

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu dari sekian banyaknya penyakit di dunia yang paling sering terjadi terutama di negara-negara besar dan berkembang salah satunya yaitu Indonesia.<sup>1</sup> Penyakit infeksi itu sendiri disebabkan oleh mikroorganisme yang tumbuh dan berkembang biak seperti bakteri, virus dan juga parasit. Salah satu bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi di dunia adalah *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif berbentuk bulat, berkelompok secara acak tidak beraturan seperti buah anggur dan mempunyai koloni yang berwarna keemasan. Terdapat sejumlah penyakit yang bisa disebabkan dari bakteri *Staphylococcus aureus* diantaranya adalah pioderma, infeksi nosokomial serta gejala diare, muntah yang dikarenakan akibat dari keracunan makanan.<sup>2</sup>

Infeksi pioderma adalah salah satu infeksi yang sering terjadi pada anak-anak.<sup>3</sup> Impetigo, abses, paronikia adalah manifestasi klinis pioderma yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.<sup>4</sup> Pada tahun 2012 kasus pioderma di Indonesia terjadi peningkatan menjadi 50,1% dan pada tahun 2013 dan 2014 kasus pioderma menjadi 1.356 (61,3%) kasus.<sup>5</sup> Penyebab terjadinya infeksi pioderma itu sendiri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu *personal hygiene*, pendidikan yang kurang, lingkungan sekitar yang buruk serta faktor ekonomi.<sup>6</sup>

Infeksi yang terjadi di dalam tubuh kita dapat mengakibatkan kadar sel darah putih atau leukosit menjadi meningkat atau yang disebut leukositosis.<sup>7</sup> Sel darah putih atau leukosit adalah sel dalam tubuh yang mempunyai peran penting sebagai sistem pertahanan tubuh untuk melawan infeksi mikroorganisme.<sup>8</sup> Terdapat beberapa penyebab faktor yang menyebabkan leukosit menjadi tinggi yaitu infeksi, inflamasi dan reaksi

dari mengonsumsi beberapa obat yang diperuntukkan agar produksi sel meningkat.<sup>9</sup>

Antibiotik adalah golongan obat antimikroba yang berfungsi melawan bakteri penyebab infeksi.<sup>10</sup> Antibiotik akan menghasilkan hasil yang baik apabila digunakan dan resep antibiotik yang diberikan sesuai ketentuan atau aturan.<sup>11</sup> Namun masih banyak masyarakat salah dalam penggunaan obat salah satunya penggunaan yang berlebihan dari mengonsumsi antibiotik atau tanpa menggunakan resep dari dokter yang akan mengakibatkan seseorang tersebut menjadi resisten terhadap obat tersebut.<sup>12,13</sup> Terjadinya resistensi terhadap antibiotik yaitu pada saat bakteri tidak memberikan respon kepada obat yang digunakan untuk menghilangkan atau membunuhnya.<sup>14</sup>

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan pemicu infeksi *Staphylococcus aureus* yang sulit untuk diatasi yang disebabkan oleh resistensi beberapa antibiotik. Seseorang yang terinfeksi *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan 64% yang tampaknya akan meninggal dibandingkan dengan seseorang dengan infeksi sensitif obat.<sup>15</sup> *Cefadroxil* merupakan antibiotik dari golongan *cephalosporin* yang ampuh untuk bakteri gram positif *Streptococcus* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian yang dilakukan oleh Valzon, dkk pada tahun 2021 terhadap resistensi antibiotik *amoxicillin-clavulanate* dan *cefadroxil* dengan menggunakan kultur *Staphylococcus aureus* dari mukosa hidung anak dengan menilai diameter zona hambat menunjukkan bahwa 5 dari 6 sampel *amoxicillin-clavulanate* telah mengalami resistensi dan 6 sampel yang diuji untuk *cefadroxil* sensitif terhadap *Staphylococcus aureus*.<sup>16</sup> Akibat dari resisten antibiotik itu sendiri membuat biaya kesehatan semakin tinggi dan tanggungan keuangan menjadi beban pasien itu sendiri yang membuat banyak dari masyarakat mencari jalan lain dengan menggunakan obat-obat tradisional.<sup>17</sup>

Indonesia adalah salah satu negara di dunia yang memiliki iklim tropis yang sangat kaya akan berbagai macam tumbuhan dan tidak sedikit tumbuhan di Indonesia yang dijadikan sebagai salah satu pengobatan. Diperkirakan Indonesia mempunyai sekitar lebih dari 9.609 jenis tanaman yang dapat dijadikan obat-obatan.<sup>18</sup> Masyarakat Indonesia juga dikenal dengan penggunaan obat-obatan secara tradisional yang sudah dilakukan dari generasi ke generasi. Salah satu dari sekian banyaknya tumbuhan yang dapat dijadikan obat yaitu daun belimbing wuluh. Manfaat dari daun belimbing wuluh itu sendiri dapat digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan sariawan, jerawat, sakit gigi dan sebagainya. *Fenol, flavonoid, steroid* merupakan senyawa aktif yang memiliki zat antibakteri yang terdapat didalam daun belimbing wuluh. Penelitian yang dilakukan oleh Kurniawan,dkk pada tahun 2021 pemberian ekstrak daun belimbing wuluh dengan menggunakan dosis 200mg/kgBB/hari dan 400mg/kgBB/hari pada mencit jantan yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* terbukti memiliki efek sebagai antibiotik yang dapat menurunkan jumlah leukosit pada mencit tersebut.<sup>19</sup>

Berdasarkan latar belakang yang ada di atas, peneliti tertarik untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap jumlah leukosit pada tikus yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap jumlah leukosit pada tikus yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*?

## 1.3 Hipotesis

**Ho** : Adanya pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap jumlah leukosit tikus putih wistar.

**Ha** : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap jumlah leukosit tikus putih wistar.

## **1.4 Tujuan Penelitian**

### **2.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L*) terhadap jumlah leukosit pada tikus yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

### **2.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui apakah terdapat penurunan jumlah leukosit pada tikus putih wistar sesudah perlakuan pada kelompok perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh.
2. Untuk mengetahui apakah terdapat penurunan jumlah leukosit pada tikus putih wistar sesudah perlakuan pada kelompok perlakuan *cefadroxil*.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

### **2.3.1 Peneliti**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L*) dan *cefadroxil* terhadap jumlah leukosit pada tikus yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

### **2.3.2 Pendidikan**

Untuk menambah wawasan penelitian lain atau sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

### **2.3.3 Masyarakat**

Untuk memberikan informasi tentang tanaman dan kegunaannya yang ada disekitar kita yang dapat dijadikan sebagai obat.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Leukosit

Leukosit adalah satuan dari sel darah putih yang berguna sebagai pertahanan tubuh terhadap patogen yang menyebabkan infeksi suatu penyakit. Leukosit normal pada umumnya sekitar 4.000 sampai 10.000 per mikroliter darah.<sup>20</sup> Leukosit mempunyai 2 cara untuk pertahanan tubuh dalam melawan infeksi penyakit yaitu mengaktifkan respon imun pada tubuh dan juga fagositosis. Terdapat 2 jenis leukosit yaitu agranulosit dan granulosit. Pada agranulosit terdapat monosit dan limfosit sedangkan pada granulosit terdapat neutrofil, basofil, eosinofil.<sup>21</sup>

Jenis-jenis leukosit<sup>21,22</sup> :

1. Monosit memiliki ukuran yang lebih besar dari pada limfosit, mempunyai protoplasma yang besar, warnanya kebiruan dengan sedikit bercampur dengan warna abu dan juga memiliki seperti bintik-bintik bewarna kemerahan. Fungsi dari monosit ini sendiri yaitu sebagai fagosit. Monosit dibentuk disumsum tulang.
2. Limfosit memiliki nukleus yang bulat dan berwarna gelap. Limfosit juga memiliki sitoplasma yang berwarna biru seperti langit dan berbentuk lingkaran yang terdapat disekitar nukleus. Fungsi dari limfosit itu sendiri sebagai mematikan bakteri yang ada didalam tubuh. Limfosit juga dibedakan menjadi 2 adalah limfosit B dan juga limfosit T yang memiliki peran untuk respon imun adaptif.
3. Neutrofil adalah jenis sel yang paling banyak pada darah manusia. Neutrofil memiliki granula yang tidak berwarna dan memiliki inti sel yang tidak teratur. Neutrofil selalu berjaga-jaga untuk dapat melihat dan memastikan apakah terdapat tanda dari infeksi mikroba dan jika ditemukan maka sel ini segera mematikan patogen yang masuk.

4. Basofil memiliki sel yang lebih kecil dibandingkan dengan eosinofil dan basofil memiliki granula yang berwarna biru dan bentuknya juga lebih rapi atau teratur. Basofil memiliki fungsi yaitu melepaskan mediator terhadap inflamasi dan mengatur sel kekebalan terhadap alergi.
5. Eosinofil adalah bagian dari granulosit yang menduduki posisi ke 2 dengan jumlah yang sedikit dalam darah. Eosinofil memiliki ukuran granula yang besar dan berwarna merah. Dalam eosinofil terdapat sel T yang dapat mengeluarkan senyawa yang akan meningkatkan kinerja eosinofil dalam mematikan parasit.

## 2.2. Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

### 2.2.1 Taksonomi dan Morfologi Daun Belimbing Wuluh



**Gambar 2. 1 Daun Belimbing Wuluh<sup>23</sup>**

*Kingdom* : *Plantae*

*Subkingdom* : *Tracheobionta*

*Superdivisi* : *Spermatophyta*

*Divisi* : *Magnoliophyta*

*Class* : *Magnoliopsida*

*Subclass* : *Rosidae*

*Ordo* : *Geraniales*

*Family* : *Oxalidaceae*

*Genus* : *Averrhoa*

*Spesies* : *Averrhoa bilimbi L*<sup>24</sup>

*Averrhoa bilimbi L* atau biasa yang disebut dengan belimbing wuluh adalah pohon yang memiliki tinggi sekitar 5-10 meter yang memiliki batang yang terbagi menjadi beberapa cabang. Daun belimbing wuluh adalah daun yang tersusun seperti sirip pada sisi kiri kanan tulang daun atau biasa disebut daun majemuk menyirip yang memiliki panjang sekitar 30-60 cm, dengan jumlah anak daun 11-37 yang berbentuk lonjong dan ujung yang berbentuk runcing dengan bagian atas berwarna hijau sedangkan pada bagian bawah berwarna hijau keputihan.<sup>23</sup>

### **2.2.2 Manfaat Daun Belimbing Wuluh**

Daun belimbing wuluh memiliki manfaat sebagai obat herbal untuk membantu mengobati penyembuhan luka, sariawan, batuk rejan, tekanan darah tinggi dan gangguan pencernaan.<sup>25</sup>

### **2.2.3 Antioksidan Daun Belimbing Wuluh**

Daun belimbing wuluh mempunyai senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam menghambat radikal bebas yang ada didalam tubuh. Cara *flavonoid* dalam pencegahan radikal bebas yaitu dengan menghambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan meningkatkan regulasi dan proteksi dari antioksidan.<sup>26,27</sup>

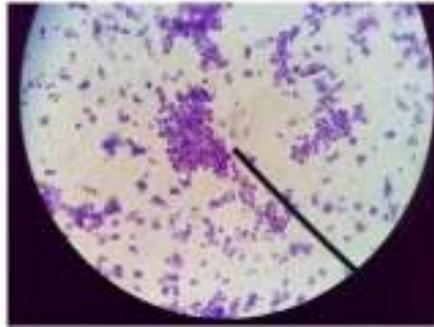
### **2.2.4 Mekanisme Daun Belimbing Wuluh Sebagai Antibakteri**

Daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri karena mengandung senyawa *flavonoid*, *fenol* dan *steroid*.<sup>19</sup> *Flavonoid* bekerja dengan cara menghancurkan membran sitoplasma yang membuat rusaknya metabolit yang mengaktifkan ezim bakteri.<sup>28</sup> *Fenol* dalam membunuh bakteri yaitu dengan cara mendenaturasi sel protein dimana akan membuat dinding sel yang sedang mengalami pembentukan akan terganggu. *Steroid*

berkerja sama dengan membran fosfolipid sel sehingga membuat integritas dari membran tersebut menurun dan mengalami kerusakan.<sup>19</sup>

### 2.3. *Staphylococcus aureus*

#### 2.3.1 Taksonomi dan Morfologi *Staphylococcus aureus*



**Gambar 2.** 2 *Staphylococcus aureus*<sup>29</sup>

*Domain* : *Bacteria*

*Phylum* : *Firmicutes*

*Class* : *Bacilli*

*Order* : *Lactobacillales*

*Family* : *Staphylococcaceae*

*Genus* : *Staphylococcus*

*Species* : *Staphylococcus aureus*<sup>30</sup>

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang dapat tumbuh secara anaerobik atau aerobik, memiliki bentuk bulat dan terlihat seperti sekumpulan buah anggur. *Staphylococcus aureus* berdiameter sekitar 0,7-1,2 mikrometer dan letaknya tidak teratur didalam koloni. Pada koloni media agar *Staphylococcus aureus* tampak berwarna kuning keemasan. *Staphylococcus aureus* bertumbuh pada suhu 35°C-40°C.<sup>31</sup>

### 2.3.2 Patogenesis Infeksi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri flora normal yang pada umumnya terdapat pada kulit, saluran pernafasan juga saluran pencernaan. *Staphylococcus aureus* menghasilkan koagulase yang mengkatalisis perubahan fibrinogen menjadi fibrin lalu membantu organisme ini untuk membentuk rangkaian perlindungan. *Staphylococcus aureus* juga mempunyai reseptor terhadap permukaan sel pejamu dan protein matriks seperti kolagen dan fibronektin yang membantu organisme ini untuk menempel. Bakteri ini menghasilkan enzim link ekstraselular yang membagi jaringan pejamu dan membantu invasi.<sup>32</sup>

### 2.3.3 Enzim dan Toksin

Beberapa ezim dan toksin yang berperan pada patogenesis *Staphylococcus aureus* yaitu<sup>33</sup> :

1. Toksin hemolitik *Staphylococcus aureus* yang memproduksi toksin alfa, beta, gamma dan delta yang memiliki peran melisiskan sel eritrosit.
2. Leukosidin yang memiliki peran penghancuran leukosit dan juga membuat nekrosis kulit.
3. Toksin Epidermolitik yang memiliki dua tipe toksin yaitu epidemolitik A yang dikendalikan kromosm dan epidemolitik B yang dikendalikan plasmid.
4. Enterotoksin yang menyebabkan keracunan makanan pada manusia.
5. *Toxic shock syndrome* merupakan toxin yang dapat merangsang sel imunokompeten, toksin ini yang menyebabkan gejala klinis seperti ruam dikulit dan demam.

### 2.3.4 Gambaran Klinis Infeksi *Staphylococcus aureus*

Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* seperti pioderma dapat membuat berbagai gambaran klinis seperti impetigo, selulitis, folikulitis. Folikulitis adalah infeksi kulit yang mempunyai ciri formasi, furunkel, pustul, dan karbunkel. Bula impetigo diakibatkan karena terdapat produksi toksin eksofoliatif sedangkan selulitis adalah masalah kulit berbentuk infiltrate difus di subkutan dengan tanda radang akut. Secara hematogen penularan *Staphylococcus aureus* dari lesi kulit dapat mengakibatkan bakterimia, endokarditis, meningitis, pneumonia dan dapat mengakibatkan infeksi ginjal dan infeksi pada jaringan dan organ yang lain.<sup>32</sup>

## 2.4. Luka

Luka adalah salah satu dari masalah kulit yang mengakibatkan rusaknya struktur jaringan tubuh yang bisa diakibatkan oleh gigitan hewan, terkena benda tajam, terkena zat kimia dan perubahan temperatur. Pada proses penyembuhan luka itu sendiri memiliki 4 fase penyembuhan yaitu<sup>34,35</sup> :

### 1. Fase Hemostatis

Fase ini dimana tubuh bereaksi untuk segera menghentikan darah yang keluar selama beberapa waktu setelah terjadinya luka.

### 2. Fase Inflamasi

Pada fase ini sistem imun melakukan pencegahan kolonisasi terhadap partikel asing atau agen mikroba dan pada fase ini perbaikan jaringan yang cedera dimulai. Fase ini terjadi berlangsung 0-3 hari.

### 3. Fase Proliferasi

Fase ini dimulai dari epitalisasi dan pembentukan jaringan granulasi yang baru pada sekitar luka dan terjadi vaskularisasi pada

daerah jaringan yang berfungsi untuk memperbaiki cedera yang ada. Fase ini berlangsung dari hari ke 3-20.

#### 4. Fase *Remodelling*

Pada fase ini terjadi proses penyeimbangan kolagen yang baru dan juga degradasi yaitu pembaruan jaringan yang rusak.

### 2.5. Tikus

Tikus adalah hewan yang paling banyak digunakan pada penelitian. Tikus galur wistar adalah jenis yang paling banyak digunakan karena mudah didapatkan, harganya yang terjangkau, mudah beradaptasi dengan lingkungan sekitar yang baru dan juga mempunyai struktur fisiologis yang mirip dengan manusia.<sup>36</sup> Umur tikus galur wistar adalah selama lebih 2 tahun dan panjang rata-rata tikus ini dari ujung hidung sampai ekor  $\pm$  390 mm dengan berat berkisar 150-500 g.<sup>37</sup>

### 2.6. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah prosedur pemisahan suatu zat terlarut dari suatu padatan atau cairan yang tidak dapat larut dengan menggunakan bantuan dari bahan pelarut yang mempunyai tujuan yaitu menarik zat-zat aktif yang ada pada sampel. Beberapa hal yang harus diperhatikan pada saat membuat ekstraksi yaitu pemilihan pelarut yang akan digunakan agar mendapatkan hasil yang murni, temperatur, pengadukan pada zat pelarut, tidak beracun, tidak mudah terbakar dan perlakuan pendahuluan dimana faktor ini mencakup tentang pengeringan bahan dan pengecilan bahan yang dapat dilakukan dengan cara memotong, menggiling atau menghancurkan bahan tersebut.<sup>38</sup>

## 2.7. Cefadroxil



**Gambar 2.3 Cefadroxil kapsul 500 mg**

*Cefadroxil* adalah antibiotik golongan *cephalosporin* yang efektif terhadap bakteri gram positif seperti *Streptococcus* dan *Staphylococcus aureus*. *Cefadroxil* digunakan untuk mengatasi infeksi kulit, infeksi saluran kemih dan juga infeksi saluran nafas. Efek samping dari penggunaan *cefadroxil* yaitu mual, muntah, rasa tidak nyaman pada saluran cerna, demam dan pusing.<sup>39</sup>

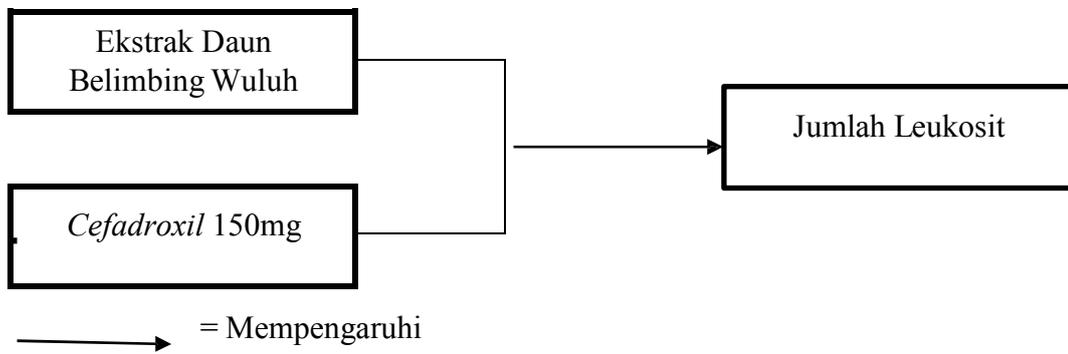
### 2.7.1 Farmakokinetik *Cefadroxil*

*Cefadroxil* yang dikonsumsi peroral akan diserap melalui saluran pencernaan. Konsentrasi plasma puncak didapatkan sekitar 70-90 menit. Sekitar 20% *cefadroxil* terikat bersama protein plasma dalam darah dan waktu paruh *cefadroxil* sekitar 1-2 jam. Metabolisme dari *cefadroxil* terjadi di hepar dan sekitar 90% *cefadroxil* disekresikan melalui urin.<sup>40</sup>

### 2.7.2 Farmakodinamik *Cefadroxil*

Gugus  $\beta$ -Lactam merupakan struktur molekul yang terdapat pada *cefadroxil* yang berperan sebagai bakteriasidal antibiotik tersebut. *Penicillin-binding protein* (PBP) merupakan gugus  $\beta$ -Lactam yang bekerja menghambat zat yang berperan mensintesis dinding sel bakteri. Proses pembentukan dinding sel akan terjadi reaksi transpeptidase dan inhibisi yang dilakukan oleh PBP akan merusak proses tersebut sehingga menyebabkan berkurangnya rantai pentaglisin yang terdapat diprotein dinding sel bakteri tersebut sehingga membuat struktur sel bakteri mengalami kelainan yang menyebabkan bakteri itu mati.<sup>41</sup>

## 2.8. Kerangka Konsep



**Bagan 2.1 Kerangka Konsep**

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

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

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *Post Test with Control Group Design*.

#### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dilakukan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Pengambilan sampel darah hewan coba dilakukan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

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

Waktu pelaksanaan penelitian ini pada bulan Mei 2022 sampai Desember 2022.

#### **3.3. Populasi Penelitian**

##### **3.3.1 Populasi Target**

Tikus putih wistar jantan (*Rattus novergicus*) yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

##### **3.3.2 Populasi Terjangkau**

Tikus putih wistar jantan (*Rattus novergicus*) yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

### 3.4. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

#### 3.4.1. Sampel

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

#### 3.4.2. Penentuan Jumlah Sampel Tikus

Penentuan besar sampel dilakukan dengan penggunaan rumus *Federer*<sup>42</sup>:

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

Keterangan:

t = jumlah perlakuan yang akan diberikan

n = jumlah sampel per kelompok yang hendak dicari

Penelitian menggunakan 3 kelompok, maka jumlah sampel yang diperoleh dari perhitungan sebagai berikut:

Rumus:

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

$$(3-1) (n-1) \geq 15$$

$$2 (n-1) \geq 15$$

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 15 + 2$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 17:2$$

$$n \geq 8,5 = 9$$

$$n \geq 9$$

Maka jumlah sampel tiap kelompok berjumlah 9 ekor tikus.

Berdasarkan perhitungan diatas, diperoleh bahwa masing-masing kelompok sampel menggunakan 9 ekor tikus putih wistar jantan (*Rattus*

*novergicus*). Jadi, jumlah sampel secara keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 27 ekor tikus putih wistar jantan (*Rattus novergicus*)

### **3.4.3. Cara Pemilihan Sampel**

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

## **3.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

### **3.5.1. Kriteria Inklusi**

1. Tikus putih wistar jantan (*Rattus novergicus*)
2. Tikus tampak sehat dan bergerak aktif
3. Usia tikus 2-3 bulan
4. Berat badan tikus putih wistar jantan 150-200 gram

### **3.5.2. Kriteria Eksklusi**

1. Tikus memiliki kelainan anatomis
2. Tikus tampak sakit dan gerakan tidak aktif

## **3.6. Instrumen Penelitian**

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian sebagai berikut:

### **A. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan, tampah, blender, timbangan digital, pengaduk, sonde lambung, ayakan, toples, masker, sarung tangan, kertas label, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *rotary evaporator*, spuit, tabung sampel darah, mikroskop, *hematology analyzer*, tabung minum tikus, tempat makan tikus, gunting, *scalpel*, pisau cukur.

## B. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut: tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus*), pakan dan minum, ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L), bakteri *Staphylococcus aureus*, aquabidest dan etanol 70%, *cefadroxil* kapsul 500 mg.

Perhitungan dosis menurut tabel Laurence dan Bacharach, konversi dosis manusia (70kg) ke tikus (200gr) adalah 0,018 dengan perhitungan berikut<sup>43</sup> :

Dosis *cefadroxil* manusia = 500 mg

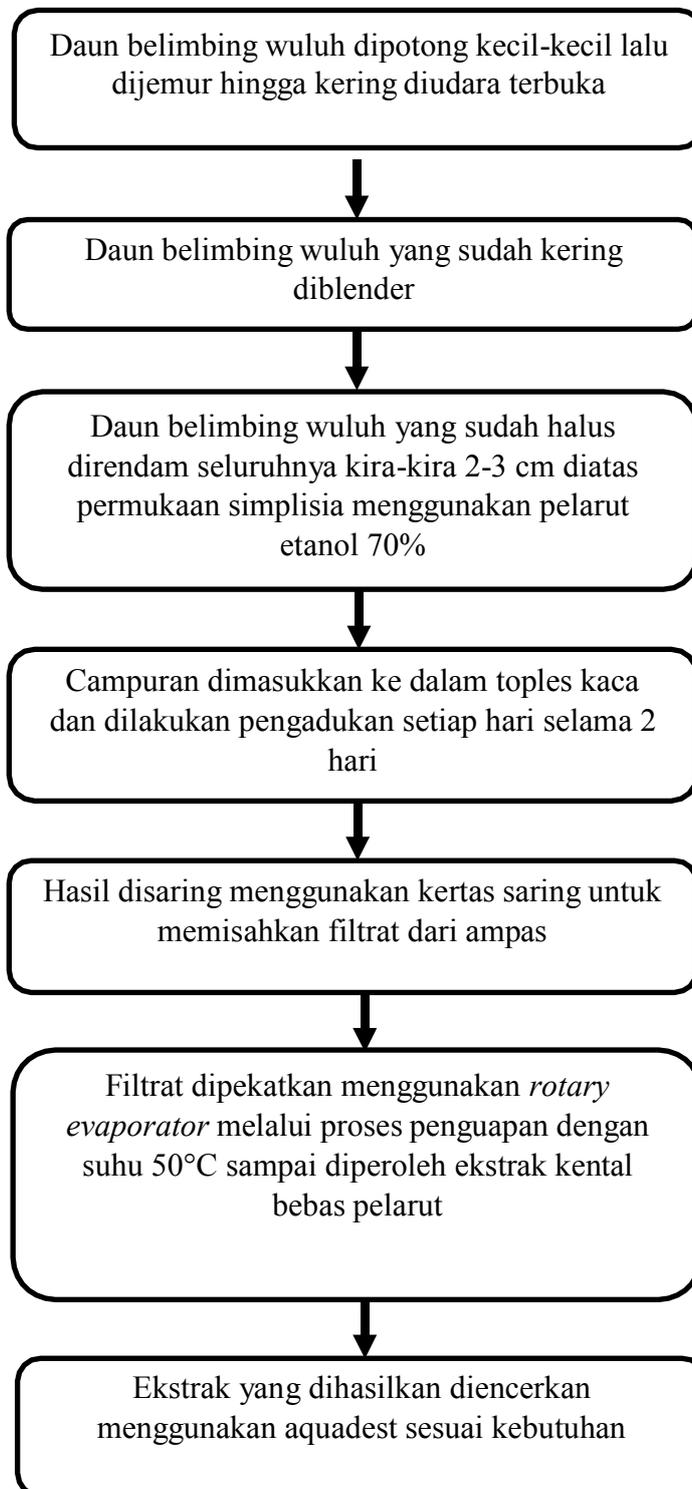
Dosis *cefadroxil* tikus = 0,018 x 500

= 9 mg

Maka dosis yang diberikan kepada tikus setelah dikonversi yaitu 9 mg.

### 3.7. Prosedur Kerja

#### 3.7.1. Diagram Ekstrak<sup>19,44</sup>



### 3.7.2. Prosedur Kerja Penelitian

Untuk gambaran secara jelas, perjalanan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Peneliti meminta izin dengan menggunakan *ethical clearance*.
2. Peneliti meminta izin permohonan pelaksanaan penelitian yang akan diajukan pada institusi pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen.
3. Persiapan hewan uji dan bakteri *Staphylococcus aureus*

Hewan uji diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari dan diberi pakan standar. Hewan uji yang dipakai sebanyak 27 ekor tikus dan tikus dikelompokkan menjadi 3 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor. Terdapat 2 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Setelah diadaptasi, tikus yang digunakan akan diinfeksi terlebih dahulu dan dibiarkan selama 9 hari agar mengalami infeksi, kemudian akan diberi perlakuan selama 7 hari dan bakteri yang digunakan pada penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923TM.

4. Cara pembuatan luka pada tikus

Proses pembuatan luka pada tikus sebagai berikut:

1. Bulu pada bagian punggung tikus dicukur dengan diameter  $\pm 3$  cm dan setelah dicukur dibersihkan menggunakan alkohol 70%.
  2. Tikus di anastesi menggunakan lidocaine.
  3. Melakukan penyayatan dengan panjang 2 cm dan kedalaman sampai dermis menggunakan *scalpel* steril.
  4. Membersihkan darah luka menggunakan NaCl 0,9%.
4. Pelaksanaan Percobaan
- a. Langkah I :
- Pada percobaan ini digunakan 27 ekor tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari

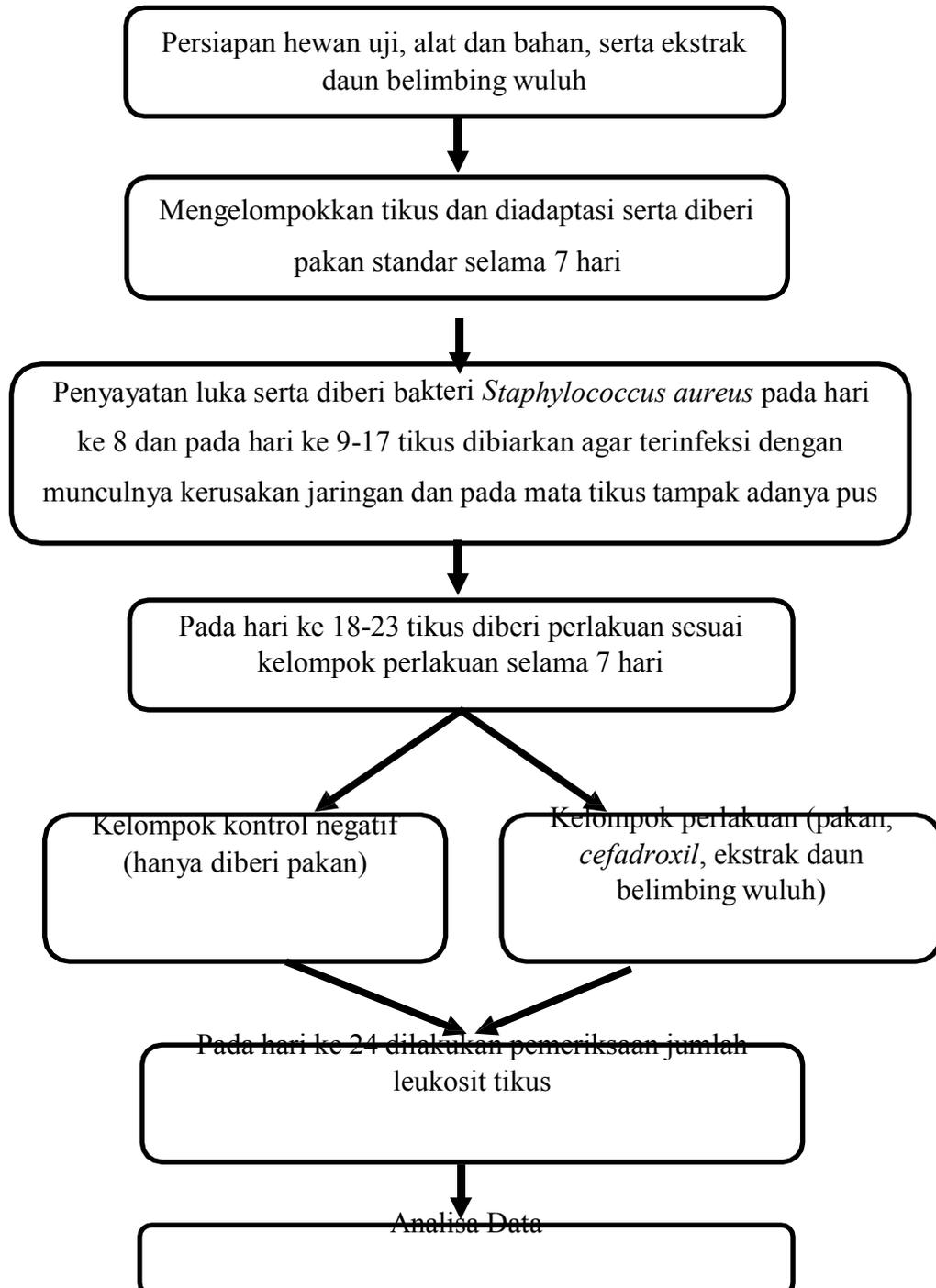
9 ekor. 2 kelompok tikus perlakuan dan 1 kelompok tikus kontrol.

- b. Langkah II :  
Tikus diadaptasi selama 7 hari sebelum dilakukan percobaan.
- c. Langkah III :  
Semua kelompok tikus diinfeksi dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dibiarkan selama 9 hari agar mengalami infeksi.
- d. Langkah IV :  
Setelah tikus terinfeksi, diberikan perlakuan secara cekok menggunakan sonde lambung dan spuit.  
Kelompok A : Merupakan kelompok kontrol negatif yang tidak diberi ekstrak daun belimbing wuluh dan *cefadroxil* 9 mg.  
Kelompok B : Merupakan kelompok yang diberi ekstrak daun belimbing wuluh dengan dosis 150mg/kgBB.  
Kelompok C : Merupakan kelompok yang diberi *cefadroxil* 9 mg.
- e. Langkah V :  
Selanjutnya setelah 7 hari darah diambil pada bagian jantung untuk pemeriksaan jumlah leukosit.

5. Pemeriksaan jumlah leukosit

Darah yang telah diambil dari jantung dimasukkan kedalam tabung sampel darah kemudian dibawa ke Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Sumatera Utara.

### 3.8. Diagram Alur Penelitian



### 3.9. Identifikasi Variabel

#### 3.9.1. Variabel Independen

Variabel independennya adalah ekstrak daun belimbing wuluh dan *cefadroxil*.

#### 3.9.2. Variabel Dependen

Variabel dependennya adalah jumlah leukosit tikus putih.

### 3.10. Definisi Operasional

**Tabel 3. 1 Definisi Operasional**

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak Daun Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa Bilimbi L</i> )	Suatu hasil ekstraksi yang dibuat dengan berbagai proses yaitu pengeringan, maserasi dan penguapan.	Alat Ukur Timbangan digital	150mg/kgBB	Skala Ukur Rasio
<i>Cefadroxil</i>	Antibiotik yang dapat menghambat bakteri pada orang yang terkena bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Timbangan digital	9mg/200grBB	Rasio
Leukosit	Jumlah leukosit pada tikus putih wistar.	<i>Hemato-logy analyzer</i>	Normal Leukosit tikus 2,000-10.000/ $\mu$ L <sup>45</sup>	Rasio

### 3.11. Analisa Data

Data hasil penelitian ini diolah dengan beberapa tahap secara komputerisasi. Data dianalisa dengan uji normalitas menggunakan *Uji Shapiro-Wilk* untuk mengetahui bagaimana sebaran distribusi data dan dilanjutkan uji homogenitas untuk mengetahui data memiliki varian yang homogen. Jika pada uji normalitas dan homogenitas didapatkan data homogen dan berdistribusi normal maka dapat dilanjutkan dengan *Uji one way ANOVA*.