

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan yang disebabkan oleh organisme, seperti bakteri, virus, jamur dan parasit.<sup>1</sup> Salah satu bakteri yang paling sering menyebabkan penyakit infeksi adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang menghasilkan pigmen kuning, bersifat anaerob fakultatif (bakterinya bisa hidup dengan baik, baik itu dengan oksigen atau tanpa oksigen), tidak menghasilkan spora dan tidak ada kemampuan gerak, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,8 – 1,0 mikro meter. Bakteri *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan optimum pada suhu 37<sup>0</sup>C dengan waktu pembelahan 0,47 jam. Terdapat sejumlah penyakit yang bisa disebabkan dari bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pioderma, infeksi nosokomial, diare dan muntah karena keracunan makanan.<sup>2</sup> Masa inkubasi dari *Staphylococcus aureus* adalah 2 hari.<sup>3</sup>

Infeksi yang terjadi didalam tubuh kita bisa mengakibatkan kadar sel darah putih menjadi meningkat (leukositosis). Sel darah putih atau leukosit adalah bagian dari sistem kekebalan tubuh yang berfungsi untuk melindungi diri dari infeksi.<sup>4</sup> Penyebab leukosit menjadi tinggi adalah karena infeksi dan reaksi dari konsumsi obat yang diperuntukkan agar produksi sel meningkat.<sup>5</sup> Nilai normal dari leukosit adalah 3,5 – 10,0 10<sup>9</sup>/l.<sup>6</sup>

Indonesia merupakan salah satu negara di dunia yang memiliki iklim tropis yang kaya akan berbagai macam tanaman dan tidak sedikit tanaman di Indonesia itu bisa dijadikan sebagai salah satu pengobatan. Diperkirakan Indonesia mempunyai sekitar lebih dari 10.450 jenis tanaman yang bisa dijadikan sebagai obat-obatan.<sup>4</sup> Masyarakat Indonesia sudah mengenal penggunaan obat-obatan tradisional dari generasi ke generasi. Salah satu dari sekian banyaknya tanaman yang bisa dijadikan sebagai obat adalah daun sirih hijau. Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) merupakan tanaman yang telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian ekstrak daun sirih hijau terpurifikasi pada konsentrasi 20 mg/ml ternyata memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

yang sangat kuat. Daun sirih hijau dimanfaatkan sebagai anti sariawan, anti batuk, astrigen dan antiseptik.<sup>7</sup>

Kandungan kimia dari daun sirih hijau adalah *steroid, tanin, flavonoid, saponin, fenol, alkaloid, coumarin, emodins* dan minyak atsiri.<sup>8</sup> *Steroid* bekerja sama dengan membran fosfolipid sel sehingga membuat integritas dari membran tersebut menjadi menurun dan mengalami kerusakan. *Tanin* mempunyai aktivitas anti inflamasi, astrigen, anti diare, diuretik dan antiseptik. *Flavonoid* diduga memiliki mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa bisa diperbaiki lagi. *Saponin* bisa bekerja sebagai anti mikroba, merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Mekanisme *fenol* sebagai agen anti bakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding serta mengendapkan protein sel bakteri. Kandungan minyak atsiri sebanyak 4,2 % dan sebagian besar komponennya terdiri dari *betephenol* yang berperan sebagai agen anti bakteri. Menurut hasil penelitian Zuhroh, Fadhilatuz bahwa ekstrak daun sirih hijau bisa menurunkan jumlah leukosit tikus dan bisa mempengaruhi jumlah jenis leukosit khususnya neutrofil dan limfosit setelah 6 jam pengamatan. Sementara itu eosinofil, basofil dan monosit tidak dipengaruhi oleh ekstrak daun sirih hijau.<sup>9</sup> Menurut hasil penelitian Sarah (2022) bahwa ekstrak daun belimbing wuluh 150 mg/Kg BB mempunyai efektivitas dapat menurunkan jumlah leukosit pada tikus yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.<sup>10</sup>

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) terhadap jumlah leukosit pada tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus L.*) yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) terhadap jumlah leukosit pada tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus L.*) yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus* ?

### 1.3 Hipotesis

**Ho :** Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) terhadap jumlah leukosit pada tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus L.*) yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus*.

**Ha :** Ada pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) terhadap jumlah leukosit pada tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus L.*) yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus*.

### 1.4 Tujuan Penelitian

#### 1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) terhadap jumlah leukosit pada tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus L.*) yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus*.

#### 1.4.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui jumlah leukosit tikus putih wistar jantan yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus* setelah pemberian kontrol negatif.
2. Untuk mengetahui jumlah leukosit tikus putih wistar jantan yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus* setelah pemberian kontrol positif,
3. Untuk mengetahui jumlah leukosit tikus putih wistar jantan yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus* setelah pemberian ekstrak daun sirih hijau pada dosis 300 mg/KgBB,
4. Untuk mengetahui jumlah leukosit tikus putih wistar jantan yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus* setelah pemberian ekstrak daun sirih hijau pada dosis 500 mg/KgBB,
5. Untuk mengetahui jumlah leukosit tikus putih wistar jantan yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus* setelah pemberian ekstrak daun sirih hijau pada dosis 1.000 mg/KgBB.

### 1.5 Manfaat Penelitian

#### 1.5.1 Peneliti Selanjutnya

Untuk menambah referensi peneliti selanjutnya dan bisa mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) terhadap jumlah leukosit pada tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus L.*) yang terpapar oleh

*Staphylococcus aureus*.

### **1.5.2 Institusi Kesehatan**

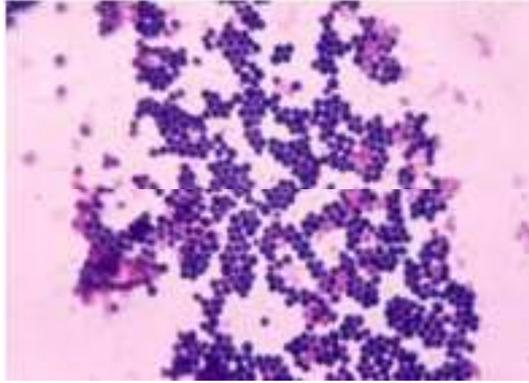
Untuk mengetahui manfaat dari pemberian ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) ke tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus L.*) yang terpapar oleh *Staphylococcus aureus*.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Staphylococcus aureus*

##### 2.1.1 Taksonomi dan Morfologi dari *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus*<sup>11</sup>

Domain : *Bakteria*.

Filum : *Firmicutes*.

Kelas : *Bacilli*.

Order : *Laktobasilales*.

Famili : *Staphylococcaceae*.

Genus : *Staphylococcus*.

Spesies : *Staphylococcus aureus*.<sup>12</sup>

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang bisa tumbuh secara anaerobik atau aerobik, bentuknya bulat dan terlihat seperti kumpulan buah anggur.

*Staphylococcus aureus* berdiameter sekitar 0,7 – 1,2 mikro meter dan letaknya tidak teratur didalam koloni. Pada koloni media agar *Staphylococcus aureus* tampak berwarna kuning keemasan. *Staphylococcus aureus* bisa tumbuh pada suhu 35<sup>0</sup> C – 40<sup>0</sup> C.<sup>13</sup> Masa inkubasi dari *Staphylococcus aureus* adalah 2 hari.

##### 2.1.2 Patogenesis dari *Staphylococcus aureus*<sup>14</sup>

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat berdiameter 0,7 - 1,2 µm, yang tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak.

Berdasarkan bakteri yang tidak membentuk spora, maka *Staphylococcus aureus* termasuk jenis bakteri yang pagar kuat daya tahannya. Agar agar miring tetap hidup sampai berbulan bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Dalam keadaan kering pada benang, kertas kain dan dalam nanah tetap hidup selama 6 - 14 minggu. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi anggota bukan pigmen pagar baik bantalan dengan suhu kamar (20 - 25°C). Koloni pada per benihan padat berwarna abu abu sampai kuning emas, berbentuk bulat, menonjol dan berkilau. Lebih dari 90% mengisolasi klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri koagulase positif dan memfermentasi manitol, hal ini yang membedakan *Staphylococcus aureus* dengan spesies *Staphylococcus* lainnya. Koloni *Staphylococcus* pada medium padat yang berbentuk halus, bulat, meninggi dan berkilau. Koloni berwarna abu abu hingga kuning emas. *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan hemolisis pada pertumbuhan optimalnya. *Staphylococcus aureus* menyebabkan sindrom infeksi yang luas. Infeksi kulit dapat terjadi pada kondisi hangat yang lembab atau saat kulit terbuka akibat penyakit seperti ekstim, luka gangguan. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, misalnya infeksi paska operasi, *Staphylococcus* atau infeksi yang menyertainya trauma. Jika *Staphylococcus aureus* menyebar dan terjadi bakterimia, maka dapat terjadi endokarditis, *osteomyelitis* hematogen akut, meningitis atau infeksi paru paru. Setiap jaringan entahlah alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga menyebabkan permulaan penyakit dengan tanda tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses. *Staphylococcus aureus* menyebabkan berbagai jenis peradangan pada rongga mulut seperti parotitis, selulitis, *angle cheilitis* dan abses *periodontal Djas*.

### 2.1.3 Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*<sup>15</sup>

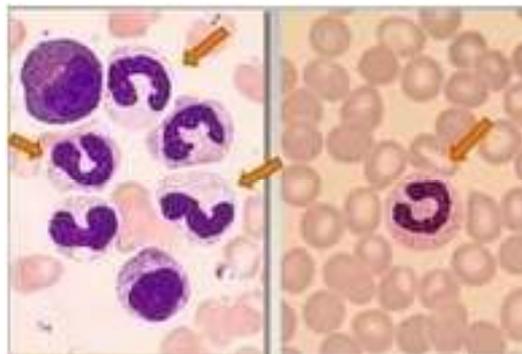
Pertumbuhan dan kelangsungan hidup *Staphylococcus aureus* tergantung pada sejumlah faktor lingkungan misalnya suhu, aktivitas udara, pH, adanya oksigen dan komposisi makanan. Parameter dari pertumbuhan fisik bervariasi untuk berbagai strain *Staphylococcus aureus*. Kisaran suhu untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 12 - 44°C, dengan optimal 37°C. *Staphylococcus aureus* menolak terhadap pembekuan sehingga *Staphylococcus aureus* bertahan dengan baik dalam makanan yang disimpan di bawah -20°C. Namun, bertahan hidup mengurangi pada

suhu -10 sampai 0°C. *Staphylococcus aureus* mudah mati dalam *pasteurisasi* atau memasak. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* terjadi pada pH optimal 7,4. *Staphylococcus aureus* bersifat fakultatif anaerob, sehingga dapat tumbuh di kondisi aerob dan anaerob. Namun, pertumbuhannya bisa terjadi pada tingkat yang lebih lambat dalam kondisi anaerob.

#### 2.1.4 Gambaran Klinis dari Infeksi *Staphylococcus aureus*

Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* seperti pioderma dapat membuat berbagai gambaran klinis seperti impetigo, selulitis, folikulitis. Folikulitis adalah infeksi kulit yang mempunyai ciri formasi, furunkel, pustul, dan karbunkel. Bula impetigo diakibatkan karena ada produksi toksin eksofoliatif, sedangkan selulitis adalah masalah kulit yang berbentuk infiltrat difus di subkutan dengan tanda radang akut. Secara hematogen, penularan *Staphylococcus aureus* dari lesi kulit dapat mengakibatkan bakterimia, endokarditis, meningitis, pneumonia dan infeksi ginjal.<sup>16</sup>

## 2.2 Leukosit



**Gambar 2.2 Leukosit**<sup>17</sup>

Leukosit adalah sel darah putih yang berperan melindungi tubuh dari infeksi penyebab penyakit. Umumnya, leukosit normal sekitar 4.000 - 10.000 / mikro liter darah.<sup>18</sup> Leukosit memiliki 2 cara pertahanan tubuh dalam melawan infeksi penyakit, yaitu respon imun pada tubuh diaktifkan dan fagositosis (mengeliminasi dari proses menelan sampai partikel asing yang masuk ke dalam tubuh menjadi hancur). Ada 2 jenis leukosit, yaitu agranulosit dan granulosit. Kalau agranulosit terdapat monosit dan limfosit, sedangkan kalau granulosit terdapat neutrofil, basofil dan eosinofil.

Jenis jenis leukosit <sup>19</sup> :



**Gambar 2.3 Jenis jenis leukosit <sup>20</sup>**

1. Monosit memiliki ukuran yang lebih besar dari pada limfosit, mempunyai protoplasma yang besar, warnanya kebiruan dengan sedikit bercampur dengan warna abu abu dan juga memiliki seperti bintang bintang berwarna kemerahan. Fungsi dari monosit ini sendiri yaitu sebagai fagosit. Monosit dibentuk disumsum tulang.
2. Limfosit memiliki nukleus yang bulat dan berwarna gelap. Limfosit juga memiliki sitoplasma yang berwarna biru seperti langit dan berbentuk lingkaran yang terdapat disekitar nukleus. Fungsi dari limfosit itu sendiri sebagai mematikan bakteri yang ada di dalam tubuh. Limfosit dibagi menjadi 2 yaitu limfosit B dan limfosit T yang memiliki peran untuk respon imun adaptif.
3. Neutrofil adalah jenis sel yang paling banyak pada darah manusia. Neutrofil memiliki granula yang tidak berwarna dan memiliki inti sel yang tidak teratur. Neutrofil selalu berjaga jaga untuk dapat melihat dan memastikan apakah terdapat tanda dari infeksi mikroba dan jika ditemukan maka sel ini segera mematikan patogen yang masuk.
4. Basofil memiliki sel yang lebih kecil dibandingkan dengan eosinofil dan basofil memiliki granula yang berwarna biru dan bentuknya juga lebih rapi atau teratur. Basofil memiliki fungsi yaitu melepaskan mediator terhadap inflamasi dan mengatur sel kekebalan terhadap alergi.
5. Eosinofil adalah bagian dari granulosit yang menduduki posisi ke 2 dengan jumlah yang sedikit dalam darah. Eosinofil memiliki ukuran granula yang besar dan berwarna merah. Dalam eosinofil terdapat sel T yang dapat mengeluarkan senyawa yang akan meningkatkan kinerja eosinofil dalam mematikan parasit.

## 2.3 Daun Sirih Hijau (*Piper betle linn*)

### 2.3.1 Taksonomi dan Morfologi dari Daun Sirih Hijau



**Gambar 2.4 Daun Sirih Hijau**

- Kingdom : *Plantae*.  
 Sub kingdom : *Tracheobionta*.  
 Super divisi : *Angiospermae*.  
 Divisi : *Magnoliophyta & Spermatophyta*.  
 Kelas : *Magnolipsida*.  
 Ordo : *Piperales*.  
 Famili : *Piperaceae*.  
 Genus : *Piper*.  
 Spesies : *Piper betle linn*.<sup>21</sup>

Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) adalah tumbuhan merambat dengan bentuk daun yang menyerupai jantung dan berwarna hijau. Ketinggiannya mencapai 5-15 m.

Tanaman ini berfungsi sebagai tanaman obat yang berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit kulit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* karena memiliki daya anti septik yang baik.

### 2.3.2 Manfaat dari Daun Sirih Hijau

Manfaatnya adalah sebagai analgesik, meringankan sembelit, mengurangi masalah pernafasan, memiliki sifat antiseptik dan anti jamur.<sup>22</sup>

### 2.3.3 Anti Oksidan dari Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau memiliki senyawa *flavonoid* yang berfungsi sebagai anti oksidan karena kemampuannya dalam menghambat radikal bebas ada di dalam tubuh. Cara *flavonoid* dalam mencegah radikal bebas yaitu dengan menghambat pembentukan reaktif oksigen spesies, meningkatkan regulasi dan proteksi dari anti oksidan.<sup>23</sup>

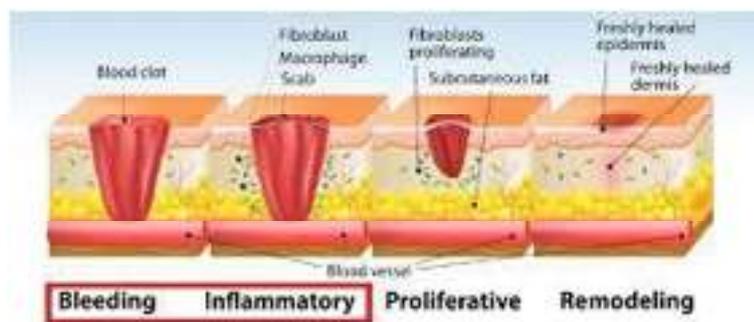
### 2.3.4 Mekanisme Daun Sirih Hijau Sebagai Anti Bakteri

Daun sirih hijau memiliki aktivitas anti bakteri karena mengandung senyawa

*flavonoid, fenol* dan *steroid*.<sup>24</sup> *Flavonoid* bekerja dengan cara menghancurkan membran sitoplasma yang membuat rusaknya metabolik dalam mengaktifkan enzim bakteri. *Fenol* bisa membunuh bakteri dengan cara mendenaturasi sel protein dimana *fenol* akan membuat dinding sel yang sedang mengalami pembentukan menjadi terganggu. *Steroid* bekerja sama dengan membran fosfolipid sel sehingga membuat integritas dari membran tersebut menjadi menurun dan mengalami kerusakan.

## 2.4 Luka

Luka adalah fungsi kulit yang terlindungi bisa rusak dengan disertai oleh kontinuitas atau keterlanjutan jaringan epitelnya menghilang dengan atau tanpa adanya kerusakan pada jaringan lainnya seperti otot, tulang dan saraf yang disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu : tekanan, sayatan dan luka karena operasi. Ada 4 fase penyembuhan luka, yaitu :<sup>25</sup>



**Gambar 2.5 Fase Penyembuhan Luka.**<sup>26</sup>

### 1.) Fase hemostatis

Fase hemostatis adalah fase dimana tubuh bereaksi untuk segera menghentikan darah yang keluar selama beberapa waktu setelah terjadinya luka. Proses ini tidak berlangsung lama, hanya beberapa menit saja.

### 2.) Fase inflamasi (radang)

Pada fase inflamasi, leukosit menghancurkan bakteri di area luka. Ini adalah mekanisme alami tubuh untuk mencegah infeksi. Leukosit juga menghasilkan senyawa kimia yang bisa memperbaiki jaringan tubuh yang rusak. Fase ini terjadi selama 0 - 3 hari.

### 3.) Fase proliferasi

Pada fase proliferasi, luka direkonstruksi dengan jaringan baru yang terdiri dari kolagen dan matriks ekstraseluler. Pada fase ini, Luka menyusut saat jaringan baru terbentuk. Fase ini terjadi dari hari ke 3 - 20.

#### 4.) Fase *remodelling* (fase pematangan)

Pada tahap ini, sel epitel baru saja menutupi seluruh tepi luka. Komposisi serat kolagen berubah secara mikroskopis. Biasanya tahap ini butuh waktu sekitar 6 - 12 minggu.

## 2.5 Tikus



**Gambar 2.6 Tikus Putih Wistar Jantan.**<sup>27</sup>

Tikus merupakan hewan yang paling banyak digunakan dalam penelitian. Tikus putih wistar jantan adalah jenis yang paling banyak dipakai karena gampang didapat, harganya murah, bisa beradaptasi dengan lingkungan sekitar yang baru dan memiliki struktur fisiologis yang mirip dengan manusia.<sup>28</sup> Usia tikus ini adalah 2 - 3 bulan, berat badannya 150 - 200 gr.<sup>29</sup>

## 2.6 Metode Ekstraksi



**Gambar 2.7 Ekstraksi.**<sup>30</sup>

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu zat dari suatu campuran dengan menggunakan pelarut, dimana pelarut yang dipakai harus bisa mengekstraksi zat yang diinginkan tanpa melarutkan bahan lain. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam membuat ekstraksi adalah pemilihan pelarut, suhu, pencampuran pelarut, tidak beracun, tidak mudah terbakar dan *pre treatment* dilakukan jika faktor tersebut meliputi mengeringkan bahan dan mengecilkan bahan yang dilakukan dengan cara memotong, menggiling atau menghancurkan bahan.<sup>31</sup>

## 2.7 *Cefadroxil*



**Gambar 2.8 *Cefadroxil*.**<sup>32</sup>

*Cefadroxil* adalah antibiotik dari golongan penisilin yang ditambahkan dengan gugus amino ekstra ke penisilin. Antibiotik ini sangat ampuh untuk melawan bakteri gram positif seperti *Streptococcus* dan *Staphylococcus aureus*. *Cefadroxil* digunakan untuk mengobati infeksi pada kulit, saluran kemih dan saluran pernafasan. Efek samping dari *cefadroxil* adalah mual, muntah, gangguan pencernaan, demam dan pusing.<sup>33</sup>

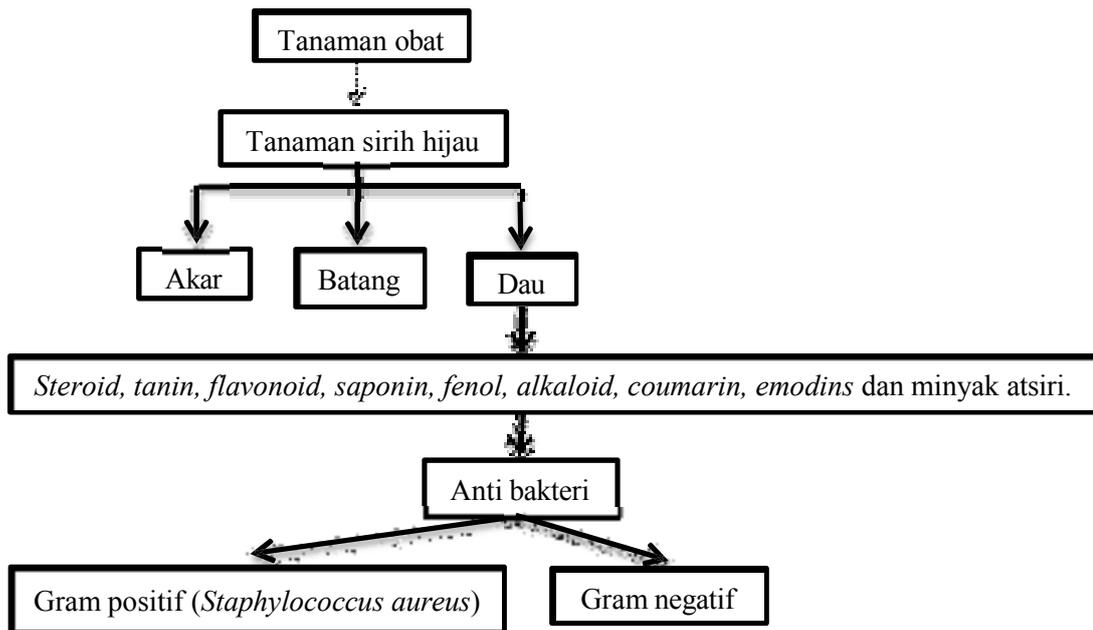
### 2.7.1 Farmakokinetik dari *Cefadroxil*

*Cefadroxil* oral diserap melalui saluran cerna. Konsentrasi plasma maksimum tercapai setelah sekitar 70 - 90 menit. Sekitar 10 % *cefadroxil* berikatan dengan protein plasma dan waktu paruh obat sekitar 1 - 2 jam. *Cefadroxil* dimetabolisme di hati dan sekitar 90 % *cefadroxil* disekresikan di urin.<sup>34</sup>

### 2.7.2 Farmakodinamik dari *Cefadroxil*

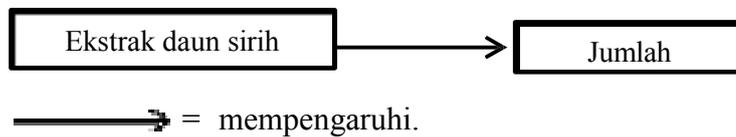
Kelompok beta laktam adalah struktur molekul *cefadroxil* yang bekerja sebagai antibiotik untuk membunuh bakteri. Protein pengikat penisilin adalah sekelompok beta laktam dalam menghambat zat yang berperan dalam sintesis dinding sel bakteri. Dalam proses pembentukan dinding sel, terjadi reaksi transpeptidase dan penyerapan protein pengikat penisilin, hal itulah yang mengganggu proses tersebut, sehingga menyebabkan pengurangan rantai pentaglisin pada lumen dinding sel bakteri yang menyebabkan kelainan pada struktur sel bakteri dan membuat bakteri itu mati.<sup>35</sup>

## 2.8 Kerangka Teori



**Bagan 2.1 Kerangka teori**

## 2.9 Kerangka Konsep



**Bagan 2.2 Kerangka konsep**

## BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *pre test* dan *post test with control group design*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di lantai 3 Lab. Farmasi USU dan Labkesda Prov. Sumut.

#### 3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2023 - Desember 2023.

### 3.3 Populasi

Tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) yang diperoleh dari Lab. Farmasi USU.

### 3.4 Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

#### 3.4.1 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.) yang sudah memenuhi kriteria inklusi.

#### 3.4.2 Penentuan Jumlah Sampel Tikus

Penentuan jumlah sampel tikus dilakukan dengan menggunakan rumus Federer<sup>36</sup>:

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

Keterangan :

t = jumlah perlakuan yang akan diberikan.

n = jumlah sampel per kelompok yang hendak dicari.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok, yaitu : kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok ekstrak daun sirih hijau pada dosis 300 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1.000 mg/KgBB. Maka, jumlah sampel yang diperoleh dari perhitungan adalah sebagai berikut :

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

$$\begin{aligned}
 (5 - 1) (n - 1) &\geq 15 \\
 4 (n - 1) &\geq 15 \\
 4n - 4 &\geq 15 \\
 4n &\geq (15 + 4) \\
 4n &\geq 19 \\
 n &\geq (19 / 4) \\
 n &\geq 4,75 \\
 n &\geq 5
 \end{aligned}$$

Maka, jumlah sampel tiap kelompok adalah 5 ekor tikus.

Besar sampel :  $t_x = (5 \times 5) = 25$  ekor tikus.

Untuk mengantisipasi ada tikus yang mati selama penelitian, maka diperlukan tikus cadangan dengan rumus koreksi besar sampel sebagai berikut<sup>37</sup> :

$$n' = (n / 1 - f)$$

Keterangan :

$n'$  = Jumlah sampel penelitian.

$n$  = Besar sampel yang dihitung.

$f$  = Perkiraan proporsi untuk tikus mati, kira kira 10 % ( $f = 0,1$ ).

Adapun jumlah sampel dalam penelitian ini adalah :

$$n' = (n / 1 - f)$$

$$n' = 25 / (1 - 0,1)$$

$$n' = (25 / 0,9)$$

$$n' = 27,7$$

$$n' = 28$$

Jumlah tikus cadangan, dengan rumus :  $\text{Jumlah kelompok perlakuan} \times (n' - n)$

$$= 5 \times (28 - 25)$$

$$= (5 \times 3)$$

$$= 15 \text{ ekor tikus.}$$

Jadi, tikus yang dipakai 25 tikus dibagi menjadi 5 kelompok & tikus cadangan ada 15 tikus. Sehingga, tikus yang dibutuhkan sebanyak 40 tikus putih wistar jantan.

### 3.4.3 Cara Pemilihan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*, yaitu memilih subjek berdasarkan pada pertimbangan subjektif.

### 3.5 Kriteria Inklusi, yaitu :

- 1.) Tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus* L.),
- 2.) Tikus tampak sehat dan bergerak aktif,
- 3.) Usia tikus 2 - 3 bulan,
- 4.) Berat badan tikus adalah 150 - 200 gr.

### 3.6 Instrumen Penelitian

#### 3.6.1 Alat :

Kandang tikus, tampah, blender, timbangan digital, pengaduk, sonde lambung, ayakan, toples, masker, sarung tangan, kertas label, mikro pipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *rotary evaporator*, *sputit*, tabung sampel darah, mikroskop, *hematology analyzer*, tabung minum tikus, tempat makan tikus, gunting, *scalpel*, pisau cukur.

#### 3.6.2 Bahan :

25 tikus putih wistar jantan, pakan dan minuman tikus (air putih), daun sirih hijau sebanyak 2,5 kg, ekstrak daun sirih hijau, bakteri *Staphylococcus aureus*, *aquadest*, *Cefadroxil*.

#### 3.6.3 Perhitungan Dosis *Cefadroxil*

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmut 400 gr	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 gr	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 gr	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Tabel 3.1 Konversi Perhitungan Dosis *Cefadroxil* (Laurence dan Bacharach) <sup>38</sup>

Menurut tabel Laurence dan Bacharach bahwa konversi dosis *cefadroxil* pada manusia (70 kg) ke tikus (200 gr) adalah 0,018 dengan perhitungan sebagai berikut : <sup>39</sup>

Dosis *cefadroxil* ke manusia = 500 mg.

Dosis *cefadroxil* ke tikus =  $(0,018 \times 500) \text{ mg} = 9 \text{ mg}$ .

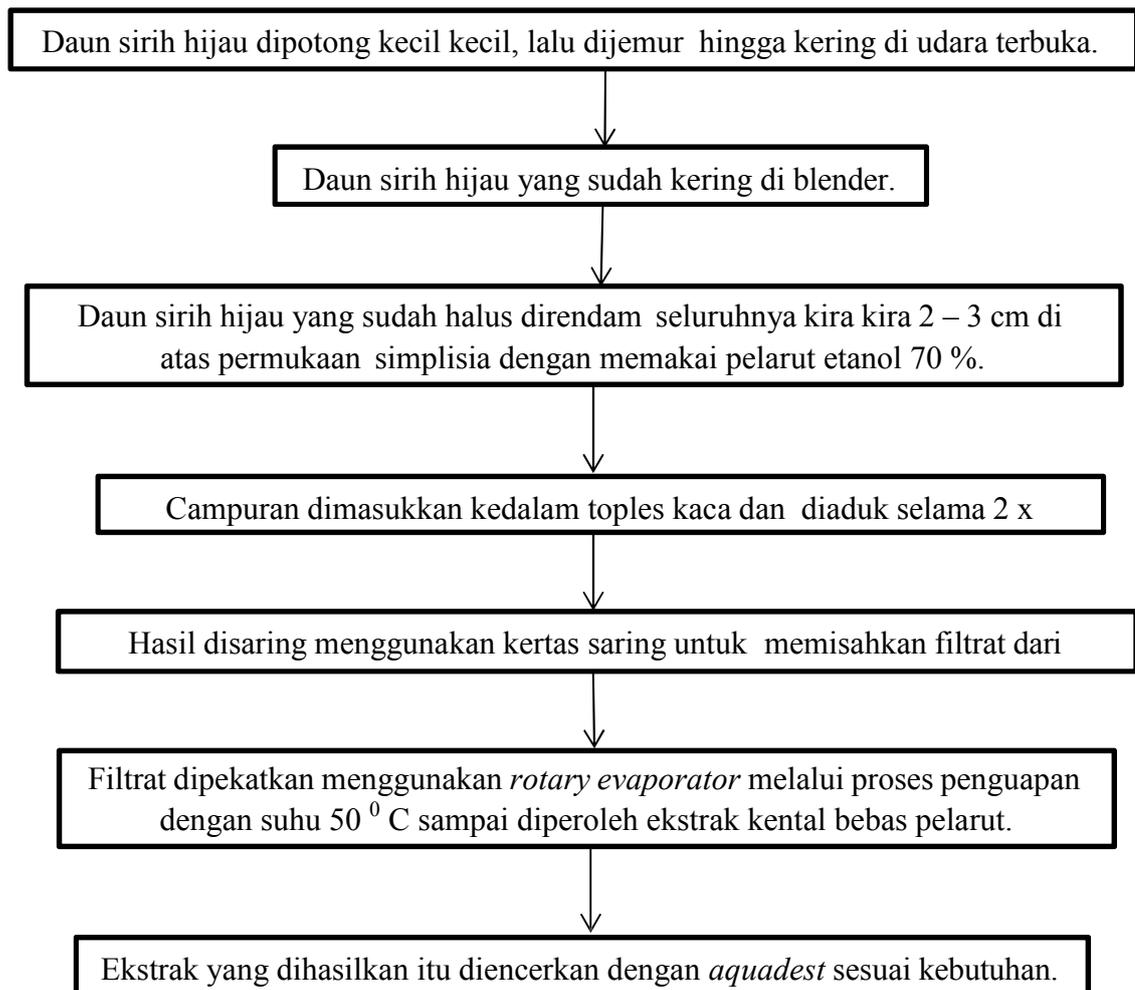
Maka, dosis *cefadroxil* yang diberikan ke tikus setelah dikonversi adalah 9 mg.

### 3.6.4 Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Sirih Hijau<sup>40</sup>

1. Dosis 300 mg/kgBB =  $300 \text{ mg} \times 186 \text{ gr (BB rata rata tikus)} / 1.000 \text{ gr}$   
 $= 55,8 \text{ mg/ekor} = 0,0558 \text{ gr/ekor} \times 5$   
 $= 0,279 \text{ gr/hari} + 18 \text{ ml aquabidest.}$
2. Dosis 500 mg/kgBB =  $500 \text{ mg} \times 186 \text{ gr (BB rata rata tikus)} / 1.000 \text{ gr}$   
 $= 93 \text{ mg/ekor} = 0,093 \text{ gr/ekor} \times 5$   
 $= 0,465 \text{ gr/hari} + 18 \text{ ml aquabidest.}$
3. Dosis 1.000 mg/kgBB =  $1000 \text{ mg} \times 186 \text{ gr (BB rata rata tikus)} / 1.000 \text{ gr}$   
 $= 186 \text{ mg/ekor} = 0,186 \text{ gr/ekor} \times 5$   
 $= 0,93 \text{ gr/hari} + 18 \text{ ml aquabidest.}$

## 3.7 Prosedur Kerja

### 3.7.1 Diagram Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau<sup>41</sup>



### 3.7.2 Pembuatan Luka Pada Tikus<sup>42</sup>

1. Bulu pada bagian punggung tikus dicukur dengan diameter  $\pm$  3 cm.
2. Bagian punggung dibersihkan menggunakan alkohol 70 %.
3. Tikus dianestesi menggunakan lidokain 0,1 ml melalui jalur intra muskular.
4. Dilakukan penyayatan dengan panjang 2 cm dan kedalaman sampai dermis menggunakan *scalpel* steril no.11.
5. Daerah luka dibersihkan dengan menggunakan NaCl 0,9 %.
6. Tiap luka kemudian ditetesi dengan suspensi dengan menggunakan mikro pipet bakteri sebanyak 0,1 ml.

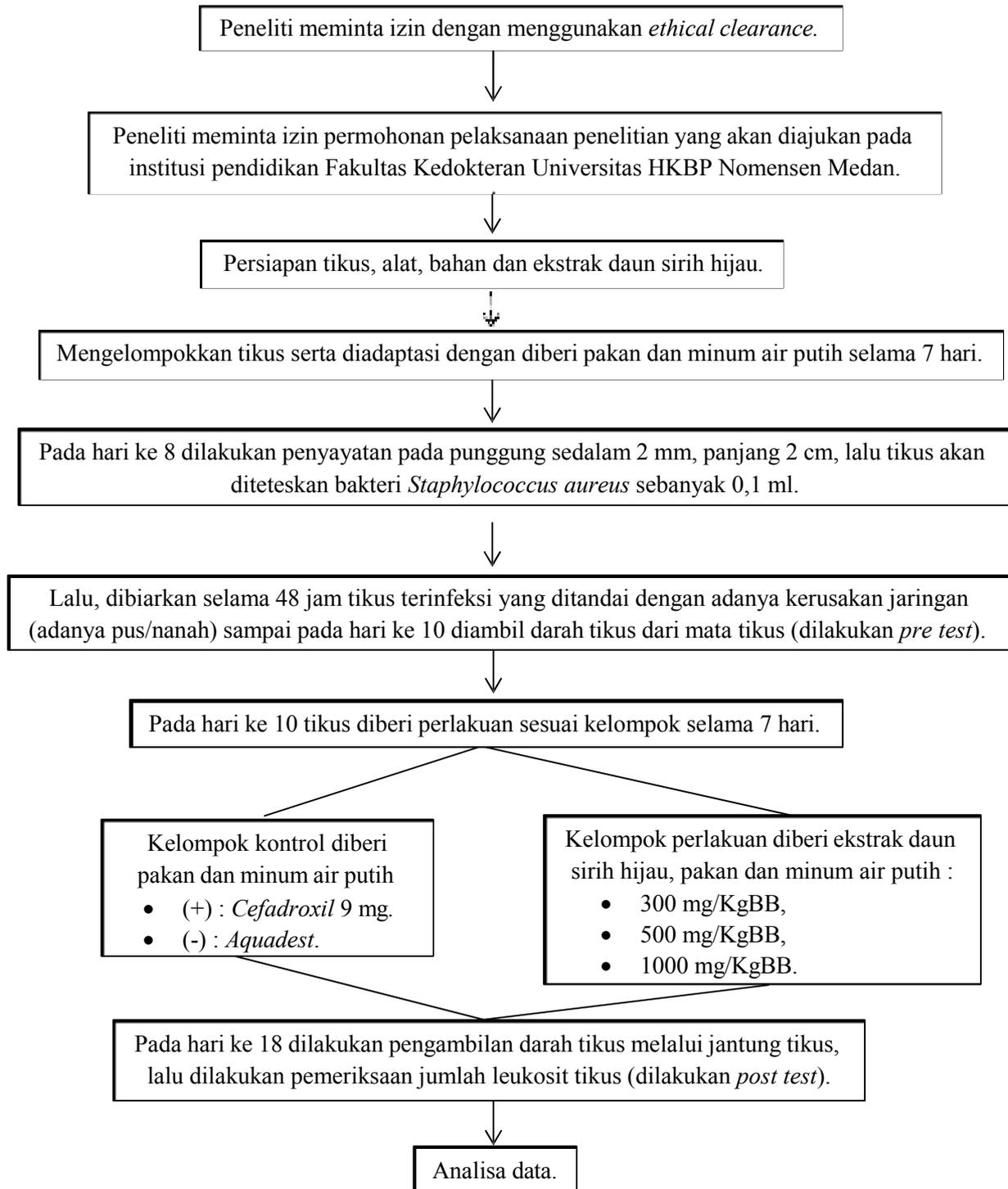
### 3.7.3 Prosedur Kerja Penelitian

Untuk gambaran secara jelas, perjalanan penelitian adalah sebagai berikut :

1. Peneliti meminta izin dengan menggunakan *ethical clearance*.
2. Peneliti meminta izin permohonan pelaksanaan penelitian yang akan diajukan pada institusi pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan.
3. Persiapan tikus, alat, bahan dan ekstrak daun sirih hijau.  
25 tikus dibagi menjadi 5 kelompok yang masing masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Kelompok kontrol positif merupakan kelompok yang diberikan antibiotik. Kelompok I merupakan kelompok yang diberi ekstrak daun sirih hijau dengan dosis 300 mg/KgBB. Kelompok II merupakan kelompok yang diberi ekstrak daun sirih hijau dengan dosis 500 mg/KgBB. Kelompok III merupakan kelompok yang diberi ekstrak daun sirih hijau dengan dosis 1000 mg/KgBB. Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok yang hanya diberi pakan, tanpa diberikan ekstrak daun sirih hijau.
4. Sebelum dilakukan percobaan, tikus diadaptasi dahulu selama 7 hari.
5. Pada hari ke 8, semua kelompok tikus diinfeksi dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dibiarkan selama 48 jam agar mengalami infeksi.
6. Dibiarkan selama 48 jam tikus terinfeksi yang ditandai dengan adanya kerusakan jaringan (adanya pus/nanah) sampai pada hari ke 10 diambil darah tikus dari mata tikus (dilakukan *pre test*), lalu dilakukan pemeriksaan jumlah leukosit tikus di Laboratorium kesehatan daerah Provinsi Sumatera Utara dan tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya masing masing selama 7 hari.

7. Hari ke 18 dilakukan pengambilan darah tikus melalui jantung tikus, lalu dilakukan pemeriksaan jumlah leukosit tikus (dilakukan *post test*) di Laboratorium kesehatan daerah Provinsi Sumatera Utara.

### 3.8 Diagram Alur Penelitian



### 3.9 Identifikasi Variabel

3.9.1 Variabel Independen, yaitu ekstrak daun sirih hijau.<sup>43</sup>

3.9.2 Variabel Dependen, yaitu jumlah leukosit.<sup>10</sup>

### 3.10 Definisi Operasional

Tabel 3.2 Definisi Operasional

No.	Variabel	Defenisi	Alat ukur	Skala ukur
1.	Ekstrak daun sirih hijau ( <i>Piper betle linn</i> )	suatu hasil ekstraksi yang dibuat dengan proses pengeringan, perendaman dan penguapan. <sup>10</sup>	Timbangan <sup>10</sup>	Nominal
2.	Jumlah leukosit	sel darah putih yang berperan melindungi tubuh dari infeksi penyebab penyakit. <sup>44</sup>	<i>Hemositometer</i> (kamar hitung <i>improved neubauer</i> ) <sup>45</sup>	Rasio

### 3.11 Analisa Data

Untuk data dari hasil penelitian ini diolah di SPSS. Data dianalisa dengan uji normalitas menggunakan *uji shapiro wilk* untuk mengetahui bagaimana sebaran distribusi data dan dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk mengetahui apakah data memiliki varian yang homogen. Jika pada uji normalitas dan uji homogenitas didapatkan data homogen dan berdistribusi normal, maka bisa dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*.<sup>10</sup> Tujuan dibuatnya uji *one way ANOVA* adalah untuk mengetahui apakah ada perbedaan jumlah leukosit dari 5 kelompok tikus.<sup>46</sup> Jika data tidak terdistribusi normal/hasilnya berbeda, berarti tergolong data non parametrik, sehingga menggunakan uji beda *kruskal wallis*. Tujuan dibuatnya uji beda *kruskal wallis* adalah untuk menguji apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel independen dengan variabel dependen.<sup>47</sup>

