KARYA TULIS ILMIAH

UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG PUKUL EMPAT (Mirabilis jalapa L) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Staphylococcus aureus



SAIDE PRAMITA SIJABAT P07539014058

POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN JURUSAN FARMASI 2017

KARYA TULIS ILMIAH

UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG PUKUL EMPAT (Mirabilis jalapa L) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Staphylococcus aureus

Sebagai Syarat Menyelesaikan Pendidikan Program Studi Diploma III



SAIDE PRAMITA SIJABAT P07539014058

POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN JURUSAN FARMASI 2017

LEMBAR PERSETUJUAN

JUDUL : Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul

Empat (Mirabilis jalapa L) terhadap Pertumbuhan Bakteri

Staphylococcus aureus

NAMA : Saide Pramita Sijabat

NIM : P07539014058

Telah Diterima dan Disetujui untuk Diseminarkan Dihadapan Penguji. Medan, Juli 2017

Menyetujui Pembimbing

Drs. Djamidin Manurung, Apt., M.M. NIP 195505121984021001

Ketua Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan

Dra. Masniah, M.Kes., Apt. NIP 196204281995032001

LEMBAR PENGESAHAAN

JUDUL : Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul

Empat (Mirabilis jalapa L) terhadap Pertumbuhan Bakteri

Staphyococcus aureus

NAMA : Saide Pramita Sijabat

NIM : P07539014058

Karya Tulis Ilmiah ini Diuji pada Sidang Ujian Akhir Program Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes

Penguji I Penguji II

Lavinur ST. M.Si. NIP 196302081984031002 Dra. Antetti Tampubolon M.Si.,Apt. NIP 196510031992032001

Ketua Penguji

Drs. Djamidin Manurung, Apt., M.M NIP 195505121984021001

Ketua Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan

Dra. Masniah, M.Kes., Apt. NIP 196204281995032001

SURAT PERNYATAAN

UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG PUKUL EMPAT (Mirabilis jalapa L) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI staphylococcus aureus

Dengan ini Saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk disuatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan Saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Medan, Juli 2017

SAIDE PRAMITA SIJABAT P07539014058

MEDAN HEALTH POLYTECHNIC OF MINISTRY OF HEALTH PHARMACY DEPARTMENT SCIENTIFIC PAPER, AUGUST 2017

Saide Pramita Sijabat

Test Of Antibacterial Effect Of Ethanol Extract of Mirabilis *Jalapa* L's Leaves to the Growth Of *Staphylococcus Aureus* Bacteria

Ix + 38 pages, 1 table, 1 graph, 10 pictures, 4 attachments

ABSTRACT

Leaves of Mirabilis *jalapa* L are known to have benefits as a medicine. One of the benefits is to treat infectious diseases, infection is mostly caused by bacteria. One such bacterium is Staphylococcus aureus bacteria. The purpose of this study was to determine whether ethanol extract of the Mirabilis *jalapa* L 's leaves can inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria and to determine the concentration of ethanol extract of Mirabilis *jalapa* L 's leaves can inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria.

The research method used in this research is an experimental method, with post-test only control group design. Ethanol extract of Mirabilis *jalapa* L's leaf was prepared by maceration which evaporated with Rotary Evaporator. Antibacterial activity test was done by diffusion method, that is by using bacteria planting medium, then at bottom of petri dish given five section mark as a place of paper disc. Three parts for disc-paper disks have been soaked with each of the ethanol extracts from leaves that have 20%, 30% and 40% concentration, one part for the disc paper containing tetracycline 0,03 mg / ml as a positive control and one for the paper Discs soaked with 70% alcohol as a negative control.

From the research of the extract of Mirabilis *jalapa* L's leaf showed that at concentration of 20% the average of obstacle zone 11,83 mm. At a concentration of 30% an average zone of resistance of 12.42 mm and at a concentration of 40% an average zone of resistance of 14.25 mm. While with tetracycline 0,03 mg / ml the average zone of resistance is 19.83 mm.

From the above data it can be concluded that the extract of ethanol leaves of Mirabilis *jalapa* L's leaves can inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria at a concentration of 40% with an average of 14.25 mm obstacle zone in accordance with Pharmacope Indonesia IV edition of the inhibit zone of 14 - 16 mm.

Keywords : Antibacterial, Mirabilis extract *jalapa* L, Staphylococcus aureus,

Tetracycline.

References : 18 (2010 - 2016)

POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN JURUSAN FARMASI KTI, Juli 2017

Saide Pramita Sijabat

Uji efek antibakteri ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Ix + 38 halaman, 1 tabel, 1 grafik , 10 gambar, 4 lampiran

ABSTRAK

Daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) dikenal memiliki manfaat sebagai obat. Salah satu manfaatnya yaitu mengobati penyakit akibat infeksi, infeksi sebagian besar disebabkan oleh bakteri. Salah satu bakteri tersebut adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun kembang pukul empat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa ekstrak etanol daun kembang pukul empat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental, dengan desain penelitian *postest only control group design*. Ekstrak etanol daun kembang pukul empat dibuat secara maserasi yang kemudian diuapkan dengan Rotary Evaporator. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi, yaitu dengan menggunakan media agar yang telah ditanami bakteri, kemudian dibagian bawah cawan petri diberi lima bagian tanda sebagai tempat peletakaan *paper disc*. Tiga bagian untuk paper disk yang telah direndam dengan masing-masing ekstrak etanol daun kembang pukul empat 20%, 30% dan 40%, satu bagian untuk *paper disc* yang mengandung tetrasiklin 0.,03 mg/ml sebagai kontrol positif dan satu bagian lagi untuk *paper disc* yang direndam dengan alkohol 70% sebagai kontrol negatif.

Dari hasil penelitian ekstrak etanol daun kembang pukul empat menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% rata-rata zona hambatan 11,83 mm. Pada konsentrasi 30% rata-rata zona hambatan 12,42 mm dan pada konsentrasi 40% rata-rata zona hambatan 14,25 mm. Sedangkan tetrasiklin 0,03 mg/ml rata-rata zona hambatannya 19,83 mm.

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kembang pukul empat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 40% dengan rata-rata zona hambatan 14,25 mm sesuai dengan Farmakope Indonesia edisi IV tentang zona hambat yaitu 14 – 16 mm.

Kata kunci : Antibakteri, Ekstrak Mirabilis jalapa L, Staphylococcus aureus,

Tetrasiklin.

Daftar bacaan : 18 (2010 – 2016)

KATA PENGANTAR

Puji Syukur Penulis ucapkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa atas berkat dan karunia-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul "Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul Empat (Mirabilis Jalap L) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus".

Karya Tulis Ilmiah ini dimaksudkan untuk memenuhi syarat menyelesaikan program pendidikan Diploma III Farmasi di Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan. Dalam menyelesaikan KTI ini, Penulis banyak mendapat bantuan, bimbingan dan arahan baik secara lisan maupun tulisan dari berbagi pihak.

Pada kesempatan ini Penulis juga menyampaikan terima kasih yang sebesar-besar nya kepada:

- 1. Ibu Dra. Ida Nurhayati, M.Kes Direktur Poltekkes Kemenkes Medan.
- 2. Ibu Dra. Masniah, M.Kes., Apt Ketua Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan.
- 3. Ibu Zulfa Ismaniar Fauzi, SE., M.Si Pembimbing akademik yang telah mambimbing Penulis selama mengikuti perkuliahan di jurusan Farmasi Politetknik Kesehatan Kemenkes Medan.
- 4. Bapak Drs. Djamidin Manurung, Apt., M.M. Pembimbing dan ketua penguji dalam penulisan KTI ini yang telah banyak memberikan masukan, bimbingan dan arahan serta telah banyak meluangkan waktunya selama penelitian dan penulisan KTI ini.
- Bapak Lavinur, ST., M.Si dan ibu Dra. Antetti Tampubolon, M.Si., Apt. Penguji proposal, Seminar Hasil dan UAP yang telah menguji serta memberikan saran dan masukan untuk kesempurnaan KTI ini.
- Seluruh Dosen dan Pegawai Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan yang telah banyak memberikan pengetahuan dan bimbingan selama masa perkuliahan.
- 7. Teristimewa kepada kedua orang tua Penulis Bapak M. Sijabat dan Ibu P. Silaban serta kakak dan adik tersayang (Tio Masna Ayu Sijabat Amd.farm dan Raja Dolan Sijabat) atas dukungan, motivasi dan doa untuk penulis selama perkuliahan dan penelitian.

8. Semua pihak yang mendukung yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dalam penyusunan KTI ini, Penulis menyadari bahwa KTI ini memiliki kekurangan, hal ini tidak lepas dari keterbatasan pengetahuan Penulis. Oleh karena itu, Penulis mengharapkan kriik dan saran yang bersipat membangun dari pembaca demi kesempurnaan KTI ini.

Medan, Juli 2017 Penulis

Saide Pramita Sijabat P07539014058

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRACT	i
ABSTRAK	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI v	
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR GRAFIK	ix
DAFTAR TABEL	x
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Uraian Tumbuhan	4
A.1 Nama Lain 4	
A.2 Sistematika Tumbuhan	4
A.3 Zat yang Dikandung	4
A.4 Kegunaan Kembang Pukul Empat	5
B. Ekstrak	5
B.1 Jenis-jenis Ekstrak	5
B.2 Cara Pembuatan Ekstrak	5
C. Bakteri	7
C.1 Bakteri Staphylococcus	7
C.2 Staphylococcus aureus	7
C.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri	8
C.4 Media Pertumbuhan Bakteri	10
D. Antibakteri	11
E. Tetrasiklin	12
F. Uji Antibakteri	13
G. Kerangka Konsep	14

H. Defenisi Operasional		15
I. Hipotesis		15
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		16
A. Jenis dan Desain Penelitian		16
B. Pengambilan Sampel		16
C. Waktu dan Lokasi Penelitian		16
D. Alat dan Bahan		16
D. 1 Alat		16
D. 2 Bahan		17
E. Perhitungan Cairan Penyari		17
F. Pembuatan Ekstrak Etanol Kembang Pu	kul Empat	18
G. Prosedur Kerja		19
G. 1 Pembuatan Media MSA		19
G. 2 Pembiakan Bakteri Staphylococcus	s aureus	20
G. 3 Pengecatan Gram Pada Bakteri St	aphylococcus aureus	20
G. 4 Pembuatan Media NA		20
G. 5 Pembuatan Larutan NaCl 0,9%		21
G. 6 Pembuatan Mc Farland		21
G. 7 Pengenceran Bakteri Staphylococo	cus aureus	21
G. 8 Pembuatan Media MHA		22
G. 9 Antibiotik Tetrasiklin		22
G.10 Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol I	Daun Kembang Pukul	
Empat terhadap Bakteri S	Staphylococcus aureus	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		24
A. Hasil		24
B. Pembahasan		25
BAB V SIMPULAN DAN SARAN		26
A. Simpulan		26
B. Saran		26
DAFTAR PUSTAKA		27

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar	1. Tanaman Kembang Pukul Empat	29
Gambar	2. Serbuk Daun Kembang Pukul Empat	29
Gambar	3. Rotary evaporator	30
Gambar	4. Ekstrak Kental	30
Gambar	5. Media MSA	31
Gambar	6. Media MHA	31
Gambar	7. Suspensi Mc. Farland	32
Gambar	8. Pengenceran Bakteri	32
Gambar	9. Pengenceran Tetrasiklin	33
Gambar	9. Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul En	npat 20%,
	30%dan 40 %	33
Gambar	10. Hasil Percobaan	34

DAFTAR LAMPIRAN

DAI IAN LAMI MAN		
	Halaman	
Lampiran 1 Surat Izin Penelitian	35	
Lampiran 2 Surat Izin ke MUI	36	
Lampiran 3 Hasil Identifikasi Tumbuhan	37	
Lampiran 4 Kartu Laporan Pertemuan Bimbingan KTI	38	

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Hasil pengamatan zona hambat ekstrak etanol daun Kembang pukul empat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* 24

DAFTAR TABEL

Hala	mar
Tabel 1. Hasil Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kembang	
Pukul Empat (Mirabilis jalapa L) terhadap Pertumbuhan	
Bakteri Staphylococcus aureus	24

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kesehatan merupakan harta yang paling berharga di dunia ini. Kesehatan adalah keadaan sehat, baik secara fisik, mental, spiritual maupun sosial yang memungkinkan setiap orang untuk hidup produktif secara sosial dan ekonomi. Dalam meningkatkan derajat kesehatan masyarakat, telah dilakukan berbagai upaya pembangunan di bidang kesehatan. Banyak tantangan dan kendala yang dihadapi dalam meningkatkan derajat kesehatan, salah satu kendala yang dihadapi adalah masih tingginya angka penyakit infeksi di masyarakat.

Infeksi adalah suatu keadaan dimana adanya suatu organisme pada jaringan tubuh yang disertai dengan gejala klinis. Masyarakat di Indonesia sering mengalami infeksi, hal ini terjadi karena keadaan udara yang berdebu, temperatur yang hangat dan lembab sehingga mikroba dapat tumbuh dengan baik. Infeksi dapat menyebabkan penderitaan fisik.

Sebagian besar infeksi disebabkan oleh bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme bersel tunggal yang mempunyai bentuk dan susunan sel sederhana. Bakteri umumnya bersifat patogen yaitu dapat menghasilkan toksin yang dapat menyebabkan penyakit bagi tubuh manusia.

Salah satu bakteri tersebut adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang menginfeksi manusia terutama pada membran mukosa daerah nasal, saluran pernafasan bagian atas dan saluran pencernaan. Bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada hidung, mulut, tenggorokan, pori-pori permukaan kulit dan saluran usus. Sifat khas infeksi *Staphylococcus aureus* yang bersifat patogen adalah penanahan lokal. Infeksi *Staphylococcus aurues* menyebabkan bisul, jerawat dan abses.

Pengobatan infeksi yang paling umum dilakukan adalah dengan penggunaan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol mendorong terjadinya resistensi terhadap antibakteri yang diberikan. Timbulnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik pada penyakit infeksi merupakan masalah penting, sehingga diperlukan usaha untuk mencegah resistensi tersebut.

Salah satu usaha yang dilakukan yaitu dengan mengembangkan obat tradisional (Butar-butar, 2016).

Berdasarkan undang-undang kesehatan, yang dimaksud dengan obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai norma yang berlaku di masyarakat.

Salah satu tanaman yang bermanfaat bagi kesehatan adalah tanaman kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa L*). Tanaman ini banyak ditanam mastarakat sebagai tanaman hias dipekarangan dan pembatas pagar rumah karena bunganya yang berwarna-warni. Tumbuhan ini dinamakan kembang pukul empat karena keunikannya yang hanya mekar pada pukul empat, baik pukul empat pagi maupun sore. Kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa L*) mengandung saponin, tanin, flavonoid dan polifenol. Tanaman ini bermanfaat sebagai obat bisul, radang amandel dan jerawat. Pada pengobatan bisul penggunaan daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) yaitu dengan cara melumatkan 10 - 12 lembar daun dan diberi sedikit garam kemudian ditempelkan pada bisul (Hidayat dan Rodame, 2015).

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik meneliti dengan judul penelitian "Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul Empat (Mirabilis Jalapa L) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus".

B. Rumusan Masalah

- 1. Apakah ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus?*
- 2. Berapakah konsentrasi ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) mempunyai daya hambat yang efektif pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

C. Tujuan

 Untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun kembang pukul empat (Mirabilis jalapa L) terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus. 2. Untuk mengetahui pada konsentrasi berapa ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) mempunyai daya hambat yang efektif terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

- Memberikan informasi bahwa daun kembang pukul empat (Mirabilis jalapa L) dapat digunakan sebagai antibakteri.
- 2. Menambah ilmu pengetahuan serta pengalaman Penulis dalam melakukan penelitian ilmiah.
- 3. Memberikan informasi mengenai daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) sebagai bahan rujukan atau referensi untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Tumbuhan

Tanaman kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) berbentuk semak dengan tinggi 50 - 80 cm. Batang tanaman tegak, bulat dan permukaannya licin. Daunnya tunggal, berbentuk jantung, panjang 5 - 8 cm dan lebar 5 - 10 cm, ujung meruncing, pangkal daun membulat, tepi daun rata. Bunga berbentuk terompet, letak di ujung batang. Biji kecil, keras, permukaan berkerut, berwarna hitam, bagian dalam putih dan lunak. Umbi berbentuk bulat memanjang dan kulit luarnya berwarna cokelat kehitaman (Hidayat dan Rodame, 2015).

A.1 Nama Lain

Sumatera : Kembang pukul empat, kembang pagi sore

Jawa : Kederat, segerat, tegerat
Maluku : Kupas oras, cako raha

Sulawesi : Bunga paranggi, bunga-bunga parengki, pukul ampa,

turaga, bodoko sina

China : Zi mo li

Inggris : Four o'clock

(Abdul latief, 2013)

A.2 Sistematika Tumbuhan

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Caryophyllales
Familia : Nyctaginaceae

Genus : Mirabilis

Spesies : Mirabilis jalapa L

A.3 Zat yang di Kandung

Akar pukul empat mengandung betaxanthins dan trigoneline. Biji pukul empat mengandung zat tepung, lemak, asam lemak, flavonoida, polifenol. Bunganya mengandung polifenol. Daunnya mengandung saponin, antrakuinon, galaktosa, flavonoid, trigenolin dan tanin.

A.4 Kegunaan Kembang Pukul Empat

Kembang pukul empat bermanfaat untuk berbagai penyakit. Akarnya digunakan untuk obat radang amandel. Daunnya digunakan untuk obat bisul, sedangkan bijinya digunakan untuk obat jerawat.

B. Ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia Edisi V, ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapakan.

B.1 Jenis-jenis Ekstrak

- a. Ekstrak cair (*Liquidum*)
- b. Ekstrak kental (Spissum)
- c. Ektrak kering (Siccum)

B.2 Cara Pembuatan Ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia Edisi III pembuatan ekstrak ada dua cara, yaitu maserasi dan perkolasi.

a. Maserasi

Pembuatan maserasi kecuali dinyatakan lain, lakukan sebagai berikut: Masukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok kedalam sebuah bejana, tuangi dengan 75 bagian cairan penyari, tutup, biarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya sambil sering diaduk, serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan kedalam bejana tertutup, biarkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari, enap tuangkan atau saring.

C. Bakteri

Nama bakteri berasal dari bahasa yunani "bacterion" yang berarti batang atau tongkat. Jadi bakteri adalah sekelompok mikroorganisme bersel satu, tubuhnya bersifat prokariotik, yaitu tubuhnya terdiri atas sel yang tidak mempunyai pembungkus inti. Bakteri berkembang biak dengan membelah diri, karena bakteri begitu kecil dengan diameter 0,5 - 1,0 mikron dan panjang 1,5 -

2,5 mikron maka hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop (Pelczar dan Chan, 2013).

Berdasarkan perbedaannya didalam menyerap zat warna, bakteri dibagi atas dua golongan yaitu:

a. Bakteri gram positif, adalah bakteri yang pada pengecatan gram tahan alkohol, sehingga tetap mengikat warna pertama dan tidak mengikat cat kontras sehingga bakteri akan tetap berwarna ungu (violet).

Contoh: Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Clostridium tetani, Clostridium perfringens, Streptococcus mutans.

b. Bakteri gram negatif, adalah bakteri yang pada pengecatan gram tahan tidak tahan alkohol, sehingga warna cat yang pertama dilunturkan. Bakteri akan mengikat warna kontras, sehingga tampak berwarna merah muda.

Contoh: Eschericia coli, Salmonella thypimorium, Shigella flexneri dan Pseudomonas aureuginosa (Lazwardy, 2012).

Berdasarkan bentuk morfologinya, maka bakteri dibagi menjadi tiga golongan besar yaitu golongan basil, golongann kokus dan golongan spiral (Dwijoseputro, 2010).

a. Bentuk kokus (*coccus*) adalah bakteri yang berbentuk bulat seperti bola dan mempunyai beberapa variasi sebagai berikut:

1. Mikrococcus : bentuk bulat dan tunggal

2. Diplococus : bulat bergandengan dua-dua

3. Tetracoccus : bulat bergandengan empat dan membentuk bujur

sangkar

4. Sarcina : bulat bergerombol berbentuk kubus

5. Staphylococcus: bulat tersusun seperti untaian buah anggur

6. Streptococcus : bulat bergandengan berbentuk rantai

Contoh: Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans dan Diplococcus pneumaticus

b. Bentuk basil (*bacillus*) adalah kelompok bakteri yang berbentuk batang atau silinder dan mempunyai variasi sebagai berikut:

1. *Diplobacillus* : bentuk batang bergandengan dua-dua

2. Streptobacillus : bentuk batang bergandengan berbentuk rantai

Contoh: Eschericia coli dan Bacilus antraxis

c. Bentuk spiral (*spirilum*) adalah bakteri yang berbentuk lengkung dan mempunyai variasi sebagai berikut:

1. Vibrio : bentuk koma, lengkung kurang dari setengah

lingkaran

2. Spirochete : bentuk lengkung membentuk struktur yang fleksibel.

Contoh: Vibrio cholera dan Triponema pallidium

C.1 Bakteri staphylococcus

Staphylococcus berasal dari kata "Staphyle" yang berarti kelompok buah anggur dan "coccus" yang berarti bulat. Bakteri Staphylococcus merupakan sel gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk klutser dan tersusun seperti anggur. Bakteri Staphylococcus tumbuh dengan cepat pada beberapa tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. Staphylococcus yang patogen sering menghemolisis darah, mengkoagulasikan plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstra seluler dan toksin.

Klasifikasi Staphylococcus berdasarkan warna koloni:

- a. Staphylococcus aureus, warna kuning keemasan
- b. Staphylococcus alba, warna putih
- c. Staphylococcus citreus, warna kuning

C.2 Staphylococcus aureus

Sistem klasifikasi staphylococcus aureus:

Kingdom : Bacteria

Divisi : Protophyta

Kelas : Bacili

Ordo : Bacillales

Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus

Spesies : Staphylococcus aureus (Ribka, 2015)

Staphylococcus dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. Staphylococcus relatif

resisten terhadap pengeringan, terhadap panas (bakteri ini tahan 50°C selama 30 menit) dan terhadap 9% natrium klorida (Jawetz, 2012)

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang mempunyai sel berbentuk bola dengan diameter 0,8 - 1,0 mikron, tidak berflagel atau spora. Batas suhu pertumbuhannya yaitu 15 - 40°C, sedangkan suhu pertumbuhan optimum ialah 37°C. Pertumbuhan terbaik adalah pada suasana aerob, bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 7,4.

Bakteri *Staphylococcus aureus* hidup sebagai saprofit di dalam saluran-saluran pengeluaran lendir di tubuh manusia seperti hidung, mulut dan tenggorkan. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori permukaan kulit dan saluran usus. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat berupa jerawat, bisul, abses dan luka.

C.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain:

a. Tingkat keasaman (pH)

Kebanyakan mikroba tumbuh baik pada pH netral, yaitu pH 4,6 – 7,0 yang merupakan kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri.

b. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba. Setiap mikroba mempunyai kisaran suhu optimum tertentu untuk pertumbuhannya. Berdasarkan kisaran suhu pertumbuhan, mikroba dibedakan atas tiga kelompok sebagai berikut:

- 1. Psikrofil, yaitu mikroba yang mempunyai kisaran suhu pertumbuhan pada suhu 0 20°C.
- 2. Mesofil, yaitu mikroba yang mempunyai kisaran suhu pertumbuhan pada suhu 20 45°C.
- 3. Termofil, yaitu mikroba yang suhu pertumbuhannya diatas 45°C. Kebanyakan mikroba perusak pangan merupakan mikroba mesofil, yaitu tumbuh baik pada suhu ruangan atau suhu kamar. Bakteri patogen umumnya mempunyai suhu optimum pertumbuhan sekitar 37°C, yang juga adalah suhu tubuh manusia. Oleh karena itu suhu tubuh manusia merupakan suhu yang baik untuk pertumbuhan beberapa bakteri patogen.

c. Nutrient

Mikroba sama dengan makhluk hidup lainnya, memerlukan nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, zat besi, kalsium, kalium dan magnesium. Ketiadaan atau kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Kondisi tidak bersih dan higenis pada lingkungan adalah kondisi yang menyediakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroba sehingga mikroba dapat tumbuh berkembang di lingkungan seperti ini.

d. Oksigen

Mikroba mempunyai kebutuhan oksigen yang berbeda-beda untuk pertumbuhannya. Berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, mikroba dibedakan atas 4 kelompok sebagai berikut:

- 1. Anaerob obligat, hidup tanpa oksigen, oksigen toksik terhadap golongan ini.
- 2. Anaerob aerotoleran, tidak mati dengan adanya oksigen.
- 3. Mikroaerofilik, hanya tumbuh baik dalam tekanan oksigen yang rendah.
- 4. Aerob obligat, tumbuh subur bila ada oksigen dalam jumlah besar.
- 5. Anaerob fakultatif, mampu tumbuh baik dalam suasana dengan tanpa oksigen (Indah, 2016).

e. Cahaya

Bakteri tidak berfotosintesa, karena itu keberadaan cahaya dapat berbahaya bagi kehidupan bakteri.

f. Tekanan osmotik

Kebanyakan dari bakteri kecuali yang hidup di air laut tumbuh dalam substrat (media) yang mengandung kadar garam yang encer, karena tekanan osmotik atau kadar garam yang tinggi mempengaruhi kehidupan bakteri. Bakteri halofil adalah bakteri yang dapat tumbuh dalam media yang mengandung kadar garam yang tinggi umumnya NaCl 3% dimana kondisi ini sudah menghambat kadar pertumbuhan bakteri lain.

g. Air (aktivitas air)

Sel-sel jasad renik memerlukan air. Aktivitas air dari satu substrat adalah perbandingan dari tekanan uap air yang ada pada substrat dengan tekanan uap air murni pada suhu yang sama.

h. Inhibitor

Inhibitor merupakan zat-zat yang dapat mempengaruhi/menghambat mikroba atau bakteri sehingga menyebabkan kematian pada mikroba tersebut. Inhibitor dibagi menjadi dua yaitu:

- a) Bakteriostatistika, yaitu zat yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri.
- b) Bakterisid, yaitu zat yang dapat membunuh atau mematikan bakteri.

C.4 Media Pertumbuhan Bakteri

Media adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi/zat makanan yang dipakai untuk tumbuh dan berkembang biak pada media tersebut. Selain itu media juga digunakan untuk uji fisiologis bakteri dan menghitung jumlah bakteri (Ma'ruf, 2015). Komposisi media disesuaikan dengan kebutuhan bakteri, karena beberapa senyawa akan menjadi penghambat atau racun bagi mikroba, jika kadarnya terlalu tinggi misalnya, garam dan gula.

Syarat-syarat media:

- a. Harus mengandung semua nutrient yang mudah digunakan oleh mikroba
- b. Mempunyai tekanan osmosa dan pH yang sesuai
- c. Tidak mengandung zat penghambat
- d. Harus steril

Berdasarkan konsistensinya, media dapat dibedakan menjadi:

- a. Media cair (liqiud medium), yaitu media berbentuk cair
- b. Media padat (*solid medium*), yaitu media berbentuk padat, dapat berupa media organik dan anorganik.
- c. Media padat yang dapat dicairkan (*semi solid medium*), yaitu media yang dalam keadaan panas (dipanasi) berbentuk cair tetapi dalam keadaan dingin berbentuk padat karena media mengandung agar-agar atau gelatin.

D. Antibakteri

Antibakteri adalah zat/bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Zat antibakteri dibedakan menjadi 2 kelompok berdasarkan efek yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri (Madigan *dkk*, 2012) yaitu:

a. Bakteriostatik

Bakteriostatik biasanya terjadi pada ribosom yang menyebabkan penghambatan sintetis protein.

b. Bakterisid

Zat yang bersifat bakterisid dapat membunuh bakteri, tetapi tidak menyebabkan lisis atau pecahnya sel bakteri.

Antibakteri dikatakan memiliki efek yang memuaskan jika diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri kurang lebih 14 - 16 mm dan memberikan suatu hubungan dosis yang reproduksibel.

- 1. Pembagian antibiotik berdasarkan mekanisme kerja
 - a. Menghambat sintesa dinding sel bakteri

Contoh: kelompok Penisilin dan Sefalosforin

b. Menggangu metabolisme membran sel bakteri

Contoh: Polipeptida, Nistatin dan Imidazol

c. Menghambat sintesa protein sel bakteri

Contoh: Kloramfenikol, Tetrasiklin dan Makrolida

d. Menghambat sintesa asam-asam inti (DNA dan RNA) sel bakteri

Contoh: Rifampisin dan Fluoroquinolon

- 2. Penggolongan antibiotik berdasarkan senyawa kimia
 - a. Golongan Tetrasiklin

Contoh: Tetrasiklin, Klortetrasiklin, Oksitetrasiklin, Doksisiklin dan Minoksisiklin

b. Golongan Aminoglikosida

Contoh: Streptomisin, Gentamisin, Neomisin, Amikasin dan Tobramisin

c. Golongan Makrolida

Contoh: Klaritromisin, Eritromisin, Azitromisin dan Ketolida

d. Golangan Fluoroquinolon

Contoh: Ciprofloksasin, Ofloksasin, Levofloksasin dan Norfloksasin

e. Golongan Penisilin

Contoh: Amoksisilin, Ampisilin

f. Golongan Kloramfenikol

Contoh: Kloramfenikol dan Tiamfenikol

g. Golongan Sefalosforin

Contoh: Sefadroksil, Sefotaksim, Sefazolin dan Seftriaxon (Katzung, 2010)

3. Berdasarkan spektrum kerjanya antibiotik dibagi jadi 3 kelompok

a. Spektrum sempit

Aktif terhadap beberapa jenis bakteri saja, misalnya hanya pada bakteri gram negatif ataupun gram positif saja. Contohnya benzil penisilin dan streptomisin.

b. Spektrum yang diperluas

Antibiotik yang efektif melawan bakteri gram positif dan beberapa bakteri gram negatif. Contohnya ampisilin.

c. Spektrum luas

Antibiotik yang aktif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Contohnya kloramfenikol, tetrasiklin dan sefalosforin.

(Radji, 2015)

E. Tetrasiklin

Rumus Kimia : $C_{22}H_{24}N_2O_8$

Pemerian : Serbuk hablur, kuning, tidak berbau atau sedikit berbau lemah Kelarutan : Sangat sukar larut dalam air, larut dalam 50 bagian etanol (95%)

P; praktis tidak larut dalam kloroform P dan eter P; larut dalam

alkali disertai peruraian.

1. Sifat Kimiawi Tetrasiklin.

Tetrasiklin merupakan basa yang sangat sukar larut dalam air, tetapi bentuk garam HCl nya mudah larut dalam keadaan kering, bentuk garam HCl tetrasiklin bersifat relatif stabil. Golongan tetrasiklin adalah suatu senyawa yang bersifat amfoter sehingga dapat membentuk garam baik dengan asam maupun basa. Tetrasiklin digunakan untuk mengatasi berbagai infeksi yang disebabkan oleh kuman gram positif maupun gram negatif.

2. Mekanisme Kerja Tetrasiklin

Tetrasiklin bersifat bakteriostatik dengan jalan menghambat sintesis protein. Hal ini dilakukan dengan cara mengikat unit ribosoma sel kuman 30 S sehingga t-RNA tidak menempel pada ribosom yang mengakibatkan tidak terbentuknya amino RNA. Antibiotik ini dilaporkan juga berperan dalam mengikat ion Fe dan Mg.

F. Uji Antibakteri

Kegunaan uji antibakteri adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efesien. Ada beberapa macam metode uji antibakteri yaitu:

1. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan mikrodilution plate. Keuntungan uji mikrodilution cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz, 2012).

2. Metode Difusi

Metode ini dilakukan dengan cara meletakkan sampel obat yang akan diuji diatas permukaan media agar yang telah ditambahkan dengan suspensi bakteri. Kemudiaan diinkubasi selama 48 jam untuk membiarkan obat berdifusi ke media pembenihan. Jika obat memang mempunyai daya antibakteri maka akan terlihat adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Kemampuan antibakteri diukur dengan cara mengukur garis tengah atau diameter daerah hambatan jernih yang mengelilingi bahan uji dianggap sebagai kekuatan hambatan uji terhadap bakteri yang diperiksa.

Metode difusi agar dapat dilakukan dengan cara:

a. Metode Cakram Kertas

Metode dengan medium agar di dalam cawan petri diinokulasikan dengan bakteri uji. Cakram kertas yang telah ditambahkan zat uji diletakkan diatas permukaan agar, kemudian diinkubasi dalam waktu tertentu sehingga zat uji akan berdifusi kedalam agar. Aktivitas antibakteri yang dimiliki zat uji akan terlihat zona jernih di sekeliling kertas cakram.

b. Metode Sumuran

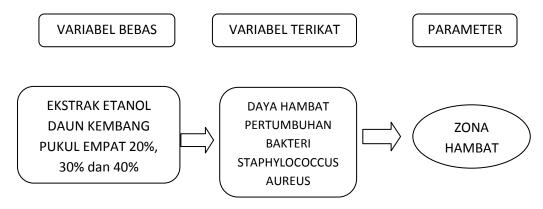
Metode ini dilakukan dengan membuat lubang di media agar padat yang telah diinokulasikan bakteri uji. Banyak lubang dan letaknya disesuaikan dengan tujuan penelitian, setelah itu zat uji diinjeksikan kedalam lubang. Diinkubasi dalam waktu tertentu, aktivitas antibakteri akan memperlihatkan daerah hambat bening sekeliling lubang.

c. Metode Silinder

Metode silinder dilakukan dengan meletakkan gelas silinder diatas permukaan agar padat yang telah diinokulasikan bakteri uji, kemudian zat uji dimasukkan kedalam silinder dan diinkubasi. Hasil aktivitas antibakteri dari zat uji akan membentuk daerah hambat disekeliling silinder.

Penggunaan lempeng tunggal untuk antibiotik disertai standarisasi kondisi tes secara cermat memungkinkan pelaporan bahwa suatu mikroorganisme resisten atau sensitif dengan membandingkan ukuran zona inhibisi terhadap suatu standar untuk obat yyang sama. Penghambatan disekeliling lempeng yang mengandung obat antimikroba dalam jumlah tertentu tidak menandakan sensivitas mikroba terhadap obat dalam konsentrasi yang sama per mililiter medium, darah atau urin (Jawetz et al, 2014).

G. Kerangka konsep



H. Defenisi Operasional

- a. Ekstrak etanol daun kembang pukul empat adalah ekstrak kental daun kembang pukul empat yang disari dengan etanol 70% dan dibuat dengan masing-masing konsentrasi.
- b. Etanol 70% adalah etanol yang digunakan untuk kontrol negatif
- c. Media MHA adalah media untuk menguji efek antibakteri *Staphylococcus* aureus
- d. Zona hambat adalah daerah jernih yang tidak ditumbuhi oleh bakteri.
- e. Tetrasiklin adalah antibakteri yang digunakan untuk kontrol positif.

I. Hipotesis

Ekstrak etanol daun kembang pukul empat memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan desain *postest only control group design* (Notoadmojo, 2012).

B. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel tanpa mempertimbangkan tempat dan letak geografisnya.

Daun kembang pukul empat segar ditimbang 2000 g, setelah kering diperoleh 274 g, kemudian ditimbang 200 g dalam bentuk serbuk. Sampel pada penelitian ini adalah daun kembang pukul empat yang tumbuh dikawasan Medan Tuntungan.

C. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 1 bulan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan.

D. Alat dan Bahan

D.1 Alat

- 1. Autoklave
- 2. Beaker glass
- 3. Batang pengaduk
- 4. Benang wol
- 5. Cawan petri
- 6. Deck glass
- 7. Erlenmeyer
- 8. Gelas ukur
- 9. Hot plate
- 10. Inkubator
- 11. Jangka sorong
- 12. Kapas
- 13. Kawat ose
- 14. Kertas perkamen

- 15. Kertas saring
- 16. Labu tentukur
- 17. Lampu bunsen
- 18. Mikroskop
- 19. Objek glaas
- 20. Oven
- 21. Paper disk
- 22. Pinset
- 23. Pipet tetes
- 24. Pipet volum
- 25. Pisau
- 26. Rak tabung reaksi
- 27. Rotary evaporator
- 28. Tabung reaksi
- 29. Timbangan
- 30. Vial

D.2 Bahan

- 1. Alkohol 70%
- 2. Aquadest
- 3. Bakteri Staphylococcus aureus
- 4. Daun kembang pukul empat
- 5. Fuchsin
- 6. Kristal violet
- 7. NaCl
- 8. Lugol
- 9. Manitol salt agar (MSA)
- 10. Minyak imersi
- 11. Mueller Hinton Agar (MHA)
- 12. Nutrient Agar (NA)

E. Perhitungan Cairan Penyari Maserasi

Daun kembang pukul empat segar sebanyak 2000 gram dikeringkan, setelah kering diperoleh 274 g, kemudian ditimbang 200 gram (10 bagian) dalam bentuk serbuk lalu direndam dalam penyari etanol 70%.

Menurut Farmakope Indonesia edisi IV, Bj alkohol 70% = 0,884 g/ml.

Volume etanol 70% yang dibutuhkan dalam 2000 g:

$$V = \frac{B}{BJ} = \frac{2000 g}{0,884 g/ml} = 2.262,4434 \text{ ml} = 2.262,5 \text{ ml}$$

Volume etanol yang digunkan untuk 75 bagian:

$$\frac{75}{100}$$
 x 2.262,4434 ml = 1.696,8325 ml = 1.697 ml

Volume etanol yang digunakan untuk 25 bagian:

$$\frac{25}{100}$$
 x 2.262,4434 ml = 565,6108 ml= 566 ml

F. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul Empat

Ekstrak etanol daun kembang pukul empat dalam penelitian ini dibuat secara maserasi.

Pembuatan:

- 1. Timbang 200 g serbuk daun kembang pukul empat, masukkan ke dalam beaker glass dan dituangi dengan 1.697 ml etanol 70%.
- Tutup beaker glass dan biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk.
- 3. Setelah 5 hari campuran tersebut diserkai dan bilas ampasnya sampai diperoleh 2.263 ml.
- 4. Kemudian maserat dibiarkan selama 2 hari, lalu enap tuangkan.
- Pindahkan kedalam wadah.
- Maserat kemudian diuapkan dengan alat penguap yaitu Rotary evaporator hingga diperoleh Ekstrak kental.
- 7. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu: 20%, 30% dan 40%.
 - a. Konsentrasi 20%

$$\frac{20 g}{100 ml}$$
 = 0,2 g/ml

Untuk membuat 10 ml

$$\frac{10 \, ml}{1 \, ml} \times 0.2 \, g = 2 \, g$$

Ditimbang sebanyak 2 g Ekstrak kental daun kembang pukul empat kemudian dicukupkan dengan etanol 70% hingga 10 ml.

b. Konsentrasi 30%

$$\frac{30 g}{100 ml}$$
 = 0,3 g/ml

Untuk membuat 10 ml

$$\frac{10 \, ml}{1 \, ml} \times 0.3 \, g = 3 \, g$$

Ditimbang sebanyak 3 g Ekstrak kental daun kembang pukul empat kemudian dicukupkan dengan etanol 70% hingga 10 ml.

c. Konsentrasi 40%

$$\frac{40 g}{100 ml}$$
 = 0,4 g/ml

Untuk membuat 10 ml

$$\frac{10 \, ml}{1 \, ml} \times 0.4 \, g = 4 \, g$$

Ditimbang sebanyak 4 g Ekstrak kental daun kembang pukul empat kemudian dicukupkan dengan etanol 70% hingga 10 ml.

G. Prosedur kerja

G.1 Pembuatan Media Manitol Salt Agar (MSA)

Komposisi:

Lap-lemco powder	1,0 g
Peptone	10,0 g
Manitol	10,0 g
Sodium chloride	75,0 g
Phenol red	0,025 g
Agar	15,0 g

Jumlah media agar yang harus dicampurkan dalam 1 liter pada etiket adalah 111 g/liter. Banyaknya MSA yang di perlukan untuk 50 ml adalah:

$$\frac{50 \, ml}{100 \, ml}$$
 x 111 g = 5,55 g

Pembuatan:

- 1. Timbang MSA sebanyak 5,55 g.
- 2. Masukkan ke dalam erlenmeyer, campurkan dengan aquadest sampai batas yang di tentukan.
- 3. Panaskan sampai mendidih sambil diaduk-aduk
- 4. Angkat dan tutup erlenmeyer dengan kapas, lapisi dengan kertas perkamen, kemudian ikat dengan benang.
- 5. Sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 6. Buka kertas perkamen yang di ikat pada Erlenmeyer, kemudian tuang kedalam cawan petri secara aseptis.

G.2 Pembiakan Bakteri Staphylococcus aureus

- Ambil satu ose dari suspensi bakteri Staphylococcus aureus dengan mengunakan kawat ose steril. Kemudian tanam ke dalam media Manitol Salt Agar (MSA) dengan cara menggoreskan secara zig-zag, lalu tutup media, inkubasi pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam.
- Ambil koloni yang spesifik pada media Manitol Salt Agar (MSA) dan lakukan pengecatan gram untuk melihat apakah biakannya merupakan bakteri Staphylococcus aureus.
- 3. Ambil koloni yang spesifik dari media Manitol Salt Agar (MSA), lalu tanamkan pada media Nutrient Agar (NA) miring dengan cara menggoreskan secara zig-zag, inkubasi pada 37°C selama 18 24 jam.

G.3 Pengecatan Gram pada Bakteri Staphylococcus aureus

- Ambil biakan yang spesifik berumur 18 24 jam yang berasal dari media MSA, letakkan pada objek glass yang telah diberi cairan (aqua steril) terlebih dahulu dan lakukan fiksasi.
- 2. Tambahkan kristal violet, diamkan 1 menit kemudian bilas dengan aquadest.
- 3. Tambahkan larutan lugol, biarkan 2 menit kemudian cuci dengan alkohol 96%, diamkan 30 detik bilas dengan aquadest.
- 4. Tambahakan larutan fuchsin, diamkan kira-kira 45 detik, bilas dengan aquadest, tiriskan kaca objek, serap air dengan kertas penyerap.
- 5. Amati hasil dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 X 40 dan pembesaran 10 X 100 (menggunakan minyak imersi).
- 6. Jika bakteri tersebut *Staphylococcus aureus*, maka hasil yang diperoleh adalah bakteri berwarna ungu seperti bola anggur.

G.4 Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)

Komposisi:

Peptone from meat 5,0 g
Meat ekstrak 3,0 g
Agar-agar 12,0 g

Jumlah media yang harus dicampurkan dalam 1 liter air pada etiket 20 g/liter. NA yang di butuhkan untuk 20 ml: $\frac{20 \, ml}{1000 \, ml}$ x 20 g = 0,4 g

Pembuatan:

1. Timbang NA sebanyak 0,4 g

- Masukkan kedalam erlenmeyer, campurkan dengan aquadest sampai batas yang ditentukan
- 3. Panaskan sampai mendidih.
- 4. Angkat lalu bagi dalam beberapa tabung (sesuai kebutuhan), tutup dengan kapas lapisi dengan kertas perkamen kemudian ikat dengan benang.
- 5. Sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 6. Setelah steril angkat dari autoclaf dengan perlahan-lahan dan hati-hati.
- 7. Dinginkan, buka kertas perkamen yang di ikat pada tabung kemudian miringkan tabung yang berisi NA untuk memperoleh agar miring.

G.5 Pembuatan Larutan NaCl 0,9%

Larutan ini digunakan untuk mensuspensikan bakteri dan pengenceran bakteri.

Komposisi:

Natrium Clorida 0,9 g Air suling ad 100 ml

Pembuatan:

Natrium clorida ditimbang sebanyak 0,9 g lalu di larutkan dengan air suling hingga 100 ml dalam labu tentukur, kemudian sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit .

G.6 Pembuatan Susupensi Mc. Farland

Komposisi:

Larutan asam sulfat 1% 99,5 ml Larutan barium klorida 1,715% 0,5 ml

Pembuatan:

Kedua larutan di campur dalam tabung reaksi, lalu homogenkan, apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan ketentuan suspensi standart Mc. Farland, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah 10⁸ koloni/ml (J. Vandepitte et al, 2011).

G.7 Pengenceran Bakteri Staphylococcus aureus

 Ambil satu sampai dua sengkelit koloni bakteri Staphylococcus aureus yang berumur 18 - 24 jam dari biakan yang berasal dari media NA. Suspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml larutan NaCl 0,9%, kemudian

- tambahkan NaCl 0,9% sedikit demi sedikit sampai didapat kekeruhan sama dengan Mc Farland.
- Lakukan pengenceran dengan memipet 1,0 ml biakan bakteri 10⁸ koloni per ml. Masukkan ke dalam tabung reaksi steril dan tambahkan larutan NaCl 0,9%, sampai 10 ml, homogenkan, maka diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi 10⁷ koloni/ml.
- Lakukan pengenceran dengan memipet 1,0 ml biakan bakteri 10⁷ koloni per ml. Masukkan ke dalam tabung reaksi steril dan tambahkan larutan NaCl 0,9%, sampai 10 ml, homogenkan, maka diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi 10⁶ koloni/ml.

G.8 Pembuatan Media Mueller Hilton Agar (MHA)

Komposisi:

Infusion from meat 2.0 g
Casen hydrolysate 17,5 g
Starch 1,5 g
Agar-agar 13,0 g

Jumlah media yang harus di campurkan dalam 1 liter air pada etiket 34 g/liter. Banyaknya MHA yang di perlukan untuk 100 ml adalah:

$$\frac{100 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 34 \text{ g} = 3.4 \text{ g}$$

Pembuatan:

- 1. Timbang MHA 3,4 g.
- Masukkan ke dalam Erlemeyer, campurkan dengan aquadest sampai batas yang di tentukan
- 3. Panaskan sampai mendidih sambil diaduk
- 4. Angkat dan tutup erlemeyer dengan kapas, lapisi dengan kertas perkamen, kemudian ikat dengan benang.
- 5. Sterilkan pada autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 6. Setelah steril, angkat dari autoklaf dengan perlahan-lahan.

G.9 Antibiotik Tetrasiklin

Antibiotik pembanding yang digunakan adalah paper disk yang telah berisi Tetrasiklin dengan kadar 0,03 mg.

Pembuatan:

- 1. Timbang tetrasiklin sebanyak 50 mg. Larutkan dengan HCl ad kan dengan aquadest 100 ml dalam labu tentukur (larutan induk). Konsentrasi tetrasiklin adalah $\frac{50 \, mg}{100 \, ml}$ = 0,5 mg/ml
- 2. Untuk membuat konsentrasi 0,03 mg/ml

$$\frac{0.03 \, mg/ml}{0.5 \, mg/ml} \times 100 \, \text{ml} = 6 \, \text{ml}$$

Ambil 6 ml larutan induk, encerkan dengan aquadest ad 100 ml.

G.10 Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul Empat terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.

- 1. Sterilkan semua alat yang digunakan.
- 2. Pipet 0,1 ml suspensi bakteri dengan konsentrasi 10⁶ kedalam 100 ml media MHA lalu kocok sampai homogen, kemudian tuang ke dalam cawan petri steril dan biarkan memadat.
- Buatlah 5 tanda pada bagian bawah cawan petri sebagai tempat peletakan paper disk.
- Rendam paper disk kedalam ekstrak daun kembang pukul empat yang dibuat dalam berbagai konsentrasi dan etanol 70% (kontrol negatif) selama 2 menit.
- 5. Angkat perlahan dengan menggunakan pinset, letakkan paper disk ke dalam cawan petri yang sudah berisi MHA dan suspensi bakteri secara aseptis sesuai dengan tanda yang telah dibuat terlebih dahulu .
- 6. Inkubasi selama 18 24 jam pada suhu 37°C
- 7. Baca hasilnya dengan mengukur zona hambatan berupa daerah yang tampak jernih yang tidak ditumbuhan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.
- 8. Catat hasil data dalam hitungan mm
- 9. Percobaan dilakukan triplo yaitu 3 kali untuk masing-masing konsentrasi ekstrak daun kembang pukul empat, alkohol 70% (kontrol negatif) dan tetrasiklin (kontrol positif).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

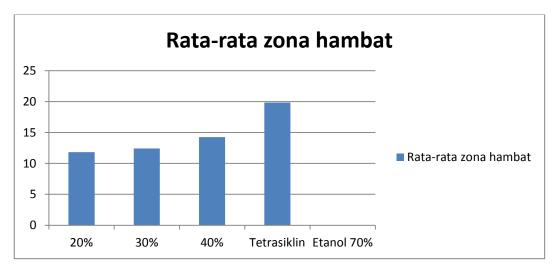
Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan diperoleh hasil perbandingan efek antibakteri ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirablis jalapa* L) yang dibuat dengan konsentrasi 20%, 30% dan 40% dengan tetrasiklin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maka, diperoleh hasil seperti yang terlihat pada tabel berikut ini:

Konsentrasi	Zona Hambatan Antibakteri (mm)			Rata-rata Zona - Hambatan (mm)
- -	Petri I	Petri II	Petri III	- Hambatan (mm)
EEDKPE 20%	12,25	11,75	11,50	11,83
EEDKPE 30%	12,25	12,75	12,25	12,42
EEDKPE 40%	14,25	13,75	14,75	14,25
Tetrasiklin	19,75	19,75	20	19,83
Alkohol 70%	0	0	0	0

Tabel 4.1 Hasil pengamatan zona hambat ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan:

EEDKPE= Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul Empat



Grafik 1. Hasil pengamatan zona hambat ekstrak etanol daun kembang pukul empat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antibakteri yang terdapat pada ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi dengan cara mengukur diameter hambatan disekitar *paper disc.* Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV halaman 896 tentang penetapan daerah hambatan yang memuaskan yaitu dengan diameter kurang lebih 14 – 16 mm.

Ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) dalam pegujian ini dilakukan pada konsentrasi 20%, 30% dan 40%. Pada konsentrasi 20% rata-rata zona hambatan 11,83 mm, konsentrasi 30% rata-rata zona hambatan 12,42 mm, kedua konsentrasi ini belum memiliki efek antibakteri karena zona hambat yang dimiliki lebih kecil dari 14 mm. Pada konsentrasi 40% rata-rata zona hambatan 14,25 mm, konsentrasi ini sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Percobaan ini juga menggunakan tetrasiklin sebaga kontrol positif. Kontrol positif digunakan untuk melihat perbandingan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) dengan antibiotik tetrasiklin. Adapun rata-rata zona hambat dari tetrasiklin 0,03 mg/ml sebesar 19,83 mm. Menurut buku analisa hayati zona hambat untuk antibiotik terasiklin lebih kecil dari 14 mm dikatakan resisten, 15 – 18 mm intermediet, lebih besar dari 19 mm sensitif, maka antibiotik tetrasiklin yang digunakan dalam percobaan ini sebagai kontrol positf termasuk kategori sensitif.

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan konsentrasi 20%, 30% dan 40% adalah alkohol 70% sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia. Maka, kontrol negatif yang digunakan adalah alkohol 70%. Hasil pengukuran daerah zona hambat yang diperoleh adalah 0 (nol). Jadi, alkohol 70% yang menjadi kontrol negatif dalam percobaan ini tidak memiliki efek antibakteri.

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dari ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat disimpulkan bahwa:

- 1. Ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
- 2. Ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) mempunyai daya hambat yang efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 40%.

B. Saran

- Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan penelitan efek antibakteri ekstrak etanol daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) terhadap bakteri lainnya.
- 2. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti manfaat lain dari daun kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L) .

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Latief, H. 2013. Obat Tradisional. Makasar
- Butar-butar, fransiska. 2016. *Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Umbi Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas LS) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Medan. Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Medan.
- Departemen Kesehatan. 2014. Farmakope Indonesia Ed. V. Jakarta
- Dina, 2016. *Uji Aktivitas Antibakteri Bawang Lanang (Allium sativum L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli.* Di unduh dari: http:// repository.usd.ac.id
- Dwidjoseputro. D., 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara. Jakarta
- Hidayat, R. Syamsul. Rodame M, N. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: Agriflo.
- Indah, N., 2016. Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Dan Pseudomonas aureginosa. Di unduh dari: http://repository.unimus.ac.id
- Jawetz, E. dan Adelberg, E.A., 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi* 1. Jakarta: Penerbit Salemba Medika
- Jawetz, E., Menick, J.L., dan Adelberg, E.A., 2014. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Jakarta: EGC.
- Katzung, Bertram G. 2010. Farmakologi dasar dan klinik Edisi 10. jakarta: EGC.
- Kementrian kesehatan RI. 2013. Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta.
- Lazwardy, P.P., 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Soyghurt dengan Penambahan Gula Jagung terhadap Bakteri Eschericia Coli*. Diunduh dari: http://id.scribd.com/doc/86914657/uji-aktivitas-eschericia-coli
- Michael J. Pelczar, Jr dan E. C. S. Chan., 2013. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1*. UI Press. Jakarta: 82 155
- Madigan, M.T., dan J.Parker, 2012. *Biologi Of Microorganisme* Newyork: Univercity Carbondale
- Notoadmodjo, S. 2012. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka cipta.
- Radji, M. 2015. *Mekanisme Aksi Molekular Antibiotik dan Kemoterapi*. Jakarta. Buku kedokteran EGC.
- Ribka. 2015. Efektifitas Ekstrak Daun Saga terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Hasanuddin Makassar.

Vandepitte. J et al. 2010. *Prosedur Laboratorium Dasar Untuk Bakteriologi Klinis*. Jakarta: EGC.

http://mydokterhewan.blogspot.com/Ma'ruf/2015/01/media-pertumbuhanbuatan-mikrobiologi.html?_e_pi_=

Daftar Gambar





Gambar 1. Tanaman kembang pukul empat



Gambar 2. Serbuk daun kembang pukul empat



Gambar 3 . Rotary evaporator



Gambar 4 . ekstrak kental daun kembang pukul empat



Gambar 5 . Media MSA



Gambar 6 . Media MHA



Gambar 7. Suspensi Mc. Farland



Gambar 8. Pengenceran bakteri



Gambar 9. Pengenceran tetrasiklin



Gambar 10. Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul Empat 20%, 30% dan 40%



Gambar 11. Hasil percobaan

Keterangan:

A = Ekstrak etanol daun kembang pukul empat 20%

B = Ekstrak etanol daun kembang pukul empat 30%

C = Ekstrak etanol daun kembang pukul empat 40%

D = Tetrasiklin 0,03 mg/ml

E = Etanol 70%

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SUMBERDAYA MANUSIA KESEHATAN POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN

Jl. Jamin Ginting KM. 13,5 Kel. Lau Cih Medan Tuntungan Kode Pos: 20136 Telepon: 061-8368633 - Fax: 061-8368644

Website: www.poltekkes-medan.ac.id, email: poltekkes_medan@yahoo.com



Nomor

: DM.01.05/01.03/ 330 /2017

Medan, 06 Juni 2017

Lampiran Perihal

1 :

: Mohon Izin Penelitian Mahasiswa Jurusan Farmasi Poltekkes Medan

Kepada Yth: Kepala Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan Di Tempat

Dengan hormat,

Dalam rangka kegiatan akademik di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan, mahasiswa diwajibkan melaksanakan penelitian yang merupakan bagian kurikulum D-III Farmasi, maka dengan ini kami mohon kiranya dapat mengizinkan untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium Farmasetika Dasar yang Bapak/ Ibu pimpin. Adapun nama mahasiswa tersebut adalah:

NO	NAMA MAHASISWA	PEMBIMBING	JUDUL	
1.	Saide Pramita Sijabat P 07539014058	Drs. Djamidin Manurung, MM., Apt.	Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul Empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	

Demikianlah kami sampaikan atas kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.



Lampiran 2. Surat Izin ke MUI



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SUMBERDAYA MANUSIA KESEHATAN



Telepon: 061-8368633 - Fax: 061-8368644
Website: www.poltekkes-medan.ac.id, email: poltekkes_medan@yahoo.com



Nomor

: DM.01.05/01.03/ YU8/2017

Medan, 06 Juni 2017

Lampiran

Perihal Perihal

: Mohon Izin Penelitian Mahasiswa Jurusan Farmasi Poltekkes Medan

Kepada Yth:

Ketua Majelis Ulama Indonesia (MUI) Kota Medan

Di

Tempat

Dengan hormat,

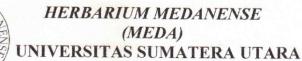
Dalam rangka kegiatan akademik di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan, mahasiswa diwajibkan melaksanakan penelitian yang merupakan bagian kurikulum D-III Farmasi, maka dengan ini kami mohon kiranya dapat mengizinkan untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium Majelis Ulama Indonesia (MUI) Kota Medan yang Bapak / Ibu pimpin. Adapun nama mahasiswa tersebut adalah:

NO	NAMA MAHASISWA	PEMBIMBING	JUDUL	
1.	Saide Pramita Sijabat P 07539014058	Drs. Djamidin Manurung, MM., Apt.	Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kembang Pukul Empat (<i>Mirabilis jalapa</i> L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	

Demikianlah kami sampaikan atas kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.



Lampiran 3. Hasil Identifikasi Tumbuhan



JL. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155 Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail.nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 22 Mei 2017

No.

:1198/MEDA/2017

Lamp.

Hal

: Hasil Identifikasi

Kepada YTH,

Saide Pramita Sijabat Sdr/i

NIM 07539014058

Instansi : Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Medan

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium

Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kingdom Plantae

Divisi Kelas

Spermatophyta Dicotyledoneae

Ordo Famili Genus Caryophyllales Nyctaginaceae

Spesies

Mirabilis Mirabilis jalapa L. Nama Lokal : Bunga Pukul Empat

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Kepala Herbarium Medanense.

Dr. Nursahara Pasaribu, M.Sc NIP. 1963 01 23 1990 03 2001 38

Lampiran 4. Kartu Laporan Pertemuan Bimbingan KTI

POLITEKNIK KESEHATAN JURUSAN FARMASI JL AJRIANGGA NO.28 MEDAN 085361866709

KARTU LAPORAN PERTEMUAN BIMBINGAN KTI

Mana Mahasiswa : SAIDE PRAMITA SUABAT

NIM : 007539014058

Pembimling: Drs. D.Jamidin. MM. Apt.



No	TGL	PERTE MUAN	PEMBAHASAN	PAPAF MAHASISWA	PARAF PFM51MBING
1	23/09/16	I	Pembahasan oudul httl	of moul	4
2	New York	Q ·	Seleksi judul KTI yang diberikan	apminel_	+
3	03/10-16		mahasiswa		
4	21/10-16	11j	Penetapan Judul : usi efen anti-	afrimul_	6
5		i de partir	bahteri ekstrak daun kembang	17 110	6
5		page of the second second	funut empat terhadap pertumbuhan bangu staphillococus aureus		8
7	21/11-16	W	Distrusi Praposal	afmul_	T
	3/2-16	٧	Pembahasan froposal	opmy	5
9	7/3-17	VI	Dishug KTI	alimu	6
10	23/3-17	Au	Distruct kti Mongenai Metode Sampling	g/my-	
11		VIII	Penyerahan Proposal	Shum!	6
12	03/04-17	1X	Bimbingan mengenai tatar belahang dan Pombanding	apmy.	

0.1

<u>Drs. Masnish, M Kes. Act.</u> NIP. 196204281995032001

No	TANGGAL	Retembn	PENBAHASAN	waya asma	Part Fembra bing
13	07 -04 - 2017	ž	Penyerahan Perbaikan proposal	afimul	+
14	17 -04 - 2017	χl	penyerahan perbaikan proposal	Annel	8
15	10 -64 -2017	XĪJ	konsulfasi perbaikan	ofmul	8
16	17 -06 - 2017	XIII	Rembinibingan (abbratorium	affirmal.	8
17	22 -06 - 2017	XIV	Konsultasi hasil penelitian	afinel	4
18	06-07-2017	χV	Konsuntasi pengesahan	ofmel	7
	A second		Charles Services (Charles Services Serv		