

LEMBARAN PENGESAHAN
KAPULAN HARI PENELITIAN

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sokoa (*Amorimia cordata*) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*.

Nama : Lenny Bernadita Parba

NPM : 200100050

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

(dr. Sutida, Sp.PA)

(dr. Novreka P Sipayung MKT)

Dosen Penguji

Ketua PSSK Sarjana Kedokteran

(dr. Oko P. Hidayat, M.Kes,Sp.K) (dr. Leo Simanjuntak, Sp.S2)

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas HKIR Semarang

(Dr. dr. Leo Simanjuntak, Sp.S2)

BAB I PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyebab masalah kesehatan yang paling banyak terjadi di dunia termasuk di Indonesia. Data dari *World Health Organization* (WHO) menunjukkan bahwa infeksi menjadi penyebab utama terjadinya kematian. Pada tahun 2012 WHO menyatakan tingkat kematian yang paling sering terjadi adalah pada anak-anak <5 tahun dengan persentase 1-20%.¹ Infeksi penyakit yang paling sering terjadi adalah infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* yang menjadi salah satu penyebab penyakit diare. Data lain yang diperoleh dari Departemen Kesehatan Indonesia tahun 2021 diare juga menjadi penyebab kematian yaitu tercatat ada 1.060 kasus. Dan pada tahun 2020 sebanyak 731 balita yang meninggal karena diare.²

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh masuk dan berkembangbiaknya mikroorganisme yang bersifat patogen ke dalam tubuh manusia. Mikroorganisme tersebut yang terdiri dari satu bahkan lebih sel, meliputi bakteri, fungi, parasit dan virus. Proses terjadinya infeksi ketika berinteraksi dengan mikroba yang menyebabkan kerusakan pada tubuh host dan kerusakan tersebut menimbulkan berbagai gejala dan tanda klinis. Infeksi yang sering terjadi adalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang bersifat patogen.¹

Beberapa tahun belakangan ini salah satu contoh bakteri yang menyebabkan sering menyebabkan infeksi penyakit diare adalah *Staphylococcus aureus*.³ Bakteri ini merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia serta dapat ditemukan juga di udara dan lingkungan sekitar.⁴ Ditemukan sekitar 30% pada hidung orang dewasa yang sehat dan sekitar 20% pada permukaan kulit.⁵

Beberapa jenis penyakit yang dapat disebabkan oleh infeksi *Staphylococcus aureus* adalah mastitis, dermatitis (inflamasi kulit), infeksi saluran pernafasan, impetigo, abses, sindrom syok toksik, dan keracunan makanan dengan gejala mual, muntah bahkan diare.⁶

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh infeksi bakteri memerlukan pemberian antibiotik.⁷ Antibiotik merupakan zat kimiawi yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan, untuk menghambat pertumbuhan bahkan membunuh mikroorganisme.⁸ Tujuan pemberian antibiotik adalah untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme, terutama bakteri patogen.⁹

Pemberian antibiotik yang tidak tepat menimbulkan masalah resistensi.¹⁰ Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik yang sering digunakan sudah mencapai angka presentasi yang tinggi. Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat menjadi ancaman bagi rumah sakit dan pelayanan kesehatan karena dapat menyebabkan terjadinya kegagalan pengobatan hal ini menyebabkan tingginya biaya kesehatan karena lamanya pengobatan serta beban keuangan untuk pasien, asuransi, dan pemerintah.¹¹ Keadaan ini menjadi dasar untuk menemukan terapi alternatif yang efektif dan aman, termasuk penggunaan obat-obatan yang terbuat dari bahan-bahan alami seperti tumbuhan untuk mencegah pengobatan jangka lamadan mengurangi biaya sehingga penggunaan obat herbal lebih diminati karena selain lebih aman juga relatif lebih murah.¹²

Ada lebih dari 30.000 jenis spesies tumbuhan di Indonesia, 1000 jenis diantaranya dimanfaatkan sebagai tanaman industri, tanaman penghasil buah-buahan, tanaman rempah-rempah dan tanaman obat-obatan.¹³ Tanaman sukun merupakan salah satu tanaman yang banyak memiliki manfaat yang dapat digunakan sebagai tanaman obat.¹⁴ Buah sukun memiliki cita rasa yang khas dan dapat diolah sebagai bahan pangan dengan berbagai pengolahan dari cara tradisional sampai modern. Terbatasnya informasi dan pengetahuan mengenai manfaat sukun kemungkinan memperlambat perkembangan jenis tanaman ini.¹⁵

Sukun merupakan jenis tanaman serbaguna yang bisa dimanfaatkan kayunya, kulit batang, buah dan daunnya.¹⁶ Selain buahnya daun sukun memiliki banyak kandungan kimia seperti saponin, polifenol, asam hidrosianat, asetilkolin, tanin, ribloflavin, flavonoid dan senyawa fenol yang dapat digunakan sebagai obat.¹⁷ Berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan untuk mengetahui khasiat

daun sukun terhadap kesehatan, kandungan flavonoid, saponin, dan tanin mampu menghambat pertumbuhan bakteri.¹⁸

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Iqbal, dkk. tahun 2022, hasil penelitian uji aktivitas ekstrak etanol daun sukun terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi terbukti adanya zona hambat sebesar 12,42 mm, 16,96 mm dan 17,63 mm pada konsentrasi 50%, 70% dan 100%. Untuk kontrol positif menggunakan eritromisin dan kontrol negatif dengan menggunakan DMSO. Peningkatan diameter zona hambat pada penelitian terjadi dengan peningkatan ekstrak yang diberikan pada saat diuji dan kemampuan antibakteri dalam menghambat mikroorganisme tergantung pada besaran konsentrasi dan jenis antibakterinya.¹⁸ Menurut penelitian yang sama jugadari Herlina Rante, dkk, tahun 2022 bahwa pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sukun terhadap bakteri *staphylococcus aureus* pada 4 konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5%, 10% mampu menghambat bakteri uji dengan diameter zona hambat 6,46 mm, 7,23 mm, 9,22 mm, 10,25 mm.¹⁹

Maka dari uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian pada konsentrasi diantara 70% dan 100% untuk mengetahui aktivitas hasil uji ekstrak etanol daun sukun menggunakan konsentrasi 75%, 80%, 85%, dan 90% yang bertujuan untuk melihat konsentrasi minimum dimana didapati daya hambat atau efek antibakteri yang maksimum terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.1 Rumusan Masalah

Bagaimanakah hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sukun pada konsentrasi 75%, 80%, 85%, dan 90% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ?

1.2 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah hasil ekstrak etanol daun sukun dengan konsentrasi 75%, 80%, 85%, dan 90% memiliki diameter tidak jauh berbeda dari konsentrasi 70%, 100% seperti yang dilakukan pada penelitian sebelumnya terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui bagaimana aktivitas ekstrak daun sukun dengan konsentrasi (75%, 80%, 85%, 90%) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk menilai daya hambat ekstrak daun sukun pada konsentrasi (75%, 80%, 85%, dan 90%) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan dibandingkan dengan zona hambat penelitian sebelumnya.
2. Untuk mengetahui kadar ekstrak daun sukun dengan daya hambat terbesar.
3. Untuk membandingkan daya hambat ekstrak daun sukun dengan kontrol negatif.
4. Untuk membandingkan daya hambat ekstrak daun sukun dengan kontrol positif.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Menambah wawasan, pengetahuan dan pengalaman tentang efektivitas antibakteri daun sukun terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Bagi Masyarakat

Menjadi sumber informasi bagi masyarakat sebagai salah satu pengobatan tambahan dari bahan alami untuk penyakit infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*.

3. Bagi Instansi

Menambah referensi di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan dan pelayanan kesehatan setempat sehingga penelitian dapat digunakan sebagai dasar melakukan penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam melakukan penelitian yang lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sukun (*Artocarpus altilis*)

Sukun dengan nama Latin *Artocarpus altilis* merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh di kawasan tropika seperti Malaysia dan Indonesia.²⁰ Tanaman sukun ini dapat tumbuh di daerah dataran tinggi dan memiliki toleransi yang cukup tinggi terhadap iklim. Sukun dapat tumbuh dengan baik di daerah beriklim basah maupun kering.²¹

Di Indonesia khususnya pulau Jawa tanaman ini dijadikan tanaman oleh masyarakat. Buah sukun bukanlah buah musiman, meskipun biasanya berbunga dan berbuah dua kali dalam setahun. Kulit buahnya berwarna kuning kehijauan dan berpoligon. Bagian poligon ini dapat menentukan tingkat kematangan buah sukun.²⁰

Sukun salah satu jenis tanaman yang memiliki banyak manfaat mulaidari kayunya, kulit batang, buah dan daunnya. Buah sukun merupakan produk utama yang dijadikan sebagai sumber pangan potensial yang memiliki kandungan gizi cukup tinggi dan banyak dikonsumsi sebagai pengganti bahan makanan bahkan daunnya dijadikan sebagai obat alami.¹⁶



Gambar 2. 1 Sukun (*Artocarpus altilis*)

2.1.1 Morfologi Sukun

Berdasarkan pengamatan Morfologi tanaman sukun meliputi :

- A. Pohon, meliputi tinggi tanaman, lingkaran batang, diameter tajuk, bentuk tajuk, pola percabangan, jumlah cabang utama, dan arah pertumbuhan.
- B. Daun, meliputi panjang daun, lebar daun, panjang tangkai daun, bentuk daun, bentuk pangkal daun, bentuk ujung daun, susunan tulang daun, warnadaun, dan kilap permukaan daun.
- C. Bunga, meliputi bunga jantan dan bunga betina .
- D. Buah, meliputi panjang buah, bentuk buah, bentuk ujung buah, warna kulit buah dan warna daging buah.²⁰



Gambar 2. 2 Pohon sukun



Gambar 2. 3 Daun sukun



Gambar 2. 4 Bunga Sukun



Gambar 2. 5 Buah Sukun

2.1.2 Taksonomi Sukun

Berdasarkan sistem Taksonomi tumbuhan, sukun diklarifikasikan sebagai berikut :²²

- a. Kingdom : Plantae (tanaman)
- b. Filum : Magnoliophyta
- c. Kelas : Magnoliopsida
- d. Ordo : Rosales
- e. Famili : Moraceae
- f. Genus : *Artocarpus* (*nangka-nangkaan*)
- g. Spesies : *Artocarpus altilis*

2.1.3 Kandungan Sukun

Kandungan dari buah sukun yaitu protein, vitamin, kalsium, magnesium, kalium tembaga, zat besi, thiamin, dan senyawa fenolik.²³ Untuk kandungan daun sukun yaitu alkaloid, tanin, saponin dan flavonoid.²⁴ Kulit batang terkandung senyawa fenolik, saponin, dan pada bagian kulit akar terkandung senyawa dalam golongan flavonoid. Bunga sukun juga mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.²²

2.1.4 Khasiat dan Penggunaan Sukun

Daun sukun sudah lama dikenal dan banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat alami.²⁵ Senyawa yang terkandung dalam daun sukun yaitu alkaloid, tanin, saponin dan flavonoid.²⁶ Flavonoid merupakan senyawa aktif yang paling tinggi dan paling banyak diteliti karena memiliki aktivitas antibakteri, antikanker, antioksidan, antihiperlikemia, antiplatelet, dan antisklerotik.²³ Daun sukun dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti diare, asam urat, diabetes, rematik, gangguan ginjal, penyakit jantung, sariawan, gangguanhati, radang sendi,panu, hipertensi dan menurunkan kolestrol.²²

2.1.5 Efek Antibakteri Daun Sukun (*Artocarpus altilis*)

Senyawa aktif daun sukun yang berperan sebagai antibakteri yaitu Flavonoid, saponin, tanin, polifenol, asam fenolat, asetilkolin dan riboflavin. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun sukun adalah senyawa quercetin

dan artoindonesianin.²⁷ Flavonoid memiliki sifat antibakterisidal yang dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri sehingga menyebabkan bakteri menjadi lisis. Senyawa ini merupakan senyawa fenol yang dapat mendenaturasi protein sehingga mengakibatkan gangguan permeabilitas selektif, dan pengendalian susunan protein sel bakteri yang dapat mengganggu aktivitasmetabolisme sel bakteri berhenti.²⁸ Flavonoid memiliki cincin A dan C yang akan membentuk kompleks dengan proteinpada bakteri dan melisis membran bakteri.²⁹ Artoindonesianin dan kuerserin merupakan senyawa flavonoid yang paling tertinggi pada daun sukun. Senyawa aktif yang tertinggi tersebut yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga efektif digunakan untuk mengobatipenyakit seperti asam urat, diabetes, rematik, gangguan ginjal, penyakit jantung, sariawan, gangguan hati, radang sendi, panu, hipertensi, dan menurunkankolestrol.²² Selain dijadikan sebagai bahan obat alami khasiat daun sukun tersebut dapat diolah dan dimanfaatkan sebagai minuman kesehatan berupa teh.³⁰ Manfaat daun sukun yang sudah banyak diketahui masyarakat menunjukkan aktivitas antidiabetik, antibakterial, antioksidan. Karena itu *World Health Organization* (WHO) memprioritaskan peningkatan pencegahan dan pengendalian berbagai penyakit dengan mempertimbangkan tidak hanya dari perspektif pengobatan tetapi juga perspektif pencegahan penyakit.³¹

2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk coccus yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur. Koloni bakteri ini dapat tumbuh dalam waktu 24 jam yang berdiameter mencapai 4 mm. Pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus, menonjol. Koloni *Staphylococcus aureus* berwarnaabu-abu dan kuning emas tua. Penyebab koloni tampak berwarna kuning yaitu pigmen *lipochrome*. Pertumbuhanpigmen tersebut timbul selama 18-24 jam pada suhu 37°C, tetapi pada suhu kamar (20-25°C) dan akan membentuk pigmen yang lebih baik.^{32 33}

Staphylococcus aureus merupakan anggota genus *Staphylococci* yang terdapat dimana-mana dan biasanya ditemukan pada kulit, selaput lender, kelenjar

kulit, dan lingkungan sekitar kita. *Staphylococcus aureus* ini termasuk organisme yang paling kuat dan dapat bertahan hidup dengan jangka waktu lama di permukaan yang kering dan dapat bertahan pada garam di konsentrasi yang tinggi. Mereka menjadi anaerob fakultatif yang mampu melakukan fermentasi oksidatif bertujuan untuk menghasilkan asam laktat dan energi.³⁴



Gambar 2. 6 Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pewarnaan gram.³⁵

2.2.1 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Taksonomi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

- Kingdom : *Bacteria*
- Filum : *Firmicutes*
- Kelas : *Bacilli*
- Ordo : *Eubacteriales*
- Famili : *Staphylococcaceae*
- Genus : *Staphylococcus*
- Species : *Staphylococcus aureus*.

2.2.2 Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Pertumbuhan pada mikroorganisme didefinisikan sebagai pertumbuhan koloni yakni jumlah koloni yang bertambah, ukuran koloni yang semakin besar, massa mikroba dalam koloni semakin banyak sebagaicontoh pada mikroorganismebakteri *Staphylococcus aureus*.³⁶

Genus *Staphylococcus* mencakup ada sekitar 20 spesies. Tiga spesies yang

paling penting secara klinis adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*. Namun hanya *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan interaksi yang paling signifikan dengan manusia. Hal ini dianggap sebagai patogen ekstraseluler tetapi dapat diinternalisasi oleh beberapa jenis sel in vitro (sel endotel dan osteoblast)³⁷

Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh banyak faktor tetapi yang paling dominan adalah faktor biotik dan abiotik. Untuk faktor biotik ada yang dari dalam dan luar lingkungan. Faktor biotik sifat mikroorganisme dalam merespon perubahan lingkungan, kemampuan menyesuaikan diri.³⁶

2.2.3 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang menjadi patogen utama pada manusia dan menyebabkan berbagai macam penyakit mulai dari infeksi kulit, jaringan lunak hingga penyakit invasif yang dapat mengancam jiwa. Patogenesis *Staphylococcus aureus* dihasilkan dari aksi gabungan faktor ekstraseluler dan toksin, serta sifat invasif galur tersebut, seperti adhesi, pembentukan biofilm, dan ketahanan terhadap fagositosis.³⁸

Ada dua cara utama patogenisitas bakteri *Staphylococcus aureus* yang memicu timbulnya penyakit :

1. Invasi
Merupakan kemampuan untuk memasuki jaringan. Ini mencakup mekanisme kolonisasi (perlekatan dan multiplikasi awal), produksi zat ekstraseluler yang memfasilitasi invasi dan kemampuan untuk mengatasi mekanisme pertahanan hospes.³⁷
2. Toksigenesi
Merupakan kemampuan menghasilkan toksin. Bakteri menghasilkan dua jenis toksin yaitu eksotoksin dan endotoksin. Beberapa toksin tersebut dapat beraktivitas dilokasi kolonisasi dan berperan dalam invasi.³⁷ *Staphylococcus aureus* saat ini secara global dipandang sebagai patogen oportunistik yang penting terkait dengan infeksi yang berbeda dan menempati urutan pertama diantara agen lainnya yang juga sebagai penyebab infeksi.³⁸

2.2.4 Patofisiologi diare yang disebabkan *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri komensal yang menjadi salah satu penyebab penyakit infeksi pada manusia. Sifat komensal relatif lebih tinggi mengakibatkan terjadinya infeksi dari pada yang tidak komensal. Dimana kemampuan bakteri ini akan meningkat ketika jumlah koloninya lebih banyak dan daya tahan tubuh inang melemah. Menyebabkan timbulnya berbagai penyakit karena mampu beradaptasi dengan baik pada jaringan seperti jaringan lunak, tulang, sendi, saluran pernafasan, pembuluh darah, kulit, bahkan kuku. Pada saat sel endotelia rusak akan menjadi reseptor terjadinya infeksi sehingga menimbulkan abses dan juga menyebabkan terjadinya diare. Enterotoksin pada *Staphylococcus* menjadi penyebab utama terjadinya diare. Diare terjadi karena adanya interaksi antara enterotoksin dengan sistem saraf enterik, yaitu saraf pada dinding saluran pencernaan sehingga terjadi inflamasi usus dan diare.³⁹

2.2.5 Komponen Struktur Antigen *Staphylococcus aureus*

Terdapat 3 komponen yang terdapat pada bakteri *Staphylococcus aureus*:

1. Kapsul Bakteri

Staphylococcus aureus memproduksi mikrokapsul dari 11 jenis. Pada manusia, 75% dari mikrokapsul yang terbentuk adalah tipe 5 dan 8. Mikrokapsul tipe 5 dikaitkan dengan *Staphylococcus aureus* yang resisten methicillin (MRSA). Kapsul *Staphylococcus aureus* dapat menghambat terjadinya kemotaksis dan fagositosis, menghambat proliferasi sel mononuklear, dan memfasilitasi pada benda asing.³⁷

2. Peptidoglikan

Terdapat 50% dinding sel *Staphylococcus aureus* yang terbentuk dari peptidoglikan. Tersusun atas subunit polisakarida, asetilglukosamin dan asetilmuramik acid dengan 1,4- β linkage. PGN memiliki aktifitas menyerupai endotoksin, stimulasi pelepasan sitokin oleh makrofag, aktivasi komplemen dan agregasi trombosit.³⁷

3. Protein Permukaan

Protein permukaan *Staphylococcus aureus* memiliki ciri struktur tertentu. Diantaranya adalah sekuense sinyal sekretori pada N terminal, yaitu asam

amino bermuatan positif yang memanjang sampai sitoplasma, domain spanning pada membrane hidrofobik, dan regio anchoring pada dinding sel, semuanya terdapat pada karboksil terminal. Ligan dinding domain pada N terminal yang terekspos pada permukaan sel bakteri menjadikan protein ini sebagai adhesin.³⁷

2.2.6 Metabolit *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan sebagian besar bahan ekstraselulernya bersifat antigenik, polisakarida yang ditemukan pada jenis virulen adalah polisakarida A yang merupakan komponen dinding sel yang dapat larut dalam asam trikloroasetat. Antigen tersebut merupakan komponen peptidoglikan yang dapat menghambat fagositosis. Bakteriofag yang menjadi utama menyerang bagian ini. Antigen protein A berada diluar antigen polisakarida, dan kedua antigen ini dapat membentuk dinding bakteri.⁴⁰ Peptidoglikan, polimer polisakarida yang mengandung subunitbergabung untuk membentuk kerangka luar yang kaku dari dinding sel dan dapat dirusak oleh asam kuat atau paparan lisozim. Asam kuat yang merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat lalu diikat ke peptidoglikan dan akhirnya menjadi antigenik. Pada *Staphylococcus aureus* terdapat galur dan memiliki kapsul yang menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear kecuali terdapat antibodi spesifik. *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan melakukan pembelahan luas ke dalam jaringan dan melalui produksi beberapa bahan ekstraseluler yang dapat menyebabkan penyakit.⁴⁰

2.2.7 Manifestasi Klinis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus termasuk bakteri komensal pada hidung, nasofaring, perineal, kulit dan mukosa yang dapat menyebabkan terjadinya baktererimia, endokarditis, osteomilitis, pneumonia, dan infeksi pada kulit dan jaringan lunak. Infeksi bakteri ini dapat ditransmisi karena adanya trauma seperti luka atau mikroabrasi, kontak langsung antar manusia atau benda yang digunakan secara langsung dan kontak tidak langsung.⁴¹

Staphylococcus aureus memiliki kapsul polisakarida yang dapat menghambat fagositosis berupa lapisan lendir yang memungkinkan bakteri untuk menempel pada permukaan sehingga dapat merusak atau menghambat penetrasi

antibiotik. Ketika *Staphylococcus aureus* masuk ke dalam kulit, neutrofil dan makrofag bermigrasi ke tempat infeksi dimana bakteri ini dapat menghindari respon imunitas melalui banyak cara termasuk menghalangi kemotaksis leukosit, menghindari respon imunitas dengan kapsul polisakarida atau pembentukan biofilm, dan menghindari kehancuran setelah difagosit.⁴¹

Bakteri ini menyebabkan berbagai infeksi terutama pada kulit dan jaringan lunak mulai yang bersifat ringan hingga manifestasi klinis yang dapat mengancamnyawa.⁴¹

2.2.8 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Metode dalam penelitian uji aktivitas pada bakteri bertujuan untuk mengamati kemampuan aktivitas suatu senyawa antibakteri. Dalam menentukan kemampuan kepekaan suatu bakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode difusi dan dilusi.³⁵

1. Metode difusi

a. Cakram

Metode ini paling sering digunakan untuk menganalisis aktivitas antibakteri. Dilakukan dengan cara menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba dijenuhkan kedalam bahan uji. Setelah itu kertas cakram diletakkan pada permukaan cakram diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Dari hasil pengamatan yang diperoleh ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram untuk menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan mikroba.³⁵

Tabel 2. 1 Diameter zona terang dan respon hambat pertumbuhan.⁴²

| Diameter Zona Terang | >20 mm | 16-20 mm | 10-15 mm | >10 mm |
|--|--------|----------|----------|--------------|
| Respon Hambatan Pertumbuhan | Kuat | Sedang | Lemah | Tidak ada |

b. Sumuran

Dilakukan dengan cara membuat lubang yang dibuat tegak lurus pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan sampel yang akan diuji, setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang.³⁵

c. Parit

Dilakukan dengan cara lempeng agar yang diinokulasikan dengan bakteri dibuat sebidang parit berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai untuk uji mikroba. Dari hasil pengamatan yang telah diperoleh ada tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit.³⁵

2. Metode Dilusi

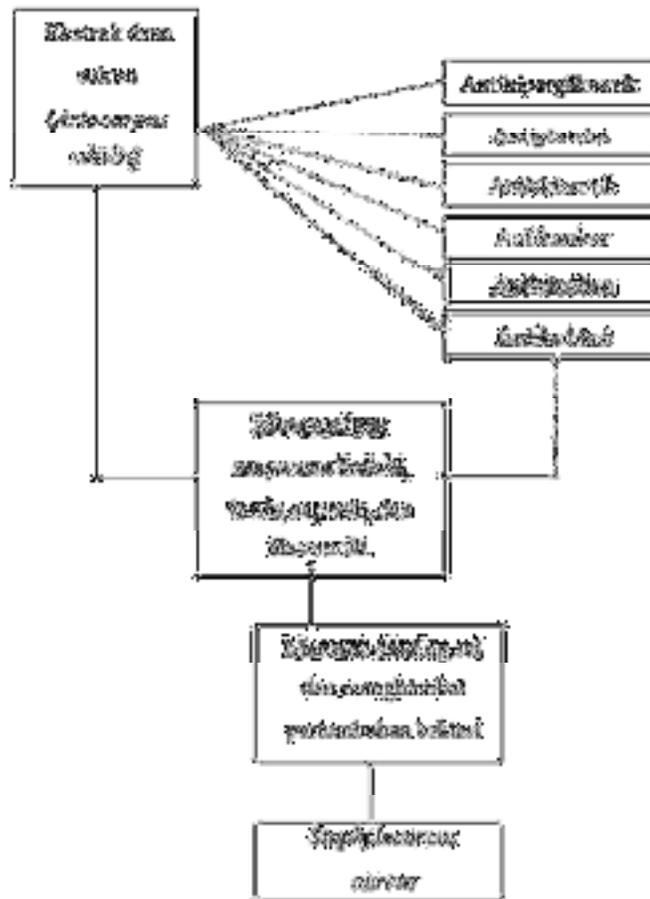
Metode dilusi dibagi menjadi dua yaitu dilusi cair dan padat. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM (kadar hambat minimum) sementara metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (kadar bakterisidal minimum). Cara yang dilakukan pada metode dilusi cair adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Metode dilusi padat dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Keuntungan dari Metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.⁴³

2.3 Sukun (*Artocarpus altilis*) dan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sukun yang merupakan tanaman Tropis sehingga dapat dijumpai di semua daerah Indonesia. Pada sukun terdapat senyawa Flavonoid dan dikenal memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker dan antibakteri. Menurut *Jawetz* menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh 4 faktor yakni konsentrasi, daya difusi ekstrak, kandungan senyawa metabolit dan jenis bakteri yang dihambat. Berdasarkan hasil uji yang dilakukan sebelumnya sukun

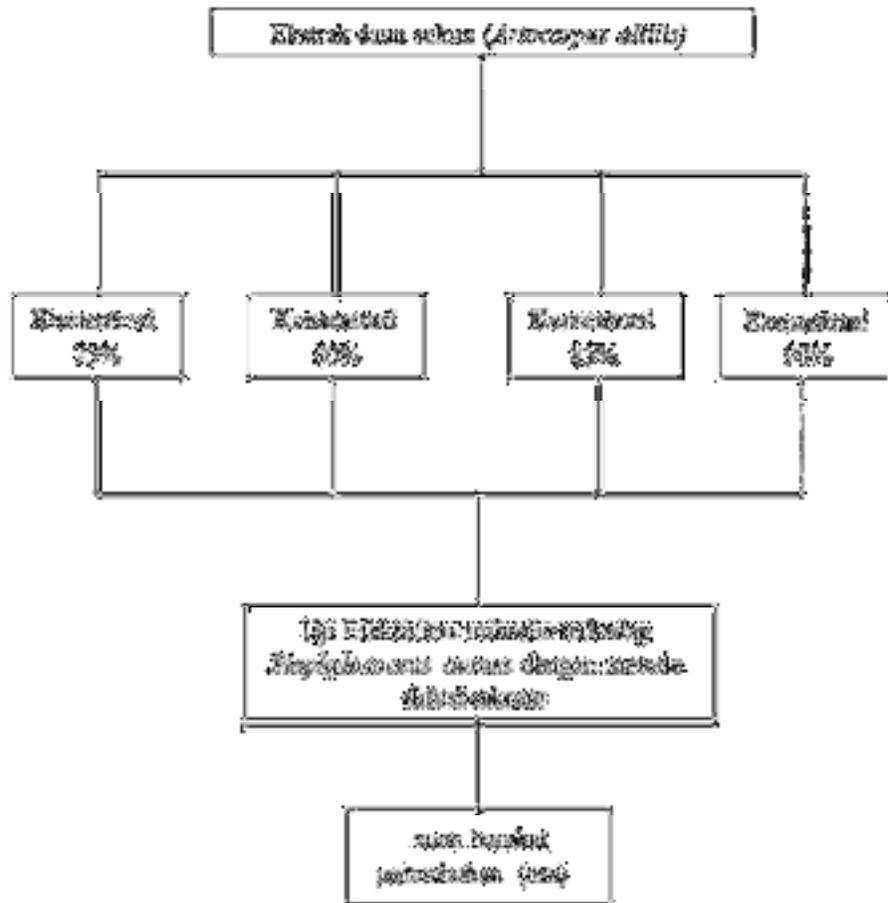
yang mengandung senyawa alkaloid, polifenol dan flavonoid. Dari hasil yang ditunjukkan bahwa pada uji aktivitas dengan berbagai konsentrasi terdapat adanya perbedaan diameter daya hambat bakteri disebabkan karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masukkedalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.¹⁵

2.4 Kerangka Teori



Gambar 2. 7 Kerangka Teori

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2. 8 Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode uji sensitivitas difusi cakram.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan untuk uji aktivitas antimikroba dan Laboratorium Fakultas FMIPA Universitas Sumatera Utara untuk ekstraksi sediaan daun sukun pada bulan Agustus sampai November 2023.

3.3 Sampel Penelitian

Bakteri yang digunakan dalam penelitian adalah *Staphylococcus aureus* yang dikultur dalam media agar.

3.4 Bahan Uji

Bahan yang diuji dalam penelitian ini adalah ekstrak Etanol daun sukun yang dilarutkan aquades dengan konsentrasi 75%, 80%, 85%, dan 90% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5 Pengulangan Sampel

Pada penelitian ini dilakukan sampel berupa ekstrak daun sukun, antibiotik Cefotaxime sebagai kontrol positif dan *Dimethylsulfoxide* (DMSO) 10% sebagai kontrol negatif. Pada penelitian ini dilakukan 6 kali tindakan. Dengan hitungan yang digunakan menggunakan rumus Federer.

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

$$(n-1) \times (6-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times 5 \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$N \geq 4$ (pengulangan yang dilakukan adalah 4 kali dalam pembuatan hasil)

Keterangan: n = banyak pengulangan = banyak perlakuan

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

1. Penggaris
2. Jangka Sorong
3. Kertas saring
4. Kertas label
5. Spidol
6. Plastik
7. Cotton bud
8. Kapas
9. Pinset
10. Jarum ose steril
11. Gelas ukur
12. Tabung reaksi
13. Tabung erlenmeyer
14. Spiritus
15. Bunsen
16. Cawan petri
17. Aluminium foil
18. Laminar Air Flow
19. Autoklaf
20. Gelas beaker
21. Spatula
22. Pipet mikro
23. Rotary evaporator

Bahan:

1. Ekstrak daun Sukun
2. Bakteri *Staphylococcus aureus*
3. Antibiotik Cefotaxime
4. Aquades
5. Larutan Etanol
6. Larutan Aquades

7. Larutan McFarland
8. Media *Nutrient Agar*
9. Media *Nutrient Broth*

3.7 Prosedur Kerja

3.7.1 Sterilisasi Alat dan Media

Muller Hinton Agar (MHA) adalah media yang digunakan dalam dalam penelitian uji aktivitas antibakteri ini. Semua alat terlebih dahulu disterilkan melalui proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

3.7.2 Pembuatan Simplisia Ekstrak daun sukun

Daun sukun yang diperoleh langsung dari pohonnya di kota Pematangsiantar, lalu dibuat simplisia kemudian diekstraksi dengan metode maserasi dimana daun sukun direndam dalam pelarut Etanol sebanyak 3x24 jam dengan mengganti pelarut tiap 24 jam. Ekstrak Etanol yang telah diperoleh lalu dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk menghasilkan ekstrak yang kental.

3.7.3 Pembuatan Larutan Uji Berbagai Konsentrasi

90% = x1 mL = 0,90g ekstrak di larutkan dalam 1 mL aquades. DMSO

85% = x1 mL = 0,85g ekstrak di larutkan dalam 1 mL aquades. DMSO

80% = x1 mL = 0,80g ekstrak di larutkan dalam 1 mL aquades DMSO

75% = x1 mL = 0,75g ekstrak di larutkan dalam 1 mL aquades. DMSO

3.7.4 Pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA)

Bahan Media MHA diambil sebanyak 20 gram, lalu tambahkan 500 ml larutan aquadest dan dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer, setelah itu diletakkan di atas hotplate dan diaduk menggunakan magnetic stirrer. Setelah mendidih kemudian di tutup dengan kapas dan dilapisin menggunakan aluminium foil. Selanjutnya Media MHA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 100 °C selama 15 menit. Media MHA dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat.

3.7.5 Pemiakan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri diambil dengan jarum ose steril kemudian ditanamkan dengan menggoreskan pada media MHA, kemudian diinkubasi kedalam inkubator pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.

3.7.6 Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri yang menggunakan ekstrak Etanol daun sukun terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode kertas cakram dengan konsentrasi 75%, 80%, 85%, 90%. Uji ini dilakukan untuk melihat zona hambat yang terbentuk dari ekstrak Etanol daun sukun.

Sebelum melakukan pengujian terhadap bakteri dilakukan sterilisasi terlebih dahulu dengan mencuci tangan. Suspensi bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose lalu dimasukkan, tunggu sebentar agar cairan meresap kedalam kapas, lalu lidi diangkat dan diperas dengan menekan lidi kapas padadinding tabung sembaridiputar-putar, lalu diswabkan ke permukaan medium MHA sampai seluruh permukaan tertutup rapat agar bakteri meresap kedalam media agar.

Kertas cakram yang sudah direndam dalam ekstrak Etanol daun sukun dengan konsentrasi 75%, 80%, 85%, 90%. kemudian tempelkan kertas cakram dengan berbagai konsentrasi pada media dan untuk kertas cakram yang direndam dengan DMSO 10% sebagai kontrol negatif dan Cefotaxime sebagai kontrol positif. Jarak disk satu dengan lainnya kurang lebih dari 20 mm, kemudian diinkubasi kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Zona hambat (mm) dapat diukur dimasing-masing konsentrasi sampel dengan menggunakan jangka sorong dan dapat diukur dari zona hambat yang terbentuk.

3.8 Identifikasi Variabel

3.8.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun sukun dengan konsentrasi 75%, 80%, 85%, 90%.

3.8.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter (mm) zona hambat

pertumbuhan pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.8.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah antibiotik Cefotaxime sebagai positif dan DMSO 10 % sebagai kontrol negatif.

3.9 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Tabel Definisi Operasional

| Variabel | Definisi Operasional | Alat Ukur | Hasil Ukur | Skala Ukur |
|---|--|------------------------------------|----------------------------|------------|
| Ekstrak daun sukun (<i>Artocarpus altilis</i>) dengan konsentrasi 75%, 80%, 85%, 90% | Sediaan pekat zat aktif diperoleh dengan mengekstrak dari simplisia daun sukun | Gelas ukur, mikropipet, timbangan. | Sesuai dengan konsent rasi | Rasio |
| Uji Aktivitas antibakteri daunsukun terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> | Daerah disekitar kertas cakram yang tidak ditemukan pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> | Jangka Sorong | Diameter zona hambat (mm) | Rasio |

3.10 Analisis Data

Pada penelitian ini analisis data yang diperoleh yaitu untuk pengolahan data dimulai dengan uji normalitas untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan data yang bermakna ($p > 0,05$). Kemudian dilakukan uji *Post Hoc Kruskal-Wallis test* untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Setelah itu dilakukan uji *Post Hoc Dunn* untuk melihat apakah terdapat perbedaan efek antibakteri di tiap perlakuan yang dilakukan.

