



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN
Mirabilis jalapa TERHADAP PERTUMBUHAN
KOLONI *Streptococcus pyogenes*
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh

**Bagus Satrio Pambudi
NIM 122010101020**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN
Mirabilis jalapa TERHADAP PERTUMBUHAN
KOLONI *Streptococcus pyogenes*
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

Bagus Satrio Pambudi
NIM 122010101020

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

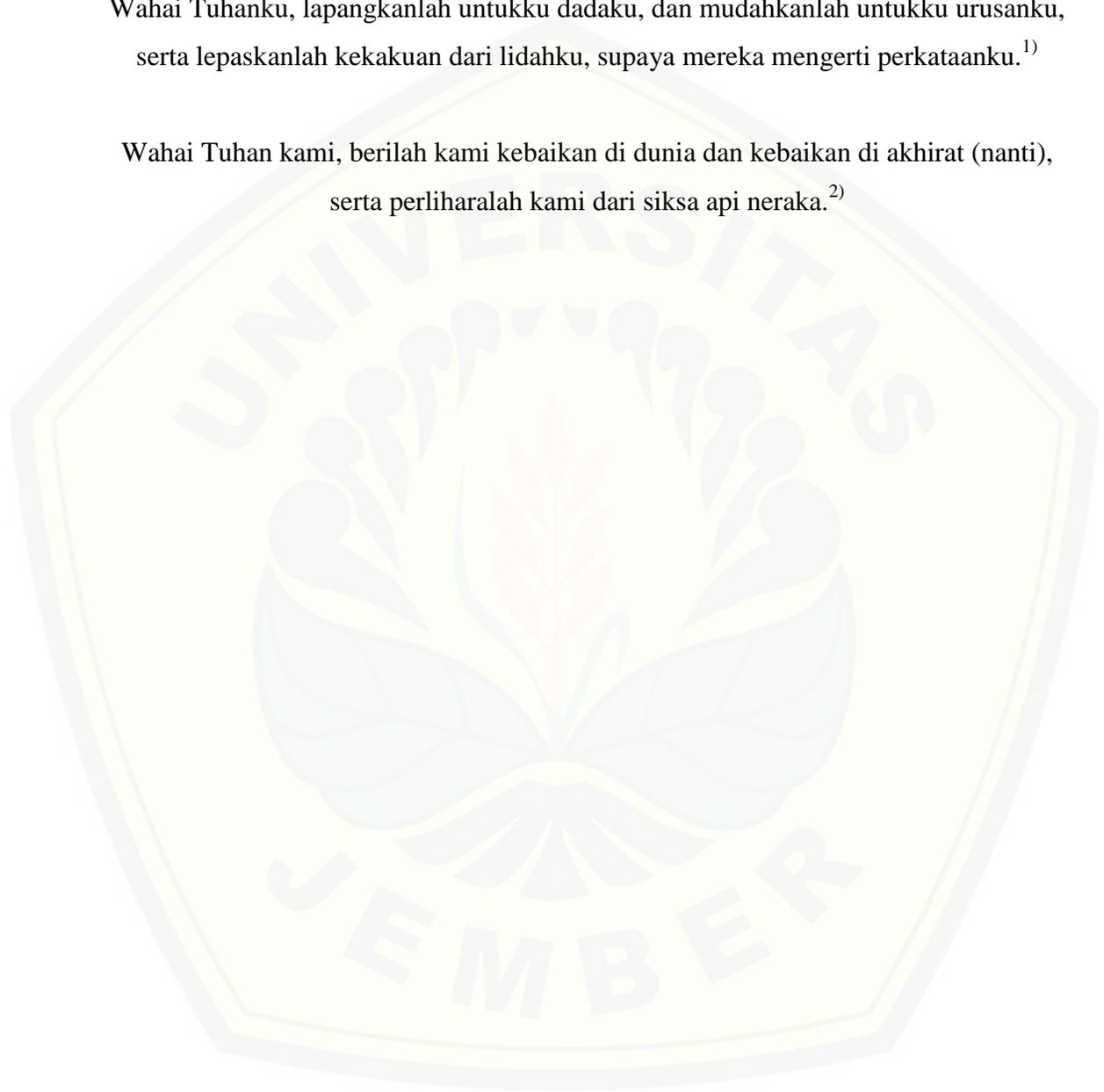
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas hidayah yang telah diberikan dalam setiap langkah pendidikan yang saya ambil;
2. Nabi Muhammad SAW beserta sahabatnya yang telah memberikan pedoman kepada saya berupa agama Islam;
3. Ibu saya Yutik Armukeni dan ayah saya Suprayitno yang telah memberikan doa, dukungan, pengorbanan, kasih sayang, dan didikannya kepada saya;
4. Keluarga besar saya yang memberikan dukungan moril dan materi;
5. Teman-teman saya yang selalu memberikan semangat dan saling menasihati dalam kebenaran;
6. Para pahlawan tanpa tanda jasa, guru saya yang telah memberikan ilmunya dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
7. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember

MOTO

Wahai Tuhanku, lapangkanlah untukku dadaku, dan mudahkanlah untukku urusanku,
serta lepaskanlah kekakuan dari lidahku, supaya mereka mengerti perkataanku.¹⁾

Wahai Tuhan kami, berilah kami kebaikan di dunia dan kebaikan di akhirat (nanti),
serta perliharalah kami dari siksa api neraka.²⁾



¹⁾ Qur'an Surat Thoa Haa ayat 25-28

²⁾ Qur'an Surat Al-Baqarah ayat 201

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Bagus Satrio Pambudi

NIM : 122010101020

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa* terhadap Pertumbuhan Koloni *Streptococcus pyogenes* 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, 29 Desember 2015

Yang menyatakan,

Bagus Satrio Pambudi
122010101020

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN
MIRABILIS JALAPA TERHADAP PERTUMBUHAN
KOLONI *STREPTOCOCCUS PYOGENES*
SECARA IN VITRO**

Oleh

Bagus Satrio Pambudi
NIM 122010101020

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Jauhar Firdaus

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa* terhadap Pertumbuhan Koloni *Streptococcus pyogenes* secara In Vitro” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji I,

dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked
NIP 19710521 199803 1 003

Penguji II,

dr. Erfan Efendi, Sp.An
NIP 19680328 199903 1 001

Penguji III,

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

Penguji IV,

dr. Jauhar Firdaus
NIP 19830125 20081 2 1001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

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

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa* terhadap Pertumbuhan Koloni *Streptococcus pyogenes* secara In Vitro; Bagus Satrio Pambudi; 122010101020; 2015; 46 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Faringitis merupakan inflamasi pada tenggorokan yang sering diakibatkan oleh infeksi virus *Adenovirus*, *Rhinovirus*, dan virus *Parainfluenza*, namun terkadang bakteri *Streptococcus pyogenes* juga terlibat. Apabila tidak segera diobati, faringitis yang diakibatkan oleh infeksi *S. pyogenes* dapat menimbulkan komplikasi yang cukup serius, seperti demam reumatik yang dapat mengakibatkan kerusakan pada katup dan otot jantung. Komplikasi lain yang tidak kalah berbahaya namun lebih jarang terjadi adalah glomerulonefritis.

Penisilin yang merupakan antibiotik pilihan untuk mengeradikasi *S. pyogenes* dari fokus infeksinya dapat menimbulkan berbagai efek samping yang berbahaya terhadap banyak organ. Salah satu efek samping yang paling sering dijumpai adalah reaksi alergi. Reaksi ini dapat muncul sebagai reaksi anafilaksis yang merupakan bentuk terberat dari reaksi alergi. Efek samping lain yang dapat dijumpai berupa gangguan ginjal nefritis intersisium, anemia hemolitik, dan hepatitis anikterik.

Indonesia memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai antimikroba, salah satunya adalah *Mirabilis jalapa* atau yang lebih dikenal sebagai bunga pukul empat. Telah diketahui dari berbagai penelitian bahwa tumbuhan ini memiliki beberapa komponen bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang berpotensi sebagai substansi antimikroba. Berdasarkan penelitian terdahulu, telah diketahui efektivitas ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap beberapa spesies bakteri, akan tetapi efektivitas ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap pertumbuhan *S. pyogenes* belum pernah diteliti sebelumnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun *M. jalapa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. pyogenes* dan untuk mengetahui kadar hambat minimalnya terhadap *S. pyogenes*. Penelitian ini merupakan penelitian experimental semu dengan desain rancangan penelitian *post test only control group design*. Jumlah total sampel yang dipakai pada penelitian ini sebanyak 40 sampel.

Setelah kontak dengan berbagai perlakuan selama 24 jam, data berupa diameter zona hambat yang diperoleh dianalisis menggunakan uji korelasi Spearman. Hasilnya didapatkan nilai signifikansi $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat secara bermakna. Dari uji ini didapatkan nilai koefisien korelasi sebesar 0,876. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat diantara kedua variabel, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa* yang diberikan maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk. Selanjutnya dilakukan uji regresi linear untuk menentukan KHM secara kuantitatif. Dari uji ini didapatkan bentuk persamaan garis berupa $Y = 11,148 + 6,343X$, dimana Y adalah diameter zona hambat dan X adalah konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa*. Setelah dilakukan perhitungan, didapatkan KHM kuantitatif sebesar 0,26 mg/ml. Berdasarkan hasil analisis statistik yang telah disebutkan, dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun *M. jalapa* memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *S. pyogenes* secara in vitro, dimana semakin besar konsentrasi yang diberikan semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa* terhadap Pertumbuhan Koloni *Streptococcus pyogenes* 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 ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Rony Prasetyo selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
3. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Jauhar Firdaus selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak membantu penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
4. Habibur Rochman Salim, Hanif Nur, Henggar Allest Pratama, dan Gerald Kusuma Wijaya, yang telah membantu dan menginspirasi penelitian ini;
5. Analis dan civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
6. 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

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG	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	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Mirabilis jalapa</i>	4
2.1.1 Morfologi.....	4
2.1.2 Kandungan Kimia.....	5
2.1.3 <i>Mirabilis jalapa</i> sebagai Antimikroba.....	7
2.1 <i>Streptococcus pyogenes</i>	8
2.2.1 Morfologi.....	9

2.2.2 Struktur Antigen.....	9
2.2.3 Toksin dan Enzim.....	10
2.2.4 Penyakit yang disebabkan oleh Infeksi <i>S. pyogenes</i>	12
2.2.5 Resistensi terhadap Antibiotik.....	16
2.3 Penisilin	17
2.4 Ekstraksi	18
2.4.1 Maserasi.....	18
2.4.2 Perkolasi.....	19
2.4.3 Soxhletasi.....	19
2.5 Pengukuran Aktivitas Antimikroba	20
2.5.1 Metode Dilusi.....	20
2.5.2 Metode Difusi.....	21
2.6 Kerangka Teori	21
2.7 Hipotesis	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Rancangan Penelitian	23
3.3 Sampel	24
3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	25
3.5 Variabel Penelitian	25
3.6 Definisi Operasional	25
3.7 Alat dan Bahan	26
3.8 Prosedur Penelitian	27
3.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun <i>Mirabilis jalapa</i>	27
3.8.2 Persiapan Uji Aktivitas Antimikroba.....	27
3.8.3 Tahap Pengujian Antimikroba.....	29
3.9 Analisis Data	30
3.10 Alur Penelitian	31
3.10.1 Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Daun <i>Mirabilis jalapa</i> ..	31

3.10.2 Alur Pengenceran Ekstrak.....	32
3.10.3 Alur Penyediaan Kontrol Positif.....	33
3.10.4 Alur Uji Aktivitas Antibakteri.....	34
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Hasil Penelitian.....	35
4.2 Analisis Data	37
4.3 Pembahasan	39
BAB 5. PENUTUP	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Regimen antibiotik untuk terapi faringitis streptokokal.....	13



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi <i>Mirabilis jalapa</i>	5
Gambar 2.2 Morfologi <i>Streptococcus pyogenes</i>	9
Gambar 2.3 Kerangka teori	21
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian uji aktivitas antimikroba ekstrak daun <i>Mirabilis jalapa</i>	23
Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun <i>Mirabilis jalapa</i>	31
Gambar 3.3 Skema pengenceran ekstrak etanol daun <i>Mirabilis jalapa</i>	32
Gambar 3.4 Skema pengenceran penisilin V	33
Gambar 3.5 Skema uji aktivitas antibakteri	34
Gambar 4.1 Daya hambat ekstrak etanol daun <i>Mirabilis jalapa</i> terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus pyogenes</i>	35
Gambar 4.2 Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun <i>Mirabilis jalapa</i> terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus pyogenes</i>	36

DAFTAR SINGKATAN

ACE-i	: <i>Angiotensin converting enzim-inhibitor</i>
AIIRA	: <i>Angiotensin II reseptor antagonist</i>
ASO	: <i>Anti streptolisin O</i>
BM	: <i>Berat molekul</i>
DNA	: <i>Deoxyribose-nucleic acid</i>
IM	: <i>Intra muskular</i>
KHM	: <i>Kadar hambat minimal</i>
MAC	: <i>Membrane attack complex</i>
MH	: <i>Mueller Hinton</i>
NSAID	: <i>Non steroid anti inflammation drug</i>
<i>M. jalapa</i>	: <i>Mirabilis jalapa</i>
PBPs	: <i>Penicilin-binding protein</i>
PECAM-1	: <i>Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1</i>
PYR	: <i>Pyrrolidonyl naphthylamide</i>
<i>S. pyogenes</i>	: <i>Streptococcus pyogenes</i>
THT	: <i>Telinga, hidung, dan tenggorok</i>

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Dokumentasi proses ekstraksi	47
B Alur identifikasi bakteri streptokokus	48
C Dokumentasi proses identifikasi bakteri	49
D Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun <i>Mirabilis jalapa</i> terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus pyogenes</i>	50
E Tabel analisis statistik.....	51
F Surat keterangan identifikasi tanaman.....	55
G Perizinan komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember	56

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri bulat Gram positif yang memiliki sifat β -hemolitikus. Bakteri ini merupakan bakteri patogen yang sering menimbulkan penyakit pada manusia, seperti faringitis, impetigo, selulitis, dan glomerulonefritis. Dari semua penyakit tersebut, faringitis merupakan penyakit tersering yang diakibatkan oleh infeksi *S. pyogenes*. Berdasarkan survei epidemiologi penyakit THT di 7 provinsi Indonesia tahun 1994-1996, prevalensi nasofaringitis akut sebesar 4,6%, disusul dengan tonsilitis kronis sebesar 3,8 %. Pada tahun 2004, dilaporkan bahwa faringitis akut termasuk dalam 10 besar penyakit dengan pasien rawat jalan terbanyak di Indonesia, dengan presentase jumlah penderita sebesar 1,5% atau sebanyak 214.781 jiwa (Sanpardi *et al.*, 2015; Van Driel, 2013; Proboseno, 2012; Brooks *et al.*, 2007; dan Depkes RI, 2006).

Apabila tidak segera diobati, faringitis yang diakibatkan oleh infeksi *S. pyogenes* dapat menimbulkan komplikasi yang cukup serius, seperti demam reumatik yang mampu mengakibatkan kerusakan pada katup dan otot jantung (Spinks *et al.*, 2013). Komplikasi lain yang tidak kalah berbahaya namun lebih jarang terjadi adalah glomerulonefritis (van Driel, 2013). Beberapa penderita meninggal akibat penyakit ini, beberapa lainnya menderita glomerulonefritis kronik dengan gagal ginjal stadium akhir, dan sebagian besar pulih sempurna (Brooks *et al.*, 2007).

Antibiotik golongan betalaktam dapat diberikan untuk mengeradikasi *S. pyogenes* dari fokus infeksinya. Penisilin merupakan antibiotik pilihan yang dapat diberikan sebagai terapi faringitis bakterial (Murphy *et al.*, 2013; dan Shulman *et al.*, 2012). Namun sayangnya, penggunaan antibiotik tersebut dapat menimbulkan berbagai efek samping yang berbahaya terhadap banyak organ. Salah satu efek samping yang paling sering dijumpai adalah reaksi alergi, mulai dari reaksi yang

ringan hingga reaksi anafilaksis. Efek samping lainnya berupa gangguan ginjal nefritis intersisium, anemia hemolitik, dan hepatitis anikterik (Setiabudy, 2007).

Indonesia memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai antimikroba, salah satunya adalah *Mirabilis jalapa* atau yang lebih dikenal sebagai bunga pukul empat. Telah diketahui dari berbagai penelitian bahwa tumbuhan ini memiliki berbagai komponen bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang berpotensi sebagai substansi antimikroba (Harrish *et al.*, 2014; Sumithra *et al.*, 2012; dan Eneji *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian terdahulu, telah diketahui efektivitas ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap beberapa spesies bakteri, seperti *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pneumonia* (Eneji *et al.*, 2011; dan Kumar *et al.*, 2010). Akan tetapi efektivitas ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap pertumbuhan *S. pyogenes* belum pernah diteliti sebelumnya. Oleh karena itu, peneliti berkeinginan untuk membuat sebuah penelitian mengenai potensi daun *M. jalapa* sebagai antimikroba terhadap *S. pyogenes*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

- a. Apakah ekstrak etanol daun *M. jalapa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. pyogenes* secara *in vitro*?
- b. Berapakah kadar hambat minimal (KHM) ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap bakteri *S. pyogenes*?

1.3 Tujuan

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang telah diuraikan, tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun *M. jalapa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. pyogenes* secara in vitro; dan
- b. Untuk mengetahui kadar hambat minimal dari ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap bakteri *S. pyogenes*.

1.4 Manfaat

Berdasarkan tujuan yang telah diuraikan, manfaat penelitian ini bagi peneliti adalah untuk menambah pengetahuan dan mengaplikasikan teori yang telah diperoleh. Memberikan informasi tambahan mengenai kemampuan ekstrak etanol daun *M. jalapa* sebagai antimikroba, dan memperkaya kajian pustaka Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mirabilis jalapa*

Mirabilis jalapa atau yang lebih dikenal di Indonesia sebagai bunga pukul empat memiliki banyak nama latin, seperti *Jalapa officinalis* Garsault, *Nyctago jalapae* (L.) DC., *Nyctago versicolor* Salisb., dan *Mimosa hispidula* Kunth (Bionet-Eafrinet). Tumbuhan ini adalah tumbuhan tropis yang memiliki kemampuan bertahan hidup pada iklim yang ekstrim, seperti pada daerah yang mengalami musim kemarau panjang. Dalam taksonomi tumbuhan, *M. jalapa* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsid/Dycotyledone
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Nyctaginaceae
Genus	: <i>Mirabilis</i>
Spesies	: <i>Mirabilis jalapa</i> L.

Sumber : Sinha, 2015

2.1.1 Morfologi

Mirabilis jalapa merupakan tumbuhan *perennial* atau tumbuhan yang berusia panjang. Tumbuhan ini memiliki akar tunggang *tuberous* (umbi-umbian) dan dapat tumbuh hingga mencapai tinggi sekitar 2 meter. Tumbuhan ini memiliki batang yang tegak, bercabang, dan berwarna hijau muda. Seperti yang terlihat pada Gambar 2.1, tumbuhan ini memiliki daun berbentuk telur pada rangka luarnya, meruncing di ujung

dan semakin melebar di pangkalnya (*ovate*). Daun tumbuhan ini memiliki panjang sekitar 9 cm dan panjang tangkai daun sekitar 4 cm (Kaladhar, 2010).



Gambar 2.1 Morfologi *Mirabilis jalapa*
(Sumber: <https://gobotany.newenglandwild.org>)

Mirabilis jalapa adalah tumbuhan yang memiliki bunga majemuk. Tumbuhan ini memiliki tangkai bunga yang pendek dan berkelompok sebanyak 3-7 bunga pada setiap ujungnya. Tumbuhan ini mekar pada sore hari. Bunganya tubular berbentuk terompet ketika terbuka penuh dengan warna putih, kuning, dan merah. Panjang dari bunga ini sekitar 6,5 cm dengan lebar sekitar 3,5 cm. Bunga dari *M. jalapa* terdiri dari 5-6 kelopak bunga. Tumbuhan ini memiliki biji yang kecil dan berwarna hitam ketika sudah masak (Bionet-Eafrinet, PIER).

Mirabilis jalapa merupakan tumbuhan yang sering digunakan sebagai tanaman pagar. Selain sebagai tanaman pagar, tumbuhan ini juga sering digunakan sebagai obat tradisional di banyak negara. Dilaporkan bahwa penduduk Meksiko kuno telah menggunakan berbagai macam sediaan *M. jalapa* untuk mengatasi nyeri otot, diare, dan kolik abdomen (Zachariah *et al.*, 2012; Sumithra *et al.*, 2012).

2.1.2 Kandungan kimia

Kandungan kimia yang terdapat pada tumbuhan *M. jalapa* sudah pernah diteliti sebelumnya. Komposisi kandungan kimia tumbuhan *M. jalapa* diantaranya adalah alkaloid, glikosid, saponin, tanin, dan flavonoid (Harrish *et al.*, 2014).

a. Alkaloid

Alkaloid telah dikenal sejak dulu dan diketahui mempunyai pengaruh terhadap binatang menyusui. Alkaloid secara umum mengandung paling sedikit satu buah atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid berbentuk padatan kristal, amorf atau cairan. Fungsi alkaloid pada tumbuhan itu sendiri belum diketahui secara jelas. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antimikroba dengan cara mengganggu pembentukan komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut (Nimah *et al.*, 2012).

b. Glikosida

Glikosida merupakan salah satu kandungan kimia tumbuhan yang termasuk dalam kelompok metabolit sekunder. Glikosida adalah senyawa yang terdiri atas gabungan dari dua jenis senyawa, yaitu senyawa gula dan bukan gula. Kedua senyawa tersebut dihubungkan oleh suatu bentuk ikatan berupa jembatan oksigen (O-glikosida, *dioscin*), jembatan nitrogen (N-glikosida, *adenosine*), jembatan sulfur (S-glikosida, *sinigrin*), maupun jembatan karbon (C-glikosida, *barbaloin*). Bagian gula biasa disebut glikon sedangkan bagian bukan gula disebut sebagai aglikon atau genin. Secara kimiawi, glikosida adalah senyawa asetal dengan satu gugus hidroksi dari gula yang mengalami kondensasi dengan gugus hidroksi dari komponen bukan gula. Glikosida berbentuk kristal atau amorf, umumnya mudah larut dalam air atau etanol encer. Dalam kehidupan tumbuhan, glikosida berperan penting karena ikut andil dalam fungsi-fungsi pengaturan, perlindungan, pertahanan diri, dan kesehatan dari tumbuhan tersebut (Gunawan, 2010).

c. Saponin

Saponin merupakan salah satu golongan glikosida yang mempunyai struktur steroid dan triterpenoid. Saponin merupakan senyawa berasa pahit yang dapat mengakibatkan iritasi terhadap selaput lendir. Saponin mempunyai sifat yang khas yakni membentuk larutan koloidal dalam air dan membus apabila dikocok. Saponin

bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan lisis dari bakteri tersebut (Zahro, 2013; dan Gunawan, 2010).

d. Tanin

Tanin merupakan senyawa fenol yang larut dalam air. Senyawa tanin adalah senyawa *astringent* yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan protein. Tanin bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dengan mengerutkan membran sel atau mempresipitasi protein membran sel tersebut. Akibat terganggunya permeabilitas membran sel, sel tidak dapat melakukan pertukaran zat yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidupnya sehingga pertumbuhannya akan terhambat dan mati (Sari, 2011).

e. Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang sangat luas penyebarannya di dalam tumbuhan. Senyawa-senyawa ini merupakan zat berwarna kuning yang ditemukan pada tumbuh-tumbuhan (Gunawan, 2010). Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana 2 cincin benzene terikat pada suatu rantai propana. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji (Sirait, 2007). Flavonoid bekerja sebagai antimikroba melalui tiga mekanisme, yaitu menghambat sintesis asam nukleat bakteri, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Hendra *et al.*, 2011).

2.1.3 *Mirabilis jalapa* sebagai antimikroba

Mirabilis jalapa memiliki komponen bioaktif yang terdiri dari senyawa alkaloid, glikosid, saponin, tanin, dan flavonoid yang merupakan substansi antimikroba terhadap beberapa spesies bakteri. Berdasarkan penelitian terdahulu, telah diketahui efektivitas ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan

Streptococcus pneumoniae. Menurut penelitian Eneji *et al.* (2011), rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun *M. jalapa* dengan konsentrasi 20 mg/ml terhadap *S. typhi* dan *B. Cereus* adalah 34.33 mm dan 51.33 mm. Sedangkan menurut penelitian Kumar *et al.* (2010), rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun *M. jalapa* dengan konsentrasi 500 µg/disc terhadap *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* and *S. pneumonia* adalah 12.8 mm, 11.5 mm, 10 mm dan 8.3 mm.

2.2 *Streptococcus pyogenes*

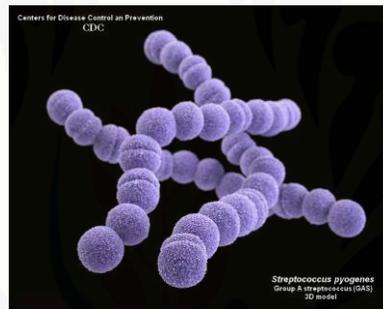
Streptococcus pyogenes merupakan bakteri yang bersifat β-hemolitikus dan diklasifikasikan sebagai streptokokus grup A. *S. pyogenes* merupakan patogen utama pada manusia yang menimbulkan invasi lokal maupun sistemik dan kelainan imunologi pasca infeksi streptokokus. *S. pyogenes* secara khas menghasilkan zona hemolisis β yang besar (berdiameter 1cm) di sekitar koloni yang berdiameter lebih dari 0,5 mm. Organisme ini bersifat PYR positif (hidrolisis L-pirolidonil-2-naftilamid) dan biasanya sensitif terhadap basitrasin (Brooks *et al.*, 2007). Dalam sistematika (taksonomi) bakteri, *S. pyogenes* diklasifikasikan sebagai berikut;

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Spesies	: <i>Streptococcus pyogenes</i>

(Sumber : <http://www.uniprot.org>)

2.2.1 Morfologi

Seperti yang terlihat pada Gambar 2.2, *S. pyogenes* merupakan bakteri kokus tunggal berbentuk bulat atau batang ovoid dan tersusun seperti rantai. Kokus membelah pada bidang yang tegak lurus dengan sumbu panjang rantai. Anggota rantai tersebut sering membentuk gambaran diplokokus, dan kadang-kadang terlihat gambaran seperti batang. Panjang rantai bervariasi dan dipengaruhi oleh faktor lingkungan. *S. pyogenes* merupakan bakteri Gram positif. Namun pada biakan yang lama, bakteri ini terlihat seperti Gram negatif. Pertumbuhan *S. pyogenes* paling optimal pada suhu 37° C (Brooks *et al.*, 2007).



Gambar 2.2 Morfologi *Streptococcus pyogenes*
(Sumber: <http://www.bacteriainphotos.com>)

2.2.2 Struktur Antigen

Struktur antigen yang paling penting pada *S. pyogenes* adalah protein M. Substansi ini merupakan faktor virulensi *S. pyogenes* yang paling utama. *S. pyogenes* bersifat virulen apabila memiliki protein M pada dinding selnya, sebaliknya bakteri ini cenderung tidak bersifat virulen apabila tidak memiliki protein M pada dinding selnya (Brooks *et al.*, 2007)..

Terdapat dua kelas utama protein M, yaitu kelas I dan kelas II. Protein M terlihat seperti tonjolan mirip rambut pada dinding sel streptokokus. Apabila dilihat secara molekuler, protein M memiliki struktur seperti batang yang melingkar-lingkar dan memisahkan bagian-bagian yang fungsional. Struktur ini memungkinkan

serangkaian perubahan yang besar sambil tetap memelihara fungsinya. Hal tersebut mengakibatkan imunodeterminan protein M dapat berubah dengan mudah (Brooks *et al.*, 2007)..

Kekebalan terhadap infeksi streptokokus grup A berkaitan dengan adanya antibodi spesifik terhadap protein M. Karena terdapat lebih dari 80 tipe protein M, seseorang dapat mengalami infeksi berulang *S. pyogenes* dengan tipe M yang berbeda (Brooks *et al.*, 2007).

2.2.3 Toksin dan Enzim

Menurut Brooks *et al.* (2007), lebih dari 20 produk ekstraseluler antigenik yang dihasilkan oleh streptokokus grup A. Produk tersebut merupakan zat yang bertanggung jawab dalam mekanisme penyebaran infeksi *S. pyogenes*, diantaranya adalah:

a. Streptokinase (Fibrinolisin)

Streptokinase dihasilkan oleh berbagai strain streptokokus β hemolitikus grup A. Enzim ini mengubah plasminogen pada plasma manusia menjadi plasmin, suatu enzim proteolitik aktif yang mencerna fibrin dan protein lain. Proses pencernaan ini dapat terganggu oleh penghambat serum nonspesifik dan antibodi spesifik antistreptokinase. Streptokinase diberikan secara intravena untuk mengobati emboli paru serta thrombosis arteri dan vena koroner.

b. Streptodornase

Streptodornase (*streptococcal deoxyribonuclease*) adalah enzim yang berfungsi untuk melakukan depolimerisasi DNA. Enzim ini bersama dengan streptokinase sering digunakan sebagai bahan *debridement* enzimatik. Campuran tersebut membantu mencairkan eksudat dan membantu pengeluaran pus serta jaringan nekrotik sehingga obat antimikroba dapat masuk dengan lebih mudah.

c. Hialuronidase

Hialuronidase adalah enzim yang berfungsi untuk memecah asam hialuronat, komponen penting bahan dasar dari jaringan ikat. Hialuronidase membantu penyebaran mikroorganisme yang infeksius. Hialuronidase bersifat antigenik dan spesifik untuk setiap bakteri atau jaringan. Setelah terjadi infeksi oleh organisme penghasil hialuronidase, ditemukan adanya antibodi spesifik di dalam serum.

d. Eksotoksin pirogenik

Eksotoksin pirogenik dihasilkan oleh streptokokus grup A. Ada tiga jenis eksotoksin streptokokus pirogenik yang dibedakan berdasarkan sifat antigennya, yaitu eksotoksin A, B, dan C. Eksotoksin A merupakan eksotoksin yang paling banyak dipelajari. Eksotoksin ini dihasilkan oleh streptokokus grup A yang mempunyai faga lisogenik (*lysogenic phage*). Eksotoksin streptokokus pirogenik menimbulkan sindrom syok toksis streptokokus dan demam *scarlet*. Streptokokus grup A yang menimbulkan sindrom syok toksik ini terutama adalah streptokokus yang memiliki protein M tipe 1 dan 3.

e. Difosfopiridin nukleotidase

Enzim ini akan dilepaskan ke lingkungan oleh beberapa varian dari strain streptokokus grup A. Pelepasan zat ini diduga berkaitan dengan kemampuan organisme ini dalam membunuh sel leukosit manusia.

f. Hemolisin

Hemolisin adalah enzim yang berfungsi dalam pemecahan sel darah merah. *S. pyogenes* dapat melisiskan eritrosit secara total sehingga digolongkan sebagai streptokokus β hemolitikus. *S. pyogenes* menghasilkan dua jenis hemolisin, yaitu streptolisin O dan streptolisin S.

Streptolisin O merupakan protein dengan BM 60.000 yang aktif secara hemolitik dalam keadaan tereduksi (mempunyai gugus -SH) namun segera menjadi tidak aktif apabila terdapat oksigen yang mengoksidasinya. Streptolisin O secara kuantitatif akan terikat dengan antibodi antistreptolisin O, suatu antibodi yang

muncul segera setelah infeksi oleh streptokokus apapun yang menghasilkan streptolisin O. Antibodi ini menghambat proses hemolisis oleh streptolisin O. Fenomena ini menjadi dasar dari uji kuantitatif untuk antibodi. Titer antistreptolisin O serum yang lebih tinggi dari 160-200 unit dianggap menunjukkan adanya infeksi streptokokus yang baru terjadi atau adanya kadar antibodi yang tetap tinggi akibat proses imun yang berlebih terhadap paparan sebelumnya pada orang yang hipersensitif.

Streptolisin S adalah zat yang berperan membentuk zona hemolitik di sekitar koloni streptokokus yang tumbuh di permukaan medium agar darah. Streptolisin S tidak bersifat antigen, sehingga dapat dihambat oleh inhibitor nonspesifik yang terdapat dalam serum dan tidak tergantung terhadap paparan streptokokus terdahulu.

2.2.4 Penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Streptococcus pyogenes*

a. Nyeri tenggorok streptokokus (faringitis streptokokal)

Faringitis streptokokal merupakan proses inflamasi pada tenggorokan yang disebabkan oleh *S. pyogenes*. Bakteri ini menempel pada epitel faring dengan filii permukaan yang dilapisi oleh asam lipoteikoat. Fibronektin glikoprotein (BM 440.000) pada sel epitel diduga berperan sebagai ligan dari asam lipoteikoat (Brooks *et al.*, 2007).

Gejala dari faringitis streptokokal sering diawali dengan nyeri kepala yang hebat, mual-muntah, jarang disertai batuk, dan kadang-kadang disertai demam dengan suhu yang tinggi. Pada pemeriksaan fisik tampak tonsil yang membesar dan hiperemis dengan eksudat di permukaannya. Beberapa hari kemudian timbul bercak *patechie* pada palatum dan faring. Kelenjar limfa leher bagian anterior membesar, kenyal, dan terasa nyeri pada penekanan (Soepardi *et al.*, 2007). Namun, gejala tersebut tidak selalu muncul pada setiap kasus faringitis streptokokal, sebagian hanya menunjukkan gejala yang ringan seperti rasa gatal dan nyeri di tenggorokan. Bahkan

20% dari seluruh kasus faringitis streptokokal berlangsung asimtomatik (Brooks *et al.*, 2007).

Untuk penanganan dari penyakit ini, dapat diberikan antibiotik berupa penisillin G banzatin secara IM dosis tunggal, atau amoksisilin 50 mg/kgBB 3x sehari selama 10 hari. Pada dewasa dapat diberikan amoksisilin 3x500 mg selama 6-10 hari atau eritromisin 4x500 mg selama 6-10 hari. Kortikosteroid deksametason 8-16 mg secara IM dosis tunggal dapat juga diberikan. Untuk penanganan nyeri tenggorokan, dapat diberikan analgetika dari golongan NSAID. Berkumur dengan air hangat atau larutan antiseptik juga dapat membantu mempercepat eradikasi *S. pyogenes* secara mekanik (Soepardi *et al.*, 2007). Tabel di bawah ini menunjukkan pilihan terapi pengobatan faringitis streptokokal menurut IDSA guidelines.

Tabel 2.1 Regimen antibiotik untuk terapi faringitis streptokokal
(Sumber: Shulman *et al.*, 2012)

Drug, Route	Dose or Dosage	Duration or Quantity	Recommendation Strength, Quality ^a
For individuals without penicillin allergy			
Penicillin V, oral	Children: 250 mg twice daily or 3 times daily; adolescents and adults: 250 mg 4 times daily or 500 mg twice daily	10 d	Strong, high
Amoxicillin, oral	50 mg/kg once daily (max = 1000 mg); alternate: 25 mg/kg (max = 500 mg) twice daily	10 d	Strong, high
Benzathine penicillin G, intramuscular	<27 kg: 600 000 U; ≥27 kg: 1 200 000 U	1 dose	Strong, high
For individuals with penicillin allergy			
Cephalexin, ^b oral	20 mg/kg/dose twice daily (max = 500 mg/dose)	10 d	Strong, high
Cefadroxil, ^b oral	30 mg/kg once daily (max = 1 g)	10 d	Strong, high
Clindamycin, oral	7 mg/kg/dose 3 times daily (max = 300 mg/dose)	10 d	Strong, moderate
Azithromycin, ^c oral	12 mg/kg once daily (max = 500 mg)	5 d	Strong, moderate
Clarithromycin, ^c oral	7.5 mg/kg/dose twice daily (max = 250 mg/dose)	10 d	Strong, moderate

b. Demam reumatik

Demam reumatik adalah penyakit inflamasi sistemik non supuratif yang digolongkan pada kelainan vaskuler kolagen atau kelainan jaringan ikat. Demam reumatik merupakan reaksi peradangan yang dapat mengenai banyak organ tubuh terutama jantung, sendi, dan sistem saraf pusat. (Sudoyo, 2009).

Demam reumatik merupakan penyakit akibat reaksi autoimun lambat terhadap Streptokokus grup A. Manifestasi klinis pada penderita ditentukan oleh kerentanan genetik penderita, virulensi organisme, dan faktor lingkungan. Meskipun telah banyak kemajuan yang dicapai dalam upaya pemahaman patogenesis demam reumatik sebagai penyakit autoimun, mekanisme patogenesis yang tepat belum terdefiniskan. Sampai saat ini, terdapat dua teori utama mengenai patogenesis demam reumatik. Teori pertama merupakan efek destruktif langsung dari toksin streptokokus grup A pada target organ seperti otot jantung, katub jantung, synovium dan otak. Sedangkan teori yang kedua merupakan respon abnormal sistem imun dimana sel imun gagal membedakan antara antigen bakteri dengan jaringan tubuh sendiri (WHO, 2001).

Manifestasi klinis dari demam reumatik adalah akibat dari infeksi bakteri streptokokus grup A pada tonsilofaringitis dengan masa laten 1-3 minggu. Demam reumatik merupakan penyakit pasca infeksi *S. pyogenes* yang ditandai dengan gejala mayor dan minor. Gejala mayor meliputi poliartthritis, karditis, *chorea*, eritema marginatum, dan nodul subkutaneus. Sedangkan untuk gejala minor dari penyakit ini meliputi demam dengan suhu tinggi, malaise, dan arthralgia (Sudoyo, 2009).

Pada demam reumatik, pengobatan kausal perlu dilakukan saat serangan akut dan untuk pencegahan sekunder demam reumatik. Terapi kausalnya sama dengan pengobatan faringitis streptokokus, yakni pemberian penisilin benzatin intramuskular dengan dosis 1,2 juta unit untuk pasien dengan berat badan lebih dari 30 kg atau 600.000 sampai 900.000 unit untuk pasien dengan berat badan kurang dari 30 kg (Irwan, 2008).

c. Glomerulonefritis pasca streptokokus

Glomerulonefritis pasca streptokokus adalah penyakit yang sering dijumpai dan merupakan penyebab utama terjadinya penyakit ginjal tahap akhir (PGTA). Berdasarkan sumber terjadinya kelainan, glomerulonefritis dibedakan menjadi primer dan sekunder. Disebut sebagai glomerulonefritis primer apabila kelainan ginjal berasal dari ginjal itu sendiri, sedangkan disebut sebagai glomerulonefritis sekunder apabila kelainan ginjal terjadi akibat penyakit sistemik yang lain (Sudoyo, 2009).

Kerusakan pada glomerulus diakibatkan oleh proses inflamasi yang dipicu endapan kompleks imun. Proses inflamasi ini diawali dengan proses pelekatan sel inflamasi pada permukaan sel endotel (*tethering and rolling*). Proses ini dimediasi oleh molekul adhesi selektin L, E, dan P yang secara berturut-turut terdapat pada permukaan leukosit, endotel, dan trombosit. Molekul CD31 atau PECAM-1 (*platelet-endothelial cell adhesion molecule-1*) yang dilepaskan oleh sel endotel akan merangsang aktivasi dari sel inflamasi. Reaksi ini menyebabkan ekspresi molekul adhesi integrin pada permukaan sel inflamasi meningkat sehingga pelekatan sel inflamasi dengan sel endotel semakin kuat. Proses selanjutnya adalah migrasi sel inflamasi ke jaringan melalui celah antar sel endotel, khususnya sel makrofag (*transendothelial migration*). Interaksi antara makrofag dengan sel glomerulus seperti sel mesangial, sel epitel, atau sel endotel glomerulus akan menyebabkan makrofag tersebut teraktivasi dan melepaskan berbagai mediator inflamasi seperti sitokin pro-inflamasi dan kemokin yang akan menyebabkan kerusakan jaringan. Kerusakan glomerulus selanjutnya terjadi akibat terbentuknya fragmen komplemen aktif yang berasal dari aktivasi sistem komplemen. Fragmen komplemen C3a, C4a, C5a bersifat anafilaktoin sedangkan C5a mempunyai efek kemotaktik terhadap leukosit. Endapan kompleks imun sub-epitel akan mengaktivasi jalur klasik dan menghasilkan MAC (*membrane attack complex*). Dalam jumlah besar MAC akan menyebabkan lisis sel epitel glomerulus (Sudoyo, 2009).

Gejala klinik glomerulonefritis merupakan konsekuensi langsung akibat kelainan struktur dan fungsi glomerulus. Glomerulonefritis ditandai dengan proteinuria, hematuri, penurunan fungsi ginjal, kongesti aliran darah, hipertensi, dan edema yang diakibatkan oleh perubahan ekskresi garam. Manifestasi klinis dari glomerulonefritis merupakan kumpulan gejala atau sindrom klinik yang terdiri dari kelainan urin asimtomatik, sindrom nefrotik, glomerulonefritis progresif cepat, dan glomerulonefritis kronik (Sudoyo, 2009).

Pengobatan spesifik pada glomerulonefritis ditujukan terhadap penyebab, sedangkan pengobatan non-spesifik ditujukan untuk menghambat progresivitas penyakit. Pemantauan klinik yang reguler, kontrol tekanan darah dan proteinuria dengan menghambat enzim konversi angiotensin (ACE-i) atau antagonis reseptor angiotensin II (AIIIRA) terbukti bermanfaat. Pengaturan asupan protein dan kontrol kadar lemak darah dapat membantu menghambat progresivitas glomerulonefritis. Efektivitas penggunaan obat immunosupresif untuk glomerulonefritis masih belum seragam (Sudoyo, 2009).

2.1.6 Resistensi terhadap antibiotik

Berdasarkan penelitian Al-Ameri dan Al-Kolaibe di Yaman pada tahun 2015, dilaporkan adanya resistensi *S. pyogenes* terhadap beberapa antibiotik. Penelitian Al-Ameri dan Al-Kolaibe berupa uji sensitivitas beberapa jenis antibiotik terhadap bakteri *S. pyogenes* menggunakan teknik difusi Kirby-Bauer. Sampel pada penelitian ini berupa 93 kultur bakteri dari swap tenggorokan dan spesimen darah pasien faringitis anak-anak di Almashana pada April 2012 hingga Desember 2012. Dari 93 biakan tersebut, dilakukan identifikasi spesies bakteri menggunakan dua metode, yaitu metode kultur agar darah dan pemeriksaan anti streptolisin O (ASO). Dengan metode kultur agar darah didapatkan 38 (40.8%) sampel positif mengandung *S. pyogenes*, sedangkan dengan metode ASO didapatkan 60 (64,5%) sampel positif mengandung *S. pyogenes*. Setelah dilakukan uji sensitivitas terhadap 93 sampel

tersebut, didapatkan 57 sampel (61,7%) resisten terhadap eritromisin, 43 sampel (46,2%) resisten terhadap streptomisin, dan 32 sampel (34,4%) resisten terhadap klindamisin.

2.3 Penisilin

Penisilin merupakan antibiotik golongan betalaktam yang terdiri dari satu inti siklik dan satu rantai samping. Inti siklik terdiri dari cincin tiazolin dan cincin betalaktam. Sedangkan rantai samping merupakan gugus amino bebas yang dapat mengikat berbagai jenis radikal. Dengan mengikat berbagai radikal pada gugus amino bebas tersebut akan diperoleh berbagai jenis penisilin (Setiabudy, 2007).

Penisilin bekerja sebagai antimikroba dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroba. Pada tahap awal, penisilin bergabung dengan *penicilin-binding protein* (PBPs) pada bakteri. Setelah itu, terjadi hambatan sintesis dinding sel bakteri karena proses transpeptidasi antar rantai peptidoglikan terganggu (Setiabudy, 2007).

Penisilin dapat mengalami biotransformasi oleh mikroba yang menghasilkan enzim penisilinase dan amidase. Akibat pengaruh enzim penisilinase, terjadi pemecahan cincin betalaktam yang mengakibatkan hilangnya aktivitas antimikroba dari penisilin terhadap mikroorganisme tersebut. Sedangkan akibat enzim amidase, terjadi pemecahan rantai samping sehingga terjadi penurunan potensi dari aktivitas antimikrobanya (Setiabudy, 2007).

Absorpsi dari penisilin sangat dipengaruhi oleh rute pemberiannya. Larutan garam Na-penisilin G yang disuntikkan secara IM, cepat sekali diabsorpsi dan mencapai kadar puncak hanya dalam 15–30 menit. Apabila diberikan secara peroral, absorpsi dari penisilin dapat terganggu karena penisilin G mudah rusak dalam suasana asam. Penisilin V, yang relatif lebih tahan asam, 30% mengalami pemecahan di saluran cerna sehingga tidak terabsorpsi semuanya. Penisilin didistribusikan secara luas didalam tubuh. Kadar obat yang memadai dapat tercapai dalam hati, empedu,

ginjal, usus, limfa, dan semen pada pemberian penisilin G secara IM. Penisilin pada umumnya diekskresi melalui proses sekresi pada tubuli ginjal (Setiabudy, 2007).

Efek samping antimikroba dari golongan penisilin, baik alami maupun sintetik melalui semua cara pemberian, dapat melibatkan berbagai organ dan jaringan secara terpisah maupun bersama-sama dan dapat muncul dalam bentuk yang fatal. Reaksi alergi merupakan bentuk efek samping yang paling sering dijumpai pada pemakaian antimikroba golongan penisilin. Reaksi ini dapat muncul sebagai reaksi anafilaksis yang merupakan bentuk terberat dari reaksi alergi. Efek samping lain yang dapat dijumpai akibat pemakaian obat ini berupa gangguan ginjal nefritis intersisium, anemia hemolitik, dan hepatitis anikterik (Setiabudy, 2007).

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah istilah dalam bidang farmasi yang artinya pemisahan bahan aktif pada tumbuhan maupun hewan dengan menggunakan pelarut selektif yang sesuai dengan standart prosedur ekstraksi. Standarisasi proses ekstraksi bertujuan untuk memurnikan zat aktif dari zat lain dengan menggunakan pelarut tertentu, proses standarisasi juga sangat berpengaruh pada kualitas obat herbal (Hastari, 2012).

Menurut Voigt 1994, ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam melakukan ekstraksi, diantaranya adalah maserasi, infusa, digesti, dekoksi, perkolasi, soxhlet, ekstraksi alkoholik yang difermentasi, ekstraksi *counter-current*, sonikasi (ekstraksi ultrasound), *supercritical fluid extraction*, dan lain sebagainya. Pada bahasan selanjutnya akan diuraikan mengenai metode ekstraksi yang sering dipakai, yaitu maserasi, perkolasi, dan soxhletasi.

2.4.1 Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan pengestrak. Cairan pengestrak ini akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang

pada akhirnya akan melarutkan zat aktif yang terkandung didalamnya. Simplisia yang diekstraksi ditempatkan dalam wadah atau bejana bermulut lebar bersama cairan pengestrak yang telah ditetapkan. Bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan zat pengestrak masuk ke seluruh permukaan simplisia (Voigt, 1994).

Maserasi digunakan untuk pengestrakan zat aktif simplisia yang mudah larut pada cairan pengestrak. Cairan pengestrak yang digunakan dapat berupa air, etanol, atau pelarut lainnya. Keuntungan dari metode ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diperoleh, sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaan yang lama (Voigt, 1994).

2.4.2 Perkolasi

Perkolasi dilakukan dalam wadah yang berbentuk silinder atau kerucut (percolator) yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengestraksi yang dialirkan secara kontinyu dari atas, akan mengalir turun secara lambat melintasi simplisia yang umumnya berbentuk serbuk kasar. Nantinya akan terjadi proses maserasi bertahap melalui proses pengaliran tersebut. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi bahan-bahan yang terlarut lebih optimal apabila dibandingkan dengan teknik maserasi biasa. Kerugiannya, metode ini tidak dapat digunakan pada simplisia yang dapat membengkak dengan kuat atau sangat *voluminous* (Voigt, 1994).

2.4.3 Soxhletasi

Pada soxhletasi bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas, karton, dan sebagainya) di bagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang berfungsi sebagai perkolator. Wadah gelas yang mengandung kantung diletakkan diantara labu penyulingan dan pendingin aliran balik. Labu tersebut berisi bahan pengestrak yang nantinya akan menguap dan mencapai pendingin aliran balik

melalui pipet, berkondensasi di dalamnya, menetes ke simplisia dan menarik keluar bahan yang diekstraksi. Larutan akan berkumpul dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimalnya, secara otomatis dipindahkan ke dalam labu. Dengan demikian zat yang terekstraksi terakumulasi melalui penguapan bahan pelarut murni berikutnya. Keuntungan dari metode ini adalah bahan pelarut yang digunakan hanya sedikit dengan adanya pendingin aliran balik. Sedangkan kerugian dari metode ini adalah waktu ekstraksi yang cukup lama sehingga kebutuhan energinya (listrik) tinggi. Selain itu, pemanasan dalam jangka waktu yang lama juga dapat berpengaruh negatif terhadap bahan aktif yang diekstraksi (Voigt, 1994).

2.5 Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Uji kepekaan antimikroba bertujuan untuk mengetahui apakah antimikroba tersebut efektif terhadap bakteri yang diujikan, atau untuk mengetahui adanya resistensi bakteri yang diujikan terhadap antimikroba tersebut. Penentuan kerentanan bakteri patogen terhadap obat-obatan antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode utama, yaitu metode dilusi atau difusi.

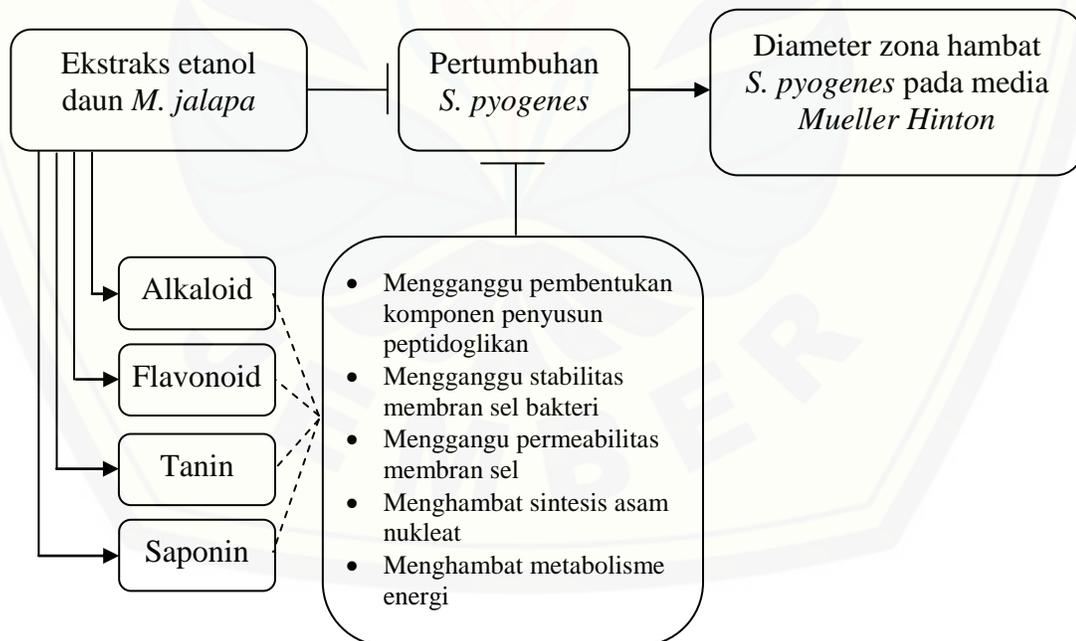
2.5.1 Metode Dilusi

Metode ini adalah metode pengukuran aktivitas antimikroba yang dilakukan dengan cara melakukan beberapa seri pengenceran antimikroba yang akan diperiksa. Antimikroba yang telah diencerkan akan dimasukkan ke dalam beberapa medium bakteriologi baik padat maupun cair. Medium nantinya akan diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi. Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui berapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Metode dilusi membutuhkan waktu yang lama dan kegunaannya terbatas pada keadan tertentu saja. Keuntungannya, data yang diperoleh merupakan data yang kuantitatif (Brooks *et al.*, 2007).

2.5.2 Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode uji kepekaan antimikroba yang paling sering digunakan. Cakram kertas filter yang mengandung antimikroba dengan konsentrasi tertentu ditempatkan di atas permukaan medium padat yang telah diinokulasi dengan bakteri yang diujikan. Setelah medium diinkubasi, diameter inhibisi atau zona jernih di sekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi antimikroba terhadap bakteri tersebut. Keuntungan dari metode ini adalah lebih murah dan lebih mudah untuk dilakukan daripada metode dilusi. Kerugiannya, hasil dari metode ini banyak dipengaruhi oleh faktor fisik dan faktor kimiawi, misalnya seperti sifat dari medium, ukuran molekular, dan stabilitas dari bahan uji yang nantinya akan berpengaruh terhadap kemampuan difusi dari bahan uji tersebut (Brooks *et al.*, 2007).

2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka teori

Keterangan : - - - - - Tidak diteliti
 _____ Diteliti

Dari tinjauan pustaka diperoleh gambaran mengenai potensi antimikroba yang dimiliki oleh *M. jalapa*. Seperti yang terlihat pada Gambar 2.3, kandungan zat aktif dari *M. jalapa* yaitu alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang mampu mengganggu pembentukan komponen penyusun peptidoglikan, mengganggu stabilitas membran sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat metabolisme energi, diduga memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Dengan mengukur diameter zona hambat pada biakan *S. pyogenes* yang diberi ekstrak etanol daun *M. jalapa* dengan berbagai konsentrasi, dapat diketahui adanya aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol daun *M. jalapa*.

2.7 Hipotesis Penelitian

- a. Ekstrak etanol daun *M. jalapa* memiliki aktivitas antimikroba terhadap pertumbuhan *S. pyogenes*.

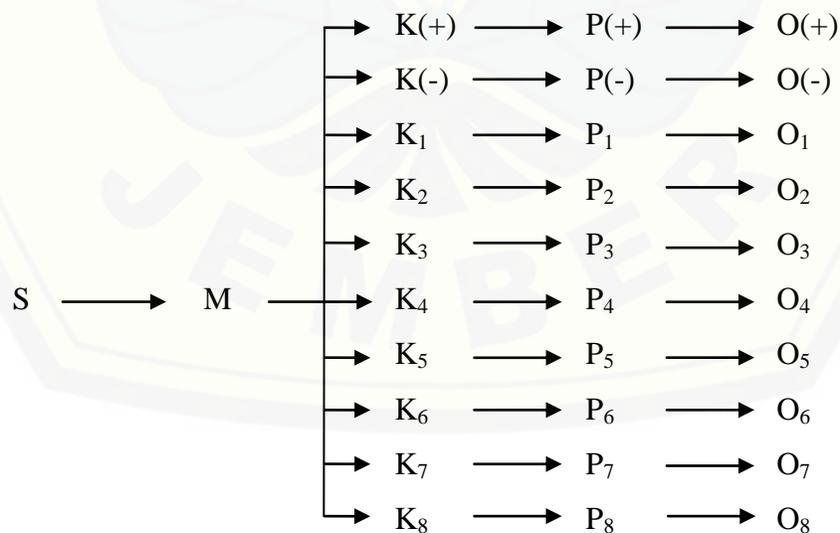
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental semu (*quasi experimental design*). Penelitian ini termasuk kedalam eksperimental semu karena tidak dilakukan randomisasi pada sampel penelitian. Pada penelitian ini tidak dilakukan randomisasi karena semua sampel telah dibuat homogen.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *post test only control group design*. Pada rancangan penelitian ini hanya dilakukan satu kali pengamatan pada sampel di akhir perlakuan. Rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar skema berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian uji aktivitas antimikroba ekstrak daun *Mirabilis jalapa*

Keterangan

- S : Biakan *S. pyogenes*
 M : Media *Mueller Hinton*
 K(+) : Kelompok kontrol positif
 K(-) : Kelompok kontrol negatif
 K₁₋₈ : Kelompok perlakuan 1-8
 P(+) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol positif (penisilin V 100 IU/ml)
 P(-) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol negatif (larutan NaCMC0,5%)
 P₁₋₈ : Perlakuan berupa kontak dengan ekstrak etanol daun *M. jalapa* pada konsentrasi 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, dan 50 mg/ml
 O(+) : Pengamatan pada kelompok kontrol positif
 O(-) : Pengamatan pada kelompok kontrol negatif
 O₁₋₈ : Pengamatan pada kelompok perlakuan 1-8

3.3 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biakan bakteri *S. pyogenes* dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang disesuaikan dengan standar 0,5 *Mc Farland* ($1-1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Sebelum digunakan pada penelitian, dilakukan uji identifikasi terlebih dahulu untuk membuktikan bahwa bakteri yang dipakai pada penelitian ini adalah benar-benar bakteri *S. pyogenes*.

Banyaknya sampel yang dipakai pada penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer. Penentuan ukuran sampel berdasarkan rumus Federer (1997) adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 (t-1)(r-1) &\geq 15 \\
 (10-1)(r-1) &\geq 15 \\
 (9)(r-1) &\geq 15 \\
 9r-9 &\geq 15 \\
 9r &\geq 24 \\
 r &\geq 2,67 \\
 r &\geq 3
 \end{aligned}$$

t : jumlah kelompok perlakuan

r : jumlah sampel (pengulangan)

Setelah dilakukan perhitungan, didapatkan jumlah pengulangan yang harus dilakukan adalah lebih dari sama dengan 3. Berdasarkan rumus tersebut, pada penelitian ini diperlukan jumlah sampel minimal sebanyak 30 buah.

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 17 November 2015 sampai tanggal 8 Desember 2015. Sedangkan proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi dan uji aktivitas antimikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa*. Pada penelitian ini, konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa* yang digunakan adalah sebesar 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, dan 50 mg/ml. Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. pyogenes* pada media agar *Mueller Hinton* (MH) setelah kontak selama 24 jam dengan ekstrak etanol daun *M. jalapa*. Sedangkan variabel terkontrol pada penelitian ini adalah pembuatan biakan bakteri *S. pyogenes*, pembuatan ekstrak etanol daun *M. jalapa*, pembuatan media MH, cara inkubasi, cara pengukuran zona hambat, dan prosedur penelitian.

3.6 Definisi Operasional

1. Daun *M. jalapa* adalah daun dari tumbuhan *M. jalapa* yang diperoleh dari daerah Jember.
2. Ekstrak etanol daun *M. jalapa* adalah daun *M. jalapa* yang diekstrak dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.
3. Konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa* adalah ekstrak etanol daun *M. jalapa* dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, dan 50 mg/ml. Konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa* 50

mg/ml adalah konsentrasi yang didapatkan dengan cara melarutkan ekstrak etanol daun *M. jalapa* kental sebanyak 100 mg dalam larutan NaCMC 0,5% sebanyak 2 ml sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 50 mg/ml. Setelah itu, dilakukan serial pengenceran hingga didapatkan larutan dengan konsentrasi sebesar 0,1 mg/ml (Eneji *et al.*, 2011).

4. Kontrol positif adalah larutan penisilin V dengan konsentrasi 100 IU/ml. Konsentrasi ini didapatkan dengan cara melarutkan penisilin V 50000 IU dalam aquades steril sebanyak 10 ml sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 5000 IU/ml. Setelah itu dilakukan serial pengenceran hingga didapatkan konsentrasi larutan penisilin V sebesar 100 IU/ml.
5. Kontrol negatif adalah larutan NaCMC 0,5% tanpa penambahan ekstrak etanol daun *M. jalapa* sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa* sebesar 0 mg/ml. Larutan NaCMC 0,5% didapatkan dengan cara melarutkan serbuk NaCMC seberat 150 mg dalam aquades sebanyak 30 ml.
6. Uji aktivitas antimikroba adalah uji efektivitas dan uji sensitivitas suatu antimikroba terhadap bakteri patogen.
7. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap bakteri *S. pyogenes* adalah diameter zona hambat yang didapatkan dari pengukuran total diameter sumuran dan diameter zona bening disekitar sumuran.
8. KHM adalah konsentrasi terendah dari suatu larutan uji yang mampu menghambat pertumbuhan suatu mikroorganismе.

3.7 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat pengaduk, autoklaf, blender, cawan petri 100 mm, corong *Buchner*, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, kertas saring, lampu bunsen, maserator, mikropipet (*Ependorf*) 500 µl, mortar, ose, pipa aluminium, rotavapour, sterilisator panas kering, tabung Enlemeyer, timbangan atau neraca, dan vial. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini

adalah alkohol 70%, aquades steril, bubuk NaCMC, bubuk MH, daun *M. jalapa*, etanol 96%, penisilin 50000 IU, spiritus, dan suspensi *S. pyogenes*.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa*

Metode ekstraksi yang dipakai pada penelitian ini adalah maserasi dengan menggunakan etanol 96%. Etanol dipertimbangkan sebagai pengekstrak karena sifatnya yang polar, sesuai dengan senyawa tanin dan flavonoid yang sama-sama bersifat polar. Selain itu, etanol 96% sulit ditumbuhi bakteri, netral, dan tidak beracun sehingga dapat disimpan dan dipakai lebih lama.

Daun *M. jalapa* segar seberat 3 kg dicuci dengan air bersih dan kemudian dikeringkan dalam suhu ruang selama 7 hari. Setelah benar-benar kering, daun dihaluskan dengan blender dan diayak untuk mendapatkan serbuk dengan tingkat kehalusan yang seragam. Dari 3 kg daun segar *M. jalapa* yang dipakai, diperoleh serbuk daun kering sebanyak 960 g.

Sebanyak 200 g serbuk kering diambil untuk dimaserasi dalam maserator tertutup selama 72 jam. Setelah 72 jam, maserat yang terbentuk dipisahkan dari ampas dengan corong *Buchner* dan kertas saring secara hati-hati. Langkah terakhir, maserat yang telah disaring diuapkan dengan penguap putar (rotavapour) pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental daun *M. jalapa* seberat 19,6 g (Eneji *et al.*, 2011; dan Kumar *et al.*, 2010).

3.8.2 Persiapan Uji Aktivitas Antimikroba

a. Persiapan alat

Semua alat yang akan dipakai pada uji aktivitas antimikroba disterilkan dalam sterilisator panas kering selama 15 menit dengan suhu 110° C terlebih dahulu. Bahan media juga ikut disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121° C (Suswati, 2012).

b. Pembuatan larutan NaCMC 0,5%

Larutan NaCMC 0,5% yang digunakan sebagai pelarut ekstrak etanol daun *M. jalapa* kental dibuat dengan cara melarutkan bubuk NaCMC seberat 150 mg dalam aquades sebanyak 30 ml. Untuk mempermudah proses larutnya serbuk NaCMC dalam aquades, dilakukan proses pemanasan dan pengadukan. Setelah terlarut dengan sempurna, larutan NaCMC 0,5% dibiarkan hingga dingin dalam suhu ruang sebelum digunakan dalam penelitian.

b. Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*

Konsentrasi ekstrak etanol daun *M. jalapa* 50 mg/ml dibuat dengan cara melarutkan ekstrak etanol daun *M. jalapa* kental sebanyak 100 mg dalam larutan NaCMC 0,5% sebanyak 2 ml sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 50 mg/ml. Kemudian dilakukan serial pengenceran sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, dan 0,1 mg/ml (Kumar *et al.*, 2010).

c. Pembuatan media *Mueller Hinton*

Media MH yang dipakai sebagai media pertumbuhan bakteri dibuat dengan cara melarutkan bubuk MH seberat 33,6 g dalam aquades sebanyak 100 ml dalam tabung enlemeyer. Larutan tersebut kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah 15 menit, larutan MH diambil dari autoklaf dan dituang sebanyak 25 ml dalam cawan petri steril berukuran 100 mm (Hudzicki, 2013).

d. Pembuatan larutan 0,5 Mc Farland

Larutan 0,5 Mc Farland dibuat dengan cara mencampur 1% BaCl₂ sebanyak 0,5 ml dengan 1% H₂SO₄ sebanyak 99,5 ml. Larutan ini nantinya akan digunakan sebagai standart untuk menetapkan kekeruhan suspensi bakteri (Hudzicki, 2013).

e. Pembuatan suspensi *Streptococcus pyogenes*

Suspensi *S. pyogenes* yang diuji, dibuat dengan cara mengambil 2-3 koloni bakteri dari kultur yang sudah ada sebelumnya menggunakan ose steril. Bakteri tersebut kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah diberi aquades

steril sebanyak 4 ml. Suspensi tersebut kemudian diaduk dan divortex hingga tercampur dengan baik. Langkah selanjutnya, menyamakan kekeruhan suspensi bakteri dengan kekeruhan larutan 0,5 Mc Farland. Apabila suspensi bakteri terlalu keruh, ditambahkan aquades untuk mengurangi tingkat kekeruhannya. Namun apabila suspensi bakteri kurang keruh, perlu ditambahkan koloni bakteri pada suspensi tersebut. Penentuan persamaan kekeruhan ini dilakukan dengan cara membandingkan keduanya di depan layar yang berwarna putih dengan garis hitam horizontal pada pencahayaan yang cukup (Suswati, 2012; dan CLSI, 2012).

f. Penyediaan kontrol positif

Penyediaan kontrol positif dilakukan dengan cara melarutkan penisilin V 50000 IU dalam aquades steril sebanyak 10 ml sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 5000 mg/ml. Setelah itu dilakukan serial pengenceran hingga didapatkan konsentrasi larutan penisilin V sebesar 100 IU. Sediaan tersebut nantinya akan ditempatkan pada vial (CLSI, 2014).

g. Penyediaan kontrol negatif

Sebagai kontrol negatif digunakan larutan NaCMC 0,5%. Sediaan tersebut nantinya juga akan diletakkan pada vial.

3.8.3 Tahap Pengujian Antimikroba

a. Lidi kapas steril dicelupkan kedalam suspensi bakteri *S. pyogenes* yang telah dibuat. Setelah tercelup seluruhnya hingga basah, lidi kapas tersebut diperas pada bagian dalam dari tabung suspensi untuk membuang media cair yang ikut terbawa. Lidi kapas tersebut kemudian diusapkan pada seluruh permukaan media MH. Prosedur ini diulangi sebanyak 2 kali sambil memutar media 60° untuk memastikan bakteri yang ditanam terdistribusi secara merata. Sebelum menjalani tahapan selanjutnya, media dibiarkan berada pada suhu ruang selama 3-5 menit supaya media tersebut benar-benar kering dan siap untuk dilakukan uji aktivitas antimikroba (CLSI, 2012).

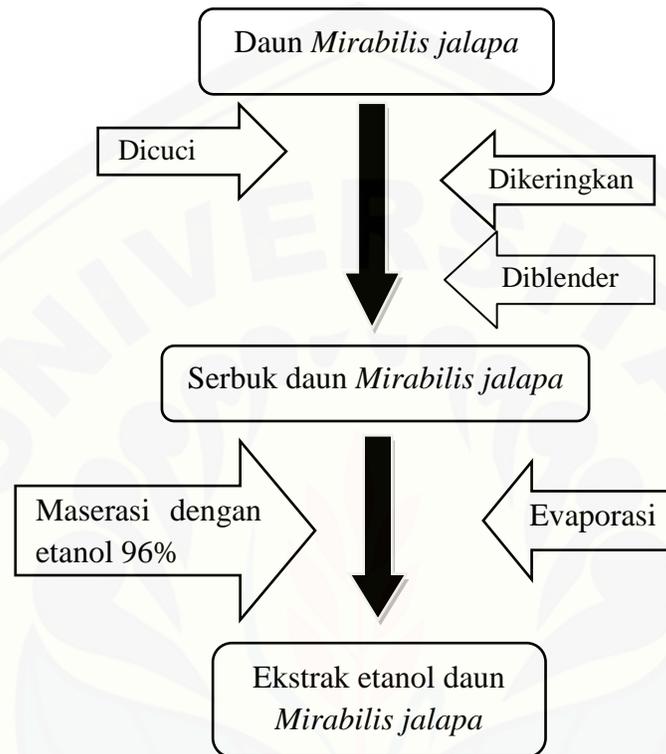
- b. Media yang telah diinokulasi dengan bakteri dilubangi menggunakan pipa aluminium steril berdiameter 6,8 mm. Banyaknya lubang yang dibuat disesuaikan dengan kebutuhan. Setiap lubang yang telah dibuat nantinya diberi label berdasarkan jenis perlakuannya.
- c. Media yang telah dilubangi diisi dengan ekstrak etanol daun *M. jalapa* dengan berbagai konsentrasi (satu lubang satu konsentrasi) dan kedalam lubang lainnya dimasukkan larutan NaCMC 0,5% sebagai kontrol negatif serta larutan penisilin V 100 IU sebagai kontrol positif. Masing-masing larutan uji diambil sebanyak 100 µl.
- d. Media kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.
- e. Setelah dikeluarkan dari inkubator, zona inhibisi yang muncul diamati dan diukur diameternya dalam millimeter dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran ini dilakukan minimal sebanyak tiga kali.
- f. Pelaksanaan percobaan diatas dilakukan dengan teknik yang aseptis.
- g. Perlakuan diatas diulang untuk setiap sampel dengan replikasi sebanyak tiga kali.

3.9 Analisis Data

Teknis pengolahan data dilakukan secara komputerisasi dan dibantu menggunakan perangkat lunak berupa *Software Statistical Product and Service Solution 17.0 (SPSS 17.0)*. Data hasil penelitian berupa diameter zona hambat ekstrak etanol daun *M. jalapa* terhadap *S. pyogenes* dianalisis dengan uji korelasi sederhana Pearson. Apabila syarat untuk uji korelasi Pearson tidak terpenuhi yaitu data tidak terdistribusi dengan normal, maka uji statistiknya diganti menggunakan uji korelasi Spearman. Setelah itu dilakukan uji regresi linear untuk mengetahui nilai KHM secara kuantitatif.

3.10 Alur Penelitian

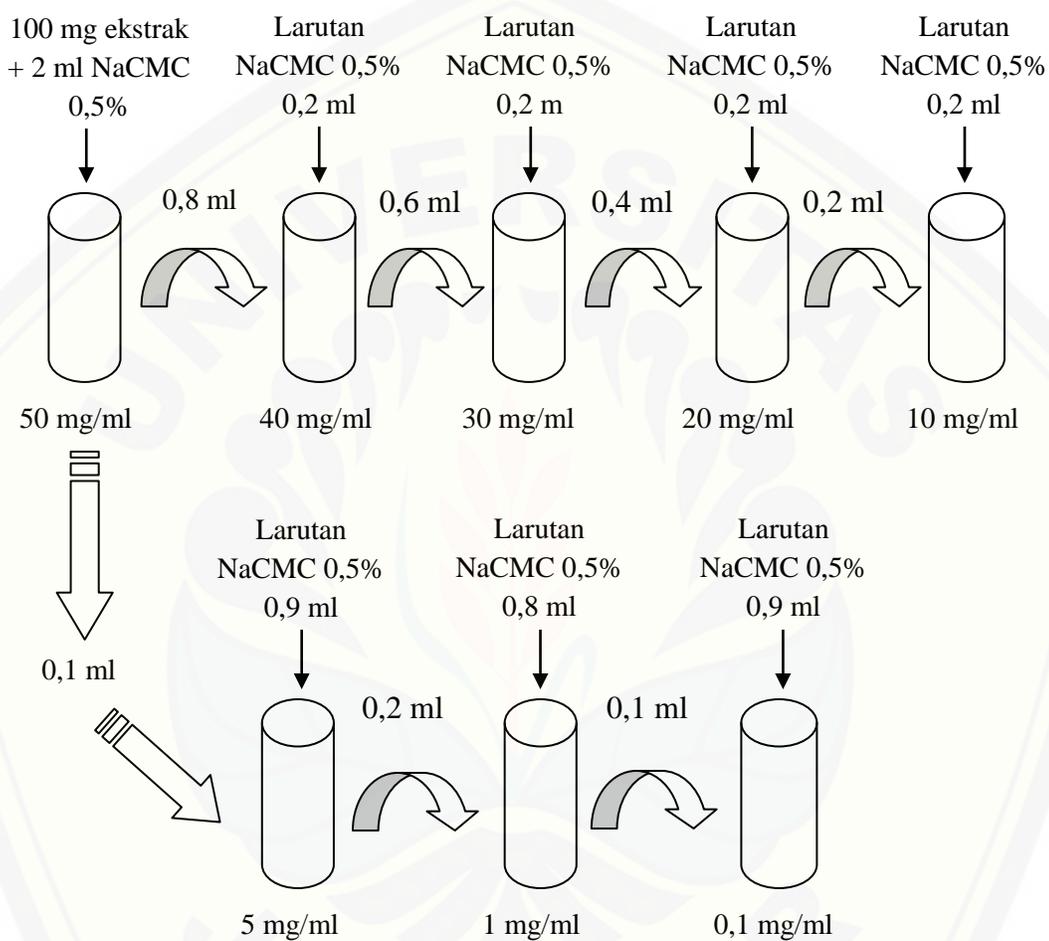
3.10.1 Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa*



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*

3.10.2 Alur Pengenceran Ekstrak

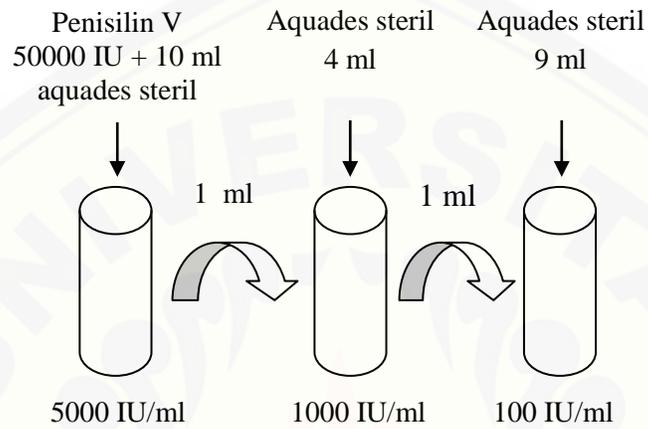
Alur pengenceran ekstrak dilakukan secara bertahap yang digambarkan dalam skema berikut:



Gambar 3.3 Skema pengenceran ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*

3.10.3 Alur Penyediaan Kontrol Positif

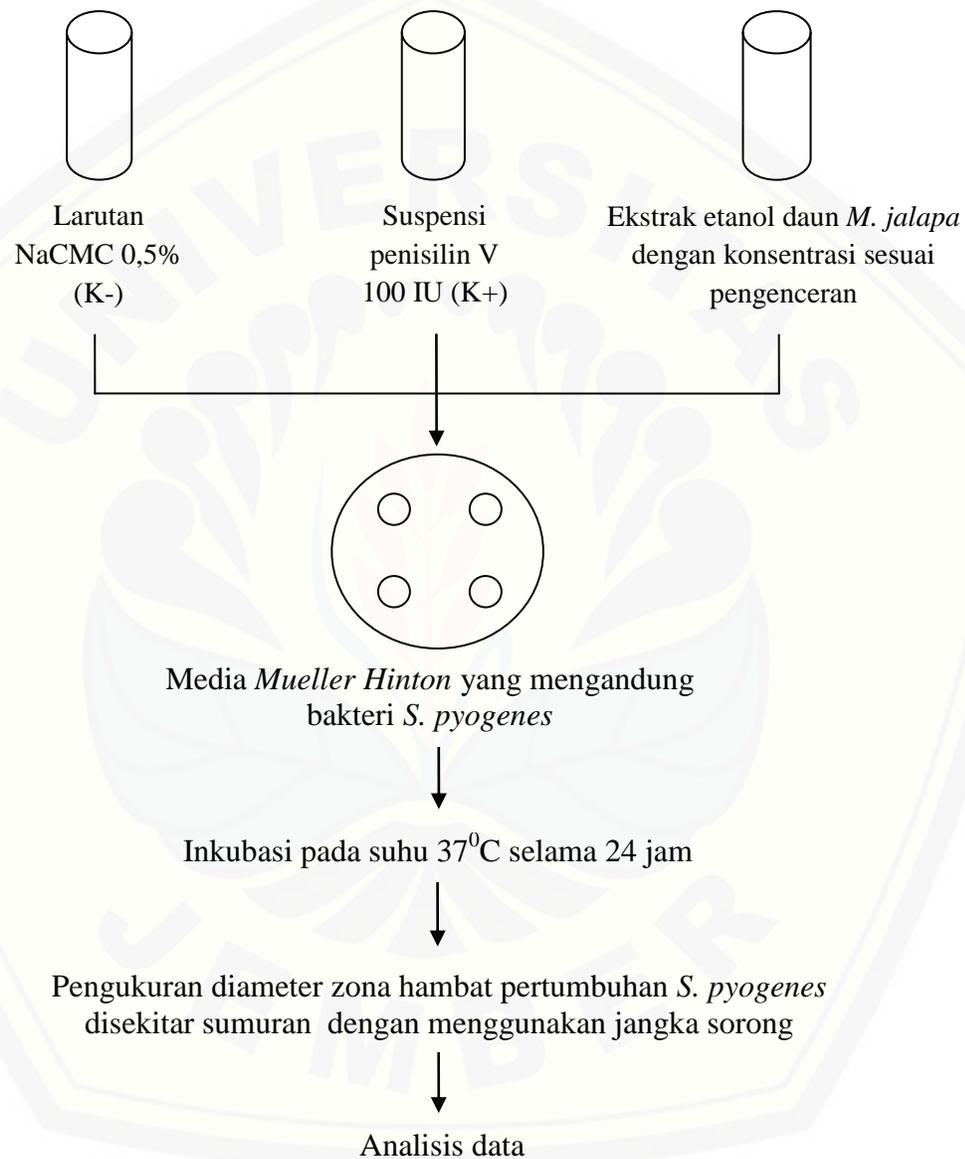
Kontrol positif penisilin V 100 IU didapatkan melalui serial pengenceran yang digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.4 Skema pengenceran penisilin V

3.10.4 Alur Uji Aktivitas Antibakteri

Alur pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.5 Skema uji aktivitas antibakteri