



**UJI KEMAMPUAN MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh

**Freicillya Rebecca Clorinda**

**NIM 082010101039**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2012**



**UJI KEMAMPUAN MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Freicillya Rebecca Clorinda  
NIM 082010101039**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

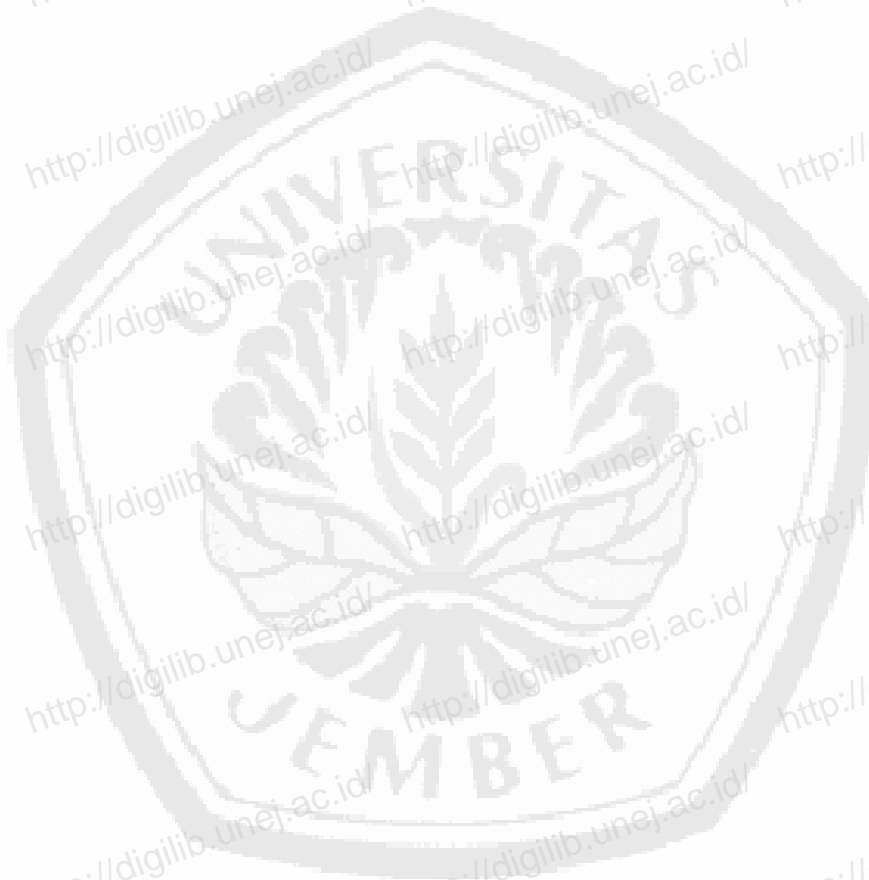
1. Ibunda Titik Suwarni dan Ayahanda Yulianto, S.H yang selalu memberikan pengorbanan, dukungan, doa, semangat, curahan kasih sayang dan cinta yang luar biasa sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
2. Pembimbing skripsi I yaitu dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes. dan pembimbing skripsi II dr. Sugiyanta, M.Ked. terima kasih untuk segala bimbingan dan ilmu yang bermanfaat selama saya menyusun skripsi.
3. Guru-guruku tercinta yang telah mendidik dengan penuh kesabaran mulai dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
4. Saudara sejawatku Fakultas Kedokteran angkatan 2008 *the Doctors*. Terimakasih untuk kebersamaannya selama hampir 4 tahun ini.
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## MOTTO

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

atau

Berdoalah kepadaKu niscaya akan Aku perkenankan bagimu.  
(terjemahan Surat *Al-Mukmin* ayat 60)\*)



---

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

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Freicillya Rebecca Clorinda

NIM : 082010101039

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Uji Kemampuan Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa) Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus 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, 29 Mei 2012  
Yang menyatakan,

Freicillya Rebecca Clorinda  
NIM 082010101039

**SKRIPSI**

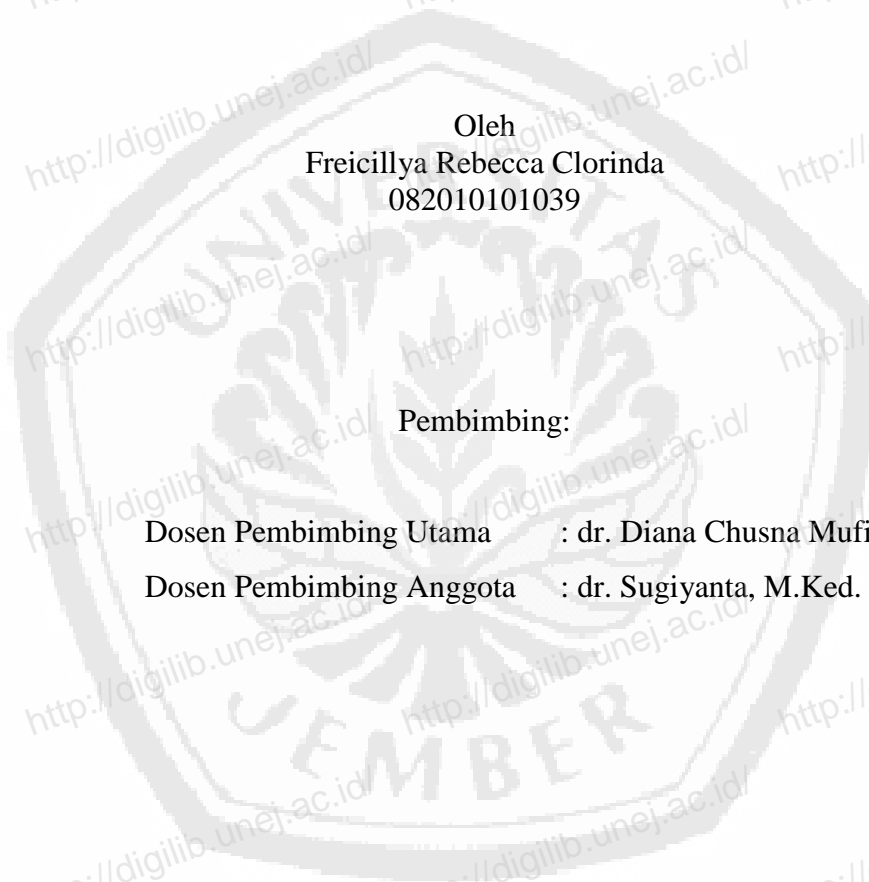
**UJI KEMAMPUAN MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO***

Oleh  
Freicillya Rebecca Clorinda  
082010101039

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Sugiyanta, M.Ked.



## PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Uji Kemampuan Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa) Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus secara In Vitro* telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 29 Mei 2012

tempat : Ruang Sidang Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

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

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

Penguji III,

Penguji IV,

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

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

Mengesahkan  
Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes.  
NIP 1970021 4 199903 2 001

**RINGKASAN**

**Uji Kemampuan Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*;** Freicillya Rebecca Clorinda, 082010101039; 2012; 41 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Infeksi *Staphylococcus aureus* masih menjadi perhatian di bidang kedokteran. Hal ini disebabkan oleh karena tingginya tingkat morbiditas dan mortalitas pada infeksi *S. aureus*. Di Amerika dari 94.000 kasus infeksi yang ada, sekitar 18.650 mengalami kematian akibat infeksi *S. aureus*. Infeksi *S. aureus* mencapai 70% di Asia pada tahun 2007 dan di Indonesia pada tahun 2006 mencapai 23,5%. *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia, namun ketika kulit tersebut rusak atau terbuka karena beberapa alasan, maka bakteri dapat masuk melalui luka dan menyebabkan infeksi. Infeksi *S. aureus* juga dapat menyebabkan penyakit yang serius dan mengancam jiwa bila sampai masuk dalam aliran darah, misalnya pneumonia, meningitis, endokarditis, dan sepsis. Beberapa tahun terakhir *S. aureus* menunjukkan resistensi terhadap antibiotik yang biasa digunakan. Banyaknya resistensi antibiotik terhadap *S. aureus* ini, maka diperlukan suatu pengembangan inovasi baru mengenai obat alternatif yang memanfaatkan obat herbal sebagai antibiotik salah satunya adalah minyak jintan hitam yang mengandung banyak zat aktif, diantaranya adalah *Thymoquinone*, *Thymohydroquinone* dan *Tannin* yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan minyak jintan hitam dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan kadar hambatan minimum (KHM) minyak jintan hitam terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Jenis penelitian yang digunakan adalah *True Experimental Design* dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah bakteri *S. aureus* yang ditanam dalam agar Mueller Hinton yang kemudian diberi perlakuan dengan minyak jintan hitam dengan beberapa konsentrasi. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah minyak jintan hitam dengan konsentrasi 0,39% v/v; 0,78% v/v; 1,56% v/v; 3,12% v/v; 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v; 50% v/v sedangkan kontrol negatif adalah NaCMC 0,5% dan kontrol positif adalah suspensi sefaleksin.



Data yang diperoleh adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media Mueller Hinton tiap konsentrasi 0,39% v/v; 0,78% v/v; 1,56% v/v; 3,12% v/v; 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v; 50% v/v berturut-turut yaitu 0,76 cm; 0,76 cm; 0,76 cm; 0,81 cm; 0,90 cm; 1,05 cm; 1,22 cm; 1,52 cm. 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. Uji selanjutnya adalah uji regresi linier untuk menentukan persamaan garis regresi, sehingga didapatkan nilai KHM kuantitatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak jintan hitam mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* secara *in vitro*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya diameter zona hambat pada media Mueller Hinton. Semakin tinggi konsentrasi minyak jintan hitam maka kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* semakin besar. Minyak jintan hitam memiliki Kadar Hambat Minimum (KHM) terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara kualitatif sebesar 3,12% v/v dan secara kuantitatif menggunakan Uji Regresi Linier didapatkan KHM sebesar 1,056% v/v.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul. *Uji Kemampuan Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa) Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus 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. Allah SWT yang atas segala kemudahan dari-Nya skripsi ini bisa berjalan dengan lancar.
2. 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;
3. Pembimbing skripsi I yaitu dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes. dan pembimbing skripsi II dr. Sugiyanta, M.Ked. terima kasih untuk yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
4. dr. Enny Suswati, M.Kes. dan dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked. sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Orang tua tercinta, Ibunda Titik Suwarni dan Ayahanda Yulianto, S.H yang tiada henti-hentinya selalu memberikan dukungan, doa, semangat, dan curahan kasih sayang dan cinta yang luar biasa serta pengorbanan yang telah dilakukan untukku setiap waktu. Melihat senyum dan kebahagiaan mereka setiap waktu adalah harapan terbesarku;
6. Budhe Sutariyah Endang Juwati dan nenek Sumini yang selalu memperhatikan, memberi semangat, do'a dan tidak pernah bosan menjenguk;
7. Sepupu ku tercinta mbak Devi Sumarlik dan Subur Prasetyo yang selalu memberikan semangat, do'a dan keceriaan disaat penat mulai melanda;

8. Sahabat sekaligus saudaraku tercinta Dyna Ayu Mukhitasari, Putri Swandayani, Ainun twifianti, Nindhita Retno Pradani, Pristhania Riska dan Deliar Ismawaddah yang hampir selalu jadi teman berbagi suka dan dukanya kuliah di Fakultas Kedokteran. Terimakasih untuk persahabatannya selama kurang lebih 4 tahun ini semoga persahabatan kita tetap awet selamanya;
9. Teman-teman angkatan 2008 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
10. Teman-teman kos M 31 Silfi, Sofie, Dwita, Alfi, Vita, Umi, Ais yang selalu memberikan dukungan dan keceriaan dalam penyusunan skripsi ini;
11. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Univeritas Jember, Mbak Lilis terima kasih atas bantuan dan kerjasama, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, Mei 2012

Penulis

## DAFTAR ISI

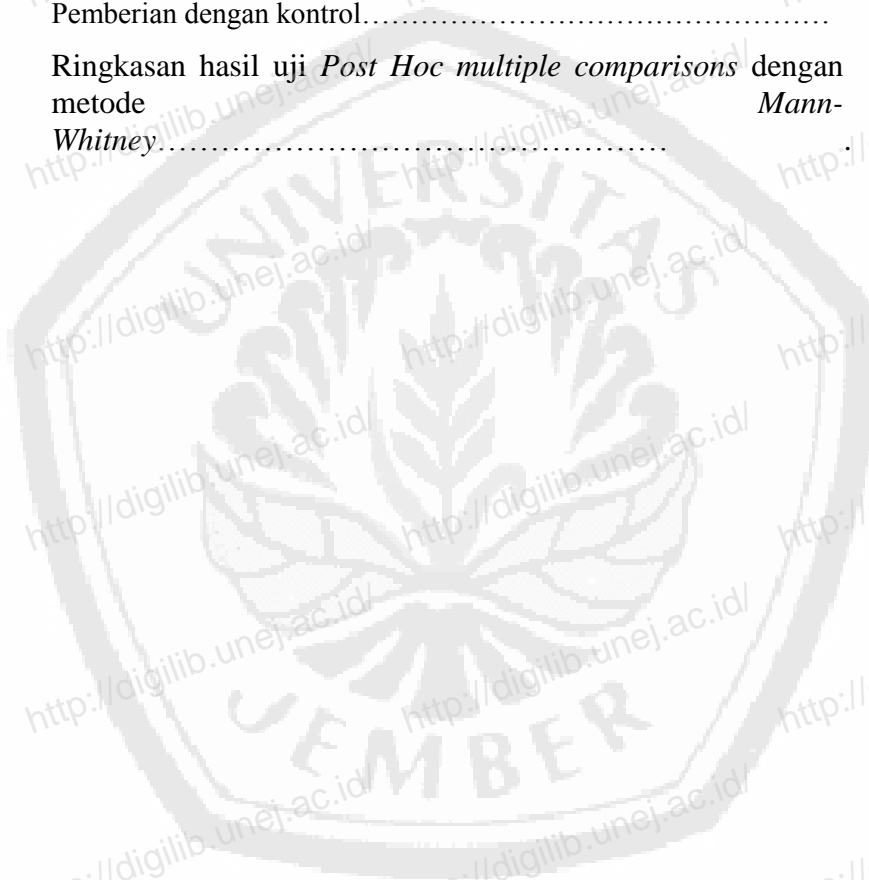
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR 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 Tinjauan Tentang <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....	4
2.1.1 Klasifikasi <i>S. aureus</i> .....	4
2.1.2 Morfologi <i>S. aureus</i> .....	5
2.1.3 Struktur Antigen.....	6
2.1.4 Patogenesis.....	6
2.1.5 Penyakit yang disebabkan <i>S. aureus</i> .....	7
2.1.6 Pengobatan infeksi <i>S. aureus</i> .....	8
<b>2.2 Tinjauan Tentang Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)</b> .....	8
2.2.1 Taksonomi Jintan Hitam .....	9
2.2.2 Morfologi Jintan Hitam.....	9

2.2.3	Kandungan Jintan Hitam.....	10
2.2.4	Manfaat Jintan Hitam.....	12
<b>2.3</b>	<b>Tinjauan Tentang Uji Aktivitas Antibakteri.....</b>	<b>12</b>
2.3.1	Metode Dilusi.....	13
2.3.2	Metode Difusi .....	13
<b>2.4</b>	<b>Antibakteri.....</b>	<b>14</b>
<b>2.5</b>	<b>Mekanisme Resistensi Antimikroba.....</b>	<b>16</b>
<b>2.6</b>	<b>Sefaleksin .....</b>	<b>17</b>
<b>2.7</b>	<b>Kerangka Konseptual Penelitian.....</b>	<b>18</b>
<b>2.8</b>	<b>Hipotesis Penelitian.....</b>	<b>18</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2</b>	<b>Rancangan Penelitian .....</b>	<b>19</b>
<b>3.3</b>	<b>Metode Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibakteri.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4</b>	<b>Sampel.....</b>	<b>20</b>
<b>3.5</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>21</b>
<b>3.6</b>	<b>Variabel penelitian.....</b>	<b>21</b>
3.6.1	Variabel Bebas .....	21
3.6.2	Variabel Terikat .....	21
3.6.3	Variabel Terkendali.....	22
<b>3.7</b>	<b>Definisi Operasional.....</b>	<b>22</b>
<b>3.8</b>	<b>Alat dan Bahan.....</b>	<b>22</b>
3.8.1	Alat.....	22
3.8.2	Bahan.....	23
<b>3.9</b>	<b>Prosedur Penelitian.....</b>	<b>24</b>
3.9.1	Persiapan Alat .....	24
3.9.2	Pembuatan Larutan NaCMC 0,5%.....	24
3.9.3	Pembuatan Konsentrasi Minyak Jintan Hitam.....	24
3.9.4	Pembuatan Larutan 0,5 McFarland.....	25
3.9.5	Pembuatan Suspensi <i>S.aureus</i> .....	25
3.9.6	Pembuatan Media Agar Mueller Hinton.....	25

3.9.7 Penyediaan Kontrol Positif .....	26
3.9.8 Penyediaan Kontrol Negatif.....	26
3.9.9 Tahap Perlakuan.....	26
3.9.10 Tahap Pengamatan .....	27
<b>3.10 Analisis Data .....</b>	<b>27</b>
<b>3.11 Alur Penelitian.....</b>	<b>28</b>
3.11.1 Pengenceran Minyak Jintan Hitam .....	28
3.11.2 Alur Penelitian Dengan Metode Difusi.....	29
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Analisis Data.....</b>	<b>33</b>
<b>4.3 Pembahasan.....</b>	<b>36</b>
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>40</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>40</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>40</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>41</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>45</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Karakteristik Penting dari <i>S. aureus</i> .....	6
2.2 Komposisi Kimia dari Struktur Minyak Atsiri Jintan Hitam.....	11
2.3 Komposisi Asam Lemak pada Jintan Hitam.....	12
4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Minyak Jintan Hitam berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan <i>S. aureus</i> dan Pemberian dengan kontrol.....	31
4.2 Ringkasan hasil uji <i>Post Hoc multiple comparisons</i> dengan metode <i>Mann-Whitney</i> .....	36



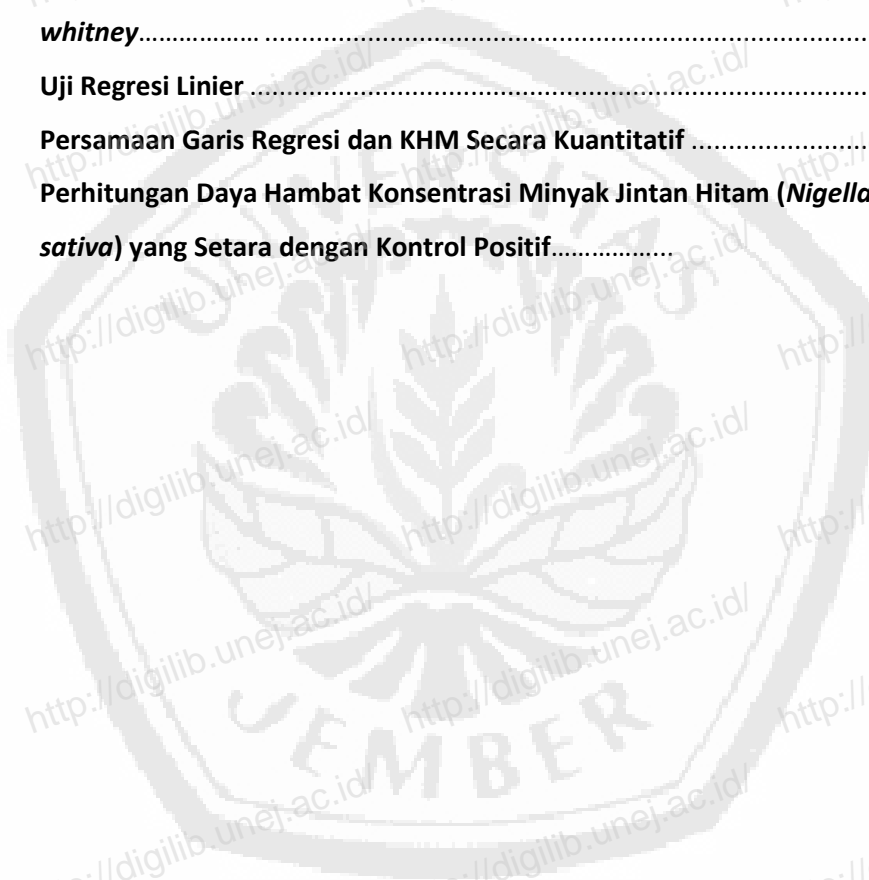
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	5
2.2 Tanaman Jintan Hitam.....	9
3.1 Biji Jintan Hitam.....	10
3.2 Skema Rancangan Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri.....	20
3.3 Pengenceran Jintan Hitam .....	28
3.1 Skema Alur Penelitian Difusi.....	29
4.1 Zona hambat berbagai tingkat konsentrasi minyak jintan hitam terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> pada media Mueller Hinton .....	30
4.2 Grafik rata-rata hubungan antara konsentrasi minyak jintan hitam dengan daya penghambat pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i> .....	32
4.3 Grafik rata-rata hubungan antara log konsentrasi minyak jintan hitam dengan daya penghambat pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i> .....	33



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Uji Normalitas <i>Kolmogorov Smirnov</i> .....	45
B. Uji Homogenitas Levene.....	48
C. .... Uji Nonparametrik Kruskal-Wallis.....	49
D. Uji <i>Post Hoc multiple comparisons</i> dengan Metode <i>Mann-whitney</i> .....	50
E. Uji Regresi Linier .....	75
F. Persamaan Garis Regresi dan KHM Secara Kuantitatif .....	80
G. Perhitungan Daya Hambat Konsentrasi Minyak Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> ) yang Setara dengan Kontrol Positif.....	81



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Infeksi *Staphylococcus aureus* masih menjadi perhatian di bidang kedokteran. Hal ini disebabkan oleh karena tingginya tingkat morbiditas dan mortalitas pada infeksi *S. aureus*. Di Amerika dari 94.000 kasus infeksi yang ada, sekitar 18.650 mengalami kematian akibat infeksi *S. aureus* (Todar, 2008). Infeksi *S. aureus* mencapai 70% di Asia pada tahun 2007 dan di Indonesia pada tahun 2006 mencapai 23,5% (Farmacia, 2007).

*S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat terinfeksi olehnya dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Warsa, 1993). *S. aureus* dapat hidup tidak berbahaya di beberapa permukaan kulit, terutama di sekitar hidung, genital, dan rektum. Namun, ketika kulit tersebut rusak atau terbuka karena beberapa alasan, maka bakteri dapat masuk melalui luka dan menyebabkan infeksi (Clarkson, 1997). Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit yang ringan di kulit, misalnya folikulitis, abses, dan selulitis. Infeksi *S. aureus* juga dapat menyebabkan penyakit yang serius dan mengancam jiwa bila sampai masuk dalam aliran darah, misalnya pneumonia, meningitis, endokarditis, dan sepsis (Sjamsuhidajat dan de Jong, 2004).

Beberapa tahun terakhir ini, banyak dilaporkan adanya resistensi obat terhadap bakteri patogen pada manusia, termasuk *S. aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik yang biasa digunakan, misalnya penisilin, ampisilin, tobramisin, siprofloksasin, vankomisin, ofloksasin, azitromisin, levoflaksin dan amikasin (Syed *et al.*, 2011). Penyebab masalah resistensi adalah penggunaan antibiotik yang berlebihan dan pada beberapa kasus yang tidak tepat guna (Aslam, 2003). *Methicillin-resistant S. aureus* (MRSA) adalah *S. aureus* yang kebal

terhadap antibiotik methicillin, oxacillin dan nafcillin yang dulu banyak digunakan untuk membunuh bakteri ini (Dellit *et al.*, 2004). Infeksi MRSA berhubungan dengan 60% infeksi *S. aureus* di masyarakat dan 25% di rumah sakit (Klevents *et al.*, 2007). Banyaknya resistensi antibiotika yang ditemukan terhadap *S. aureus*, maka diperlukan produk antibiotika baru yang memiliki potensi tinggi dari tanaman herbal. Salah satu tanaman herbal tersebut adalah jintan hitam (*Nigella sativa*).

Jintan hitam sudah banyak dipasarkan oleh pabrik komersil dalam berbagai bentuk. Salah satunya berupa minyak yang dikemas dalam botol-botol kaca. Jintan hitam adalah tumbuhan herbal yang banyak ditemukan di wilayah Mediterania dan kawasan beriklim gurun seperti Timur Tengah, Eropa Timur dan Asia Tengah (Randhawa *et al.*, 2005). Selama berabad-abad biji tumbuhan yang termasuk ke dalam family *Ranunculaceae* ini telah digunakan untuk mengobati diare, dispepsia, memperlancar menstruasi dan ASI, asma, batuk, influenza, migrain, keracunan merkuri hingga lepra. Kandungan thymoquinone (TQ), dityhmoquinone (DTQ), thymohydroquinone (THQ), dan thymol (THY) dalam *volatile oil* (minyak atsiri) dilaporkan mempunyai efek farmakologi seperti antiparasit, antibakteri, antifungi, antioksidan dan bisa meningkatkan respon imun dalam tubuh (Sari, 2009).

Minyak jintan hitam terbukti paling efektif melawan bakteri, pada tahun 2009 Ansyiah meneliti efek antimikroba jintan hitam terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan pada konsentrasi 50%; 75% dan 100% terbentuk zona hambatan yang bermakna secara statistik. Pada tahun 2010, Grandiosa dari Universitas Padjadjaran membuktikan bahwa ekstrak biji jintan hitam efektif menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*.

Berdasarkan penelitian di atas telah terbukti bahwa jintan hitam mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Aeromonas hydrophila*. Ditemukannya potensi jintan hitam sebagai antimikroba Gram negatif ini, maka dibutuhkan penelitian mengenai aktivitas antimikroba jintan hitam terhadap bakteri Gram positif, salah satunya adalah *S. aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah minyak jintan hitam mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ?
- b. Berapakah KHM (Kadar Hambat Minimum) minyak jintan hitam terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui kemampuan minyak jintan hitam dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui KHM (Kadar Hambat Minimum) minyak jintan hitam terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

- a. Memperluas wawasan mahasiswa mengenai zat-zat antibakteri yang ada di alam.
- b. Memberikan sumbangan pengembangan terhadap ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran.
- c. Memberi dasar penguat terhadap penggunaan *Nigella sativa* sebagai obat alternatif untuk kasus infeksi.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri ini dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Warsa, 1993).

*S. aureus* adalah salah satu penyebab utama infeksi yang didapat di rumah sakit (*nasocomial infection*). Hampir 40% persen populasi masyarakat umum dan 50-90% populasi petugas kesehatan di rumah sakit terdapat koloni *S. aureus* pada lubang hidungnya. Infeksi akan menjadi masalah yang berat jika bakteri bermigrasi ke tempat lain di luar habitat normalnya, terutama pada orang yang mengalami gangguan pada respon imunnya (Shodikin *et al.*, 2006).

#### 2.1.1 Klasifikasi

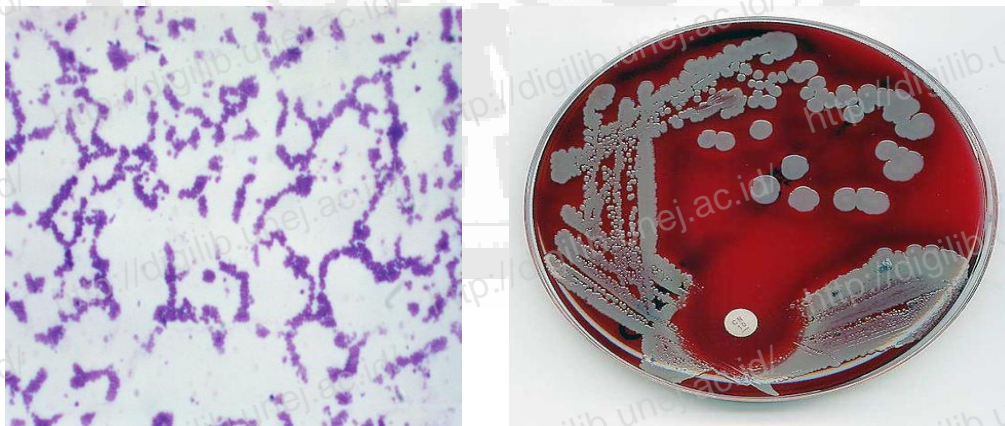
Domain	: Bakteria
Kingdom	: Eubakteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilini
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>S. aureus</i>

Sumber: Julianti *et al.*, 2007

### 2.1.2 Morfologi

*S. aureus* merupakan sel kokus Gram positif, yang berdiameter sekitar 1 mikrometer dan tersusun dalam kelompok seperti anggur tidak teratur. Kokus tunggal, berpasangan, *tetrad* dan bentuk rantai juga terlihat pada biakan cairan. *S. aureus* tidak motil dan tidak membentuk spora (Brooks *et al.*, 2007). *S. aureus* dengan menggunakan mikroskop tampak sebagai sel berbentuk bulat, tersusun khas seperti gerombolan buah anggur dan berwarna ungu (Shodikin *et al.*, 2006).

*S. aureus* mudah berkembang pada sebagian besar medium bakteriologik dalam lingkungan aerobik maupun mikroaerofilik. Organisme ini paling cepat berkembang pada suhu 37°C tetapi suhu terbaik untuk menghasilkan pigmen adalah suhu ruangan 20-25°C (Brooks *et al.*, 2007). Biakan dengan media *Blood Agar Plate* (BAP) (Gambar 2.1) atau pada *Nutrient Agar* (NA) akan tumbuh koloni berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, permukaan halus mengkilat, dan konsistensinya lunak. Warna khasnya kuning keemasan. Gambaran pada BAP umumnya koloni lebih besar dan koloninya dikelilingi oleh zona hemolisis (Warsa, 1993). Karakteristik penting dari *S. aureus* disajikan pada Tabel 2.1



(a)

(b)

(a) Pengamatan dengan mikroskop; (b) Koloni pada *Blood Agar Plate*

Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Sumber: Yani, 2010)

Tabel 2.1 Karakteristik penting dari *S. aureus*

Sifat	Karakteristik
Pewarnaan Gram	Bakteri Gram positif
Bentuk	Bentuk Bulat ( <i>coccus</i> )
Susunan	Susunan bergerombol seperti anggur
Pergerakan	<i>Non motil</i>
Pembentukan spora	Tidak membentuk spora
Pembentukan Energi	Fakultatif anaerob
Tes Katalase	Positif
Tes Koagulase	Positif
Tes Fermentasi Manitol	Positif
Fermentasi Glukosa	Memfermentasikan glukosa menjadi asam laktat
Warna Koloni	Koloni tampak kuning keemasan

Sumber: Shodikin *et al.*, 2006.

### 2.1.3 Struktur Antigen

*S. aureus* mengandung polisakarida dan protein A serta substansi lainnya di dalam struktur dinding selnya (Brooks *et al.*, 2007). Protein A merupakan dinding sel bakteri yang virulen dan dapat menghambat fagositosis (Warsa, 1993). Sebagian besar strain *S. aureus* mempunyai koagulase atau faktor penggumpal pada permukaan dinding selnya. Koagulase berikatan dengan fibrinogen secara nonenzimatik sehingga menyebabkan agregasi bakteri (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.1.4 Patogenesis

Kemampuan patogenik *S. aureus* merupakan gabungan efek faktor ekstraselular dan toksin serta sifat invasif organisme tersebut (Brooks *et al.*, 2007). Menurut Todar (2008) potensi virulensi *S. aureus* dipengaruhi banyak faktor. Faktor tersebut antara lain:

- Protein permukaan yang berguna kolonisasi jaringan inang
- Bahan bersifat invasif bakteri yang menyebar di jaringan (leukosidin, *kinase* dan *hialuronidase*)
- Faktor permukaan yang menghambat proses fagositosis (protein A, kapsul)
- Sifat biokimia yang mempertinggi kemampuan hidup di dalam fagosit (karotenoid, katalase)

- e. Penyamaran imunologi (protein A, *koagulase*, faktor pembekuan)
- f. Toksin yang menyebabkan kerusakan/lisis membran sel eukariotik (hemolisin, leukotoksin dan leukosidin)
- g. Eksotoksin yang merusak jaringan inang atau yang memprovokasi gejala pada penyakit yang disebabkan *S.aureus* (SEA-G, TSST, ET)
- h. Resistensi dapatkan maupun yang sudah ada karena pajanan terhadap antimikroba.

*S. aureus* bersifat patogen dan invasif. Organisme ini menghasilkan *koagulase* dan cenderung menghasilkan pigmen kuning yang bersifat hemolitik. *Koagulase* dihasilkan untuk mengkoagulasi fibrin di sekitar lesi dan di dalam limfatik sehingga mengakibatkan pembentukan dinding yang membatasi proses serta diperkuat oleh akumulasi sel-sel radang dan jaringan fibrosa. Bagian tengah lesi terjadi pencairan jaringan nekrotik (dibantu oleh hipersensitifitas lambat) dan abses "mengarah" pada daerah yang resistensinya paling rendah. Setelah cairan di tengah jaringan nekrosis keluar, rongga secara pelan-pelan diisi dengan jaringan granulasi dan akhirnya sembuh.

Kelompok *S. aureus* yang terdapat di folikel rambut menyebabkan nekrosis jaringan karena adanya faktor demonekrotik. Bula eksfoliatif -sindrom lepuh kulit (*scaled skin syndrome*)- disebabkan oleh pembentukan toksin eksfoliatif. Sindrom syok toksin disebabkan oleh toksin sindrom syok toksin-1 (TSST-1) (Brooks *et al.*, 2007).

#### 2.1.5 Penyakit yang disebabkan oleh *S. aureus*

Infeksi lokal *S. aureus* tampak sebagai "jerawat", infeksi folikel rambut atau abses. Biasanya terjadi reaksi radang yang berlangsung hebat, terlokalisasi, nyeri dan membentuk supurasi sentral dan cepat menyembuh bila dilakukan drainase pus. Infeksi *S. aureus* juga dapat terjadi akibat kontaminasi langsung pada luka, misalnya pada luka pasca operasi atau setelah trauma. Organisme ini menyebar melalui aliran darah dan sistem limfatik ke seluruh tubuh manusia. Supurasi dalam vena menimbulkan trombosis. Jika *S. aureus* menyebar luas dan terjadi bakterimia, dapat terjadi endokarditis, osteomyelitis hematogen akut,



meningitis atau infeksi paru. Lokalisasi sekunder dalam organ atau sistem ditandai oleh gejala dan tanda disfungsi organ serta supurasi setempat yang hebat.

Keracunan makanan akibat enterotoksin *S. aureus* dan patogenezisnya dikaitkan dengan koagulase positif. Sindrom syok toksik timbul secara tiba-tiba dengan gejala yang tampak pada hari ke-5 setelah permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, tetapi juga dapat terjadi pada anak atau laki-laki dengan luka yang terinfeksi *S. aureus* (Brooks *et al.*, 2007).

#### 2.1.6 Pengobatan Infeksi *S. aureus*

Prinsip pengobatan infeksi *S. aureus* adalah penggunaan antimikroba baik pertopikal, peroral, maupun melalui intravena (Toppler, 2009). Pada kasus ringan di luar rumah sakit dapat diberikan penisilin G. Pada infeksi berat atau diduga tahan (resisten) terhadap penisilin, dapat diberikan metisilin atau derivat penisilin lain yang resisten penisilinase. Pada penderita yang alergi terhadap penisilin, dapat diberikan sefalosporin, eritromisin, linkomisin atau klindamisin. Pada infeksi suatu jenis yang tahan metisilin, dapat diberikan vankomisin.

*S. aureus* memiliki kepekaan yang tinggi terhadap sefalekssin, dibekasin, gentamisin, tobramisin, tetrasiklin, kotrimoksazol dan fosmisin. Resistensi tertinggi berturut-turut diberikan untuk penisilin, ampisilin, tobramisin, siprofloksasin, vankomisin, ofloksasin, azitromisin, levofloksasin dan amikasin (Syed *et al.*, 2011).

Pada pemberian antimikroba, juga harus disertai tindakan bedah, baik berupa pengeringan abses ataupun nekrotomi. Pada septikemia, selain antimikroba yang diberikan dalam jangka panjang, dapat pula diberikan antitoksin *Staphylococcus* (Warsa, 1993).

#### 2.2 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Jintan hitam merupakan tumbuhan herbal yang banyak ditemukan di wilayah Mediterania dan kawasan beriklim gurun seperti Timur Tengah, Eropa Timur dan Asia Tengah (Randhawa *et al.*, 2005). Jintan hitam merupakan spesies tumbuhan semak rendah yang biasa dikenal dengan berbagai sebutan lain seperti

*black cumin, fennel flower, black onion seed*, kalonji, habatussauda dan habbat albakarah (biji bakarah). Di Indonesia dikenal dengan sebutan jintan hitam. Tumbuhan ini selama berabad-abad telah digunakan sebagai obat tradisional atau rempah-rempah dari minyak yang diperoleh dengan cara memeras oleh orang-orang Asia, Timur Tengah dan Afrika (Sopia, 2009).

### 2.2.1 Taksonomi

Berdasarkan penggolongan dan tata nama tumbuhan, klasifikasi jintan hitam sebagai berikut (Susilowati, 1998):

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Ranunculales
Family	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Species	: <i>Nigella sativa</i>



Gambar 2.2 Tanaman jintan hitam (Sumber: Sari, 2009)

### 2.2.2 Morfologi

Tanaman jintan hitam merupakan tanaman dengan tinggi sekitar 20-30 cm, berbatang halus, daunnya berbau segar, bunganya berwarna biru lembut dengan 5-

10 kelopak, tumbuh liar sampai ketinggian 1100 m diatas permukaan laut. Biasanya ditanam di daerah pegunungan atau sengaja ditanam di halaman atau ladang sebagai tanaman rempah-rempah. Buahnya berbentuk kapsul menggebung, terdiri dari 3-7 folikel, yang masing-masing berisi beberapa biji. Bentuk bijinya kerucut kecil dan berserabut, panjangnya berukuran tidak lebih dari 3 mm. Memiliki aroma, bentuk yang sama seperti wijen, namun berwarna hitam (Sopia, 2009).



Gambar 2.3 Biji jintan hitam

### 2.2.3 Kandungan Jintan Hitam

Kandungan jintan hitam bermacam-macam dan terdiri atas asam amino, protein, karbohidrat, *volatile oil* (minyak atsiri), alkaloid, saponin dan banyak kandungan lain. Buah jintan hitam murni mengandung 35-75 minyak atsiri (mengandung 605 karvin, 405 limoene), minyak lemak sekitar 10%, serta zat putih telur sekitar 20%. Kandungan aktifnya yang paling penting adalah thymoquinone (TQ), dityhmouinone (DTQ), thymohydroquimone (THQ), thymol (THY) dan tannin. Thymoquinone adalah zat aktif utama dari minyak atsiri jintan hitam yang kandungannya tertera pada Tabel 2.2 (Sari, 2009). Pada tahun 2003 penelitian Nickavar membuktikan komposisi asam lemak dalam jintan hitam sebesar 99,5% (lihat Tabel 2.3).

Tabel 2.2 Komposisi kimia dari struktur minyak atsiri jintan hitam

<i>Compound</i>	<i>Persentase</i>
<i>n-Nonane</i>	1,7
<i>3-Methyl nonane</i>	0,3
<i>1,3,5-Trimethyl benzene</i>	0,5
<i>n-Decane</i>	0,4
<i>1-Methyl-3-propil benzene</i>	0,5
<i>1-Ethyl-2,3-dimethyl benzene</i>	0,2
<i>n-Tetradecane</i>	0,2
<i>n-Hexadecane</i>	0,2
<i>Nonterpenoid hydrocarbon</i>	4,0
<i>a-Thujene</i>	2,4
<i>a-Pinene</i>	1,2
<i>Sabinene</i>	1,4
<i>β- Pinene</i>	1,3
<i>Myrcene</i>	0,4
<i>a-Phelladrene</i>	0,6
<i>p-Cymene</i>	14,8
<i>Limonene</i>	4,3
<i>γ-Terpiene</i>	0,5
<i>Monoterpenoid hydrocarbon</i>	26,9
<i>Fenchone</i>	1,1
<i>Dihydrocarvone</i>	0,3
<i>Carvone</i>	4,0
<i>Thymoquinone</i>	0,6
<i>Monoterpenoid alcohols</i>	6,0
<i>Terpinen-4-ol</i>	0,7
<i>p-Cymene-8-ol</i>	0,4
<i>Carvacrol</i>	1,6
<i>Monoterpenoid alcohols</i>	2,7
<i>a-Longipinene</i>	0,3
<i>Longifolene</i>	0,7
<i>Sesquiterpenoid hydrocarbon</i>	1,0
<i>Estragole</i>	1,9
<i>Anisaldehyde</i>	1,7
<i>Trans-Anethole</i>	38,3
<i>Myristicin</i>	1,4
<i>Dill apiole</i>	1,8
<i>Apiole</i>	1,0
<i>Phenyl propanoid compounds</i>	46,1
<b>Total Senyawa Kimia</b>	<b>86,7</b>

Sumber: Sari, 2009.

Tabel 2.3 Komposisi asam lemak pada jintan hitam

Fatty Acid	RT	Persentase
Lauric Acid	4,68	0,6
Myristic Acid	5,91	0,5
Palmitic Acid	7,48	12,5
Steraic Acid	9,37	3,4
Oleic Acid	9,79	2,34
Linoleic Acid	10,52	55,6
Linolenic Acid	11,95	0,4
Eicosadienoic	12,71	3,1

Sumber: Nickavar *et al.*, 2003.

#### 2.2.4 Manfaat

Jintan hitam digunakan secara luas sebagai obat alami, bumbu, pengawet dan aromatis. Secara tradisional, jintan hitam telah digunakan sebagai diuretik, obat diare, dispepsia, obat pemacu menstruasi dan pelancar ASI. Biji tanaman ini secara tradisional telah digunakan selama berabad-abad di Timur Tengah, Afrika Utara dan India untuk mengobati asma, batuk, influenza, eksim dan obat cacung. Pada berbagai kombinasi jintan hitam telah digunakan untuk obesitas dan dispneu. Biji tanaman ini juga bermanfaat untuk nyeri kepala kronik dan migrain, keracunan merkuri, luka, serta lepra. Saat ini, jintan hitam dilaporkan memiliki banyak efek farmakologi termasuk antiparasit, antibakteri, antifungi, antivirus, antioksidan antiinflamasi dan telah menunjukkan aktivitas dalam meningkatkan respon imunitas berperantara sel T (Sari, 2009).

### 2.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Penentuan kerentanan patogen bakteri terhadap obat-obatan antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode yaitu dilusi dan difusi. Metode ini dapat dilakukan untuk memperkirakan potensi antibiotik dalam sampel maupun kerentanan mikroorganisme dengan menggunakan organisme uji standar yang tepat dan sampel obat tertentu untuk perbandingan (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.3.1 Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Medium akhirnya diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi. Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Uji kerentanan dilusi agar membutuhkan waktu yang banyak dan kegunaannya terbatas pada keadaan tertentu. Uji dilusi kaldu tidak praktis dan kegunaannya sedikit bila dibuat dalam tabung pengujian. Keuntungan uji dilusi kaldu mikrodilusi adalah bahwa uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.3.2 Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode kuantitatif yang dapat digunakan untuk pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri terhadap suatu antimikroba. Uji kepekaan ini merupakan metode yang paling sering digunakan karena pelaksanaannya mudah, tidak mahal dan pengukurannya tidak sulit. Metode difusi yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah obat tertentu ditempatkan di atas permukaan medium padat yang telah diinokulasi pada permukaannya. Diameter zona hambat sekitar cakram setelah diinkubasi, dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia selain interaksi sederhana antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat).

Penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standarisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri peka atau resisten dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama. Daerah hambatan sekitar cakram yang berisi sejumlah tertentu antimikroba tidak mencerminkan kepekaan pada obat dengan konsentrasi yang sama per milimeter media, darah atau urin (Brooks *et al.*, 2007). Berikut beberapa modifikasi difusi:

#### a. 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 di inkubasi 35°C-37°C selama 15-20 jam. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram antibiotik (Suswati dan Mufida, 2009).

#### b. 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°C-37°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram antibiotik (Suswati dan Mufida, 2009).

#### c. 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°C-37°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar sumuran (Suswati dan Mufida, 2009).

### 2.4 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, atau obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes.

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

#### 2.4.1 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 trimetropin yang kerjanya menghambat enzim dihidrofolat reduktase yang berfungsi mengubah dihidrofolat menjadi tetradidrofolat.

#### 2.4.2 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. 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.

#### 2.4.3 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-kuarterner 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.



#### 2.4.4 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, yang berfungsi pada sintesis protein. Kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Obat yang termasuk kelompok ini adalah golongan aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol. Streptomisin berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Protein abnormal dan nonfungsional akibatnya akan terbentuk bagi sel mikroba. Tetrasiklin berikatan dengan ribosom 30S dan menghalangi masuknya kompleks tRNA asam amino pada lokasi asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim peptidil transferase.

#### 2.4.5 Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba yang termasuk kelompok ini adalah rifampisin dan golongan kuinolon. Walaupun bersifat antimikroba, karena sifat sitotoksitasnya, pada umumnya hanya digunakan sebagai obat antikanker. Rifampisin, salah satu derivat rifampisin berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel kuman yang kecil (Setiabudy, 2009).

### 2.5 Mekanisme Resistensi Antimikroba

Secara garis besar kuman dapat menjadi resistensi terhadap suatu antimikroba melalui 3 mekanisme:

#### 2.5.1 Obat tidak dapat mencapai tempat kerjanya di dalam sel mikroba

Pada kuman Gram negatif, molekul antimikroba yang kecil yang disebut porin. Bila porin menghilang atau mengalami mutasi maka masuknya antimikroba ini akan terhambat. Mekanisme transpor aktif yang memasukkan antimikroba ke

dalam sel (misalnya gentamisin). Mekanisme lain lagi adalah mikroba mengaktifkan pompa efluks untuk membuang keluar antimikroba yang ada dalam sel (misalnya pada tetrasiklin).

#### 2.5.2 Inaktivasi obat

Mekanisme ini sering mengakibatkan terjadinya resistensi terhadap golongan aminoglikosida dan beta laktam karena mikroba mampu membuat enzim yang merusak kedua golongan antimikroba tersebut.

#### 2.5.3 Mikroba mengubah tempat ikatan (*binding site*) antimikroba

Mekanisme ini terlihat pada *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin (MRSA). Kuman ini mengubah *Penicilin Binding Proteinnya* (PBP) sehingga afinitasnya menurun terhadap metisilin dan antibiotik beta laktam yang lain (Setiabudy, 2009).

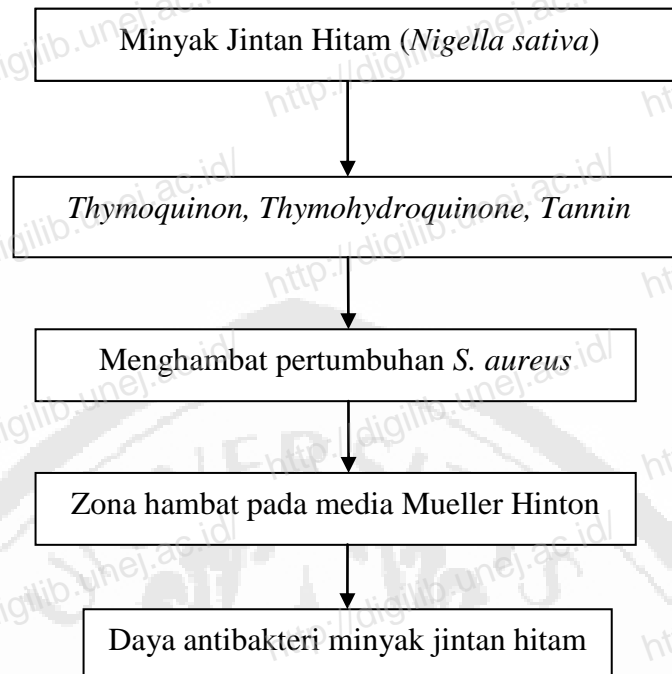
### 2.6 Sefalekssin

Sefalekssin merupakan adalah antimikroba golongan sefalosporin generasi pertama yang memperlihatkan spektrum antimikroba yang terutama aktif terhadap kuman Gram positif. Golongan ini efektif terhadap sebagian besar *S. aureus* dan *Streptococcus* (Istiantoro, 2009). Sefalekssin telah banyak digunakan peroral untuk pengobatan infeksi dengan cara menghambat sintesis dinding sel mikroba (Tanu, 1995)

Sefalekssin dapat diberikan peroral dan bersifat tahan terhadap asam lambung. Makanan dalam lambung tidak mengganggu absorpsinya, tetapi memperlambat tercapainya kadar puncak. Kadar puncak darah mencapai 32 µg/ml pada dosis terapi (Istiantoro, 2009). Ekskresinya sekitar 90% melalui urine dalam bentuk tetap dengan paruh waktu kurang lebih 1 jam (Istiantoro, 2009).

Mekanisme kerja antimikroba sefalekssin adalah menghambat sintesis dinding sel mikroba. Reaksi transpeptidase tahap ketigalah yang dihambat dalam rangkaian reaksi pembentukan dinding sel. Obat ini tersedia dalam bentuk kapsul 250 mg dan 500 mg, suspensi oral 125 mg dan 250 mg/5 ml (Istiantoro, 2009).

## 2.7 Kerangka Konseptual



## 2.8 Hipotesis Penelitian

Minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* secara *in vitro*.

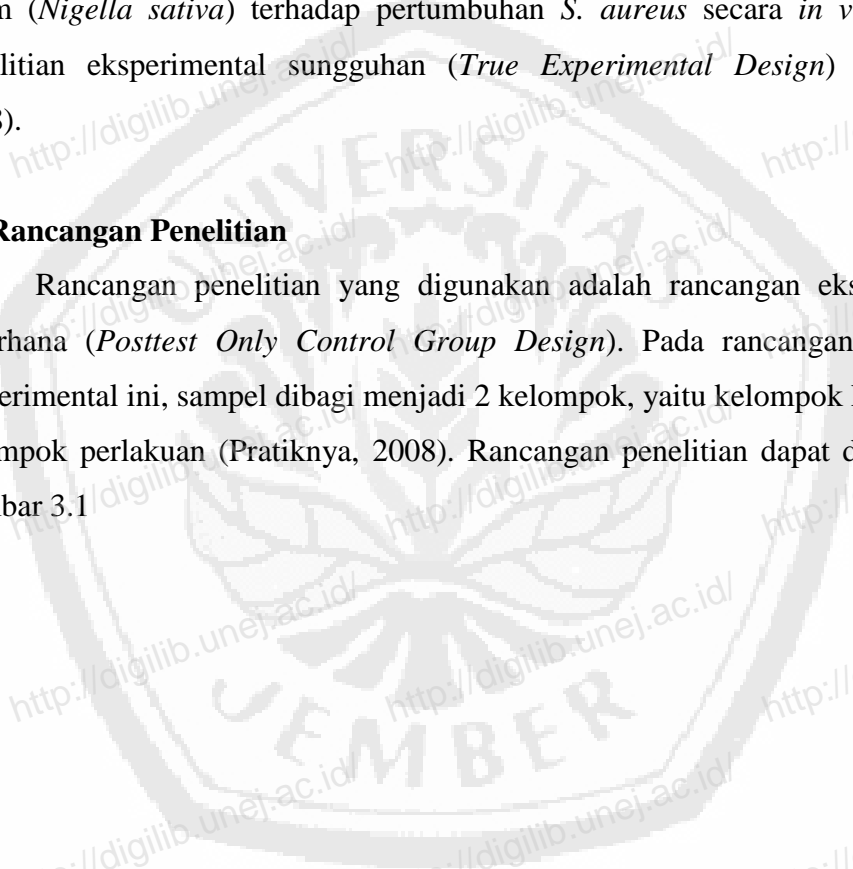
## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

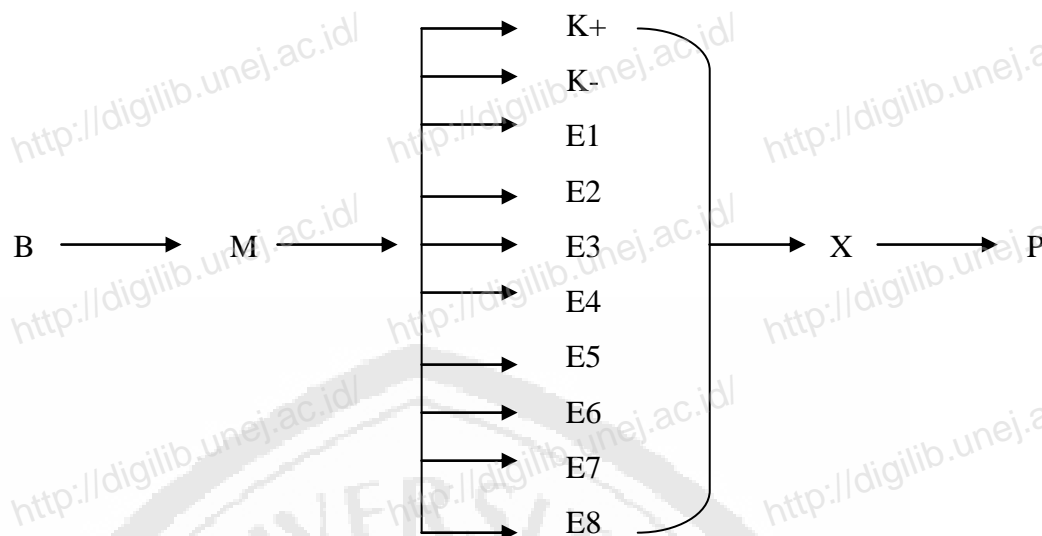
### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan pada uji daya antibakteri minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara *in vitro* adalah penelitian eksperimental sungguhan (*True Experimental Design*) (Pratiknya, 2008).

### **3.2 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan eksperimental sederhana (*Posttest Only Control Group Design*). Pada 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





**Keterangan:**

B : Biakan bakteri *S.aureus*

M : Media Mueller Hinton

K (+) : Kelompok kontrol positif (sefaleksin)

K (-) : Kelompok kontrol negatif (NaCMC 0,5%)

E1-8 : Minyak jintan hitam konsentrasi 50% v/v; 25% v/v; 12,5 v/v; 6,25% v/v; 3,12% v/v; 1,56% v/v; 0,78% v/v; 0,39% v/v.

X : Inkubasi suhu 37°C selama 24 jam

P : Pengukuran diameter hambatan larutan uji terhadap *S.aureus*

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian uji aktivitas antibakteri

### 3.3 Metode Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji kemampuan minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* secara *in vitro* adalah metode difusi dengan cara sumuran. Metode ini paling sensitif di antara metode difusi lainnya dan paling baik jika digunakan untuk *screening* aktivitas antibakteri (Jassegar *et al.*, 2008; Saeed & Tariq, 2005).

### 3.4 Sampel

Sampel penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah kuman *S. aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Bakteri ini didapatkan dari biakan murni yang dibeli dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, kemudian dilakukan kultur.

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

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

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

$$(7)(1)(r-1) \geq 205$$

$$7r - 7 \geq 20$$

$$r \geq 3,85$$

Keterangan :

p : Jumlah perlakuan

q : Jumlah kontrol

r : Jumlah pengulangan

Berdasarkan penghitungan di atas, di dapatkan hasil 3,85. Oleh karena itu, dilakukan pembulatan sehingga jumlah pengulangan yang dilakukan sebanyak 4 kali. Jumlah perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 34 kali dengan rincian 32 kali konsentrasi larutan jintan hitam, 1 kali kontrol positif dan 1 kali kontrol negatif.

### 3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari - Maret 2012.

### 3.6 Variabel Penelitian

#### 3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jintan hitam (*Nigella sativa*) dengan konsentrasi 0,39% v/v; 0,78% v/v; 1,56% v/v; 3,12% v/v; 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v; 50% v/v.

#### 3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah zona hambat jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap bakteri *S. aureus* yang tumbuh pada media agar Mueller Hinton setelah kontak selama 24 jam (selama inkubasi) dengan konsentrasi 0,39% v/v; 0,78% v/v; 1,56% v/v; 3,12% v/v; 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v; 50% v/v.

### 3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Suhu pengeraman 37°C dan lama inkubasi 24 jam
- b. Pembuatan biakan bakteri *S. aureus*, inkubator, autoklaf, suspensi sefaleksin
- c. Media pertumbuhan *S. aureus*
- d. Cara pengukuran zona hambatan koloni *S. aureus*
- e. Prosedur penelitian

### 3.7 Definisi Operasional

1. Minyak jintan hitam yang digunakan dalam penelitian ini mengandung minyak jintan hitam murni dengan merk Arofah yang didapatkan dari toko SYAFIA Jember, kemudian dibuat menjadi larutan 8 konsentrasi (50% v/v; 25% v/v; 12,5 v/v; 6,25% v/v; 3,12% v/v; 1,56% v/v; 0,78% v/v; 0,39% v/v) dengan campuran NaCMC 0,5% disetiap konsentrasinya.
2. Diameter zona hambat pada media Mueller Hinton (MH) diukur menggunakan jangka sorong. Zona hambat didapatkan dengan cara mengukur diameter zona bening yang terbentuk dari batas paling luar zona bening satu sisi ke arah sisi yang berlawanan dengan melewati sumuran.
3. Kontrol positif adalah bubuk sefaleksin 1 mg yang dilarutkan dalam 250 ml aquades steril.
4. Kontrol negatif adalah larutan NaCMC 0,5% tanpa penambahan minyak jintan hitam sehingga didapatkan konsentrasi minyak jintan hitam 0%.
5. Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) merupakan konsentrasi terendah minyak jintan hitam yang mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

### 3.8 Alat dan Bahan

#### 3.8.1 Alat uji yang digunakan:

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain:

- a. Cawan porselin
- b. Petri Disk
- c. Autoklaf
- d. Tabung reaksi dan rak tabung reaksi

- e. Timbangan atau neraca
- f. Ose
- g. *Disposable Syringe*
- h. Inkubator
- i. Kompor Listrik
- j. Lampu Bunsen
- k. Gelas Ukur
- l. Pipet Ukur
- m. Alat Pengaduk
- n. Erlenmeyer
- o. Vortex mixer
- p. Sterilisator panas kering
- q. Jangka sorong

### 3.8.2 Bahan Uji

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain

- a. Minyak Jintan Hitam
- b. Suspensi *S. aureus*
- c. Aquades steril
- d. Bubuk Mueller Hinton (MH)
- e. Suspensi sefaleksin
- f. Nutrient Broth (NB)
- g. Serbuk NaCMC (Natrium Carboxil Methyl Cellulose)

## 3.9 Prosedur Penelitian

### 3.9.1 Persiapan Alat

Semua alat yang akan digunakan 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 Larutan NaCMC 0,5%



NaCMC adalah turunan dari selulosa dan sering dipakai dalam industri pangan dan sebagai pelarut dalam bidang farmasi. Merupakan zat berwarna putih atau sedikit kekuningan, tidak berbau dan tidak berasa serta tidak bersifat toksik. Serbuk NaCMC ditimbang sebanyak 500 mg kemudian dicampur dengan aquades panas sebanyak 10 ml, lalu diaduk sampai merata dan dibiarkan selama 15 menit. Setelah itu ditambah aquades panas sampai dengan 100 ml (Handayani *et al.*, 2005).

### 3.9.3 Pembuatan Konsentrasi Minyak Jintan Hitam

Untuk mendapatkan konsentrasi 50% v/v; 25% v/v; 12,5 v/v; 6,25% v/v; 3,12% v/v; 1,56% v/v; 0,78% v/v; 0,39% v/v minyak jintan hitam, terlebih dahulu menyiapkan 8 tabung yang masing-masing di isi 2 ml NaCMC 0,5%. Tabung pertama dibuat konsentrasi minyak jintan hitam sebesar 50% v/v dengan cara menambahkan 2 ml minyak jintan hitam kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik. Tabung berisi larutan konsentrasi 50% v/v diambil 2 ml dan ditambahkan pada tabung kedua, kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 25% v/v. Tabung berisi larutan konsentrasi 25% v/v diambil 2 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi ketiga yang sudah berisi NaCMC 0,5% kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik. Larutan ini mengandung konsentrasi 12,5% v/v. Tabung berisi larutan tersebut diambil 2 ml dan dimasukkan ke tabung reaksi keempat yang sudah berisi larutan NaCMC 0,5% kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik. Larutan ini mengandung 6,25% v/v.

Tabung berisi konsentrasi minyak jintan hitam 6,25% v/v diambil 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kelima yang sudah ditambah 2 ml larutan NaCMC 0,5% kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik sehingga didapatkan konsentrasi 3,12% v/v. Larutan tersebut diambil 2 ml dan dimasukkan ke tabung reaksi keenam yang sudah berisi larutan NaCMC 0,5% 2 ml kemudian di campur dengan menggunakan vortex selama 60 detik. Larutan ini mengandung 1,56% v/v.

Pembuatan konsentrasi minyak jintan hitam 0,78% v/v dan 0,39% v/v dilakukan langkah yang sama seperti di atas dan diambil dari konsentrasi 1,56% v/v dan 0,78% v/v. Dua tabung lain di isi suspensi sefaleksin sebanyak 2 ml sebagai kontrol positif dan isi NaCMC 0,5% yang digunakan sebagai kontrol negatif. Masing-masing tabung di atas diberi label setiap kali selesai membuat konsentrasi dan kontrol.

#### 3.9.4 Pembuatan Larutan 0,5 Mc Farland

Larutan 0,5 Mc Farland merupakan standar untuk melakukan suspensi kuman. Membuat larutan 0,5 Mc Farland adalah dengan mencampurkan sebanyak 16 µl BaCl<sub>2</sub> 1% dengan 3,3 µl H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% selama 60 menit dengan menggunakan vortex sehingga tercampur merata.

#### 3.9.5 Pembuatan Suspensi *S. aureus*

Bakteri yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Suspensi *S. aureus* yang digunakan, dibuat dengan mengambil satu ose kuman dari kultur, kemudian dimasukkan kedalam media *Nutrient Broth*, selanjutnya diinkubasi 37°C selama 24 jam. Suspensi kuman yang telah diinkubasi selama 24 jam disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) dengan menambahkan aquades steril.

#### 3.9.6 Pembuatan Media Mueller Hinton

Timbang agar Mueller Hinton 3,4 gr dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer. Kemudian tambahkan 100 ml aquades, campur dan aduk sampai rata kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut. Kemudian masukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 30 menit. Setelah dikeluarkan dari autoklaf, dari tabung Erlenmeyer dituang sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri steril dengan cara aseptik lalu dimasukkan ke dalam inkubator dalam suhu 37°C (Suswati dan Mufida, 2009).

#### 3.9.7 Penyediaan Kontrol Positif

Kadar hambat minimal sefaleksin untuk bakteri *S. aureus* adalah 4 µg (Picco *et al.*, 2011). Pembuatan larutan sefaleksin dengan menimbang seberat 1 mg sediaan bubuk sefaleksin dengan neraca. Kemudian dilarutkan dalam 250 ml aquades steril.

#### 3.9.8 Penyediaan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan pelarut pengencer dalam penelitian ini adalah NaCMC 0,5%. Serbuk NaCMC ditimbang sebanyak 500 mg kemudian dicampur dengan aquades panas sebanyak 10 ml, lalu diaduk sampai merata dan dibiarkan selama 15 menit kemudian ditambah aquades panas sampai dengan 100 ml. Setelah itu sediaan tersebut ditempatkan dalam vial.

#### 3.9.9 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 media Mueller Hinton, kemudian mengulang prosedur tersebut 2x lagi dengan memutar plate 60°, kemudian plate didiamkan selama 3-5 menit pada suhu ruangan supaya media benar-benar kering sebelum dibuat sumuran. Pada agar tersebut dibuat sumuran dengan menggunakan pipa aluminium steril dan jumlah lubang disesuaikan dengan kebutuhan. Teteskan larutan minyak jantan hitam ke dalam sumuran/lubang tersebut dengan beberapa konsentrasi yang telah dibuat. Masukkan larutan sefaleksin ke dalam lubang/sumuran lainnya sebagai kontrol positif dan larutan NaCMC 0,5% ke dalam lubang. Sumuran lainnya sebagai kontrol negatif (Suswati dan Mufida, 2009).

#### 3.9.10 Tahap Pengamatan

Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian lakukan pengamatan pada cawan petri yaitu dengan cara menghitung lebar zona hambat pertumbuhan bakteri pada masing-masing sumuran/lubang. Penghitungan dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S.*

*aureus* pada media Mueller Hinton dengan menggunakan jangka sorong (Suswati dan Mufida, 2009).

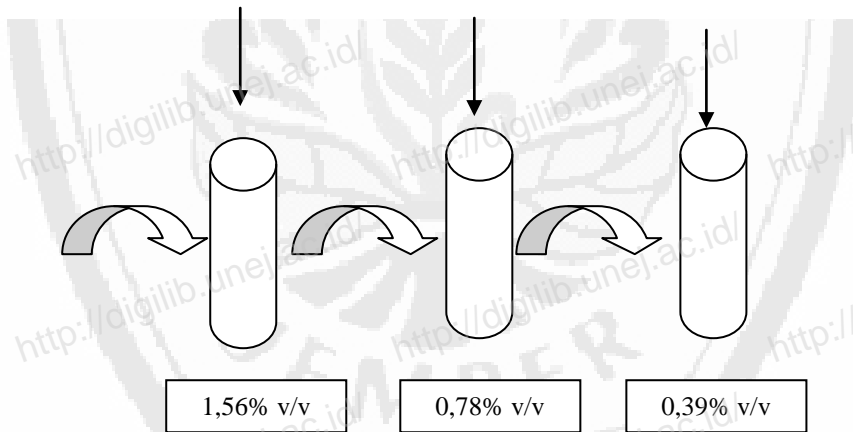
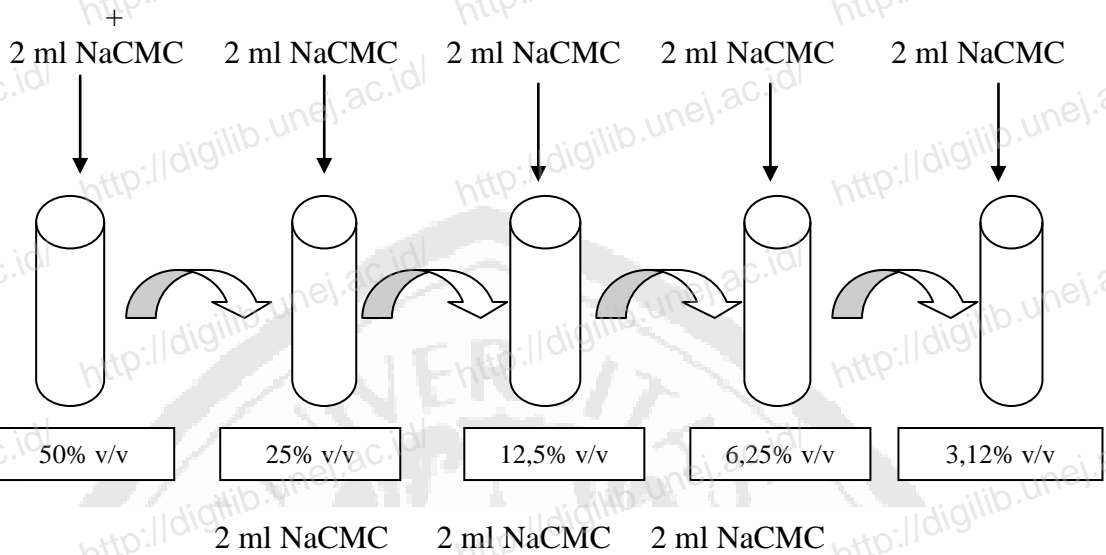
### 3.10 Analisis Data

Data hasil penelitian diuji dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* selanjutnya di uji dengan uji homogenitas Levene (Dahlan, 2009). Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas maka dipilih analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*. Uji Kruskal-Wallis dilakukan untuk membuktikan bahwa minyak jintan hitam memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri secara statistik, selanjutnya dilakukan perbandingan dengan kontrol positif maupun kontrol negatif. Analisis data dilanjutkan dengan uji regresi linier, untuk mengetahui hubungan dan pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat (Sudarsono dan Tjokronegoro, 2007).

### 3.11 Alur Penelitian

#### 3.11.1 Pengenceran Minyak Jintan Hitam

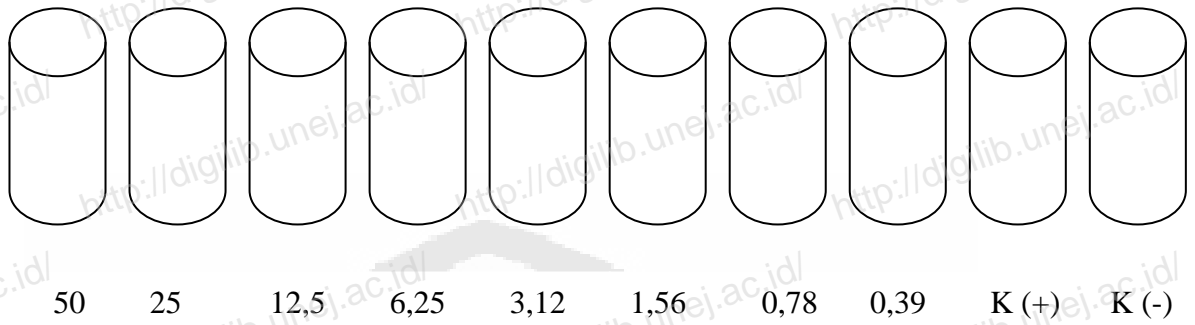
2 ml minyak jintan hitam



Gambar 3.2 Pengenceran jintan hitam

### 3.11.2 Alur Penelitian Dengan Metode Difusi

Minyak jintan hitam berbagai konsentrasi (% v/v)



Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

Mengukur diameter zona hambat pada tiap sumuran dengan jangka sorong

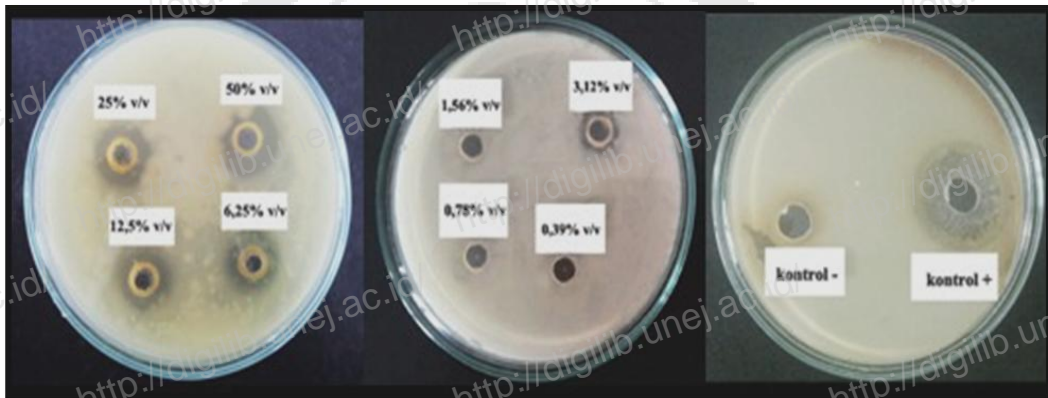
Analisis Data

Gambar 3.3 Skema alur penelitian difusi

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian pada bulan Februari sampai Maret 2012, diperoleh hasil pada Gambar 4.1. Pada gambar tersebut terlihat efek antibakteri dari minyak jintan hitam terhadap pertumbuhan *S. aureus* dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran.



Gambar 4.1 Zona hambat berbagai tingkat konsentrasi minyak jintan hitam terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada media Mueller Hinton

Untuk data dan hasil penelitian dapat dilihat dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat minyak jintan hitam berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan pemberian dengan kontrol

Konsentrasi (% v/v)	Diameter zona hambat (cm)				Rata-rata (cm)
	I	II	III	IV	
K (-)	0,76*	0,76*	0,76*	0,76*	0,76*
0,39	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
0,78	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
1,56	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
3,12	0,79	0,82	0,84	0,84	0,81
6,25	0,83	0,92	0,95	0,91	0,90
12,5	1,02	1,06	1,07	1,05	1,05
25	1,11	1,24	1,28	1,24	1,22
50	1,44	1,54	1,56	1,52	1,52
K (+)	2,25*	2,25*	2,25*	2,25*	2,25*

Keterangan:

- \* : pengulangan hanya 1 kali
- Kontrol (+) : Sefaleksin
- Kontrol (-) : NaCMC 0,5%
- Diameter sumuran 0,76 cm

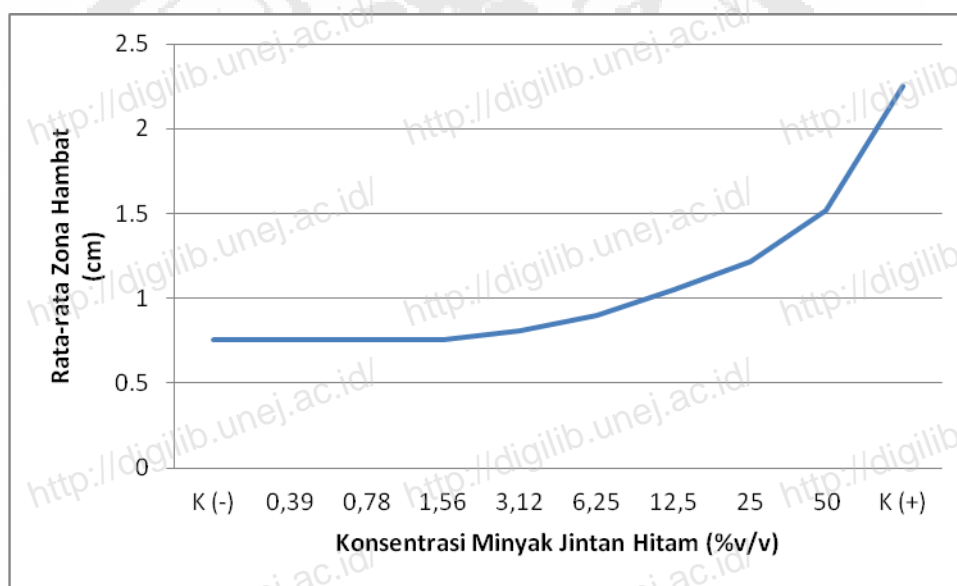
Ukuran sumuran yang dibuat pada media Mueller Hinton dalam penelitian ini adalah 0,76 cm. Pada penelitian ini minyak jintan hitam ditetapkan mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan *S. aureus* apabila dalam pengukurannya dengan menggunakan jangka sorong terbentuk zona hambat dengan diameter lebih dari 0,76 cm.

Penelitian ini menggunakan delapan kelompok penelitian dan kelompok kontrol positif dan negatif dengan pengulangan kelompok penelitian sebanyak 4 kali. Pada kelompok perlakuan, sumuran ditetesi dengan minyak jintan hitam dengan konsentrasi 50% v/v; 25% v/v; 12,5% v/v; 6,25% v/v; 3,12% v/v; 1,56% v/v; 0,78% v/v; dan 0,39% v/v. Pada kelompok kontrol negatif, sumuran ditetesi dengan larutan NaCMC 0,5% dan pada kelompok kontrol positif, sumuran ditetesi dengan sefaleksin 4 µg/ml.

Dari gambar 4.1 dapat dilihat adanya zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran pada konsentrasi 3,12% v/v; 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v; 50% v/v dan kontrol positif. Pada konsentrasi 0,39% v/v; 0,78% v/v; 1,56% v/v dan kontrol negatif, sama sekali tidak terbentuk zona



hambat. Lebar diameter zona hambat yang terjadi dapat dilihat pada tabel 4.1. Dari tabel 4.1 diketahui bahwa rata-rata zona hambat terbesar pada kelompok perlakuan minyak jintan hitam konsentrasi 50% v/v yaitu sebesar 1,52 cm, sedangkan rata-rata diameter zona hambat terkecil terdapat pada kelompok perlakuan minyak jintan hitam konsentrasi 3,12% v/v yaitu sebesar 0,81 cm. Sedangkan pada konsentrasi 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v masing-masing memberi rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *S. aureus* sebesar 0,90 cm, 1,05 cm dan 1,22 cm. Pada kontrol positif rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *S. aureus* adalah 2,25 cm. Kurva rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *S. aureus* setelah kontak dengan kontrol (-) dan kontrol (+) selama 24 jam inkubasi disajikan Gambar 4.2.

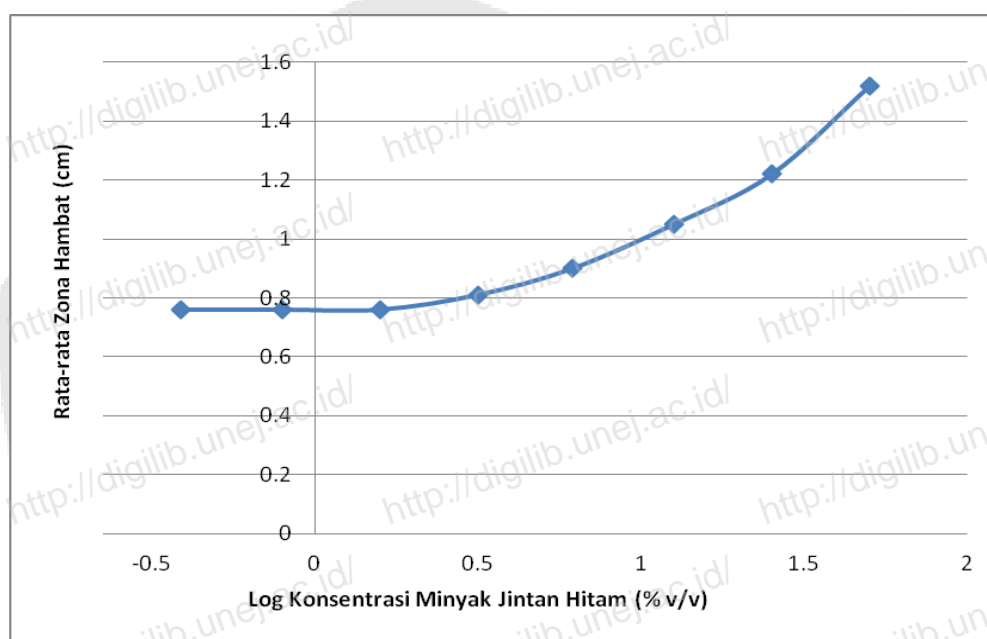


Gambar 4.2 Grafik rata-rata hubungan antara konsentrasi minyak jintan hitam dengan daya penghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*

Dari grafik dapat dilihat bahwa zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 3,12% v/v hingga konsentrasi 50% v/v. Semakin meningkat konsentrasi minyak jintan hitam maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin lebar. Hal ini menunjukkan bahwa minyak jintan hitam mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Pada konsentrasi 0,39% v/v – 1,56% v/v tidak ada aktivitas antibakteri, hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat.

Oleh karena itu, KHM (Kadar Hambat Minimum) minyak jintan hitam terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara kualitatif adalah pada konsentrasi 3,12% v/v.

Data yang didapat dari penelitian merupakan data kualitatif, sementara untuk menguji secara kuantitatif diperlukan uji analisis statistik. Uji analisis statistik yang dilakukan adalah regresi karena penelitian eksperimental bertujuan untuk mengetahui pengaruh variabel bebas dengan variabel terikat (Dahlan, 2009; dan Trihendradi, 2009).



Gambar 4.3 Grafik rata-rata hubungan antara log konsentrasi minyak jintan hitam dengan daya penghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*

#### 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. Berdasarkan uji *Kolmogorov-Smirnov* (Lampiran A) didapatkan nilai  $p = 1,000$ . Dengan nilai  $p > \alpha$  dimana  $\alpha = 0,05$  maka dapat dikatakan bahwa data tersebut terdistribusi normal.

Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan menggunakan uji Levene untuk mengetahui data tersebut memiliki varians data

yang homogen atau tidak. Hasil uji Levene (Lampiran B) didapatkan nilai *significancy* sebesar 0,001. Dengan nilai  $p < 0,05$  berarti varians data tidak homogen. Hal ini menunjukkan syarat untuk menggunakan analisis variansi satu arah (*One Way ANOVA*) tidak terpenuhi, karena syarat untuk melakukan analisis dengan *One Way ANOVA* adalah data memiliki distribusi normal dan varians yang homogen. Dengan demikian 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 nonparametrik *One Way ANOVA*. Uji ini digunakan untuk membandingkan lebih dari dua variabel yang tidak berpasangan (Dahlan, 2009). Perhitungan uji Kruskal-Wallis (Lampiran C) 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 delapan konsentrasi minyak jintan hitam 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 atau 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 D) dapat dilihat adanya perbedaan atau tidak pada masing-masing konsentrasi terhadap konsentrasi yang lain maupun terhadap kontrol yang ada.

Uji selanjutnya adalah uji regresi linier (Lampiran E). Berdasarkan uji regresi linier didapatkan nilai  $sig. = 0,002$ . Nilai tersebut dikatakan signifikan karena nilai  $sig.$  yang kurang dari 0,05. Signifikan berarti ada pengaruh antara variabel bebas (minyak jintan hitam) terhadap variabel terikat (zona hambat bakteri *S. aureus*).

Bentuk umum garis regresi dinyatakan dengan  $Y = a + bX$ . Y adalah variabel terikat dan X adalah variabel bebas. Berdasarkan uji regresi (Lampiran E), didapatkan nilai a dan b sebesar 0,752 dan 0,339 sehingga persamaan garis regresi menjadi:

$$Y = 0,752 + 0,339X$$

Untuk menentukan KHM secara kuantitatif (Lampiran F) dapat dimasukkan nilai  $Y = 0,76$  sehingga didapat nilai  $X = 0,0236$ . Nilai X sebesar 0,0236 harus di-antilog terlebih dahulu karena data konsentrasi (X) yang dimasukkan ke dalam SPSS dalam bentuk logaritma dan didapatkan hasil 1,056% v/v. Artinya pada konsentrasi 1,056% v/v minyak jintan hitam belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak didapatkan zona hambat dan baru akan terbentuk zona hambat apabila konsentrasi yang digunakan di atas 1,056% v/v.

Perhitungan daya hambat konsentrasi minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) yang setara dengan kontrol positif dapat dimasukkan nilai  $Y = 2,25$ . Sehingga didapat nilai  $X = 5$ . Nilai X sebesar 5 harus di-antilog terlebih dahulu karena data konsentrasi (X) yang dimasukkan ke dalam SPSS dalam bentuk logaritma dan didapatkan hasil 100000. Hal ini berarti pada konsentrasi 100000 v/v minyak jintan hitam memiliki daya hambat antibakteri yang setara dengan control positif, yaitu suspensi sefaleksin 4 µg/ml.

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

% v/v	K(+)	K(-)	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39
K(+)	-	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda
K(-)	berbeda	-	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	Tdk ada perbedaan	berbeda	Tdk ada perbedaan	Tdk ada perbedaan
50	berbeda	berbeda	-	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda
25	berbeda	berbeda	berbeda	-	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda
12,5	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	-	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda
6,25	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	-	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda
3,12	berbeda	Tdk ada perbedaan	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	-	berbeda	Tdk ada perbedaan	Tdk ada perbedaan
1,56	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	-	berbeda	berbeda
0,78	berbeda	Tdk ada perbedaan	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	Tdk ada perbedaan	berbeda	-	Tdk ada perbedaan
0,39	berbeda	Tdk ada perbedaan	berbeda	berbeda	berbeda	berbeda	Tdk ada perbedaan	berbeda	Tdk ada perbedaan	-

### 4.3 Pembahasan

Minyak jintan hitam diuji kemampuannya dalam menghambat bakteri Gram negatif yaitu *S. aureus*. Bakteri ini dipilih karena masih tingginya tingkat morbiditas dan mortalitas yang disebabkan oleh infeksi *S. aureus* di dunia. Uji kemampuan ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode difusi cara sumuran. Metode difusi cara sumuran adalah cara yang sering digunakan karena pelaksanaannya mudah, praktis, tidak mahal dan pengukurannya tidak sulit. Bukti bahwa minyak jintan hitam mempunyai kemampuan menghambat bakteri *S. aureus* ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran. Zona

hambat ini kemudian diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong untuk mengetahui seberapa besar daya hambatnya.

Konsentrasi minyak jintan hitam yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,39% v/v; 0,78% v/v; 1,56% v/v; 3,12% v/v; 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v; 50% v/v. Pembuatan berbagai konsentrasi ini dilakukan dengan memasukkan minyak jintan hitam dan ditambahkan NaCMC 0,5% dalam suatu tabung. NaCMC 0,5% digunakan saat melakukan pengenceran dan sebagai kontrol negatif.

Kontrol positif menggunakan serbuk sefaleksin yang yang dicampur dengan aquades steril. Pemilihan obat ini didasarkan karena cara kerja yang sama antara sefaleksin dan minyak jintan hitam yaitu menghambat sintesis dinding bakteri. Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Syed Robbin pada tahun 2011 yang menyatakan *S. aureus* yang telah banyak mengalami resisten terhadap beberapa antibiotik, diantaranya penisilin, ampisilin, tobramisin, siprofloksasin, vankomisin, ofloksasin, azitromisin, levoflaksin dan amikasin.

Hasil pengukuran diameter zona hambat minyak jintan hitam berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan pemberian dengan kontrol menunjukkan bahwa zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 3,12% v/v dengan rata-rata diameter 0,81 cm. Pada konsentrasi 50% didapatkan rata-rata diameter sebesar 1,52 cm. Kontrol negatif dengan menggunakan NaCMC 0,5% tidak didapatkan zona hambatan, sedangkan kontrol positif dengan sefaleksin didapatkan rata-rata diameter sebesar 2,25 cm. Berdasarkan uji Kruskal-Wallis menyatakan bahwa terdapat perbedaan kemampuan minyak jintan hitam menghambat bakteri *S. aureus*. Metode *Mann-Whitney* (Lampiran D) dilakukan perbandingan dengan kontrol negatif untuk menilai daya hambat secara statistik. Didapatkan pada konsentrasi 3,12% v/v; 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v; 50% v/v memiliki kemampuan menghambat yang bermakna secara statistik. Selain itu, pada metode *Mann-Whitney* juga dilakukan perbandingan dengan kontrol positif yang bertujuan untuk menilai besarnya potensi daya hambat antibakteri. Didapatkan pada konsentrasi 0,39% v/v; 0,78% v/v; 1,56% v/v; 3,12% v/v; 6,25% v/v; 12,5% v/v; 25% v/v; 50% v/v memiliki kemampuan menghambat bakteri *S. aureus* yang berbeda secara signifikan apabila dibandingkan dengan

kontrol positif berupa sefaleksin. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa minyak jintan hitam mempunyai potensi menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

Kemampuan minyak jintan hitam sebagai antibakteri telah dibuktikan oleh beberapa penelitian terdahulu. Pada penelitian tahun 1975 yang dilakukan oleh EL-Fatary yang mengisolasi *thymohydroquinone* dari minyak atsiri dalam jintan hitam mengemukakan bahwa zat ini berpotensi digunakan sebagai antibakteri. Efek antibakteri dari jintan hitam diujikan pada bakteri Gram Negatif yang diwakili oleh *Pseudomonas aerogenosa* dan *Escherichia coli* (Hanafi dan Hatem, 1991). Penelitian tersebut juga diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Ansyiah pada tahun 2009, yang membuktikan jintan hitam mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 100%, 75% dan 50%.

*Thymoquinone*, *thymohydroquinone* dan *tannin* adalah zat kimia utama pada minyak jintan hitam yang berfungsi sebagai antibakteri (Stern *et al*, 2000).

*Thymoquinone* dan *thymohydroquinone* diduga dapat membentuk kompleks yang *irreversible* dengan asam amino nukleofilik pada protein bakteri sehingga menyebabkan inaktivasi protein (Stern *et al*, 2000). Sementara *tannin* bekerja dengan mengadakan kompleks hidrofobik dengan protein, menginaktivasi adhesi, enzim dan protein transport dinding sel, sehingga mengganggu pertumbuhan bakteri (Hashem & El-Kiey, 2002).

Uji analisis yang digunakan adalah uji Regresi Linear. Uji ini akan memperlihatkan bentuk hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Selain itu dengan menggunakan analisis ini dapat diketahui pada nilai berapa dapat dikatakan bermakna. Untuk menentukan data yang didapatkan mempunyai distribusi normal atau tidak, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov (Lampiran A) yang dapat menunjukkan distribusi yang didapat normal atau tidak. Dari uji normalitas Kolmogorov-Smirnov didapatkan  $p = 1,000$ . Dengan nilai  $p > \alpha$  dimana  $\alpha = 0,05$  maka dapat dikatakan bahwa data tersebut terdistribusi normal.

Dari uji regresi linier (Lampiran E) didapatkan nilai signifikansi 0,002. Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat karena nilai signifikansi kurang dari 0,05. Bentuk umum garis regresi

dinyatakan dengan  $Y = a + bX$ .  $Y$  adalah variabel terikat dan  $X$  adalah variabel bebas. Berdasarkan uji regresi (Lampiran E), didapatkan nilai  $a$  dan  $b$  sebesar 0,752 dan 0,339 sehingga persamaan garis regresi menjadi  $Y = 0,752 + 0,339X$ . Menentukan KHM secara kuantitatif (Lampiran F) dapat dimasukkan nilai  $Y = 0,752$  sehingga didapat nilai  $X = 0,0236$ . Nilai  $X$  sebesar 0,0236 harus di-antilog terlebih dahulu karena data konsentrasi ( $X$ ) yang dimasukkan ke dalam SPSS dalam bentuk logaritma dan didapatkan hasil 1,056% v/v. Artinya pada konsentrasi 1,056% v/v minyak jantan hitam belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak didapatkan zona hambat dan baru akan terbentuk zona hambat apabila konsentrasi yang digunakan di atas 1,056% v/v.

Berdasarkan perhitungan hasil penelitian kualitatif maupun kuantitatif akan terlihat semakin tinggi konsentrasi minyak jantan hitam maka zona hambat yang terbentuk terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* akan semakin besar. Hal ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi maka zat-zat aktif yang terdapat di dalamnya juga akan semakin banyak, begitu juga sebaliknya semakin rendah konsentrasi maka zat-zat aktif yang terdapat di dalamnya juga akan semakin sedikit.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) mempunyai potensi menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* secara *in vitro*.
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara kualitatif adalah sebesar 3,12% v/v dan secara kuantitatif sebesar 1,056% v/v.

### 5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang:

1. Uji aktivitas antibakteri minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap bakteri lain.
2. Uji aktivitas antibakteri minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) secara *in vivo*.
3. Isolasi senyawa aktif minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) yang potensial sebagai antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

Aslam, M., Tan, dan Prayitno, A. 2003. Farmasi Klinik Pengobatan Rasional dan Penghargaan Pilihan Pasien. Jakarta: Elex Media Komputindo.

Ansyiah. 2009. Efek antimikroba Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* *In Vitro*. [serial on line]. <http://publikasi-ilmiah.ums.ac.id/handle/123456789/521?show=full>. [15 Januari 2012].

Brooks, G. F., Butel, J. S. and Morse, S. A. 2007. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg. Jakarta: EGC.

Clarkson. 1997. *Staphylococcus*. [On Line]. [http://www.kidshealth.org/perent/infections/bacterial\\_viral/staphylococcus.html](http://www.kidshealth.org/perent/infections/bacterial_viral/staphylococcus.html). [2 Mei 2007]. Halaman 1.

Dellit, T., Duchin, J., Hofmann, J., Olson, E.G. 2004. Interim Guidelines for Evaluation & Management of Community Associated Methicilin-resistenteant *Staphylococcus aureus* Skin and Soft Tissue Infection in Outpatient Settings. [serial on line]. <http://metroke.gov/health/providers/epidemiology/MRSA-guidelines.pdf>. [15 Januari 2012].

Dahlan, M. S. 2009. *Statistik untuk Kedokteran dan kesehatan*. Jakarta: Medika.

El-Fatatory, H.M. 2004. Antimicrobial activity of the volatile oil of *Nigella Sativa* Linnaeus Seeds. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 6(2): 225-6.

Farmacia. 2007. 4<sup>th</sup> symposium of Indonesia Antimicrobial Resistance Watch. [serial on line]. <http://www.majalah-farmacia.com>. [12 Januari 2012].

Grandiosa, Roffi. 2010. Efek Penggunaan Larutan Filtrat Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *In Vitro*. [serial on line]. <http://eprints.unpad.ac.id/5638/html>. [15 Januari 2012].

Hanafi, M.S.M. dan M.E. Hatem, 1991. *Studies on the antimicrobial activity of Nigella sativa seed (black cumin)*. *J. Ethnoph.*, 34: 275-8.

Hanafiah, K. 1991. *Rancangan Percobaan Teori Aplikasi*. Jakarta: Rajawali Press.

Hashem, F.M., dan El-Kiey, M.A. 2002. *Nigella sativa seeds of Egypt*. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 3 (1): 121-33

Handayani, D., Aldi, Y., & Zurmiati. 2008. Uji Aktivitas Penghambatan Degranulasi Mastosit yang Tersensitisasi terhadap Ekstrak Metanol Spon Laut *Acanthodendrilla* SP. [serial on line]. <http://digilib.unsri.ac.id/download/publikasi%20zurmiati%2001%20edit%20dian%20handayani090814.pdf> . [20 Januari 2012].

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

Jassegar, 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 *Echerichia coli*. *Nature and Science*. ISSN 1545-0740. Vol. 6(1): 1-14.

Julianti, Citra, Nirwana, & Bowo. 2007. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2(3): 1-10.

Katzung, G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 6*. Jakarta: EGC.

Klevens, R. M., Edwards, J.R., and Richards, C. L. 2007. Estimating Health Care Associated Infections and Deaths in U.S. Hospitals, 2002. Center for Disease Control. *Public Health Reports March-April 2007*. Vol 122-164.

Nickavar, Mojaba, Javidniab, Amolia. 2003. *Chemical Compositon of the Fixed and Volatile Oils Of Nigella sativa* L. Z. Naturforsch 58c: 629-631.

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

Picco, E. J., Cerra. M. G., Stiefel, S., Michael, P., Formentini, A. 2011. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic study of Cephalexin and Gentamicin antibacterial activity against sensible strains using a simple one-compartment *in vitro* model. *Revue Med*. Vol 1: 45-49.

Pratiknya, A. Watik. 2008. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi Pertama. Cetakan VII. Jakarta: Raja Grafindo Persada.

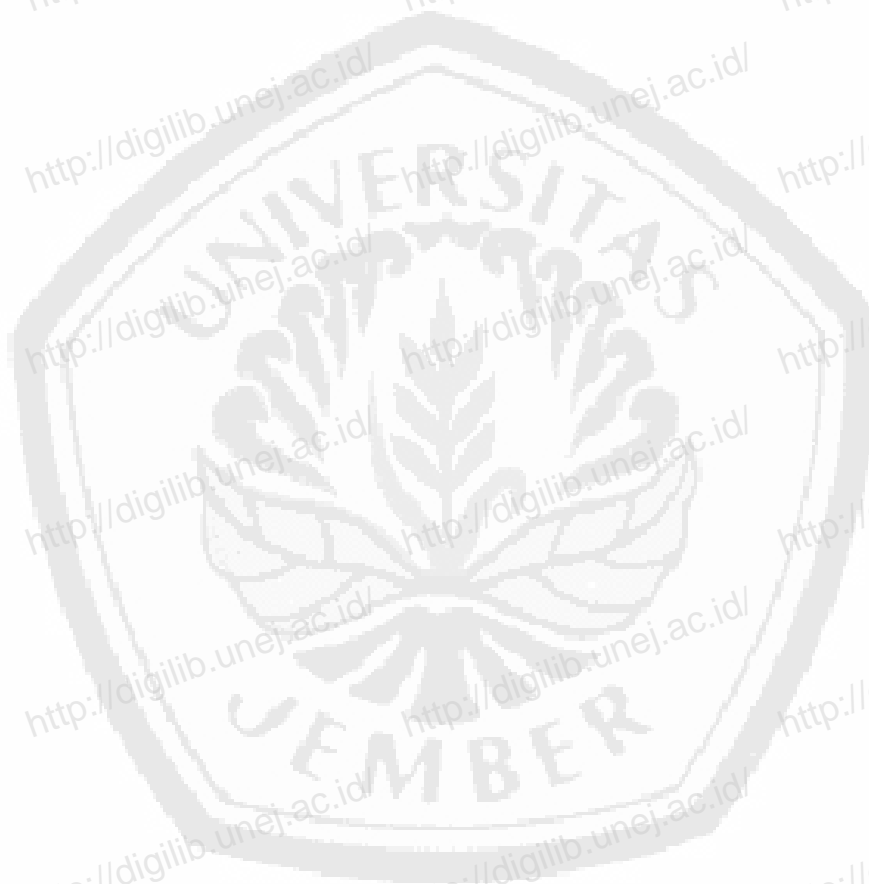
Randhawa, K., Houck, H., and Lawrence, R. 2005. Real-time Polymerasi Chain Reaction Detection of Herpes Simplex Virus in Cerebrospinal Fluid and Cost Seving From Earlier Hospital Discharge. *Jurnal Mol*. Vol 7: 512-516.

Saeed, S & Tariq, P. 2005. Antibacterial Activities of *Mentha piperita*, *Pisum sativum*, and *Momordica charantia*. *Pak. J. Bot*. Vol. 337(4):997-1001.

- Sari, A. I. P. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhimurium* *In Vitro*. [serial on line]. <http://eprints.undip.ac.id/14225/html>. [20 Januari 2012].
- Shodikin, A.M., Suswati, E., Mufina, D. C. 2006. *Diktat Mikrobiologi Bakteri Staphylococcus*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Jember.
- Sjamsuhidayat, R. And De Jong, W. 2004. Sindrom Melabsorpsi. [ On Line]. <http://ilmubedah.info/artikel/sjamsuhidayat+2004.html>. [ 15 Januari 2012].
- Sopia, S. 2009. Pengaruh Pembiakan Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus Wistar Hiperlipidemia. [serial on line]. <http://eprints.undip.ac.id/7846/html>. [ 20 Januari 2012].
- Stern, Hagerman, Steinberg, dan Mason. 2000. *Phlorotannin-protein interactions*. J. Chem. Ecol. 22: 18870-99
- Sudarsono, S. dan Tjokronegoro, A. 2007. *Metodologi Penelitian Bidang Kedokteran*. Cetakan VI. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Susilowati, R. 1998. *Panduan Pengenalan Tumbuhan Obat*. Jember: Program Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan Universitas Jember.
- Suswati, E. dan Mufida, D.C. 2009. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Setiabudy, Rianto., 2009. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Syed, R., Prasad, G., Deeba, F., Rani, D., Jamil, K. 2011. Antibiotic drug resistance of hospital acquired *Staphylococcus aureus* in Andhra Pradesh: A monitoring study. *African Journal of Microbiology Research*, 5 (6): 671-674.
- Tanu, I., 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta: EGC.
- Todar, Kenneth. 2008. *Todar's*. Online Textbook of Bacteriology. [serial on line]. <http://textbookofbacteriology.net/staph.html>. [12 Januari 2012].
- Toppler, M. 2009. Infection *Staphylococcus aureus*. [serial on line]. [http://www.MedicineNet.com/Staph\\_Infection](http://www.MedicineNet.com/Staph_Infection). [12 Januari 2012].
- Trihendradi, C. 2009. *7 Langkah Mudah Melakukan Analisis Statistik Menggunakan SPSS 17*. Yogyakarta: Andi offset.

Warsa, U.C.1993. *Kokus Positif Gram. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara.

Yani, Rizki. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. [serial on line]. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/19639/4/Chapter%20II.pdf>. [20 Januari 2012].



## LAMPIRAN

### Lampiran A. Uji Normalitas *Kolmogrov-Smirnov*

Tabel data hasil penelitian

Konsentrasi (% v/v)	Diameter (cm)	Konsentrasi (logaritma)
50	1,52	1,70
25	1,22	1,40
12,5	1,05	1,10
6,25	0,90	0,79
3,12	0,81	0,50
1,56	0,76	0,20
0,78	0,76	-0,10
0,39	0,76	-0,41

#### A.1 Uji Normalitas *Kolmogrov-Smirnov* kelompok I

##### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		logkonsentrasi	diametercm
N		8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.6475	.9337
	Std. Deviation	.73661	.24401
Most Extreme Differences	Absolute	.105	.290
	Positive	.103	.290
	Negative	-.105	-.238
Kolmogorov-Smirnov Z		.298	.819
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	.513

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## A.2 Uji Normalitas *Kolmogrov-Smirnov* kelompok II

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		logkonsentrasi	diametercm
N		8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.6475	.9825
	Std. Deviation	.73661	.28333
Most Extreme Differences	Absolute	.105	.217
	Positive	.103	.217
	Negative	-.105	-.216
Kolmogorov-Smirnov Z		.298	.613
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	.846

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## A.3 Uji Normalitas *Kolmogrov-Smirnov* kelompok III

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		logkonsentrasi	diametercm
N		8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.6475	.9975
	Std. Deviation	.73661	.29222
Most Extreme Differences	Absolute	.105	.208
	Positive	.103	.205
	Negative	-.105	-.208
Kolmogorov-Smirnov Z		.298	.589
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	.879

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

#### A.4 Uji Normalitas *Kolmogrov-Smirnov* kelompok IV

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		logkonsentrasi	diametercm
N		8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.6475	.9800
	Std. Deviation	.73661	.27615
Most Extreme Differences	Absolute	.105	.225
	Positive	.103	.225
	Negative	-.105	-.213
Kolmogorov-Smirnov Z		.298	.637
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	.813

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

#### Lampiran B. Uji Homogenitas Levene

##### B.1 Uji Homogenitas Levene Kelompok I

Test of Homogeneity of Variances

konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.250	6	33	.000

##### B.2 Uji Homogenitas Levene Kelompok II

Test of Homogeneity of Variances

konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.250	6	33	.000



### B.3 Uji Homogenitas Levene Kelompok III

#### Test of Homogeneity of Variances

konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.250	6	33	.000

### B.3 Uji Homogenitas Levene Kelompok IV

#### Test of Homogeneity of Variances

konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.250	6	33	.000



### Lampiran C. Uji Nonparametrik Kruskal-Wallis

Ranks		
konsentrasi	N	Mean Rank
diametercm		
50% v/v	4	34.50
25% v/v	4	30.50
12,5% v/v	4	26.50
6,25% v/v	4	22.50
3,12% v/v	4	18.50
1,56% v/v	4	8.50
0,78% v/v	4	8.50
0,39% v/v	4	8.50
K (+)	4	38.50
K (-)	4	8.50
Total	40	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	diametercm
Chi-square	39.000
df	9
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

konsentrasi

## Lampiran D. Uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan Metode *Mann-whitney*

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	4	6.50	26.00
	25% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	4	6.50	26.00
	12,5% v/v	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

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

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	4	6.50	26.00
	6,25% v/v	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

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

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	4	6.50	26.00
	3,12% v/v	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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	4	6.50	26.00
	1,56% v/v	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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	4	6.50	26.00
	0,78% v/v	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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	4	6.50	26.00
	0,39% v/v	4	2.50	10.00
Total		8		

		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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
Total		8		

		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

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

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	50% v/v	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

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

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25% v/v	4	6.50	26.00
	- 12,5% v/v	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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25% v/v	4	6.50	26.00
	6,25% v/v	4	2.50	10.00
Total		8		

		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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25% v/v	4	6.50	26.00
	3,12% v/v	4	2.50	10.00
Total		8		

		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



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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25% v/v	4	6.50	26.00
	1,56% v/v	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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25% v/v	4	6.50	26.00
	0,78% v/v	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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25% v/v	4	6.50	26.00
	0,39% v/v	4	2.50	10.00
	Total	8		

		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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25% v/v	4	2.50	10.00
	K (+)	4	6.50	26.00
	Total	8		

		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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	25% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5% v/v	4	6.50	26.00
	6,25% v/v	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

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

Ranks

konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5% v/v	4	6.50	26.00
	3,12% v/v	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

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

Ranks

konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5% v/v	4	6.50	26.00
	1,56% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5% v/v	4	6.50	26.00
	0,78% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5% v/v	4	6.50	26.00
	0,39% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	12,5% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25% v/v	4	6.50	26.00
	3,12% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25% v/v	4	6.50	26.00
	1,56% v/v	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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25% v/v	4	6.50	26.00
	0,78% v/v	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

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

		Ranks		
konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25% v/v	4	6.50	26.00
	0,39% v/v	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



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

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25% v/v	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

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

konsentrasi		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	6,25% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12% v/v	4	6.50	26.00
	1,56% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12% v/v	4	6.50	26.00
	0,78% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12% v/v	4	6.50	26.00
	0,39% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	3,12% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	1,56% v/v	4	4.50	18.00
	0,78% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	1,56% v/v	4	4.50	18.00
	0,39% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	1,56% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	1,56% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	0,78% v/v	4	4.50	18.00
	0,39% v/v	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

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

Ranks

konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	0,78% v/v	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

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

Ranks

konsentrasi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	0,78% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	0,39% v/v	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

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

		Ranks		
	konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
diametercm	0,39% v/v	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



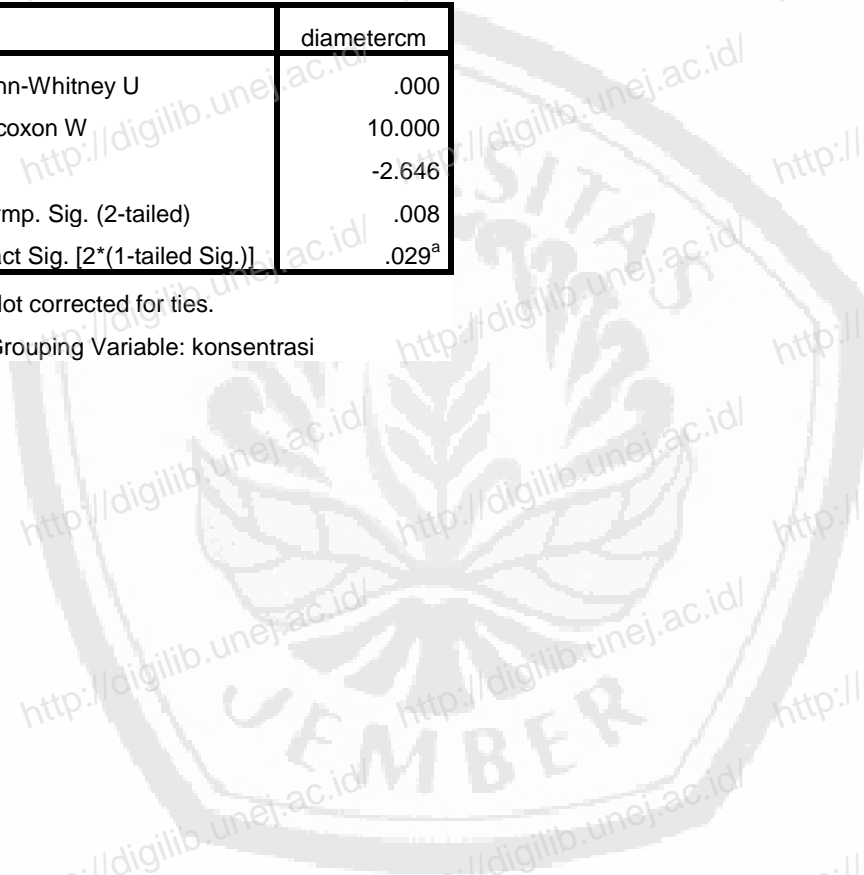
### D.45 NPar Tests (9&10) Mann-Whitney Test

		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



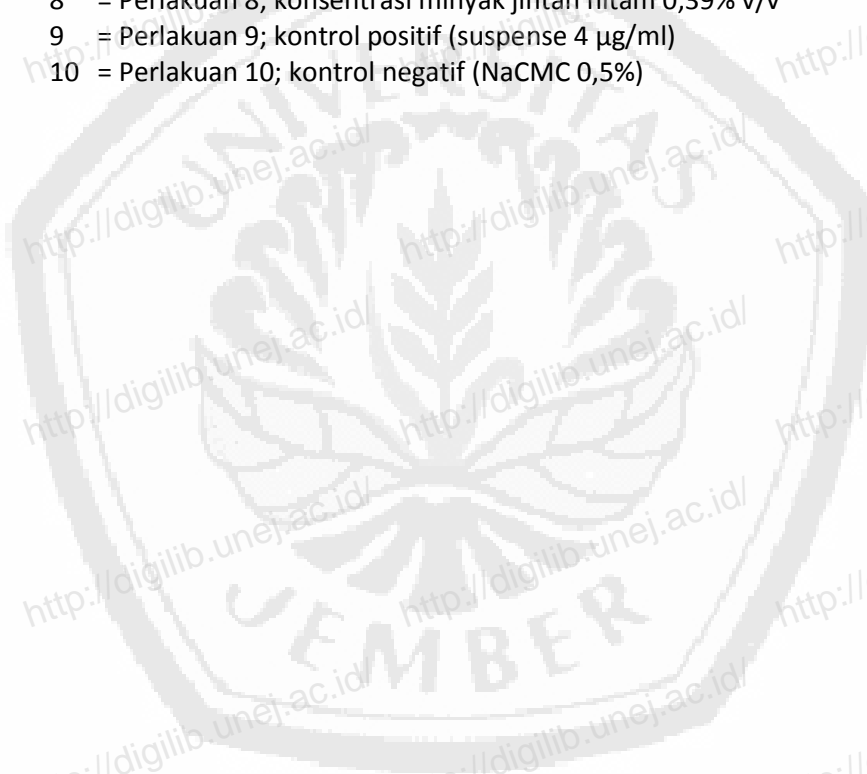
Hasil uji *Post Hoc multiple comparisons* dengan metode *Mann-Whitney*

No	Perlakuan		<i>p value</i>	Keterangan		
1	1	2	0,018	Ada perbedaan		
		3	0,008	Ada perbedaan		
		4	0,008	Ada perbedaan		
		5	0,008	Ada perbedaan		
		6	0,008	Ada perbedaan		
		7	0,008	Ada perbedaan		
		8	0,008	Ada perbedaan		
		9	0,008	Ada perbedaan		
		10	0,008	Ada perbedaan		
		2	2	3	0,008	Ada perbedaan
4	0,008			Ada perbedaan		
5	0,008			Ada perbedaan		
6	0,008			Ada perbedaan		
7	0,008			Ada perbedaan		
8	0,008			Ada perbedaan		
9	0,008			Ada perbedaan		
10	0,008			Ada perbedaan		
3	3			4	0,008	Ada perbedaan
				5	0,008	Ada perbedaan
		6	0,008	Ada perbedaan		
		7	0,008	Ada perbedaan		
		8	0,008	Ada perbedaan		
		9	0,008	Ada perbedaan		
		10	0,008	Ada perbedaan		
		4	4	5	0,008	Ada perbedaan
				6	0,008	Ada perbedaan
				7	0,008	Ada perbedaan
8	0,008			Ada perbedaan		
9	0,008			Ada perbedaan		
10	0,008			Ada perbedaan		
5	5			6	0,008	Ada perbedaan
				7	0,008	Ada perbedaan
				8	0,008	Ada perbedaan
				9	0,008	Ada perbedaan
		10	0,008	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 minyak jintan hitam 50% v/v
- 2 = Perlakuan 2; konsentrasi minyak jintan hitam 25% v/v
- 3 = Perlakuan 3; konsentrasi minyak jintan hitam 12,5% v/v
- 4 = Perlakuan 4; konsentrasi minyak jintan hitam 6,25% v/v
- 5 = Perlakuan 5; konsentrasi minyak jintan hitam 3,12% v/v
- 6 = Perlakuan 6; konsentrasi minyak jintan hitam 1,25% v/v
- 7 = Perlakuan 7; konsentrasi minyak jintan hitam 0,78% v/v
- 8 = Perlakuan 8; konsentrasi minyak jintan hitam 0,39% v/v
- 9 = Perlakuan 9; kontrol positif (suspense 4 µg/ml)
- 10 = Perlakuan 10; kontrol negatif (NaCMC 0,5%)



## Lampiran E. Uji Regresi Linier

Tabel data hasil penelitian

Konsentrasi (% v/v)	Diameter (cm)	Konsentrasi (logaritma)
50	1,52	1,70
25	1,22	1,40
12,5	1,05	1,10
6,25	0,90	0,79
3,12	0,81	0,50
1,56	0,76	0,20
0,78	0,76	-0,10
0,39	0,76	-0,41

## Regression

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>**

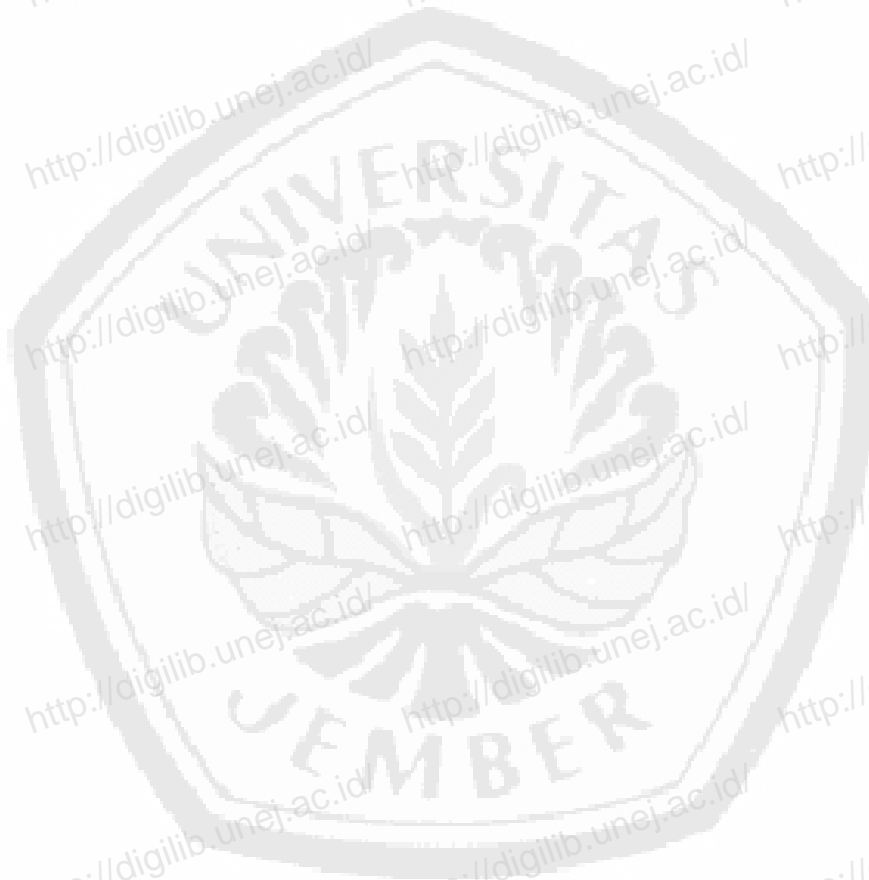
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	,752	,061		12,418	,000
	logkonsentrasi	,339	,064	,907	5,289	,002

a. Dependent Variable: diametercm

**Residuals Statistics<sup>a</sup>**

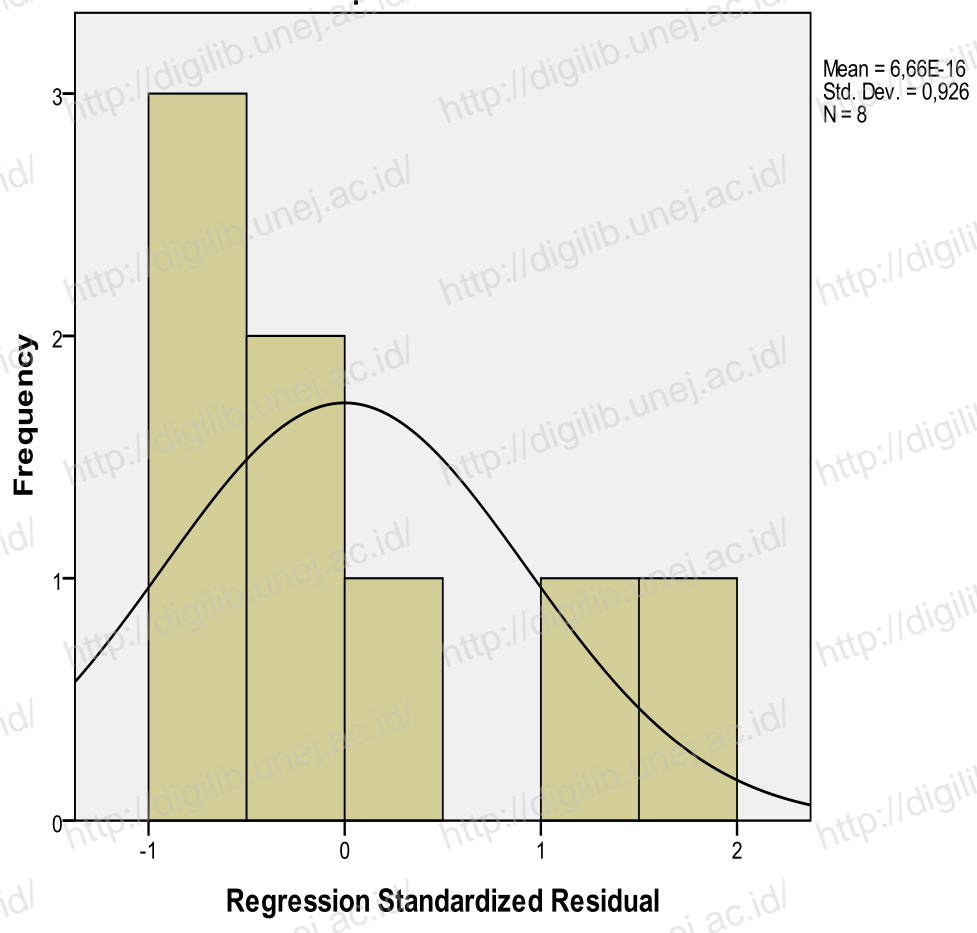
	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	N
Predicted Value	,6167	1,3277	,9722	,24881	8
Residual	-,12048	,18729	,00000	,11523	8
Std. Predicted Value	-1,429	1,429	,000	1,000	8
Std. Residual	-,968	1,505	,000	,926	8

a. Dependent Variable: diametercm

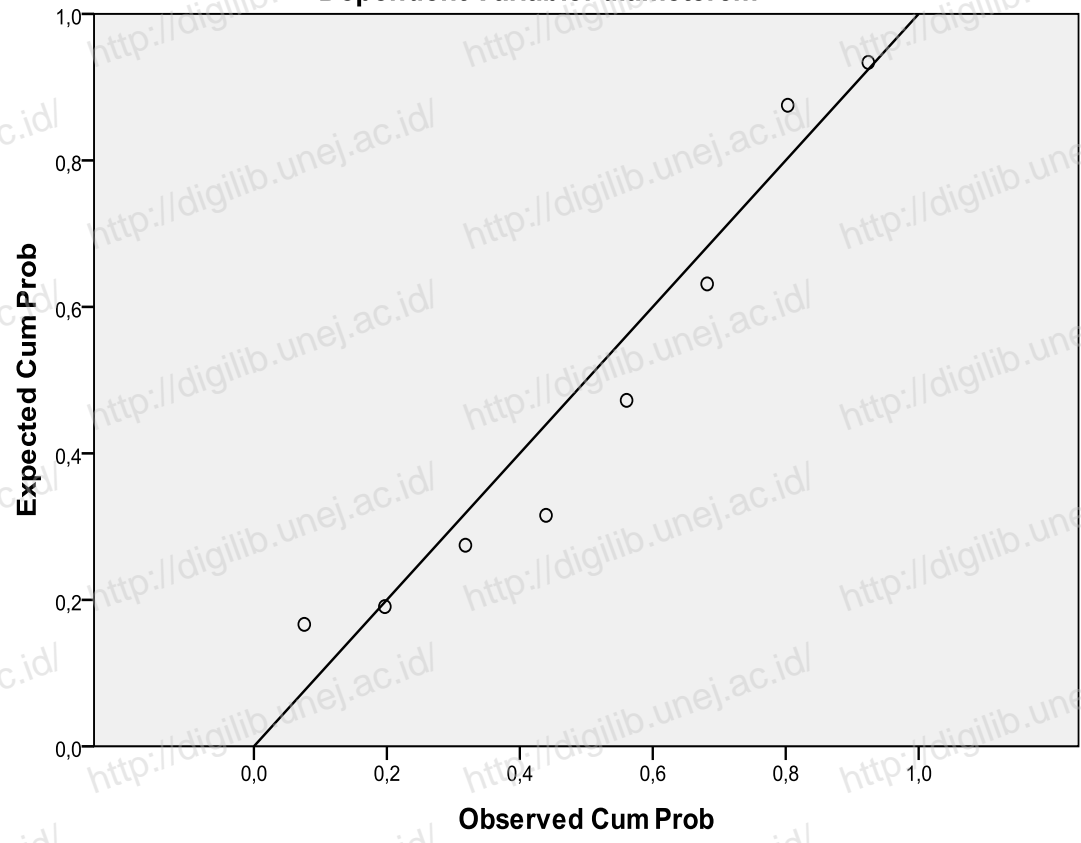


### Histogram

Dependent Variable: diametercm



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





### Lampiran F. Persamaan Garis Regresi dan KHM Secara Kuantitatif

Persamaan garis regresi

$$Y = a + bX$$

Dari hasil uji regresi (tabel Coefficients) didapat nilai  $a = 0,752$  dan  $b = 0,339$ , sehingga persamaannya menjadi:

$$Y = 0,752 + 0,339X$$

$Y$  = diameter zona hambat (variabel terikat)

$X$  = adalah konsentrasi ekstrak (variabel bebas)

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

$$Y = 0,752 + 0,339X$$

$$0,76 = 0,752 + 0,339X$$

$$0,008 = 0,339X$$

$$X = 0,0236$$

$$\text{Anti log } X = 1,056\% \text{ v/v}$$

Karena nilai  $X$  merupakan log konsentrasi, maka untuk mendapatkan nilai konsentrasi sebenarnya  $X$  harus di-antilog, sehingga didapatkan hasil 1,056% v/v. Hal ini berarti pada konsentrasi 1,056% v/v minyak jintan hitam belum dapat menimbulkan hambatan pada pertumbuhan bakteri. Minyak jintan hitam baru menunjukkan zona hambat pada konsentrasi di atas 1,056% v/v.

### Lampiran G. Perhitungan Daya Hambat Konsentrasi Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) yang Setara dengan Kontrol Positif

Persamaan garis regresi

$$Y = a + bX$$

Dari hasil uji regresi (tabel Coefficients) didapat nilai  $a = 0,752$  dan  $b = 0,339$ , sehingga persamaannya menjadi:

$$Y = 0,752 + 0,339X$$

$Y$  = diameter zona hambat (variabel terikat)

$X$  = adalah konsentrasi ekstrak (variabel bebas)

Untuk penentuan KHM secara kuantitatif, dimasukkan nilai  $Y = 2,52$  (diameter zona hambat kontrol positif)

$$Y = 0,752 + 0,339X$$

$$2,52 = 0,752 + 0,339X$$

$$1,76 = 0,339X$$

$$X = 5$$

$$\text{Anti log } X = 100000$$

Karena nilai  $X$  merupakan log konsentrasi, maka untuk mendapatkan nilai konsentrasi sebenarnya  $X$  harus di-antilog, sehingga didapatkan hasil 100000 v/v.

Hal ini berarti pada konsentrasi 100000 v/v minyak jintan hitam memiliki daya hambat antibakteri yang setara dengan control positif, yaitu suspensi sefaleksin 4 µg/ml.