

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Infeksi merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama di negara berkembang seperti Indonesia.¹ Berdasarkan Laporan Nasional Riskesdas tahun 2018, Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) merupakan salah satu infeksi yang paling sering terjadi di Indonesia dengan prevalensi 9.3% atau sebesar 94.607 kasus.² Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) merupakan infeksi akut yang terjadi pada saluran pernapasan bagian atas atau bawah. Infeksi saluran napas bagian atas misalnya faringitis, tonsilitis, rinitis akut, dan rinosinusitis akut.³ Salah satu bakteri paling sering penyebab infeksi saluran pernapasan atas yaitu bakteri *Streptococcus pyogenes*.⁴

Streptococcus pyogenes atau yang biasa dikenal *Streptococcus* grup A adalah salah satu bakteri patogen utama penyebab infeksi pada manusia. Setiap tahunnya, terjadi sekitar 663.000 kasus baru penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini dan menyebabkan kematian mencapai 163.000 orang per tahun. Infeksi *Streptococcus pyogenes* sangat menular, dimana penularannya dapat melalui droplet udara, sekret hidung, kulit, atau makanan yang terkontaminasi.⁵ Bakteri *Streptococcus pyogenes* menyebabkan berbagai manifestasi penyakit pada manusia mulai dari infeksi ringan seperti faringitis dan impetigo serta infeksi berat seperti fasciitis nekrotikans dan sindrom syok toksik streptokokus. Pada infeksi yang berulang, bakteri ini dapat menyebabkan autoimun, seperti glomerulonefritis akut pasca streptokokus, demam rematik akut, dan penyakit jantung rematik.^{6,7} Tatalaksana utama untuk pengobatan infeksi *Streptococcus pyogenes* terutama adalah antibiotik golongan penisilin oral

yaitu amoksisilin. Sementara itu untuk pasien dengan alergi penisilin, dapat diberikan sefalosporin.⁵

Akhir-akhir ini, resistensi terhadap antibiotik semakin banyak terjadi. Penelitian yang dilakukan oleh Sukertiasih, dkk. pada tahun 2021 di salah satu Rumah Sakit Umum Pemerintah di Denpasar didapati bahwa isolat bakteri dengan resistensi terbanyak merupakan bakteri Gram-positif.⁸ Hal ini dapat terjadi karena kurangnya kepatuhan dalam pengobatan dan penggunaan antibiotik yang tidak teratur sesuai dengan resep dokter.⁹ Dengan banyaknya resistensi antibiotik yang terjadi, saat ini banyak dilakukan penelitian terhadap tanaman obat sebagai antibakteri salah satunya jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).¹⁰

Jeruk nipis merupakan salah satu tanaman obat yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia karena mudah didapat dan harga yang relatif murah. Jeruk nipis banyak digunakan sebagai bumbu masakan dan obat-obatan. Jeruk nipis biasa dimanfaatkan sebagai penambah nafsu makan, obat diare, antipiretik, antiinflamasi dan diet. Jeruk nipis memiliki kandungan flavonoid, saponin, dan minyak atsiri yang memiliki efek antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.¹⁰

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Razak, dkk. tahun 2012, hasil penelitian terbukti menunjukkan adanya daya hambat air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dimana semakin besar konsentrasi air perasan jeruk nipis dan semakin lama kontakannya dengan bakteri, maka daya hambatnya akan semakin baik.¹¹ Hasil yang sama juga didapatkan pada penelitian Utami dan Yessi pada tahun 2014 yaitu menunjukkan bahwa air perasan jeruk nipis juga memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan diameter zona hambat 12,73 mm dalam konsentrasi air perasan jeruk nipis 100%.¹² Penelitian lain yang dilakukan oleh Kusumawati dkk. pada tahun 2017 juga menunjukkan bahwa air perasan jeruk nipis pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terbukti memiliki potensi menghambat pertumbuhan

bakteri *Propionibacterium acnes* dengan kadar optimum 100% menghasilkan zona hambat 9,11 mm.¹³

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas antibakteri air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana efektivitas air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*?

1.3. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah antibakteri air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui bagaimana efektivitas antibakteri dari air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui diameter zona hambat air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan teori ilmu kedokteran bagi peneliti lain, khususnya mengenai pengaruh air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi landasan teori bagi penelitian lainnya dalam meneliti bahan alami lainnya yang memiliki kandungan antibakteri.

1.5.2. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi bagi masyarakat sebagai salah satu pengobatan tambahan dari bahan alami untuk penyakit infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes*.

1.5.3. Bagi Peneliti

Penelitian ini menjadi wadah untuk peneliti dalam menerapkan dan mengembangkan ilmu kedokteran yang didapat selama belajar di Fakultas Kedokteran, serta menambah pengetahuan bagi peneliti tentang pengobatan dengan bahan alami sebagai antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Jeruk nipis merupakan tanaman sejenis perdu yang banyak tumbuh di Indonesia. Tanaman ini umum ditemui di pekarangan rumah atau di kebun dan dapat tumbuh di daerah dengan tanah yang kurang subur asalkan dapat mengalirkan air dan terkena sinar matahari yang cukup. Jeruk nipis diduga berasal dari kepulauan Hindia Timur. Di Indonesia tanaman biasanya tumbuh pada daerah dengan ketinggian 1-1.000 meter di atas permukaan laut.¹⁴ Jeruk nipis dapat berbunga dan berbuah serentak dan dapat berlangsung sepanjang tahun.¹⁵

2.1.1. Taksonomi

Berdasarkan sistem taksonomi tumbuhan, jeruk nipis diklasifikasikan sebagai berikut.¹⁶

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Sub divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Ordo : *Sapindales*
Famili : *Rutaceae*
Genus : *Citrus*
Spesies : *Citrus aurantifolia*

2.1.2. Nama Lain

Di daerah-daerah tertentu di Indonesia, Jeruk nipis dikenal dengan istilah yang berbeda-beda antara lain : kelanga (Sumatera), jeruk pecel (Jawa), jeruk nipis (Sunda), lemo (Bali), mudutelong (Flores), lemo ape (Sulawesi), usinepese (Maluku), wanabeudu (Halmahera).¹⁴

2.1.3. Morfologi

Pohon jeruk nipis memiliki cabang yang banyak tetapi tidak beraturan dengan tinggi 1,5-4.5 m. Batangnya bulat dengan duri-duri pendek yang kaku dan tajam. Panjang daunnya 2,5-9 cm dan lebar 2-5 cm. Daunnya berbentuk bulat telur memanjang, pangkal bulat, ujung tumpul, bagian tepi beringgit, dengan permukaan atas daun berwarna hijau tua mengkilap dan permukaan bawah daun berwarna hijau muda. Bunga berbentuk bintang dengan diameter 1,5-2,5 cm, berwarna putih dan aroma yang harum. Buah jeruk nipis berbentuk bulat diameter 2,5-5 cm, berwarna hijau dan akan menguning saat matang, dengan rasa yang asam. Bijinya banyak, kecil-kecil, berbentuk bulat telur sungsang.¹⁴



Gambar 2.1 Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)¹⁴

2.1.4. Kandungan Kimia

Jeruk nipis banyak mengandung minyak atsiri yang didalamnya terdiri dari *limonene* dan *linalool*. Jeruk nipis juga banyak mengandung senyawa flavonoid, seperti poncirin, hisperidine, rhoifolin, dan naringin. Pada buah jeruk nipis yang matang mengandung *synephrine* dan *N-*

methyltyramine. Selain itu, jeruk nipis juga banyak mengandung asam sitrat, kalsium, fosfor, besi, dan vitamin (A, B1, dan C).¹⁴

2.1.5. Khasiat dan Penggunaan

Jeruk nipis memiliki telah dikenal lama sebagai obat tradisional karena memiliki banyak manfaat dan kegunaan. Senyawa flavonoid pada jeruk nipis memiliki manfaat sebagai antifungal, antioksidan, antikanker, larvasida, antikolesterol, dan antibakteri.¹⁰ Buah jeruk nipis dapat digunakan sebagai obat batuk, peluruh dahak (mukolitik), demam pada malaria, dan penambah stamina. Penggunaan jeruk nipis sebagai obat yang diminum dapat digunakan sendiri atau dapat dicampur dengan bahan lainnya. Untuk pemakaian luar, air jeruk nipis biasanya dicampur dengan bahan lain untuk dikompres atau di balurkan pada daerah tubuh yang sakit, misalnya demam pada anak-anak, sakit perut, diare, sakit gigi, nyeri haid, kepala pusing, rematik, kurap, ketombe, jerawat, *clavus*, terkilir, membersihkan pori-pori di wajah, dan membersihkan lemak pada kulit wajah. Air jeruk nipis juga dapat digunakan sebagai obat kumur untuk penderita sakit tenggorokan dan abses tenggorokan.¹⁴

2.1.6. Efek Antibakteri Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Jeruk nipis memiliki beberapa senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri seperti flavonoid, saponin dan minyak atsiri. Flavonoid merupakan suatu senyawa derivat fenol.¹⁰ Flavonoid memiliki sifat bakterisidal dengan cara mendenaturasi protein serta merusak sitoplasma sel bakteri sehingga mengakibatkan gangguan permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan, dan pengendalian susunan protein sel bakteri. Akibatnya, makromolekul dan ion-ion dari sel bakteri akan lolos yang mengakibatkan lisisnya bakteri.¹¹ Flavonoid juga memiliki cincin A dan B yang berperan dalam proses interkelasi dan ikatan hidrogen yang dapat menyebabkan penumpukan basa asam nukleat bakteri sehingga terjadi kegagalan replikasi DNA dan RNA bakteri.¹⁷

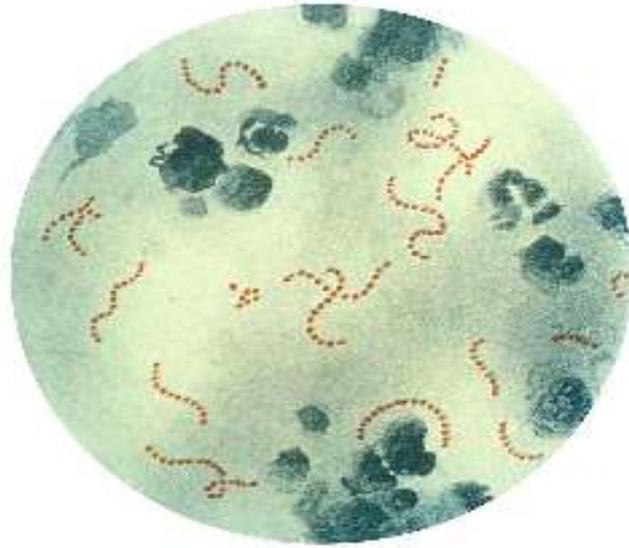
2.2. Bakteri *Streptococcus pyogenes*

2.2.1. Morfologi dan Identifikasi

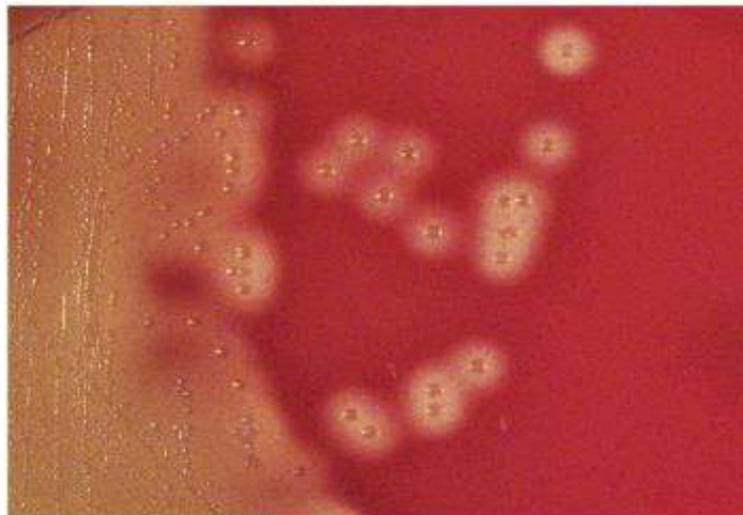
Streptococcus pyogenes merupakan bakteri gram positif yang memiliki antigen grup A. *Streptococcus pyogenes* merupakan bakteri penyebab penyakit utama pada manusia yang menimbulkan infeksi lokal maupun sistemik dan penyakit imunologi pasca infeksi *Streptococcus*. *Streptococcus* menghasilkan zona hemolisis β yang besar dengan diameter 1 cm di sekitar koloni yang berdiameter lebih dari 0,5 mm. Bakteri ini bersifat PYR-positif (menghidrolisis *1-pyrrolidonyl-2-naphthylamide*) dan biasanya sensitif terhadap basitrasin.⁷

Streptococcus pyogenes memiliki bentuk bulat atau ovoid dengan diameter 0,5-1 μm yang tersusun memanjang menyerupai rantai. Bakteri ini dapat membentuk rantai panjang yang bervariasi yang terdiri dari delapan kokus atau lebih. Bakteri ini bersifat gram positif, namun dapat berubah dan kehilangan sifat gram positifnya seiring dengan penambahan dari usia kultur dan kematian bakteri. Hal ini bisa terjadi setelah inkubasi selama satu malam pada sebagian *Streptococcus*.^{7,18}

Streptococcus pyogenes menghasilkan suatu kapsul yang tersusun dari asam hialuronat yang dapat menghambat fagositosis. Dinding sel pada bakteri ini mengandung protein (antigen M, T, dan R), karbohidrat (grup-spesifik), dan peptidoglikan. Terdapat pili (seperti rambut) yang menonjol keluar dari kapsul. Pili ini tersusun sebagian oleh protein M yang diselubungi dengan *lipoteichoic acid*. *Lipoteichoic acid* ini yang berfungsi untuk perlekatan bakteri ke sel epitel.⁷



Gambar 2.2 Bakteri *Streptococcus pyogenes* perbesaran 900x⁷



Gambar 2.3 Gambaran Hemolisis β Bakteri *Streptococcus pyogenes*¹⁹

2.2.2. Taksonomi

Berdasarkan Sistem taksonomi, *Streptococcus pyogenes* diklasifikasikan sebagai berikut.²⁰

- Kingdom : *Bacteria*
- Divisi : *Firmicutes*
- Kelas : *Bacilli*
- Ordo : *Lactobacillales*
- Famili : *Streptococaceae*

Genus : *Streptococcus*
 Spesies : *Streptococcus pyogenes*

2.2.3. Sifat Pertumbuhan

Sebagian besar *Streptococcus pyogenes* bersifat anaerob fakultatif dan hanya beberapa yang bersifat anaerob obligat. Bakteri ini hidup pada tekanan O₂ yang kurang, kecuali enterokokus. Bakteri ini tumbuh baik pada pH 7,4-7,6 dengan suhu optimum 37⁰C, dan pada suhu 40⁰C pertumbuhannya akan melambat. Bakteri ini tumbuh subur dengan pemberian glukosa dan bahan penetral asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhannya.¹⁸ *Streptococcus pyogenes* mudah tumbuh di dalam semua enriched media. Pada isolasi primer harus menggunakan darah lengkap, serum atau transudat seperti cairan asites atau pleura. Penambahan glukosa dengan konsentrasi 0,5% akan meningkatkan pertumbuhan bakteri ini tetapi menurunkan daya lisisnya terhadap sel darah merah. Bakteri *Streptococcus pyogenes* sensitif terhadap cakram basitrasin 0,2 µg dimana sifat ini dapat digunakan untuk membedakan dengan bakteri lain yang resisten terhadap basitrasin.¹⁸

2.2.4. Struktur Antigen^{7,18}

a. Protein M

Protein M merupakan faktor virulensi utama *Streptococcus pyogenes*. Protein M berbentuk seperti tonjolan pada dinding sel *Streptococcus* yang mirip dengan rambut. *Streptococcus pyogenes* akan menjadi virulen dengan adanya protein dan apabila tidak terdapat antibodi spesifik tipe M, bakteri ini dapat bertahan dari proses fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear. Ada sekitar 150 serotipe dari protein M, sehingga memungkinkan bakteri ini menginfeksi individu secara berulang.

b. Substansi T

Antigen tidak berhubungan dengan virulensi *Streptococcus pyogenes*. Substansi T bersifat labil dan akan rusak pada keadaan yang asam dan panas. Substansi T dihasilkan dari proses pencernaan enzim proteolitik. Antigen ini merangsang pembentukan aglutinin yang memungkinkan terjadinya diferensiasi bakteri melalui proses aglutinasi dengan antiserum yang spesifik.

c. Protein R

Protein R merupakan antigen yang dapat tahan terhadap tripsin, namun tidak tahan terhadap pepsin dimana bakteri ini akan menjadi rusak oleh asam dan pemanasan. Antigen ini juga rusak oleh enzim proteolitik.

2.2.5. Toksin dan Enzim

Bakteri *Streptococcus pyogenes* memiliki banyak produk-produk yang memiliki sifat antigenik antara lain sebagai berikut.^{7,18}

a. Streptokinase (Fibrinolisin)

Streptococcus pyogenes banyak menghasilkan streptokinase yang merupakan suatu enzim yang dapat mengubah plasminogen pada plasma menjadi plasmin, yaitu enzim proteolitik aktif yang dapat mencerna fibrin dan protein lainnya. Infeksi epidermis oleh bakteri *Streptococcus* akan mudah meluas karena enzim ini akan menghancurkan fibrin yang dapat menghambat penyebaran kuman.

b. Hemolisin

Terdapat dua jenis hemolisin yang dibentuk oleh *Streptococcus pyogenes*. Streptolisin O merupakan suatu protein yang memiliki sifat hemolitik aktif dalam bentuk yang tereduksi, namun akan menjadi inaktif jika terdapat oksigen. Streptolisin O ini merupakan penyebab dari hemolisis yang tampak saat pertumbuhan bakteri di bagian dalam media lempeng agar darah. Streptolisin O ini akan berikatan kualitatif dengan antistreptolisin

O (ASO), yaitu suatu antibodi yang muncul pada manusia setelah terinfeksi oleh bakteri *Streptococcus pyogenes*. ASO dapat akan menghambat hemolisis oleh streptolisin O yang menjadi dasar pengujian kualitatif. Titer ASO yang lebih dari 160-200 dianggap melebihi batas normal dan menjadi penanda adanya infeksi *Streptococcus pyogenes*. Selain itu terdapat juga Streptolisin S, yaitu agen yang menjadi penyebab hemolisis di sekitar koloni *Streptococcus pyogenes* yang tumbuh di permukaan lempeng agar darah. Streptolisin ini dibentuk jika terdapat serum dan tidak bersifat antigenik, tetapi dapat dihambat oleh inhibitor non spesifik yang terdapat pada serum manusia dan hewan dan tidak ada kaitannya dengan infeksi terdahulu *Streptococcus pyogenes*.

c. Streptodornase

Streptodornase atau *streptococcal deoxyribonuclease* merupakan suatu enzim yang mendepolimerisasi DNA. Aktivitas enzim ini dapat diukur dengan melihat penurunan kekentalan DNA. Campuran dari streptodornase dan streptokinase dapat digunakan sebagai debrima enzimatis yaitu membantu mencairkan eksudat, pengeluaran pus, dan pengangkatan jaringan nekrotik sehingga obat antibiotik memiliki akses masuk yang baik ke tubuh dan dapat membantu mempercepat pemulihan infeksi.

d. Hialuronidase

Hialuronidase merupakan suatu enzim yang memecah asam hialuronat, yaitu merupakan suatu komponen yang penting dari jaringan ikat. Oleh karena itu, enzim menjadi faktor yang membantu penyebaran infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes*.

e. Eksotoksin Pirogenik (Toksin Eritrogenik)

Berdasarkan sifat antigennya, eksotoksin pirogenik streptococcus dibedakan menjadi 3 jenis yaitu eksotoksin A, B, dan C. Eksotoksin A adalah eksotoksin yang paling banyak diteliti. Eksotoksin ini dihasilkan oleh bakteri *Streptococcus* yang memiliki

fage lisogenik. Eksotoksin pirogenik dapat menyebabkan sindrom syok toksik streptokokus dan demam skarlatina. Eksotoksin pirogenik bekerja sebagai superantigen yang memicu sel T dengan cara berikatan dengan kompleks histokompatibilitas mayor kelas II di daerah V_{β} pada reseptor sel T. Sel T yang teraktivasi ini akan menyebabkan syok dan cedera jaringan.

f. Diphosphopyridine Nukleotidase

Substansi ini diproduksi oleh beberapa jenis *Streptococcus* yang berfungsi sebagai kemampuan bakteri ini dalam membunuh leukosit. Pada beberapa galur *Streptococcus* juga menghasilkan enzim proteinase dan amilase.

2.2.6. Patofisiologi

Bakteri *Streptococcus pyogenes* memiliki kemampuan virulensi yang berhubungan dengan kemampuan perlekatan bakteri pada permukaan sel, yang selanjutnya akan menginvasi ke dalam sel epitel dan membentuk kolonisasi bakteri yang akan meningkatkan beragam toksin dan enzim.^{7,18}

Bakteri ini cenderung menginvasi saluran pernapasan atas. Dinding sel bakteri ini tersusun oleh komponen yang beragam dan sangat kompleks. Pada kapsul tersusun atas asam hialuronat dengan struktur menyerupai jaringan ikat inang sehingga bakteri ini dapat lolos dari pengenalan sebagai organisme patogen. Kondisi tersebut memungkinkan bakteri untuk berkembang biak dan berkoloni karena lolos dari fagositosis. Terdapat juga asal lipoteikoat dan protein M pada dinding sel bakteri yang menonjol di luar kapsul. Protein M sebagai faktor virulensi utama pada bakteri, dimana protein ini akan mengikat fibrinogen pejamu yang kemudian akan menghalangi pengikatan komplemen ke peptidoglikan sehingga memungkinkan bakteri ini akan bertahan dengan menghambat fagositosis dan akan berkembang biak dengan cepat jaringan manusia dan memulai proses penyakit. Terdapat juga faktor virulensi lain yaitu C5A

peptidase yang melumpuhkan sinyal kemotaksis dengan cara membelah komponen komplemen C5A.^{21,22}

2.2.7. Manifestasi Klinis Infeksi *Streptococcus pyogenes*

Terdapat berbagai manifestasi penyakit yang disebabkan oleh *Streptococcus pyogenes* yang dapat dibedakan menjadi beberapa kategori.

- a) Penyakit disebabkan karena invasi *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* grup A β -hemolitik)⁷

Gambaran klinis utama yang timbul ditentukan dari *port d'entr e* dari bakteri ini. Pada setiap kasus, terdapat infeksi difus yang menyebar dengan cepat serta melibatkan jaringan dan meluas melalui aliran limfatik yang menimbulkan supurasi lokal minimal. Dari sistem limfatik inilah infeksi bakteri ini dapat menyebar ke aliran darah. Beberapa penyakit karena invasi bakteri ini antara lain:

1. Erisipelas

Merupakan penyakit dengan *port d'entree* dari kulit yang disertai dengan edema massif dan bagian tepi infeksi yang cepat meluas.

2. Selulitis

Selulitis merupakan suatu infeksi akut pada jaringan kulit dan subkutan yang dapat menyebar dengan cepat. Infeksi ini dikaitkan dengan adanya luka bakar, insisi bedah, trauma ringan, atau luka lain yang disertai dengan nyeri, bengkak, dan eritema dengan lesi tidak meninggi dengan lesi berbatas tegas.

3. Fasiitis nekrotikans

Penyakit ini merupakan infeksi jaringan subkutan dan fasia dengan nekrosis yang luas dan menyebar cepat pada kulit dan jaringan subkutan.

4. Demam nifas

Bakteri *Streptococcus* dapat masuk melalui uterus saat post partum yang dapat menimbulkan demam nifas yang pada dasarnya merupakan septikemia dari endometritis.

5. Sindrom syok toksik streptokokus

Sindrom syok toksik streptokokus merupakan infeksi berat *Streptococcus pyogenes* yang ditandai dengan syok, bakteremia, gagal napas, dan kegagalan organ multiple. Infeksi biasanya terjadi setelah adanya trauma ringan pada orang yang awalnya sehat, dengan adanya tanda infeksi jaringan lunak yaitu fasciitis nekrotikans, miositis, bakteremia, dan infeksi jaringan lunak lainnya.

6. Demam skarlatina

Demam skarlatina disebabkan oleh eksotoksin pirogenik yang berhubungan dengan faringitis yang berat. Ruam akan timbul pada badan setelah penyakit berlangsung selama 24 jam, lalu menyebar hingga mencapai ekstremitas.

b) Penyakit yang disebabkan oleh infeksi lokal *Streptococcus pyogenes* dan zat yang dihasilkannya⁷

1. Faringitis

Faringitis atau nyeri tenggorokan merupakan penyakit yang paling sering ditimbulkan oleh *Streptococcus pyogenes* yang terjadi saat bakteri ini melekat ke epitel faring. Pada bayi dan anak-anak, manifestasi dari nyeri tenggorokan yaitu nasofaringitis subakut yang disertai demam ringan, yang cenderung menyebar ke telinga tengah dan mastoid. Biasanya terdapat pembesaran kelenjar getah bening servikalis dan dapat menetap selama beberapa minggu. Pada anak-anak yang lebih tua dan dewasa, terdapat gejala akut dan ditandai dengan tonsilitis dan

nasofaringitis berat, serta kemerahan dan edema berat pada membran mukosa disertai eksudat purulen, pembesaran dan nyeri tekan kelenjar getah bening servikalis yang biasanya disertai demam tinggi.

2. Pioderma streptokokal

Pioderma streptokokal merupakan infeksi lokal pada lapisan superfisial kulit, yang pada anak-anak disebut impetigo. Infeksi ini ditandai dengan vesikel superfisial yang pecah dan terdapat kulit yang mengelupas dengan permukaan tanpa lapisan yang ditutupi oleh pus dan menjadi krusta. Impetigo sangat menular dimana penyebarannya melalui kontak langsung, terutama pada daerah dengan iklim panas dan lembab.

c) Penyakit pascainfeksi *Streptococcus*⁷

Setelah infeksi akut *Streptococcus pyogenes*, terdapat fase laten selama 1-4 minggu. Periode laten ini bukan merupakan efek infeksi langsung dari bakteri, melainkan suatu respon hipersensitivitas. Penyakit yang sering terjadi yaitu glomerulonefritis akut dan demam rematik.

Glomerulonefritis akut dipicu oleh kompleks antigen-antibodi pada membran basal glomerulus. Gejala yang terjadi yaitu terdapat darah dan protein di dalam urin, edema, hipertensi, dan retensi ureum, kadar penurunan kadar komplemen dalam serum. Pada demam rematik, menyebabkan kerusakan otot dan katup jantung. Tanda dan gejala pada demam rematik yaitu demam, malaise, poliartritis nonsupuratif yang tidak menetap, dan tanpa adanya radang pada jantung.

2.3. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas aktivitas antibakteri merupakan pengujian yang dilakukan untuk mendapatkan suatu agen pengobatan yang tepat dan

mengetahui sensitivitasnya terhadap suatu infeksi tertentu. Pengujian ini tidak dilakukan kepada pada semua spesimen, melainkan hanya pada spesimen dengan jenis bakteri tertentu yang sensitivitasnya belum diketahui dan umum digunakan. Terdapat dua metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri, yaitu metode difusi dan dilusi.²³

2.3.1. Metode Difusi

Metode uji aktivitas antibakteri secara difusi merupakan metode pengujian antibakteri yang paling sering digunakan sebagai analisis aktivitas antibakteri. Metode ini sering digunakan karena pelaksanaannya mudah, tidak mahal, dan cara pengukuran yang tidak sulit. Prinsip kerja dari metode ini yaitu terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat dimana mikroba yang akan diuji telah diinokulasikan. Terdapat 2 jenis metode difusi yang sering digunakan yaitu :

a. Cara Cakram

Metode difusi cakram dilakukan dengan menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antibakteri yang dijenuhkan ke dalam bahan uji. Setelah itu, kertas cakram akan diletakkan pada permukaan media agar yang sudah diinokulasikan dengan bakteri yang akan diuji dan diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37⁰C. Zona bening yang terbentuk di sekitar cakram menandakan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri.²⁴

b. Cara Sumuran

Metode difusi sumuran dilakukan dengan cara membuat lubang yang dibuat tegak lurus pada media agar pada yang telah diinokulasikan bakteri yang akan diuji. jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang yang telah dibuat diisi dengan dengan sampel antibakteri yang akan diuji. Hasil pengujian dinilai dari ada tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekeliling lubang.²⁴

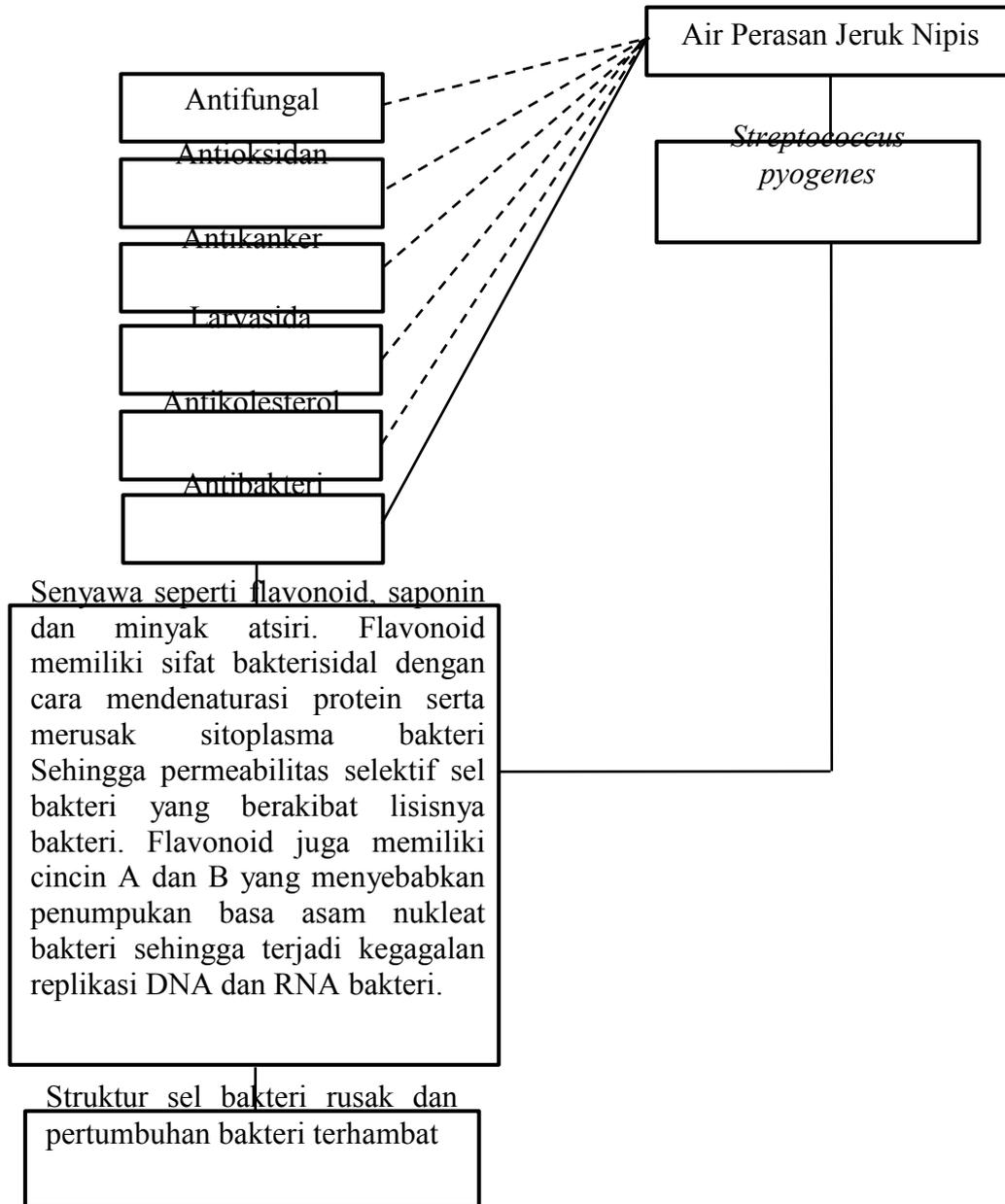
**Tabel 2.1 Klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri
Greenwood²⁵**

Diameter Zona Hambat (cm)	Daya Hambat
>20	Kuat
16-20	Sedang
10-15	Lemah
<10	Tidak ada

2.3.2. Metode Dilusi

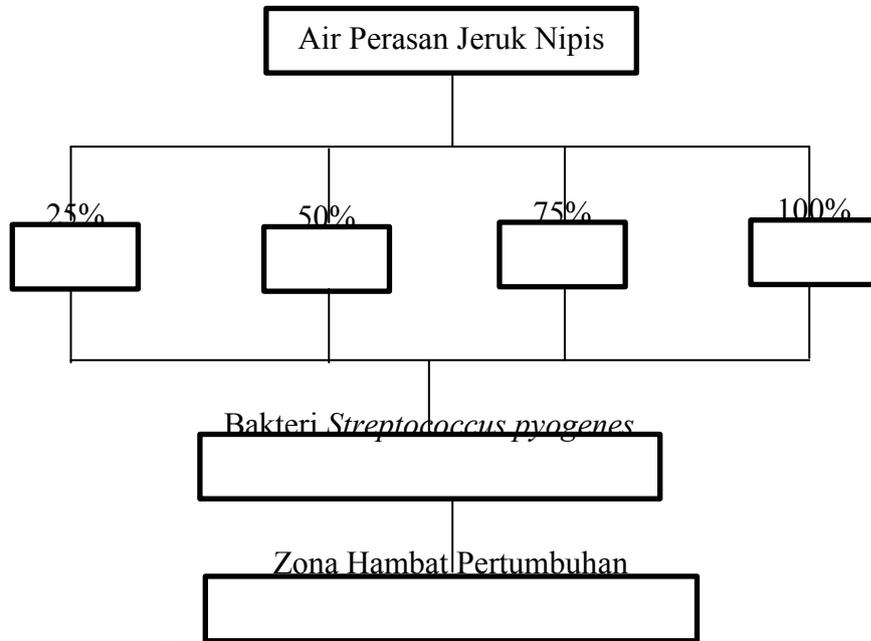
Terdapat 2 jenis metode dilusi, yaitu dilusi cair dan padat. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM (kadar hambat minimum) sedangkan metode dilusi padat digunakan untuk mengukur KBM (kadar bakterisidal minimum). Pada metode dilusi cair dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang selanjutnya ditambahkan mikroba uji. Pada metode dilusi padat dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri yang akan diuji pada media agar yang mengandung antibakteri. Kelebihan metode ini yaitu satu konsentrasi suatu agen antibakteri yang akan diuji dapat digunakan kembali untuk menguji beberapa bakteri uji lainnya.²⁶

2.4. Kerangka Teori



Bagan 2.1 Kerangka Teori

2.5. Kerangka Konsep Penelitian



Bagan 2.2 Kerangka Konsep Penelitian

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni laboratorium (*True Eksperimental Design*). Pada penelitian ini menggunakan air perasan jeruk nipis yang diujikan terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro* dalam berbagai konsentrasi dengan metode difusi cakram.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2022.

3.3. Sampel

3.3.1. Sampel Bakteri

Sampel bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Streptococcus pyogenes* yang kultur dalam media Nutrien Agar.

3.3.2. Sampel Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang dibuat dalam beberapa konsentrasi (25%, 50%, 75%, 100%).

3.3.3. Pengulangan Sampel

Pada penelitian ini dilakukan pengulangan sampel untuk mendapatkan hasil yang valid. Jumlah pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer :

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

Keterangan :

n = Jumlah pengulangan tiap perlakuan

t = Jumlah perlakuan yang dilakukan

Dalam penelitian ini dilakukan sebanyak 6 perlakuan yaitu air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, serta perlakuan terhadap kontrol yaitu aquades sebagai kontrol negatif dan suspensi amoksisilin sebagai kontrol positif. Maka :

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

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Untuk mendapatkan hasil yang valid, jumlah pengulangan tiap perlakuan (n) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 kali pengulangan.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat

- a. Cawan petri
- b. Tabung reaksi
- c. Labu erlenmeyer
- d. Jarum ose
- e. Lampu spiritus/bunsen
- f. Pinset
- g. Gelas ukur
- h. Autoklaf
- i. Inkubator
- j. Kapas lidi steril
- k. Neraca analitik
- l. Skalpel
- m. Pinset
- n. Pipet steril

- o. Aluminium foil
- p. Mikroskop dan kaca preparat
- q. Kamera
- r. Jangka sorong dan alat tulis

3.4.2. Bahan

- a. Isolat kuman *Streptococcus pyogenes*
- b. Jeruk nipis
- c. Kertas cakram amoksisilin dan kertas cakram kosong (*Oxoid*)
- d. Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dan NA (*Nutrien Agar*)
- e. Aquades
- f. NaCl 0,9%

3.5. Prosedur Kerja

3.5.1. Sterilisasi Alat dan Media

Seluruh alat yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dicuci dengan air bersih dan ditunggu kering. Kemudian dibungkus dengan kertas lalu disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121⁰C.

3.5.2. Pembuatan Perasan Jeruk Nipis

Buah jeruk nipis dibeli dipasar tradisional MMTTC Pancing, Medan. Buah jeruk nipis yang digunakan adalah jeruk nipis dengan diameter rata-rata 3-4 cm, kondisi buah baik, kulit halus, tidak cacat, dan berwarna hijau. Cara pembuatannya yaitu terlebih dahulu buah jeruk nipis dicuci bersih, lalu jeruk nipis dipotong menjadi 2 bagian. Kemudian, airnya diperas ke dalam tabung erlenmeyer

3.5.3. Pembuatan Konsentrasi Air Perasan Jeruk Nipis

Air perasan jeruk nipis yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dalam konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan pengenceran menggunakan aquades di dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml. Rumus

pengenceran yang digunakan dalam pembuatan konsentrasi larutan jeruk nipis adalah :

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

Keterangan :

V_1 = Volume air perasan jeruk nipis yang diencerkan (ml)

N_1 = Konsentrasi air perasan jeruk nipis yang tersedia (%)

V_2 = Volume air perasan jeruk nipis (air perasan jeruk nipis + aquades) yang diinginkan (ml)

N_2 = Konsentrasi air perasan jeruk nipis yang diinginkan (%)

Tabel 3.1 Jumlah air perasan jeruk nipis yang diencerkan

$V_1 = V_1 \cdot V_2 / N_1$	N_1	V_2	N_2
2,5 ml	100%	10 ml	25%
5,0 ml	100%	10 ml	50%
7,5 ml	100%	10 ml	75%
10 ml	100%	10 ml	100%

Air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 25% didapatkan dengan cara mengencerkan 2,5 ml air perasan jeruk nipis dengan 7,5 ml aquades. Untuk air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 50% didapatkan dengan cara mengencerkan 5,0 ml air perasan jeruk nipis dengan 5,0 ml aquades. Untuk air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 75% didapatkan dengan cara mengencerkan 7,5 ml air perasan jeruk nipis dengan 2,5 ml aquades. Dan untuk air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 100% didapat dari 10 ml air perasan jeruk nipis tanpa dilakukan pengenceran dengan aquades. Setelah selesai dilakukan pengenceran, setiap tabung dilabeli untuk setiap konsentrasi air perasan jeruk nipis.

3.5.4. Pembuatan Suspensi Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Pembuatan suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* yaitu pertama, siapkan larutan standar McFarland 0,5 yang sebelumnya telah dibuat terlebih dahulu. Suspensi bakteri diambil dari isolat murni bakteri *Streptococcus pyogenes* sebanyak 4-10 ose, selanjutnya dimasukkan kedalam tabung berisi larutan NaCl 0,9% lalu dihomogenkan. Bandingkan tingkat kekeruhan suspensi bakteri yang telah dibuat tadi dengan larutan standar McFarland 0,5. Sesuaikan konsentrasi suspensi bakteri yang diuji dengan larutan standar McFarland 0,5 (10^8 CFU/mL) dengan cara menambahkan aquades steril hingga diperoleh tingkat kekeruhan yang sama.

3.5.5. Penanaman Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* yang telah dibuat diinokulasikan dengan menggunakan kapas lidi steril kedalam media MHA yang sebelumnya telah dibuat terlebih dahulu.

3.5.6. Uji Efektivitas Antibakteri

Pengujian ini dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer* dengan teknik *disc diffusion* (difusi cakram). Cakram kosong (*Oxoid*) direndam kedalam air perasan jeruk nipis yang telah dibuat dalam konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, amoksisilin sebagai kontrol positif, dan aquades sebagai kontrol negatif. Letakkan masing-masing cakram yang telah direndam dalam beberapa konsentrasi air perasan jeruk nipis pada media MHA yang sudah ditanamkan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Diamkan selama 15 menit, lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 36-37⁰C selama 24 jam.

Adanya zona hambat yang terbentuk menandakan air perasan jeruk nipis memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Luas zona hambat dilihat dari panjang diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram setelah diinkubasi pada suhu 36-37⁰C selama 24 jam. diukur dengan menggunakan jangka

sorong. Hasil pengukuran diklasifikasikan berdasarkan respon daya hambat menurut *Greenwood*. Masing-masing perlakuan dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

3.6. Identifikasi Variabel

3.6.1. Variabel Independen

Variabel independen pada penelitian ini adalah air perasan jeruk nipis yang diencerkan dalam konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

3.6.2. Variabel Dependen

Variabel dependen pada penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

3.6.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah antibiotik amoksisilin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif.

3.7. Definisi Operasional

Tabel 3.2 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat ukur	Cara ukur	Hasil	Skala
Air perasan jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	Hasil dari perasan buah jeruk nipis yang dibuat dalam konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%	Pipet steril	$V_1.N_1 = V_2.N_2$	Konsentrasi air perasan jeruk nipis (%)	Rasio
Diameter zona hambat	Zona bening di sekitar cakram yang menandakan adanya hambatan pertumbuhan bakteri	Jangka sorong	Mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram	Zona hambat (mm)	Numerik

3.8. Analisis Data

Pada penelitian ini pemberian air perasan jeruk nipis merupakan variabel independen, sedangkan diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram adalah variabel dependen. Selanjutnya, data yang diperoleh di lakukan analisis statistik dengan menggunakan uji hipotesis komparatif untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram yang diberi beberapa konsentrasi air perasan jeruk nipis. Uji komparatif yang digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata lebih dari dua kelompok adalah uji *One-Way ANOVA*. Syarat uji *One-Way*

ANOVA adalah sebaran data dari sampel harus berdistribusi normal dan varian data harus sama atau homogen.

Pertama dalam analisis data dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, didapatkan nilai sig $p > 0.05$ pada seluruh data sehingga data yang didapatkan adalah berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas *Levene Test Homogeneity of Variance* untuk melihat apakah data yang didapat berasal dari varian yang sama atau homogen. Hasil uji homogenitas didapatkan nilai signifikansi 0.003 ($p < 0.05$) yang berarti data yang didapat tidak homogen. Karena data yang didapatkan tidak homogen, maka syarat uji *One-Way ANOVA* tidak terpenuhi sehingga dilakukan uji komparatif non parametrik *Kruskal Wallis*. Uji non parametrik *Kruskal Wallis* dilakukan untuk membandingkan beberapa kelompok variabel yang tidak terikat dan mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan dari tiap-tiap perlakuan konsentrasi. Kemudian, dilanjutkan dengan uji lanjut *Post Hoc LSD (Least Significant Difference)* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan dari tiap-tiap perlakuan yang satu dengan lainnya.