





**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis L.*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Salmonella typhi*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
Rinda Yanuarisa
NIM 122010101024

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis L.*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Salmonella typhi*
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:
Rinda Yanuarisa
NIM 122010101024

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

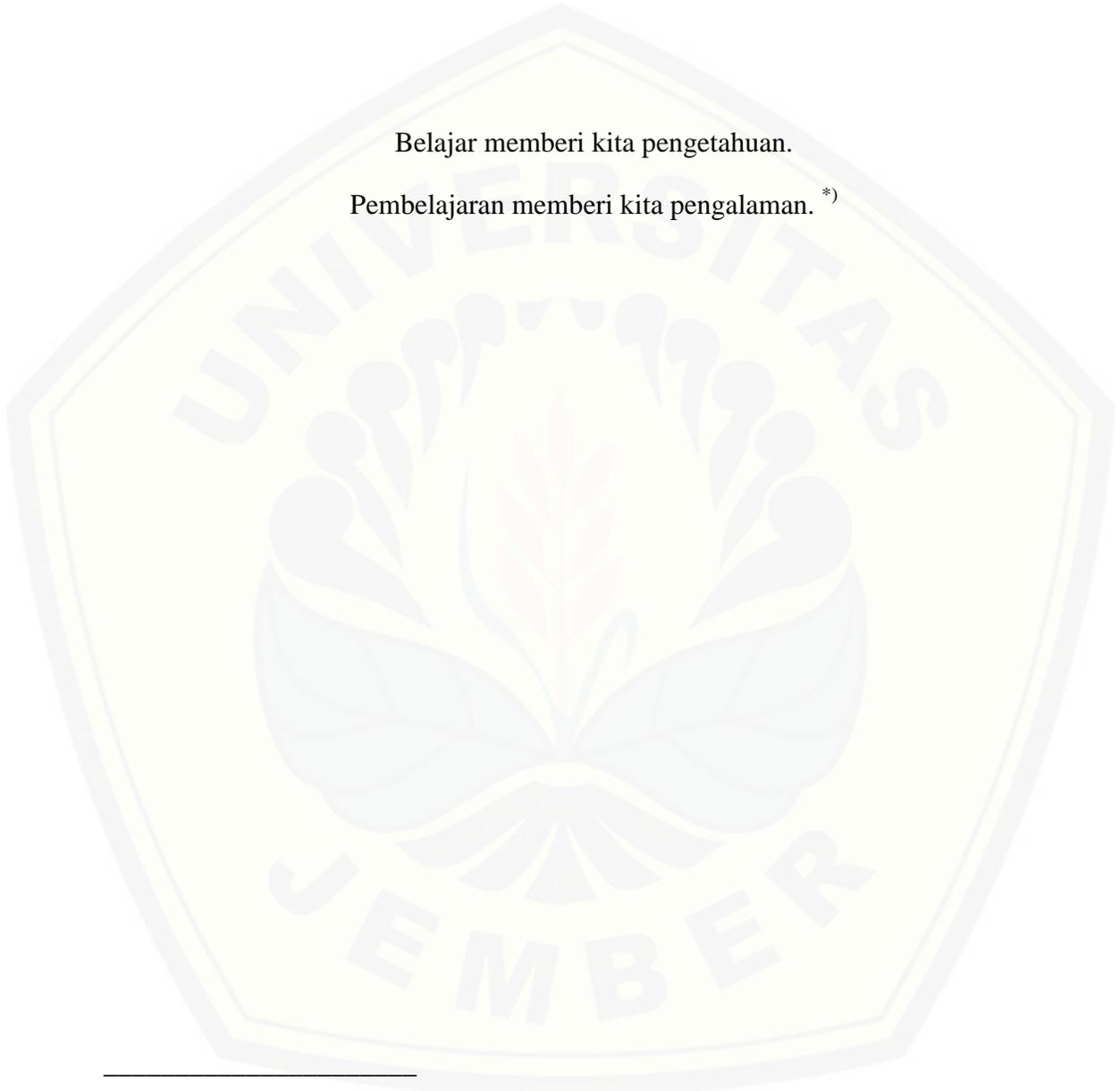
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah Swt. dengan seluruh rahmat dan kasih sayang-Nya yang membuat saya selalu bersyukur, atas ridho dan amanah-Nya sehingga saya berkesempatan untuk belajar ilmu yang luar biasa ini;
2. orang tua saya, Ibunda Yuli Candrawati dan Ayahanda Abdul Kalim yang tak pernah lelah melantunkan doa, memberikan kasih sayang, bimbingan, semangat, dan pengorbanan yang tak terhingga sehingga saya sampai pada tahap ini;
3. kakak-kakak saya Faozan, Yulfa Fitria, dan Triyani Oktarina yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan doa agar saya menjadi yang terbaik;
4. guru-guru saya yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya sebagai manusia yang berilmu, bertakwa, dan bermanfaat;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Belajar memberi kita pengetahuan.

Pembelajaran memberi kita pengalaman. *)



*) Aristoteles dalam Suriasumantri, J. S. 2009. *Ilmu dalam Perspektif*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama: Rinda Yanuarisa

NIM: 122010101024

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* 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, 23 Desember 2015

Yang menyatakan,

Rinda Yanuarisa

122010101024

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN TEMPUYUNG
(*Sonchus arvensis L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Salmonella typhi*
SECARA *IN VITRO***

Oleh:

**Rinda Yanuarisa
122010101024**

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Ali Santosa, Sp. PD

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Rabu, 23 Desember 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Sugiyanta, M. Ked
NIP 197902072005011001

dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed
NIP 198212112008122002

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Dini Agustina, M. Biomed
NIP 1983080122008122003

dr. Ali Santosa, Sp. PD
NIP 195909041987011001

Mengesahkan
Dekan,

dr. Enny Suswati, M. Kes
NIP 19700214199902001

RINGKASAN

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *In Vitro*; Rinda Yanuarisa; 122010101024; 2015; 46 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Demam tifoid merupakan salah satu penyakit infeksi yang masih endemik di Indonesia. Demam tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Selama 10 tahun terakhir, *S. typhi* dengan *plasmid-encoded* resisten terhadap kloramfenikol, ampisilin, dan TMP-SMX. Banyaknya kejadian resistensi membuat banyak peneliti tertarik untuk meneliti obat tradisional, salah satunya adalah daun tempuyung. Secara umum daun tempuyung mengandung triterpenoid, flavonoid, inositol, manitol, dan kalium. Triterpenoid dan flavonoid adalah zat yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun tempuyung dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro* dan mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM).

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental semu (*Quasy Experimental Design*). Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan postes dengan kelompok kontrol (*Post Test Only Control Group Design*). Perlakuan terdiri dari 8 konsentrasi ekstrak daun tempuyung dengan 4 kali pengulangan yaitu 2,5 µg/disk, 5 µg/disk, 10 µg/disk, 20 µg/disk, 30 µg/disk, 40 µg/disk, 60 µg/disk, dan 80 µg/disk. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol 30 µg dan kontrol negatif menggunakan DMSO. Tiap masing-masing konsentrasi ekstrak ditetaskan ke disk sebanyak 10 µl dan disk ditaruh pada *Mueller Hinton Agar*. Setelah itu diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan jangka sorong.

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun tempuyung pada konsentrasi 10 µg/disk, 20 µg/disk, 30 µg/disk, 40 µg/disk, 60

$\mu\text{g/disk}$, dan 80 $\mu\text{g/disk}$ dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. KHM secara kualitatif sebesar 10 $\mu\text{g/disk}$. Hasil uji *Shapiro Wilk* (lampiran C) didapatkan nilai $p = 0,000$ dan nilai $\alpha = 0,05$. Nilai $p < \alpha$ ($p < 0,05$) menunjukkan data tidak terdistribusi secara normal. Kemudian data ditransformasi dan didapatkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa data tidak terdistribusi normal. Uji Korelasi *Spearman* didapatkan nilai koefisien korelasi sebesar 0,881 dan dapat disimpulkan bahwa hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung dengan diameter zona hambat sangat kuat. Hasil uji regresi logaritmik didapatkan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,522 yang berarti 52,2% pertumbuhan *S. typhi* ditentukan oleh besarnya konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung, sedangkan 47,8% sisanya disebabkan oleh faktor lain. Hasil uji regresi linier didapatkan nilai KHM secara kuantitatif sebesar 4,43 $\mu\text{g/disk}$.

Jadi, pada penelitian ini terbukti ekstrak etanol daun tempuyung memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Konsentrasi minimal ekstrak etanol daun tempuyung yang mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* adalah 10 $\mu\text{g/disk}$ secara kualitatif dan 4,43 $\mu\text{g/disk}$ secara kuantitatif.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *In Vitro*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Enny Suswati, M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Dini Agustina, M. Biomed, selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Ali Santosa, Sp. PD, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Sugiyanta, M. Ked dan dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi;
4. orang tuaku tercinta, Ibunda Yuli Candrawati dan Ayahanda Abdul Kalim yang selalu memberikan doa, bimbingan, dukungan, dan kasih sayang yang tak terhingga;
5. kakak-kakakku tersayang, Faozan, Yulfa Fitria, dan Triyani Oktarina yang selalu memberikan doa, semangat, dan motivasi agar aku menjadi yang terbaik;
6. guru-guruku tercinta, yang telah memberiku ilmu dan membimbingku dengan penuh kesabaran untuk menjadikanku manusia yang berilmu dan bertakwa;
7. teman seperjuangan penelitian Dina Aprilianti yang selalu sabar dan memberikan semangat dalam mengerjakan penelitian skripsi ini;

8. Izaza Azwa Ramadhana, yang selalu memberiku semangat dan motivasi dalam mencapai impianku;
9. sahabat-sahabatku Ulfa Rosida, Tri Wahyuni, Siti Sarah Hajar, Davina Amalia, Diastri Nur S. D., dan Dwi Citra N. U. yang selalu memberikan dukungan dan bantuan dalam penelitian skripsi ini;
10. teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Ibu Lilis Lestari, A. Md atas bantuan, dukungan, serta masukan selama penelitian;
11. teman-teman angkatan 2012 Panacea atas segala bantuan dan dukungannya;
12. 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 JUDUL | i |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | ii |
| HALAMAN MOTO | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iv |
| HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI | v |
| HALAMAN PENGESAHAN | vi |
| RINGKASAN | vii |
| PRAKATA | ix |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1 Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i>) | 5 |
| 2.1.1 Taksonomi Tanaman Tempuyung..... | 5 |
| 2.1.2 Morfologi | 6 |
| 2.1.3 Habitat..... | 7 |
| 2.1.4 Kandungan Kimia | 7 |
| 2.1.5 Aktivitas Farmakologi | 7 |

| | | |
|---------------|---|----|
| 2.2 | Bakteri <i>Salmonella typhi</i> | 8 |
| 2.2.1 | Morfologi | 8 |
| 2.2.2 | Kontaminasi dan Transmisi | 8 |
| 2.2.3 | Patogenesis | 9 |
| 2.2.4 | Gambaran Klinis Demam Tifoid | 10 |
| 2.2.5 | Penatalaksanaan | 10 |
| 2.3 | Kloramfenikol | 11 |
| 2.3.1 | Struktur Kimia | 11 |
| 2.3.2 | Farmakodinamik | 11 |
| 2.3.3 | Farmakokinetik | 12 |
| 2.3.4 | Penggunaan Klinik | 12 |
| 2.3.5 | Efek Samping | 13 |
| 2.3.6 | Sediaan | 13 |
| 2.4 | Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik | 13 |
| 2.4.1 | Difusi | 13 |
| 2.4.2 | Dilusi | 14 |
| 2.5 | Ekstraksi | 15 |
| 2.5.1 | Proses Pembuatan Ekstrak | 15 |
| 2.5.2 | Ekstraksi Metode Maserasi | 16 |
| 2.6 | Kerangka Konseptual | 17 |
| 2.7 | Hipotesis Penelitian | 18 |
| BAB 3. | METODE PENELITIAN | 19 |
| 3.1 | Jenis Penelitian | 19 |
| 3.2 | Rancangan Penelitian | 19 |
| 3.3 | Sampel Penelitian | 20 |
| 3.4 | Tempat dan Waktu Penelitian | 21 |
| 3.4.1 | Tempat Penelitian | 21 |
| 3.4.2 | Waktu Penelitian | 21 |
| 3.5 | Variabel Penelitian | 21 |

| | | |
|---------------|--|----|
| 3.5.1 | Variabel Bebas | 21 |
| 3.5.2 | Variabel Terikat | 22 |
| 3.5.3 | Variabel Terkendali..... | 22 |
| 3.6 | Definisi Operasional | 22 |
| 3.7 | Alat dan Bahan | 23 |
| 3.8 | Prosedur Penelitian | 23 |
| 3.8.1 | Pengumpulan Tanaman Tempuyung | 23 |
| 3.8.2 | Persiapan Alat dan Bahan | 23 |
| 3.8.3 | Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung | 24 |
| 3.8.4 | Pembuatan Larutan <i>McFarland</i> | 24 |
| 3.8.5 | Pembuatan Media..... | 24 |
| 3.8.6 | Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol | 24 |
| 3.8.7 | Pembuatan Suspensi Bakteri | 25 |
| 3.8.8 | Pembuatan Suspensi Antibakteri | 25 |
| 3.8.9 | Metode Difusi Cakram..... | 26 |
| 3.9 | Analisis Data | 26 |
| 3.10 | Alur Penelitian | 27 |
| 3.10.1 | Alur Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung | 27 |
| 3.10.2 | Alur Pengenceran Ekstrak Daun Tempuyung.... | 28 |
| 3.10.3 | Alur Uji Aktivitas Antibakteri | 29 |
| 3.10.4 | Alur Kontrol Positif dan Kontrol Negatif | 30 |
| BAB 4. | HASIL DAN PEMBAHASAN | 31 |
| 4.1 | Hasil | 31 |
| 4.1.1 | Hasil Ekstraksi | 31 |
| 4.1.2 | Hasil Pengamatan Aktivitas Antibakteri | 31 |
| 4.2 | Analisis Data | 34 |
| 4.3 | Pembahasan | 36 |
| BAB 5. | PENUTUP | 42 |
| 5.1 | Kesimpulan | 42 |

| | |
|--------------------------------|-----------|
| 5.2 Saran | 42 |
| DAFTAR PUSTAKA | 43 |
| LAMPIRAN-LAMPIRAN | 47 |



DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 4.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat | 33 |



DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 2.1 Tanaman tempuyung | 6 |
| Gambar 2.2 <i>Salmonella typhi</i> | 8 |
| Gambar 2.3 Struktur kimia kloramfenikol | 11 |
| Gambar 2.4 Kerangka konseptual | 17 |
| Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian | 20 |
| Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun tempuyung | 27 |
| Gambar 3.3 Skema pengenceran ekstrak daun tempuyung | 28 |
| Gambar 3.4 Skema uji aktivitas antibakteri | 29 |
| Gambar 3.5 Skema kontrol positif dan kontrol negatif | 30 |
| Gambar 4.1 Zona hambat ekstrak etanol daun tempuyung | 32 |
| Gambar 4.2 Zona hambat kontrol positif dan kontrol negatif | 32 |
| Gambar 4.3 Grafik persamaan garis regresi logaritmik | 36 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| A. Surat uji determinasi | 47 |
| B. Surat keterangan persetujuan etik | 48 |
| C. Hasil uji <i>Shapiro Wilk</i> | 50 |
| D. Hasil uji korealsi <i>Spearman</i> | 52 |
| E. Hasil uji regresi logaritmik | 53s |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang sedang berkembang. Sebagai negara yang sedang berkembang, Indonesia memiliki berbagai masalah kesehatan, terutama penyakit infeksi. Indonesia yang termasuk negara tropis ini mempunyai berbagai penyakit infeksi endemik, salah satu penyakit tersebut adalah demam tifoid (Widodo, 2009). Penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang penting di negara-negara berkembang (Ochiai *et al.*, 2008). Besarnya angka kejadian demam tifoid sulit ditentukan karena gambaran klinis demam ini rancu dengan infeksi demam lainnya (WHO, 2003a).

Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2003, terdapat 17 juta kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan angka kematian mencapai 600.000 kasus per tahun. Pada tahun 2000, diperkirakan bahwa lebih dari 2,16 juta episode tifoid terjadi di seluruh dunia dan terjadi 216.000 kematian. Lebih dari 90% dari morbiditas dan mortalitas ini terjadi di Asia. Di Indonesia, ada sekitar 900.000 kasus per tahun dengan angka kematian mencapai 20.000 kasus. Menurut laporan WHO, 91% kasus demam tifoid terjadi pada usia 3-19 tahun (WHO, 2003a). Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2007 menunjukkan bahwa persentase penduduk yang terjangkit demam tifoid dibandingkan dengan seluruh penduduk di Indonesia sebesar 1,6%. Insidensi demam tifoid bervariasi di setiap daerah dan biasanya terkait dengan sanitasi lingkungan. Di daerah rural seperti Jawa Barat ditemukan 157 kasus per 100.000 penduduk, sedangkan di daerah urban ditemukan 760-810 per 100.000 penduduk (Widodo, 2009).

Demam tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*, yang merupakan salah satu keluarga Enterobacteriaceae. Bakteri *S. typhi* berbentuk batang, gram negatif, tidak berspora, motil, berflagela, dan berkapsul. Bakteri penyebab demam

tifoid ini tumbuh dengan baik pada suhu optimal 37°C dan bersifat fakultatif anaerob. *S. typhi* mati pada pemanasan suhu 54,4°C selama satu jam dan 60°C selama 15 menit. Bakteri ini dapat memfermentasi glukosa dan manosa, tetapi tidak dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa. Penularan bakteri ini melalui kontak dengan makanan atau minuman yang terkontaminasi feces manusia yang mengandung bakteri *S. typhi*. Timbulnya penyakit setelah infeksi *S. typhi* bergantung pada jumlah organisme, virulensi *trait*, dan daya tahan tubuh pejamu (Garna, 2012).

Saat ini banyak bakteri yang resisten terhadap berbagai antibiotik, salah satunya adalah *S. typhi*. Selama 10 tahun terakhir, *S. typhi* dengan *plasmid-encoded* resisten terhadap kloramfenikol yang sebelumnya adalah *drug of choice* untuk demam tifoid. Resistensi ini terjadi di negara Indian *subcontinent*, Asia Tenggara, dan Afrika (Garna, 2012). Banyaknya kejadian resistensi terhadap antibiotik menyebabkan berkembangnya penelitian mengenai obat-obat tradisional dalam bidang kesehatan. Salah satu tanaman yang bermanfaat dalam bidang kesehatan adalah daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*). Sudah sejak lama masyarakat Indonesia menggunakan daun tempuyung untuk mengobati berbagai macam penyakit. Badan Pengawas Obat dan Makanan telah menetapkan tempuyung sebagai salah satu dari tiga belas spesies unggulan bahan asli obat Indonesia (Deptan, 2002). Tanaman tempuyung menempati urutan ketujuh sebagai tanaman obat potensial di Indonesia yang dijadikan bahan obat tradisional maupun obat modern (Siswanto *et al.*, 2004). Daun tempuyung memiliki banyak manfaat, antara lain sebagai diuretik, pereda batuk, dan penurun kadar kolesterol. Selain itu daun tempuyung juga dapat mengatasi berbagai penyakit, seperti batu ginjal dan batu empedu (Cendrianti *et al.*, 2013).

Secara umum daun tempuyung mengandung triterpenoid, flavonoid, inositol, manitol, dan kalium (Sulaksana *et al.*, 2004). Kadar flavonoid total daun tempuyung cukup tinggi, yaitu sekitar 0,8% (Rohaeti, 2011). Triterpenoid banyak ditemukan dalam famili Asteraceae. Senyawa triterpenoid dan turunannya dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Sukadana dan Santi, 2011). Penelitian tentang aktivitas antibakteri daun tempuyung

terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* juga pernah dilakukan oleh Rumondang *et al.*, (2013). Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun tempuyung dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Berdasarkan pemaparan di atas, peneliti tertarik untuk mengkaji lebih lanjut mengenai khasiat daun tempuyung. Peneliti akan mengkaji lebih dalam tentang efektivitas ekstrak etanol daun tempuyung sebagai antibakteri terhadap *S. typhi* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu sebagai berikut.

- 1) Apakah ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*?
- 2) Berapakah konsentrasi minimum ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang mampu menghambat pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk:

- 1) Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*;
- 2) Menentukan konsentrasi minimum ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang mampu menghambat pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*.

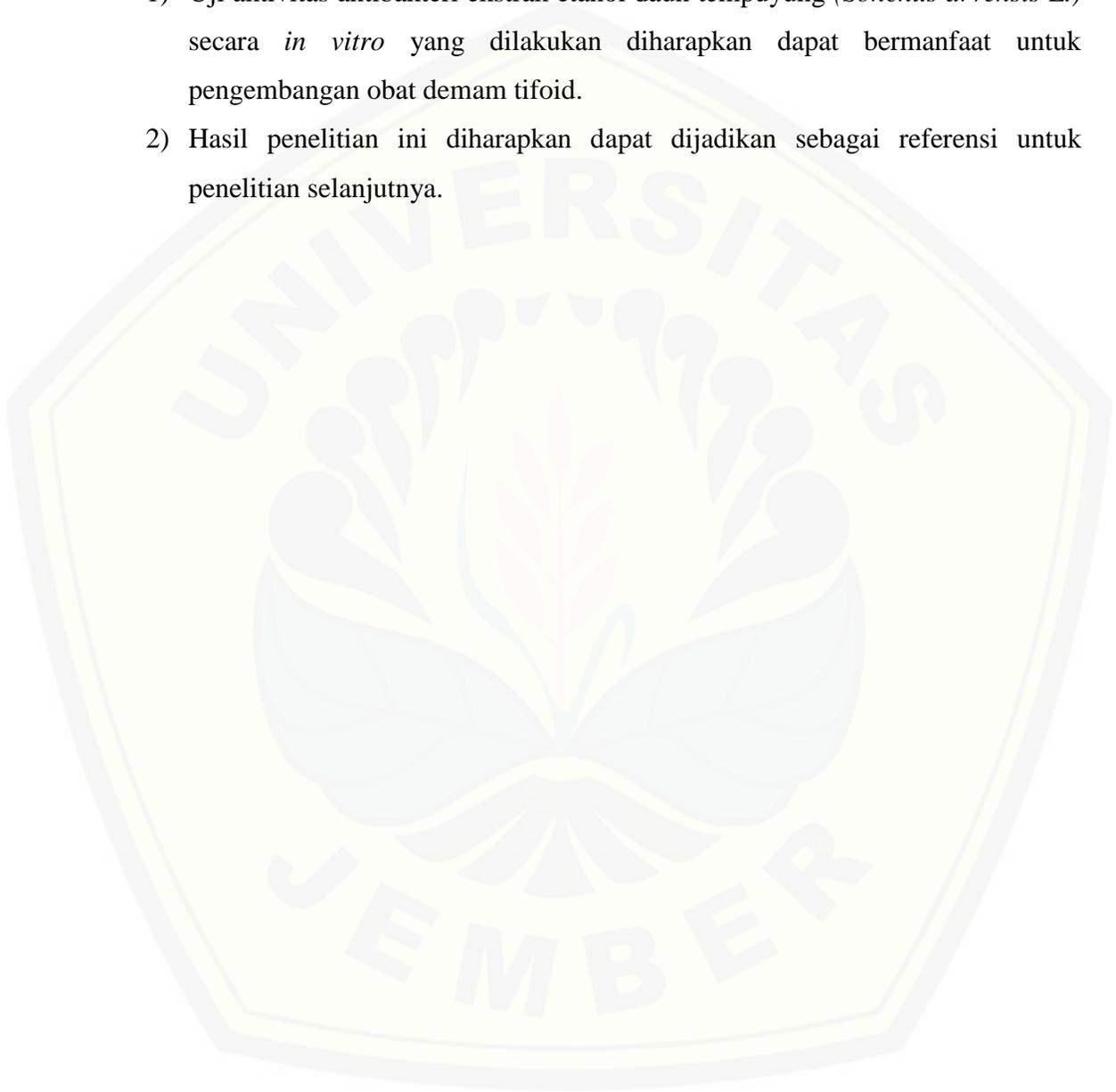
1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi ilmiah dalam pengembangan teori bidang kesehatan, yaitu tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap pertumbuhan *S. typhi* secara *in vitro*.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

- 1) Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) secara *in vitro* yang dilakukan diharapkan dapat bermanfaat untuk pengembangan obat demam tifoid.
- 2) Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tempuyung (*Sonchus arvensis*)

Tempuyung merupakan tanaman liar yang tumbuh di tempat terbuka yang terkena sinar matahari atau tempat yang sedikit terlindung (Afrizal, 2008). Tanaman yang tergolong mudah tumbuh ini dapat tumbuh liar di antara puing-puing bangunan, di tembok, atau di pinggir jalan. Selain tumbuh liar, tempuyung juga bisa ditanam sebagai tanaman pekarangan. Beberapa nama daerah tanaman ini adalah lobak air, lempung jombang, tempuyung, galibug, lampenas, dan rayana (Winarto, 2004).

Tempuyung termasuk tanaman yang perkembangbiakannya menyebar. Tumbuhan yang berasal dari Eurasia ini dapat ditemukan di daerah yang bercurah hujan tinggi. Tempuyung biasa ditemukan di daerah dengan ketinggian 50-1.650 m di atas permukaan laut (Afrizal, 2008).

2.1.1 Taksonomi Tanaman Tempuyung

| | |
|---------|---------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Ordo | : Monokotiledon |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Famili | : Asteraceae |
| Marga | : <i>Sonchus</i> |
| Jenis | : <i>Sonchus arvensis</i> |

2.1.2 Morfologi



Gambar 2.1 Tempuyung (*Sonchus arvensis*)(Storey, 2011)

Tanaman tempuyung merupakan tanaman terna tahunan yang tingginya dapat mencapai 65-150 cm. Tanaman yang bergetah putih ini mempunyai akar tunggang yang kuat dan berwarna putih kotor. Batang tanaman tempuyung berlubang, bergetah putih, percabangan monopodia, dan berwarna hijau keputih-putihan. Tampak pada Gambar 2.1 tanaman tempuyung memiliki helai daun berbentuk lonjong atau lanset, tepi rata, ujung runcing, dan pangkal bertoreh. Daunnya tunggal dan bagian bawah membentuk roset akar. Panjang daun tanaman tempuyung ini bisa mencapai 5-50 cm, lebar 5-10 cm, dan berwarna hijau (Winarto, 2004).

Bunga tempuyung berbentuk bongol yang tergabung dalam malai, bertangkai, mahkota berbentuk jarum, warnanya kuning cerah atau putih, dan akan berubah menjadi warna coklat sampai merah saat dewasa. Buah berbentuk kotak, berusuk lima dengan panjang 4 mm, berambut, dan berwarna coklat kekuningan. Biji tempuyung berukuran kecil sehingga memungkinkan tanaman berkembang biak dengan cara menyebar bijinya (Afrizal, 2008).

2.1.3 Habitat

Tempuyung merupakan tanaman yang mudah tumbuh. Tanaman ini dapat tumbuh liar di antara puing-puing bangunan atau di pinggir jalan. Tempuyung juga bisa hidup di tempat terbuka atau sedikit terlindung. Tempuyung juga cocok tumbuh di daerah dengan curah hujan merata sepanjang tahun atau daerah dengan musim kemarau pendek. Tanaman yang termasuk famili Asteraceae ini tumbuh baik di daerah yang berketinggian 50-1600 m dpl (Winarto, 2004).

2.1.4 Kandungan Kimia

Secara umum daun tempuyung mengandung triterpenoid, flavonoid, inositol, manitol, dan kalium (Sulaksana *et al.*, 2004). Menurut Tarsono (2006) tanaman tempuyung memiliki kandungan Alfa laktuserol, beta laktuserol, manitol, inositol, silika, kalium, flavonoid, dan taraksasterol. Sukadana dan Santi (2011) melaporkan tentang adanya triterpenoid dalam tempuyung. Triterpenoid banyak ditemukan dalam family *Asteraceae*. Triterpenoid yang banyak ditemukan dalam family *Asteraceae* diantaranya adalah α -*amyirin*, β -*amyirin*, dan lupeol (Hooper, 1982).

2.1.5 Aktivitas Farmakologi

Menurut Sukadana dan Santi (2011) tanaman tempuyung mengandung 7 komponen senyawa dalam ekstrak kental n-heksana, 2 komponen diantaranya teridentifikasi sebagai senyawa bis(2-etilheksil) ester dan golongan triterpenoid dengan rumus molekul $C_{32}H_{66}O_6$ yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri.

Pada penelitian Cendrianti *et al.* (2013), ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 70% daun tempuyung dapat menurunkan kadar asam urat mencit hiperurisemia. Senyawa yang terkandung dalam daun tempuyung yang diduga memiliki aktivitas antihiperurisemia adalah golongan senyawa flavonoid.

Sukadana dan Santi (2011) dan Hooper (1982) melaporkan tentang adanya triterpenoid dalam tempuyung. Triterpenoid banyak ditemukan dalam famili *Asteraceae*. Senyawa triterpenoid dan turunannya dilaporkan mempunyai aktivitas

sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. Coli* dan *S. aureus* (Sukadana dan Santi, 2011).

2.2 Bakteri *Salmonella typhi*

2.2.1 Morfologi dan Struktur Antigen



Gambar 2.2 Bakteri *Salmonella typhi* dilihat menggunakan mikroskop elektron (Kunkel, 2008)

Bakteri penyebab demam tifoid yaitu *S. typhi*, merupakan salah satu spesies genus *Salmonella*, keluarga Enterobacteriaceae. Tampak pada Gambar 2.2 *S. typhi* berbentuk batang. *S. typhi* mempunyai sifat gram negatif. Bakteri ini tidak membentuk spora dan berkapsul, tetapi mampu bergerak karena mempunyai flagela. *S. typhi* dapat memfermentasi glukosa dan manosa, tetapi tidak dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada suhu optimal 37°C dan bersifat fakultatif anaerob. *S. typhi* mati pada pemanasan suhu 54,4°C selama satu jam dan 60°C selama 15 menit (Garna, 2012).

2.2.2 Kontaminasi dan Transmisi

Manusia adalah satu-satunya host alami dan reservoir *S. typhi*. Infeksi ditularkan melalui makanan atau air yang terkontaminasi dengan feses yang mengandung bakteri (WHO, 2003a). Dijumpai pula kejadian luar biasa *water-borne*

akibat sanitasi buruk dan penyebaran langsung fekal-oral karena higiene perorangan yang buruk, terutama di negara yang sedang berkembang (Garna, 2012). Data epidemiologi menunjukkan bahwa penularan *S. typhi* melalui air biasanya melibatkan inokulum kecil, sedangkan transmisi melalui makanan dikaitkan dengan inokulum yang besar dan tingkat serangan yang tinggi selama periode singkat (WHO, 2003).

2.2.3 Patogenesis

Masuknya kuman *S. typhi* ke dalam tubuh manusia terjadi melalui makanan yang terkontaminasi kuman. Sebagian kuman dimusnahkan dalam lambung, sebagian lolos masuk ke dalam usus dan selanjutnya berkembang biak. Bila respon imunitas humoral mukosa (IgA) usus kurang baik maka kuman akan menembus sel-sel epitel (terutama sel-M) dan selanjutnya ke lamina propia. Di lamina propia kuman berkembang biak dan difagosit oleh sel-sel fagosit terutama oleh makrofag. Kuman dapat hidup dan berkembang biak di dalam makrofag dan selanjutnya dibawa ke plak payeri ileum distal dan kemudian ke kelenjar getah bening mesenterika. Selanjutnya melalui duktus torasikus kuman yang terdapat di dalam makrofag ini masuk ke dalam sirkulasi darah (mengakibatkan bakteremia pertama yang asimtomatis) dan menyebar ke seluruh organ retikuloendotelial tubuh terutama di hati dan limpa. Di organ-organ ini kuman meninggalkan sel-sel fagosit dan kemudian berkembang ke sirkulasi darah lagi mengakibatkan bakteremia sekunder disertai tanda-tanda dan gejala penyakit infeksi sistemik (Widodo, 2009).

Di dalam hati, kuman masuk ke dalam kandung empedu, berkembang biak, dan bersama cairan empedu diekskresikan secara intermitten ke dalam lumen usus. Sebagian kuman dikeluarkan melalui feses dan sebagian masuk lagi ke dalam sirkulasi setelah menembus usus. Proses yang sama terulang kembali, berhubung makrofag telah teraktivasi dan hiperaktif maka saat fagositosis kuman *Salmonella* terjadi pelepasan beberapa mediator inflamasi yang selanjutnya akan menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik seperti demam, malaise, mialgia, sakit kepala, sakit perut, instabilitas vaskular, gangguan mental, dan koagulasi (Widodo, 2009).

2.2.4 Gambaran Klinis Demam Tifoid

Masa tunas demam tifoid berlangsung antara 10-14 hari. Pada minggu pertama gejala klinis penyakit ini serupa pada penyakit infeksi akut pada umumnya yaitu demam, nyeri kepala, pusing, nyeri otot, anoreksia, mual, muntah, obstipasi atau diare, perasaan tidak enak di perut, batuk, dan epistaksis. Pada pemeriksaan fisik hanya didapatkan suhu badan meningkat. Sifat demam adalah meningkat perlahan-lahan dan terutama pada sore dan malam hari. Minggu kedua gejala-gejala menjadi lebih jelas berupa demam, bradikardi relatif, lidah yang berselaput (kotor di tengah, tepi dan ujung merah serta tremor), hepatomegali, splenomegali, meteroismus, gangguan mental berupa somnolen, stupor, koma, delirium, atau psikosis (Widodo, 2009).

2.2.5 Penatalaksanaan Demam Tifoid

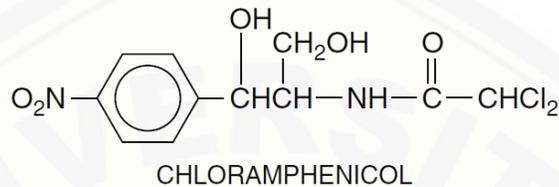
Penatalaksanaan demam tifoid yaitu dengan istirahat dan perawatan, diet dan terapi penunjang, serta pemberian antimikroba. Istirahat dan perawatan bertujuan untuk mencegah komplikasi. Diet merupakan hal yang cukup penting dalam proses penyembuhan penyakit demam tifoid, karena makanan yang kurang akan menurunkan keadaan umum dan gizi penderita akan semakin turun dan proses penyembuhan akan menjadi lama (Widodo, 2009).

Infeksi *S. typhi* biasanya diterapi minimum 2 minggu memakai kloramfenikol, seftriakson, sefotaksim, atau TMP-SMX. Persoalan penting yaitu *multiple-drug resistant*. Selama 10 tahun terakhir, *S. typhi* dengan *plasmid-encoded* resisten terhadap kloramfenikol, ampisilin, dan TMP-SMX pada beberapa kejadian luar biasa di negara Indian *subcontinent*, Asia Tenggara, dan Afrika. Pada penderita dewasa, pemberian antibiotik telah diganti oleh siprofloksasin sebagai obat terpilih. Penderita dewasa diobati siprofloksasin (500 mg 2x/hari) selama 10 hari. Seftriakson 50-70 mg/kgBB sehari 1x selama 5 hari efektif pada anak yang resisten obat (Garna, 2012).

2.3 Kloramfenikol

2.3.1 Struktur Kimia

Kloramfenikol merupakan kristal putih yang sukar larut dalam air dan rasanya sangat pahit. Rumus molekul kloramfenikol ialah sebagai berikut (Gambar 2.2).



Gambar 2.3 Struktur kloramfenikol (Chambers, 2005)

2.3.2 Farmakodinamik

Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein kuman. Obat ini terikat pada ribosom subunit 50S dan menghambat enzim peptidil transferase sehingga ikatan peptida tidak terbentuk pada proses sintesis kuman. Kloramfenikol umumnya bersifat bakteriostatik. Pada konsentrasi tinggi kloramfenikol kadang-kadang bersifat bakterisid terhadap kuman-kuman tertentu (Setiabudy, 2012).

Mekanisme resistensi terhadap kloramfenikol terjadi melalui inaktivasi obat oleh asetil transferase yang diperantarai oleh faktor-R. Resistensi terhadap *P. aeruginosa*, *Proteus*, dan *Klebsiella* terjadi karena perubahan permeabilitas membran yang mengurangi masuknya obat ke dalam sel bakteri (Setiabudy, 2012).

Beberapa strain *D. pneumoniae*, *H. influenzae*, dan *N. Meningitidis* bersifat resisten, *S. aureus* umumnya sensitif, sedang Enterobacteriaceae banyak yang telah resisten. Obat ini juga efektif terhadap kebanyakan strain *E. coli*, *K. pneumoniae* dan *P. mirabilis*, kebanyakan strain *Serratia*, *Providencia*, dan *Proteus rettgerii* resisten, juga kebanyakan strain *P. aeruginosa* dan strain tertentu *S. typhi* (Setiabudy, 2012).

2.3.3 Farmakokinetik

Setelah pemberian oral, kloramfenikol diserap dengan cepat. Kadar puncak dalam darah tercapai dalam 2 jam. Untuk pemberian secara parenteral digunakan kloramfenikol suksinat yang akan dihidrolisis dalam jaringan dan membebaskan kloramfenikol (Setiabudy, 2012).

Masa paruh eliminasinya pada orang dewasa kurang lebih 3 jam. Kira-kira 50% kloramfenikol dalam darah terikat dengan albumin. Obat ini didistribusikan secara baik ke berbagai jaringan tubuh, termasuk jaringan otak, cairan serebrospinal, dan mata (Setiabudy, 2012).

Di dalam hati kloramfenikol mengalami konjugasi dengan asam glukuronat oleh enzim glukoronil transferase. Sebagian kecil kloramfenikol mengalami reduksi menjadi senyawa aril-amin yang tidak aktif lagi. Bentuk aktif kloramfenikol diekskresi terutama melalui filtrat glomerulus sedangkan metabolitnya dengan sekresi tubulus. Dalam waktu 24 jam, 80-90% kloramfenikol yang diberikan oral telah diekskresi melalui ginjal (Setiabudy, 2012).

2.3.4 Penggunaan Klinik

Kloramfenikol sebaiknya digunakan untuk mengobati demam tifoid dan meningitis oleh *H. Influenzae*. Infeksi lain sebaiknya tidak diobati dengan kloramfenikol bila masih ada antimikroba lain yang lebih aman dan efektif. Kloramfenikol tidak lagi menjadi pilihan utama untuk mengobati penyakit demam tifoid karena telah tersedia obat-obat yang lebih aman seperti siprofloksasin dan seftriakson. Walaupun demikian, pemakaian sebagai lini pertama masih dapat dibenarkan bila resistensi belum merupakan masalah (Setiabudy, 2012).

Kloramfenikol dikontraindikasikan untuk neonatus, pasien dengan gangguan faal hati, dan pasien yang hipersensitif terhadapnya. Bila terpaksa diberikan untuk neonatus, dosisnya jangan melebihi 25mg/kgBB sehari (Setiabudy, 2012).

2.3.5 Efek Samping

Kloramfenikol memiliki efek samping pada saluran cerna dan menyebabkan kelainan darah. Efek samping pada saluran cerna bermanifestasi dalam bentuk mual, muntah, glositis, diare, dan enterokolitis. Kelainan darah yang disebabkan kloramfenikol adalah anemia, retikulositopenia, peningkatan *serum iron* dan *iron binding capacity* serta vakuolisasi seri eritrosit bentuk muda (Setiabudy, 2012).

2.3.6 Sediaan

Kloramfenikol tersedia dalam bentuk sediaan kapsul 250 mg dan 500 mg. Selain sediaan kapsul, juga terdapat sediaan salep mata 1%, obat tetes mata 0,5%, salep kulit 2%, dan obat tetes telinga 1-5% (Setiabudy, 2012).

2.4 Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik

Uji sensitifitas terhadap antibiotik berfungsi untuk mengukur kemampuan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Ada dua macam metode untuk uji sensitivitas, yaitu metode difusi dan metode dilusi (WHO, 2003b).

2.4.1 Difusi

Media difusi menggunakan kertas disk yang berisi antibiotik dan telah diketahui konsentrasinya. Pada metode difusi, media yang dipakai adalah *Mueller Hinton Agar*. Ada beberapa cara pada metode difusi, yaitu:

a. Cara Kirby Baurer

Cara Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji sensitivitas bakteri yang dilakukan dengan membuat suspensi bakteri pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) cair dari koloni pertumbuhan kuman 24 jam. Selanjutnya disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair (diinkubasi 4-8 jam pada suhu 37°C). Hasil inkubasi bakteri diencerkan sampai sesuai dengan standar konsentrasi kuman 10^8 CFU/ml. Suspensi bakteri diuji sensitivitas dengan meratakan suspensi bakteri tersebut pada permukaan media agar.

Disk antibiotik diletakkan di atas media tersebut dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam. Kemudian dibaca hasilnya (Jawetz *et al.*, 2001).

Zona radikal merupakan suatu daerah disekitar disk yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibiotik diukur dengan mengukur diameter zona radikal. Sedangkan zona iradikal adalah suatu daerah disekitar disk yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik tersebut, tapi tidak dimatikan. Di zona iradikal ini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang dibanding dengan daerah di luar pengaruh antibiotik tersebut (Jawetz *et al.*, 2001).

b. Cara Sumuran

Suspensi bakteri 10⁸CFU/ml diratakan pada media agar, kemudian agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Larutan antibiotik yang digunakan diteteskan ke dalam sumuran. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian dibaca hasilnya sama seperti cara Kirby-Bauer (Jawetz *et al.*, 2001).

c. Cara *Pour Plate*

Setelah dibuat suspensi kuman dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar 10⁸CFU/ml, kemudian diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml *agar base* 1,5% dengan temperature 50°C. Suspensi kuman tersebut dibuat homogen dan dituang pada media aga *Mueller Hinton*. Setelah beku, dipasang disk antibiotik (diinkubasi 15-20 jam pada suhu 37°C) dibaca dan disesuaikan dengan standar masing-masing antibiotik (Jawetz *et al.*, 2001).

2.4.2 Dilusi

Metode dilusi digunakan untuk menilai aktivitas antimikroba secara kuantitatif (WHO, 2003b). Metode dilusi menggunakan substansi antimikroba dalam kadar bertingkat dan dicampur ke dalam medium bakteriologis solid atau cair. Biasanya digunakan substansi antimikroba dengan pengenceran dua kali lipat.

Medium kemudian diinokulasi dengan bakteri penguji dan diinkubasi (Jawetz *et al.*, 2013).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Proses Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak melalui tahap-tahap sebagai berikut:

a. Pembasahan

Pembasahan serbuk dimaksudkan untuk memberikan kesempatan kepada cairan pelarut untuk memasuki pori-pori dalam simplisia sehingga mempermudah pelarutan selanjutnya (Depkes RI, 2000).

b. Pelarut

Cairan pelarut yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Pelarut tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lainnya. Faktor utama yang menjadi pertimbangan dalam pemilihan cairan penyari adalah selektifitas, ekonomis, kemudahan bekerja, ramah lingkungan, dan aman. Pelarut yang diperbolehkan adalah air, alkohol (etanol), atau campuran air dan alkohol (Depkes RI, 2000).

c. Pemisahan dan Pemurnian

Tujuannya adalah untuk memisahkan senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Proses-proses pada tahap ini adalah pengendapan, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi, serta proses absorpsi dan penukar ion (Depkes RI, 2000).

d. Penguapan

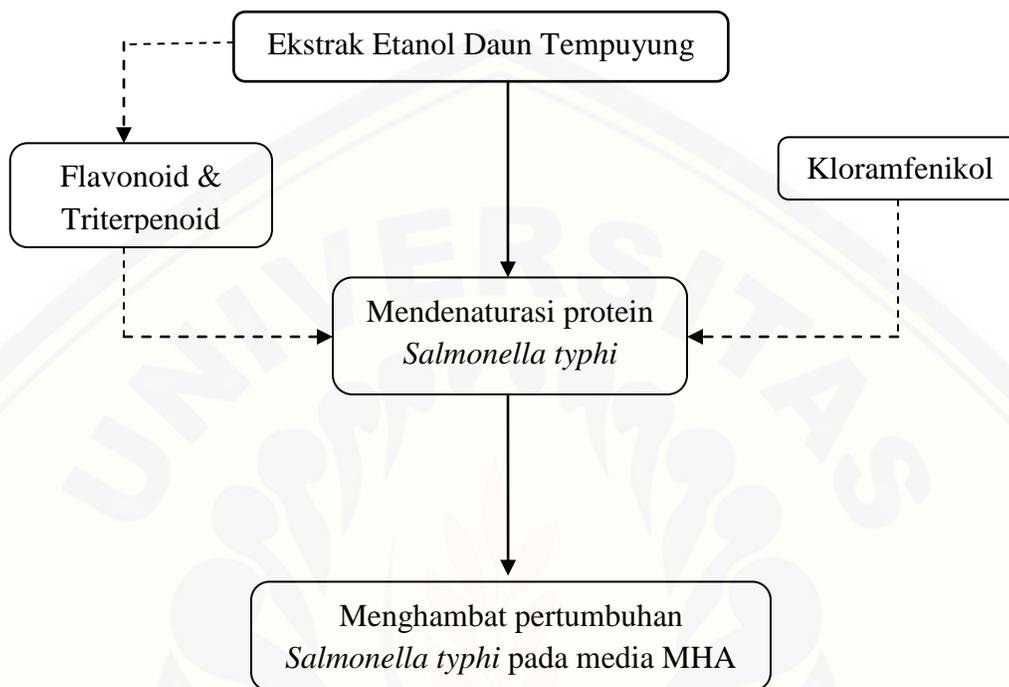
Penguapan berarti peningkatan jumlah partikel solut (senyawa terlarut) dengan cara penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kering tetapi ekstrak hanya menjadi kental atau pekat (Depkes RI, 2000).

2.5.2 Ekstraksi Metode Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Maserasi bertujuan menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (Depkes RI, 2000).

Maserasi berasal dari bahasa latin *Macerace* yang berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Simplisia disatukan dengan bahan ekstraksi kemudian disimpan di tempat yang terlindungi dari cahaya langsung. Hal ini bertujuan untuk mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna. Waktu maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak yang terbentuk pada saat penghalusan. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan ekstraksi, akan semakin baik hasil yang diperoleh (Voigt, 1994).

2.6 Kerangka Konseptual



Gambar 2.4 Kerangka konseptual

Keterangan Gambar

———— : tidak diteliti

- - - - - : diteliti

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun tempuyung sebagai antibakteri. Daun tempuyung mengandung flavonoid dan triterpenoid yang dapat mendenaturasi aktivitas protein pada *Salmonella typhi* sehingga dapat menghambat pertumbuhannya di media MHA. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein *Salmonella typhi* sehingga pertumbuhan *Salmonella typhi* terhambat.

2.7 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

- 1) Ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) memiliki aktivitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara *in vitro*.
- 2) Konsentrasi minimum ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro* adalah konsentrasi 5 µg/disk – 10 µg/disk.

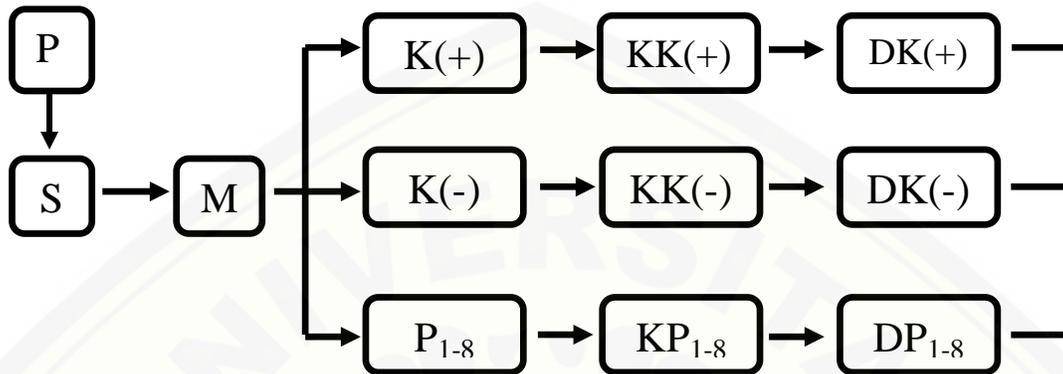
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental semu (*Quasy Experimental Design*). Penelitian ini tidak dilakukan randomisasi pada saat pengelompokan kelompok eksperimen dan kelompok kontrol karena semua sampel telah homogen. Kontrol terhadap variabel-variabel yang berpengaruh terhadap eksperimen juga tidak dilakukan (Notoatmodjo, 2002).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan postes dengan kelompok kontrol (*Post Test Only Control Group Design*). Rancangan ini mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2002). Perlakuan pada penelitian ini yaitu dengan pemberian ekstrak daun tempuyung dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar skema berikut:



- P : Populasi biakan *Salmonella typhi*
 S : Sampel biakan *Salmonella typhi*
 M : Media *Mueller Hinton Agar*
 K (+) : Kelompok kontrol positif
 K (-) : Kelompok kontrol negatif
 P₁₋₈ : Kelompok perlakuan 1-8
 KK (+) : Perlakuan berupa kontak dengan antibiotik kloramfenikol
 KK (-) : Tanpa perlakuan
 KP₁₋₈ : Perlakuan berupa kontak dengan ekstrak etanol daun tempuyung konsentrasi 80 µg/disk, 60 µg/disk, 40 µg/disk, 30 µg/disk, 20 µg/disk, 10 µg/disk, 5 µg/disk, dan 2,5 µg/disk.
 DK(+) : Data perlakuan dengan kontrol positif
 DK(-) : Data perlakuan dengan kontrol negatif
 DP₁₋₈ : Data perlakuan dengan ekstrak etanol daun tempuyung konsentrasi 80 µg/disk, 60 µg/disk, 40 µg/disk, 30 µg/disk, 20 µg/disk, 10 µg/disk, 5 µg/disk, dan 2,5 µg/disk.

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah koloni bakteri *Salmonella typhi* dari *stock culture* milik Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang disesuaikan dengan standar 0,5 *McFarland* (10^8 CFU/ml) (WHO, 2003c).

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 dilakukan harus lebih dari 3 kali. Pada penelitian ini pengulangan yang akan dilakukan sebanyak 4 kali.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

3.4.1 Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol daun tempuyung dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Tempat uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2015.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*). Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung

(*Sonchus arvensis L.*) yang digunakan adalah 80 µg/disk, 60 µg/disk, 40 µg/disk, 30 µg/disk, 20 µg/disk, 10 µg/disk, 5 µg/disk, dan 2,5 µg/disk.

3.5.2 Variabel Terikat

Diameter zona hambat ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

3.5.3 Variabel Terkendali

- Pembuatan biakan bakteri, pembuatan ekstrak etanol daun tempuyung, media *Mueller Hinton Agar*, autoklaf, inkubator, suspensi obat, dan aquades steril.
- Suhu inkubasi bakteri 37⁰C dan lama inkubasi 18 jam
- Metode pengamatan pada uji KHM
- Prosedur penelitian.

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Bakteri *Salmonella typhi*

Bakteri *Salmonella typhi* adalah suatu bakteri gram negatif yang berbentuk batang, tidak berspora, motil, berflagela, dan berkapsul. *S. typhi* diperoleh dari *stock* kultur di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

3.6.2 Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung

Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung adalah ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 80 µg/disk, 60 µg/disk, 40 µg/disk, 30 µg/disk, 20 µg/disk, 10 µg/disk, 5 µg/disk, dan 2,5 µg/disk yang diperoleh dari pengenceran bertingkat.

3.6.3 Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat adalah zona bening yang mengindikasikan penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri uji yang terbentuk di bawah dan sekitar

disk. Diameter zona hambat diukur dengan menjumlahkan diameter disk dengan zona bening penghambatan dan diukur dengan menggunakan jangka sorong (WHO, 2003b).

3.6.4 Uji Sensitivitas Antibakteri

Uji sensitivitas antibakteri adalah uji mengukur kemampuan suatu antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro* (WHO, 2003b).

3.7 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sterilisator, *beker glass*, vial, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vortex, autoklaf, cawan petri, timbangan, ose bulat, lampu bunsen, inkubator, mikropipet, tabung erlenmeyer, jangka sorong, evaporator.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA), aquades steril, suspensi *Salmonella typhi*, etanol 96%, daun tempuyung, spirtus, pelarut DMSO, dan disk kosong.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pengumpulan Tanaman Tempuyung

Tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) diperoleh dari UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI Jawa Timur yang telah dilakukan uji determinasi.

3.8.2 Persiapan Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan dipakai dalam penelitian ini disterilkan dalam sterilisator panas kering selama 15 menit pada suhu 115°C terlebih dahulu. Kemudian bahan media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C (Suswati dan Mufida, 2009).

Sampel penelitian berupa daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan diblender menjadi serbuk (Rumondang *et al.*, 2013).

3.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Daun Tempuyung

Sebanyak 250 gram serbuk daun tempuyung diekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi. Selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanol daun tempuyung (Cendrianti *et al.*, 2013).

3.8.4 Pembuatan Larutan *McFarland*

Standar *McFarland* dibuat dengan cara mencampur 9,95 ml asam sulfur (H_2SO_4) 1% dengan 0,05 ml barium klorida ($BaCl_2$) 1%. Kemudian tabung disegel dan digunakan untuk perbandingan suspensi bakteri dengan standar larutan baku *McFarland* (Saeed dan Tariq, 2005).

3.8.5 Pembuatan Media

Agar *Mueller Hinton* ditimbang sebanyak 3,4 gram dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Selanjutnya tambahkan aquades 100 ml ke dalam tabung, dicampur, dan diaduk merata kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut. Kemudian larutan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit. Selanjutnya 20 ml larutan dalam tabung erlenmeyer dituang pada cawan petri steril dengan diameter yang sama, kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu $37^\circ C$ (Suswati dan Mufida, 2009).

3.8.6 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung

Daun tempuyung sebanyak 4 kg dicuci bersih lalu dikeringkan dengan diangin-anginkan. Daun yang sudah kering diblender sampai halus dan ditimbang sebanyak 250 gram serbuk daun tempuyung. Setelah itu serbuk daun tempuyung

diekstraksi dengan metode maserasi selama 72 jam. Maserat diuapkan dengan *rotary evaporator* menjadi ekstrak kental (Cendrianti *et al.*, 2013).

Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung 80 µg/disk didapatkan dengan cara mencampur 8 mg ekstrak etanol daun tempuyung ditambah 1 ml DMSO, kemudian divortex selama 60 detik. Hasil pengenceran ini didapatkan konsentrasi ekstrak etanol sebesar 8 mg/ml. Konsentrasi ekstrak etanol 8 mg/ml ditetaskan sebanyak 10 µl pada disk, sehingga konsentrasi ekstrak yang didapatkan sebesar 80 µg/disk. Konsentrasi 6 mg/ml, 4 mg/ml, 3 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, dan 0,25 mg/ml didapat dengan pengenceran bertingkat sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak dalam disk sebesar 60 µg/disk, 40 µg/disk, 30 µg/disk, 20 µg/disk, 10 µg/disk, 5 µg/disk, dan 2,5 µg/disk.

3.8.7 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dimulai dengan cara menuangkan aquades sebanyak 10 ml ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya mengambil bakteri menggunakan ose pada biakan *Salmonella typhi* kemudian dicelupkan pada aquades tersebut. Vortex larutan suspensi tersebut dan sesuaikan dengan kekeruhan 0,5 *McFarland*. Setelah suspensi bakteri sesuai dengan standar *McFarland*, celupkan lidi kapas steril ke dalam suspensi bakteri. Peras lidi kapas yang telah basah pada dinding tabung. Oleskan lidi kapas tersebut pada seluruh permukaan media, ulangi prosedur ini sambil memutar cawan 60°. Terakhir, oleskan secara melingkar pada seluruh tepi permukaan media (WHO, 2003c).

3.8.8 Pembuatan Suspensi Antibakteri

Kloramfenikol ditimbang sebanyak 300 mg, kemudian ditambah dengan 10 ml aquadest steril dan divortex sehingga didapatkan konsentrasi 30 mg/ml. Pengenceran selanjutnya dilakukan dengan cara mengambil 1 ml larutan kloramfenikol konsentrasi 30 mg/ml ditambah 9 ml aquades lalu divortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 3 mg/ml. Konsentrasi kloramfenikol 3 mg/ml

kemudian diteteskan pada disk sebanyak 10 µl sehingga didapatkan konsentrasi kloramfenikol 30 µg/disk (WHO, 2003b).

3.8.9 Metode Difusi Cakram

Disk (kertas cakram) yang berdiameter 0,6 cm ditetesi 10 µl ekstrak yang telah dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi. Kemudian disk tersebut diletakkan diatas media agar yang sudah diinokulasikan bakteri dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37⁰C (WHO, 2003c).

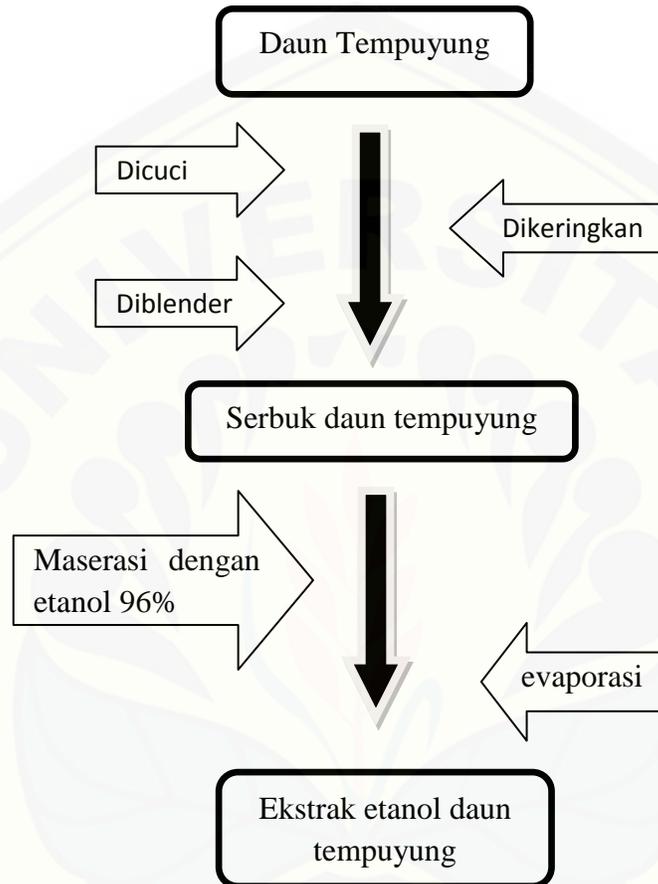
Setelah 18 jam akan terbentuk zona bening disekitar disk yang menunjukkan kemampuan dari senyawa uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri. KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) diukur berdasarkan terbentuknya zona bening pada konsentrasi terkecil ekstrak sampel yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Rumondang *et al.*, 2013).

3.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara komputerisasi dengan menggunakan *software* SPSS 20 (*Statistical Package for the Social Sciences 20*). Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan dan 4 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan dilanjutkan uji korelasi. Untuk mengetahui pengaruh antara variabel bebas dan variabel terikat, serta untuk menentukan KHM dapat dilakukan uji regresi logaritmik (Priyatno, 2012).

3.10 Alur Penelitian

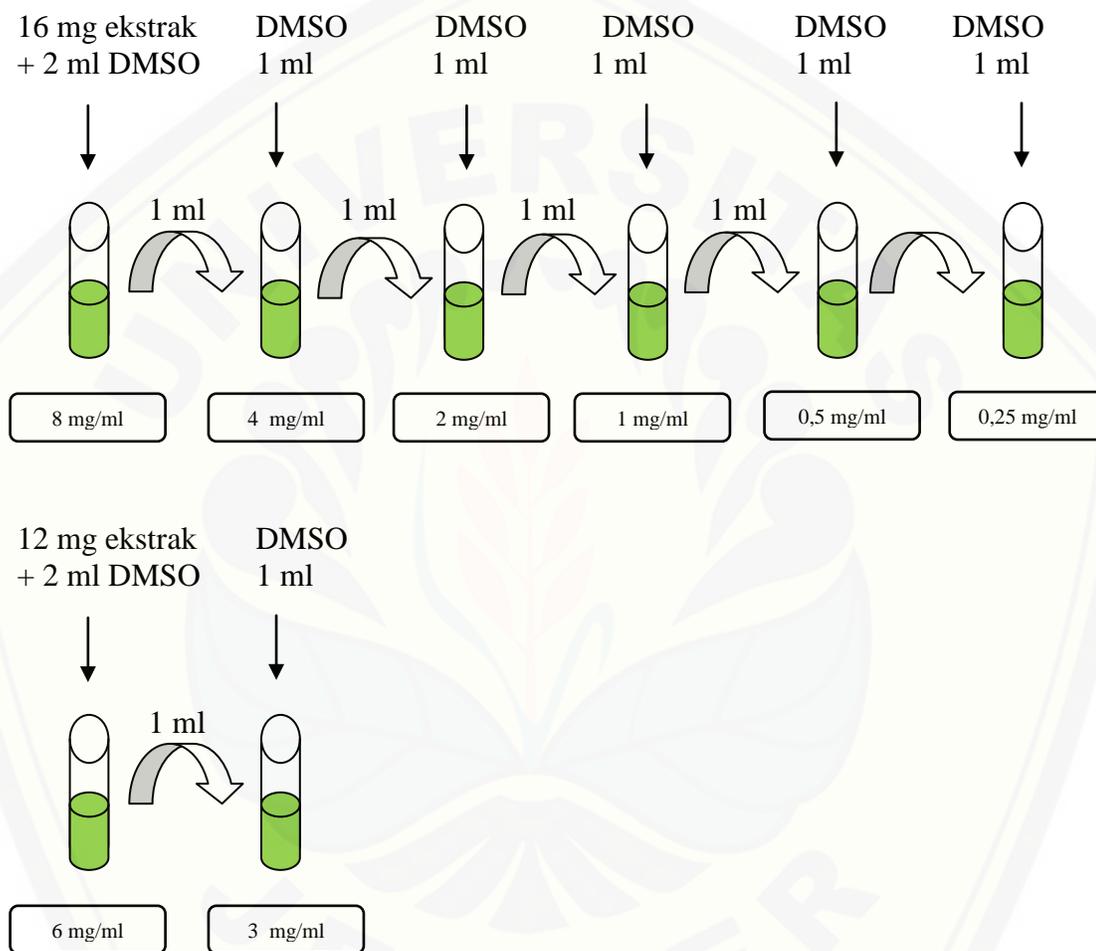
3.10.1 Alur Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun tempuyung

3.10.2 Alur Pengenceran Ekstrak Daun Tempuyung

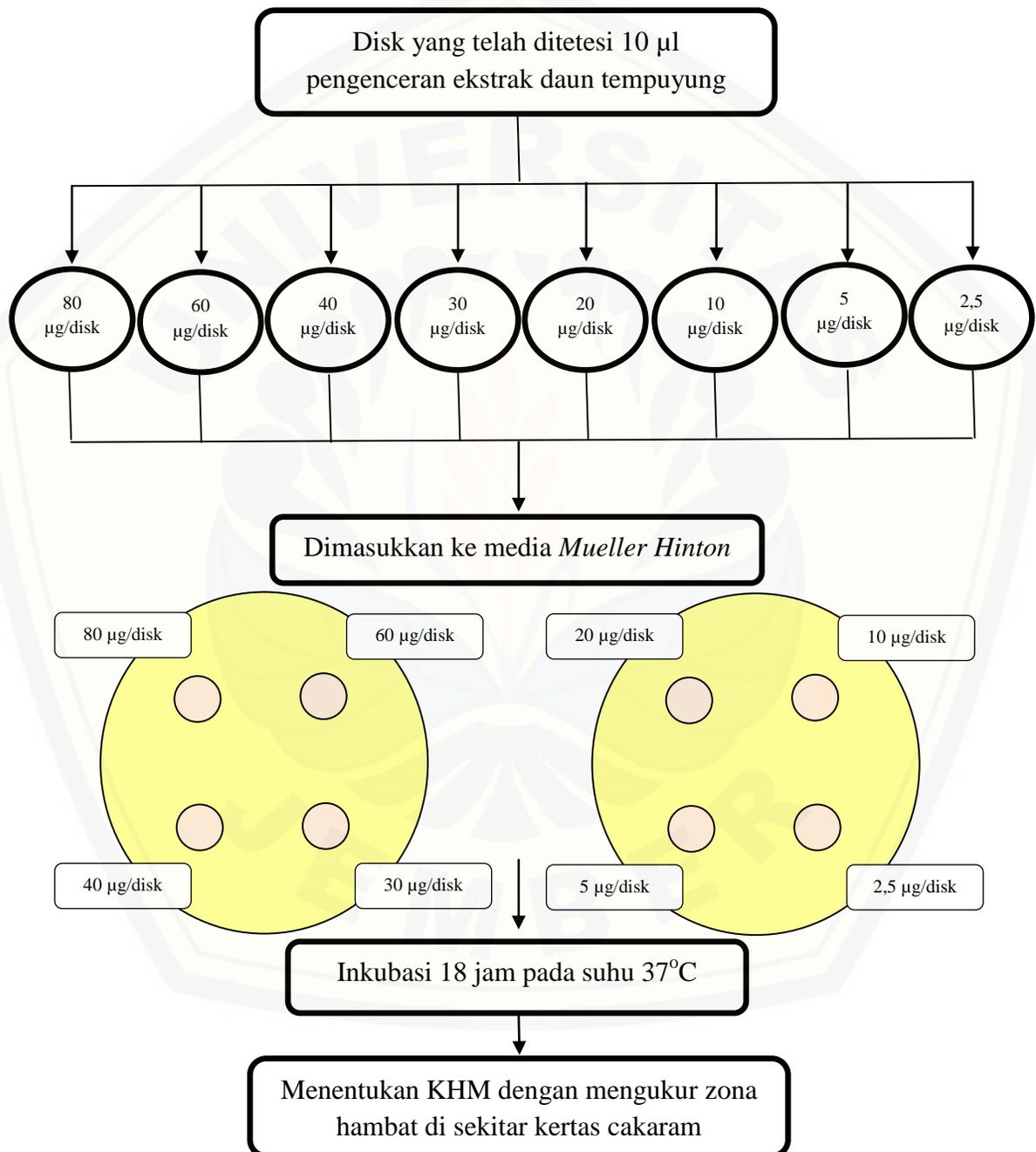
Pengenceran ekstrak daun tempuyung dilakukan secara bertingkat. Alur pengenceran digambarkan dalam skema berikut:



Gambar 3.3 Skema pengenceran ekstrak daun tempuyung

3.10.3 Alur Uji Aktivitas Antibakteri

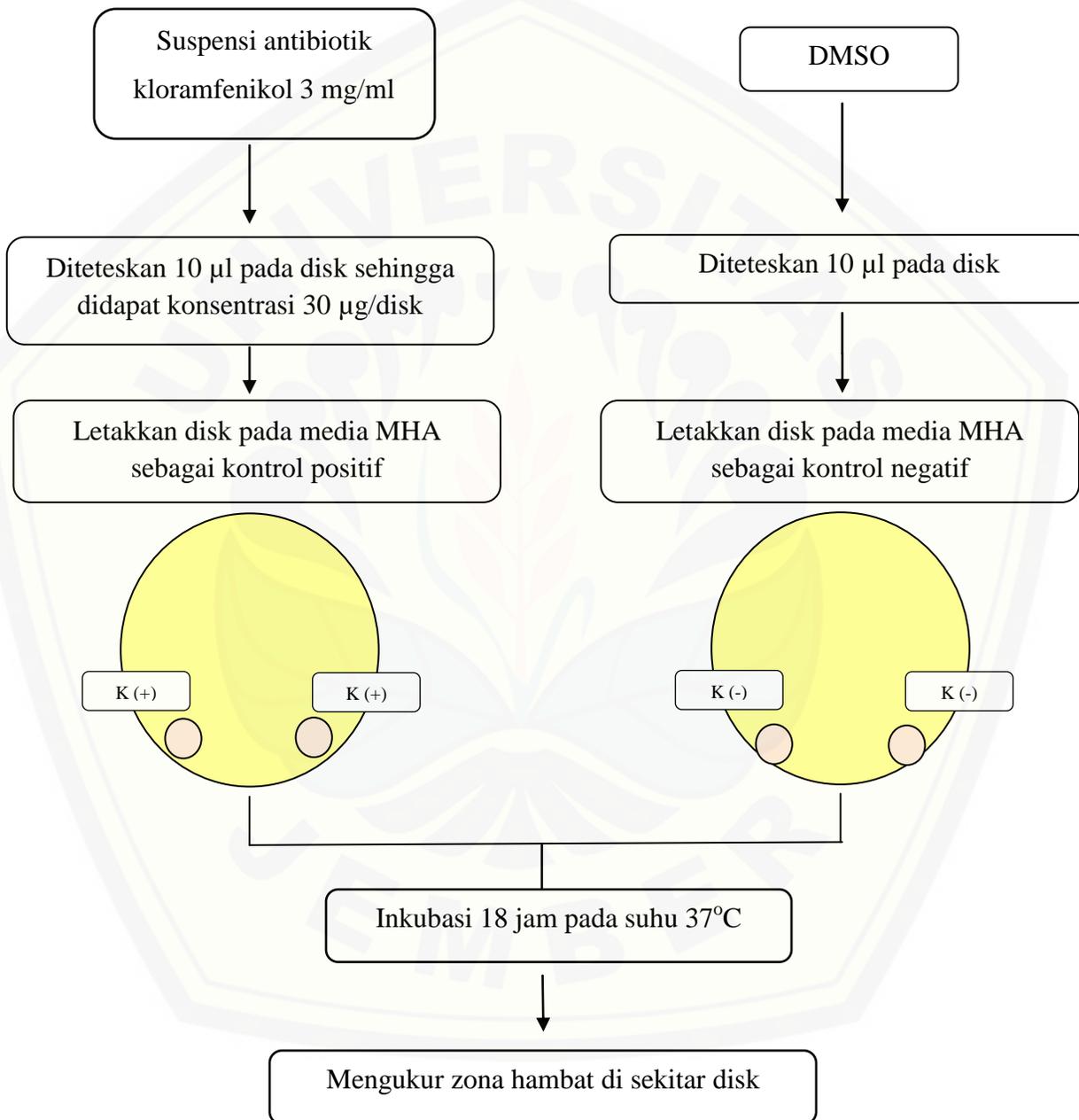
Alur pengujian aktivitas antibakteri ekstrak yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.4 Skema uji aktivitas antibakteri

3.10.4 Alur Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Alur pengujian kontrol positif dan kontrol negatif dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.5 Skema kontrol positif dan kontrol negatif