



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH
(*Cymbopogon citratus*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Shigella*
dysenteriae SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**Yunita Wulansari
NIM 122010101044**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH
(*Cymbopogon citratus*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Shigella*
dysenteriae SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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

Oleh:

Yunita Wulansari
NIM 122010101044

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda Suradji dan Ibunda Sri Untari tercinta, yang senantiasa memberikan doa, dukungan, kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang dilakukan untuk saya setiap waktu;
2. keluarga besar saya yang memberikan dukungan moril dan materi;
3. saudara-saudaraku “TBM Vertex”, yang senantiasa memberikan dukungan dan semangat untuk berjuang;
4. sejawat “Panacea” Fakultas Kedokteran Universitas Jember, terimakasih atas dukungan dan semangat yang selalu diberikan kepada saya; dan
5. almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember

MOTO

Barangsiapa yang menempuh jalan untuk mencari ilmu, maka Allah akan memudahkan jalannya menuju surga.*)

Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat.**)

*) Hadist

***) Qur'an Surat Al Mujadalah ayat 11

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yunita Wulansari

NIM :122010101044

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *In Vitro* ” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Desember 2015

Yang menyatakan,

Yunita Wulansari

NIM.122010101044

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH
(*Cymbopogon citratus*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Shigella*
dysenteriae SECARA *IN VITRO***

Oleh

Yunita Wulansari
NIM 122010101044

Pembimbing:

Dosen Pembimbing I : dr. Enny Suswati, M.Kes

Dosen Pembimbing II : dr. Septa Surya Wahtudi, Sp.US

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes
NIP 19690203 199903 1 001

dr. Yudha Nurdian, M.Kes
NIP 19711019 199903 1 001

Penguji III

Penguji IV

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

dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U
NIP 19780922 200501 1 002

Mengesahkan
Dekan,

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

RINGKASAN

Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *In Vitro*, YunitaWulansari, 122010101044, 2015: halaman , Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diare merupakan salah satu penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan di dunia. Besarnya masalah tersebut dilihat dari angka kesakitan dan kematian akibat diare. Data dari World Health Organization (WHO) menyebutkan terjadi 1.7 juta kejadian diare di seluruh dunia dan 760.000 kematian pada anak usia dibawah 5 tahun yang terjadi setiap tahun. Survei morbiditas yang dilakukan oleh Subdit Diare, Departemen Kesehatan Indonesia dari tahun 2000 hingga 2010 menunjukkan peningkatan insidensi. Penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian pada diare adalah disentri basiler. Di negara berkembang termasuk Indonesia, *Shigella dysenteriae* menjadi penyebab utama disentri basiler. Terapi disentri basiler berbeda di setiap daerah karena perbedaan spesies yang menginfeksi maupun adanya resistensi. Di Indonesia, terapi dengan antibiotik siprofloksasin dosis tunggal menunjukkan hasil yang baik. Namun, siprofloksasin tidak boleh diberikan kepada anak dan ibu hamil. Adanya resistensi *Shigella sp* dan efek samping antibiotik, dirasa perlu untuk mencari alternatif sebagai upaya menanggulangi resistensi dan membantu terapi pada disentri basiler. Indonesia memiliki keanekaragaman tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat. Salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri adalah sereh (*Cymbopogon citratus*). Menurut Onawunmini, senyawa aktif geraniol (alpha citral) dan nerol (beta citral) yang merupakan golongan terpenoid dalam minyak atsiri *C. citratus* memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* dan mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*.

Jenis penelitian yang digunakan berupa *quasi experimental*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi secara sumuran. Subjek pada penelitian ini adalah *S. dysentriae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jember. Sampel *S. dysentriae* dibagi dalam 8 kelompok perlakuan yang dibiakkan pada media MH (*Mueller Hinton*). Dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali selama uji penelitian. Kelompok kontrol positif diberikan siprofloksasin 5µl/ml. Kelompok kontrol negatif diberi tween-80. Kelompok perlakuan P1, P2, P3, P4, P5, dan P6 diberikan kontak dengan minyak atsiri *C. citratus* secara berturut-turut dengan konsentrasi 15µl/ml, 20µl/ml, 25µl/ml, 30µl/ml, 35µl/ml, 40µl/ml. Analisis statistik pada penelitian ini menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data dan uji homogenitas varians data menggunakan uji *Levene*. Uji statistik menggunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis* dan *Post Hoc multiple comparison* metode *Mann Whitney* karena data terdistribusi normal namun varians data tidak homogen.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa minyak atsiri *C. citratus* memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S.dysentriae* secara *in vitro*. Aktivitas antibakteri dapat diketahui dari terbentuknya diameter daya hambat di sekitar sumuran. Diameter daya hambat terbentuk pada kelompok P3, P4, P5, dan P6. Mekanisme aktivitas antibakteri minyak atsiri *C.citratus* adalah dengan cara menjadi inhibitor kompetitif enzim protease ekstraseluler bakteri sehingga tidak terbentuk protein membran sel, kemudian terjadi lisis dinding sel bakteri dan kebocoran sitoplasma yang mengakibatkan hilangnya material sel sehingga menyebabkan kematian. Sehingga dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri *C.citratus* memiliki aktivitas antibakteri dengan KHM minyak atsiri sereh *C. citratus* terhadap *S.dysentriae* adalah konsentrasi 25µl/ml.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *In Vitro*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan dan segala fasilitas selama menempuh pendidikan dokter di Universitas Jember;
2. dr. Enny Suswati, M.Kes dan dr. Septa Surya Wahyudi, Sp.U, selaku Dosen Pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes dan dr. Yudha Nurdian, M.Kes sebagai Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Ayahanda Suradji dan Ibunda Sri Untari tercinta, yang senantiasa memberikan doa, dukungan, kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang dilakukan untuk saya setiap waktu;
5. kakak-kakak saya yang memberikan dukungan moril dan materi;
6. guru-guruku tercinta, yang telah memberi ilmu dan mendidik saya penuh kesabaran;
7. teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, terimakasih atas bantuan, kerjasama, dan masukannya selama penelitian skripsi ini;

8. saudara-saudara “TBM Vertex”, yang senantiasa memberikan dukungan dan semangat untuk berjuang;
9. sejawat “Panacea” Fakultas Kedokteran Universitas Jember, terimakasih atas dukungan dan semangat yang selalu diberikan kepada saya;
10. almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember; dan
11. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

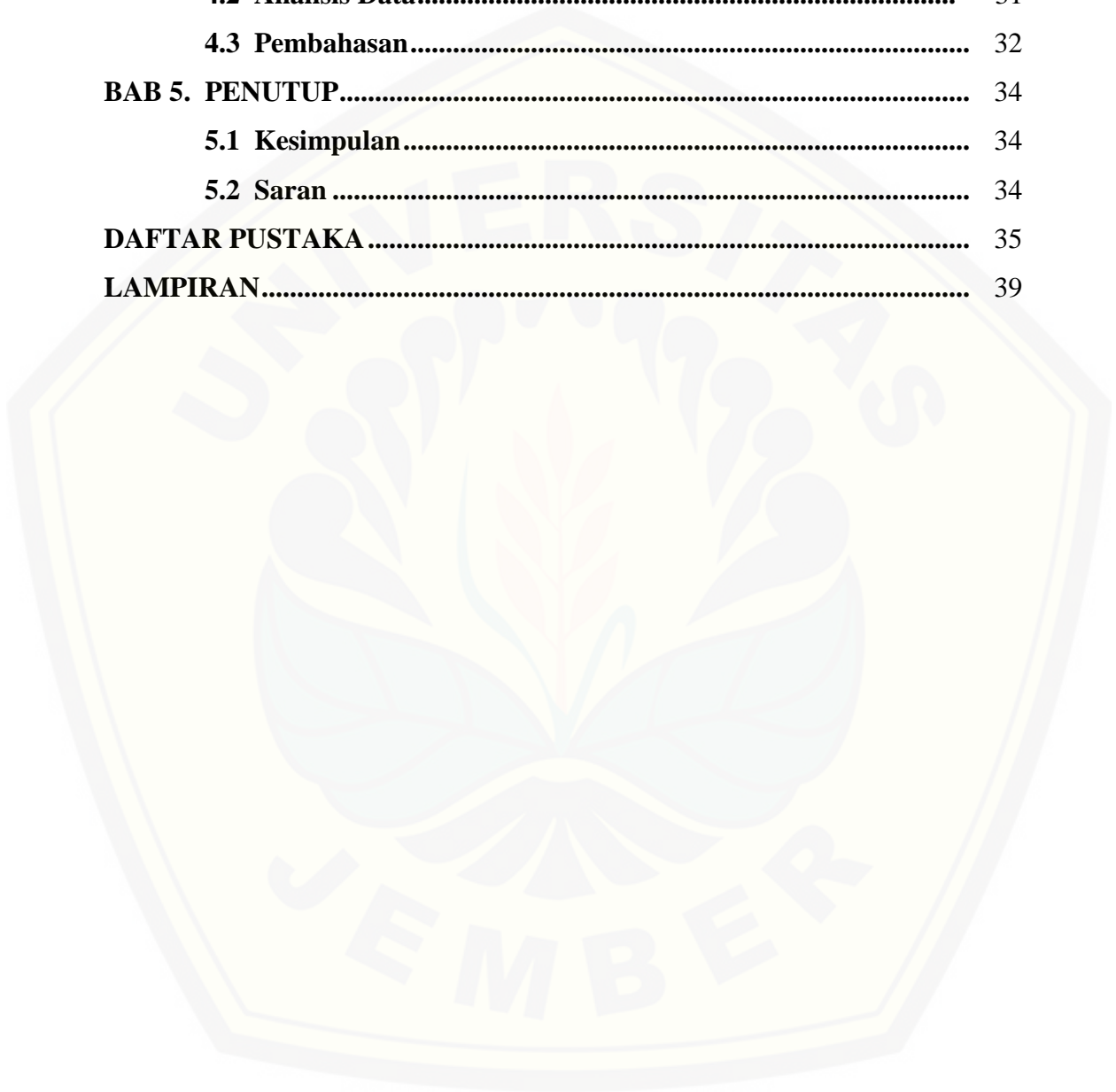
Jember, Desember 2015

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Shigella dysenteriae</i>	5
2.1.1 Morfologi dan Fisiologi	5
2.1.2 Struktur antigen	6
2.1.3 Toksin	6
2.1.4 Patogenesis	7

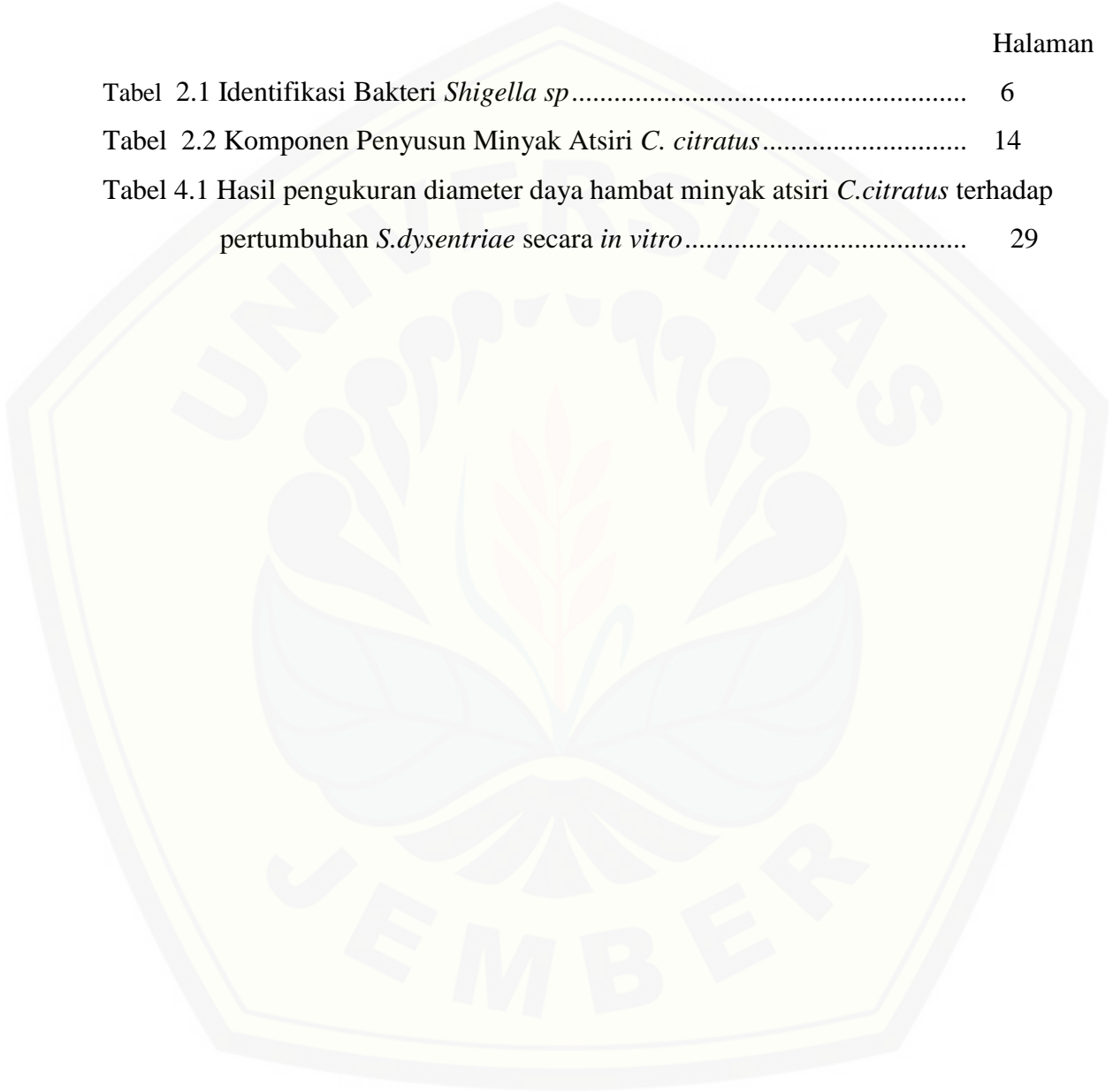
2.1.5 Manifestasi Klinis dan Komplikasi.....	7
2.1.6 Antibiotik untuk Disentri Basiler	8
2.2 Mekanise Kerja Antimikroba	9
2.3 Pengukuran Aktivitas Antibakteri	10
2.4 Sereh Dapur (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	11
2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan.....	11
2.2.2 Tamanan Sereh.....	12
2.2.3 Penggunaan Tanaman Sereh	12
2.5 Minyak Atsiri <i>C. citratus</i>	13
2.3.1 Pengertian Minyak Atsiri.....	13
2.3.2 Kandungan Kimiawi Minyak Atsiri	13
2.3.3 Manfaat Minyak Atsiri <i>C. citratus</i>	14
2.3.4 Mekanisme Kerja Minyak Atsiri <i>C. citratus</i> sebagai senyawa antibakteri.....	14
2.6 Kerangka Konsep	16
2.7 Hipotesis	17
BAB 3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Jenis Penelitian	18
3.2 Rancangan Penelitian	18
3.3 Sampel Penelitian.....	19
3.4 Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....	19
3.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.6 Variabel Penelitian	19
3.7 Definisi Operasional	20
3.8 Alat dan Bahan Penelitian	22
3.9 Prosedur Penelitian.....	22
3.10 Analisis Data.....	25
3.11 Alur Penelitian	26

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1 Hasil Penelitian.....	28
4.2 Analisis Data.....	31
4.3 Pembahasan.....	32
BAB 5. PENUTUP.....	34
5.1 Kesimpulan.....	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	39



DAFTAR TABEL

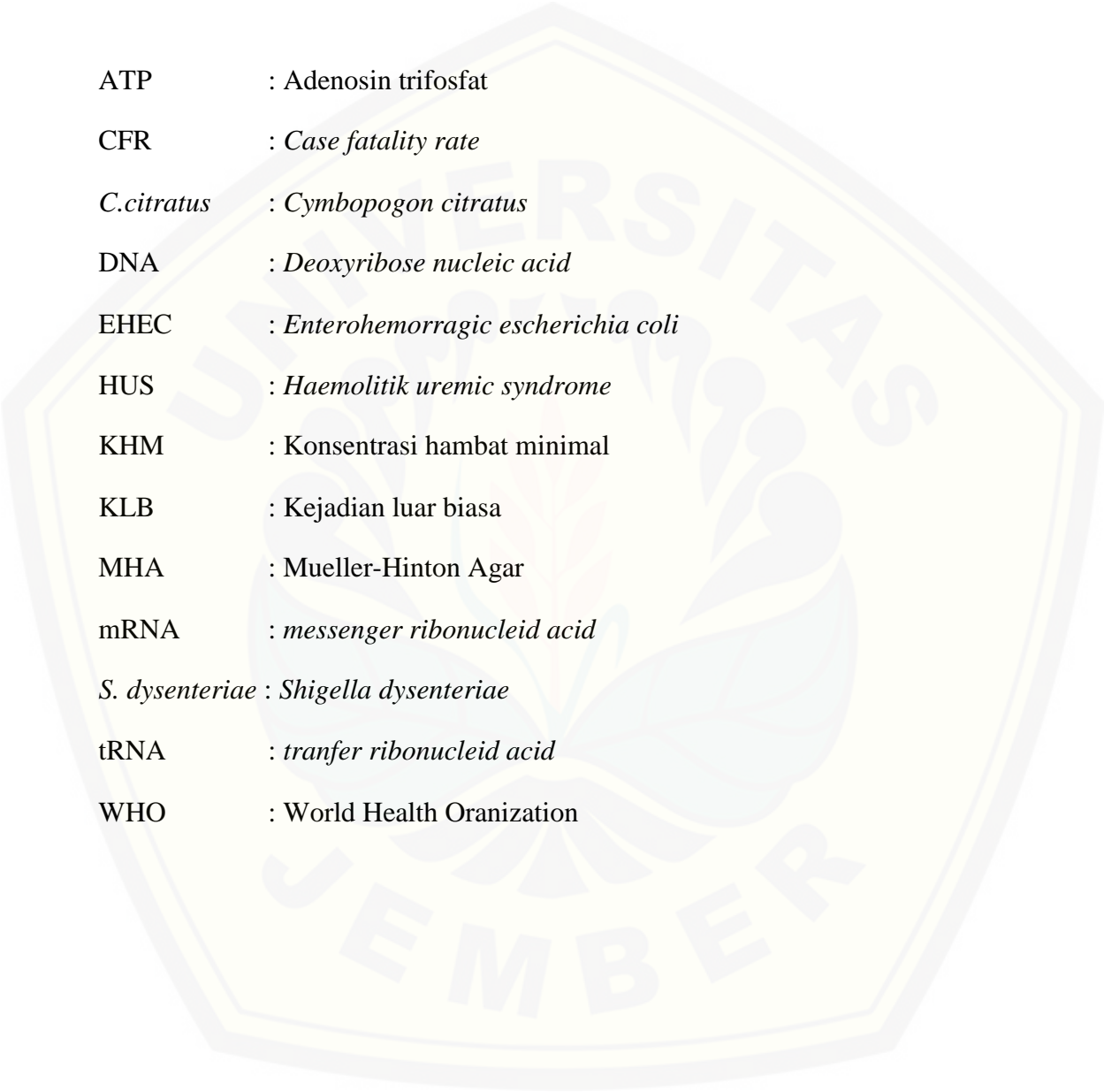
	Halaman
Tabel 2.1 Identifikasi Bakteri <i>Shigella sp</i>	6
Tabel 2.2 Komponen Penyusun Minyak Atsiri <i>C. citratus</i>	14
Tabel 4.1 Hasil pengukuran diameter daya hambat minyak atsiri <i>C.citratus</i> terhadap pertumbuhan <i>S.dysentriae</i> secara <i>in vitro</i>	29



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Serah	12
Gambar 2.2 Kerangka Konsep	16
Gambar 3.1 Rancangan Penelitian	18
Gambar 3.2 Penghitungan Daerah Hambat	24
Gambar 3.3 Alur Penelitian	26
Gambar 4.1 Diameter daya hambat dalam bebeapa konsetrasi minyak atsiri <i>C.citratrus</i> terhadap pertumbuhan <i>S.dysentriae</i> secara <i>in vitro</i>	28
Gambar 4.2 Diameter daya hambat kontrol positif dengan suspensi siprofloksasin 5µl/ml dan kontrol negatif dengan tween-80	30

DAFTAR SINGKATAN



ATP	: Adenosin trifosfat
CFR	: <i>Case fatality rate</i>
<i>C.citratus</i>	: <i>Cymbopogon citratus</i>
DNA	: <i>Deoxyribose nucleic acid</i>
EHEC	: <i>Enterohemorrhagic escherichia coli</i>
HUS	: <i>Haemolitik uremic syndrome</i>
KHM	: Konsentrasi hambat minimal
KLB	: Kejadian luar biasa
MHA	: Mueller-Hinton Agar
mRNA	: <i>messenger ribonucleid acid</i>
<i>S. dysenteriae</i>	: <i>Shigella dysenteriae</i>
tRNA	: <i>tranfer ribonucleid acid</i>
WHO	: World Health Oranization

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Persetujuan Etik	41
Lampiran 2. Surat Keterangan Identifikasi LIPI	43
Lampiran 3. Gambar Pengulangan Penelitian.....	44
Lampiran 4. Hasil Analisis Statistilk	46
Lampiran 5. Tabel Uji <i>Post Hoc multiple comparison</i> metode <i>Mann Whitney</i> ...	67

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diare merupakan salah satu penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan di dunia. Besarnya masalah tersebut dilihat dari angka kesakitan dan kematian akibat diare. Data dari World Health Organization (WHO) menyebutkan terjadi 1.7 juta kejadian diare di seluruh dunia dan 760.000 kematian pada anak usia dibawah 5 tahun yang terjadi setiap tahun (WHO, 2013). Survei morbiditas yang dilakukan oleh Subdit Diare, Departemen Kesehatan Indonesia dari tahun 2000 hingga 2010 menunjukkan peningkatan insidensi. Pada tahun 2000 kejadian penyakit diare 301/1000 penduduk, dan tahun 2010 menjadi 411/1000 penduduk. Kejadian Luar Biasa (KLB) diare masih terjadi setiap tahun di Indonesia. Pada tahun 2010 terjadi KLB diare di 33 kecamatan dengan *Case Fatality Rate* (CFR) 1,74 % yaitu jumlah penderita 4204 dengan kematian 73 orang (Depkes RI, 2011).

WHO secara klinis membagi diare menjadi tiga kelompok yaitu diare cair akut, diare berdarah (disentri) dan diare persisten (WHO, 2013). Penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian pada diare adalah disentri basiler (Kumar *et al.*, 2013). Disentri basiler disebabkan *Shigella sp* yang termasuk dalam keluarga *Enterobacteriaceae*. *Shigella sp* adalah bakteri gram negatif berbentuk kokobasil dan di bagi atas 4 spesies, yaitu *Shigella dysenteriae* (serogroup A), *Shigella flexneri* (serogroup B), *Shigella boydii* (serogroup C), dan *Shigella sonnei* (serogroup D) (Brooks *et al.*, 2012). Di negara berkembang, *S. dysenteriae* menjadi penyebab utama disentri basiler (Mahon *et al.*, 2011).

Diare pada disentri basiler dapat sembuh sendiri dalam waktu 2- 5 hari. Namun, pada anak dan lansia, kehilangan air dan elektrolit dapat menyebabkan dehidrasi berat, asidosis, bahkan kematian (Brooks *et al.*, 2012). Indonesia mempunyai

kebijakan dalam pengendalian kasus diare. Salah satu langkah pengendalian diare adalah pemberian antibiotik sesuai indikasi. Terapi dengan menggunakan antibiotik hanya bermanfaat pada penderita diare berdarah (disentri) dan kolera (Depkes RI, 2011). Terapi antibiotik pada disentri basiler berbeda-beda di setiap daerah karena perbedaan spesies yang menginfeksi maupun adanya resistensi. Di Iran sudah terjadi resistensi *Shigella sp* terhadap streptomisin, tetrasiklin, sulfametoksazol, dan trimetoprim (Tajbakhsh *et al.*, 2012). Resistensi juga terjadi di Bangladesh yaitu pada ampisilin, trimetoprim- sulfametoksazol, dan asam nalidiksat. Hal ini karena *Shigella sp* mendapatkan tranfer resistensi dari plasmid *Enterobacteriaceae* lain seperti *Escherichia coli* (Klontz *et al.*, 2014). Di Indonesia, terapi dengan antibiotik dosis tunggal golongan fluorokuinolon seperti siprofloksasin jangka pendek menunjukkan hasil yang baik. Namun, siprofloksasin tidak boleh diberikan kepada anak dan ibu hamil (Sya'roni, 2009).

Adanya resistensi *Shigella sp* dan efek samping antibiotik sebagai terapi disentri basiler, dirasa perlu untuk mencari alternatif sebagai upaya menanggulangi resistensi dan membantu terapi pada disentri basiler. Indonesia memiliki keanekaragaman tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat. Di hutan tropis Indonesia, terdapat 30.000 spesies tumbuhan dan sekitar 9.600 spesies diketahui berkhasiat obat, tetapi baru 200 spesies saja yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri obat tradisional (Prasetyono, 2012). Salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri adalah sereh (*Cymbopogon citratus*).

Sereh (*C. citratus*) termasuk tanaman rumput- rumputan berbentuk rumpun tebal dengan batang kaku, keluar dari akar serabut, dan berimpang pendek (Yusdar, 2011). *C. citratus* telah digunakan sebagai obat tradisional untuk batuk, malaria, ophtalmia, pneumonia dan gangguan vaskuler. *C. citratus* juga diketahui dapat digunakan sebagai antidepresan, antioksidan, antiseptik, antibakteri, antifungi, penenang, dan sedatif (Naik *et al.*, 2010). Sedangkan minyak atsiri *C.citratus* dapat digunakan sebagai senyawa antiinflamasi dan bermanfaat sebagai analgesik (Garcia

et al., 2015). Minyak atsiri *C. citratus* juga terbukti dapat menurunkan kolesterol dalam darah (Costa *et al.*, 2011). Kandungan minyak atsiri *C. citratus* terdiri atas geranial (40,6%), neral (33,7%), *myrecene* (10,3%), geraniol (4,6%), dan *sesquiterpene* lainnya (8,6%) (Taweechaisupapong *et al.*, 2012). Menurut Onawunmini (dalam Almeida *et al.*, 2013) senyawa aktif geranial (alpha citral) dan neral (beta citral) ini yang memiliki aktivitas antibakteri.

Banyak penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa minyak atsiri *C. citratus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Minyak atsiri *C. citratus* terbukti dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri gram negatif seperti *E. coli* dan *Klebsiella pneumonia* juga bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan *B. subtilis* (Naik *et al.*, 2010). Hasil penelitian oleh Almeida *et al.* (2013) membuktikan bahwa minyak atsiri *C. citratus* dapat menghambat semua strain *Staphylococcus sp*, *Streptococcus mutans*, dan *Candida sp*. Berdasarkan paparan yang telah ditulis diatas, penulis ingin membuktikan bahwa minyak atsiri batang sereh (*C. citratus*) berpotensi sebagai senyawa antibakteri terhadap *S. dysenteriae* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, beberapa rumusan masalah yang akan dibahas dalam tulisan ini adalah :

- a. Apakah minyak atsiri *C. citratus* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* ?
- b. Berapakah konsentrasi hambat minimal (KHM) minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian dan rumusan masalah di atas, maka tujuan dilaksanakannya penelitian ini dimaksudkan untuk :

- a. Mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*.
- b. Mengetahui konsentrasi hambat minimal (KHM) minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain sebagai berikut.

1.4.1 Manfaat Ilmiah

- a. Memberikan informasi ilmiah dan ilmu pengetahuan tentang aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* bagi para pembacanya.
- b. Sebagai landasan untuk penelitian lebih lanjut baik secara *in vivo* maupun uji klinik.

1.4.2 Manfaat Praktis

Minyak atsiri *C. citratus* dapat digunakan sebagai dasar uji klinis alternatif antibakteri terhadap bakteri *S. dysenteriae*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Shigella dysenteriae*

Bakteri *Shigella sp* merupakan bakteri yang bersifat patogen dalam usus karena penyebab penyakit disentri basiler. *Shigella sp* dimasukkan dalam *tribe Escherichiae* karena sifat genetik yang saling berhubungan, namun memiliki genus sendiri sesuai dengan gejala klinik khas yang ditimbulkan, yaitu genus *Shigella*. Bakteri *Shigella sp* dikelompokkan menjadi 4 spesies yaitu *S.dysenteriae*, *S. sonnei*, *S. boydi*, *S. flexneri* (Karsinah *et al.*, 1994). Penamaan genus *Shigella* berdasarkan pada nama ahli mikrobiologi dari Jepang, Kiyoshi Shiga yang berhasil mengisolasi bakteri *Shigella sp* pada tahun 1896 (Mahon *et al.*, 2011).

2.1.1 Morfologi dan Fisiologi

Shigella sp merupakan bakteri berbentuk batang pendek, pada pewarnaan gram bersifat gram-negatif, tidak motil, tidak berflagel, dan tidak berkapsul. Ukuran *Shigella* sekitar 2-3 μ m x 0,5-0,7 μ m. Bakteri ini dapat tumbuh subur pada suhu optimum 37°C, kecuali *S. sonnei* yang dapat tumbuh pada suhu 40°C, dengan pH pertumbuhan 6,4-7,8 (Karsinah *et al.*, 1994). *Shigella sp* termasuk dalam kelompok bakteri fakultatif anaerob. Namun dapat tumbuh subur pada kondisi aerob. Sifat koloninya berbentuk cembung, bundar, transparan, tepi berbatas tegas, dan diameter sekitar 2mm dalam 2 jam pembiakan (Brooks *et al.*, 2012).

Beberapa reaksi biokimia yang dipakai untuk membedakan spesies *Shigella sp* dapat dilihat dalam tabel dibawah ini.

Tabel 2.1 Identifikasi Bakteri *Shigella sp* (Brooks *et al.*, 2012)

Identifikasi saat ini	Grup dan Tipe	Fermentasi mannitol	Ornithine Decarboxylase
<i>S. dysenteriae</i>	A	-	-
<i>S. flexneri</i>	B	+	-
<i>S. boydi</i>	C	+	-
<i>S. sonnei</i>	D	+	+

2.1.2 Struktur antigen

Bakteri *Shigella sp* memiliki pola antigen yang kompleks, spesies yang berbeda memiliki sifat serologis yang berbeda juga. Sebagian besar bakteri *Shigella sp* memiliki antigen O yang sama dengan bakteri enterik lainnya. Antigen somatik O *Shigella sp* tersusun atas lipopolisakarida (Brooks *et al.*, 2012). Bakteri *Shigella sp* dikelompokkan dalam 4 serogrup berdasarkan komponen utama antigen O tersebut. Setiap serogrup dibagi lagi dalam beberapa serotipe berdasarkan komponen minor antigen O. Terdapat 43 serotipe dari bakteri *Shigella*, 10 serotipe *S. dysenteriae*, 6 serotipe *S. flexneri*, 15 serotipe *S. boydi*, dan 1 serotipe *S. sonnei* (Karsinah *et al.*, 1994). Kekebalan tubuh manusia bersifat serotipe spesifik, sehingga seseorang dapat terinfeksi beberapa kali oleh serotipe *Shigella* yang berbeda (Sya'roni, 2009).

2.1.3 Toksin

Saat terjadi autolisis, bakteri *Shigella sp* akan melepaskan lipopolisakarida toksik. Endotoksin ini berperan dalam menimbulkan iritasi dinding usus. Bakteri *S. dysenteriae* tipe 1 juga menghasilkan eksotoksin (shiga toksin) yang termolabil. Eksotoksin ini dapat merusak usus dan sistem saraf pusat. Pada manusia, eksotoksin dapat menghambat penyerapan gula dan asam amino di usus halus. Eksotoksin *S. dysenteriae* dapat menjadi neurotoksin karena menimbulkan reaksi sistem saraf pusat seperti meningismus atau koma (Brooks *et al.*, 2012). Shiga toksin pada *S. dysenteriae*

dapat menghambat sintesis protein sel eukariotik sehingga menyebabkan kematian sel pada saluran cerna (Kumar *et al.*, 2013).

2.1.4 Patogenesis

Manusia merupakan hospes bakteri *Shigella sp.* Penyebaran bakteri dapat terjadi melalui kontak dari orang ke orang lain. Penularan melalui fekal-oral, ditularkan oleh lalat, makanan, dan minuman yang terkontaminasi (Mahon *et al.*, 2011). Infeksi *Shigella sp* terbatas di saluran cerna, jarang menyebar ke aliran darah. Bakteri ini dapat menimbulkan infeksi dalam jumlah 10^3 organisme. *Shigella sp* tahan terhadap lingkungan asam di lambung sehingga mudah masuk ke saluran cerna. Proses patologis yang penting adalah invasi ke sel epitel mukosa (sel Mikrofold) saluran cerna melalui fagositosis terinduksi. Selanjutnya *Shigella sp* keluar dari vakuola fagositik, memperbanyak diri di dalam sitoplasma sel epitel, dan menyebar ke sel yang berdekatan di lamina propria. *Shigella sp* akan menginfeksi membran basolateral usus halus dan kolon dengan reseptor bakteri. Bakteri *Shigella sp* mengeluarkan suatu protein virulensi ke sitoplasma sel epitel melalui sistem sekresi tipe III. Kemudian akan terbentuk mikroabses di dinding ileum terminalis dan kolon yang mengakibatkan nekrosis membran mukosa, perdarahan, dan terbentuk pseudomembran. Mikroabses ini terdiri atas fibrin, leukosit, debris sel, membran mukosa nekrotik, dan bakteri. Setelah proses ini mereda, akan terbentuk jaringan granulasi dalam ulkus dan menjadi jaringan parut. Toksin bakteri *Shigella sp* ini menyebabkan diare hebat dan tidak berdarah, kemudian invasi pada usus besar menyebabkan disentri lanjut disertai darah dan pus dalam feses (Brooks *et al.*, 2012 dan Kumar *et al.*, 2013).

2.1.5 Manifestasi Klinis dan Komplikasi

Disenti basiler menimbulkan berbagai variasi gejala, mulai dari defekasi sedikit dan sering, sakit perut, kolik, tenesmus, muntah, dan bila keadaan berat feses dapat berlendir hingga berdarah. Masa inkubasi penyakit ini mulai dari beberapa jam

hingga 3 hari. Gejala klinis yang berat (fulminating cases) biasanya disebabkan oleh bakteri *S. dysenteriae*. Gejala timbul dengan cepat, defekasi cair disertai muntah, cepat terjadi dehidrasi, renjatan septik, dan dapat meninggal apabila tidak cepat mendapat pertolongan (Sya'roni, 2009). Kasus pada orang dewasa, dapat berhenti secara spontan dalam 2- 5 hari, tetapi pada anak dan lansia dapat berlangsung lama dan beresiko tinggi terjadi dehidrasi, asidosis, hingga kematian karena kehilangan cairan dan elektrolit (Brooks *et al.*, 2012).

Saat proses penyembuhan, sebagian pasien dapat mengeluarkan basil disentri dalam periode singkat. Namun, sebagian lainnya dapat menjadi karier intestinal kronik yang menetap dan mengalami serangan berulang. Setelah sembuh, pasien memiliki antibodi terhadap *Shigella sp* dalam darah. Namun antibodi ini tidak mencegah terjadinya infeksi ulang (Brooks *et al.*, 2012).

Komplikasi penyakit dihubungkan dengan infeksi oleh bakteri *S.dysenteriae* tipe I adalah *haemolitik uremic syndrome* (HUS) dengan tanda oligouria, penurunan hematokrit, secara progresif timbul anuria dan gagal ginjal atau anemia berat dengan gagal jantung (Sya'roni, 2009). Penyakit ini berhubungan dengan infeksi ganda oleh *Enterohemorrhagic Escherichia Coli* (EHEC). Komplikasi lainnya adalah artritis, uretritis, dan konjungtivitis (Kumar *et al.*, 2013).

2.1.6 Antibiotik untuk disentri basiler

Siprofloksasin

Siprofloksasin merupakan obat golongan flurokuinolon yang mempunyai unsur atom fluor pada cincin quinolon. Struktur atom fluor ini dapat meningkatkan daya antibakteri, memperlebar spektrum antibakteri, dan memperbaiki penyerapan dalam saluran cerna. Obat ini diindikasikan untuk penanggulangan infeksi berat, khususnya yang karena bakteri gram negatif. Siprofoksasin efektif pada infeksi saluran cerna seperti pada diare yang disebabkan bakteri *Shigella sp*, *Salmonella sp*, *E. Coli*, dan *Compylobacter sp*. Mekanisme kerja antibakteri golongan flurokuinolon adalah

dengan cara menghambat kerja enzim DNA girase (menghambat topoisomerase II dan IV) bakteri (Setyabudy, 2012).

2.2 Mekanisme Kerja Antimikroba

Antimikroba merupakan obat pembasmi mikroba yang merugikan manusia. Obat antimikroba harus memiliki sifat toksisitas selektif yang tinggi, yaitu obat bersifat toksik pada mikroba patogen, tetapi tidak berbahaya bagi hospes (Setyabudy, 2012). Toksisitas selektif merupakan fungsi reseptor spesifik yang diperlukan untuk penempelan obat atau penghambatan peristiwa biokimia pada mikroba patogen. Mekanisme kerja antimikroba sebagai berikut.

a. Menghambat Sintesis Dinding Bakteri

Dinding sel bakteri merupakan lapisan terluar bakteri yang bersifat kaku. Dinding sel ini berfungsi untuk mempertahankan bentuk serta ukuran bakteri yang memiliki tekanan osmotik internal tinggi. Kerusakan dinding sel atau adanya penghambatan sintesis dinding sel dapat menyebabkan lisis dinding sel. Kerusakan dinding sel akan menyebabkan bakteri berubah bentuk menjadi sferis (protoplas pada bakteri gram positif atau sferoplas pada bakteri gram negatif) yang dibatasi oleh membran sitoplasma yang rapuh. Bakteri berbentuk sferis mudah menyerap air kemudian membengkak dan mudah pecah. Dinding sel bakteri mengandung polimer mukopeptida (peptidoglikan). Lapisan peptidoglikan ini yang membuat dinding bakteri menjadi kaku. Lapisan peptidoglikan pada bakteri gram positif lebih tebal dibandingkan pada bakteri gram negatif (Brooks *et al.*, 2012).

b. Menghambat Fungsi Membran Sel

Sitoplasma pada semua sel hidup dilapisi oleh membran sitoplasma yang berfungsi dalam transportasi aktif dan mengatur komposisi internal sel. Jika integrasi fungsional membran terganggu, makromolekul dan ion-ion akan keluar dari sel sehingga menyebabkan kerusakan atau kematian sel (Brooks *et al.*, 2012).

c. Menghambat Sintesis Protein

Bakteri membutuhkan sintesis protein dalam kehidupannya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri ribosom terdiri atas ribosom 30S dan 50S, keduanya akan bergabung pada pangkal mRNA menjadi ribosom 70S. Penghambatan sintesis protein dapat terjadi dengan cara obat berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode mRNA salah dibaca oleh tRNA sehingga terbentuk protein abnormal dan nonfungsional. Suatu obat juga dapat berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi tRNA-peptida. Akibatnya rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak menerima kompleks tRNA-asam amino baru (Setyabudy, 2012).

d. Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Mekanisme kerja obat golongan ini adalah menghambat sintesis DNA atau RNA bakteri. Penghambatan obat dapat dengan cara mengikat enzim polimerase-RNA dapat juga dengan cara menghambat enzim DNA girase bakteri yang berfungsi menata kromosom panjang bakteri (Setyabudy, 2012).

e. Menghambat Metabolisme Sel

Bakteri juga membutuhkan sintesis asam folat dalam kelangsungan hidupnya. Bakteri mendapatkan asam folat dengan cara mensintesis dari asam amino benzoat (PABA). Cara kerja obat golongan ini dengan cara berkompetisi dengan PABA dan ikut dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat nonfungsional (Setyabudy, 2012).

2.3 Pengukuran Aktivitas Antibakteri

Penentuan kerentanan bakteri terhadap senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari metode utama, yaitu.

a. Metode Dilusi

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan substansi antibakteri dalam kadar bertingkat (pengenceran dua kali lipat) ke dalam medium bakteriologis padat atau cair. Kemudian medium diinokulasi dengan bakteri penguji dan diinkubasi. Hasil

yang diambil adalah jumlah substansi antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penguji. Uji sensitivitas dilusi agar membutuhkan waktu lama dan hanya dibatasi pada kondisi khusus.

b. Metode Difusi

Metode difusi lempeng kertas merupakan metode pengukuran aktivitas antibakteri yang sering digunakan. Metode ini dilakukan dengan menggunakan suatu lempeng kertas saring yang mengandung substansi antibakteri dalam jumlah tertentu. Kemudian kertas saring ditempatkan pada medium solid yang telah diinokulasi dengan bakteri penguji dipermukaannya. Setelah diinkubasi, diameter daerah hambat yang berwarna jernih disekeliling lempeng diukur sebagai nilai hambat substansi antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri uji. Metode ini dipengaruhi oleh banyak faktor seperti faktor fisik, kimia, dan interaksi antara substansi antibakteri dengan bakteri uji seperti sifat medium, difusibilitas, ukuran molekular, dan kestabilan substansi antibakteri. (Brooks *et al.*, 2012).

Metode difusi selanjutnya adalah metode sumuran. Sumuran dibentuk didalam media uji yang telah diberi suspensi bakteri dipermukaannya. Kemudian larutan antibakteri diteteskan dalam sumuran dan diinkubasi. diameter daerah hambat dapat dilihat setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam (Brooks *et al.*, 2012).

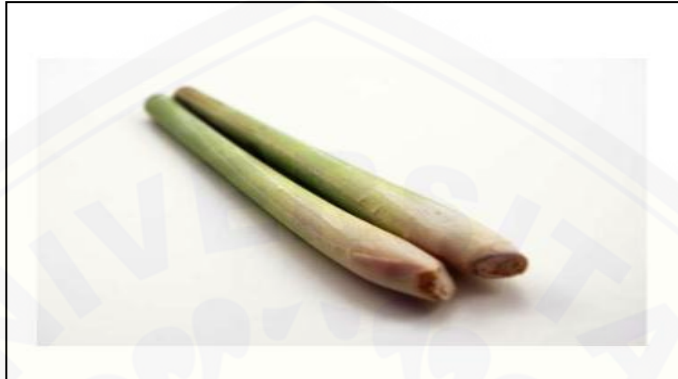
2.4 Sereh (*Cymbopogon citratus*)

2.4.1 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tumbuhan sereh menurut Negrelle dan Gomes (2007) yaitu:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Trachebionta
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Sub Kelas	: Commelinidae
Ordo	: Poales

Famili : Graminae/Poaceae
Genus : Cymbopogon
Species : Cymbopogon citratus



Gambar 2.1 Tanaman Sereh

2.4.2 Tanaman Sereh

Tanaman sereh termasuk rumput – rumputan berbentuk rumpun tebal dengan batang kaku, keluar dari akar serabut, dan berimpang pendek (Yusdar, 2011). Di Indonesia, tanaman ini banyak terdapat di dataran rendah dengan ketinggian 60-140 meter di atas permukaan laut. Pembudidayaan tanaman sereh dapat dilakukan dengan potongan rimpangnya. Jarak tanam yang dianjurkan adalah 0,5-1 meter. Pemanenan dilakukan saat tinggi tanaman sereh telah mencapai 1-1,5 meter. Pemotongan pertama dilakukan pada umur 6-9 bulan, pemotongan selanjutnya dilakukan selang 3-4 bulan karena umur panen mempengaruhi jumlah minyak atsiri (Prasetyono, 2012).

2.4.3 Penggunaan Tanaman Sereh

Tanaman sereh digunakan sebagai obat tradisional untuk batuk, malaria, ophtalmia, pneumonia dan gangguan vaskuler, karena sereh bersifat sebagai antidepresan, antioksidan, antiseptik, *astringent*, antibakteri, antifungi, penenang, dan sedatif (Naik *et al.*, 2010).

2.5 Minyak Atsiri *C. citratus*

Beberapa jenis tanaman memiliki citarasa dan aroma yang khas. Aroma yang khas pada tanaman ini mungkin berperan untuk menarik serangga penyerbuk atau hewan penyebar biji (Robinson, 1995). Aroma khas dari tanaman tersebut ternyata ditimbulkan secara biokimia sebagai suatu produk metabolit sekunder yang disebut minyak atsiri (Gunawan, 2010).

2.5.1 Pengertian Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak atsiri mudah menguap pada suhu kamar di udara terbuka. Dalam keadaan segar dan murni tanpa pencemar, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Namun, pada penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih tua (Gunawan, 2010).

2.5.2 Kandungan Kimiawi Minyak Atsiri

Minyak atsiri tersusun atas bermacam-macam komponen senyawa. Melalui asal biosintetik, minyak atsiri dapat dibedakan menjadi dua yaitu, turunan terpenoid yang terbentuk melalui jalur biosintesis asam asetat mevalonat dan turunan fenil propanoid yang merupakan senyawa aromatik, terbentuk melalui jalur biosintesis asam sikimat. Terpenoid berasal dari suatu unit senyawa isoprena. Sementara fenil propana terdiri atas gabungan inti benzena (Gunawan, 2010).

Komponen terbesar minyak atsiri *C. citratus* berupa citral, yaitu geraniol (alpha citral) dan neral (beta citral). Selain itu, *C. citratus* tersusun atas kandungan lain diantaranya α -pinene, citronelal, citronelol, geraniol, myrcene, dan quercetin (Bassole *et al.*, 2011). Hasil pengujian komponen minyak atsiri *C. citratus* oleh Taweechaisupamong *et al* (2012) dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2.2 Komponen Penyusun Minyak Atsiri *C. citratus* (Taweechaisupapong *et al.*, 2012)

Komponen	Presentase
Myrcene	10.3 %
Neral	33.7 %
Geraniol	4.6 %
Geranial	40.6 %
Geranyl acetate	2.2 %
Lainnya	8.6 %

Penyusun minyak atsiri *C. citratus* yang termasuk golongan terpenoid adalah geraniol, geranial, dan neral (monoterpena rantai terbuka) serta α -pinene (bisiklik monoterpena) (Gunawan, 2010).

2.5.3 Manfaat Minyak Atsiri *C. citratus*

Minyak atsiri *C. citratus* terbukti memiliki beberapa kegunaan seperti senyawa *myrcene* sebagai antidepresan, anticemas, dan antinyeri. Minyak atsiri *C. citratus* dapat digunakan sebagai *repellent*, obat nyamuk, memiliki aktivitas antimikroba (Negrelle dan Gomes, 2007) senyawa anti-inflamasi (Garcia *et al.*, 2015), dapat menurunkan kolesterol dalam darah (Costa *et al.*, 2011). Manfaat lain dari kandungan minyak atsiri dapat dijadikan sebagai antiamoba, antibiotik, antidiare, antifilaria, antijamur, antimalaria, antimutagenik, antiprotozoa, dan dapat menurunkan kadar gula darah (Shah *et al.*, 2011).

2.5.4 Mekanisme Kerja Minyak Atsiri *C. Citratus* sebagai Senyawa Antibakteri

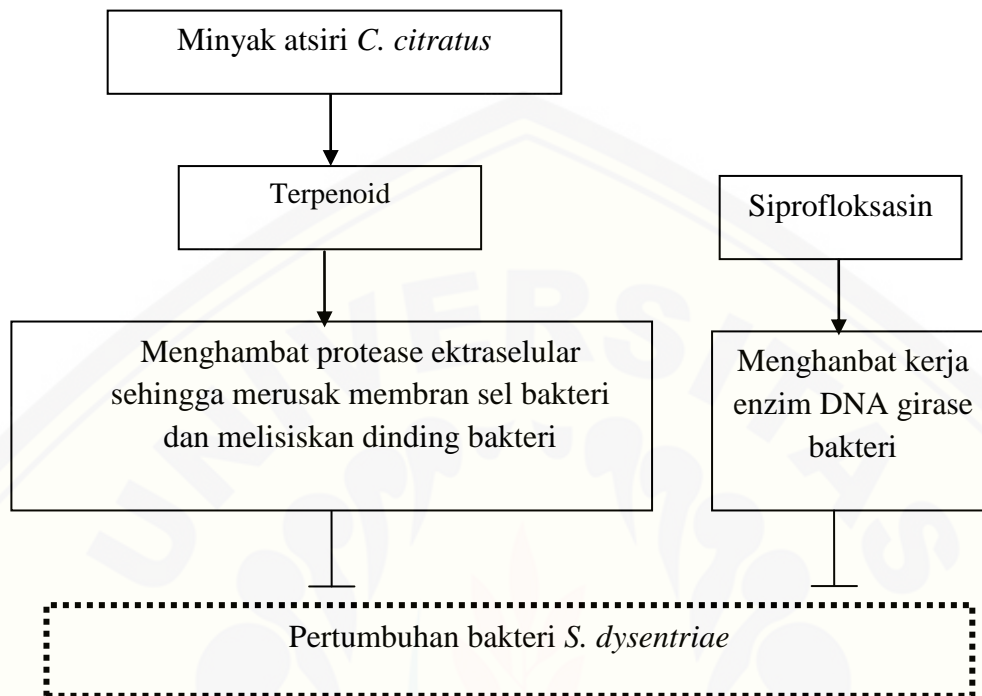
Menurut Bakkali *et al.* (dalam Korenblum *et al.*, 2013) mekanisme kerja minyak atsiri dalam membunuh bakteri adalah dengan cara merubah permeabilitas membran sel, menghilangkan ion-ion dalam sel, menghalangi proton-pump, dan

menurunkan produksi adenosin trifosfat (ATP). Penelitian yang dilakukan oleh Bouhdid *et al.* (2010) menyebutkan bahwa mekanisme kerja minyak atsiri adalah dengan menghambat stabilitas membran sel bakteri dan menyebabkan material sitoplasma menghilang. Menurut Fadli *et al.* (dalam Korenblum *et al.*, 2013) minyak atsiri bersifat lipofilik yang dapat melewati dinding bakteri karena dinding bakteri terdiri atas polisakarida, asam lemak, dan fosfolipid. Hal ini dapat mengakibatkan kerusakan dinding sel sehingga dapat membunuh bakteri. Minyak atsiri juga dapat mengganggu transportasi rantai elektron dari mitokondria bakteri (Kalemba dan Kunicka, 2003).

Senyawa aktif geraniol (alpha citral) dan nerol (beta citral) dalam minyak atsiri *C. citratus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan gram positif, menurut Onawunmini (dalam Almeida *et al.*, 2013). Adesegun *et al.* (2013) menyatakan bahwa minyak atsiri *C. citratus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. sonnei* dengan cara menjadi inhibitor kompetitif enzim protease ekstraseluler bakteri *S. sonnei* sehingga tidak terbentuk protein membran sel. Minyak atsiri *C. citratus* juga mempunyai efek antioksidan. Mekanisme kerja antioksidan sebagai pengambat pertumbuhan bakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri.

Penelitian tentang aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* dan komponen utamanya berupa citral terhadap bakteri gram negatif, *Desulfovibrio alaskensis* menunjukkan potensi yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Setelah pemberian minyak atsiri *C. citratus*, bakteri *D. alaskensis* mengalami beberapa perubahan. Perubahan awal adalah lisis dinding sel bakteri. Kemudian terjadi kebocoran sitoplasma yang mengakibatkan hilangnya material sel. Pada mikroskop elektron memperlihatkan granula-granula elektron dense bakteri *D. alaskensis* menjauh dari membran sel yang menunjukkan bahwa minyak atsiri *C. citratus* mempengaruhi metabolisme sel. Hal ini menyebabkan kematian bakteri *D. alaskensis* (Korenblum *et al.*, 2013).

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :

— = Menghambat

⋯ = Diteliti

□ = Tidak diteliti

Komponen minyak atsiri *C. citratus* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* adalah terpenoid. Penyusun terpenoid yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah geranial (alpha citral) dan neral (beta citral). Mekanisme kerja terpenoid dengan cara melisiskan dinding sel bakteri. Terpenoid bersifat lipofilik sehingga dapat melewati dan merusak dinding *S.dysenteriae* yang terdiri atas lipopolisakarida (Korenblum *et al.*,2013). Dinding bakteri *S.dysenteriae* yang rusak tidak dapat menjaga tekanan osmotik bakteri, tidak dapat memproduksi endotoksi, dan tidak akan terjadi pembelahan sel. Minyak atsiri *C. citratus* dapat merusak membran sel bakteri dengan cara menjadi inhibitor kompetitif enzim protease

ekstraseluler (Adesegun *et al.*, 2013). Jika protease ekstraseluler dihambat maka protein penyusun membran sel tidak terbentuk sehingga menyebabkan kerusakan membran sel. Dinding sel dan membran bakteri *S. dysenteriae* yang rusak menyebabkan kebocoran sitoplasma dan komponen dalam sel menghilang sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae*.

2.7 Hipotesis

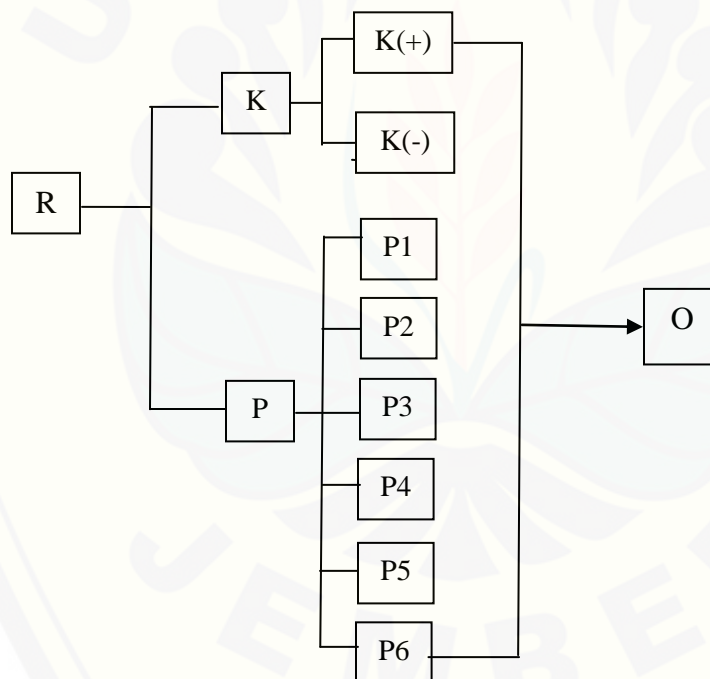
Minyak atsiri sereh (*C. citratus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* secara *in vitro*

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan *quasi experimental* (eksperimental semu) karena dalam penelitian ini sampel tidak diambil secara random (Nazir, 2011).

3.2 Rancangan Penelitian



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan

R = Rancangan penelitian

K = Kelompok kontrol

P = Kelompok perlakuan

K (+) = Kelompok kontrol positif dengan antibiotik siprofloksasin 5µl/ml

K (-) = Kelompok kontrol negatif

- P1 = Kelompok perlakuan 1 konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* 15 μ l/ml
P2 = Kelompok perlakuan 2 konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* 20 μ l/ml
P3 = Kelompok perlakuan 3 konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* 25 μ l/ml
P4 = Kelompok perlakuan 4 konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* 30 μ l/ml
P5 = Kelompok perlakuan 5 konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* 35 μ l/ml
P6 = Kelompok perlakuan 6 konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* 35 μ l/ml
O = Observasi

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah bakteri *S. dysenteriae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pada penelitian ini dilakukan 4 kali pengulangan ($n \geq 3.5$) dengan kelompok perlakuan yang sama. Ulangan ini didapatkan dari perhitungan menggunakan rumus Federer.

Banyaknya ulangan:

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

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

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3.5$$

Keterangan:

n = besar ulangan

t = jumlah kelompok perlakuan

3.4 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap bakteri *S. dysenteriae* dengan metode difusi sumuran. Media Mueller-Hinton Agar (MHA) digunakan sebagai media uji bakteri *S. dysenteriae* untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan KHM minyak atsiri *C. citratus* (Brooks *et al.*, 2012).

3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

3.5.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di 2 tempat, yaitu :

- a. Laboratorium Rekayasa Produksi Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember sebagai tempat untuk pembuatan minyak atsiri *C. citratus* dengan teknik distilasi uap.
- b. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebagai tempat untuk uji aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap bakteri *S. dysenteriae*.

3.5.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Nopember 2015.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi minyak atsiri *C. citratus*. Pemberian minyak atsiri *C. citratus* dibedakan dalam beberapa konsentrasi, yaitu 15µl/ml; 20µl/ml; 25µl/ml; 30µl/ml; 35µl/ml; dan 40µl/ml (v/v). Konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* ini didasarkan pada hasil uji pendahuluan.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini berupa diameter daya hambat minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan bakteri *S.dysenteriae*.

3.6.3 Variabel Luar Terkendali

Variabel luar terkendali dalam penelitian ini adalah lama inkubasi, suhu inkubasi, jumlah koloni bakteri *S.dysenteriae*, kuman kontaminan, dan jenis perlakuan.

3.7 Definisi Operasional

3.7.1 Uji Antibakteri

Uji antibakteri merupakan pengujian terhadap bahan yang diindikasikan mengandung senyawa antibakteri terhadap bakteri patogen. Aktivitas antibakteri terhadap *S.dysentriae* dapat dilakukan secara *in vitro* dengan cara pembiakan bakteri dalam suatu media khusus kemudian ditambahkan suatu bahan yang mengandung suatu senyawa antibakteri.

3.7.2 Minyak Atsiri *C. citratus*

Minyak atsiri *C. citratus* merupakan senyawa yang didapatkan dengan cara distilasi uap batang semu *C. citratus*. Melalui distilasi uap batang semu *C. citratus* sebanyak 3,8 kg dan didapatkan minyak atsiri *C. citratus* sebanyak 6 ml.

3.7.3 Konsentrasi minyak atsiri *C. citratus*

Konsentrasi minyak atsiri adalah jumlah minyak atsiri dalam suatu larutan. Konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan hasil uji pendahuluan yaitu 15µl/ml; 20µl/ml; 25µl/ml; 30µl/ml; 35µl/ml; dan 40µl/ml.

3.7.4 Bakteri *S. dysentriae*

Bakteri *S. dysentriae* adalah bakteri patogen dalam saluran cerna yang telah dikembangbiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.7.5 Kontrol Penelitian

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik siprofloksasin konsentrasi 5µl/ml dan kontrol negatif adalah tween-80 sesuai dengan pelarut yang digunakan dalam pengujian.

3.7.6 Diameter Daya Hambat

Diameter daya hambat adalah diameter daya jernih di sekitar sumuran yang menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan bakteri *S.dysentriae*. Diameter daya hambat diukur menggunakan jangka sorong dari tepi luar daerah jernih satu ke tepi berlawanan dan melewati garis tengah sumuran. Diameter daerah hambat dinyatakan dalam satuan millimeter (mm). Diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *S.dysentriae* merupakan nilai ukur efek antibakteri minyak atsiri *C.citratius terhadap* pertumbuhan bakteri *S. dysentriae*.

3.7.7 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil dari minyak atsiri *C. citratius* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.dysentriae* secara *in vitro*.

3.8 Alat dan Bahan Penelitian

3.8.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah destilator uap, vortex, tabung *Erlenmeyer*, *disposable syringe*, mikropipet, *yellow tip*, *blue tip*, ose, lampu Bunsen, autoklaf, cawan petri, incubator, sterilisator panas kering, dan jangka sorong.

3.8.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah batang semu *C. citratius* dengan kondisi bahan segar, suspensi bakteri *S.dysentriae*, suspensi siprofloksasin, media MHA, aquades steril, tween 80, dan spirtus.

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Uji Determinasi *C. citratius*

Penentuan spesies *C. citratius* dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan. Determinasi bertujuan untuk

memastikan tidak ada kesalahan dalam pengambilan tanaman uji karena banyak spesies lain yang morfologinya mirip dengan *C. citratus*.

3.9.2 Persiapan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dicuci hingga bersih, kemudian dikeringkan dan disterilkan menggunakan sterilisator panas kering selama 15 menit pada suhu 110⁰C. Media MHA disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121⁰C.

3.9.3 Pembuatan Minyak Atsiri *C. citratus*

Pembuatan minyak atsiri *C. citratus* dilakukan dengan metode distilasi uap. Langkah pertama yang dilakukan adalah penyediaan batang semu *C. citratus*, kemudian dicuci dan dipotong dengan ukuran ± 3 cm. Bahan dimasukkan dalam tabung distilasi yang sebelumnya telah diisi air sebanyak ± 7 liter (3/4 dari bawah ke batas loyang). Tabung distilasi ditutup rapat dan dihubungkan dengan alat distilasi yang terdapat pendingin balik. Pemanasan berjalan sekitar 5 jam hingga didapatkan minyak atsiri sereh dapur sebanyak 6 ml. Minyak atsiri tersebut diambil dan dipisahkan dari air dengan corong pemisah (Feriyanto,2013).

3.9.4 Pembuatan Konsentrasi Minyak Atsiri *C. citratus*

Pembuatan konsentrasi ini didasarkan atas uji pendahuuan sebelumnya. Pada uji pendahuluan, konsentrasi 15 μ l/ml; 20 μ l/ml; 25 μ l/ml; 30 μ l/ml; 35 μ l/ml; dan 40 μ l/ml minyak atsiri *C. citratus*. Minyak atsiri *C. citratus* dilarutkan menggunakan 1 ml tween-80 (Feriyanto,2013).

3.9.5 Pembuatan Media Mueller-Hinton Agar

Agar nutrien Mueller-Hinton sebanyak 2 gram dimasukkan dalam tabung Erlenmeyer ditambah 1 ml aquades, dicampur hingga merata. Campuran tersebut

dipanaskan hingga mendidih. Kemudian dimasukkan dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C selama 30 menit.

3.9.6 Pembuatan Suspensi Bakteri *S.dysentriae*

Biakan bakteri *S.dysentriae* diambil menggunakan ose steril, kemudian dimasukkan dalam aquades steril hingga mencapai kekeruhan yang sama dengan standart 0.5 Mc Farland (setara 1x10⁸ CFU/ml).

3.9.7 Pembuatan Suspensi Siprofloksasin

Tablet siprofloksasin dosis 500 mg diencerkan sebanyak 5 kali dengan menggunakan 55 ml aquades steril, sehingga didapatkan konsentrasi siprofloksasin 5µg/ml yang sesuai dengan potensi dosis dalam uji kepekaan antibakteri (Vandepitte *et al.*, 2003).

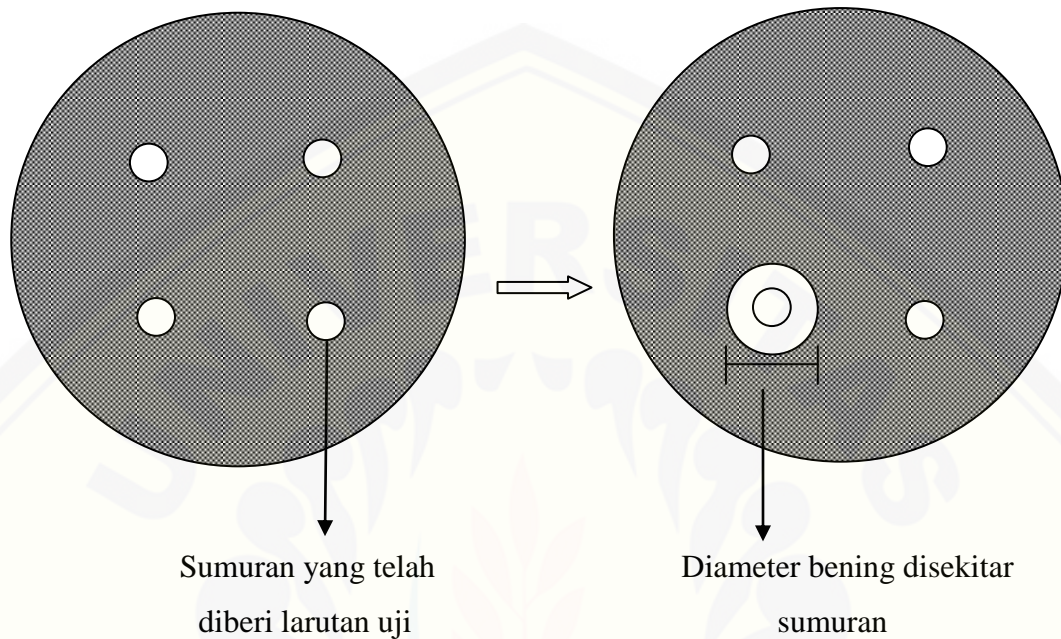
3.9.8 Tahap Perlakuan

Suspensi bakteri *S.dysentriae* diambil menggunakan lidi kapas steril, kemudian diusapkan pada seluruh permukaan media MHA, putar media 60⁰ saat pengusapan suspensi bakteri. Prosedur tersebut dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Media MHA didiamkan selama 3-5 menit dalam suhu ruangan hingga kering. Selanjutnya pembuatan sumuran dalam media dengan menggunakan alumunium steril berdiameter ± 7.6 mm. Pada setiap sumuran ditambahkan larutan uji minyak atsiri *C. citratus* (konsentrasi 15µl/ml; 20µl/ml; 25µl/ml; 30µl/ml; 35µl/ml; dan 40µl/ml), larutan kontrol positif, dan larutan kontrol negatif. Media MHA yang telah diberi perlakuan diinkubasi dengan suhu 35⁰C selama 16 jam hingga 18 jam (Vandepitte *et al.*, 2003).

3.9.9 Tahap Pengamatan

Tahap pengamatan dilaksanakan setelah bakteri *S.dysentriae* inkubasi pada suhu 35⁰C selama 16 jam hingga 18 jam. Pengamatan daya hambat pertumbuhan

S.dysentriae dilakukan menggunakan jangka sorong, yaitu dengan mengukur diameter daerah bening di sekitar sumuran media MHA.

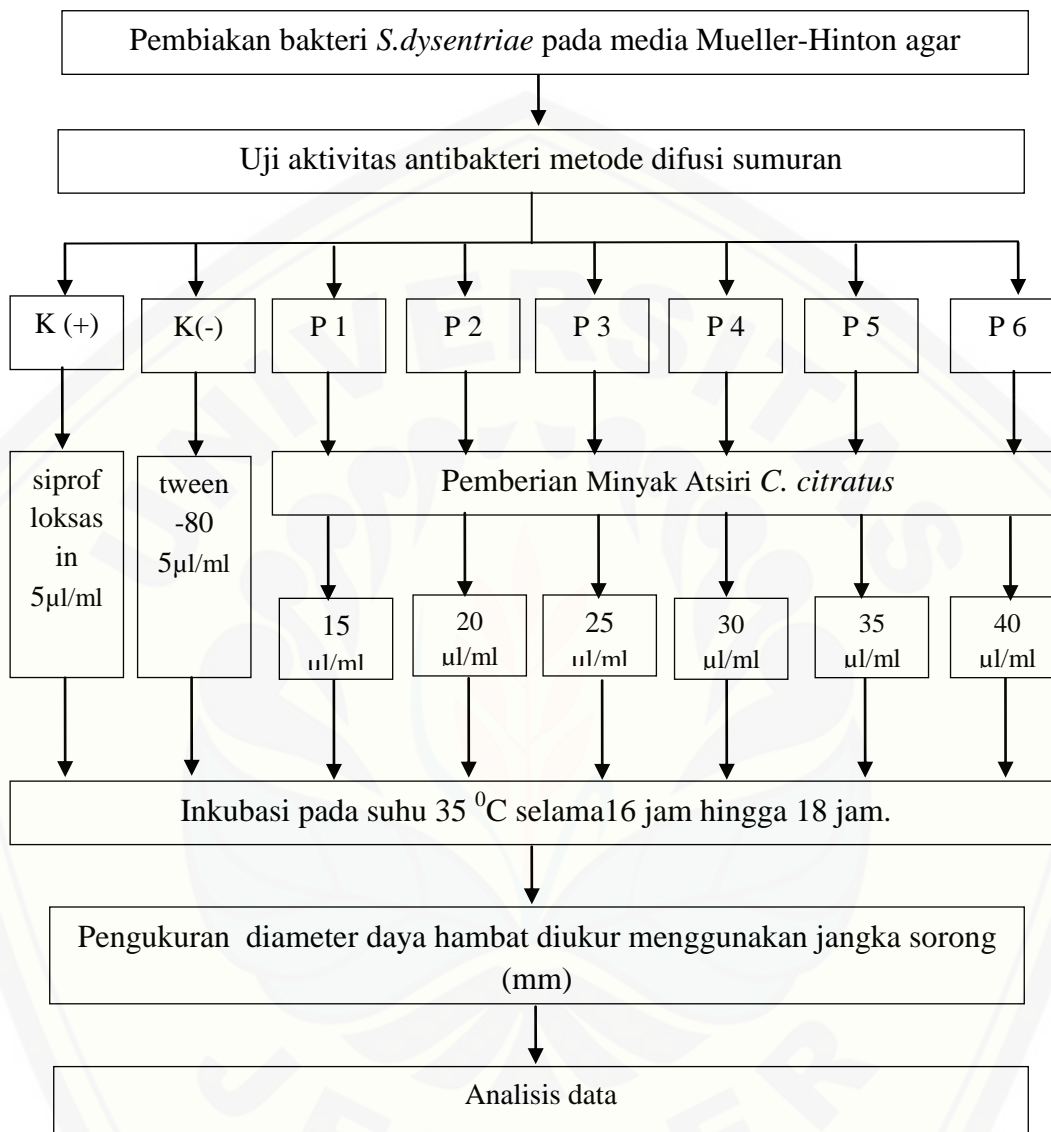


Gambar 3.2 Penghitungan daerah hambat

3.10 Analisis Data

Pengelolaan data penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan perangkat lunak berupa *Software Statistical Product and Service Solution (SPSS)*. Tahapan pertama dilakukan adalah uji normalitas data dengan *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui distribusi data. Apabila sampel terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), analisis dilanjutkan dengan menggunakan metode statistik *One Way ANOVA*. Namun, jika sampel tidak terdistribusi normal dan tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur penelitian

Keterangan :

- K = Kelompok kontrol
- P1 = Kelompok perlakuan 1
- P2 = Kelompok perlakuan 2
- P3 = Kelompok perlakuan 3
- P4 = Kelompok perlakuan 4
- P5 = Kelompok perlakuan 5
- P6 = Kelompok perlakuan 6