



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN *Mirabilis jalapa*
TERHADAP PERTUMBUHAN *Vibrio cholerae*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**Habibbur Rochman Salim
NIM 122010101082**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN *Mirabilis jalapa*
TERHADAP PERTUMBUHAN *Vibrio cholerae*
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

**Habibbur Rochman Salim
NIM 122010101082**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, atas ridho dan amanah-Nya sehingga saya bisa mendapatkan kesempatan untuk belajar semua ilmu yang luar biasa ini;
2. Rasulullah Muhammad SAW, sebagai junjungan dan tauladan selama ini;
3. Ibunda Dra. Suci Margahayu dan Ayahanda Ir. Imam Agus Salim yang tercinta, terima kasih atas segala kasih sayang, nasihat, bimbingan, dukungan, pengorbanan, dan untaian doa yang selalu mengiringi langkahku untuk mencapai keberhasilan;
4. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah memberikan ilmu dan seluruh kemampuannya untuk membimbingku menjadi manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.
(terjemahan Surat Al-Mujadilah ayat 11)^{*)}

atau

There is only two ways to live your life. One is as though nothing is a miracle. The other is as though everything is a miracle.^{**)}

atau

Seseorang memulai untuk hidup ketika ia dapat hidup diluar dirinya.^{**)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. Al Qur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT. Kumudasmoro Grafindo.

^{**)} Kata-kata bijak Albert Einstein, Instsink Publishing, 2005

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

nama : Habibbur Rochman Salim

NIM : 122010101082

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa* terhadap Pertumbuhan *Vibrio cholerae* secara *In Vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 30 Desember 2015
Yang menyatakan,

Habibbur Rochman Salim

NIM 122010101082

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN *Mirabilis jalapa*
TERHADAP PERTUMBUHAN *Vibrio cholerae*
SECARA *IN VITRO***

Oleh

Habibbur Rochman Salim
NIM 122010101082

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Dini Agustina, M. Biomed.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Jauhar Firdaus

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa* terhadap Pertumbuhan *Vibrio cholerae* secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Rabu, 30 Desember 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Dr. rer. biol. hum. dr. Erma
Sulistyaningsih, M. Si.
NIP. 19710521 199803 1 003

Penguji III,

dr. Dini Agustina, M. Biomed.
NIP. 19830801 200812 2 003

Penguji II,

dr. Cholis Abrori, M. Kes.,
MPd. Ked.
NIP. 19770222 200212 2 001

Penguji IV,

dr. Jauhar Firdaus
NIP. 19830125 200812 1 001

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 *Vibrio cholerae* secara *In Vitro*; Habibbur Rochman Salim; 122010101082; 2015; 66 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang tinggi terutama di negara berkembang. Berdasarkan profil kesehatan Indonesia tahun 2014, penyakit infeksi menempati urutan ke-2 dalam 10 penyakit utama penyebab kematian di rumah sakit termasuk penyakit infeksi diare. Salah satu bakteri yang paling sering menyebabkan diare akut adalah *Vibrio cholerae* dan penyakit yang ditimbulkan disebut kolera. Pada gejala yang berat, penyakit ini ditandai dengan diare yang hebat dengan tinja menyerupai air cucian beras (*rice water*), yang dengan cepat dapat menimbulkan dehidrasi. Terapi lini pertama diare ini menggunakan antibiotik golongan tetrasiklin seperti doksisisiklin dan tetrasiklin. Namun obat golongan tetrasiklin ini mempunyai efek samping yaitu reaksi vestibular berupa vertigo, mual dan muntah. Selain itu juga dapat menyebabkan perubahan warna dan displasia email gigi, deformitas tulang serta gangguan pertumbuhan. Oleh karena itu, diperlukan adanya alternatif terapi untuk *Vibrio cholerae* terutama dari tanaman herbal seperti *Mirabilis jalapa*.

Mirabilis jalapa adalah salah satu tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia yang berpotensi sebagai antibakteri. *Mirabilis jalapa* atau yang lebih dikenal sebagai bunga pukul empat telah diketahui memiliki komponen bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin yang merupakan substansi antibakteri yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan dan kadar hambat minimal ekstrak daun *Mirabilis jalapa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* secara *in vitro*.

Jenis penelitian yang digunakan pada uji aktivitas antimikroba ini adalah *Quasi Experimental Design* dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah biakan kuman *Vibrio cholerae* dari *stock culture* laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebanyak 32 sampel, 8 perlakuan dengan minimal dilakukan 3 kali pengulangan. Larutan yang diuji adalah ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* dengan konsentrasi 50 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, dan 0,1 mg/ml, sedangkan kontrol negatifnya adalah larutan NaCMC 0,5%, dan kontrol positifnya adalah suspensi tetrasiklin 300 ug/ml. Data diperoleh dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter setelah diinkubasi selama 24 jam.

Pada penelitian ini didapatkan zona hambat terbentuk pada semua konsentrasi kecuali pada konsentrasi terkecil yaitu 0,1 mg/ml. Sehingga dapat dikatakan bahwa zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 1 mg/ml. Data kemudian dianalisis dengan menggunakan Uji *Shapiro-Wilk* dan didapatkan nilai Sig = 0,003 yang menunjukkan bahwa distribusi data tidak normal, selanjutnya data dianalisis dengan uji korelasi sederhana bivariat *Spearman* dan didapatkan nilai $r = 0,993$ yang menunjukkan korelasi sangat kuat, dan selanjutnya dilakukan Uji Regresi Logaritmik untuk mendapatkan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) secara kuantitatif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* secara *in vitro*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* maka daya hambat terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* semakin besar. Selain itu, ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* memiliki KHM terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* secara kualitatif sebesar 1 mg/ml, sedangkan secara kuantitatif sebesar 0,2 mg/ml.

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa* terhadap Pertumbuhan *Vibrio cholerae* secara *In Vitro*”. Kelancaran penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Dini Agustina, M. Biomed. selaku dosen pembimbing utama dan dr. Jauhar Firdaus selaku dosen pembimbing anggota atas arahan, wawasan, motivasi dan bimbingan yang diberikan dalam penyusunan skripsi ini;
3. Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyarningsih, M. Si. dan dr. Cholis Abrori, M. Kes., MPd. Ked. selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
4. ibunda Dra. Suci Margahayu dan Ayahanda Ir. Imam Agus Salim atas dukungan semangat, motivasi, doa, nasihat, dan perhatian yang diberikan demi terselesaikannya skripsi ini;
5. sahabat sekaligus saudara seperjuangan, Hanif Nur Restyanto, Muhammad Nadzir A.A., Henggar Allest Pratama., Bagus Indra Kusuma, Geraldi Kusuma Wijaya, Bagus Satrio Pambudi, dan Abdurrozaq atas semangat, saran, kerjasama dan bantuannya;
6. teman sejawat Panacea 2012, yang telah berjuang bersama-sama penulis selama pendidikan preklinik dan klinik nantinya di Fakultas Kedokteran Universitas Jember tercinta;

7. keluarga besar IMSAC, atas kesempatan untuk menjadi bagian dari persaudaraan yang hebat ini, belajar tentang banyak hal baik medis maupun non medis, dan pengalaman luar biasa yang diberikan;
8. teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, mbak Lilis terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya selama penelitian;
9. guru-guru di SDN 1 Sukowiyono, SMPN 1 Karangrejo, SMAN 1 Gondang Tulungagung, serta dosen-dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember, yang telah memberikan ilmu dan membuat penulis gemar dalam menambah ilmu pengetahuan;
10. semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung hingga terselesaikannya karya tulis ilmiah ini.

Penulis juga menerima saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat terutama untuk pengembangan wawasan bagi mahasiswa maupun pihak-pihak yang terkait.

Jember, Desember 2015

Penulis

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	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Mirabilis jalapa</i>	4
2.1.1 Taksonomi.....	4
2.1.2 Morfologi.....	5
2.1.3 Kandungan kimia.....	6
2.1.4 <i>Mirabilis jalapa</i> sebagai antimikroba.....	7

2.2 <i>Vibrio cholerae</i>	8
2.2.1 Morfologi.....	9
2.2.2 Klasifikasi.....	10
2.2.3 Struktur antigen.....	11
2.2.4 Patogenesis.....	11
2.2.5 Enterotoksin.....	12
2.3 Kolera	12
2.3.1 Definisi.....	12
2.3.2 Patogenesis.....	13
2.3.3 Gejala klinis.....	15
2.3.4 Pengobatan.....	15
2.4 Tetrasiklin	16
2.4.1 Aktivitas antibiotik.....	16
2.4.2 Efek Samping Obat.....	16
2.5 Ekstraksi Daun <i>Mirabilis jalapa</i>	17
2.5.1 Maserasi	18
2.5.2 Perkolasi	18
2.5.3 Soxhletasi	19
2.6 Pengukuran Aktivitas Antimikroba	19
2.6.1 Metode dilusi	19
2.6.2 Metode difusi	20
2.7 Kerangka Konseptual Penelitian	20
2.8 Hipotesis Penelitian	23
BAB 3. METODE PENELITIAN	24
3.1 Jenis Penelitian	24
3.2 Rancangan Penelitian	24
3.3 Sampel Penelitian	26
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.4.1 Tempat penelitian	26

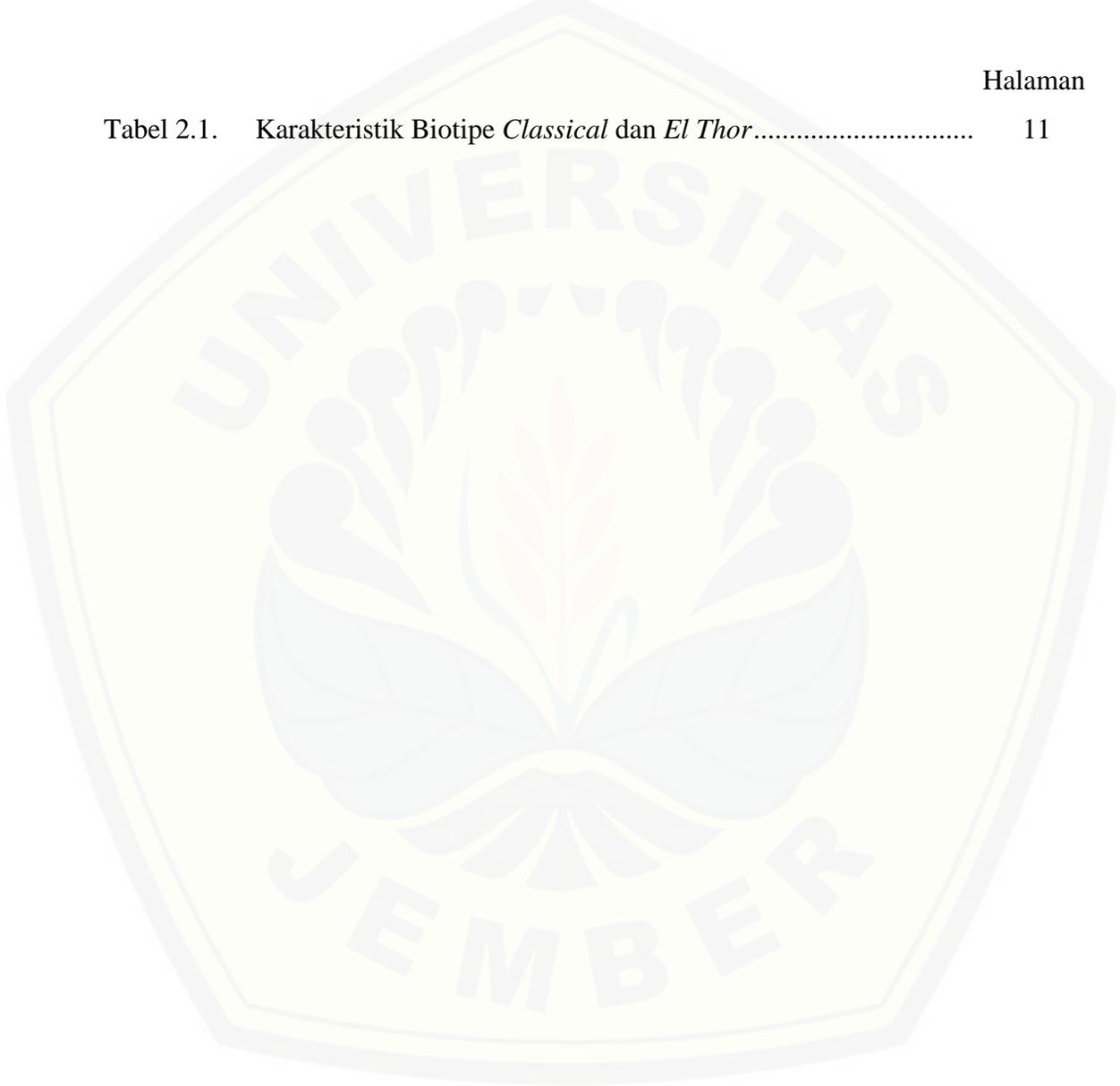
3.4.2 Waktu penelitian	26
3.5 Variabel Penelitian.....	27
3.5.1 Variabel Bebas	27
3.5.2 Variabel Terikat	27
3.5.3 Variabel Terkendali	27
3.6 Definisi Operasional.....	27
3.7 Alat dan Bahan.....	28
3.7.1 Alat	28
3.7.2 Bahan	28
3.8 Prosedur Penelitian.....	29
3.8.1 Uji Determinasi	29
3.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun <i>Mirabilis jalapa</i>	29
3.8.3 Persiapan Uji Aktivitas Mikroba	29
3.9 Analisis Data.....	32
3.10 Alur Penelitian	33
3.10.1 Pembuatan ekstrak etanol daun <i>Mirabilis jalapa</i>	33
3.10.2 Pengenceran Ekstrak	34
3.10.3 Alur Uji Aktivitas Antibakteri	35
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Hasil Penelitian.....	33
3.4.1.1 Waktu, Tempat dan Sampel Penelitian	36
3.4.1.2 Hasil Pengamatan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun <i>Mirabilis jalapa</i> terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Vibrio cholerae</i>	37
4.2 Analisis Data	40
4.3 Pembahasan	42
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44

DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	49



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Karakteristik Biotipe <i>Classical</i> dan <i>El Thor</i>	11



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bunga dan Daun <i>Mirabilis jalapa</i>	5
Gambar 2.2 Gambaran Mikroskopis <i>Vibrio cholerae</i>	10
Gambar 2.3 Bagan Patogenesis Kolera.....	14
Gambar 2.4 Kerangka Konseptual Penelitian	22
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun <i>Mirabilis Jalapa</i>	25
Gambar 3.2 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun <i>Mirabilis jalapa</i>	33
Gambar 3.3 Skema Pengenceran Ekstrak Daun <i>Mirabilis jalapa</i>	34
Gambar 3.4 Skema Uji Aktivitas Antibakteri.....	35
Gambar 4.1 Struktur morfologi bakteri <i>Vibrio cholerae</i> dengan mikroskop perbesaran 1000x	37
Gambar 4.2 Zona hambat beberapa tingkat konsentrasi ekstrak etanol daun <i>Mirabilis jalapa</i> terhadap pertumbuhan <i>Vibrio cholerae</i> pada media <i>Mueller Hinton</i>	38
Gambar 4.3. Kurva hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun <i>Mirabilis jalapa</i> terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan <i>V. cholerae</i>	39
Gambar 4.4 Diameter zona hambat kelompok kontrol negatif dan kontrol positif	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A Surat Identifikasi <i>Mirabilis jalapa</i>	49
Lampiran B Persetujuan Etik Penelitian	50
Lampiran C Tabel Data Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan <i>Vibrio cholerae</i>	52
Lampiran D Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	53
Lampiran E Uji Korelasi Bivariat <i>Spearman</i>	54
Lampiran F Uji Regresi Logaritmik	55

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang tinggi terutama di negara berkembang. Berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2014, penyakit infeksi menempati urutan ke-2 dalam 10 penyakit utama penyebab kematian di rumah sakit termasuk penyakit infeksi diare (Laksmiarti, 2013). Diare akut pada manusia dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, virus maupun parasit. Penyakit ini merupakan salah satu penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian anak di dunia. Di Indonesia, sekitar 162 ribu balita meninggal setiap tahun akibat diare atau sekitar 460 balita setiap harinya. Disamping itu, berdasarkan data dari RISKESDAS 2013 prevalensi diare di Jawa Timur sebesar 4,7%. Angka ini menunjukkan prevalensi diare di Jawa Timur masih cukup tinggi (Laksmiarti, 2013).

Salah satu bakteri yang paling sering menyebabkan diare akut adalah *Vibrio cholerae* dan penyakit yang ditimbulkan disebut kolera. Pada gejala yang berat, penyakit ini ditandai dengan diare yang hebat dengan tinja menyerupai air cucian beras (*rice water*), yang dengan cepat dapat menimbulkan dehidrasi (Murad, 2004). Terapi lini pertama diare ini menggunakan antibiotik golongan tetrasiklin seperti doksisisiklin dan tetrasiklin (Katzung, 2010).

Penggunaan antibiotik golongan tetrasiklin lebih efektif dibandingkan dengan antibiotik golongan lain seperti kloramfenikol, ampicilin, dan amoksisilin. Hal ini dikarenakan tetrasiklin mempunyai efek menghambat sintesis protein dengan mencegah penambahan asam amino ke peptida yang sedang terbentuk sehingga dapat dengan efektif membunuh *Vibrio cholera*. Namun obat golongan tetrasiklin ini mempunyai efek samping yaitu reaksi vestibular berupa vertigo, mual dan muntah. Obat golongan ini juga tidak dianjurkan penggunaannya pada anak usia dibawah 8 tahun karena tetrasiklin dapat menumpuk pada gigi dan tulang yang sedang dalam masa

pertumbuhan. Hal ini akan menimbulkan kelainan berupa perubahan warna dan displasia email gigi, deformitas tulang serta gangguan pertumbuhan. Selain itu penggunaan antibiotik golongan ini yang tidak adekuat dan irasional dalam mengobati berbagai penyakit infeksi salah satunya infeksi saluran pencernaan dapat memicu terjadinya resistensi antibiotik tersebut terhadap bakteri seperti *Vibrio cholerae* (Katzung, 2010). Oleh karena itu, diperlukan adanya alternatif terapi untuk *Vibrio cholerae* terutama dari tanaman herbal seperti *Mirabilis jalapa*.

Mirabilis jalapa adalah salah satu tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia yang berpotensi sebagai antibakteri. *Mirabilis jalapa* atau yang lebih dikenal sebagai bunga pukul empat telah diketahui memiliki komponen bioaktif seperti *flavonoid*, *tannin*, dan *saponin* yang merupakan substansi antimikroba yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri (Dalimartha, 2006). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun *Mirabilis jalapa* dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* (Akintobi, 2011). Namun, kemampuan ekstrak daun *Mirabilis jalapa* dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Vibrio cholerae* belum diteliti. Oleh karena itu, peneliti berkeinginan untuk membuat sebuah penelitian mengenai kemampuan daun *Mirabilis jalapa* sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan koloni *Vibrio cholerae* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, rumusan masalah yang peneliti kemukakan adalah:

- a. Apakah ekstrak daun *Mirabilis jalapa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* secara *in vitro*?
- b. Berapakah Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak daun *Mirabilis jalapa* terhadap bakteri *Vibrio cholerae*?

1.3 Tujuan

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

- a. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun *Mirabilis jalapa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* secara *in vitro*; dan
- b. Untuk mengetahui kadar hambat minimal dari ekstrak daun *Mirabilis jalapa* terhadap bakteri *Vibrio cholerae*.

1.4 Manfaat

Berdasarkan tujuan yang telah diuraikan, manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Menambah wawasan dan pengetahuan serta mengaplikasikan teori yang telah diperoleh. Dengan penelitian ini diharapkan dapat menjadi wahana pengetahuan bagi peneliti selanjutnya yang tertarik untuk meneliti tentang aktivitas antimikroba *Mirabilis jalapa* secara lebih dalam.
- b. Memberikan informasi tambahan kepada pembaca mengenai kemampuan ekstrak daun *Mirabilis jalapa* sebagai antibakteri.
- c. Karya tulis ilmiah ini dapat digunakan sebagai sumber rujukan dan memperkaya kajian pustaka fakultas kedokteran.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mirabilis jalapa*

Mirabilis jalapa di Indonesia lebih dikenal sebagai bunga pukul empat. Tumbuhan ini adalah tumbuhan tropis yang memiliki kemampuan bertahan hidup pada iklim yang ekstrim, seperti pada daerah yang mengalami musim kemarau panjang.

2.1.1 Taksonomi

Mirabilis jalapa memiliki banyak nama latin, seperti *Jalapa officinalis* Garsault, *Nyctago jalapae* (L.) DC., *Nyctago versicolor* Salisb., dan *Mimosa hispidula* Kunth (Bionet-Eafrinet). Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, *Mirabilis jalapa* diklasifikasikan sebagai berikut:

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

Sumber: Sinha, 2015

2.1.2 Morfologi

Mirabilis jalapa termasuk tumbuhan *perennial* atau tumbuhan yang hidup lama. Tumbuhan ini dapat tumbuh hingga mencapai tinggi sekitar 2 meter dengan akar *tuberous* (umbi-umbian). 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, dengan ujung daun yang lancip (*acute*) dan panjang tangkai daun sekitar 4 cm (Dalimartha, 2006).

Mirabilis jalapa adalah tumbuhan yang memiliki bunga majemuk. Tumbuhan ini memiliki tangkai bunga yang pendek dan berkelompok sebanyak 3-7 bunga pada setiap ujung tanaman. Tumbuhan ini mekar pada sore hari. Bunganya berbentuk tubular dengan warna putih, kuning, dan merah. Panjang dari bunga ini sekitar 6,5 cm dengan lebar sekitar 3,5 cm. Bunga dari *Mirabilis jalapa* terdiri dari 5-6 kelopak bunga. Daun dari tumbuhan ini kecil, berwarna hijau ketika masih muda, berubah menjadi hitam ketika sudah masak (Dalimartha, 2006). Sediaan daun dan bunga *Mirabilis jalapa* dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Bunga dan daun *Mirabilis jalapa* (PIER, 2011)

2.1.3 Kandungan kimia

Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman *Mirabilis jalapa* sudah pernah diteliti sebelumnya. Komposisi kandungan kimia tanaman *Mirabilis 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 komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut (Karou, 2005).

b. Glikosida

Glikosida merupakan salah satu kandungan kimia tanaman 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. Apabila glikon dan aglikon saling terikat maka senyawa ini disebut sebagai glikosida (Gunawan, 2010).

c. Saponin

Saponin merupakan salah satu golongan glikosida yang mempunyai struktur steroid dan triterpenoid. Saponin mempunyai sifat yang khas yakni membentuk larutan koloidal dalam air dan membuih apabila dikocok. Saponin bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan lisis

dari bakteri tersebut. Selain berfungsi sebagai antimikroba, saponin juga berperan sebagai agen antiinflamasi. Saponin bekerja sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat jalur dehidrogenase prostaglandin (Madduluri, 2013).

d. Tanin

Tannin merupakan senyawa phenol yang larut dalam air dan memiliki berat molekul antara 500 dan 3000 Da. Senyawa tannin 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 phenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat berwarna merah, ungu, dan biru yang ditemukan pada tumbuh-tumbuhan. Flavonoid merupakan istilah generik untuk senyawa heterosiklik oksigen aromatic yang diturunkan dari 2-fenilbenzopiran (Hendra *et al.*, 2011). Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana 2 cincin benzene terikat pada suatu rantai propane. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan daun. 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).

2.1.4 *Mirabilis jalapa* sebagai antimikroba

Mirabilis jalapa mengandung zat bioaktif yang terdiri dari senyawa *alkaloid*, *glikosid*, *saponin*, *tannin* dan *flavonoid*. Dari komponen zat aktif tersebut, senyawa *alkaloid*, *saponin*, *tannin* dan *flavonoid* lah yang mempunyai efektivitas sebagai antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri. Berdasarkan penelitian yang telah ada,

diketahui ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* mempunyai efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumoni*. Menurut penelitian Eneji (2011), rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* dengan konsentrasi 20 mg/ml terhadap *S. typhi* dan *B. cereus* adalah 34,33 mm dan 51,33 mm. Sedangkan menurut penelitian Kumar (2010), rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* dengan konsentrasi 500ug/disc terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *S. pneumonia* adalah 12.8 mm, 10 mm dan 8,3 mm.

2.2 *Vibrio cholerae*

Vibrio cholerae adalah bakteri yang masuk dalam family Vibrionaceae selain dari *Aeromonas* dan *Plesiomonas*. Bakteri ini pertama kali ditemukan oleh Robert Koch pada tahun 1884 dan sangat penting dalam dunia kedokteran karena menyebabkan penyakit kolera. *Vibrio cholerae* banyak ditemui di permukaan air yang terkontaminasi dengan feses yang mengandung kuman tersebut, oleh karena itu penularan penyakit kolera ini dapat melalui air, makanan dan sanitasi yang buruk (Brooks, 2005).

Wabah kolera diperkirakan menyebabkan kematian 120 ribu jiwa tiap tahun di dunia dan sebagian besar terjadi pada ana-anak. Yang harus diperhatikan dari epidemiologi kolera adalah pengelompokan kasus berdasarkan lokasi dan musim, tingkat infeksi tertinggi yang menyerang anak usia 1-5 tahun di daerah endemik, pola resistensi antibiotik yang berubah dari tahun ke tahun, keanekaragaman strain dari bakteri, dan pencegahan penyakit dengan mengontrol pola hidup bersih dan menjaga daya tahan tubuh (Faruque, 1998). Dalam sistematika taksonomi bakteri *Vibrio cholerae* diklasifikasikan sebagai berikut:

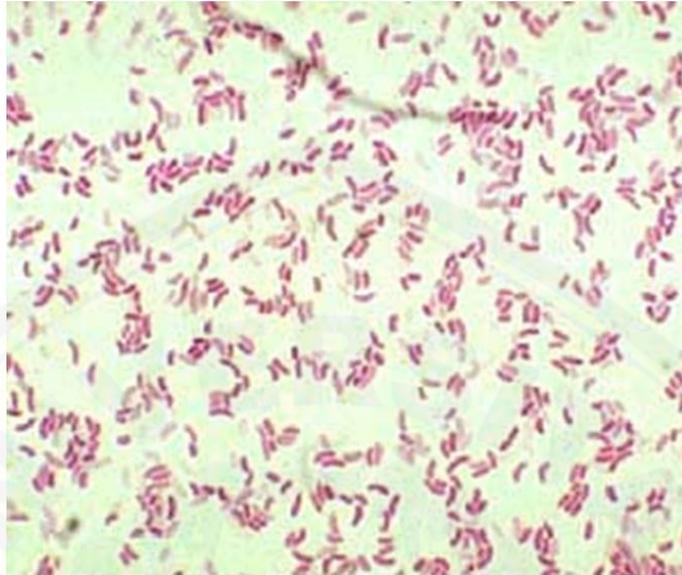
Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Vibrionales
Famili : Vibrionaceae
Genus : *Vibrio*
Spesies : *Vibrio cholerae*

Sumber: Thompson, 2004

2.2.1 Morfologi

Vibrio cholerae termasuk bakteri gram negatif, berbentuk batang bengkok seperti koma dengan ukuran panjang 2-4 um. Tapi bila biakan diperpanjang, kuman ini bisa menjadi batang lurus yang mirip dengan bakteri enteric gram negative lainnya. Kuman ini dapat bergerak sangat aktif karena mempunyai satu buah flagella polar yang halus (Murray, 2012).

Kuman ini tidak membentuk spora. Kuman ini bisa tumbuh pada media sederhana dengan suhu 14-40 °C. Semua spesies dari *Vibrio* membutuhkan sodium klorida (NaCl) untuk tumbuh kecuali *Vibrio cholerae*. Pada kultur dijumpai koloni yang cembung (convex), halus dan bulat berwarna keruh serta akan bergranul jika terkena cahaya (Murray, 2012). Sediaan mikroskopis dari *Vibrio cholerae* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Gambaran mikroskopis *Vibrio cholerae* (Sabaleta, 2010)

2.2.2 Klasifikasi

Berdasarkan struktur polisakaridanya *Vibrio sp* dibagi menjadi 200 serogrup. Namun hanya *Vibrio cholerae* 01 dan 0139 yang memproduksi enterotoksin dan mempunyai hubungan akan kejadian penyakit kolera. Pada pembagian selanjutnya *V. cholerae* 01 dibagi lagi berdasarkan serotipe dan biotipenya. Ada tiga jenis serotipe yang sudah terdeteksi yaitu Inaba, Ogawa dan Hikojima. Sedangkan menurut biotipenya *V. cholerae* 01 dibagi menjadi *Classical* dan *El Thor*. Pembagian biotipe ini berdasarkan perbedaan fenotipe dan morfologinya yang tampak pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Karakteristik biotipe *Classical* dan *El Thor*

Kriteria	<i>Classical</i>	<i>El Thor</i>
Isolasi di daerah Indian	Jarang	Umumnya
Isolasi pada saat ini	Sangat jarang	Umumnya
Hemolisis eritrosit	-	+
Voges-Proskauer	-	+
Sensitivitas terhadap Polimiksin B	+	-
Aglutinasi pada eritrosit ayam	-	+
Lisis oleh bakteriofag		
a. Classical IV	+	-
b. FK	+	-
c. El Thor 5	-	+

Sumber: James, 2011

2.2.3 Struktur Antigen

Semua *Vibrio cholerae* mempunyai antigen flagel H yang sama. Antigen flagel H ini bersifat tahan panas. Antibodi terhadap antigen flagel H tidak bersifat protektif. Pada uji aglutinasi berbentuk awan. Antigen somatik O merupakan antigen yang penting dalam pembagian grup secara serologi pada *Vibrio cholerae*. Antigen somatic O ini terdiri dari lipopolisakarida. Pada reaksi aglutinasi berbentuk seperti pasir dan antibodi bersifat protektif terhadap antigen ini. *Vibrio cholerae* serogrup O1 memiliki tiga jenis antigen yaitu A, B dan C (Murray, 2012).

2.2.4 Patogenesis

Dalam keadaan alamiah, *Vibrio cholerae* hanya patogen terhadap manusia. Seseorang yang memiliki asam lambung yang normal harus menelan sebanyak 10^{10} atau lebih *Vibrio cholerae* dalam air agar dapat menginfeksi, sebab kuman ini sangat sensitif dalam suasana asam. Jika mediatornya makanan hanya diperlukan 10^2 - 10^4

organisme untuk dapat menginfeksi. Hal ini dikarenakan kapasitas buffer yang cukup dalam makanan. Beberapa pengobatan dan keadaan yang dapat menurunkan kadar asam lambung membuat orang lebih sensitif terhadap infeksi *Vibrio cholerae* (Murray, 2012).

2.2.5 Enterotoksin

Vibrio cholerae ini menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan asam dan panas. Toksin ini memiliki berat molekul sekitar 90.000 Da yang mengandung 98% protein, 1% lipid dan 1% karbohidrat. Pada tiap molekul enterotoksin *Vibrio cholerae* terdiri dari 5 sub unit B (binding) dan 1 sub unit A (aktif). Sub unit A ini mempunyai komponen A1 dan A2. Enterotoksin berikatan dengan reseptor ganglion pada permukaan enterosit melalui 5 sub unit B. Sedangkan komponen A2 sub unit mempercepat masuknya enterotoksin ke sel dan komponen A1 sub unit bertugas meningkatkan aktivitas adenil siklase sehingga produksi cyclic AMP meningkat dan menyebabkan meningkatnya sekresi cairan dan elektrolit. Hal ini menyebabkan timbulnya diare massif dengan kehilangan cairan mencapai 20 liter perhari. Pada kasus berat gejala dehidrasi bisa sampai menyebabkan syok dan kematian (Sudoyo, 2010).

2.3 Kolera

2.3.1 Definisi

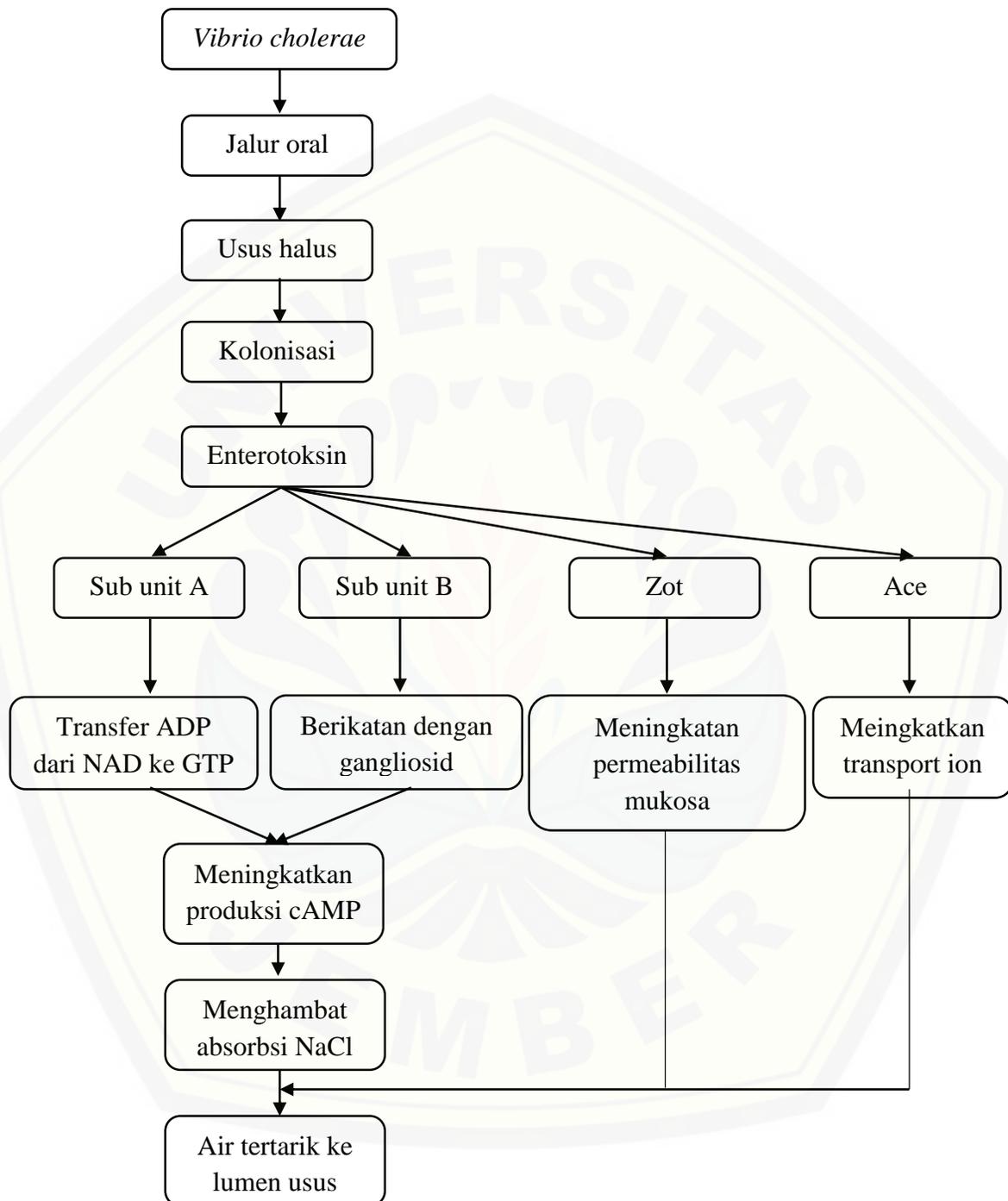
Kolera adalah penyakit infeksi yang disebabkan *Vibrio cholerae* dengan manifestasi diare disertai muntah yang akut dan hebat akibat enterotoksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Bentuk manifestasi klinisnya yang khas adalah dehidrasi, berlanjut dengan renjatan hipovolemik dan asidosis metabolik yang terjadi dalam waktu sangat singkat akibat diare sekretorik dan dapat berakhir dengan kematian apabila tidak ditanggulangi dengan adekuat (Sudoyo, 2010).

2.3.2 Patogenesis

Kolera ditularkan melalui jalur oral. Bila *Vibrio cholerae* berhasil lolos dari pertahanan primer dalam mulut dan tertelan, bakteri ini akan cepat terbunuh dalam asam lambung yang tidak diencerkan. Bila *Vibrio cholerae* dapat selamat melalui asam lambung, maka ia akan berkembang di dalam usus halus. Suasana alkali di bagian usus halus ini merupakan medium yang menguntungkan baginya untuk hidup dan memperbanyak diri. Jumlahnya bisa mencapai 10 per ml cairan tinja. Langkah awal dari pathogenesis terjadinya kolera yaitu menempelnya *Vibrio cholerae* pada mukosa usus halus. Penempelan ini dapat terjadi karena adanya membran protein terluar dan adhesi flagella (Sudoyo, 2010).

Vibrio cholerae merupakan bakteri non invasif. Patogenesis yang mendasari terjadinya penyakit ini disebabkan oleh enterotoksin yang dihasilkan oleh *V. cholerae* yang menyebabkan hilangnya cairan dan elektrolit yang masif yang disebabkan oleh kerja toksin pada sel epitel usus halus, terutama pada duodenum dan jejunum (Sudoyo, 2010). Enterotoksin sub unit A dapat masuk menembus membrane sel epitel. Sub unit ini mempunyai aktivitas *adenosine diphosphate* (ADP) *ribosyltransferase* dan menyebabkan transfer ADP ribose dari *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD) ke sebuah *guanosine triphosphate* (GTP) binding protein yang mengatur aktivitas adenilat siklase. Sedangkan sub unit B yang mengandung 5 polipeptida akan berikatan dengan gangliosid monosialosil yang spesifik pada usus halus. Hal ini menyebabkan peningkatan produksi cAMP yang menghambat absorpsi NaCl dan merangsang ekskresi klorida, yang menyebabkan hilangnya air, NaCl, kalium dan bikarbonat (Sudoyo, 2010).

Selain itu, telah diketahui ada toksin lain yang juga ikut berperan pada patogenitas kolera yaitu *Zonula occludens toxin* (Zot) dan *Accessory cholera exotoxin* (Ace). Zot mempunyai peranan dengan meningkatkan permeabilitas mukosa usus halus melalui struktur *tight junction* sedangkan Ace mempunyai pengaruh dengan meningkatkan transport ion transmembran (Sudoyo, 2010). Bagan patogenesis dari kolera dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Bagan patogenesis kolera (IPD, 2010)

2.3.3 Gejala klinis

Sebagian besar infeksi yang disebabkan *Vibrio cholerae* ini asimtomatik atau terjadi diare yang ringan dan pasien tetap ambulator. Masa inkubasi selama 1-4 hari sampai timbul gejala namun tergantung pada inokulan yang tertelan. Gejala kolera yang khas dimulai dengan munculnya diare yang encer dan berlimpah tanpa didahului oleh rasa mulas dan tanpa adanya tenesmus. Dalam waktu singkat tinja yang semula berwarna dan berbau feses berubah menjadi putih keruh yang mirip air cucian beras. Cairan ini mengandung mucus sel epitel dan sejumlah besar *Vibrio cholerae*. Muntah timbul setelah diare diikuti dengan gejala mual. Kejang otot dapat menyusul baik dalam bentuk fibrilasi maupun fasikulasi atau kejang klonik yang nyeri. Otot yang sering teribat antara lain betis, bisep, trisep, pektoralis dan dinding perut. Penderita akan kehilangan cairan dan elektrolit dengan cepat dan dapat mengarah pada dehidrasi berat, syukur dan anuria. Tanda-tanda dehidrasi tampak lebih jelas berupa kelopak mata cekung, mulut menyeringai karena bibir yang kering (Sudoyo, 2010).

2.3.4 Pengobatan

Pengobatan utama pada kolera adalah penggantian cairan elektrolit dan keseimbangan asam basa yang cepat dan adekuat, yaitu dengan pemberian cairan yang tergantung pada dehidrasi ringan, sedang, berat (WHO, 2013). Pengobatan berdasarkan causal yaitu pemberian antibiotika merupakan obat utama untuk membunuh kuman vibrio dan memperpendek masa dan volume diare secara bermakna. Tetrasiklin dengan dosis 50 mg/kgBB/hari selama 3 hari, atau chloramphenikol dengan dosis 50-100 mg/kgBB/hari selama 5 hari atau dapat diberikan doksisisiklin 4mg/kgBB/hari selama 3 hari (WHO, 2013).

Pemberian antipiretik dengan preparat salisilat (asetosal, aspirin) yang berguna untuk menurunkan panas yang terjadi akibat dehidrasi atau panas karena infeksi penyerta, juga dapat mengurangi sekresi cairan yang keluar bersama tinja. Pemberian antiemetik seperti chlorpromazine terbukti selain mencegah muntah dapat juga mengurangi sekresi dan kehilangan cairan bersama tinja. Pemberian dalam dosis

adekuat 1 mg/kgBB/hari (WHO, 2013). Bahan makanan yang kaya energi atau tinggi kalori, protein dan mengandung kalium dapat diberikan. Perhatian pada masukan makanan sangat penting dan harus dimulai sesegera mungkin. Defisit harus digantikan untuk meminimalkan dampak gangguan nutrisi pada penyakit. Bayi yang disusui ASI tetap diberikan secara libitum untuk mengatasi kehilangan cairan dan mencegah gangguan status gizi penderita.

2.4. Tetrasiklin

2.4.1 Aktivitas antibiotik

Tetrasiklin adalah antibiotic bakteriostatik berspektrum luas yang bekerja dengan menghambat sintesis protein dari bakteri. Obat ini bekerja aktif pada banyak bakteri gram positif, gram negative dan beberapa protozoa. Pada obat golongan tetrasiklin memiliki perbedaan yang tipis dalam efektivitas klinis terhadap organisme yang rentandan hal ini disebabkan oleh perbedaan sifat absorbs, distribusi dan ekskresi masing-masing obat (Chambers, 2010).

Tetrasiklin sebagian memasuki mikroorganisme melalui difusi pasif dan sebagian melalui proses transport aktif yang bergantung pada energi. Sel yang rentan terhadap tetrasiklin mengonsentrasikan obat tersebut di dalam sel. Setelah berada di dalam sel, tetrasiklin berikatan secara reversible pada sub unit 30S ribosom bakteri yang mencegah ikatan aminoasil-tRNA pada lokasi akseptor di kompleks mRNA-ribosom. Hal ini mencegah penambahan asam amino ke peptida yang sedang terbentuk (Chambers, 2010).

2.4.2 Efek Samping Obat

Efek samping tetrasiklin yang paling sering nampak adalah perubahan warna pada gigi. Hal ini dikarenakan tetrasiklin mengandung gugus-gugus hidroksil dimana gugus tersebut akan membentuk ikatan bila dikombinasikan dengan Ca^{++} sebagai unsur-unsur pembentuk gigi. Tetrasiklin dapat mengikat kalsium secara irreversible kemudian berikatan dengan kristal hidroksiapatit baik di dentin maupun enamel. Ikatan

inilah yang nantinya mengakibatkan terbentuknya senyawa *orthocalcium phosphat complex* yang tertimbun pada gigi dan menyebabkan perubahan warna pada gigi. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya perubahan warna pada gigi diantaranya adalah struktur kimia dari senyawa tetrasiklin, dosis yang digunakan dan lamanya pemakaian. Namun, faktor utama penyebab perubahan warna pada gigi adalah pemberian obat tetrasiklin pada masa pertumbuhan tulang dan gigi (Gunawan, 2009).

Selain perubahan warna pada gigi, gangguan saluran cerna seperti mual, muntah, diare dan iritasi saluran cerna. Beberapa efek ini menjadi alasan utama penghentian terapi tetrasiklin. Efek samping ini disebabkan oleh iritasi local langsung di saluran cerna. Tetrasiklin mengubah flora normal dengan menekan organisme koliformis yang rentan dan menyebabkan pertumbuhan yang berlebihan pada pseudomonas, proteus, stafilokokus dan kandida (Katzung, 2010).

2.5. Ekstraksi Daun *Mirabilis jalapa*

Ekstraksi adalah istilah dalam bidang farmasi yang artinya pemisahan bahan aktif pada tanaman maupun hewan dengan menggunakan pelarut selektif sesuai 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.

Alkohol (methanol, ethanol), aseton, dietil eter dan etil asetat adalah zat yang sering digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi, sebagai contoh ekstraksi asam fenolik yang sangat polar (benzoik, asam sinamik) disarankan mencampur pelarut dengan air, untuk zat yang kurang polar seperti minyak, asam lemak dan klorofil yang sering digunakan adalah diklorometan, kloroform, hexan atau benzen. Penggunaan alkohol 95% dalam proses ekstraksi akan meningkatkan jumlah kandungan zat yang terdapat didalam suatu ekstrak tanaman. Faktor lain yang mempengaruhi proses ekstraksi diantaranya adalah keasaman (pH), suhu dan perbandingan sampel dengan pelarut (Hastari, 2012). Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam melakukan ekstraksi, diantaranya adalah maserasi, infusa, digesti, dekoksi, perkolasi, soxhlet,

ekstraksi aqueous 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 (Hastari, 2012).

2.5.1 Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan pengekstrak. Cairan pengekstrak 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 pengekstrak yang telah ditetapkan. Bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan zat pengekstrak masuk ke seluruh permukaan simplisia (Hudzicki, 2009).

Maserasi digunakan untuk pengekstrakan zat aktif simplisia yang mudah larut pada cairan pengekstrak. Cairan pengekstrak 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).

2.5.2 Perkolasi

Perkolasi dilakukan dalam wadah yang berbentuk silinder atau kerucut (percolator) yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengekstraksi 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).

2.5.3 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 perlokator. Wadah gelas yang mengandung kantung diletakkan diantara labu penyulingan dan pendingin aliran balik. Labu tersebut berisi bahan pengeksrak 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).

2.6 Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Pemeriksaan uji kepekaan bakteri terhadap suatu antimikroba bertujuan untuk mengetahui apakah antimikroba tersebut dapat menghambat atau membunuh bakteri yang diujikan, atau untuk mengetahui adanya resistensi bakteri yang diujikan terhadap antimikroba tersebut. Penentuan kerentanan bakteri pathogen terhadap obat-obatan antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode utama, yaitu metode dilusi atau difusi.

2.6.1 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 keadaan tertentu saja. Keuntungannya, data yang diperoleh merupakan data yang kuantitatif (Brooks *et al.*, 2007).

2.6.2 Metode Difusi

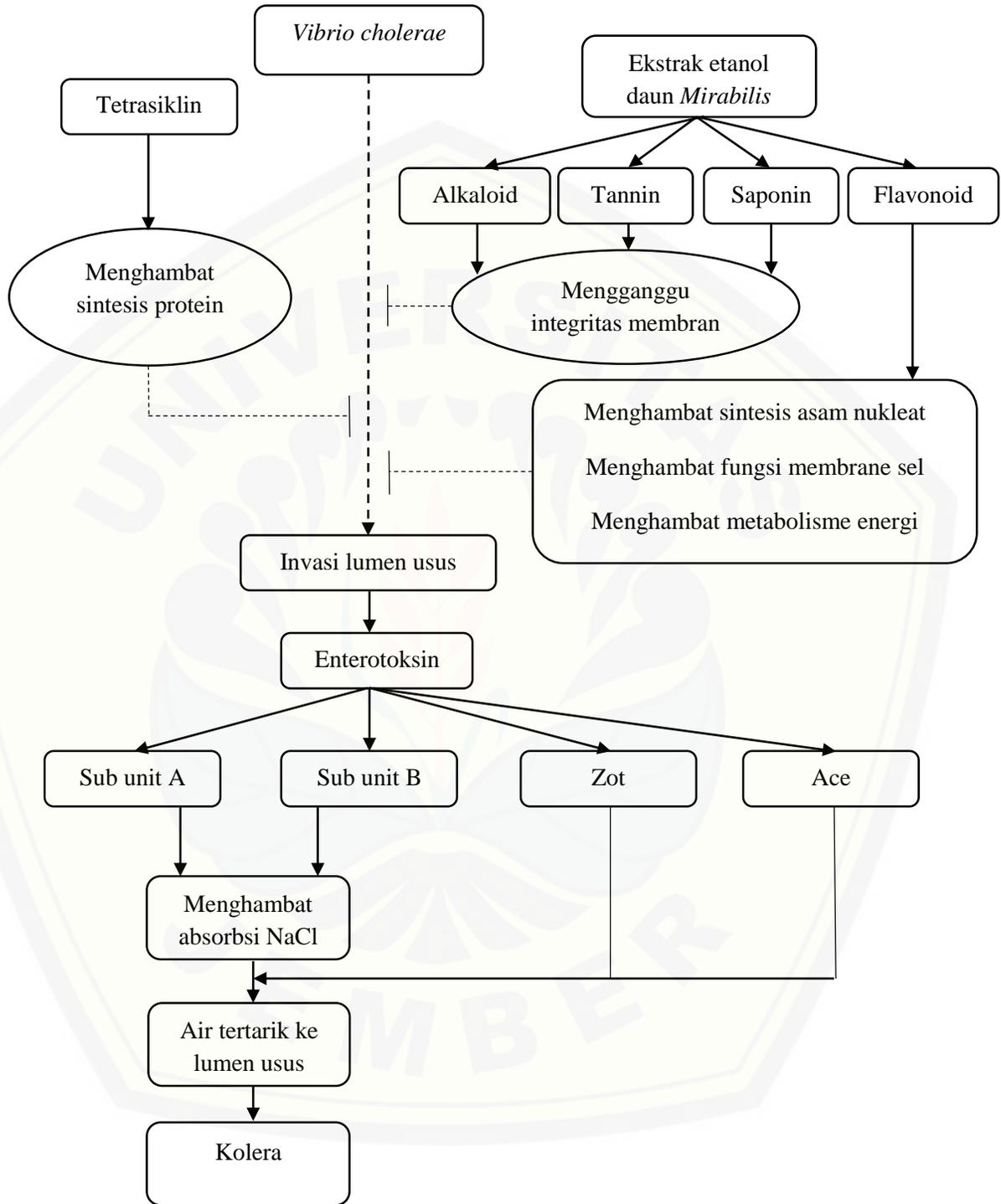
Metode difusi merupakan metode uji kepekaan antimikroba yang paling sering digunakan. Sumuran yang mengandung antimikroba dengan konsentrasi tertentu ditempatkan di atas permukaan medium padat yang telah diinokulasi dengan bakteri yang diujikan. Setelah medium diinkubasi, diameter inhibisi atau zona 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).

2.7 Kerangka Konseptual Penelitian

Dari tinjauan pustaka yang telah peneliti jabarkan, diperoleh gambaran mengenai potensi antimikroba yang dimiliki oleh daun *Mirabilis jalapa*. Kandungan zat aktif dari *Mirabilis jalapa* yaitu *alkaloid*, *saponin*, *tannin* yang mampu mengganggu integritas dari membran sel bakteri dan *flavonoid* yang menghambat sintesis asam nukleat bakteri, menghambat fungsi membran sel serta menghambat metabolisme energi, diduga memiliki kemampuan sebagai antimikroba terhadap bakteri *Vibrio cholerae*. Dengan mengukur zona hambat pada biakan *Vibrio cholerae* yang diberi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* dengan berbagai konsentrasi, dapat diketahui kemampuan ekstrak daun *Mirabilis jalapa* dalam menghambat atau

membunuh *Vibrio cholerae*. Bagan dari kerangka konseptual penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.4.





Keterangan ; Diteliti
 _____ Tidak diteliti
 Gambar 2.4. Kerangka konseptual penelitian

2.8 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* mampu menghambat pertumbuhan koloni *Vibrio cholerae* secara *in vitro*.



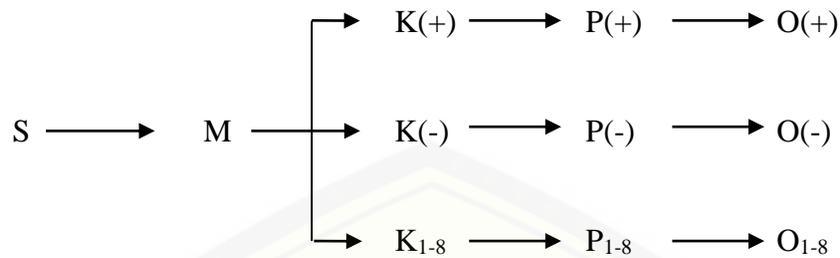
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* secara in vitro adalah penelitian eksperimental semu (*Quasi Experimental Design*). Penelitian yang dilakukan berupa penelitian semu karena tidak dilakukan randomisasi pada sampel penelitian. Hal ini dikarenakan semua sampel telah homogen (Pratiknya, 2008).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*. Pada rancangan penelitian ini hanya dilakukan satu kali pengamatan pada sampel di akhir perlakuan. Rancangan penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Keterangan

S : Biakan *Vibrio cholera* (Sampel)

M : Media *Mueller Hinton Agar*

K(+) : Kelompok kontrol positif

K(-) : Kelompok kontrol negatif

K₁₋₈ : Kelompok perlakuan 1-8

P(+) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol positif (Tetrasiklin 300 ug/ml)

P(-) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol negatif (Larutan NaCMC 0,5%)

P₁₋₈ : Perlakuan berupa kontak dengan ekstrak daun *Mirabilis jalapa* pada konsentrasi 50 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, dan 0,1 mg/ml.

O(+) : Data perlakuan dengan kontrol positif

O(-) : Data perlakuan dengan kontrol negatif

O₁₋₈ : Data perlakuan dengan ekstrak daun *Mirabilis jalapa* pada konsentrasi 50 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, dan 0,1 mg/ml.

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

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biakan kuman *Vibrio cholerae* 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) (Mulu *et al.*, 2004).

Pengulangan yang dilakukan dihitung berdasarkan rumus Federer (1977):

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

$$(10-1)(n-1) \geq 15$$

$$9(n-1) \geq 15$$

$$9n-9 \geq 15$$

$$9n \geq 24$$

$$n \geq 2,67$$

t adalah jumlah kelompok perlakuan

n adalah jumlah pengulangan

Setelah dilakukan perhitungan, didapatkan jumlah pengulangan yang harus dilakukan adalah lebih dari sama dengan 2,67. Pada penelitian ini dilakukan 3 kali pengulangan dan diperlukan sampel minimal sebanyak 30 buah.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

3.4.1 Tempat penelitian

Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi dan uji aktivitas antimikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.4.2 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November sampai Desember 2015.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*. Konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* yang digunakan adalah sebesar 50 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, dan 0,1 mg/ml.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae*. Bakteri *V. cholerae* ini dibiakan pada media *Mueller Hinton Agar*.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini ada beberapa macam. Diantaranya adalah pembuatan biakan bakteri *Vibrio cholerae*, pembuatan ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*, media *Mueller Hinton Agar*, inkubasi, cara pengukuran zona hambat, dan prosedur penelitian.

3.6 Definisi Operasional

1. Konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* adalah ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* dengan konsentrasi 50 mg/ml, 40 mg/ml, 30 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, dan 0,1 mg/ml. yang diperoleh dari pengenceran bertingkat. Konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* 50 mg/ml didapatkan dengan cara mencampur 100 mg ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* kental dan 2 ml larutan NaCMC 0,5%, kemudian divortex hingga larutan tersebut tercampur sempurna. Setelah itu, dilakukan pengenceran bertingkat hingga didapatkan larutan dengan konsentrasi sebesar 0,1 mg/ml (Eneji, 2011).

2. *Vibrio cholerae* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang dan bersifat motil yang dibiakan dari spesimen yang berasal dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada media *Mueller Hinton*.
3. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* diukur berdasarkan diameter sumuran ditambah terbentuknya zona bening di sekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong (Hudzicki, 2009).
4. Uji sensitivitas adalah uji aktivitas antibakteri untuk mengetahui larutan ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera*, dengan melihat diameter zona hambat setelah diinkubasikan selama 18-24 jam (Hudzicki, 2009).

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan bantuan beberapa alat. Diantaranya adalah pengaduk, autoklaf, cawan petri 10 cm, cawan porselin, corong *Buchner*, *disposable syringe*, gelas ukur, incubator, jangka sorong, kertas saring, kompor listrik, korek, lampu bunsen, maserator, mikropipet (*Ependorf*) 100 µl, 500 µl, 1000 µl, ose, penangan air, pipa aluminium, pipa penghisap, rak tabung reaksi, ratavapour, sterilisator panas kering, tabung *Erlenmeyer*, tabung reaksi, timbangan atau neraca, tisu, vial, mortar, *yellow* dan *blue tip* (Eneji, 2011).

3.7.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alkohol 70%, aquades steril, bubuk *Mueller Hinton* (MH), ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*, etanol 96%, *nutrient broth*, aquades steril, dan spiritus. Selain itu juga diperlukan suspensi *Vibrio cholerae*, dan suspensi tetrasiklin 500 mg/ml.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Determinasi

Daun *Mirabilis jalapa* yang diperoleh dari daerah Jember dianalisis di LIPI UPT. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Jawa Timur. Sehingga diperoleh surat keterangan identifikasi tanaman *Mirabilis jalapa*.

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun *Mirabilis jalapa*

Metode ekstraksi yang akan digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk kering bahan dalam cairan pengeksrak. Cairan pengeksrak yang akan digunakan pada proses ekstraksi ini adalah etanol 96%. Etanol dipertimbangkan sebagai pengeksrak karena sifatnya yang polar, sesuai dengan senyawa tannin dan flavonoid yang sama-sama bersifat polar. Selain itu, etanol 96% sulit untuk ditumbuhi kuman, netral, dan tidak beracun (Kumar, 2010).

Daun *Mirabilis jalapa* segar ditimbang kurang lebih seberat 1 kg, kemudian dikeringkan selama 3 hari dan dikupas kulit daunnya hingga tampak bagian dalam daun yang menyerupai tepung. Tepung dihaluskan dengan mortar dan kemudian diayak untuk mendapatkan serbuk dengan derajat kehalusan yang seragam. Serbuk lalu ditimbang. Serbuk yang sudah ditimbang nantinya akan dimasukkan kedalam maserator tertutup dan dibiarkan selama 3 hari. Setelah itu saring maserat dari ampas dengan corong *Buchner* dan kertas saring, pisahkan maserat dari endapan secara hati-hati. Langkah terakhir, uapkan maserat dengan penguap putar (rotavapour) dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental daun *Mirabilis jalapa* (Kumar, 2010)

3.8.3 Persiapan Uji Aktivitas Mikroba

a. Persiapan alat

Semua alat yang akan dipakai pada uji aktivitas mikroba 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.

b. Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*

Konsentrasi ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* 50 mg/ml adalah konsentrasi yang didapatkan dengan cara mengambil 100 mg ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa* kental kemudian ditambah larutan NaCMC 0,5% 2 ml sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 50 mg/ml. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat 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.

c. Pembuatan media *Mueller Hinton*

Mueller Hinton Agar seberat 3,4 g dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer. Tambahkan 100 ml aquades, campur dan aduk sampai merata. Langkah selanjutnya, panaskan campuran tersebut sampai mendidih dan larut. Kemudian masukkan larutan tersebut kedalam autoklaf selama 30 menit dengan suhu 121°C. Setelah 30 menit, tuang larutan tersebut sebanyak 20 ml kedalam cawan petri steril dan dimasukkan ke dalam incubator dengan suhu 37°C (Hudzicki, 2009).

d. Pembuatan larutan 0,5 *Mc Farland*

Larutan 0,5 *Mc Farland* dibuat dengan cara mencampurkan 1% BaCl₂ sebanyak 16 µl dan 1% H₂SO₄ sebanyak 3,3 µl. Larutan ini nantinya akan digunakan sebagai standart untuk menetapkan kekeruhan biakan kuman (Hudzicki, 2009).

e. Pembuatan suspensi *Vibrio cholerae*

Bakteri yang akan digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Suspensi *Vibrio cholerae* yang akan diuji, dibuat dengan cara mengambil 4-5 koloni bakteri dari kultur yang sudah ada sebelumnya. bakteri tersebut kemudian dimasukkan kedalam medium TSB (*Trypticase Soy Broth*) dan

dibuat kekeruhan biakan bakteri sesuai dengan kekeruhan 0,5 Mc Farland. Penentuan persamaan kekeruhan ini dilakukan dengan cara membandingkan keduanya di depan layar yang berwarna hitam (Hudzicki, 2009).

f. Penyediaan kontrol positif

Penyediaan kontrol positif dilakukan dengan cara melarutkan tetrasiklin 500 mg dalam sediaan serbuk dengan aquades steril sampai terbentuk konsentrasi 300 ug/ml. Sediaan tersebut nantinya akan ditempatkan pada vial (Hudzicki, 2009).

g. Penyediaan kontrol negatif

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

h. Tahap pengujian antimikroba:

- 1) Membuat media *Mueller Hinton* agar.
- 2) Suspensi kuman yang telah dibuat, diambil sebanyak 1000 μ l dan dihomogenkan kedalam media *Mueller Hinton*. Kemudian media tersebut dibiarkan selama 3-5 menit pada suhu ruang supaya media benar-benar kering dan siap untuk dilakukan percobaan uji antimikroba.
- 3) Media yang telah mengandung bakteri dilubangi dengan menggunakan pipa alumunium steril berdiameter 7 mm. Banyaknya lubang yang akan dibuat disesuaikan dengan kebutuhan. Setiap lubang yang telah dibuat nantinya diberi label berdasarkan jenis perlakuannya.
- 4) Media yang telah dilubangi diisi dengan ekstrak etanol *Mirabilis jalapa* dengan berbagai konsentrasi (satu lubang satu konsentrasi) dan kedalam lubang lainnya dimasukkan aquades steril sebagai kontrol negatif serta larutan tetrasiklin sebagai kontrol positif. Masing masing bahan diambil sebanyak 100 μ l.
- 5) Media kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

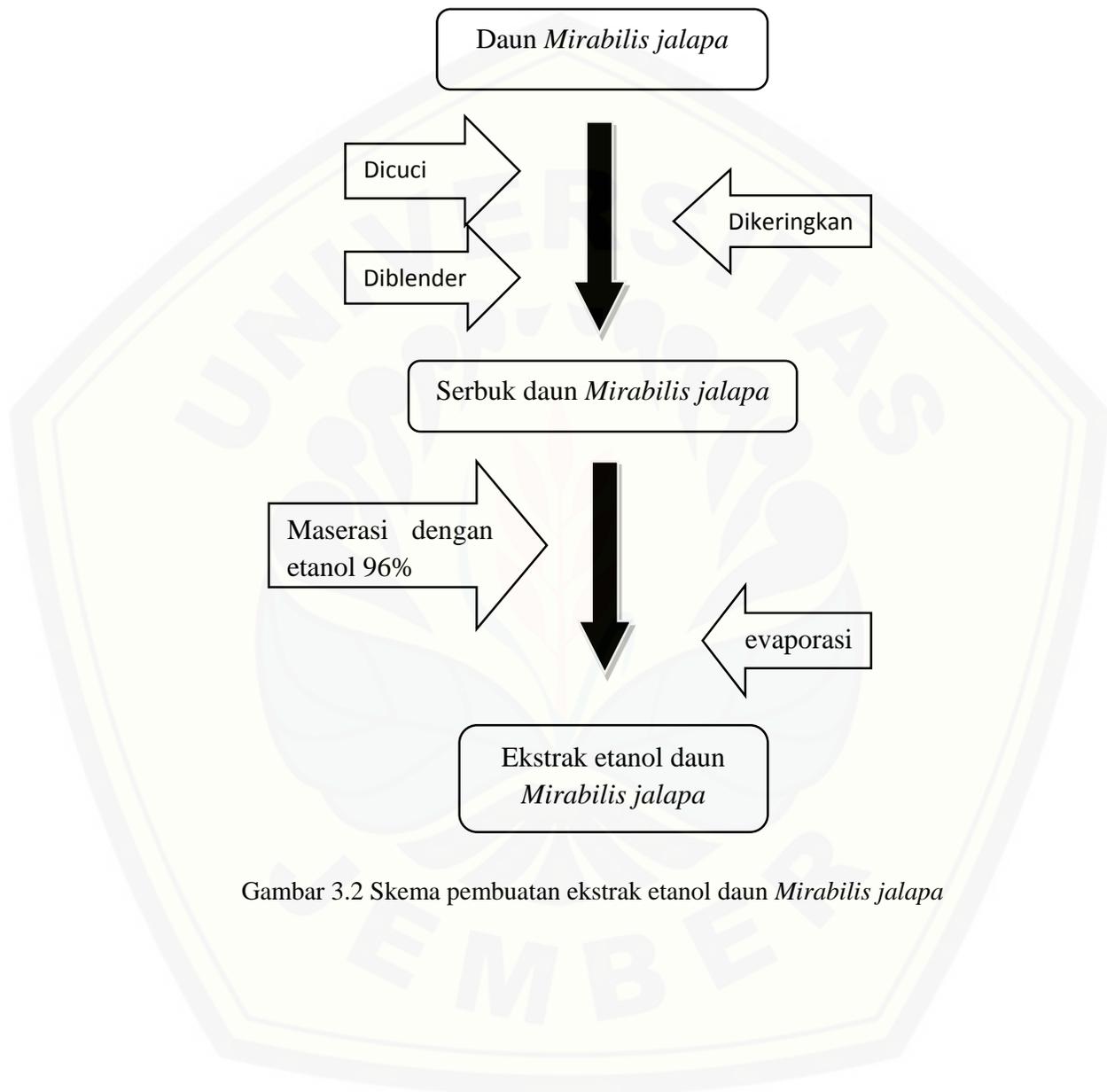
- 6) Setelah dikeluarkan dari incubator, zona inhibisi yang muncul diukur diameternya dalam millimeter dengan jangka sorong. Pengukuran ini dilakukan minimal sebanyak tiga kali.
- 7) Pelaksanaan percobaan diatas dilakukan secara aseptis.
- 8) Perlakuan diulang untuk setiap jenis dengan replikasi sebanyak tiga kali.

3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian ini dianalisis dengan uji statistik Analisis Korelasi Bivariat *Pearson*. Apabila syarat untuk Korelasi Bivariat *Pearson* tidak terpenuhi yaitu data tidak terdistribusi dengan normal, maka uji statistiknya diganti menggunakan Korelasi Bivariat *Spearman*. Kemudian, untuk pengolahan data menggunakan *software* SPSS 19 (*Statistical Package for the Social Sciences* 19). Rancangan percobaan dengan menggunakan 10 perlakuan dan 3 pengulangan. Data hasil penelitian diolah statistik dengan derajat kepercayaan 95% (Ramadhan *et al.*, 2015).

3.10 Alur Penelitian

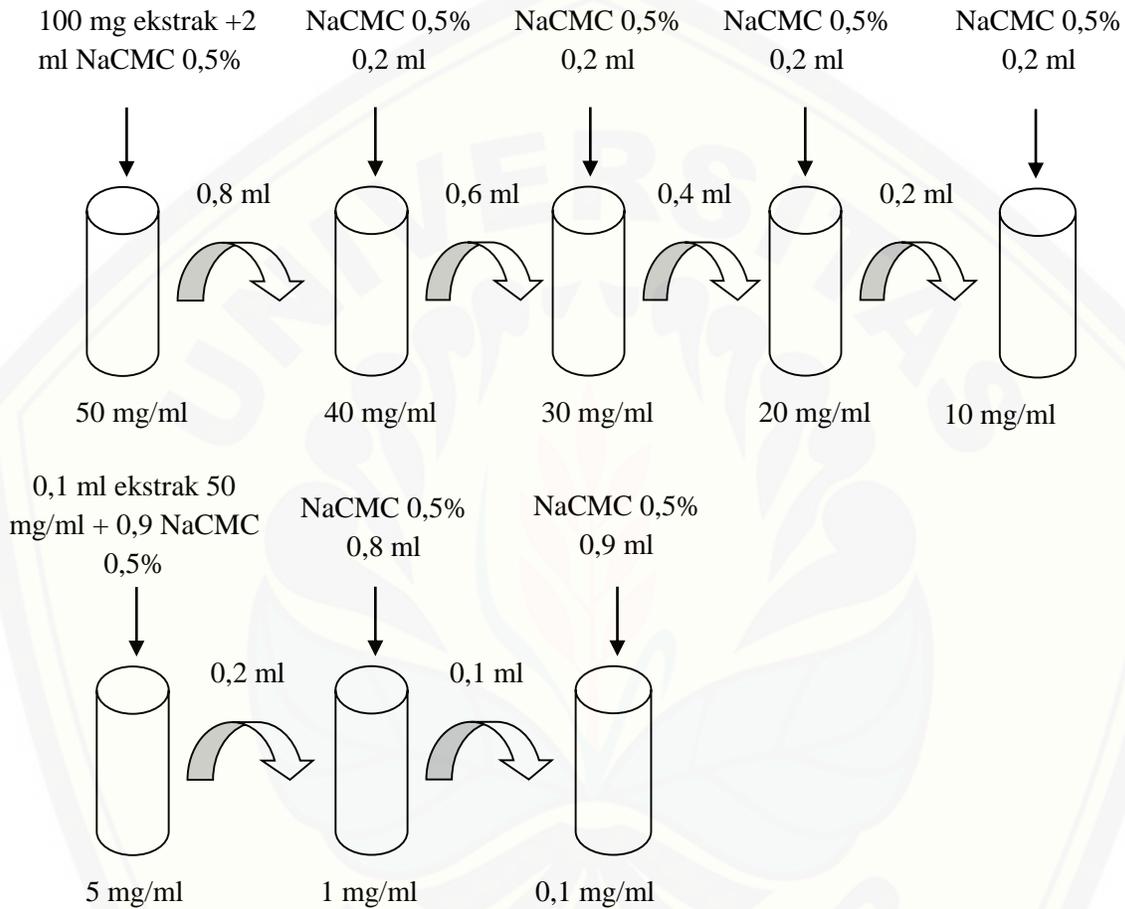
3.10.1 Pembuatan ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun *Mirabilis jalapa*

3.10.2 Pengenceran Ekstrak

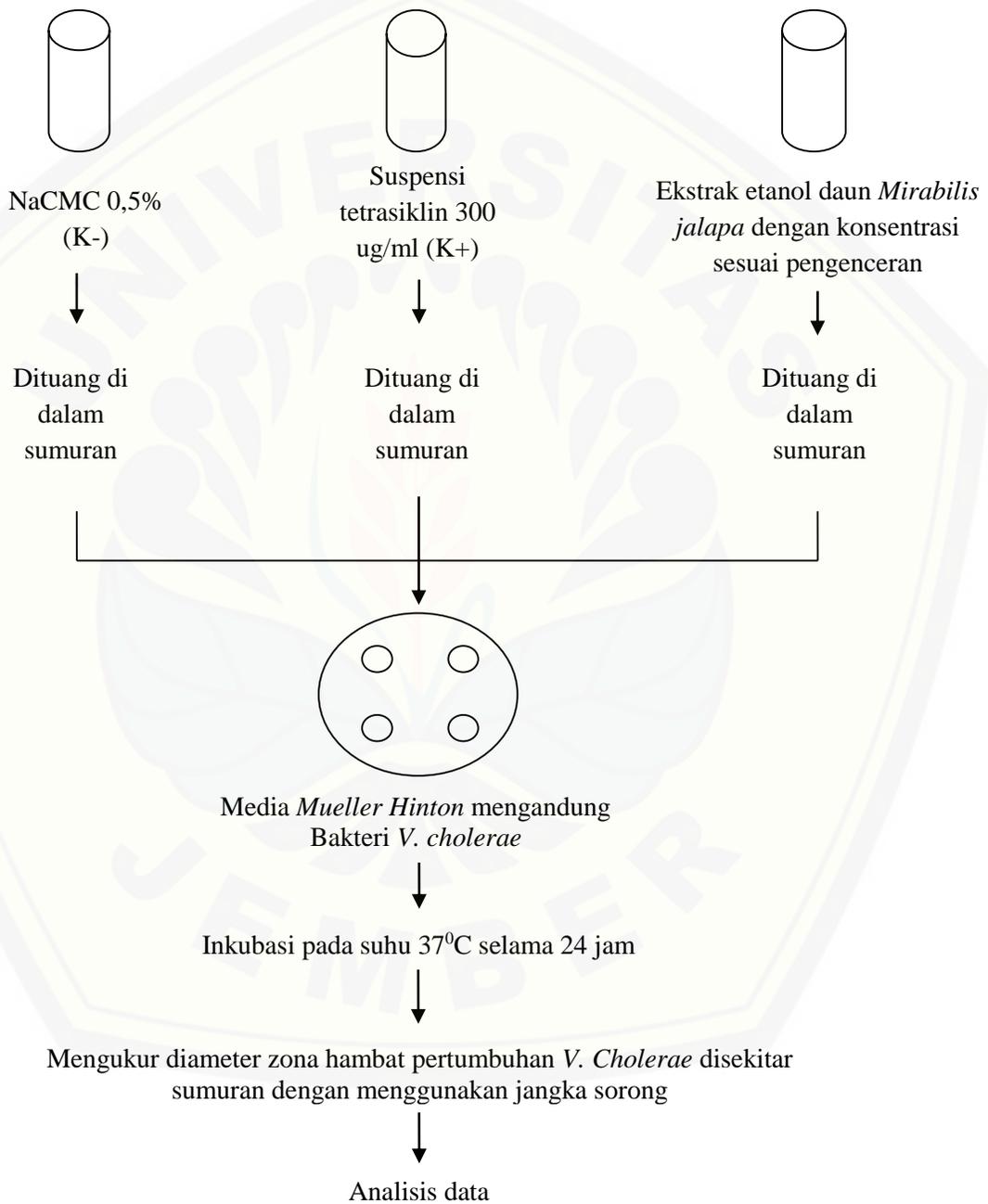
Alur pengenceran ekstrak dilakukan secara bertingkat yang digambarkan dalam skema berikut:



Gambar 3.3 Skema pengenceran ekstrak daun *Mirabilis jalapa*

3.10.3 Alur Uji Aktivitas Antibakteri

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



Gambar 3.4 Skema uji aktivitas antibakteri