

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi menjadi salah satu masalah besar kesehatan masyarakat di negara maju dan negara berkembang Indonesia. Penyakit infeksi disebabkan oleh masuk dan berkembangbiaknya mikroorganisme seperti bakteri, virus, fungi serta parasit.¹

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, tersusun tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. *Staphylococcus aureus* paling sering ditemukan pada kulit dan selaput lendir manusia. *Staphylococcus aureus* bersifat invasif. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan bakteremia, osteomilitis, endokarditis, dan yang paling sering adalah infeksi kulit seperti furunkel (bisul) ditandai dengan abses disekitar daerah infeksi.²

Studi epidemiologi oleh Tong (2015) menunjukkan infeksi akibat *Staphylococcus aureus* meningkat dalam dua dekade terakhir.³ Data di Amerika Serikat dan Eropa menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen yang paling sering menyebabkan infeksi dengan prevalensi sebesar 18-30%. Angka kejadian penyakit infeksi *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* di wilayah Asia hampir sama dengan di Amerika Serikat dan Eropa.^{3,4}

Pemberian antibiotik adalah salah satu terapi yang digunakan untuk menangani penyakit infeksi salah satunya yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol dapat menimbulkan resistensi yang akan menyebabkan penyakit infeksi semakin sulit untuk disembuhkan. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dengan cepat dapat menjadi resisten terhadap banyak antibiotik.⁵ Berdasarkan uraian dari Centre for Disease Control and Prevention (CDC) didapatkan bahwa lebih dari 2 juta penyakit dan 23.000 kematian pertahun yang disebabkan oleh resistensi antibiotik di Amerika Serikat.⁶

Resistensi antibiotik yang terus berkembang yang dapat menimbulkan kesulitan dalam proses penyembuhan dengan antibiotik sebelumnya. Bahan alami dinilai lebih aman digunakan dibandingkan obat kimia karena efek samping yang ditimbulkan oleh bahan alami terbilang relatif lebih kecil dibandingkan obat kimia.⁷ Salah satu bahan alami yang banyak dikenal dan digunakan sebagai pengobatan untuk mengatasi infeksi adalah daun sirih.⁸

Tanaman sirih sudah banyak dikenal masyarakat karena diketahui memiliki banyak khasiat sehingga sering digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk berbagai penyakit. Daun sirih banyak dimanfaatkan sebagai antimikroba, terutama antiseptik dan antibakteri. Efek antibakteri yang ditimbulkan daun sirih karena daun sirih mengandung fenol yang dapat merusak dinding sel bakteri dan mengandung flavanoid yang dapat merusak protein sel bakteri.⁹

Di Indonesia terdapat beberapa jenis daun sirih yaitu daun sirih merah, daun sirih hijau, daun sirih gading, daun sirih cacing yang berasal dari berbagai daerah di Indonesia, hal ini yang memungkinkan kandungan efektivitas antibakteri pada daun sirih lebih bervariasi.¹⁰ Kandungan utama yang terdapat pada daun sirih yaitu minyak atsiri yang memiliki komponen senyawa fenol yaitu *betlephenol* dan kavikol yang merupakan senyawa aromatik dan senyawa turunannya seperti kavibetol, karvakol, eugenol, *allilpyrocatechol* dan katekin.¹¹ Kandungan utama minyak atsiri pada berbagai jenis daun sirih berbeda-beda, pada daun sirih merah kandungan minyak atsiri adalah sebesar 0,727 % (v/b) sedangkan pada daun sirih hijau sebesar 4,2 %, perbedaan kandungan minyak atsiri pada kedua daun sirih ini juga mempengaruhi kandungan didalamnya.¹²

Penelitian yang dilakukan oleh Lincah, dkk pada tahun 2022 mendapatkan hasil bahwa masyarakat kecamatan Lahusa menggunakan daun sirih karena memiliki khasiat dalam mengobati serta mencegah berbagai penyakit seperti gatal-gatal, batuk, masuk angin, dan sakit gigi. Selain karena khasiatnya, penggunaan daun sirih dapat menghemat biaya pengobatan medis dan tidak menimbulkan efek samping.¹³ Penelitian yang dilakukan oleh Bustanusalam (2015) membuktikan bahwa ekstrak daun sirih hijau memiliki efektivitas terhadap *Staphylococcus aureus*.¹⁴ Penelitian yang dilakukan oleh Julia (2011)

membuktikan bahwa ekstrak daun sirih merah dapat menghambat dengan kuat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus*.¹⁴ Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Novita Carolina dkk (2016) bahwa ekstrak daun sirih hijau memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acne*, sehingga ekstrak daun sirih hijau dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan acne vulgaris.¹⁵

Berdasarkan uraian hasil penellitian daun sirih diatas membuat peneliti tertarik untuk menguji perbandingan efektivitas ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan latar belakang diatas, rumusan masalah pada penelitian ini yaitu bagaimana perbandingan efektivitas antara ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3. Hipotesis

Pengaruh ekstrak daun sirih hijau lebih besar dibandingkan ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan efektivitas ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui daya hambat daun sirih merah pada berbagai konsentrasi terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui daya hambat daun sirih hijau pada berbagai konsentrasi terhadap *Staphylococcus aureus*.
3. Membandingkan daya hambat yang paling kuat diantara daun sirih merah dan daun sirih hijau terhadap *Staphyloccus aureus*.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi Peneliti

Menambah pengetahuan dan pengalaman dalam melakukan penelitian dan penulisan karya tulis ilmiah, terkhususnya mengenai perbandingan efektivitas ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau terhadap infeksi *Staphylococcus aureus*.

1.5.2. Bagi institusi

Menambah literatur dan informasi di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan, sehingga penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam melakukan penelitian lebih lanjut.

1.5.3. Bagi masyarakat

Dapat dikembangkan sebagai antibakteri alami untuk berbagai penyakit.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daun Sirih

2.1.1. Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) termasuk dalam famili *piperaceae* merupakan tanaman dengan daun beruas, berbentuk elips, batang bersulur dan beruas, panjangnya 9-12 cm dan lebarnya 4-5 cm.¹⁶ Daun sirih merah merupakan tanaman herbal yang memiliki daun berbentuk pipih menyerupai jantung dan bertangkai panjang, permukaan atas daun berwarna hijau gelap dan tulang daun berwarna merah hati keunguan.¹⁷



Gambar 2.1 Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*)¹⁸

Klasifikasi ilmiah daun sirih merah sebagai berikut

- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Anak kelas : Magnoliidae
- Bangsa : Piperales
- Suku : Piperaceae (sirih-sirihan)
- Marga : Piper
- Jenis : *Piper crocatum* Ruiz & Pav.¹⁶

2.1.2. Daun Sirih Hijau (*piper betle L.*)

Daun sirih hijau (*piper betle L.*) merupakan tanaman menjalar yang termasuk dalam famili *piperaceae*. Daun sirih hijau memiliki tinggi 5-15m. Batang sirih berwarna coklat kehijauan berbentuk bulat, daunnya yang tunggal berbentuk jantung, berujung runcing, tepi rata, tulang daun melengkung, lebar daun 2,5-10 cm, panjang daun 5-18 cm, tumbuh berselang-seling, bertangkai dan mengeluarkan bau yang sedap bila diremas.

19



Gambar 2.2 Daun Sirih Hijau (*piper betle L.*)²⁰

Klasifikasi ilmiah tanaman daun sirih hijau yaitu:

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Ordo: Piperales

Family: Piperaceae

Genus: Piper

Spesies: *Piper betle linn.*²¹

2.1.3. Kandungan Kimia dan Manfaat Daun Sirih

Daun sirih memiliki kandungan kimia seperti minyak atsiri, hidrosikavicol, kavicol, kavibetol, alil-prokatekol, karvacrol, eugenol, p-cymene, cineole, caryofelen, kadimen estragol, ter-penena, fenil propada, tannin, flavonoid, alkaloid, fenol, steroid, triterpenoid dan saponin. Minyak atsiri mengandung *betle phenol*, seskuiiterpen, pati, diatase, gula.^{11,22}

Daun sirih hijau mengandung asam amino seperti *Asparagin* dalam jumlah yang besar, glisin dalam bentuk gabungan, lalu *prolin* dan *ornitin*. Minyak atsiri pada daun sirih hijau terdiri dari fenol dan senyawa turunannya yaitu kavikol, cavibetol, betehphenol, eugenol, dan allilpyricatechol. Kandungan kimia daun sirih merah secara kromatografi flavonoid, alkaloid senyawa polifenolat, tanin dan minyak atsiri. Perbedaan kandungan kimia daun sirih merah dan hijau terletak di kadar minyak atsiri. Pada daun sirih merah kandungan minyak atsiri 0,727% (v/b), sedangkan kandungan minyak atsiri pada daun sirih hijau sebesar 4,2 %. Perbedaan konsentrasi kandungan minyak atsiri pada kedua jenis daun sirih ini mempengaruhi kandungan kavikol dan turunan didalamnya.^{23,11}

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Muflihah dan Sulisty (2017) didapat ekstrak aquades daun sirih merah alkaloid, fenolik, tannin, flavonoid dan triterpenoid. Ekstrak etanol daun sirih merah mengandung senyawa steroid, triterpenoid, dan flavonoid. Ekstrak aquades daun sirih hijau mengandung alkaloid, fenolik, dan triterpenoid sedangkan ekstrak etanol daun sirih hijau mengandung senyawa alkaloid, fenolik, steroid, triterpenoid, dan flavonoid.²⁴

Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga membrane atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna, minyak atsiri mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Turunan fenol yang langsung berinteraksi ke sel bakteri terjadi melalui proses melalui adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah, fenol dengan ikatan lemah akan mengalami penguraian sehingga fenol mengalami penetrasi ke dalam sel dan mengakibatkan denaturasi protein. Pada kadar tinggi, fenol dapat menyebabkan koagulasi protein sehingga membrane sel akan mengalami lisis. Kandungan flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengakibatkan terganggunya integritas membran sel bakteri. Flavonoid termasuk ke dalam senyawa fenol yang bersifat koagulator protein. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang mengakibatkan dinding sel tidak

terbentuk sempurna sehingga terjadi kematian sel. Toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri. Senyawa astringent tannin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan juga menginduksi pembentukan suatu kompleks ikatan tannin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tannin itu sendiri. Pada kadar rendah, fenol dengan ikatan lemah akan mengalami penguraian sehingga fenol mengalami penetrasi ke dalam sel dan mengakibatkan denaturasi protein. Pada kadar tinggi, fenol dapat menyebabkan koagulasi protein sehingga membrane sel akan mengalami lisis.^{25,26}

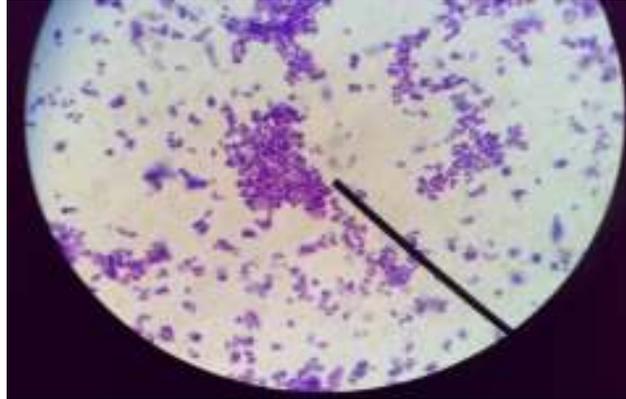
2.2. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik serta zat lain yang penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan adalah polimer polisakarida yang mengandung subunit terhubung, mengandung eksoskeleton dinding sel yang rigid. Peptidoglikan dapat dihancurkan oleh asam kuat atau dengan pemaparan pada lisozim. Asam teikoat adalah polimer gliserol atau ribitol fosfat yang terhubung dengan peptidoglikan dan bersifat antigenik.²

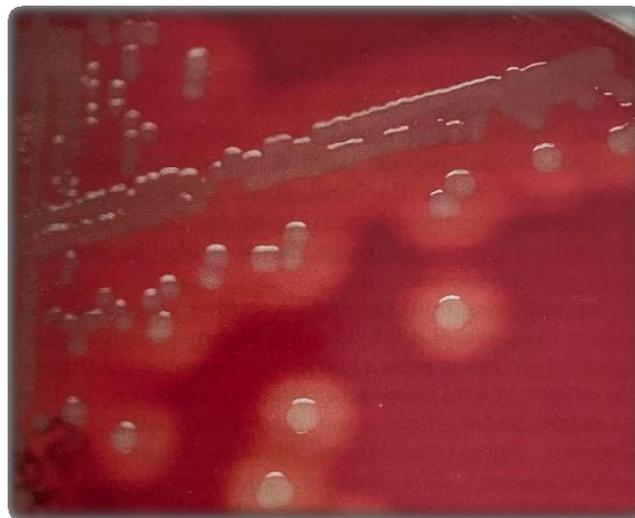
Protein A adalah komponen dinding sel galur *Staphylococcus aureus* yang merupakan protein permukaan bakteri diantara kelompok adhesin yang disebut molekul matriks adhesif pengenal komponen permukaan mikroba. Protein A terikat pada bagian Fc molekul IgG kecuali IgG3. Bagian fab IgG yang terikat oleh protein A bebas bergabung dengan antigen spesifik. Beberapa galur *Staphylococcus aureus* mempunyai kapsul, yang berfungsi menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear (PMN) kecuali terdapat antibodi spesifik. Sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* mempunyai koagulase yang merupakan faktor penggumpal. Pada permukaan dinding sel koagulase terikat secara nonenzimatik pada fibrinogen sehingga menghasilkan agregasi bakteri.^{2,27}

Struktur *Staphylococcus aureus* berupa laminin dan fibronectin berfungsi membentuk matriks ekstraseluler pada permukaan epitel dan endotel sehingga membantu penempelan bakteri pada sel inang, berupa laminin dan fibronectin yang berfungsi membentuk matriks ekstraseluler pada permukaan epitel dan

endotel. Selain itu, beberapa ikatan protein fibrin/fibrinogen mampu meningkatkan penempelan bakteri pada darah dan jaringan.²⁷



Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pewarnaan gram.⁵



Gambar 2.4 Hemolisis *Staphylococcus aureus* pada cawan agar setelah diinkubasi 24 jam.⁵

2.2.1. Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Domain : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Order : Lactobacillales
Family : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus
Species : *Staphylococcus aureus*.⁵

2.2.2. Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri kokus gram positif, tunggal, berpasangan, berempatan, dan membentuk tumpukan pada kultur likuid, tidak bergerak, tidak berspora, bersifat spora, berbentuk seperti rantai buah anggur. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri kokus muda berwarna gram positif kuat. Pada proses penuaan banyak sel menjadi gram negatif. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Polisakarida yang virulen disebut polisakarida A, sedangkan polisakarida yang tidak patogen disebut polisakarida B. Bakteri ini tumbuh optimum pada suhu optimum 37°C. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat, banyak koloni menghasilkan pigmen hanya pada inkubasi yang berkepanjangan.²

2.2.3. Karakteristik Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus menghasilkan enzim katalase, yang membedakan *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*. *Staphylococcus aureus* memfermentasikan banyak karbohidrat dengan lambat, lalu menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas.^{28,27} *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan, pemanasan, tetapi mudah dihambat oleh zat kimia tertentu, misalnya heksaklorofen 3%. *Staphylococcus aureus* bersifat anaerob fakultatif tetapi pertumbuhan terbaik adalah pada saat suasana aerob. PH optimum untuk *Staphylococcus aureus* pertumbuhan adalah 7,4.²⁷

Pada lempeng agar, *Staphylococcus aureus* memiliki warna yang khas yaitu kuning keemasan, hanya saja intensitasnya dapat bervariasi. Koloni yang masih muda tidak memiliki warna tetapi di dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, kloroform, dan benzol. Pada lempeng agar biasa dengan suhu 37°C tidak dibentuk pigmen, tetapi apabila koloni dipindahkan

dalam perbenihan Loeffler, dieram pada suhu kamar, maka pembentukan pigmennya sangat baik.²

2.2.4. Daya Tahan *Staphylococcus aureus*

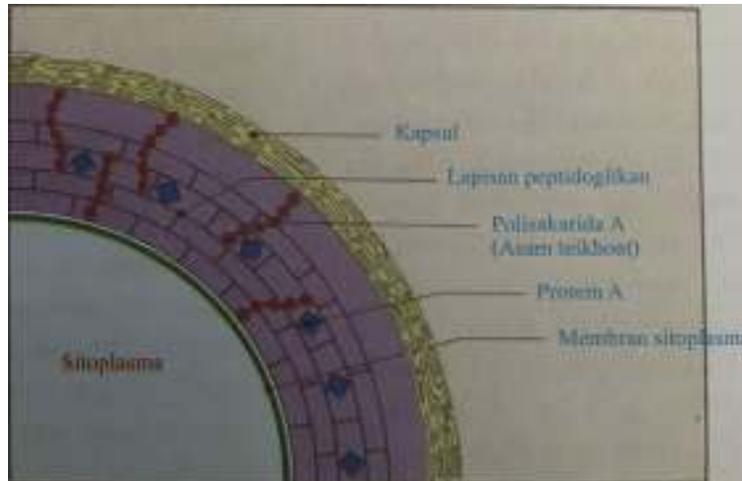
Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang tidak membentuk spora yang termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Pada agar miring *Staphylococcus aureus* dapat hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam penyimpanan lemari es ataupun pada suhu kamar. Bakteri ini memiliki daya tahan yang berbeda pada berbagai zat kimia seperti Tinc.jodii 2% selama 1 menit, fenol 2% selama 15 menit, alkohol 50- 70% selama 1 jam, HgCl₂ 1% selama 10 menit, H₂ O₂ 3% selama 3 menit.²

2.2.5. Struktur Antigen *Staphylococcus aureus*

Dinding sel *Staphylococcus aureus* terbentuk dari peptidoglikan, asam teikoat, dan protein A. Peptidoglikan dihancurkan oleh asam kuat atau pajanan terhadap lisozim. Peptidoglikan dapat memicu produksi interleukin-1 (pirogen endogen) dan antibodi opsonik oleh monosit, dan dapat menjadi *chemoattractant* untuk lekosit polimorfonuklear, yang memiliki aktivitas mirip-endotoksin, dan mengaktifkan komplemen. Antigen yang dimiliki *Staphylococcus aureus* adalah asam teikoat, yang merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat. Asam teikoat dapat mengaktifasi komplemen melalui jalur alternatif dan menstimulasi makrofag untuk mensekresikan sitokin.^{2,27}

Sebagian besar dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung komponen protein A. Protein A berikatan dengan bagian Fc dari molekul IgG kecuali IgG3. Bagian Fab dari IgG yang terikat dengan protein A bebas berikatan dengan antigen spesifik. Beberapa strain *Staphylococcus aureus* memiliki kapsul dan menjadi lebih virulen dibandingkan dengan strain yang tidak berkapsul. Kapsul polisakarida dapat menghambat fagositosis oleh lekosit polimorfonuklear kecuali terdapat antibodi spesifik. Strain *Staphylococcus aureus* mempunyai koagulase atau faktor penggumpal pada permukaan dinding sel. Koagulase terikat

dengan fibrinogen secara nonenzimatik, sehingga menyebabkan agregasi bakteri.^{2,27}



Gambar 2.5. Struktur antigen *Staphylococcus aureus*.²

2.2.6. Metabolit *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus memuat metabolit, yaitu metabolit yang bersifat non toksin dan eksotoksin. Metabolit yang bersifat non toksin adalah: antigen permukaan, koagulasa (Stafilokoagulasa), hialuronidasa, fibrinolisin, gelatinasa dan protease, lipasa dan tributirinasa, fosfatase, lisosim dan penisilinas serta katalase. Metabolit yang bersifat eksotoksin adalah: alfa hemolisin, beta hemolisin, delta hemolisin, leukosidin, sitotoksin serta toksin eksfoliatif.²

Antigen permukaan berfungsi untuk mencegah serangan oleh faga, mencegah reaksi koagulasi dan mencegah fagositosis. Enzim koagulasa dapat mengumpulkan plasma oksalat atau plasma sitrat karena faktor reaktif koagulasa di dalam serum. Faktor ini akan bereaksi dengan koagulasa lalu menghasilkan suatu esterase yang dapat membangkitkan aktivitas penggumpalan yang mengakibatkan deposit pada permukaan sel bakteri sehingga dapat menghambat fagositosis. Hialuronidasa adalah enzim yang paling utama dihasilkan oleh jenis koagulasa positif. Adanya enzim ini menyebabkan penyebaran bakteri semakin mudah.²

Enzim fibrinolisin dapat melisiskan bekuan darah di dalam pembuluh darah yang sedang meradang, sehingga bekuan yang penuh bakteri terlepas dan terjadi lesi metastatik di lain tempat.²

Gelatinase merupakan suatu enzim yang dapat mencairkan gelatin. Protease dapat melunakkan serum yang telah diuapkan airnya sehingga menyebabkan nekrosis jaringan termasuk jaringan tulang. Lipasa terutama dihasilkan oleh jenis koagulasa positif. Tributirinase atau *egg-yolk factor* adalah *lipase-like enzyme* yang menyebabkan terbentuknya *fatty droplets* dalam perbenihan kaldu yang mengandung glukosa dan kuning telur.²

Ada korelasi antara aktivitas asam fosfatase, patogenitas bakteri dan pembentukan koagulasa. Lisosim dibuat oleh sebagian besar jenis koagulasa positif dan penting untuk menentukan patogenitas bakteri. Penisilinase dibuat oleh beberapa jenis *Staphylococcus aureus*, sebagian besar dari grup I dan III.²

Enzim katalase dibuat oleh *Staphylococcus* dan mikrokokus, dengan adanya enzim ini dapat mengetahui koloni *Staphylococcus* berumur 24 jam dituangi H₂ O₂ 3% dan timbul gelembung udara.²

1) Metabolit Eksotoksin

Alfa hemolisin yaitu toksin dibuat oleh stafilokokus virulen dari jenis human dan bersifat melisiskan sel darah merah, kelinci, kambing dan sapi, Tidak melisiskan sel darah merah manusia, Menyebabkan nekrosis pada kulit manusia dan hewan, Dalam dosis yang cukup besar dapat membunuh manusia dan hewan., Tidak menghancurkan sel darah putih manusia, tetapi menghancurkan sel darah putih kelinci, Menghancurkan trombosit kelinci, Bersifat sitotoksik terhadap jaringan mamalia.² Semua sifat diatas dapat dinetralkan oleh IgG tetapi tidak dapat oleh IgA dan IgM. Semua efek diatas dikarenakan pelepasan anion dengan fosfolipid yang terdapat dalam membrane sel kuman. Setelah diolah dengan formalin toksin ini dapat dipakai sebagai toksoid.²

Beta hemolisin dapat menyebabkan terjadinya hot-cold lysis pada sel darah merah domba dan sapi. Lisis terjadi setelah 1 jam pengeraman

pada suhu 37°C dan 18 jam pada suhu 10°C. Toksin ini dapat dibuat toksoid.²

Delta hemolisin ini dapat melisis sel darah merah manusia dan kelinci. Jika toksin ini disuntikkan secara intravena pada kelinci menyebabkan kerusakan ginjal yang akut hingga fatal.²

Leukosidin merupakan toksin yang merusak sel darah putih berbagai macam hewan dengan tiga tipe yang berbeda diantaranya alfa hemolisin, identik dengan delta hemolisin yang bersifat termostabil dan dapat mengakibatkan perubahan morfologi sel darah putih semua tipe kecuali dari domba, hanya terdapat 40-50% jenis stafilocokus dan hanya merusak sel darah putih manusia tanpa aktivitas hemolitik.²

Sitotoksin merupakan toksin yang mempengaruhi alat gerak sel darah putih dan bersifat termostabil. Toksin ini dibuat dengan suasana sebagai berikut:

1. Kompleks antigen zat anti menghasilkan kompleks trimolekuler dengan komplemen terdiri dari C'5, C'6 dan C'7.
2. Streptokinase mengubah plasminogen menjadi plasmin dan bereaksi dengan C'3 menjadi C'3 yang aktif.²

Toksin eksofoliatif merupakan toksin dihasilkan oleh stafilocokus grup II dan merupakan suatu protein ekstraseluler yang tahan panas tetapi tidak tahan asam. Toksin ini sebagai penyebab *Phylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSS) meliputi dermatitis eksofoliative pada neonates, impetigo bulosa, dan toksin epidermal nekrosis pada orang dewasa.²

2.2.7. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus membentuk koloni yang bersifat intermitten dan sedikit yang membentuk koloni yang bersifat persisten dengan tidak menimbulkan gejala. Pada orang dewasa *Staphylococcus aureus* sebagian besar ditemukan di nares anterior, selain di tenggorokan, kulit, ketiak, rektum dan perineum.⁵

Bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung protein seperti lamini dan fibronektin yang bermanfaat untuk tempat penempelan dengan protein host sehingga terbentuk matriks ekstraseluler dari epitel dan permukaan endotel. Fibrin dan fibrinogen berikatan dengan protein sebagai faktor penggumpalan yang

memicu perlekatan penggumpalan darah pada jaringan yang rusak. *Staphylococcus aureus* memproduksi ekstraseluler dalam jumlah besar dan melakukan invasi sehingga *Staphylococcus aureus* dapat menyebar ke seluruh jaringan. *Staphylococcus aureus* yang invasif dan patogenik akan menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Sedangkan, *Staphylococcus aureus* yang tidak patogen dan tidak bersifat invasif tidak membentuk koagulase, berwarna putih dan tidak meragi manitol.⁵

2.2.8. Manifestasi Klinis *Staphylococcus aureus*

Manifestasi klinis infeksi *Staphylococcus aureus* tampak sebagai jerawat, infeksi folikel rambut, atau abses. Gambaran klinis yang didapati pada keadaan abses diantaranya lokalisasi sekunder di dalam suatu organ diikuti dengan gejala dan tanda disfungsi organ serta supurasi fokal yang hebat. Ditemukan tanda inflamasi hebat yang nyeri, terlokalisasi dan menyembuh setelah pus dikeluarkan. Dinding sel dan fibrin disekeliling abses mencegah penyebaran bakteri. Bakteremia akan menimbulkan endokarditis, osteomilitis hematogen akut, meningitis dan infeksi paru. Gambaran klinis yang didapati diantaranya lokalisasi sekunder dalam suatu organ diikuti dengan gejala dan tanda disfungsi organ serta supurasi fokal yang hebat.^{2,27}

Infeksi *Staphylococcus aureus* yang disebabkan oleh keracunan makanan memiliki masa inkubasi yang pendek sekitar 1-8 jam dengan gejala yang timbul berupa mual hebat, muntah, diare, tidak ada demam dan perbaikan cepat. Pada keadaan berat dapat terjadi sindroma syok toksik yang bermanifestasi sebagai adanya demam tinggi dengan onset yang mendadak, muntah, diare, myalgia, ruam skarlatina, dan hipotensi dengan gagal jantung serta gagal ginjal pada kasus berat.

27

2.3. Metode Uji Efektivitas Antibakteri

Metode penelitian eksperimental pada bakteri diperlukan untuk menentukan kemampuan aktivitas suatu senyawa antibakteri. Ada beberapa metode pengujian antibakteri diantaranya metode diifusi dan metode dilusi.²⁹

Metode difusi merupakan metode yang khusus menentukan kemampuan aktivitas antibakteri secara kuantitatif. Prinsip kerja metode ini dengan terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat dengan memastikan mikroba uji telah diinokulasikan. Kelebihan dari metode ini adalah mudah dilakukan karena tidak memiliki alat khusus dan mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diteliti. Hasil pengamatan yang diperoleh dari metode difusi ini adalah ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.^{30,29} Ada tiga acara yang digunakan dalam metode difusi yaitu metode cakram, metode sumuran, dan metode parit.

Metode cakram dilakukan dengan menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba yang dijenuhkan ke dalam bahan uji. Kertas cakram diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35°C. Zona bening di sekitar kertas cakram diamati untuk melihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Kelebihan dari metode cakram adalah pengujian yang dilakukan lebih cepat pada penyiapan cakram.²⁹

Tabel 2.1. Diameter zona terang dan respon hambat pertumbuhan.²⁹

Ukuran Diameter yang Terbentuk	Kekuatan Daya
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak Ada

Metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang yang dibuat tegak lurus pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Lubang akan diisi sampel yang akan diuji, kemudian diinkubasi dan diamati pertumbuhan bakteri dengan melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang. Kelebihan dari metode sumuran ini adalah pengukuran luas zona hambat yang terbentuk lebih mudah dikarenakan bakteri tidak hanya beraktivitas di permukaan agar nutrient agar tetapi sampai di bawah.²⁹

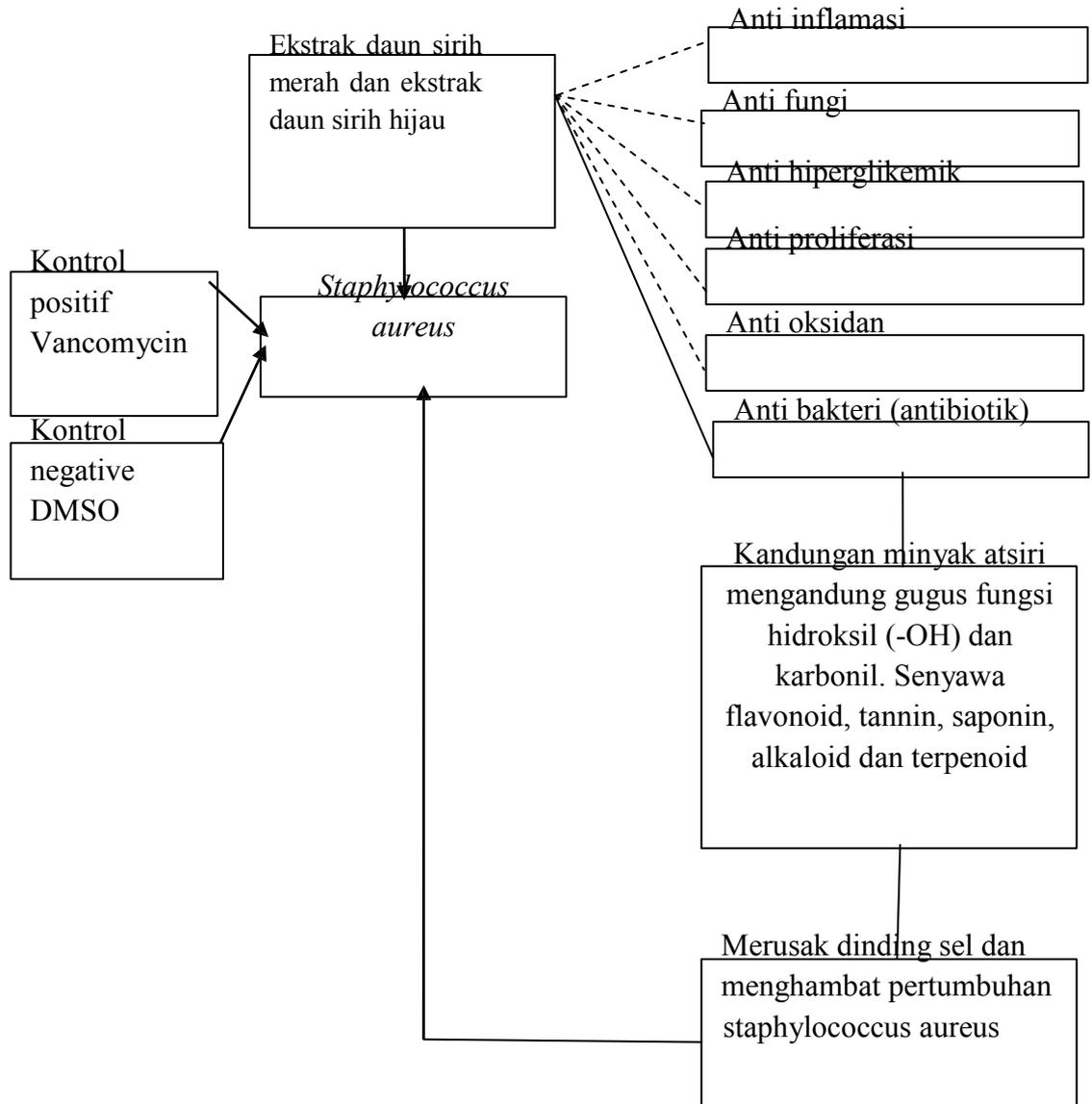
Metode parit adalah metode dengan cara membuat lempengan agar yang telah dilakukan inokulasi dengan bakteri dibuat sebidang parit. Kemudian diisi dengan zat antimikroba, lalu diinkubasi pada waktu dan suhu yang optimum yang sesuai dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh adalah ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit.²⁹

Metode dilusi adalah metode pengenceran dalam tabung yang berisi kaldu dapat digunakan untuk menentukan sensitivitas suatu mikroorganisme terhadap suatu antibiotik. Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) suatu antibiotik. KHM adalah konsentrasi terendah suatu senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji. Metode dilusi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dilusi cair dan dilusi agar.²⁹

Dilusi cair dilakukan dengan menggunakan sederatan tabung reaksi yang akan diisi dengan inokulum kuman dan larutan bakteri yang diencerkan, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan dari kadar hambat minimum (KHM).²⁹

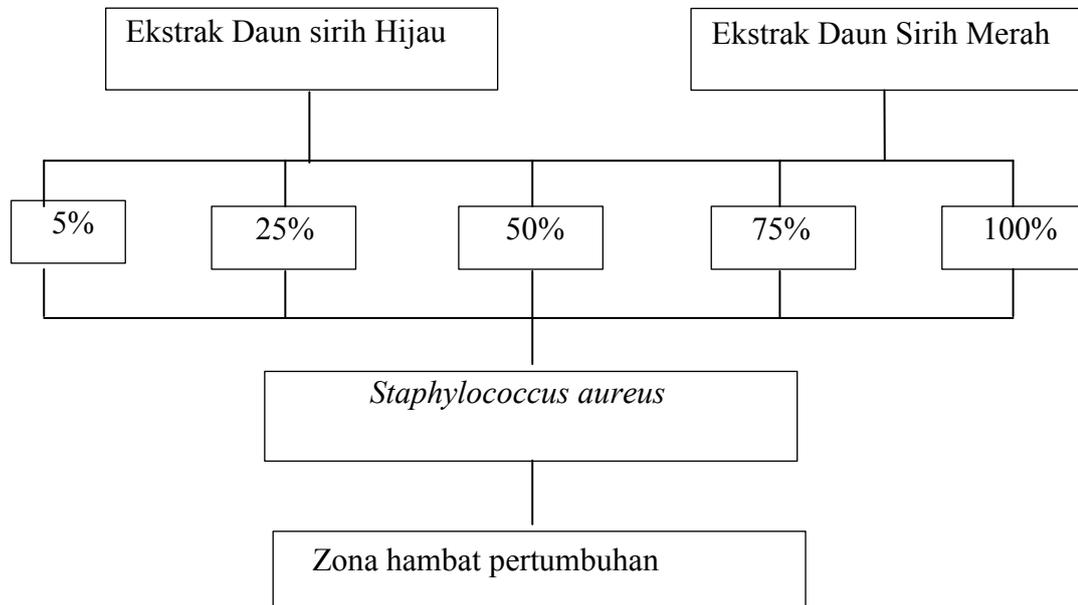
Pada dilusi agar, media agar zat antibakteri dencerkan lalu dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, bakteri diinokulasikan kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai kadar hambat minimal. Uji membutuhkan sebuah kontrol, yaitu kontrol sterilitas, kontrol pertumbuhan dan uji secara simultan strain seri pengenceran benar. Akhir uji dilusi biasanya tajam dan mudah didefenisikan.²⁹

2.4. Kerangka Teori



Gambar 2.6 Kerangka Teori

2.5. Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Kerangka Konsep

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode difusi cakram pada media MHA untuk melihat aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

3.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus sampai Oktober 2022.

3.3. Bahan Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang sudah dibiakkan di agar MHA dan diinkubasi di inkubator dengan suhu 37 °C dalam waktu 1 x 24 jam.

3.4. Sampel Uji

Ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau diambil dengan berbagai konsentrasi yaitu 5%, 25%, 50%, 75%, 100%.

3.5. Besar Sampel

Estimasi besar sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 14 (empat belas) terdiri dari ekstrak daun sirih merah dan ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 5%, 25%, 50%, 75%, 100%, antibiotik vancomycin sebagai kontrol positif dan DMSO kontrol negatif. Pengulangan yang valid dihitung dengan rumus Federer:

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

$$(7-1)(r-1) \geq 15$$

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

$$6r - 6 \geq 15$$

$$6r \geq 15+6$$

$$r \geq 21/6$$

$r \geq 3,5$ (pengulangan yang dilakukan adalah 4 kali masing-masing untuk daun sirih merah dan daun sirih hijau dalam pembulatan hasil).

Keterangan:

t: banyak perlakuan

r: banyak pengulangan

3.6. Alat dan Bahan

3.6.1. Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah

1. Autoklaf
2. cawan petri
3. erlenmayer
4. gelas ukur
5. penggaris
6. cawan porselin
7. korek api
8. Bunsen
9. Rak tabung
10. Tabung reaksi
11. Spatula
12. Timbangan analitik
13. Vial
14. Pinset
15. *Laminar air flow*
16. Mikro pipet
17. Aluminium foil
18. Inkubator
19. *Beaker glass*
20. Kertas saring
21. Tisu, lemari pengering

22. Lemari pendingin.

3.6.2. Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

1. Aquadest
2. Etanol 96%
3. Media MHA
4. Ekstrak daun sirih merah
5. Ekstrak daun sirih hijau
6. Biakan *Staphylococcus aureus*
7. Cakram uji kosong
8. DMSO 10%
9. NaCL 0,9%
10. Antibiotik *Vancomycin*.

3.7. Tahap Persiapan

3.7.1. Sterilisasi Media

Media yang digunakan pada uji bakteri pada penelitian ini adalah MHA. Seluruh alat gelas dan MHA disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3.7.2. Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Pengumpulan bahan tumbuhan yaitu daun sirih hijau dan daun sirih merah dilakukan secara purposif tanpa membandingkan tumbuhan yang sama di daerah lain.

3.7.3. Pengelolaan Bahan Tumbuhan

Sampel yang telah diambil dicuci menggunakan air yang mengalir, lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C, kemudian diblender hingga menjadi serbuk.

3.7.4. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah dan Daun Sirih Hijau

Metode yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun sirih merah dan hijau yaitu maserasi. Sebanyak 500 gr masing-masing serbuk daun sirih merah dan daun sirih hijau dimasukkan ke dalam wadah maserasi lalu ditambahkan

etanol 96% sebanyak 3 liter. Masing-masing wadah maserasi yang sudah terendam ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau ditunggu selama 5 hari dalam keadaan terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, lalu dilakukan penyaringan menggunakan corong dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas. Ampas hasil penyaringan tersebut diuapkan *menggunakan rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C dan dipekatkan sampai diperoleh ekstrak kental yang kemudian digunakan untuk pengujian selanjutnya.

3.7.5. Pembuatan Larutan Uji Berbagai Konsentrasi

Pembuatan masing-masing larutan ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau dengan konsentrasi 5%, 25%, 50%, 75%, 100% dilakukan dengan cara dilarutkan dalam 1 mL aquadest, sesuai dengan konsentrasi masing-masing yaitu:

3.8. Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Satu ose suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dicampurkan ke dalam tabung yang berisi NaCL 0,9% steril yang bertujuan untuk pengenceran bakteri. Bakteri kemudian, dihomogenkan menggunakan vortex. Standarisasi tingkat kekeruhan adalah dengan konsentrasi 0.5 Mc Farland dengan tujuan agar bakteri memenuhi syarat uji kepekaan, lalu larutan bakteri dioleskan ke MHA. Cakram kosong direndam di dalam larutan ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau, lalu cakram kosong yang sudah direndam ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau diletakkan ke dalam MHA yang sudah dioleskan larutan bakteri. Kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C dalam waktu 24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona terang yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

3.9. Identifikasi variabel

3.9.1. Variabel Bebas

Ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau dengan konsentrasi 5%, 25%, 50%, 75%, 100%.

3.9.2. Variabel terikat

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.10. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi operasional	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
Ekstrak daun sirih dan daun sirih merah	Ekstrak dilarutkan dalam 1 ml aquadest dan dibuat beberapa konsentrasi	Timbangan dan pipet mikro	Konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dan merah 5%, 25%, 50%, 75%, 100%.	Rasio
Uji efektivitas	Melihat efektivitas pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> disekeliling cakram yang sudah diberikan perlakuan.	cakram	Diameter bakteri dalam cakram	Rasio

3.11. Analisis Data

Pada uji statistik daun sirih merah dan daun sirih hijau pertama sekali dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk dan didapati data terdistribusi normal dengan $p > 0,05$. Selanjutnya, dilakukan dengan analisa uji homogenitas untuk melihat apakah varian datanya homogen atau tidak, dan didapatkan data dalam penelitian ini homogen sehingga asumsi uji homogenitas terpenuhi dan dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Selanjutnya dilakukan analisa LSD untuk melihat perbedaan bermakna setiap perlakuan dari data penelitian ini.

Selanjutnya pada penelitian ini dilakukan uji analisa uji T untuk melihat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara ekstrak daun sirih merah dan ekstrak daun sirih hijau.