0.24	-.48333*	.19109	.015	-.8672	-.0995
	0.49	-1.99167*	.19109	.000	-2.3755	-1.6078
	0.98	-3.03333*	.19109	.000	-3.4172	-2.6495
	1.95	-3.87500*	.19109	.000	-4.2588	-3.4912
	3.9	-5.83333*	.19109	.000	-6.2172	-5.4495
	7.8	-6.58333*	.19109	.000	-6.9672	-6.1995
	15.6	-8.01667*	.19109	.000	-8.4005	-7.6328
	K+	-8.85000*	.19109	.000	-9.2338	-8.4662
0.24	K-	.48333*	.19109	.015	.0995	.8672
	0.12	.48333*	.19109	.015	.0995	.8672
	0.49	-1.50833*	.19109	.000	-1.8922	-1.1245
	0.98	-2.55000*	.19109	.000	-2.9338	-2.1662

	1.95	-3.39167*	.19109	.000	-3.7755	-3.0078
	3.9	-5.35000*	.19109	.000	-5.7338	-4.9662
	7.8	-6.10000*	.19109	.000	-6.4838	-5.7162
	15.6	-7.53333*	.19109	.000	-7.9172	-7.1495
	K+	-8.36667*	.19109	.000	-8.7505	-7.9828
0.49	K-	1.99167*	.19109	.000	1.6078	2.3755
	0.12	1.99167*	.19109	.000	1.6078	2.3755
	0.24	1.50833*	.19109	.000	1.1245	1.8922
	0.98	-1.04167*	.19109	.000	-1.4255	-.6578
	1.95	-1.88333*	.19109	.000	-2.2672	-1.4995
	3.9	-3.84167*	.19109	.000	-4.2255	-3.4578
	7.8	-4.59167*	.19109	.000	-4.9755	-4.2078
	15.6	-6.02500*	.19109	.000	-6.4088	-5.6412
	K+	-6.85833*	.19109	.000	-7.2422	-6.4745
0.98	K-	3.03333*	.19109	.000	2.6495	3.4172
	0.12	3.03333*	.19109	.000	2.6495	3.4172
	0.24	2.55000*	.19109	.000	2.1662	2.9338
	0.49	1.04167*	.19109	.000	.6578	1.4255
	1.95	-.84167*	.19109	.000	-1.2255	-.4578
	3.9	-2.80000*	.19109	.000	-3.1838	-2.4162
	7.8	-3.55000*	.19109	.000	-3.9338	-3.1662
	15.6	-4.98333*	.19109	.000	-5.3672	-4.5995
	K+	-5.81667*	.19109	.000	-6.2005	-5.4328
1.95	K-	3.87500*	.19109	.000	3.4912	4.2588
	0.12	3.87500*	.19109	.000	3.4912	4.2588
	0.24	3.39167*	.19109	.000	3.0078	3.7755
	0.49	1.88333*	.19109	.000	1.4995	2.2672
	0.98	.84167*	.19109	.000	.4578	1.2255
	3.9	-1.95833*	.19109	.000	-2.3422	-1.5745
	7.8	-2.70833*	.19109	.000	-3.0922	-2.3245
	15.6	-4.14167*	.19109	.000	-4.5255	-3.7578
	K+	-4.97500*	.19109	.000	-5.3588	-4.5912

3.9	K-	5.83333*	.19109	.000	5.4495	6.2172
	0.12	5.83333*	.19109	.000	5.4495	6.2172
	0.24	5.35000*	.19109	.000	4.9662	5.7338
	0.49	3.84167*	.19109	.000	3.4578	4.2255
	0.98	2.80000*	.19109	.000	2.4162	3.1838
	1.95	1.95833*	.19109	.000	1.5745	2.3422
	7.8	-.75000*	.19109	.000	-1.1338	-.3662
	15.6	-2.18333*	.19109	.000	-2.5672	-1.7995
	K+	-3.01667*	.19109	.000	-3.4005	-2.6328
7.8	K-	6.58333*	.19109	.000	6.1995	6.9672
	0.12	6.58333*	.19109	.000	6.1995	6.9672
	0.24	6.10000*	.19109	.000	5.7162	6.4838
	0.49	4.59167*	.19109	.000	4.2078	4.9755
	0.98	3.55000*	.19109	.000	3.1662	3.9338
	1.95	2.70833*	.19109	.000	2.3245	3.0922
	3.9	.75000*	.19109	.000	.3662	1.1338
	15.6	-1.43333*	.19109	.000	-1.8172	-1.0495
	K+	-2.26667*	.19109	.000	-2.6505	-1.8828
15.6	K-	8.01667*	.19109	.000	7.6328	8.4005
	0.12	8.01667*	.19109	.000	7.6328	8.4005
	0.24	7.53333*	.19109	.000	7.1495	7.9172
	0.49	6.02500*	.19109	.000	5.6412	6.4088
	0.98	4.98333*	.19109	.000	4.5995	5.3672
	1.95	4.14167*	.19109	.000	3.7578	4.5255
	3.9	2.18333*	.19109	.000	1.7995	2.5672
	7.8	1.43333*	.19109	.000	1.0495	1.8172
	K+	-.83333*	.19109	.000	-1.2172	-.4495
K+	K-	8.85000*	.19109	.000	8.4662	9.2338
	0.12	8.85000*	.19109	.000	8.4662	9.2338
	0.24	8.36667*	.19109	.000	7.9828	8.7505
	0.49	6.85833*	.19109	.000	6.4745	7.2422
	0.98	5.81667*	.19109	.000	5.4328	6.2005

1.95	4.97500*	.19109	.000	4.5912	5.3588
3.9	3.01667*	.19109	.000	2.6328	3.4005
7.8	2.26667*	.19109	.000	1.8828	2.6505
15.6	.83333*	.19109	.000	.4495	1.2172

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

