



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PERASAN JERUK NIPIS  
(*Citrus aurantifolia*, Swingle) TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Shigella dysenteriae* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh

**Dyna Ayu Mukhitasari  
NIM 082010101067**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PERASAN JERUK NIPIS  
(*Citrus aurantifolia*, Swingle) TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Shigella dysenteriae* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Dyna Ayu Mukhitasari  
NIM 082010101067**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

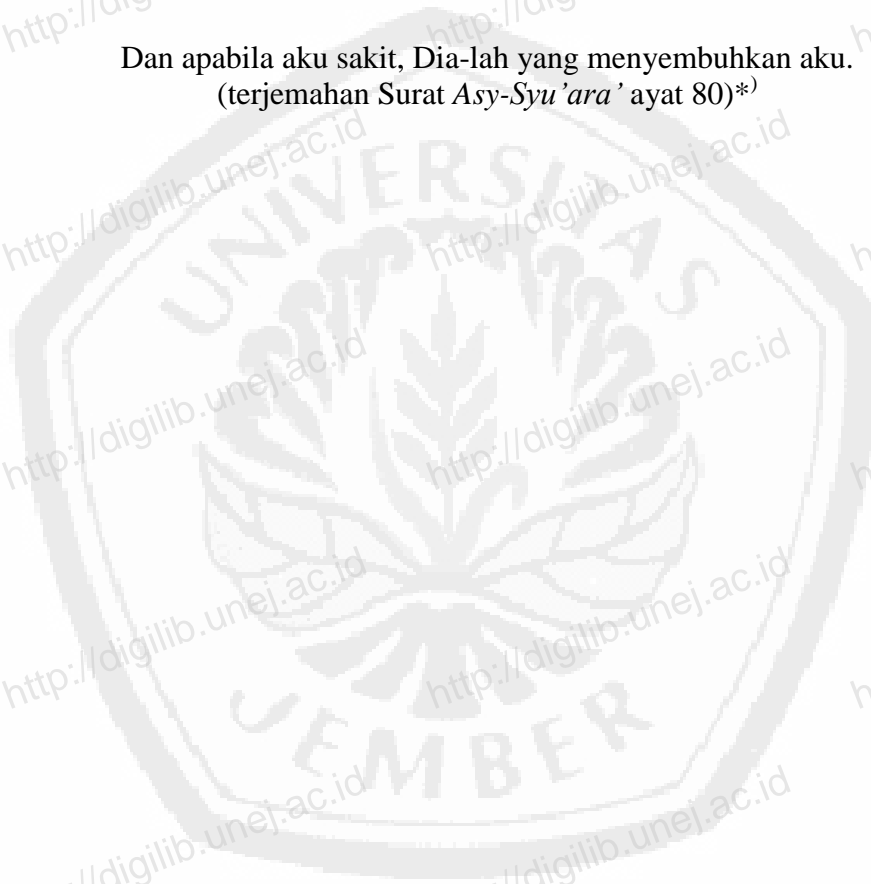
1. Ayah Mukhid dan Mama Indrayati tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang telah dilakukan untukku setiap waktu. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah harapan terbesarku;
2. Kakakku Meby Sandra Iryanti, Shinta Dewi Sandra, Andry Pujanggoro, dan Alex Pamungkas yang selalu mendoakan, mendukung, dan mendorong keinginan kami untuk menjadi dokter;
3. Keluarga besarku, Mbah, Bude, Tante, Sepupu, dan Keponakanku yang selalu menjadi motivasi untuk menjadi yang lebih baik;
4. Guru-guruku tercinta, yang telah memberikan ilmu dan mendidikku dengan susah dan penuh kesabaran untuk menjadikanku manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Teman-temanku Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember Angkatan 2008 yang selalu memberi dukungan dan bantuannya;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## **MOTO**

Pengetahuan Tuhan Kami meliputi segala sesuatu.  
(terjemahan Surat *Al-A'raf* ayat 89)\*)

atau

Dan apabila aku sakit, Dia-lah yang menyembuhkan aku.  
(terjemahan Surat *Asy-Syu'ara'* ayat 80)\*)



---

\*) Departemen Agama RI Al-Hikmah. 2005. *Al-Quran dan Terjemahnya*. Bandung: Diponegoro.

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dyna Ayu Mukhitasari

NIM : 082010101067

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* 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, 06 Juni 2012

Yang menyatakan,

Dyna Ayu Mukhitasari  
NIM. 082010101067

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PERASAN JERUK NIPIS  
(*Citrus aurantifolia*, Swingle) TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Shigella dysenteriae* SECARA *IN VITRO***

Oleh

Dyna Ayu Mukhitasari  
NIM 082010101067

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing II : dr. Dwita Aryadina Rachmawati

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 06 Juni 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes.  
NIP. 19720318 200312 2 001

dr. Sugiyanta, M.Ked.  
NIP. 19790207 200501 1 001

Penguji III,

Penguji IV,

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

dr. Dwita Aryadina Rachmawati  
NIP. 19801027 200812 2 002

Mengesahkan  
Dekan,

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

## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antibakteri Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*; Dyna Ayu Mukhtasari, 082010101067; 2012: 75 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.**

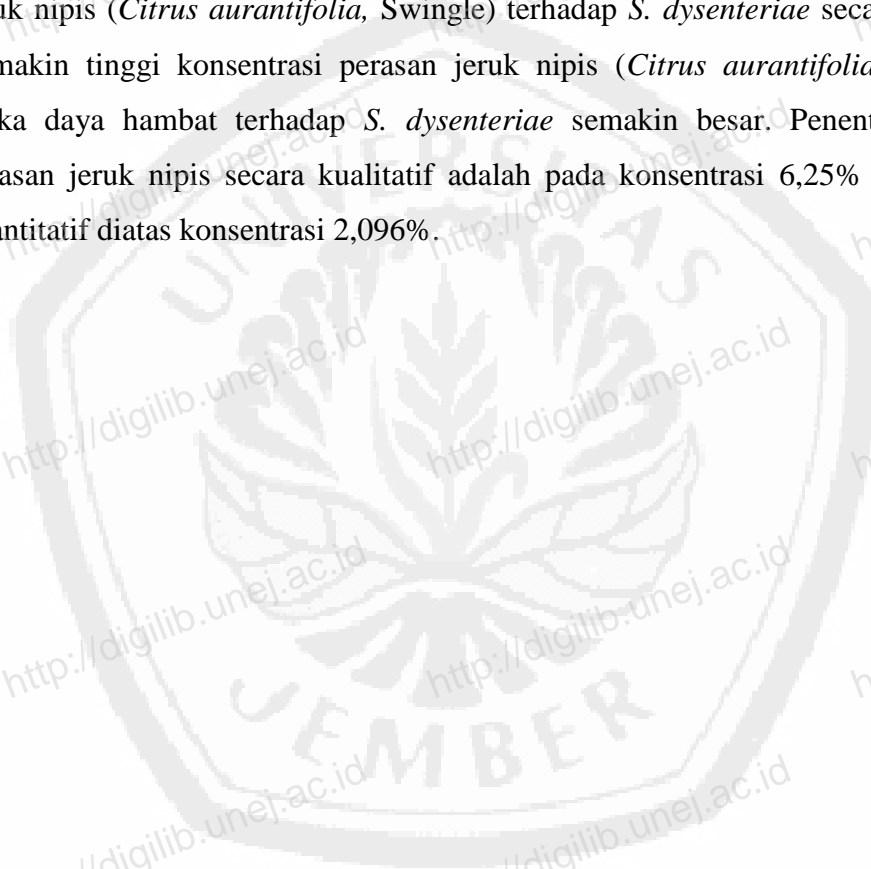
Disentri basiler atau shigelosis adalah suatu infeksi akut colon yang disebabkan kuman genus shigella. Ada 4 spesies shigella yaitu *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, dan *Shigella sonnei*. *S. dysenteriae* merupakan salah satu kuman penyebab disentri basiler dengan gejala yang paling berat. Di dunia sekurangnya 200 juta kasus dan 650.000 kematian terjadi akibat disentri basiler pada anak di bawah umur 5 tahun. Kuman penyakit disentri basiler didapatkan di seluruh dunia, tetapi kebanyakan ditemukan di negara-negara sedang berkembang, yang kesehatan lingkungannya masih kurang. Pengobatan disentri tidak lepas dari penggunaan antibiotik sebagai terapinya. Namun, saat ini telah banyak bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah pemanfaatan tanaman obat, salah satunya adalah perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle). Kandungan kimia perasan jeruk nipis yang berpotensi sebagai antibakteri adalah minyak atsiri yang di dalamnya mengandung flavonoid.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* dan Kadar Hambat Minimalnya (KHM). Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Jenis penelitian adalah *true eksperimental* dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah bakteri *S. dysenteriae*. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%. Kontrol positif menggunakan suspensi siprofloksasin dan kontrol negatif menggunakan aquades steril. Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran dan



diukur dengan jangka sorong. Data kemudian dianalisis dengan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov*, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene*. Analisis data untuk membuktikan adanya aktivitas antibakteri ialah menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, karena varians data tidak homogen, kemudian dilanjutkan dengan uji *Regresi Linier* untuk menentukan persamaan garis regresi, sehingga didapatkan nilai KHM secara kuantitatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) terhadap *S. dysenteriae* secara *in vitro*. Semakin tinggi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) maka daya hambat terhadap *S. dysenteriae* semakin besar. Penentuan KHM perasan jeruk nipis secara kualitatif adalah pada konsentrasi 6,25% dan secara kuantitatif diatas konsentrasi 2,096%.



## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Enny Suswati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Enny Suswati, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing I dan dr. Dwita Aryadina Rachmawati selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes. dan dr. Sugiyanta, M.Ked. sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Pipiet Wulandari selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama melaksanakan studi di almamater tercinta;
5. Ayah Mukhid dan Mama Indrayati tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang telah dilakukan untukku setiap waktu. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah harapan terbesarku;
6. Kakakku Meby Sandra Iryanti, Shinta Dewi Sandra, Andri Pujanggoro, dan Alex Pamungkas yang selalu mendoakan, mendukung, dan mendorong keinginan kami untuk menjadi dokter;

7. Keluarga besarku, Mbah, Bude, Tante, Om, Sepupu, dan Keponakanku yang selalu menjadi motivasi untuk menjadi yang lebih baik;
8. Sahabatku Putri Swandayani, Freicillya Rebecca Clorinda, Yulia Adriyanti, Pristhania Rizka, Ninditha Retno Pradani, MH Yuda Alhabsy, dan I Nyoman Marsel R.G.B atas semua dukungan selama ini semoga persahabatan kita selamanya;
9. Rekan kerjaku, Ninta yang telah bersama-sama berkuat dengan bakteri di dalam laboratorium mikrobiologi;
10. Teman-teman kos M31 Dwita, Mbak Jehan, Mbak Dinda, Ais, Silvi, Deliar, Sofie, dan Zia yang memberikan semangat dalam penulisan skripsi;
11. Teman-teman angkatan 2008 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
12. Guru-guru di TK Dharma Wanita Kedungsumur Krembung, SDN Kedungrawan II Krembung, SMPN 1 Porong, SMAN 1 Sidoarjo, serta dosen-dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember, yang telah memberikan ilmu dan membuat penulis mencintai ilmu pengetahuan;
13. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Mbak Lilis terima kasih atas bantuan dan kerjasama, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
14. 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, 06 Juni 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

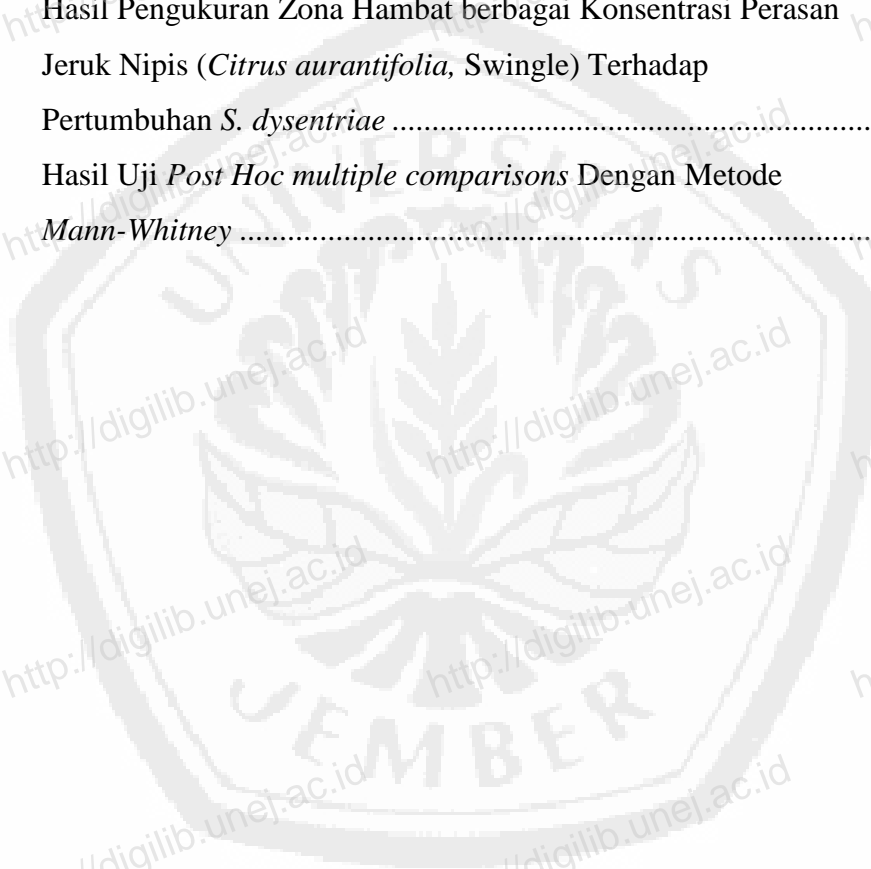
	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>, Swingle)</b> .....	4
2.1.1 Klasifikasi Jeruk Nipis .....	4
2.1.2 Nama Lain Jeruk Nipis .....	4
2.1.3 Asal Usul Jeruk Nipis .....	5
2.1.4 Karakteristik Jeruk Nipis.....	5
2.1.5 Kandungan Kimia Jeruk Nipis.....	6
2.1.6 Manfaat dan Antimikrobia.....	7
<b>2.2 <i>Shigella dysenteriae</i></b> .....	7
2.2.1 Taksonomi dan Klasifikasi <i>S. dysenteriae</i> .....	8

2.2.2	Morfologi dan Identifikasi <i>S. dysenteriae</i> .....	8
2.2.3	Toksin <i>S. dysenteriae</i> .....	9
2.2.4	Patogenesis.....	10
2.2.5	Gambaran Klinis.....	10
2.2.6	Pengobatan.....	11
<b>2.3</b>	<b>Antibakteri</b> .....	11
<b>2.4</b>	<b>Uji Aktivitas Antibakteri</b> .....	14
2.4.1	Difusi.....	14
2.3.2	Dilusi.....	15
<b>2.5</b>	<b>Kerangka Konseptual</b> .....	16
<b>2.6</b>	<b>Hipotesis Penelitian</b> .....	16
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN</b> .....	17
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian</b> .....	17
<b>3.2</b>	<b>Rancangan Penelitian</b> .....	17
<b>3.3</b>	<b>Metode Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibakteri</b> .....	18
<b>3.4</b>	<b>Sampel</b> .....	19
3.4.1	Sampel Penelitian.....	19
3.4.2	Besar Sampel .....	19
<b>3.5</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	20
3.5.1	Tempat Penelitian.....	20
3.5.2	Waktu Penelitian.....	20
<b>3.6</b>	<b>Variabel penelitian</b> .....	20
3.6.1	Variabel Bebas .....	20
3.6.2	Variabel Terikat .....	20
3.6.3	Variabel Terkendali.....	20
<b>3.7</b>	<b>Definisi Operasional</b> .....	21
<b>3.8</b>	<b>Alat dan Bahan</b> .....	21
3.8.1	Alat.....	21
3.8.2	Bahan .....	21
<b>3.9</b>	<b>Prosedur Penelitian</b> .....	22
3.9.1	Persiapan Alat .....	22

3.9.2	Pembuatan Perasan Jeruk Nipis .....	22
3.9.3	Pembuatan Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis .....	23
3.9.4	Pembuatan Larutan 0,5 <i>McFarland</i> .....	24
3.9.5	Pembuatan Suspensi <i>S. dysenteriae</i> .....	25
3.9.6	Pembuatan Media Agar Mueller Hinton .....	25
3.9.7	Pembuatan Suspensi Siprofloksasin .....	25
3.9.8	Tahap Perlakuan .....	25
3.9.9	Tahap Pengamatan .....	26
<b>3.10</b>	<b>Analisis Data</b> .....	<b>26</b>
<b>3.11</b>	<b>Alur Penelitian</b> .....	<b>27</b>
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>28</b>
<b>4.1</b>	<b>Hasil Penelitian</b> .....	<b>28</b>
<b>4.2</b>	<b>Analisis Data</b> .....	<b>30</b>
<b>4.3</b>	<b>Pembahasan</b> .....	<b>33</b>
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>37</b>
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan</b> .....	<b>37</b>
<b>5.2</b>	<b>Saran</b> .....	<b>37</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN</b>	.....	<b>42</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi Ilmiah Jeruk Nipis .....	4
2.2 Taksonomi dan Klasifikasi <i>Shigella dysenteriae</i> .....	8
2.3 Uji Biokimiawi untuk Membedakan antara <i>Shigella sp.</i> .....	9
4.1 Hasil Pengukuran Zona Hambat berbagai Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> , Swingle) Terhadap Pertumbuhan <i>S. dysenteriae</i> .....	29
4.2 Hasil Uji <i>Post Hoc multiple comparisons</i> Dengan Metode <i>Mann-Whitney</i> .....	32



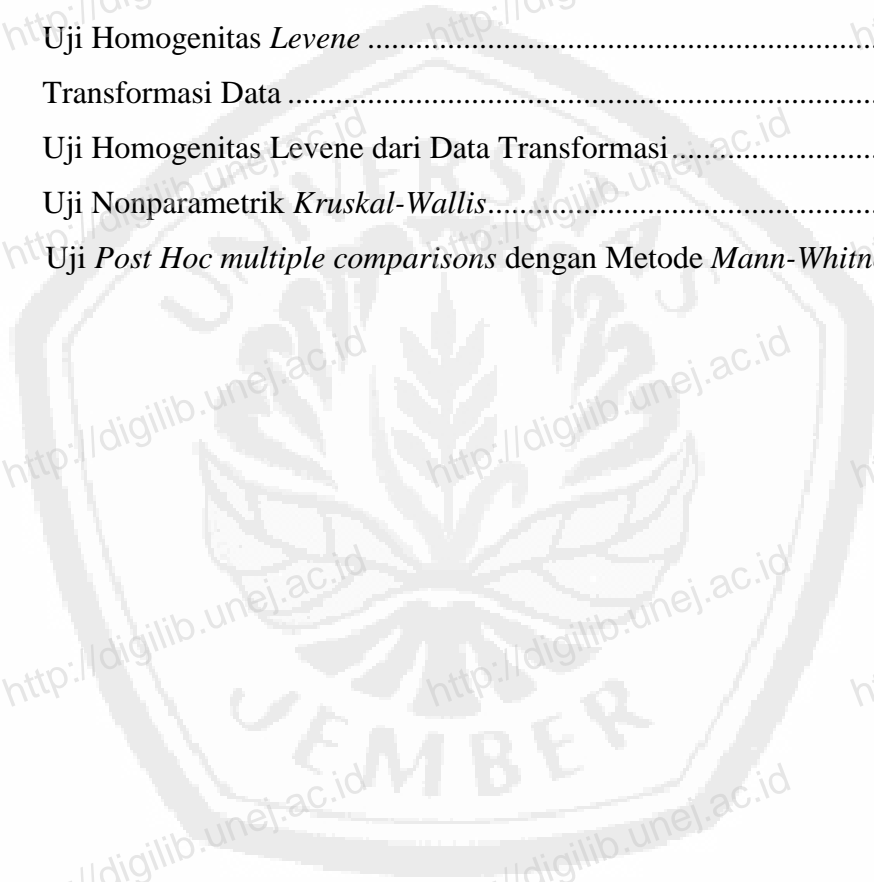
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Gambar karakteristik jeruk nipis .....	6
2.2 Skema Kerangka Konseptual.....	16
3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	18
3.2 Skema Pengenceran Perasan Jeruk Nipis .....	24
3.3 Skema Alur Penelitian .....	27
4.1 Daya Hambat Terhadap Pertumbuhan <i>S. Dysentriae</i> Ditunjukkan dengan Adanya Zona Bening Di Sekitar Sumuran.....	28
4.2 Grafik Rata-rata Hubungan Antara Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> , Swingle) Dengan Daya Penghambatan Pertumbuhan <i>S. dysentriae</i> .....	29



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Uji Normalitas <i>Kolmogorov Smirnov</i> .....	42
B. Uji Regresi Linier.....	43
C. Persamaan Garis Regresi dan KHM Secara Kuantitatif.....	47
D. Uji Homogenitas <i>Levene</i> .....	48
E. Transformasi Data.....	49
F. Uji Homogenitas <i>Levene</i> dari Data Transformasi.....	51
G. Uji Nonparametrik <i>Kruskal-Wallis</i> .....	52
H. Uji <i>Post Hoc multiple comparisons</i> dengan Metode <i>Mann-Whitney</i> ..	53



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Disentri basiler atau shigelosis adalah suatu infeksi akut colon yang disebabkan kuman genus shigella. Ada 4 spesies shigella yaitu *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, dan *Shigella sonnei*. *S. dysenteriae* merupakan salah satu kuman penyebab disentri basiler dengan gejala yang paling berat. Di dunia sekurangnya 200 juta kasus dan 650.000 kematian terjadi akibat disentri basiler pada anak di bawah umur 5 tahun. Kuman penyakit disentri basiler didapatkan di seluruh dunia, tetapi kebanyakan ditemukan di negara-negara sedang berkembang, yang kesehatan lingkungannya masih kurang (Sya'roni, 2006). Menurut *Centers for Disease Control and Prevention* di Atlanta, Georgia (CDC, 2006:10) kasus disentri basiler yang disebabkan oleh *S. dysenteriae* adalah 46 kasus dari 10.336 kasus yang disebabkan *Shigella sp* lainnya. Di Jakarta Utara sesuai hasil penelitian di Puskesmas, Rumah Sakit Penyakit Infeksi, dan Rumah Sakit Koja dari Agustus 2001 sampai dengan Juli 2003, dari 1203 orang penderita diare yang disebabkan *Shigella sp*, ditemukan 21 orang (2%) diare karena *S. dysenteriae* (Agtini *et al.*, 2005).

Dalam dekade terakhir ini, *Shigella sp* telah menjadi resisten terhadap sebagian besar antibiotik lini pertama. Resistensi terhadap sulfonamid, streptomisin, kloramfenikol, dan tetrasiklin, hampir secara universal terjadi dan banyak shigella saat ini resisten terhadap ampisilin dan sulfametoksazol (Sya'roni, 2006). Dari penelitian yang dilakukan oleh Duin *et al.*, (2009) tentang resistensi *Shigella sp* ditemukan pada beberapa obat yaitu amoxicillin, kloramfenikol, dan kotrimoksazol. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Agtini, *et al.* (2005) menemukan bahwa spesies dari *Shigella sp* di Jakarta Utara telah resisten terhadap ampisilin, trimethoprim-sulfametoksazol, kloramfenikol, dan tetrasiklin tetapi belum terjadi resistensi terhadap asam nalidiksida, siprofloksasin dan seftriakson. Sehubungan dengan ditemukannya banyak resistensi antibiotika

terhadap *S. dysenteriae* maka sedang dikembangkan alternatif antibiotika dengan menggunakan tanaman obat. Salah satu tanaman obat yang dikembangkan untuk mengatasi *S. dysenteriae* adalah jeruk nipis.

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) dapat berfungsi untuk pengobatan herbal berbagai macam penyakit. Penyakit yang bisa diobati dengan jeruk nipis antara lain flu, depresi yang disebabkan oleh alkohol dan juga sebagai obat anti-inflamasi, anti-reumatik, anti-scorbutic, anti-koagulan, anti-spasmodik dan anti-infeksi (Taiwo *et al.*, 2007).

Kandungan nutrisi dalam jeruk nipis antara lain karbohidrat, gula, serat, sodium, vitamin, mineral, lemak dan asam amino. Jeruk nipis mengandung jenis flavonoid yang unik, yang mempunyai efek antibiotik dan antikanker. Jenis flavonoid ini terbukti dapat menghentikan pembelahan sel kanker dan mempunyai efek antibiotik (Jayana *et al.*, 2010).

Jeruk nipis dapat digunakan sebagai obat herbal dalam berbagai penyakit, sedangkan untuk efektivitasnya terhadap antibakteri juga telah diteliti. Taiwo *et al.* (2007) telah membuktikan bahwa perasan jeruk nipis mempunyai efek antibakteri terhadap *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Klebseilla sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.* dan *Salmonella sp.* Penelitian lain yang dilakukan oleh Jayana *et al.* (2010) membuktikan bahwa jeruk nipis juga mempunyai efek antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. Selain anitibakteri, jeruk nipis juga mempunyai efek antifungi terhadap *Aspergillus niger* dan *Candida albicans* (Aibinu *et al.*, 2007).

Dari beberapa penelitian di atas telah dibuktikan bahwa jeruk nipis mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Klebseilla sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.* dan *Salmonella sp.* (Taiwo *et al.*, 2007) serta *Vibrio cholerae* (Jayana *et al.*, 2010). Dengan adanya potensi jeruk nipis sebagai antibakteri, maka perlu dilakukan penelitian lain terhadap bakteri strain lain, seperti *S. dysenteriae*. Dengan adanya aktivitas antibakteri jeruk nipis terhadap beberapa bakteri gram negatif maka jeruk nipis juga diharapkan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. dysenteriae* yang termasuk dalam Gram negatif.

Dari uraian di atas, maka penulis ingin mengetahui aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah perasan jeruk nipis mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*?
2. Berapa KHM (Kadar Hambat Minimum) perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum  
Untuk mengetahui aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*.
2. Tujuan khusus  
Untuk mengetahui KHM (Kadar Hambat Minimum) perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Apabila terbukti bahwa perasan jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*, maka manfaat yang dapat diambil antara lain:

- a. Memberi dasar penguat terhadap penggunaan jeruk nipis sebagai obat alternatif untuk kasus disentri.
- b. Memberikan informasi ilmiah yang dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle)

#### 2.1.1 Klasifikasi Jeruk Nipis

*Citrus aurantifolia*, Swingle dikenal sebagai jeruk nipis. Klasifikasi tanaman ini adalah dapat dilihat dalam Tabel 2.1 berikut:

Tabel 2.1 Klasifikasi ilmiah jeruk nipis

Kingdom	<i>Plantae</i>
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	<i>Spermatophyta</i>
Divisi	<i>Magnoliophyta</i>
Kelas	<i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	<i>Rosidae</i>
Ordo	<i>Sapindales</i>
Famili	<i>Rutaceae</i>
Genus	<i>Citrus</i>
Spesies	<i>Citrus aurantifolia</i> , <i>Swingle</i>

Sumber: Pranasari (2011)

#### 2.1.2 Nama Lain Jeruk Nipis

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) juga dikenal dengan sinonim *Limonia aurantifolia*, *Citrus javanica*, *Citrus notissima*. Dikenal juga dengan nama lokal jeruk pecel (Jawa), jeruk durga (Madura), limau asam atau limau nipis (Malaysia), *somma nao* atau *manao* (Thailand). Di Eropa dan Amerika, jeruk nipis disebut *lime*, *sour lime*, *common lime* ( Sarwono, 2001).

### 2.1.3 Asal usul Jeruk Nipis

Asal usul dan penyebaran geografis jeruk nipis diduga berasal dari India Utara yang berbatasan dengan Myanmar atau di Malaysia bagian utara. Namun menurut Swingle, jeruk nipis berasal dari kepulauan di Asia Tenggara (Sarwono, 2001).

Jeruk nipis ditemukan di Amerika Tengah dan Amerika Selatan (Kolumbia, Ekuador) melalui Kepulauan Pasifik dibawa bangsa Polynesia yang berlayar sampai ke pantai barat Amerika. Semua jeruk nipis yang berkembang di Eropa dibawa orang dari India ke Persia, Palestina, Mesir, dan Eropa oleh bangsa Arab (Sarwono, 2001).

### 2.1.4 Karakteristik Jeruk Nipis

Karakter jeruk nipis memiliki ciri-ciri pohonnya tumbuh sebagai pohon kecil bercabang lebat, tetapi tak beraturan. Tajuk dari pohon jeruk nipis selalu berwarna hijau. Tinggi pohon berkisar antara 1,5-5 m. Ranting-rantingnya berduci pendek, kaku, dan tajam. Daunnya selang-seling, berbentuk jorong sampai bundar, dan berukuran (4-8) cm x (2-5) cm. Pinggiran daunnya bergerigi kecil dan tangkai daunnya bersayap sempit. Produktivitas jeruk nipis sangat tergantung dari umur, kondisi tanaman, keadaan iklim, kesuburan tanah, dan pemeliharaan tanaman. Bunga jeruk nipis berbentuk tandan pendek, berada di ketiak daun pada pucuk yang baru merekah. Banyaknya bunga per tandan sekitar 1-10 kuntum. Bunga putih terlihat sewaktu masih kuncup. Daun kelopaknya berbentuk cawan, dan bercuping sekitar 4-6. Mahkota bunga sebanyak 4-6 helai, dan panjangnya sekitar 8-12 cm. Benang sarinya berjumlah antara 20 sampai 25 utas. Tangkai putiknya mudah dibedakan dengan bakal buah. Jeruk nipis termasuk tipe buah buni. Bentuknya bulat sampai bulat telur. Diameter buahnya sekitar 3-6 cm. Ketebalan kulit buahnya berkisar 0,2-0,5 mm, dan permukaannya memiliki kelenjar yang banyak sekali. Buahnya kadang-kadang memiliki papila atas yang berwarna kuning kehijau-hijauan. Untuk berkembang, buah jeruk nipis memerlukan waktu 5-6 bulan, sejak muncul bunga sampai buah siap dipanen.

Buah masak pohon akan berubah warna dari hijau menjadi kuning. Setelah mencapai tahap masak penuh, jeruk akan jatuh ke tanah (Sarwono, 2001).



Gambar 2.1 Karakteristik jeruk nipis (Sumber: Dalimartha, 2000)

#### 2.1.5 Kandungan Kimia Jeruk Nipis

Menurut Dalimartha (dalam Triayu, 2009:6) perasan jeruk nipis mengandung minyak atsiri yang didalamnya terdapat beberapa jenis komponen antara lain sitrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin (A, B, C), sinerfin, H-metiltiramine, flavonoid, ponsirin, herperidine, rhoifolin, dan narinin, juga mengandung minyak atsiri limonene dan linalool.

Menurut hasil analisis di Thailand, per 100 gram bagian buah yang dapat dimakan, komposisinya sebagai berikut: 91 gram kandungan air, 0,5 gram protein, 2,4 gram lemak, 5,9 gram karbohidrat, 0,3 gram serat, 17 Si vitamin A, 46 mg vitamin C, dan sekitar 150 kJ nilai energi. Sedangkan menurut *Daftar Komposisi Bahan Makanan*, yang dikeluarkan Lembaga Makanan Rakyat Departemen Kesehatan, setiap 100 gram jeruk nipis mengandung 86,0 gram air, 0,8 gram protein, 0,3 gram lemak, 12,3 gram karbohidrat, 40 mg kalsium, 22 gram fosfor, 0,6 mg zat besi, 0,04 mg vitamin B1, 27 mg vitamin C, dan 37 kalori energi. Bagian yang dapat dimakan sekitar 76% dari bobot keseluruhan (Sarwono, 2001).



### 2.1.6 Manfaat dan Antibakteri

Minyak atsiri dan flavonoid merupakan kandungan pada jeruk nipis yang memiliki efek hambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Flavonoid mempunyai fungsi sebagai antivirus, antibakteri, dan anti-inflamasi, efek menguntungkan pada kerapuhan kapiler dan kemampuan untuk menghambat agregasi platelet manusia, *antiulcer* dan *anti-allergenic* (Gattuso *et al.*, 2007). Senyawa ini merupakan pigmen larut air yang ditemukan hampir pada tumbuhan tingkat tinggi dan berkontribusi memberikan warna pada bunga dan buah (Sarin, 2005). Dalam fungsinya sebagai antibakteri, flavonoid memiliki kemampuan untuk melarutkan dan berikatan dengan protein ekstraseluler dan protein integral (Cowan, 1999). Akibat mekanisme tersebut, permeabilitas dinding sel terganggu sehingga dinding sel pecah karena tidak mampu menahan tekanan sitoplasma (Lasmayanty, 2007). Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik. Dalam banyak kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus. Fungsi flavonoid sebagai antivirus telah banyak dipublikasikan, termasuk untuk virus HIV (AIDS) dan virus herpes. Selain itu, flavonoid juga dilaporkan berperan dalam pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit lain seperti asma, katarak, diabetes, encok/rematik, migrain, wasir, dan periodontitis (Subroto *et al.*, 2011).

### 2.2 *Shigella dysenteriae*

*Shigella sp* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* dengan habitat alamiah terbatas pada saluran pencernaan manusia. Dalam hal ini *Shigella sp* menyebabkan disentri basiler yang ditandai dengan nyeri pada anus ketika defekasi. Pada tinja dijumpai adanya lendir dan darah juga potongan jaringan. Manusia merupakan satu-satunya reservoir untuk *Shigella sp*. Disentri basiler pada umumnya terjadi pada anak berusia 1-10 tahun. Dalam genus *Shigella* dijumpai ada 4 spesies yaitu *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* dan *S. sonnei* (Mufida, Suswati dan Shodikin, 2009).



### 2.2.1 Taksonomi dan Klasifikasi *Shigella dysenteriae*

Berdasarkan penggolongan dan tata nama bakteri diklasifikasikan dapat dilihat dalam Tabel 2.2 berikut.

Tabel 2.2 Taksonomi dan klasifikasi *Shigella dysenteriae*

Tingkatan	Taksonomi dan Klasifikasi
Kingdom	<i>Bacteria</i>
Filum	<i>Protobacteria</i>
Kelas	<i>Gamma protobacteria</i>
Ordo	<i>Enterobacteriales</i>
Famili	<i>Enterobacteraceae</i>
Genus	<i>Shigella</i>
Spesies	<i>Shigella dysenteriae</i>

Sumber: Kurniawati (2009)

### 2.2.2 Morfologi dan Identifikasi *Shigella dysenteriae*

#### a. Morfologi *Shigella dysenteriae*

*S. dysenteriae* merupakan kuman berbentuk batang, ukuran 0,5-0,7  $\mu\text{m}$  x 2-3  $\mu\text{m}$ , pada pewarnaan Gram bersifat Gram negatif, dan tidak berflagel. *S. dysenteriae* berbentuk kokobasil dan ditemukan pada biakan muda. Koloninya konveks, bulat, transparan, dengan pinggir-pinggir utuh, dan dapat mencapai diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam (Brooks *et al.*, 2007).

#### b. Biakan

*S. dysenteriae* bersifat fakultatif anaerob tetapi paling baik tumbuh secara aerob, pH pertumbuhan 6,4-7,8, dan suhu pertumbuhan optimumnya 37°C. Sifat koloninya pada media pembenihan SS, EMB, Endo, dan Mac Concey adalah berbentuk bulat, konveks, diameter 2 mm, halus, translusen, dan tidak berwarna karena meragikan laktosa. Apabila ditanam dalam agar TSI, akan memberikan reaksi asam pada slant dan alkali pada butt, tidak membentuk gas. Sebagai bahan pemeriksaan adalah tinja berlendir, tinja yang ada darahnya, tinja yang disertai pus, atau tinja yang ada potongan jaringannya (Suswati *et al.*, 2009).

Untuk membedakan setiap spesies *Shigella* dapat dilakukan uji biokimia, dengan hasil dapat di lihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Uji biokimiawi untuk membedakan antara *Shigella sp.*

Uji biokimia	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Antigen grup	A	B	C	D
Indole	+	+	+	+
Jordan, s. tartate	+	-	-	+
Manitol	-	+	+	+
Laktosa	-	-	-	+
Sorbitol	-	-	±	±
Dulcitol	-	-	±	-

Sumber: Suswati *et al.* (2009)

### 2.2.3 Toksin *Shigella dysenteriae*

Toksin pada *Shigella dysenteriae* yang bersifat patogen ada tiga yaitu:

#### 1) Enterotoksin

Enterotoksin yang dihasilkan *Shigella sp.* adalah termolabil dan menyebabkan penggumpalan cairan di ileum. Aktivitas enterotoksin terutama pada usus halus yang berbeda bila dibandingkan dengan disentri basiler klasik, dimana yang terkena adalah usus besar. Beberapa penelitian menunjukkan peranan enterotoksin pada disentri basiler belum jelas. Beberapa mutan *S. dysenteriae* tipe 1 yang nontoksigenik tetapi mempunyai daya invasi dapat menimbulkan penyakit. Diduga enterotoksin bertanggung jawab atas terjadinya diare cair pada tahap dini dan kemudian timbul gejala klasik disentri basiler setelah organisme meninggalkan usus halus dan masuk ke usus besar (Collier *et al.*, 2001).

#### 2) Eksotoksin

*Shigella dysenteriae* tipe 1 (basil Shiga) memproduksi eksotoksin tidak tahan panas yang dapat mengenai usus dan sistem saraf pusat. Eksotoksin ini merupakan protein bersifat antigenik (merangsang produksi antitoksin) dan mematikan untuk hewan percobaan. Sebagai enterotoksin, zat ini menimbulkan diare, sebagaimana enterotoksin *E. coli* yang tidak tahan panas, mungkin dengan mekanisme serupa. Pada manusia, eksotoksin ini juga menghambat absorpsi gula dan asam amino di usus halus. Sebagai neurotoksin materi ini menyebabkan infeksi yang sangat berat dan fatal serta

menimbulkan reaksi susunan saraf yang berat, misalnya meningismus dan koma. Penderita dengan *S. flexneri* atau *S. sonnei* membentuk antitoksin yang menetralkan eksotoksin *S. dysenteriae* secara *in vitro*. Aktivitas yang bersifat toksik ini berbeda dengan sifat invasif *Shigella sp.* pada disentri. Keduanya dapat bekerja berurutan toksin menyebabkan diare awal yang encer dan tidak berdarah serta invasi usus besar mengakibatkan disentri lebih lanjut dengan tinja yang disertai darah (Brooks *et al.*, 2007).

### 3) Neurotoksin dan Sitotoksin

Neurotoksin dan sitotoksin adalah protein eksotoksin yang dikeluarkan oleh *S. dysenteriae* tipe 1, *S. flexneri* tipe 2a dan *S. sonnei*. Peranan neurotoksin dan sitotoksin pada patogenesis penyakit disentri basiler belum jelas (Collier *et al.*, 2001).

#### 2.2.4 Patogenesis

Infeksi *Shigella sp.* hampir selalu terbatas di saluran cerna jarang terjadi invasi ke aliran darah. *Shigella* sangat menular, dosis infektifnya adalah  $10^3$  organisme (sedangkan pada salmonela dan vibrio biasanya  $10^5$ - $10^8$ ). Proses patologinya adalah invasi ke sel epitel mukosa dengan menginduksi fagositosis, keluar dari vakuol fagositik, bermultiplikasi dan menyebar di dalam sitoplasma sel epitel, dan menyebar ke sel yang ada di dekatnya. Mikroabses di dinding usus besar dan ileum terminal menyebabkan nekrosis membran mukosa, ulserasi superfisial, perdarahan, dan pembentukan pseudomembran pada daerah ulserasi. Pseudomembran ini terdiri dari fibrin, leukosit, debris sel, membran mukosa yang nekrotik, dan bakteri. Saat proses mereda, jaringan granulasi mengisi ulkus dan terbentuk jaringan parut (Brooks *et al.*, 2007).

#### 2.2.5 Gambaran Klinis

Setelah masa inkubasi yang pendek (1-2 hari), secara mendadak timbul nyeri perut, demam, dan diare cair. Diare ini disebabkan oleh kerja enterotoksin di usus halus. Sehari atau beberapa hari kemudian, ketika infeksi mengenai ileum dan kolon, jumlah feses meningkat, feses lebih kental tetapi sering mengandung

lendir dan darah. Setiap pergerakan usus diikuti oleh mencedan dan tenesmus (spasme rektum), yang mengakibatkan nyeri perut bagian bawah. Lebih dari setengah kasus orang dewasa, demam dan diare menghilang spontan dalam 2-5 hari. Namun, pada anak-anak dan lanjut usia, kehilangan air dan elektrolit dapat menimbulkan dehidrasi, asidosis, dan bahkan kematian (Brooks *et al.*, 2007).

#### 2.2.6 Pengobatan

Siprofloksasin, ampicilin, dan trimetoprim-sulfametoksazol merupakan inhibitor yang paling sering untuk isolat *Shigella sp.* dan dapat menekan serangan klinis disentri akut dan memperpendek durasi gejala. Banyak kasus dapat sembuh sendiri. Pemberian opioid sebaiknya dihindarkan pada disentri shigella (Brooks *et al.*, 2007).

Siprofloksasin merupakan antibiotik yang direkomendasikan sebagai *first-line* untuk pengobatan shigelosis (Putra, 2004).

Siprofloksasin adalah antibiotik yang termasuk golongan fluorokuinolon. Golongan fluorokuinolon merupakan golongan kuinolon baru dengan atom fluor pada cincin kuinolon. Golongan fluorokuinolon aktif sekali terhadap *Enterobacteriaceae*, *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, *Vibrio sp.*, *H. Influenza*, serta banyak bakteri lainnya. Mekanisme kerja golongan fluorokuinolon adalah dengan menghambat kerja DNA girase pada kuman dan bersifat bakterisidal. Fluorokuinolon diserap dengan cepat melalui saluran cerna. Semua fluorkuinolon mencapai kadar puncaknya 1-2 jam setelah pemberian obat. Kebanyakan fluorkuinolon dimetabolisme di hati dan disekresikan di ginjal (Ganiswarna, 2005).

### 2.3 Antibakteri

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri khususnya bakteri yang merugikan manusia. Berdasarkan sifatnya, antibakteri ada yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (bakterisid). Kadar minimal yang diperlukan untuk

menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Obat yang digunakan untuk membasmi bakteri harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya, obat ini tersebut harus bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Setiabudy, 2009).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam lima kelompok, yaitu:

a. Menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari *Para Amino Benzoat Acid* (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Salah satu antibakteri yang termasuk golongan ini adalah trimetoprim di mana kerjanya menghambat enzim dihidrofolat reduktase yang berfungsi mengubah dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat.

b. Menghambat sintesis dinding mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel diikuti berturut – turut oleh basitrasin, vankomisin dan diakhiri oleh penisilin dan sefalosporin yang menghambat reaksi terakhir (transpeptidasi) dalam rangkaian reaksi tersebut. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel, maka kerusakan dinding sel kuman menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka.

c. Mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antimikroba kemoterapeutik, misalnya antiseptik *surface active agents*. Polimiksin sebagai senyawa amonium-kuartener dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Polimiksin tidak efektif terhadap kuman gram positif karena jumlah fosfor bakteri

ini rendah. Kuman gram negatif yang menjadi resisten terhadap polimiksin, ternyata jumlah fosfornya menurun. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain.

d. Menghambat sintesis protein sel mikroba

Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua subunit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Obat yang termasuk kelompok ini adalah golongan aminoglikosid, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol. Streptomisin berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya akan terbentuk protein abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba. Tetrasiklin berikatan dengan ribosom 30S dan menghalangi masuknya kompleks tRNA asam amino pada lokasi asam amino. Kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim peptidil transferase.

e. Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba yang termasuk kelompok ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Yang lainnya, walaupun bersifat antimikroba, karena sifat sitotoksitasnya, pada umumnya hanya digunakan sebagai obat antikanker. Rifampisin, salah satu derivat rifamisin berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel kuman yang kecil.

## 2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode uji kepekaan antimikroba dibagi menjadi dua tipe berdasarkan teknik yang diterapkan dalam sistem-sistem tersebut, diantaranya:

### 2.4.1 Difusi

Teknik difusi merupakan metode kuantitatif yang dapat digunakan untuk mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri terhadap suatu antimikroba. Uji kepekaan ini adalah yang paling sering digunakan karena pelaksanaannya mudah dan tidak mahal, serta pengukurannya tidak sulit. Metode difusi ini memiliki beberapa modifikasi:

#### a. Cara Kirby Bauer

Cara ini dilakukan dengan melakukan *streaking* inokulum standar organismenya pada permukaan medium Mueller Hinton agar dalam lempeng gelas (*patri disk*), kemudian cakram antibiotik yang terimpregnasi dengan agen antimikroba ditempelkan pada permukaannya dan diinkubasi dengan suhu 35°-37° C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram antibiotik (Suswati dan Mufida, 2009).

#### b. Cara Sumuran

Mirip dengan cara Kirby bauer. Perbedaannya adalah fungsi cakram antibiotik diganti dengan sumuran yang diisi larutan antibiotik yang terimpregnasi dengan agen antimikroba. Kemudian diinkubasi pada suhu 35°-37° C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar sumuran (Suswati dan Mufida, 2009).

#### c. Cara Pour Plate

Metode ini tidak dilakukan *streaking* tetapi dengan mencampurkan bahan kuman dengan agar base 1,5% pada suhu 50° C sampai homogen kemudian dituangkan pada media Mueller Hinton agar. Setelah membeku, diletakkan cakram antibiotik di permukaannya lalu diinkubasi pada suhu 35°-37° selama 15-20 jam. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram antibiotik (Suswati dan Mufida, 2009)

#### 2.4.2 Dilusi

Uji kepekaan dilusi digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal agen *microbial* dalam menghambat atau membunuh mikroorganisme. Hal ini dapat dicapai dengan mendilusikan agen mikrobial pada media agar atau broth (Lalitha, 2008).

##### a. Broth Dilusi

Pada metode ini penentuan MIC dengan broth dilusi berbagai konsentrasi agen antimikroba diinokulasikan dengan suspensi standar bakteri uji (suspensi *Mc Farland*). Setelah diinkubasi semalam dengan suhu 35°C, MIC ditentukan dengan mengamati konsentrasi terendah dari agen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji secara visual. Uji MIC yang lengkap terdiri dari 1-3 konsentrasi agen antimikroba yang kemudian menunjukkan rentang kemampuan terapi agen antimikroba yang diuji. Banyak uji dapat dilakukan dalam waktu yang sama dengan membatasi tahapan dilusi, cara ini dapat dilakukan dengan menggunakan dilusi pada tabung reaksi (*Macro Broth Dilution*) atau lempeng mikrodilusi plastik (*Micro Broth Dilution*). *Macro broth dilution* lebih mudah dilakukan dalam laboratorium sederhana karena hanya menggunakan alat-alat yang umum yaitu tabung reaksi, sedangkan *micro broth dilution* membutuhkan rak-rak plastik khusus yang jumlahnya spesifik dan dengan harga cukup mahal. Selain itu, nilai MIC pada *Macro Broth dilution* lebih stabil pada percobaan berulang daripada pada *micro broth dilution* (Mendoza, 1998).

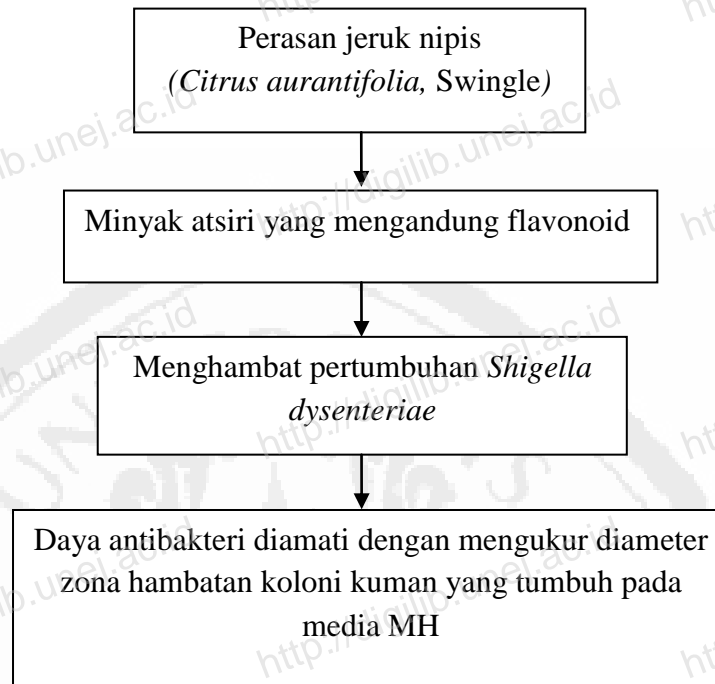
##### b. Agar Dilusi

Pada teknik ini berbagai konsentrasi agen antimikroba diletakkan pada agar MH. Berbagai konsentrasi ini diinokulasikan dengan sebuah inokulum organisme uji yang setara dengan *Mc Farland* 0,5. Inokulasi dilakukan dengan alat replikasi inokulum (replikator). Plate diinkubasi semalam pada suhu 35°C dan dibaca dengan menentukan konsentrasi agen antimikroba terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri secara visual. Konsentrasi ini dilaporkan sebagai MIC. Uji ini kurang disarankan karena menghabiskan tenaga dan waktu meskipun pelaksanaannya dapat dilakukan uji beberapa isolat dalam waktu bersamaan (Mendoza, 1998).



## 2.5 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual dari penelitian ini dapat dilihat dalam Gambar 2.1 berikut.



Gambar 2.2 Skema kerangka konseptual penelitian

## 2.6 Hipotesis Penelitian

Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*.

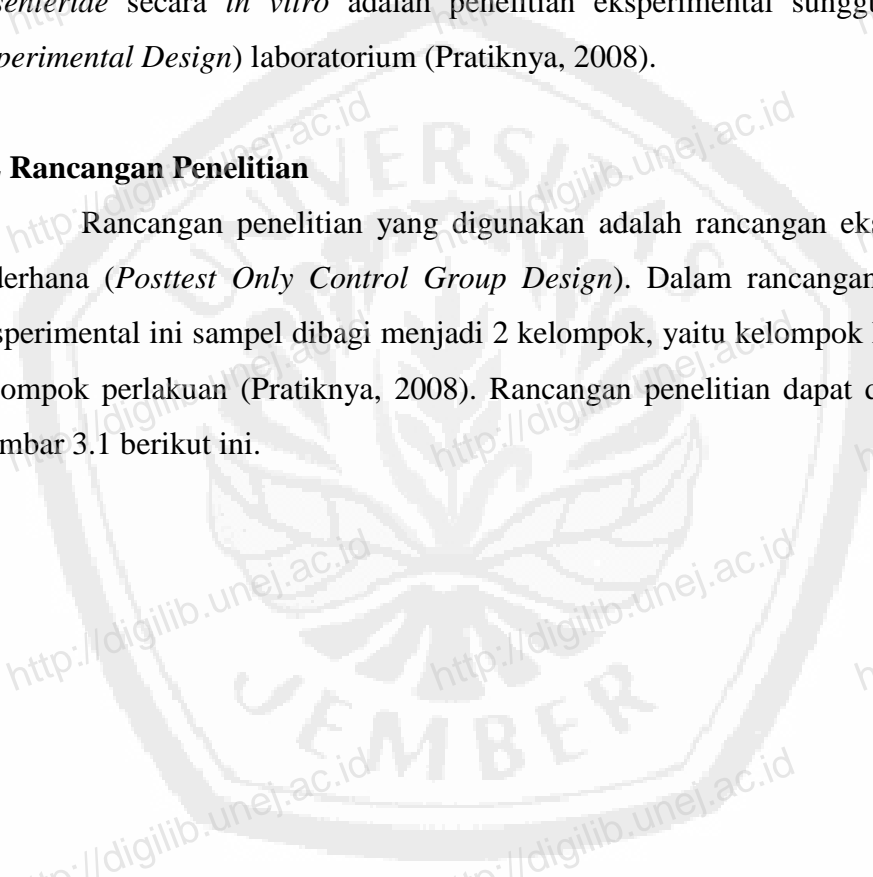
## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

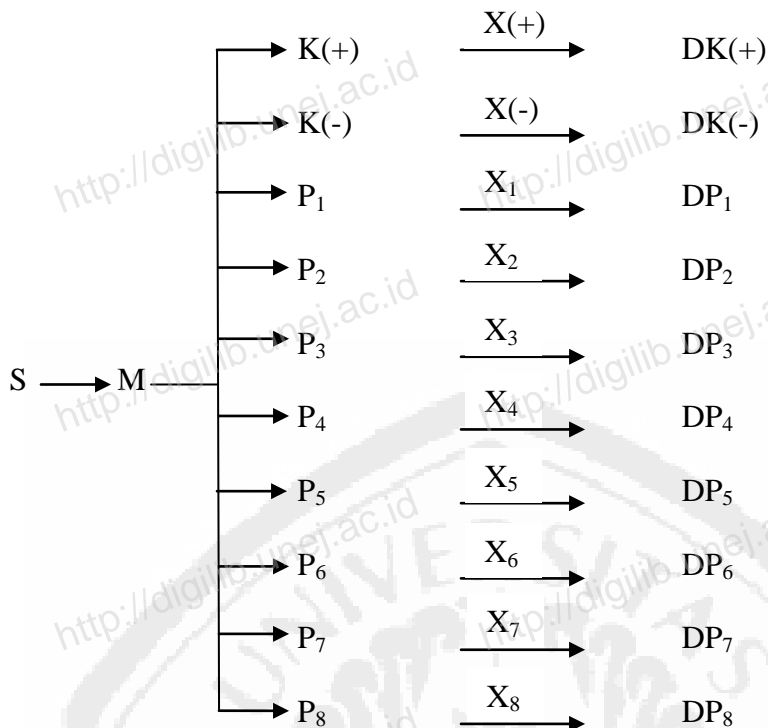
### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* adalah penelitian eksperimental sungguhan (*True Experimental Design*) laboratorium (Pratiknya, 2008).

### **3.2 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan eksperimental sederhana (*Posttest Only Control Group Design*). Dalam rancangan penelitian eksperimental ini sampel dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Pratiknya, 2008). Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1 berikut ini.





**Keterangan :**

- S : Sampel (suspensi bakteri *S. dysenteriae*)  
M : Media agar Mueller Hinton  
K(+) : Kelompok kontrol positif (suspensi siprofloksasin)  
K(-) : Kelompok kontrol negatif (aquades steril)  
P<sub>1-8</sub> : Berturut-turut kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8  
X(+) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol positif (suspensi siprofloksasin) selama 24 jam (inkubasi)  
X(-) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol negatif (aquades steril) selama 24 jam (inkubasi)  
X<sub>1-8</sub> : Berturut-turut perlakuan berupa kontak dengan perasan jeruk nipis konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% selama 24 jam (inkubasi)  
DK(+) : Data perlakuan dengan kontrol positif (suspensi siprofloksasin)  
DK(-) : Data perlakuan dengan kontrol negatif (aquades steril)  
DP<sub>1-8</sub> : Berturut-turut data perlakuan dengan perasan jeruk nipis konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78%

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

### 3.3 Metode Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* adalah metode difusi dengan cara sumuran. Metode ini paling

sensitif di antara metode difusi lainnya (Jagessar *et al.*, 2008) dan paling baik jika digunakan untuk *screening* aktivitas antibakteri (Saeed & Tariq, 2005).

### 3.4 Sampel

#### 3.4.1 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *S. dysenteriae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jeruk nipis yang digunakan diperoleh dari pasar yang berada di Jember.

#### 3.4.2 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan sesuai standar kekeruhan 0,5 *McFarland* (Saeed & Tariq, 2005). Dalam penelitian ini dilakukan 8 perlakuan, yaitu pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 0,78%; pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 1,56%; pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 3,12%; pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 6,25%; pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 12,5%; pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 25%; pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 50%; dan pemberian perasan jeruk nipis konsentrasi 100%. Kedelapan perlakuan ini diulangi sebanyak 4 kali. Sedangkan untuk perlakuan terhadap kontrol, yaitu kontrol negatif berupa aquades steril dan kontrol positif berupa suspensi siprofloksasin hanya dilakukan 1 kali.

Penentuan pengulangan ditentukan berdasarkan perhitungan cara Hanafiah (1991) sebagai berikut:

$$(p-1)(q-1)(r-1) \geq 20$$

$$(8-1)(2-1)(r-1) \geq 20$$

$$(7)(1)(r-1) \geq 20$$

$$7r-7 \geq 20$$

$$7r \geq 27$$

$$r \geq 3,86$$

Keterangan:

p : jumlah perlakuan

q : jumlah kontrol

r : jumlah pengulangan

### 3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.5.1 Tempat Penelitian

Tempat penelitian uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

#### 3.5.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai dengan Maret 2012.

### 3.6 Variabel Penelitian

#### 3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%.

#### 3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae* pada media Mueller Hinton di sekitar sumuran setelah kontak selama 24 jam (inkubasi) dengan perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%.

#### 3.6.3 Variabel Terkendali

- Pembuatan biakan *S. dysenteriae*, pembuatan perasan jeruk nipis, media Mueller Hinton, inkubator, autoklaf, suspensi siprofloksasin, dan aquades steril
- Suhu inkubasi 37° C dan lama inkubasi 24 jam.
- Cara pengukuran zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae*.

### 3.7 Definisi Operasional

- a. Jeruk nipis yang dipergunakan pada penelitian ini adalah jenis tanaman perdu dari keluarga *Rutaceae* yang di beli di pasar Tanjung Jember.
- b. Perasan jeruk nipis merupakan air yang terkandung dalam jeruk nipis.
- c. Konsentrasi perasan jeruk nipis 100% adalah konsentrasi perasan jeruk nipis sebanyak 4 ml kemudian dilakukan pengenceran secara bertingkat dengan kelipatan setengahnya sampai didapatkan larutan konsentrasi 0,03125 ml/ml dan di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik.
- d. Konsentrasi perasan jeruk nipis 50% adalah konsentrasi perasan jeruk nipis sebanyak 2 ml/ml, yang didapatkan dengan cara mencampurkan 1 ml aquades steril dengan 2 ml larutan yang diambil dari larutan konsentrasi 100% kemudian di campur dengan menggunakan vortex hingga tercampur rata (60 detik).
- e. Untuk selanjutnya konsentrasi perasan jeruk nipis dapat dilakukan dengan pengenceran secara bertingkat seperti pada tahap c. dan d. sampai konsentrasi perasan jeruk nipis 0,78%.
- f. Kontrol positif adalah siprofloksasin dengan dosis 5  $\mu\text{g}$ .
- g. Kontrol negatif adalah aquades steril tanpa penambahan perasan jeruk nipis sehingga didapatkan konsentrasi perasan jeruk nipis 0%.
- h. Zona hambat perasan jeruk nipis adalah diameter daerah yang tidak ditumbuhi oleh *S. dysenteriae* di sekeliling sumuran yang diisi perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%.

### 3.8 Alat dan Bahan

#### 3.8.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini:

- a. Cawan petri
- b. Autoklaf
- c. Vibrator/vortex
- d. Tabung reaksi dan rak tabung reaksi
- e. Timbangan atau neraca

- f. Ose
- g. Kertas saring
- h. Lampu bunsen
- i. *Disposable Syringe*
- j. Inkubator
- k. Gelas ukur
- l. Mikropipet
- m. Tabung Erlenmeyer
- n. Corong *Buchner*
- o. Jangka sorong
- p. Pipa penghisap

### 3.8.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini:

- a. *Nutrient Broth*
- b. Air
- c. Aquades steril
- d. Suspensi *S. dysenteriae*
- e. Perasan jeruk nipis
- f. Serbuk Mueller Hinton (MH)

## 3.9 Prosedur Penelitian

### 3.9.1 Persiapan Alat

Semua alat yang akan dipakai dalam penelitian ini disterilkan dalam sterilisator panas kering selama 15 menit dengan suhu 110° C terlebih dahulu. Setelah itu bahan media disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121° C (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.9.2 Pembuatan Perasan Jeruk Nipis

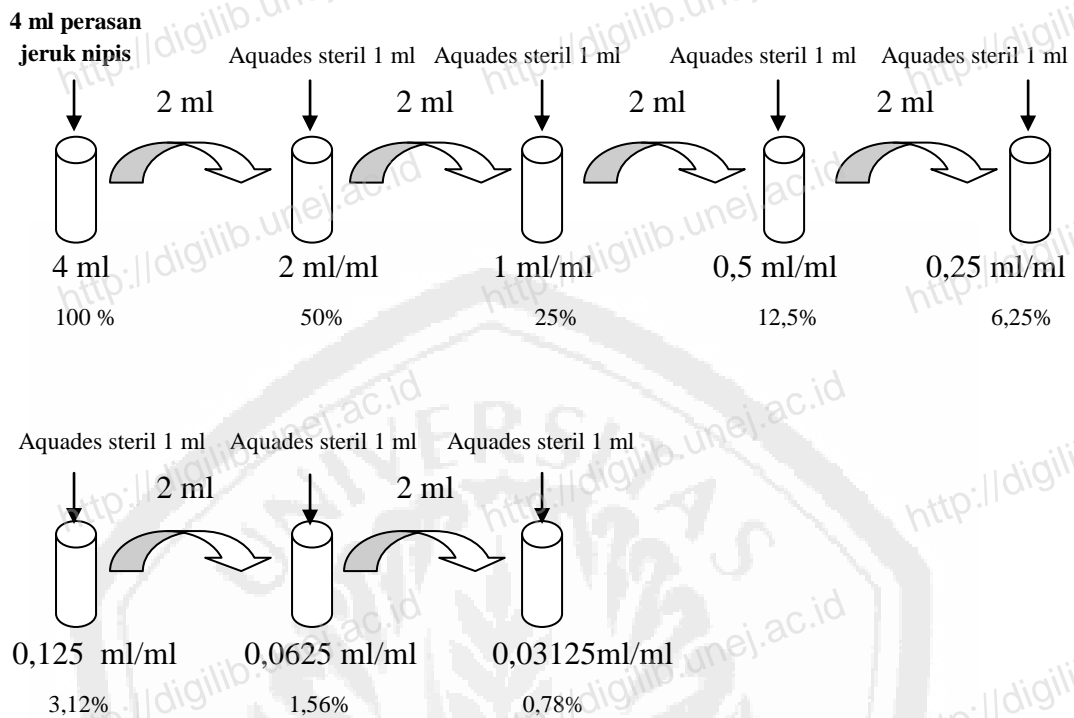
Jeruk nipis di potong menjadi 2 bagian lalu di ambil airnya di dalam tabung erlenmeyer disaring menggunakan kertas saring.

### 3.9.3 Pembuatan Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis

Perasan jeruk nipis didapatkan dari perasan sebanyak 4 ml yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi I, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan kelipatan setengahnya sampai didapatkan larutan konsentrasi 0,03125 ml/ml dan di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik. Dari larutan konsentrasi 4 ml/ml diambil sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi II yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 2 ml/ml. Dari larutan konsentrasi 2 ml/ml diambil 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi III yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 1 ml/ml. Dari larutan konsentrasi 1 ml/ml diambil 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi IV yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 0,5 ml/ml. Dari larutan konsentrasi 0,5 ml/ml diambil 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi V yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 0,25 ml/ml. Dari larutan konsentrasi 0,25 ml/ml diambil 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi VI yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 0,125 ml/ml. Dari larutan konsentrasi 0,125 ml/ml diambil 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi VII yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 0,0625 ml/ml. Dari larutan konsentrasi 0,0625 ml/ml diambil 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi VIII yang sudah diisi dengan 1 ml aquades steril kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 0,03125 ml/ml. Memberi label pada tabung untuk setiap kali pengenceran sesuai dengan konsentrasinya (Suswati dan Mufida, 2009).



Pengenceran perasan jeruk nipis pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.2 berikut:



Gambar 3.2 Skema pengenceran perasan jeruk nipis

#### 3.9.4 Pembuatan Larutan 0,5 McFarland

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

#### 3.9.5 Pembuatan Suspensi *S. dysenteriae*

Bakteri *S. dysenteriae* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. *S. dysenteriae* yang dipergunakan dibuat dengan mengambil satu ose kuman dari kultur, kemudian dimasukkan ke dalam media *Nutrient Broth*, selanjutnya diinkubasi 37° C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi kuman yang telah

diinkubasi disesuaikan dengan standar larutan *0,5 McFarland* ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) dengan menambah aquades steril (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.9.6 Pembuatan Media Agar Mueller Hinton

Agar nutrisi Mueller Hinton dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer sebanyak 2 gram. Ditambahkan 100 ml aquades, dicampur dan diaduk hingga rata kemudian dipanaskan hingga mendidih dan larut. Dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu  $121^\circ \text{C}$  selama 30 menit. Kemudian larutan yang ada di dalam tabung Erlenmeyer dituang ke dalam cawan petri steril dengan cara aseptik lalu dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu  $37^\circ \text{C}$  selama 24 jam (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.9.7 Pembuatan Suspensi Siprofloksasin

Menurut Parry *et al.*, (2010) dosis KHM untuk disk siprofloksasin adalah 5  $\mu\text{g}$ . Untuk mendapatkan siprofloksasin dengan dosis serupa, serbuk siprofloksasin yang tersedia 500 mg ditimbang sebanyak 1 mg, kemudian dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Ditambahkan 200 ml aquades steril, dicampur dan divortex selama 60 detik.

### 3.9.8 Tahap Perlakuan

Lidi kapas steril dicelupkan ke dalam biakan cair kuman. Lidi kapas yang telah basah diperas pada dinding tabung. Lidi kapas tersebut diusapkan pada seluruh permukaan medium agar Mueller Hinton, kemudian mengulang prosedur tersebut 2x lagi dengan memutar plate  $60^\circ$ , kemudian plate didiamkan 3-5 menit pada suhu ruangan tetapi tidak lebih dari 15 menit supaya medium benar-benar kering sebelum dibuat sumuran. Pada agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan, kemudian ke dalam sumuran tersebut ditetaskan perasan jeruk nipis sebanyak 0,1 ml dengan beberapa konsentrasi yang telah dibuat. Kemudian suspensi siprofloksasin juga ditetaskan ke dalam sumuran lain yang masih kosong sebagai kontrol positif. Aquades steril juga ditetaskan ke

dalam sumuran lain yang masih kosong sebagai kontrol negatif (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.9.9 Tahap Pengamatan

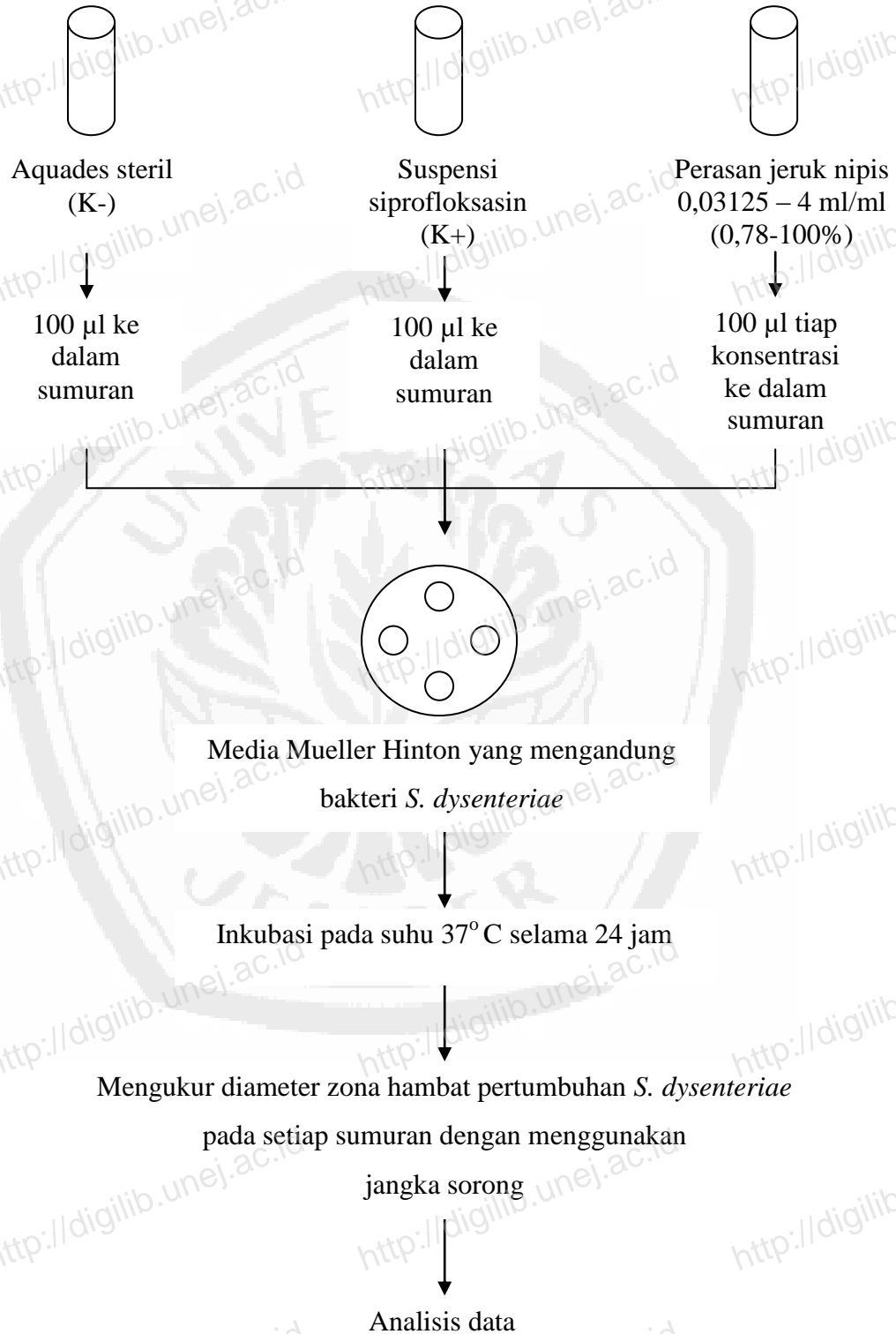
Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C, kemudian dilakukan pengamatan pada cawan petri yaitu dengan cara menghitung zona hambat pertumbuhan pada masing-masing sumuran. Perhitungan dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae* pada media Mueller Hinton dengan menggunakan jangka sorong (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.10 Analisis Data

Analisis data yang digunakan menggunakan analisis regresi. Analisis regresi merupakan salah satu analisis yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suatu variabel terhadap variabel lain (Santoso, 2008). Selanjutnya, untuk membuktikan bahwa perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) memiliki daya hambat antibakteri secara statistik maka harus dilakukan perbandingan dengan kontrol negatif maupun kontrol positif. Analisis data tersebut menggunakan metode statistik *One Way ANOVA* diikuti dengan *Uji Post Hoc Multiple Comparisons* dengan metode *Least Significancy Difference* (LSD) jika data yang diuji terdistribusi normal dan homogen, tetapi jika data tidak terdistribusi normal atau variansnya tidak homogen maka analisis statistik yang digunakan adalah *Kruskal-Wallis* diikuti dengan *Uji Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*. Uji untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak digunakan *Uji Kolmogorov-Smirnov*, sedangkan untuk menguji apakah data tersebut mempunyai varians yang homogen digunakan *Uji Levene* (Dahlan, 2009).

### 3.11 Alur Penelitian

Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.3 berikut.



Gambar 3.3 Skema Alur Penelitian

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Aktivitas antibakteri perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* dalam media Mueller Hinton dengan menggunakan metode difusi sumuran ditunjukkan dengan adanya zona bening atau zona hambat di sekitar area sumuran. Diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong. Hasil penelitian dengan menggunakan konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100% didapatkan zona hambat seperti yang tercantum dalam Gambar 4.1 dan Tabel 4.1 berikut.



Keterangan:

1. Kontrol positif (siprofloksasin)
2. Kontrol negatif (aquades steril)
3. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) konsentrasi 0,78%
4. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) konsentrasi 1,56%
5. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) konsentrasi 3,12%
6. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) konsentrasi 6,25%
7. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) konsentrasi 12,5%
8. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) konsentrasi 25%
9. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) konsentrasi 50%
10. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) konsentrasi 100%

Gambar 4.1 Daya hambat terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumuran

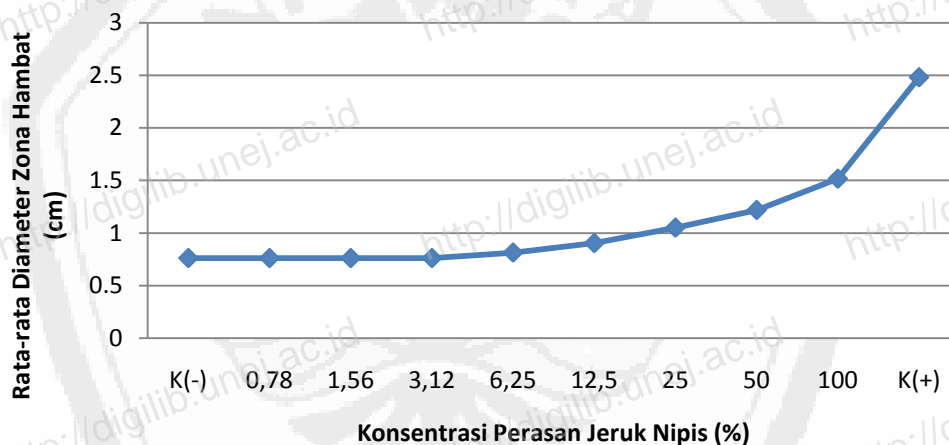
Tabel 4.1 Hasil pengukuran zona hambat berbagai konsentrasi perasan jeruk nipis (*C.aurantifolia*, Swingle) terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (cm)									
	K (-)	0,78 %	1,56 %	3,12 %	6,25 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %	K (+)
I	0,76	0,76	0,76	0,76	0,78	0,89	1,07	1,24	1,56	2,48
II	0,76	0,76	0,76	0,76	0,79	0,82	1,01	1,24	1,56	2,48
III	0,76	0,76	0,76	0,76	0,88	0,91	1,06	1,11	1,36	2,48
IV	0,76	0,76	0,76	0,76	0,80	0,99	1,06	1,28	1,58	2,48
Rata-rata	0,76	0,76	0,76	0,76	0,8125	0,9025	1,05	1,2175	1,515	2,48

0,76 : tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri (diameter sumuran dalam cm)

K (+) : siprofloksasin

K (-) : aquades steril



Gambar 4.2 Grafik rata-rata hubungan antara konsentrasi perasan jeruk nipis (*C.aurantifolia*, Swingle) dengan daya penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae*

Berdasarkan tabel dan grafik di atas, diketahui bahwa zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 6,25% hingga konsentrasi 100%. Semakin meningkat konsentrasi perasan jeruk nipis zona hambat yang dihasilkan juga semakin lebar. Hal ini menunjukkan bahwa perasan jeruk nipis (*C.aurantifolia*, Swingle) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. dysenteriae*. Pada konsentrasi 0,78-3,12% tidak ada aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat. Oleh karena itu, KHM (Kadar Hambat Minimal) perasan jeruk nipis

(*C. aurantifolia*, Swingle) terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara kualitatif adalah pada konsentrasi 6,25%.

#### 4.2 Analisis Data

Data yang diperoleh sebelum dilakukan uji regresi, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Dari uji *Kolmogorov-Smirnov* (Lampiran A) didapatkan nilai  $p = 1,0$ . Dengan nilai  $p > \alpha$  dimana  $\alpha = 0,05$  maka dapat dikatakan bahwa data tersebut terdistribusi normal.

Selanjutnya data diuji dengan uji regresi linier (Lampiran B). Dari uji regresi linier didapatkan nilai  $sig. = 0,002$ . Oleh karena nilai  $sig.$  kurang dari 0,05, maka dapat dikatakan nilai tersebut signifikan. Signifikan berarti ada pengaruh antara variabel bebas (perasan jeruk nipis) terhadap variabel terikat (diameter zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae*).

Bentuk umum garis regresi dinyatakan dengan  $Y = a + bX$ .  $Y$  adalah variabel terikat dan  $X$  adalah variabel bebas. Berdasarkan uji regresi (Lampiran B), didapatkan nilai  $a$  dan  $b$  sebesar 0,651 dan 0,339 sehingga persamaan garis regresi menjadi:

$$Y = 0,651 + 0,339X$$

Untuk menentukan KHM secara kuantitatif (Lampiran C) dapat dimasukkan nilai  $Y = 0,76$  sehingga didapat nilai  $X = 0,3215$ . Nilai  $X$  sebesar 0,3215 harus di-antilog terlebih dahulu karena data konsentrasi ( $X$ ) yang dimasukkan ke dalam SPSS dalam bentuk logaritma dan didapatkan hasil 2,096%. Artinya pada konsentrasi 2,096 % perasan jeruk nipis belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak didapatkan zona hambat dan baru akan terbentuk zona hambat apabila konsentrasi yang digunakan di atas 2,096 %.

Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan menggunakan Uji Levene untuk mengetahui data tersebut memiliki varians data yang homogen atau tidak. Hasil dari Uji Levene (Lampiran D) didapatkan nilai *significancy* sebesar 0,001. Dengan nilai  $p < 0,05$  berarti varians data tidak

homogen. Hal ini menunjukkan syarat untuk menggunakan analisis varians satu arah (*One Way ANOVA*) tidak terpenuhi karena syarat untuk melakukan analisis dengan *One Way ANOVA* adalah data memiliki distribusi normal dan varians data homogen. Dapat diupayakan untuk melakukan transformasi data agar data memiliki distribusi yang normal dan varians data yang homogen, sehingga diharapkan masih dapat dilakukan analisis data menggunakan *One Way ANOVA* (Dahlan, 2009).

Data diupayakan untuk dilakukan transformasi (Lampiran E). Kemudian dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan Uji Levene dengan menggunakan data yang telah dilakukan transformasi tersebut (Lampiran F). Dari perhitungan tersebut, diperoleh nilai *significancy* sebesar 0,002. Dengan nilai  $p < 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa varians data tidak homogen. Hal ini menyebabkan analisis data menggunakan *One Way ANOVA* tidak dapat dilakukan melainkan menggunakan alternatif lainnya yaitu uji nonparametrik dengan menggunakan Uji *Kruskal-Wallis* (Petrie dan Sabin, 2000).

Uji *Kruskal-Wallis* merupakan uji nonparametrik yang merupakan alternatif dari uji parametrik *One Way ANOVA*. Uji ini digunakan untuk membandingkan lebih dari dua variabel yang tidak berpasangan (Dahlan, 2009). Dari perhitungan Uji *Kruskal-Wallis* (Lampiran G) didapatkan *significancy* sebesar 0,000. Dengan nilai  $p < 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa varians zona hambat yang terbentuk pada media Mueller Hinton setelah kontak dengan perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*, Swingle) dengan delapan konsentrasi yang berbeda memiliki perbedaan bermakna.

*Significancy* yang diperoleh pada Uji *Kruskal-Wallis* adalah kurang dari 0,05 sehingga perlu dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dan tidak. Ketika *significancy* yang diperoleh kurang dari 0,05 maka dapat disimpulkan data tersebut memiliki perbedaan yang bermakna. Namun ketika *significancy* yang diperoleh lebih dari 0,05 maka dapat disimpulkan data tersebut tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Berdasarkan data hasil Uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*



(Lampiran H) dapat dilihat adanya perbedaan atau tidak pada masing-masing konsentrasi terhadap konsentrasi yang lain maupun terhadap kontrol yang ada.

Hasil pembacaan uji tersebut diperoleh data pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*

No	Perlakuan		<i>p value</i>	Keterangan		
1	1	2	0,019	Ada perbedaan		
		3	0,019	Ada perbedaan		
		4	0,020	Ada perbedaan		
		5	0,020	Ada perbedaan		
		6	0,013	Ada perbedaan		
		7	0,013	Ada perbedaan		
		8	0,013	Ada perbedaan		
		9	0,013	Ada perbedaan		
		10	0,013	Ada perbedaan		
		2	2	3	0,019	Ada perbedaan
4	0,020			Ada perbedaan		
5	0,020			Ada perbedaan		
6	0,013			Ada perbedaan		
7	0,013			Ada perbedaan		
8	0,013			Ada perbedaan		
9	0,013			Ada perbedaan		
10	0,013			Ada perbedaan		
3	3			4	0,020	Ada perbedaan
				5	0,020	Ada perbedaan
		6	0,013	Ada perbedaan		
		7	0,013	Ada perbedaan		
		8	0,013	Ada perbedaan		
		9	0,013	Ada perbedaan		
		10	0,013	Ada perbedaan		
4	4	5	0,043	Ada perbedaan		
		6	0,014	Ada perbedaan		
		7	0,014	Ada perbedaan		
		8	0,014	Ada perbedaan		
		9	0,014	Ada perbedaan		
		10	0,014	Ada perbedaan		
5	5	6	0,014	Ada perbedaan		
		7	0,014	Ada perbedaan		
		8	0,014	Ada perbedaan		
		9	0,014	Ada perbedaan		
		10	0,014	Ada perbedaan		
6	6	7	1,000	Tidak ada perbedaan		
		8	1,000	Tidak ada perbedaan		
		9	0,008	Ada perbedaan		
		10	1,000	Tidak ada perbedaan		
7	7	8	1,000	Tidak ada perbedaan		
		9	0,008	Ada perbedaan		
		10	1,000	Tidak ada perbedaan		
8	8	9	0,008	Ada perbedaan		
		10	1,000	Tidak ada perbedaan		
9	9	10	0,008	Ada perbedaan		

**Keterangan:**

- 1 = Perlakuan 1; konsentrasi perasan jeruk nipis 100%
- 2 = Perlakuan 2; konsentrasi perasan jeruk nipis 50%
- 3 = Perlakuan 3; konsentrasi perasan jeruk nipis 25%
- 4 = Perlakuan 4; konsentrasi perasan jeruk nipis 12,5%
- 5 = Perlakuan 5; konsentrasi perasan jeruk nipis 6,25%
- 6 = Perlakuan 6; konsentrasi perasan jeruk nipis 3,12%
- 7 = Perlakuan 7; konsentrasi perasan jeruk nipis 1,56%
- 8 = Perlakuan 8; konsentrasi perasan jeruk nipis 0,78%
- 9 = Perlakuan 9; kontrol positif (suspensi siprofloksasin 5 µg/ml)
- 10 = Perlakuan 10; kontrol negatif (aquades steril)

**4.3 Pembahasan**

Perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*, Swingle) diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri Gram negatif yaitu *S. dysenteriae*. Bakteri ini dipilih karena merupakan bakteri patogen penyebab penyakit disentri atau diare yang disertai lendir atau darah. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode difusi cara sumuran. Metode difusi cara sumuran adalah yang sering digunakan karena pelaksanaannya mudah, praktis, tidak mahal dan pengukurannya tidak sulit. Bukti bahwa suatu ekstrak uji memiliki aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening atau zona hambat (*radical zone*) di sekitar sumuran. Zona hambat ini kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antibakterinya. Konsentrasi perasan jeruk nipis yang digunakan untuk aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* adalah 0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%.

Pembuatan konsentrasi perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*, Swingle) dimulai dengan perasan murni dari jeruk nipis dan selanjutnya di tambahkan dengan aquades steril. Aquades steril digunakan saat melakukan pengenceran bertingkat dan sebagai kontrol negatif. Aquades steril dipilih karena tidak toksik dan tidak bersifat bakterisid.

Kontrol positif menggunakan serbuk siprofloksasin yang dicampur dengan aquades steril. Pemilihan obat ini didasarkan karena pada penelitian yang dilakukan Agtini *et al.* (2005) dilaporkan bahwa spesies dari *Shigella sp.* telah resisten terhadap ampisilin, trimethopim-sulfametoksazol, kloramfenikol dan

tetrasiklin tetapi belum terjadi resistensi terhadap asam nalidiksida, siprofloksasin dan seftriakson. Data tersebut diperkuat oleh Sya'roni (2006) yang menyatakan bahwa kuman *Shigella sp.* sudah banyak yang resisten terhadap antibiotik seperti sulfonamid, streptomisin, kloramfenikol, tetrasiklin, ampisilin dan sulfametoksazol. Siprofloksasin adalah salah satu antibiotik yang termasuk golongan fluorokuinolon. Fluorokuinolon ini mempunyai daya antibakteri yang sangat kuat terhadap bakteri Gram negatif, sedangkan terhadap bakteri Gram positif daya antibakterinya kurang baik. Mekanisme kerja obat ini adalah dengan menghambat kerja enzim DNA girase pada tubuh bakteri dan bersifat bakterisidal (Setiabudy, 2009).

Dari Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa zona hambatan mulai terbentuk pada konsentrasi 6,25% dengan rata-rata diameter sebesar 0,8125 cm. Pada konsentrasi 100% didapatkan rata-rata diameter sebesar 1,515 cm. Kontrol negatif dengan aquades steril tidak didapatkan zona hambatan sedangkan kontrol positif dengan siprofloksasin didapatkan rata-rata diameter sebesar 2,48 cm. Sedangkan dari hasil uji *Kruskal-Wallis* menyatakan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*, Swingle) terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*. Dari Tabel 4.2 dilakukan perbandingan dengan kontrol negatif untuk menilai daya hambat secara statistik. Didapatkan pada konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; dan 6,25% memiliki daya hambat yang bermakna secara statistik. Selain itu, pada Tabel 4.2 juga dilakukan perbandingan dengan kontrol positif yang bertujuan untuk menilai besarnya potensi daya hambat antibakteri. Didapatkan pada konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,25%; dan 0,75% memiliki potensi daya hambat antibakteri yang berbeda secara signifikan apabila dibandingkan dengan kontrol positif yang berupa siprofloksasin. Dengan demikian dari Tabel 4.1 dan Tabel 4.2, dapat disimpulkan bahwa perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*, Swingle) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*.

Menurut Volk dan Wheeler (1993) serta Pelczar *et al.* (1988) faktor yang mempengaruhi kerja zat antibakteri secara efektif terhadap organisme salah satunya ditentukan oleh zat antibakterinya. Sehingga dapat disimpulkan juga

bahwa terdapat perbedaan kemampuan antibakteri berbagai derajat konsentrasi perasan yang ditunjukkan dengan semakin besarnya diameter zona hambat mulai dari konsentrasi 6,25% sampai dengan 100%. Semakin tinggi konsentrasi perasan jeruk nipis maka semakin besar daya antibakterinya dan semakin besar pula diameter zona hambatnya.

Kemampuan perasan jeruk nipis sebagai antibakteri telah terbukti pada berbagai penelitian. Dari penelitian yang dilakukan oleh Taiwo *et al.* (2007) telah membuktikan bahwa jeruk nipis mempunyai efek antibakteri terhadap *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Klebseilla sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.* dan *Salmonella sp.* Menurut penelitian lain yang dilakukan oleh Jayana *et al.* (2010), perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*, Swingle) dapat digunakan sebagai terapi obat untuk anti-inflamasi, anti-reumatik, anti-scorbutic, anti-koagulan, anti-spasmodik dan anti-infeksi. Aktivitas antibakteri tersebut diduga berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalam perasan jeruk nipis yaitu flavonoid (Jayana *et al.*, 2010).

Flavonoid mempunyai beragam sifat biologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, dan antikanker (Fernandez *et al.*, 2006). Mekanisme antibakteri senyawa flavonoid diduga dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelezar dan Chan, 1998 dalam Riza, 2010). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi *DNA gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri dihambat (Gunawan, 2009).

Penentuan KHM (Kadar Hambat Minimal) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Berdasarkan tabel, besarnya KHM perasan jeruk nipis (*C. aurantifolia*, Swingle) adalah sebesar 6,25%, karena 6,25% adalah konsentrasi terkecil yang mampu menimbulkan zona hambat di sekitar sumuran sedangkan pada konsentrasi 0,78-3,12% masih belum terbentuk zona hambat.

Analisis data menggunakan uji regresi, yaitu untuk mengetahui apakah ada pengaruh perasan jeruk nipis terhadap aktivitas *S. dysenteriae*. Sebelumnya dilakukan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov* untuk mengetahui distribusi data dan hasilnya data terdistribusi normal (Lampiran A). Selanjutnya dilakukan uji

regresi linier (Lampiran B) didapatkan nilai  $sig. = 0,002$ . Oleh karena nilai  $sig.$  kurang dari  $0,05$ , maka dapat dikatakan nilai tersebut signifikan. Signifikan berarti ada pengaruh antara variabel bebas (perasan jeruk nipis) terhadap variabel terikat (diameter zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae*) berupa terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran. Persamaan garis regresi yang terbentuk (Lampiran C) adalah  $Y = 0,651 + 0,339X$ , dengan Y adalah diameter zona hambat dan X adalah konsentrasi perasan jeruk nipis. Dari persamaan garis regresi ini dapat diketahui KHM secara kuantitatif (Lampiran C) yaitu dengan memasukkan nilai  $Y = 0,76$  (diameter sumuran) sehingga didapat nilai  $X = 0,3215$ . Nilai ini di-antilog terlebih dahulu sehingga didapatkan nilai  $X = 2,096 \%$ . Hal ini berarti pada konsentrasi  $2,096 \%$  perasan jeruk nipis belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak didapatkan zona hambat. Zona hambat baru terbentuk apabila diberikan konsentrasi di atas  $2,096 \%$ .



## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

1. Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysentriae*.
2. KHM perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) secara kualitatif adalah pada konsentrasi 6,25% dan secara kuantitatif pada konsentrasi diatas 2,096 %.

### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan uji lanjutan seperti uji secara in vivo, uji toksisitas, dan uji klinis agar perasan jeruk nipis dapat dimanfaatkan secara maksimal.
2. Perlu dilakukan penelitian terhadap akar dan batang sehingga diketahui potensi tumbuhan jeruk nipis sebagai antibakteri.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tidak hanya terhadap bakteri Gram negatif, tetapi juga bakteri Gram positif, jamur, atau bahkan parasit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agtini, Soeharno, Lesmana, Punjabi, Simanjuntak, Wangsasaputra, Nurdin, Pulungsih, Rofiq, Santoso, Pujarwoto, Sjahrurachman, Sudarmono, Deen, Ali, Lee, Kim, Han, Park, Suwandono, Ingerani, Oyoyo, Campbell, Beecham, Corwin, & Clemens. 2005. The Burden of Diarrhoea, Shigellosis, and Cholera in North Jakarta, Indonesia: Findings From 24 Months Surveillance. *BMC Infectious Diseases* [serial online]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/5/89/prepub>. [14 Desember 2011]
- Aibinu, Adenipekun, Adelowotan, Ogunsanya, & Odugbemi. 2007. Evaluation of The Antimicrobial Properties of Different Parts of *Citrus aurantifolia* (Lime Fruit) as Used Locally. *Afr. J. Trad. Complementary and Alternative Medicines*. Vol. 4(2): 185-190.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, dan Adelberg*. Edisi 23. Alih bahasa oleh Hartanto *et al.* 2007. Jakarta: EGC.
- Collier, L, Topley, & Wilson's. 2001. *Microbiology and Microbial Infections*, 9<sup>th</sup> edition, Volume 4 : Medical Mycology, Arnold, London.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* Vol. 12(4): 564-582.
- Dahlan, M. S. 2009. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Dalimarta, Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention Coordinating Center for Infectious Diseases National Center for Zoonotic, Vector-Borne and Enteric Diseases Division of Foodborne, Bacterial and Mycotic Diseases Atlanta, Georgia. 2006. *Shigella Annual Summary*. Georgia: US Department of Health and Human Services.
- Duin, D. V., Miranda, C., dan Husni, E. 2011. Concurrent Influenza and Shigellosis Outbreaks, Papua New Guinea, 2009. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 17(4): 756-758 [serial online] [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid). [16 Desember 2011].

- Fernandez, Wasowski, Loscalzo, Granger, Johnston, Paladini, & Marder. 2006. Central Nervous System Depresant Action of Flavonoid Glycosides. *European Journal of Pharmacology*. Vol. 539: 168-176.
- Ganiswarna, S. G. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gattuso, Barreca, Gargiulli, Leuzzi, & Caristi. 2007. Flavonoid Composition of *Citrus* Juices. *Molecules*. Vol. 12(1): 1641-1673.
- Gunawan, I. W. A. 2009. *Potensi Buah Pare (Momordica charantia l) Sebagai Antibakteri Salmonella typhimurium*. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mahasaraswati Denpasar.
- Jagessar, R. C., Mohamed, A., & Gomes, G. 2008. An Evaluation of the Antibacterial and Antifungal Activity of Leaf Extracts of *Momordica charantia* Against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nature and Science*. ISSN 1545-0740. Vol. 6(1): 1-14.
- Jayana, Prasai, Singh, dan Yami. 2010. Study of Antimicrobial of Lime Juice Against *Vibrio Cholerae*. *Scientific World*. Vol. 8(8): 44-46.
- Kurniawati, T. 2009. Dasar Pemberantasan Penyakit Food and Waterborne Disease. [artikel online]. <http://bestmuslimah.wordpress.com/2011/03/15/dasar-pemberantasan-penyakit-shigella-dysentri/>. [04 Desember 2011].
- Lalitha, M.K. 2008. *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testis*. Voell ove: Indian Association of Medical Microbiologist.
- Lasmayanty, M. 2007. *Potensi Antibakteri Propolis Lebah Madu Trigona spp. Terhadap Bakteri Kariogenik (Streptococcus mutans)*. Bogor: Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Mendoza, M.T. 1998. Antimicrobial Susceptibility Testing Method. *Phil J Microbial Infect Dis.*, 27(3):113-115.
- Mufida, D. C., Suswati, E., dan Shodikin, A. M. 2006. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Program Studi Ilmu Keperawatan*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Jember.
- Parry, Thuy, Dongol, Karkey, Vinh, Chinh, Duy, Nga, Campbell, Hoang, Arjyal, Bhutta, Bhattacharya, Agtini, Dong, Canh, Naheed, Wain, Hien, Basnyat, Ochiai, Clemens, Farrar, Dolecek, & Baker. 2010. Suitable Disk



Antimicrobial Susceptibility Breakpoints Defining *Salmonella enterica* Serovar Typhi Isolated with Reduced Susceptibility to Fluoroquinolones. *Antimicrobial, Agent and Chemotherapy*. Vol. 54(12): 5201-5208.

Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., dan Pelezar, M. F. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.

Petrie & Sabin. 2000. *Medical Statistic at a Glance*. USA: Blackwell Sciences.

Pranitasari, Novi. 2011. Klasifikasi Tumbuhan Berbiji Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). [artikel online] <http://novi-biologi.com/2011/06/jeruk-nipis-citrus-aurantifolia.html>. [November 2011].

Pratiknya, A. W. 2001. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Ed. 1 Cet. 4. Jakarta: PT RajaGrafindo Persada.

Putra, G. G. G. 2004. "Efek Hambatan Perasan Bawang Putih Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro". Tidak diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Riza, Nimas Fahdiyatur. 2010. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *E. coli*." Tidak diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Saeed, S. & Tariq, P. 2005. Antibacterial Activities of *Mentha piperita*, *Pisum sativum*, and *Momordica charantia*. *Pak. J. Bot.* Vol. 37(4): 997-1001.

Santoso, S. 2008. *Analisis Regresi dan Korelasi (Materi VIII : Analisis Regresi dan Korelasi Sederhana)*. <http://ssantoso.blogspot.com/2008/08/analisis-regresi-dan-korelasi-materi.html>. [07 Januari 2012].

Sarin, R. 2005. Useful Metabolites from Plant Tissue Cultures. *Biotechnologi*. Vol. 4(2): 79-93.

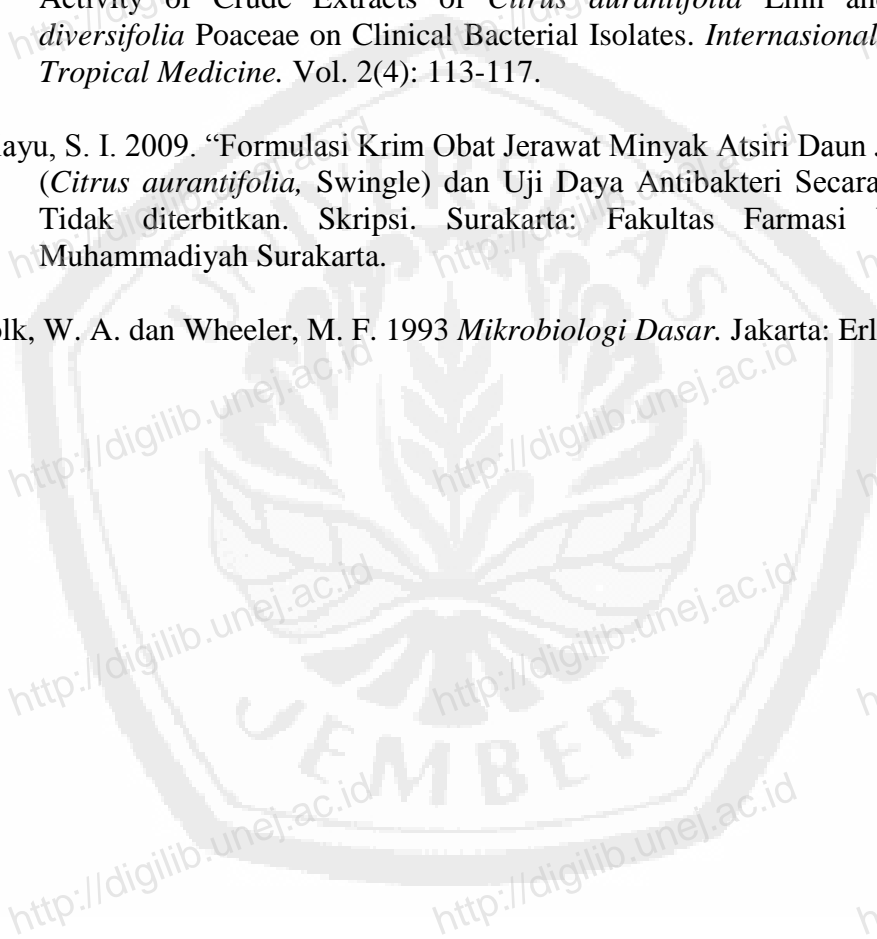
Sarwono, B. 2001. *Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Setiabudy, Rianto. 2009. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Subroto, A. & Saputro, H. 2011. *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. <http://www.deherba.com/kandungan-sarang-semut.html>. [25 Desember 2011].

Suswati, E. dan Mufida, D, C. 2009. *Petunjuk Praktikum Fakultas Farmasi*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

- Suswati, E., Mufida, D. C., dan Shodikin, A. M. 2009. *Diktat Mikrobiologi Bakteri Enterobacter*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Sya'roni, Akmal. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi Keempat Jilid III*. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Taiwo, Oyekanmi, Adesiji, Opaleye, & Adeyeba. 2007. *In vitro* Antimicrobial Activity of Crude Extracts of *Citrus aurantifolia* Linn and *Tithonia diversifolia* Poaceae on Clinical Bacterial Isolates. *Internasional Journal of Tropical Medicine*. Vol. 2(4): 113-117.
- Triayu, S. I. 2009. "Formulasi Krim Obat Jerawat Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, Swingle) dan Uji Daya Antibakteri Secara In Vitro". Tidak diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Volk, W. A. dan Wheeler, M. F. 1993 *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Erlangga.



## LAMPIRAN A Uji Normalitas *Kolmogorov Smirnov*

Tabel data hasil penelitian

Konsentrasi (%)	Diameter (cm)	Konsentrasi (logaritma)
100	1,515	2,00
50	1,2175	1,70
25	1,05	1,40
12,5	0,9025	1,10
6,25	0,8125	0,80
3,12	0,76	0,50
1,56	0,76	0,20
0,78	0,76	-0,10

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		logkonsentrasi	diametercm
N		8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.9500	.9722
	Std. Deviation	.73485	.27420
Most Extreme Differences	Absolute	.105	.225
	Positive	.105	.225
	Negative	-.105	-.220
Kolmogorov-Smirnov Z		.297	.637
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	.811

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## LAMPIRAN B Uji Regresi Linier

Tabel data hasil penelitian

Konsentrasi (%)	Diameter (cm)	Konsentrasi (logaritma)
100	1,515	2,00
50	1,2175	1,70
25	1,05	1,40
12,5	0,9025	1,10
6,25	0,8125	0,80
3,12	0,76	0,50
1,56	0,76	0,20
0,78	0,76	-0,10

Variables Entered/Removed<sup>b</sup>

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	logkonsentrasi <sup>a</sup>	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: diametercm

Model Summary<sup>b</sup>

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.907 <sup>a</sup>	.823	.794	.12447

a. Predictors: (Constant), logkonsentrasi

b. Dependent Variable: diametercm

**ANOVA<sup>b</sup>**

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1 Regression	.433	1	.433	27.973	.002 <sup>a</sup>
Residual	.093	6	.015		
Total	.526	7			

a. Predictors: (Constant), logkonsentrasi

b. Dependent Variable: diametercm

**Coefficients<sup>a</sup>**

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.651	.075		8.666	.000
	logkonsentrasi	.339	.064	.907	5.289	.002

a. Dependent Variable: diametercm

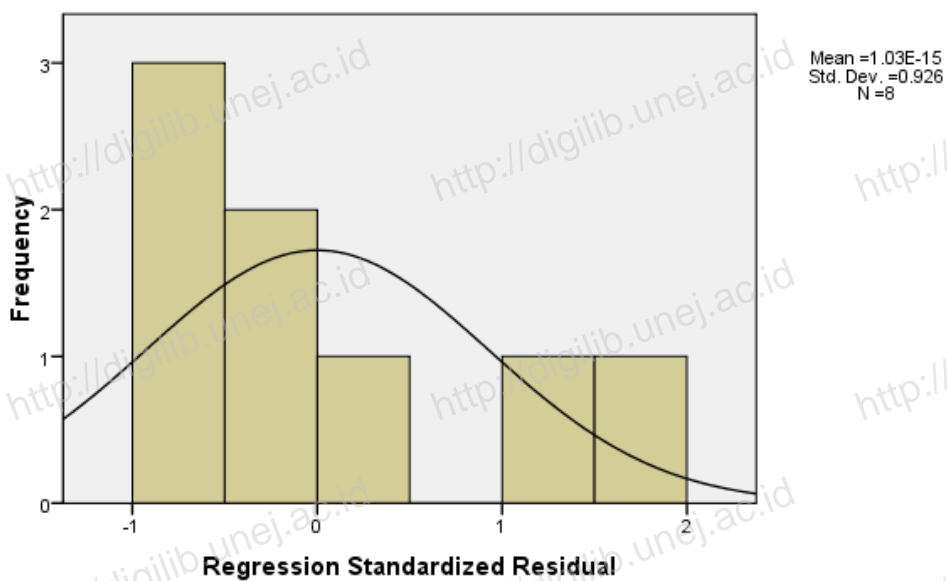
Residuals Statistics<sup>a</sup>

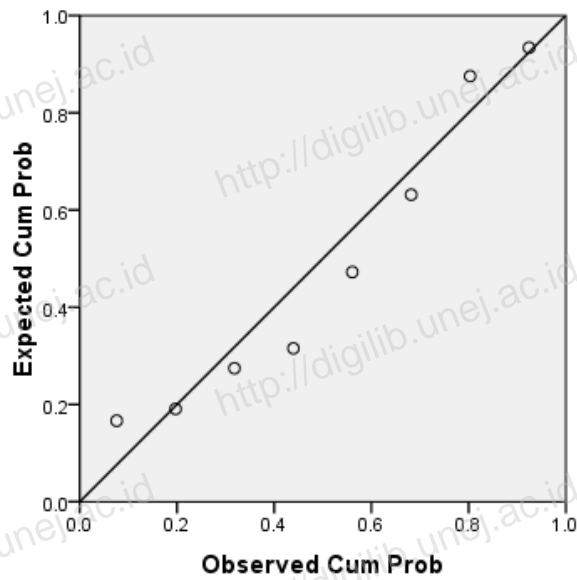
	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	N
Predicted Value	.6167	1.3277	.9722	.24881	8
Std. Predicted Value	-1.429	1.429	.000	1.000	8
Standard Error of Predicted Value	.045	.080	.061	.014	8
Adjusted Predicted Value	.5143	1.2294	.9491	.25276	8
Residual	-.12048	.18729	.00000	.11523	8
Std. Residual	-.968	1.505	.000	.926	8
Stud. Residual	-1.038	1.970	.078	1.130	8
Deleted Residual	-.13863	.32107	.02311	.17366	8
Stud. Deleted Residual	-1.047	3.027	.246	1.437	8
Mahal. Distance	.042	2.042	.875	.816	8
Cook's Distance	.001	1.386	.307	.513	8
Centered Leverage Value	.006	.292	.125	.117	8

a. Dependent Variable: diametercm

Histogram

Dependent Variable: diametercm



**Normal P-P Plot of Regression Standardized Residual****Dependent Variable: diametercm**

### LAMPIRAN C Persamaan Garis Regresi dan KHM Secara Kuantitatif

Persamaan garis regresi

$$Y = a + bX$$

Dari hasil uji regresi (tabel Coefficients) didapat nilai  $a = 0,651$  dan  $b = 0,339$ , sehingga persamaannya menjadi:

$$Y = 0,651 + 0,339X$$

$Y$  = diameter zona hambat (variabel terikat)

$X$  = adalah konsentrasi ekstrak (variabel bebas)

Untuk penentuan KHM secara kuantitatif, dimasukkan nilai  $Y = 0,76$  (diameter sumuran).

$$Y = 0,651 + 0,339X$$

$$0,76 = 0,651 + 0,339X$$

$$0,109 = 0,339X$$

$$X = 0,3215$$

$$\text{Anti log } X = 2,096$$

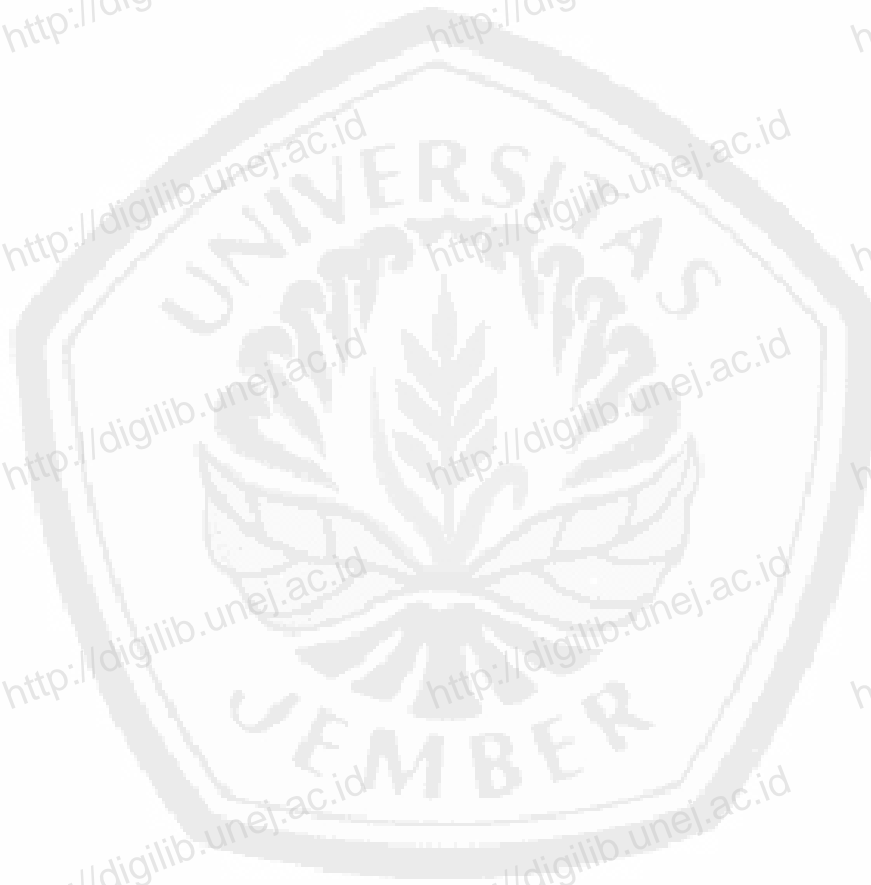
Karena nilai  $X$  merupakan log konsentrasi ekstrak, maka untuk mendapatkan nilai konsentrasi sebenarnya  $X$  harus di-antilog, sehingga didapatkan hasil 2,096 %. Hal ini berarti pada konsentrasi 2,096 % perasan jeruk nipis belum dapat menimbulkan hambatan pada pertumbuhan bakteri. Perasan jeruk nipis baru menunjukkan zona hambat pada konsentrasi di atas 2,096 %.



**Lampiran D. Uji Homogenitas Levene****Test of Homogeneity of Variances**

diametercm

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,590	9	30	,001



**Lampiran E. Transformasi Data**

	Perlakuan	Diameter (cm)	Logdiameter
1	100%	1,56	,19
2	50%	1,24	,09
3	25%	1,07	,03
4	12,5%	,89	-,05
5	6,25%	,78	-,11
6	3,12%	,76	-,12
7	1,56%	,76	-,12
8	0,78%	,76	-,12
9	K (+)	2,48	,39
10	K (-)	,76	-,12
11	100%	1,56	,19
12	50%	1,24	,09
13	25%	1,01	,00
14	12,5%	,82	-,09
15	6,25%	,79	-,10
16	3,12%	,76	-,12
17	1,56%	,76	-,12
18	0,78%	,76	-,12
19	K (+)	2,48	,39
20	K (-)	,76	-,12
21	100%	1,36	,13
22	50%	1,11	,05
23	25%	1,06	,03
24	12,5%	,91	-,04
25	6,25%	,88	-,06
26	3,12%	,76	-,12
27	1,56%	,76	-,12
28	0,78%	,76	-,12
29	K (+)	2,48	,39
30	K (-)	,76	-,12
31	100%	1,58	,20
32	50%	1,28	,11
33	25%	1,06	,03
34	12,5%	,99	,00

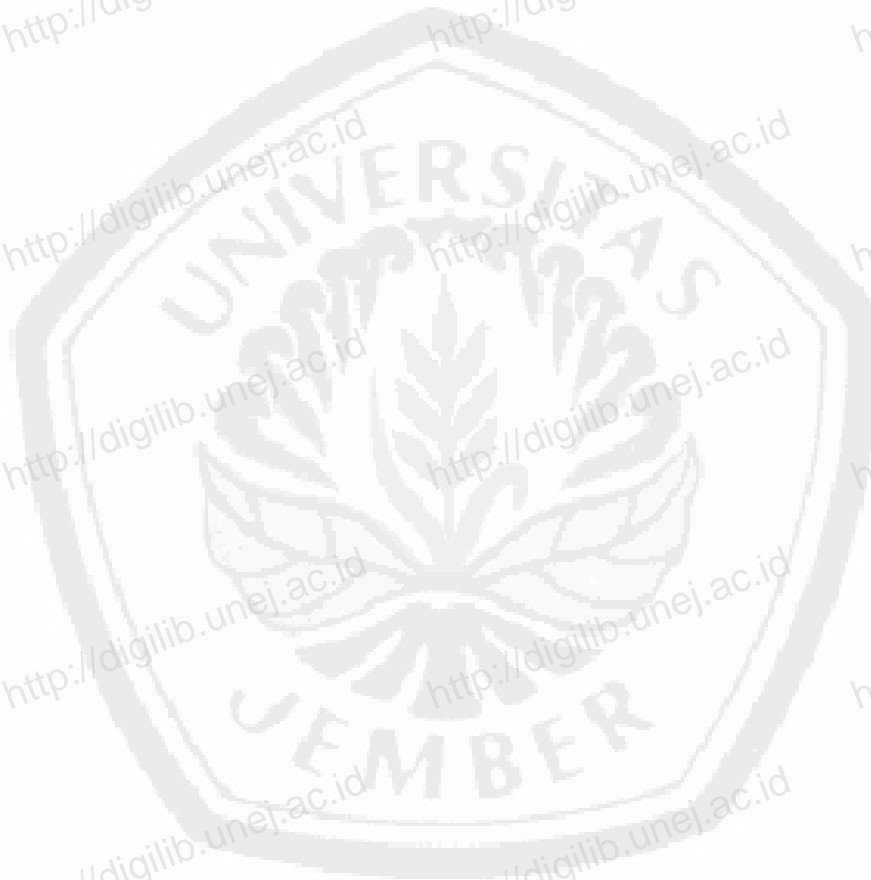
35	6,25%	,80	-,10
36	3,12%	,76	-,12
37	1,56%	,76	-,12
38	0,78%	,76	-,12
39	K (+)	2,48	,39
40	K (-)	,76	-,12



**Lampiran F. Uji Homogenitas Levene dari Data Transformasi****Test of Homogeneity of Variances**

trn\_diametercm

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,030	9	30	,002



### Lampiran G. Uji Nonparametrik Kruskal-Wallis

Ranks			
	konsentrasi	N	Mean Rank
diametercm	100%	4	34,50
	50%	4	30,50
	25%	4	26,50
	12,5%	4	22,25
	6,25%	4	18,75
	3,12%	4	8,50
	1,56%	4	8,50
	0,78%	4	8,50
	K(+)	4	38,50
	K(-)	4	8,50
	Total	40	

#### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	diametercm
Chi-square	38,757
df	9
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
konsentrasi

## Lampiran H. Uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan Metode *Mann-Whitney*

### H.1 NPar Tests (1&2) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	6,50	26,00
	50%	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,337
Asymp. Sig. (2-tailed)	,019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.2 NPar Tests (1&3) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	6,50	26,00
	25%	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,337
Asymp. Sig. (2-tailed)	,019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.3 NPar Tests (1&4) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	6,50	26,00
	12,5%	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.4 NPar Tests (1&5) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	6,50	26,00
	6,25%	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.5 NPar Tests (1&6) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	6,50	26,00
	3,12%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.6 NPar Tests (1&7) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	6,50	26,00
	1,56%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi



### H.7 NPar Tests (1&8) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	6,50	26,00
	0,78%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.8 NPar Tests (1&9) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	2,50	10,00
	K(+)	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.9 NPar Tests (1&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	100%	4	6,50	26,00
	_ K(-)	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.10 NPar Tests (2&3) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50%	4	6,50	26,00
	_ 25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,337
Asymp. Sig. (2-tailed)	,019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.11 NPar Tests (2&4) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50%	4	6,50	26,00
	12,5%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.12 NPar Tests (2&5) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50%	4	6,50	26,00
	6,25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.13 NPar Tests (2&6) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50%	4	6,50	26,00
	3,12%	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.14 NPar Tests (2&7) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50%	4	6,50	26,00
	1,56%	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.15 NPar Tests (2&8) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50%	4	6,50	26,00
	0,78%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.16 NPar Tests (2&9) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50%	4	2,50	10,00
	K(+)	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.17 NPar Tests (2&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50%	4	6,50	26,00
	_ K(-)	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.18 NPar Tests (3&4) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25%	4	6,50	26,00
	_ 12,5%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.19 NPar Tests (3&5) Mann-Whitney Test

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25%	4	6,50	26,00
	6,25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.20 NPar Tests (3&6) Mann-Whitney Test

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25%	4	6,50	26,00
	3,12%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.21 NPar Tests (3&7) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25%	4	6,50	26,00
	1,56%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.22 NPar Tests (3&8) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25%	4	6,50	26,00
	0,78%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi



### H.23 NPar Tests (3&9) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25%	4	2,50	10,00
	— K(+)	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.24 NPar Tests (3&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25%	4	6,50	26,00
	— K(-)	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.25 NPar Tests (4&5) Mann-Whitney Test

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5%	4	6,25	25,00
_	6,25%	4	2,75	11,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	11,000
Z	-2,021
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.26 NPar Tests (4&6) Mann-Whitney Test

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5%	4	6,50	26,00
_	3,12%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.27 NPar Tests (4&7) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5%	4	6,50	26,00
_	1,56%	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.28 NPar Tests (4&8) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5%	4	6,50	26,00
_	0,78%	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.29 NPar Tests (4&9) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5%	4	2,50	10,00
	_ K(+)	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.30 NPar Tests (4&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5%	4	6,50	26,00
	_ K(-)	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.31 NPar Tests (5&6) Mann-Whitney Test

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25%	4	6,50	26,00
	3,12%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.32 NPar Tests (5&7) Mann-Whitney Test

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25%	4	6,50	26,00
	1,56%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.33 NPar Tests (5&8) Mann-Whitney Test

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25%	4	6,50	26,00
	0,78%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.34 NPar Tests (5&9) Mann-Whitney Test

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25%	4	2,50	10,00
	K(+)	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.35 NPar Tests (5&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25%	4	6,50	26,00
	_ K(-)	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.36 NPar Tests (6&7) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12%	4	4,50	18,00
	_ 1,56%	4	4,50	18,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.37 NPar Tests (6&8) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12%	4	4,50	18,00
_	0,78%	4	4,50	18,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.38 NPar Tests (6&9) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12%	4	2,50	10,00
_	K(+)	4	6,50	26,00
Total		8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,646
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi



### H.39 NPar Tests (6&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12%	4	4,50	18,00
	_ K(-)	4	4,50	18,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.40 NPar Tests (7&8) Mann-Whitney Test

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	1,56%	4	4,50	18,00
	_ 0,78%	4	4,50	18,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

#### H.41 NPar Tests (7&9) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	1,56%	4	2,50	10,00
	_ K(+)	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,646
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

#### H.42 NPar Tests (7&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	1,56%	4	4,50	18,00
	_ K(-)	4	4,50	18,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.43 NPar Tests (8&9) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	0,78%	4	2,50	10,00
	_ K(+)	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,646
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

### H.44 NPar Tests (8&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	0,78%	4	4,50	18,00
	_ K(-)	4	4,50	18,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	8,000
Wilcoxon W	18,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

#### H.45 NPar Tests (9&10) Mann-Whitney Test

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	K(+)	4	6,50	26,00
	– K(-)	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	diametercm
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,646
Asymp. Sig. (2-tailed)	,008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: konsentrasi

#### Keterangan:

- 1 = Perlakuan 1; konsentrasi perasan jeruk nipis 100%
- 2 = Perlakuan 2; konsentrasi perasan jeruk nipis 50%
- 3 = Perlakuan 3; konsentrasi perasan jeruk nipis 25%
- 4 = Perlakuan 4; konsentrasi perasan jeruk nipis 12,5%
- 5 = Perlakuan 5; konsentrasi perasan jeruk nipis 6,25%
- 6 = Perlakuan 6; konsentrasi perasan jeruk nipis 3,12%
- 7 = Perlakuan 7; konsentrasi perasan jeruk nipis 1,56%
- 8 = Perlakuan 8; konsentrasi perasan jeruk nipis 0,78%
- 9 = Perlakuan 9; kontrol positif (suspensi siprofloksasin 5 µg/ml)
- 10 = Perlakuan 10; kontrol negatif (aquades steril)