

# BAB 1 PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Menurut *World Health Organization* (WHO) kejadian penyakit infeksi tropis di Indonesia terus berkembang dalam beberapa dekade terakhir.<sup>1</sup> Salah satu infeksi yang paling sering terjadi disebabkan oleh bakteri *Salmonella sp.* Diketahui *Salmonella sp.* memiliki lebih dari 2500 jenis serotipe, dimana *Salmonella typhii* yang paling sering ditemukan sebagai penyebab dari infeksi usus.<sup>2,3</sup> *World Health Organization* (WHO) 2022 mengkonfirmasi sekitar 128.000 hingga 161.000 kematian akibat demam tifoid, sebagian besar kasus terjadi di Asia Tenggara, Selatan, dan Afrika.<sup>4</sup> Menurut data *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) 2017 mengkonfirmasi kasus *Salmonellosis* sebanyak 92.649 dan menempati urutan kedua yang paling sering disebabkan dari makanan.<sup>5</sup>

*Salmonella typhii* adalah bakteri gram negatif bersifat anaerob fakultatif yang kebanyakan terdapat pada makanan dan saluran pencernaan (usus halus) manusia dan hewan. *Salmonella typhii* merupakan patogen enterik yang mengancam kesehatan masyarakat, mulai dari diare ringan, hingga kondisi yang mengancam jiwa, seperti dehidrasi, demam, muntah, dan dalam beberapa kasus, dapat menyebabkan sepsis.<sup>3</sup> Antibiotik kloramfenikol masih menjadi obat pilihan utama sebagai terapi *Salmonella typhii*. Tingginya kejadian infeksi mengakibatkan penggunaan antibiotik menjadi tidak terkontrol dan berakibat timbulnya kasus resistensi. Dengan demikian, pentingnya untuk mencari pengobatan alternatif berupa tanaman obat tradisional yang bersifat sebagai antimikroba seperti daun mengkudu.<sup>6,7</sup>

Tanaman obat tradisional mempunyai potensi menggantikan obat sebagai alternatif dalam penanganan penyakit terutama infeksi. Salah satunya pada tanaman obat tradisional ini yaitu mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) sebagai tanaman tropis umumnya dimanfaatkan sebagai alternatif dan paling banyak didapati di berbagai daerah yang dijadikan

sebagai tanaman perkarangan, tanaman perkebunan, dan ketersediaannya yang melimpah tanpa menandingi kebutuhan manusia. Daun mengkudu tersebut di dalamnya kaya akan protein, zat kapur, zat besi, karoten, askorbin, juga memiliki sifat antimikroba, antifungal, antiprotozoal, antidiabetes, antioksidan, antihipertensi, antidiare, dan mempercepat penyembuhan luka.<sup>8</sup>

Pada beberapa penelitian membuktikan bahwa efek antimikroba dideteksi adanya pada buah dan daun mengkudu. Penelitian David (2018) mengatakan bahwa mengkudu mempunyai aktivitas antimikroba dan antioksidan yang tertinggi.<sup>9</sup> Penelitian yang juga pernah dilakukan oleh Devy, dkk (2019) bahwa ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) berdasarkan standar *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) memiliki daya hambat yang lemah terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.*<sup>10</sup> Beberapa penelitian melakukan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak dari sampel yang ingin digunakan. Terdapat 3 jenis pelarut yang biasanya digunakan yaitu metanol, etanol dan air. Untuk penggunaan metanol sebagai pelarut kini mulai ditinggalkan sebab diperlihatkan adanya efek toksik dari metanol tersebut. Saat ini etanol lebih banyak digunakan dikarenakan dapat menarik zat aktif lebih kuat dibanding air, walaupun biaya pelarut etanol lebih mahal dibandingkan air. Etanol memiliki sifat polar yang dapat menarik senyawa *flavonoid*, *alkaloid*, dan *tanin* dalam daun mengkudu yang bersifat polar.<sup>11,12</sup>

Dalam menguji efek antimikroba ekstrak daun mengkudu dapat dilakukan dengan beberapa metode salah satunya adalah dengan metode dilusi.<sup>13</sup> Metode dilusi efektif digunakan karena dapat menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).<sup>14</sup> Metode dilusi dibedakan menjadi metode dilusi cair dan metode dilusi padat. Pada penelitian ini uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode dilusi cair yang berdasarkan pada prinsip pengenceran. Prinsip metode ini yaitu pengenceran larutan uji sampai diperoleh seri konsentrasi pada masing-masing larutan uji ditambah suspensi bakteri.<sup>15</sup>

Berdasarkan penjelasan yang sudah diuraikan di atas, peneliti sangat tertarik untuk meneliti aktivitas antimikroba yang terdapat pada daun mengkudu dengan menggunakan ekstrak daun mengkudu dengan pelarut etanol 96% terhadap pertumbuhan *Salmonella typhii*. Pengujian aktivitas antimikroba pada penelitian ini dilakukan dengan metode dilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sehingga mengetahui adanya potensi dari daun mengkudu sebagai antimikroba.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimanakah aktivitas antimikroba dari ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) secara maserasi terhadap *Salmonella typhii* yang diuji dengan metode dilusi?

## **1.3. Hipotesis**

Terdapat efek antimikroba ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) secara maserasi terhadap *Salmonella typhii* dengan metode dilusi.

## **1.4. Tujuan Penelitian**

### **1.4.1. Tujuan Umum**

Mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) secara maserasi terhadap *Salmonella typhii* dengan metode dilusi.

### **1.4.2 Tujuan Khusus**

Untuk mengetahui dan menentukan kadar hambat minimum (KHM) ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) secara maserasi terhadap *Salmonella typhii* dengan metode dilusi.

## 1.5. Manfaat Penelitian

### 1. Peneliti

Peneliti dapat mengimplementasikan ilmu yang didapatkan sebagai sarana belajar dalam penelitian tentang pengaruh ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) terhadap perkembangbiakan bakteri *Salmonella typhi* sebagai akibat dari temuan penelitian ini.

### 2. Institusi

Temuan pada penelitian ini dimaksudkan untuk memberikan wawasan tentang ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) bagi mahasiswa yang ada di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen.

### 3. Masyarakat

Dari hasil penelitian ini dapat di informasikan ke masyarakat bahwa ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) memiliki potensi sebagai antimikroba untuk bakteri seperti *Salmonella typhi*.

### 4. Peneliti Selanjutnya

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan referensi perpustakaan untuk penelitian selanjutnya mengenai penggunaan ekstrak bahan alami secara in vitro.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

#### 2.1.1. Deskripsi Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Bakudu (Sumatra), Pace (Jawa), Cangkudu (Pasundan), Kodhuk (Madura), Wangkudu (Kalimantan), Bakulu (Nusa Tenggara) merupakan beberapa nama daerah dari mengkudu yang di kenal di Indonesia. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yaitu tanaman dari famili Rubiaceae yang sudah menyebar di Asia Tenggara kemudian menyebar ke China, India, Filipina, Hawaii, Tahiti, Afrika, Australia, Karibia, Haiti, Fiji, Florida, dan Kuba. Hawaii (Noni), Tahiti (Nono), Tonga (Nonu), Myanmar (Ungcoikan), dan Hindi (Ach) inilah berbagai bahasa dari tanaman ini.<sup>16</sup> Mengkudu adalah tanaman liar yang tumbuh sampai ketinggian 1.500 m dpl, tumbuhnya di area pinggiran tanah yang subur serta hampir semua bagian tumbuhan tersebut bisa dipakai untuk obat. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki ciri batangnya bengkok dan dapat tumbuh setinggi 3-8 meter, letak daunnya berhadap-hadapan, berbentuk lonjong, ujung daunnya runcing, Panjangnya 10-20 cm dan lebarnya 8-15 cm, pinggir daun bergelombang, warna daunnya hijau mengkilap dan tidak berbulu, buahnya bonggol berdaging bentuknya benjol-benjol serta tidak teratur, dan mengeluarkan cairan ketika buahnya masak. Buah yang masak berwarna kuning atau putih kekuningan.<sup>17</sup>

|         |                                |
|---------|--------------------------------|
| Kingdom | : <i>Plantae</i>               |
| Divisi  | : <i>Spermatophyta</i>         |
| Kelas   | : <i>Dicotyledoneae</i>        |
| Ordo    | : <i>Gentianales</i>           |
| Famili  | : <i>Rubiaceae</i>             |
| Genus   | : <i>Morinda</i>               |
| Spesies | : <i>Morinda citrifolia</i> L. |



**Gambar 2.1. Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)<sup>16</sup>**

Bentuk dan ukuran buahnya bervariasi, biasanya memiliki biji yang banyak ( $\geq 300$  biji per buah), namun ada juga variasi mengkudu yang bijinya sedikit. *Damnacanthal*, *xeronin* (*alkaloid*), *morindin*, *antrakuinon*, *asam glutamat* merupakan kandungan komponen fitokimia di dalam mengkudu. Dimana asam askorbat, asam kaproat, asam kaprilat adalah zat aktif yang membuat bau tidak sedap seperti bau menusuk pada mengkudu, *thiamin*, *glikosida* dan *skopoletin* (*fenol turunan kumarin*), *rutin* (*flavonoid*) serta zat gizi seperti protein, mineral, vitamin bermanfaat sebagai antioksidan.<sup>18</sup>

### **2.1.2. Khasiat Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Sebagai Tanaman Obat Tradisional**

Salah satu tanaman obat yang sering dikonsumsi masyarakat umum adalah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) digunakan masyarakat umum sebagai obat tradisional untuk pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit seperti batuk, radang amandel, sariawan, demam, hipertensi, diabetes, radang (ginjal, empedu, usus, hati), disentri, kegemukan dll.<sup>19</sup> Beberapa penelitian tentang efektivitas mengkudu pada tahun 2022 penelitian Sanjaya, adanya sebagai efek antidepresan, aktivitas hepatoprotektif, antioksidan, anti dislipidemia, antimikroba (kandungan senyawa antioksidan, kandungan *flavonoid* dan senyawa *fenolik*), efek immunomodulator.<sup>20</sup> *Soranidiol*, *asam kapril*, *morinda diol*, *morindon*, *morindin*, *damnacanthal*, dan *asetil* ditemukan dalam mengkudu terbukti efektif mengobati berbagai penyakit.<sup>19</sup>

### 2.1.3. Senyawa yang Bersifat Antimikroba

Tumbuhan memiliki banyak kandungan senyawa yang dapat menghambat perkembangan bakteri salah satunya adalah daun mengkudu. Berikut beberapa zat antimikroba yang terdapat pada daun mengkudu.<sup>21</sup>

1. *Saponin* adalah senyawa yang dapat melisiskan dinding sel bakteri ketika bersentuhan dengan dinding bakteri. Terbukti permeabilitas membran sel bakteri meningkat setelah *saponin* diuji langsung pada bakteri maka bentuk membran sel dan fungsinya berubah. Hal ini akan mengganggu kestabilan permukaan dinding dan metabolisme sel serta memudahkan zat antimikroba masuk ke dalam sel mengakibatkan terjadinya denaturasi protein bakteri.
2. *Flavonoid* adalah senyawa *fenol* yang sifatnya untuk desinfektan. *Flavonoid* sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif karena bersifat polar dan dapat dengan mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar. *Flavonoid* bekerja dengan cara yang sama seperti *saponin* dalam membatasi pertumbuhan bakteri, yaitu dengan mendenaturasi protein bakteri, sehingga aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti. Kematian sel terjadi ketika aktivitas metabolisme dihentikan.
3. *Tannin* merupakan senyawa yang mampu merusak membran sel bakteri. Senyawa tanin dapat menghambat perkembangan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri.
4. *Terpenoid* adalah senyawa antimikroba yang ampuh menghambat perkembangan bakteri, virus, fungi, dan protozoa. *Terpenoid* menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel dan mengumpulkan protein bakteri. Adanya perbedaan tekanan osmotik menyebabkan terjadinya hidrolisis dan difusi cairan sel.
5. *Antrakuinon* mendenaturasi protein dan membuat kerusakan pada polipeptida dinding sel bakteri sehingga menimbulkan peningkatan permeabilitas sel yang akhirnya menghambat pertumbuhan bakteri bahkan terjadi selnya mati.

6. *Alkaloid* adalah senyawa basa dengan satu atau lebih atom nitrogen, yang biasanya terdapat dalam bentuk asam amino. Aktivitas antimikroba pada *alkaloid* ditemukan mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel, mengubah permeabilitas membran melalui transport aktif dan menghambat sintesis protein.
7. Minyak Atsiri memiliki beberapa senyawa utama, yaitu *citral*, *sitronelol* dan *geraniol* yang bersifat antimikroba mampu menghancurkan bakteri. Kandungan senyawa *volatile* seperti golongan *monoterpen* dan *sesquiterpen* termasuk golongan senyawa yang bersifat antimikroba ditemukan di dalam minyak atsiri juga.

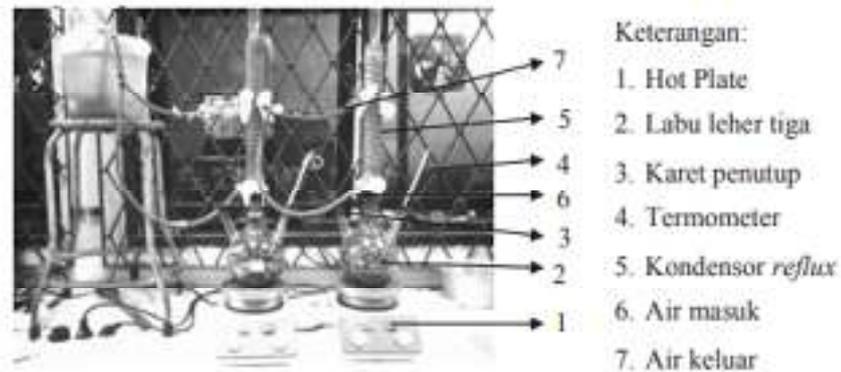
#### **2.1.4. Ekstraksi Tanaman Obat Tradisional**

Ekstraksi yaitu suatu cara penguraian senyawa menurut perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut yang dapat bercampur. Biasanya dalam suatu pelarut zat terlarut yang diekstrak sifatnya tidak larut atau sedikit larut namun gampang larut memakai pelarut yang lainnya. Tekstur kadar air yang bahannya akan diekstraksi dan senyawa yang akan diisolasi menentukan teknik ekstraksi yang terbaik. Ekstraksi memakai pelarut dengan cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi. Sedangkan cara panas yaitu sokletasi dan refluks.<sup>22</sup>

##### **1) Metode maserasi**

Maserasi merupakan pengerjaan ekstraksi yang sederhana dengan cara merendam bahan dalam pelarut selama beberapa hari pada suhu kamar agar terlindung dari cahaya. Maserasi ini diproses melalui perendaman dari bahan alam yang kering (*simplisia*) dalam suatu pelarut. Penguraian senyawa secara *simplisia* memakai pelarut tertentu berdasarkan sifat senyawa yang akan diuraikan. Penguraian pelarut menurut kaidah '*like dissolved like*' menyatakan bahwa dalam pelarut polar senyawa polar dapat akan larut. Tergantung pada tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang dipakai dan senyawa yang dibutuhkan. Pada metode ini ekstrak yang akan dibuat bisa dalam jumlah yang banyak sambil

menghindari modifikasi kimia pada zat tertentu yang disebabkan oleh pemanasan.<sup>22,23</sup>



**Gambar 2.2 Seperangkat Alat Ekstraksi Maserasi.<sup>23</sup>**

2) Metode sokletasi

Sokletasi adalah salah satu metode menguraikan senyawa bioaktif dari alam. Sokletasi mempunyai kelebihan dibandingkan metode ekstraksi lain yang memiliki sampel dengan pelarut yang murni secara berulang, ketika mengekstraksi tanpa tergantung jumlah pelarut yang banyak.<sup>22</sup>

3) Metode perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi yang pengerjaannya dilakukan pada suhu ruangan dengan pelarut yang sempurna dan selalu baru. Cara kerja dari perkolasi ini yaitu simplisia yang di masukkan ke dalam precolator serta pelarut sehingga akan mengalir kebawah kemudian ditampung sampai didapatkan perkolat (ekstrak) dengan jumlah 1-5 kali bahan.<sup>24</sup>

4) Metode refluks

Metode refluks adalah metode yang dilakukan pada pemanasan dengan jumlah pelarut tertentu menggunakan pendingin balik (kondensor). Cara kerja metode ini dengan bahan kimia dimasukkan kedalam bersamaan dengan cairan penyari kemudian dipanaskan uap-uap cairan akan terkondensasi pada kondensor seterusnya secara kontinue, pelarut akan diganti sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam, kemudian hasil tersebut dari penyaringan dikumpulkan dan dipekatkan. Pada metode ini hasil padatan

yang memiliki bentuk atau tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat dilakukan dengan metode refluks.<sup>25</sup>

## **2.2. Metode Pengujian Daya Antimikroba**

Untuk menentukan konsentrasi suatu bahan kimia antimikroba agar tercipta sistem pengobatan yang efektif dan efisien digunakan metode pengujian daya antimikroba yaitu difusi dan dilusi, kemudian terbagi dalam berbagai kategori, termasuk:

### **1. Metode Dilusi**

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antimikroba. Medium akhirnya diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi. Tujuan akhir dari metode dilusi adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Uji keretakan dilusi agak membutuhkan waktu yang banyak, dan kegunaannya terbatas pada keadaan-keadaan tertentu. Uji dilusi kaldu tidak praktis dan kegunaannya sedikit apabila dilusi harus dibuat dalam tabung pengujian, namun adanya serangkaian preparat dilusi kaldu untuk berbagai obat yang berbeda dalam lempeng mikrodilusi telah meningkatkan dan mempermudah metode. Keuntungan uji dilusi adalah bahwa uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat (atau membunuh) mikroorganisme yang diuji.

Metode dilusi dibagi menjadi beberapa cara yaitu:

#### **1. Cara penapisan lempeng agar**

Larutan zat antimikroba dibuat pengenceran kelipatan dan sehingga dilipat berbagai variasi konsentrasi. Hasil pengenceran larutan tersebut dicampur dengan media agar yang telah dicairkan kemudian dijaga pada suhu 45°C- 50°C, dengan perbandingan antara larutan zat antimikroba dengan media adalah satu bagian untuk larutan zat antimikroba dan sembilan bagian untuk media.

Setelah itu, media campuran tersebut dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan dingin hingga membeku. Lalu pada tiap cawan petri ditanamkan dengan suspensi bakteri yang mengandung kira-kira  $10^5 - 10^6$  CFU/ mL, kemudian media cawan petri tersebut dalam posisi terbalik dan diinokulasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18-24 jam. Untuk setiap pengenceran digunakan kontrol negatif. Hasil pengamatan konsentrasi hambat minimal (KHM) dibaca sebagai konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme, jika terlihat pertumbuhan bakteri tidak jelas atau kabur maka pertumbuhan bakteri dapat dibiakan.

## 2. Cara pengenceran tabung

Larutan zat antimikroba dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian diencerkan dengan medium cair berturut-turut pada tabung yang disusun dalam satu deret hingga konsentrasi terkecil yang dikehendaki. Tiap tabung (yang berisi campuran media dan larutan zat antimikroba dengan berbagai konsentrasi tersebut) ditanami dengan suspensi bakteri yang mengandung kira-kira  $10^5 - 10^6$  sel bakteri CFU/mL. Selanjutnya dibiakan dalam media tabung diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18-24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati dengan cara melihat kekeruhan didalam tabung tersebut, yang disebabkan oleh inokulum bakteri. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media baru tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

## 3. Turbidimetri

Metode turbidimetri ini dilakukan dengan suatu turunan protein yang dimurnikan dan dibiakan dalam satuan tuberkulin. Reaksi pada metode ini adalah mengerasnya jaringan yang dengan mudah

dapat dirasakan, dengan garis tengah 10 mm atau lebih yang terjadi dalam waktu 48-72 jam setelah penyuntikan didalam kulit. Uji ini diukur dengan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 530 nm.<sup>26</sup>

## 2. Metode Difusi

Metode yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter mengandung sejumlah tertentu obat ditempatkan di atas medium padat yang diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah inkubasi, diameter zona jernih disekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu.

1. Metode Silinder, adalah metode menggunakan silinder gelas steril yang diletakkan di atas agar yang berisi suspensi mikroba yang telah membeku, kemudian silinder tersebut diisi dengan zat yang akan diperiksa lalu diinkubasi. Kelebihan metode ini yaitu jumlah zat yang dimasukkan dalam media agar lebih jelas, sedangkan kekurangannya mempunyai resiko tinggi karena silinder dapat jatuh.
2. Metode Perforasi, adalah media agar yang masih cair dicampurkan dengan suspensi mikroba pada cawan petri steril, kemudian dibiarkan memadat. Setelah agar membeku, dibuat lubang dengan perforator. Lubang tersebut dimasukkan zat yang akan diperiksa daya antimikrobanya dan diinkubasi. Kelebihan metode ini adalah media yang digunakan tidak terlalu tebal, sedangkan kekurangannya adalah terkadang lubang yang dibuat kurang sempurna.
3. Metode Cakram Kertas, adalah metode dengan menggunakan cakram kertas saring diletakkan pada permukaan agar yang ditanami mikroba uji, lalu diinkubasi dan diukur zona hambatnya. Kelebihan metode ini jumlah zat digunakan dapat diatur, namun kekurangannya tidak kuantitatif karena tidak semua zat aktif terserap dalam agar.<sup>26</sup>

### 2.3. *Salmonella typhi*

*Salmonella typhi* adalah salah satu bakteri batang Gram-negatif.

Bakteri ini diklasifikasikan ke dalam famili *Enterobacteriaceae*, karena habitat aslinya ada di usus manusia dan hewan. *Salmonella* merupakan tingkatan hewan yang rendah mempunyai satu sel (monoseluler). Berikut klasifikasi binomial nomenklatur bakteri *Salmonella typhii*.<sup>27</sup>

|              |                             |
|--------------|-----------------------------|
| Superkingdom | : <i>Bacteria</i>           |
| Phylum       | : <i>Proteobacteria</i>     |
| Kelas        | : <i>Gammaprotobacteria</i> |
| Ordo         | : <i>Enterobacteriales</i>  |
| Famili       | : <i>Enterobacteriaceae</i> |
| Genus        | : <i>Salmonella sp.</i>     |
| Spesies      | : <i>Salmonella typhii</i>  |

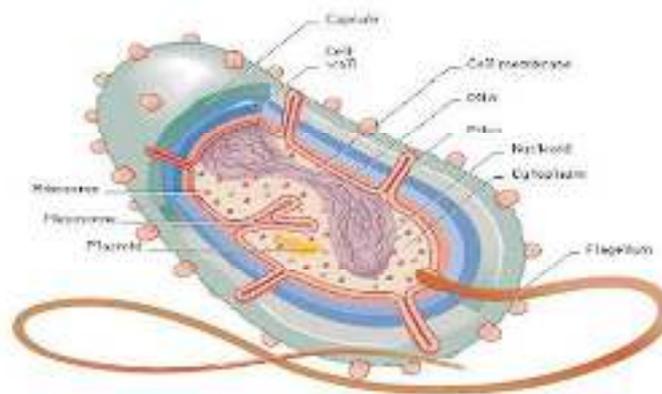
### 2.3.1. Morfologi

*Salmonella typhii* merupakan bakteri batang dengan pewarnaan gram bersifat gram negatif, tidak berspora, berkapsul, dan berflagel ditunjukkan pada Gambar 2.2. Bakteri ini disebut *facultative intra-cellular parasites* karena sifatnya fakultatif. Murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS) adalah semua lapisan dinding sel, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3. Bakteri ini berukuran 1-3,5 x 0,5-0,8  $\mu\text{m}$ , besar koloni rata-rata 2-4 mm dengan flagel peritrikih.



**Gambar 2.3 Pewarnaan Gram *Salmonella sp.***<sup>3</sup>

Struktur bakteri *Salmonella typhi* terdiri dari flagel, kapsul, dan dinding sel struktur dari bakteri *Salmonella typhi* adalah murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS) lapisan dari dinding sel nya. Dari glukosa dan manosa *Salmonella typhi* menghasilkan asam dan gas. Gas H<sub>2</sub>S juga dihasilkan organisme ini, meskipun sedikit. Bakteri ini hidup bisa bertahan lama dalam air beku.<sup>27</sup>



**Gambar 2.4 Struktur Bakteri *Salmonella typhi*.**<sup>3</sup>

### 2.3.2. Struktur Antigen

Ada tiga jenis antigen yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi *Salmonella typhi* yaitu Antigen somatik (O), antigen flagel (H), dan antigen kapsul (Vi). Pada lapisan luar tubuh kuman, antigen O ditemukan. Lipopolisakarida sering dikenal sebagai endotoksin, adalah struktur kimia dari komponen ini. Panas dan alkohol tahan terhadap antigen ini, sedangkan formaldehida tidak. Sebagian besar antibodi yang dihasilkan adalah IgM. Antigen H ditemukan pada flagela, fimbriae, dan pili bakteri. Antigen ini mengandung struktur kimia seperti protein yang tahan terhadap formaldehida tetapi tidak terhadap panas atau alkohol. fase spesifik atau fase I, fase non-spesifik atau fase II adalah dua fase antigen H. Antigen H sangat imunogenik. IgG adalah jenis antibodi yang diproduksi. Antigen Vi ditemukan dalam kapsul kuman (*envelope*). Antigen Vi dapat melindungi mikroorganisme dari fagositosis. Pada hewan dan manusia, kuman dengan antigen Vi bersifat patogen. Antigen

Vi juga menentukan sensitivitas bakteriofag dan sangat bermanfaat di laboratorium untuk mendiagnosis bakteri *Salmonella typhii* dengan cepat.<sup>3</sup>

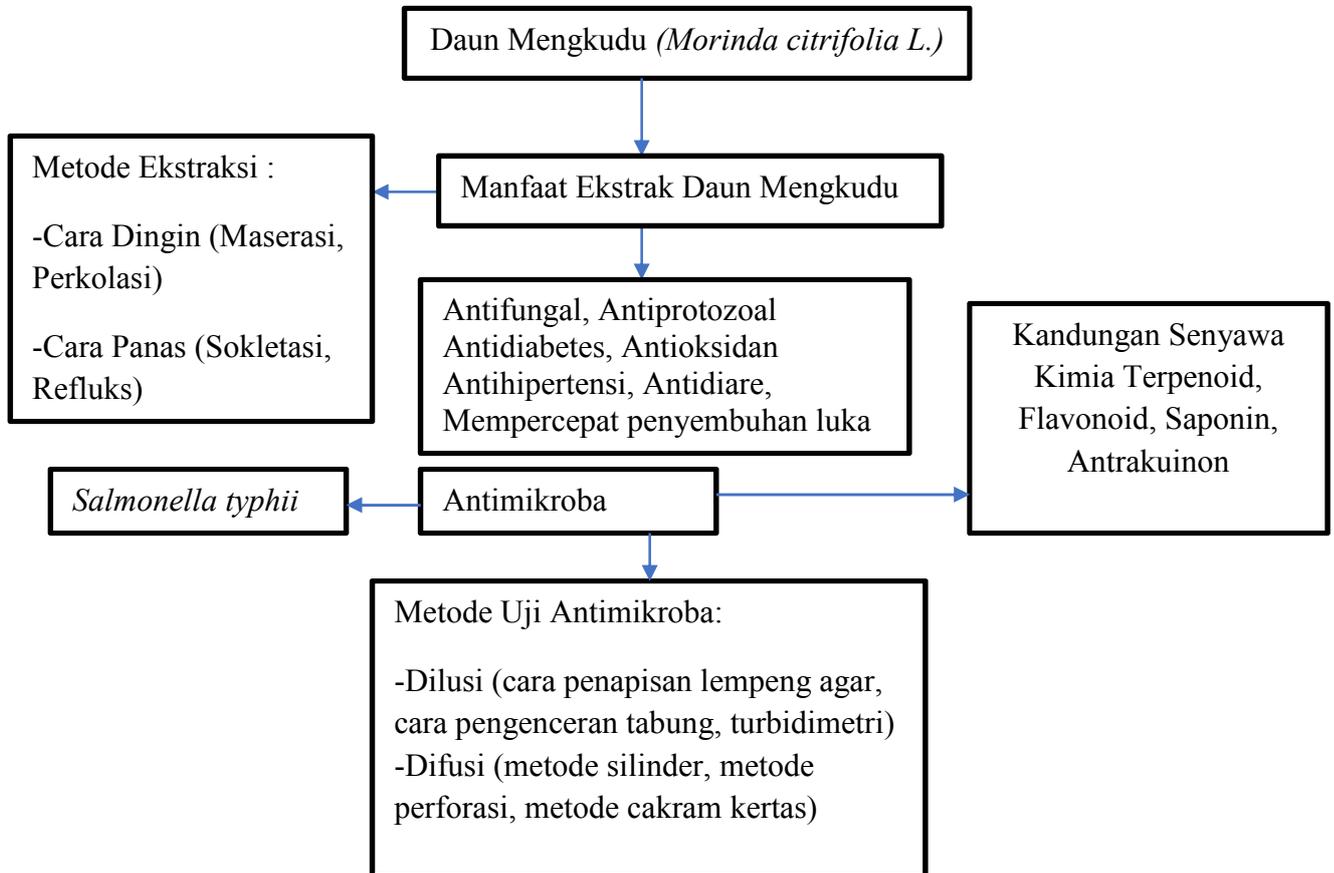
### 2.3.3. Patogenesis Penyakit Salmonellosis

Bakteri *Salmonella* diklasifikasikan sebagai tifoid atau non-tifoid berdasarkan penyakit yang ditimbulkannya. *Salmonella* menyebabkan infeksi usus non-tifoid, yang ditandai dengan diare, demam, dan kram perut yang berjalan selama seminggu atau lebih. Bakteremia, infeksi saluran kemih, dan osteomielitis semuanya dapat disebabkan oleh bentuk non-tifoid, tetapi lebih jarang terjadi. Salmonellosis dapat menyerang dari segala usia, tetapi lebih sering terjadi pada bayi dan anak-anak.<sup>3</sup>

Infeksi *Salmonella* paling sering disebabkan oleh air yang terkontaminasi feces, susu yang terkontaminasi atau barang olahan yang dipasteurisasi secara tidak sempurna, serta daging dan telur dari hewan ternak. Pada saat makanan atau minuman terkontaminasi dengan air di lingkungan sekitar, baik secara akut maupun kronis, karena tindakan hygiene dan sanitasi yang tidak memadai ini terjadi pada penularan siklus pendek. Pencemaran lingkungan seperti pencemaran air limbah adalah transmisi siklus panjang. *Salmonella typhii* memasuki saluran pencernaan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Bakteri ini akan dieliminasi di lambung oleh asam lambung, tetapi yang lolos akan masuk ke usus halus.<sup>3</sup>

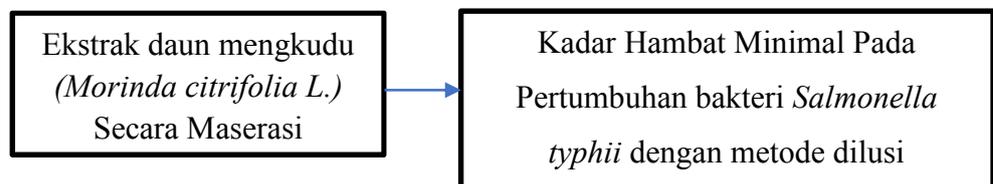
Bakteri ini akan menembus mukosa usus halus dan usus besar, tetap berada di intraseluler dan berkembang biak. Degenerasi *brush border* terjadi ketika bakteri memasuki epitel dan IgA tidak dapat menetralkannya. *Inverted cytoplasmic membrane* serupa dengan vakuola fagosit akan mengelilingi sel bakteri. Organisme ini akan bereplikasi dan menyebar ke bagian tubuh lain setelah penetrasi. Pada fase akhir penyakit terjadi destruksi epitel. Relevansi antigen O sebagai penetrasi sel eukariotik bermacam ragam menurut serotipe. Serotipe *typhii* tidak bisa menembus sel eukariotik jika tidak memiliki antigen O.<sup>3</sup>

## 2.4. Kerangka Teori



Gambar 2.5. Kerangka Teori

## 2.5. Kerangka Konsep



Gambar 2.6. Kerangka Konsep

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik untuk mengetahui kemampuan efek antimikroba ekstrak daun mengkudu terhadap bakteri *Salmonella typhii* dengan rancangan penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Metode dilusi digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) secara maserasi terhadap *Salmonella typhii*.

#### **3.2. Waktu dan Lokasi Penelitian**

##### **3.2.1. Lokasi Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara. Jalan Tri Dharma No.5, Medan.

##### **3.2.2. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada Agustus - Oktober 2022.

#### **3.3. Alat dan Bahan Penelitian**

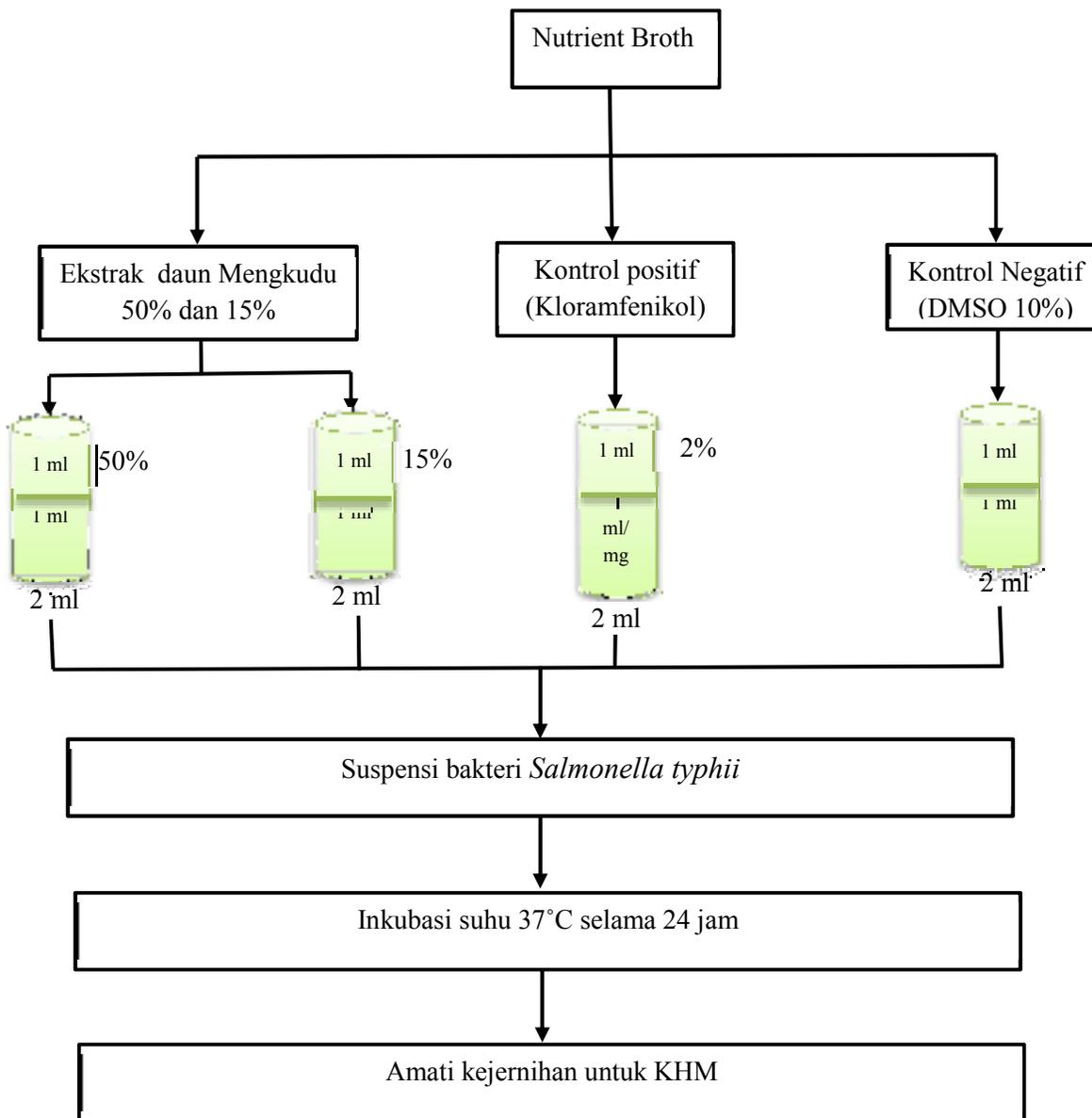
##### **3.3.1. Alat**

Oven (memmert), belender, ayakan (ukuran 40 mesh), timbangan analitik (memmert), autoklaf, bunsen, aluminium foil, kapas usap steril, bejana maserasi, batang pengaduk, corong gelas, kain flanel, kertas saring, rotary evaporator, tabung reaksi, rak tabung, kertas label, baker glass, blue tip, mikropipet, erlenmeyer, vortex.

##### **3.3.2. Bahan**

Daun mengkudu, bakteri *Salmonella typhii*, etanol 96%, NB (*Nutrient Broth*), antibiotik Kloramfenikol, DMSO 10% (*Dimetil sulfoksida*).

### 3.4. Prosedur Penelitian



**Gambar 3.1 Alur penelitian**

#### 3.4.1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini disterilkan dulu sebelum digunakan. Alat yang terbuat dari kaca disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat-alat yang tidak tahan panas disterilkan menggunakan alkohol 70%. Jarum ose dapat disterilkan dengan menggunakan api bunsen.

#### 3.4.2. Penyiapan Bahan Uji

Daun mengkudu yang segar dikumpulkan, kemudian dicuci bersih dari kotoran yang menempel pada daun. Selanjutnya dikeringkan menggunakan oven dengan suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  sampai daun kering. Setelah kering, daun dihaluskan dengan belender kemudian diayak menggunakan ayakan berukuran 40 mesh sampai didapatkan serbuk simplisia dari daun mengkudu. Lalu menimbang 100 gram serbuk simplisia dan disimpan dalam wadah plastik untuk mencegah lembab dan pengotor lainnya.

### **3.4.3. Pembuatan Ekstrak**

Pembuatan ekstrak daun mengkudu ini menggunakan metode ekstraksi dingin yaitu metode secara maserasi untuk mengekstrak serbuk daun mengkudu memakai pelarut polar yaitu pelarut etanol 96%.

1. Serbuk simplisia daun mengkudu 100 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi, kemudian diisi dengan 1000 ml etanol 96% sampai semua serbuk daun mengkudu terendam.
2. Selanjutnya menutup dan meletakkannya pada suhu kamar/tempat tertutup agar terhindar dari cahaya/sinar matahari, membiarkannya selama 3 hari direndam sambil beberapa kali diaduk.
3. Penyaringan digunakan untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya memakai kain flanel terlebih dahulu lalu memakai kertas penyaring.
4. Setelah disaring, filtratnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu  $40^{\circ}\text{C}$ - $50^{\circ}\text{C}$  dan diuapkan dengan waterbath sehingga diperoleh ekstrak kental daun mengkudu.<sup>28</sup>

### **3.4.4. Pembuatan suspensi bakteri**

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan dengan cara mengambil bakteri *Salmonella typhii* memakai ose steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi NB (*Nutrient Broth*) secara aseptik kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Selanjutnya kekeruhan suspensi bakteri disetarakan dengan standar Mc Farland 0,5 untuk mengukur kepadatan bakteri.<sup>29</sup>

### **3.4.5. Pengujian daya mikroba dengan metode dilusi**

Metode dilusi dilakukan dengan cara memasukkan bahan uji kedalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung untuk kontrol positif dan kontrol negatif.

1. Menyiapkan 32 tabung reaksi steril untuk 4 kali pengulangan sehingga setiap kali perlakuan (50%, 15%, kontrol positif, kontrol negatif) menggunakan 8 tabung reaksi steril, untuk tabung kontrol positif berisi antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif berisi DMSO 10%.
2. Larutan stok dibuat seri konsentrasi menjadi 2 seri konsentrasi meliputi 50% ; 15%. Dimana untuk konsentrasi 50% didapatkan 5 ml ekstrak diencerkan dengan 5 ml DMSO 10%; konsentrasi 15% didapatkan 1,5 ml ekstrak diencerkan dengan 8,5 ml DMSO 10%. Setelah itu masing-masing stok konsentrasi di vortex, dan masing-masing tabung diberi label.
3. Secara aseptik masukkan 1 ml media NB ke semua tabung baik tabung seri konsentrasi, tabung kontrol negatif dan kontrol positif.
4. Kemudian masukkan 1 ml dari larutan ekstrak konsentrasi yang akan diuji pada tabung 1 (konsentrasi 50%) homogenkan dengan vortex, selanjutnya dari tabung 1 dipipet 1 ml dimasukkan ke dalam tabung 2, perlakuan yang sama hingga tabung terakhir kemudian di tabung terakhir 1 ml dibuang. Dilakukan hal yang sama juga pada konsentrasi 15%.
5. Untuk tabung kontrol, kontrol positif berisikan antibiotik kloramfenikol dimasukan 1 ml dari tabung pertama lalu di homogenkan, kemudian di ambil 1 ml di masukan ke dalam tabung kontrol positif kedua begitu seterusnya hingga tabung terakhir, lalu tabung terakhir di ambil 1 ml dibuang, demikian perlakuan hal yang sama pada tabung kontrol negatif berisikan DMSO 10%.
6. Masukkan suspensi bakteri sebanyak 1 ml ke semua tabung perlakuan.
7. Lalu seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
8. Setelah 24 jam seluruh tabung di keluarkan dan amati kekeruhan pada masing-masing tabung.

KHM ditentukan dengan mengamati kekeruhan dan kejernihan dari masing-masing medium uji setelah diinkubasi dan dibandingkan dengan larutan kontrol media. Konsentrasi terendah menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri ditandai dengan masih jernihnya medium uji.<sup>30</sup>

### **3.5. Identifikasi Variabel**

#### **3.5.1. Variabel Bebas**

Ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) yang diperoleh dengan metode maserasi.

#### **3.5.2. Variabel Terikat**

Efek antimikroba (konsentrasi hambat minimum) pada bakteri *Salmonella typhii*.

### 3.6. Defenisi Operasional

| No | Variabel   | Defenisi Operasional  | Alat Ukur                              | Hasil Ukur  | Skala Ukur |
|----|--|---|--|---|------------|
| 1. | Ekstrak daun mengkudu ( <i>Morinda citrifolia L.</i> )                 | Daun mengkudu yang di proses melalui perendaman memakai pelarut etanol 96% dengan metode maserasi sehingga didapati ekstrak kental etanol   | Gelas ukur                             | mL  | Ordinal    |
| 2. | Efek antimikroba Bakteri <i>Salmonella typhii</i> dengan metode dilusi | Efek antimikroba merupakan keadaan dimana bakteri <i>Salmonella typhii</i> mengalami gangguan pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba tersebut | Parameter yang digunakan kekeruhan nya | Konsentrasi terkecil menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (KHM) | Nominal    |

### **3.7. Analisis Data**

Data ini di analisis secara kualitatif dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* ditentukan dengan mengamati kejernihan dan kekeruhan dari masing-masing medium uji yang telah diinkubasi. Selanjutnya data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan hasil percobaan di bahas secara deskriptif.

