

KARYA TULIS ILMIAH

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
BELUNTAS TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)**



Oleh :

GUSTI AYU PUTU WAHYU PURNAMA DEWI
NIM. P07134016030

**KEMENTERIAN KESEHATAN R.I
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
DENPASAR
2019**

KARYA TULIS ILMIAH

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
BELUNTAS TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)**

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Menyelesaikan Program Pendidikan Diploma III
Politeknik Kesehatan Denpasar
Jurusan Analis Kesehatan
Program Reguler**

**Oleh :
GUSTI AYU PUTU WAHYU PURNAMA DEWI
NIM. P07134016030**

**KEMENTERIAN KESEHATAN R.I
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
DENPASAR
2019**

LEMBAR PERSETUJUAN

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

TELAH MENDAPATKAN PERSETUJUAN

Pembimbing Utama :



Drs. I Gede Sudarmanto, B.Sc., M.Kes
NIP. 196005061983021001

Pembimbing Pendamping:



Burhannuddin, S.Si., M.Biomed
NIP. 198602282009121003

MENGETAHUI :
KETUA JURUSAN ANALIS KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR



Cokorda Dewi Widhya Hana Sundari, S.KM., M.Si
NIP. 19690621 199203 2 004




KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL :

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
BELUNTAS TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)**

TELAH DIUJI DI HADAPAN TIM PENGUJI

**PADA HARI : RABU
TANGGAL : 22 MEI 2019**

TIM PENGUJI

1. NYOMAN MASTRA, SKM., S.Pd., M.Si (Ketua) 
2. Drs. I GEDE SUDARMANTO, B.Sc., M.Kes (Anggota) 
3. NUR HABIBAH, S.Si., M.Sc (Anggota) 

MENGETAHUI :
KETUA JURUSAN ANALIS KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR


Cokorda Dewi Widhya Hana Sundari, S.KM., M.Si
NIP. 19690621 199203 2 004

LEMBAR PERSEMBAHAN

Om Swastyastu

Terimakasih kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa yang senantiasa memberikan jalan dan tuntunan di setiap langkah dan menyertai dalam setiap waktu.

Terimakasih kepada Drs. I Gede Sudarmanto, B.Sc., M.Kes dan Burhannuddin, S.Si., M.Biomed yang telah membimbing dan memberikan masukan selama proses penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.

Terimakasih kepada orang tua saya Gusti Made Hartawan dan Dewa Ayu Kade Susilawati yang telah memberikan motivasi dan selalu memberikan dukungan di setiap langkah yang saya putuskan.

Tidak lupa saya ucapkan terimakasih kepada sahabat dan teman-teman JAK 16 atas solidaritas, semangat, bantuan serta perjuangan kita bersama sampai tahap ini.

Karya ini saya persembahkan kepada semua orang yang telah mendukung serta memberikan semangat selama saya menempuh perkuliahan.

Om Shanti Shanti Shanti Om

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :


Nama : Gusti Ayu Putu Wahyu Purnama Dewi
NIM : P07134016030
Program Studi : Diploma III
Jurusan : Analis Kesehatan
Tahun Akademik : 2018/2019
Alamat : Jalan Pulau Menjangan, Desa Dauhwaru,
Kabupaten Jembrana, Bali

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Tugas Akhir dengan judul Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) adalah **benar karya sendiri atau bukan plagiat hasil karya orang lain.**
2. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa Tugas Akhir ini bukan karya saya sendiri, maka saya sendiri bersedia menerima sanksi sesuai Peraturan Menkendiknas RI No.17 Tahun 2010 tentang **Pencegahan Dan Penanggulangan Plagiat Di Perguruan Tinggi** dan ketentuan perundang-undangan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Denpasar, Mei 2019
yang membuat pernyataan



[Handwritten Signature]
Gusti Ayu Putu Wahyu Purnama Dewi
NIM. P07134016030

v

v

RIWAYAT PENULIS

Penulis adalah Gusti Ayu Putu Wahyu Purnama Dewi



dilahirkan di Jembrana pada tanggal 12 Februari 1998 dari ayah Gusti Made Hartawan dan ibu Dewa Ayu Kade Susilawati. Penulis merupakan anak pertama dari dua

bersaudara dan berkewarganegaraan Indonesia serta beragama

Hindu. Penulis memulai pendidikan pada tahun 2003 di TK

Santi Kumara Jembrana. Pada tahun 2004-2010 penulis melanjutkan pendidikan

ke jenjang Sekolah Dasar di SD Negeri 6 Dauhwaru. Pada Tahun 2010-2014

penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Sekolah Menengah Pertama di SMP

Negeri 1 Negara. Pada tahun 2014-2016 penulis melanjutkan pendidikan ke

jenjang Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Negara. Pada tahun 2016

penulis menyelesaikan pendidikan di sekolah menengah atas dan melanjutkan

pendidikan di Politeknik Kesehatan Denpasar Program Studi Diploma III Jurusan

Analisis Kesehatan.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY ON BELUNTAS LEAF ETHANOL EXTRACT
TOWARDS *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* BACTERIA GROWTH

ABSTRACT

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus is a pathogen resistance bacteria that causes infections. Beluntas leaf contains terpenoids, saponins, phenols, tannins, and quinones which act as antibacterial. This experiment purpose is to observe the antibacterial activities of the beluntas leaf ethanol extract to *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. This research is a true experiment designed with only post test control group design, using Kirby Bauer diffusion discs method on five concentrations there are 15, 30, 45, 60, and 75%, work control is Ciprofloxacin 5 µg, and group control is ethanol 96%. Result Showed that the beluntas leaf ethanol extract is able to inhibit *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* with inhibition diameter zone of 75% is 26 mm, 60% is 25,4 mm, 45% is 18,7 mm, 30% is 16,2 mm, 15% is 13,1 mm, and group control 0 mm. One way annova and LSD testing showed the value of $p < \alpha$ (0,05) which means there are differences in growth inhibition zone of *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* on various concentration of beluntas leaf ethanol extract. In conclusion, this experiment provides that there is an antibacterial activity from beluntas leaf ethanol extract towards the growth of *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: Beluntas leaf ethanol extract; *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*; inhibition zone

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)

ABSTRAK

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen penyebab infeksi yang mengalami resistensi. Daun beluntas mengandung senyawa terpenoid, saponin, fenol, tanin, dan kuinon yang berperan sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experiment* dengan rancangan *posttest only control group design* menggunakan metode difusi cakram *Kirby Bauer* lima konsentrasi yaitu 15, 30, 45, 60, dan 75% dengan kontrol kerja *Ciprofloxacin* 5 µg, dan kelompok kontrol etanol 96%. Hasil yang didapatkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas mampu menghambat *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 75% yaitu 26,6 mm, 60% yaitu 25,4 mm, 45% yaitu 18,7 mm, 30% yaitu 16,2 mm, 15% yaitu 13,1 mm, dan kelompok kontrol 0 mm. Uji *One Way Anova* dan *LSD* memperoleh nilai $p < \alpha$ (0,05) sehingga menunjukkan adanya perbedaan zona hambat pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas yang bermakna. Dapat disimpulkan bahwa ada aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Ekstrak etanol daun beluntas; *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*; Zona hambat

RINGKASAN PENELITIAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

Oleh : Gusti Ayu Putu Wahyu Purnama Dewi (P07134016030)

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus merupakan *strain* dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *isoxazolyl penicillin*. Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* yang multiresisten mengakibatkan pemilihan antibiotik untuk terapi menjadi semakin sulit. Antibiotik pilihan untuk terapi infeksi bakteri MRSA adalah antibiotik golongan *Fluoroquinolon* seperti *Moxifloxacin* dan *Ciprofloxacin*. Namun antibiotik golongan *Fluorokuinolon* mempunyai potensi efek samping yang paling serius, luasnya penggunaan *Fluorokuinolon* berkontribusi dengan peningkatan kecepatan resistensi *Fluorokuinolon* terhadap mikroba di seluruh dunia.

Dalam mengatasi permasalahan resistensi ini diperlukan inovasi antibiotik yang lebih aman dan efektif. *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan untuk mulai mencari antibiotik baru dan alternatif pengobatan lain baik sebagai obat utama maupun sebagai *adjuvant*. Antibiotik baru yang dapat dikembangkan melalui eksplorasi produk baru berbasis bahan alam. Salah satu tanaman yang dipercaya memiliki khasiat obat adalah daun beluntas (*Pluchea indica* (L.)). Daun beluntas memiliki senyawa aktif seperti terpenoid, saponin, fenol, kuinon, dan tanin yang berperan sebagai antibakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas dengan perlakuan kontrol, konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75% terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* serta untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing konsentrasi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Denpasar pada bulan Januari sampai April 2019.

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen murni (*true experiment*) dengan rancangan *Posttest Only Control Group Design*. Terdapat lima perlakuan terhadap ekstrak etanol daun beluntas yaitu konsentrasi 15, 30, 45,

60, dan 75% dengan empat kali pengulangan menggunakan metode difusi cakram *Kirby Bauer*. Sebagai kontrol kerja digunakan antibiotik *Ciprofloxacin* dan kelompok kontrol etanol 96%.

Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada masing-masing konsentrasi didapatkan rerata kontrol, konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75% secara berturut-turut adalah 0 mm, 13,1 mm, 16,1 mm, 18,7 mm, 25,4 mm dan 26,6 mm. Nilai diameter zona hambat konsentrasi 15, 30, dan 45% termasuk kedalam kategori kemampuan menghambat kuat dan konsentrasi 60 dan 75% termasuk kedalam kategori menghambat sangat kuat. Uji statistik *One Way Anova* menyatakan nilai $p (0,000 < \alpha (0,05))$ yang artinya ada perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas.

Kemampuan ekstrak etanol daun beluntas disebabkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terkandung pada daun beluntas. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan ekstrak etanol daun beluntas memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan pada penelitian selanjutnya yang berhubungan pada tahap hubungan daun beluntas terhadap pengobatan herbal.

Demikian juga masyarakat disarankan dapat memanfaatkan daun beluntas sebagai lulur tradisional untuk pengobatan infeksi akibat mikroorganisme.

Daftar bacaan : 66 (2010-2018).

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)” tepat pada waktunya. Karya Tulis Ilmiah ini disusun dan diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan program studi Diploma III Analis Kesehatan.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dapat diselesaikan bukan hanya karena usaha penulis sendiri melainkan berkat bantuan, dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Anak Agung Ngurah Kusumajaya, SP., MPH, selaku Direktur Politeknik Kesehatan Denpasar yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan program studi Diploma III Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.
2. Ibu Cokorda Dewi Widhya H.S., S.KM., M.Si, selaku Ketua Jurusan Analis Kesehatan yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyusun Karya Tulis Ilmiah sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan program studi Diploma III Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.
3. Bapak Drs. I Gede Sudarmanto, B.Sc., M.Kes sebagai pembimbing utama yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya untuk memberikan

bimbingan dan masukan kepada penulis sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan.

4. Bapak Burhannuddin, S.Si., M.Biomed, selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing dalam sistem penulisan sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan.
5. Bapak dan Ibu Dosen serta Staf Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar yang telah membantu dan membimbing selama mengikuti pendidikan dan menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Bapak, Ibu, adik dan seluruh keluarga yang telah menjadi motivasi, memberi dorongan dan semangat untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Teman-teman mahasiswa Jurusan Analis Kesehatan Denpasar dan semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dan memberikan dukungan baik secara moral maupun material dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak kekurangan dan sangat jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak demi penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini. Akhir kata semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Denpasar, Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iv
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT.....	v
RIWAYAT PENULIS	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
ABSTRAK	viii
RINGKASAN PENELITIAN	ix
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah Penelitian	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Beluntas	6
B. Simplisia	13
C. Ekstrak Dan Metode Ekstraksi	15
D. <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	19
E. Pengukuran Aktivitas Antimikroba	23
F. Antibiotik Dan Mekanisme Kerja Antimikroba	25
G. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba	27

BAB III KERANGKA KONSEP

A. Kerangka Konsep	30
B. Variabel Dan Definisi Operasional	31
C. Hipotesis	37

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian	38
B. Tempat Dan Waktu Penelitian	39
C. Populasi Dan Sampel Penelitian	39
D. Alat Dan Bahan	42
E. Prosedur Kerja	43
F. Jenis Dan Teknik Pengumpulan Data	49
G. Pengolahan Dan Analisis Data	49

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil	51
B. Pembahasan	55

BAB VI PENUTUP

A. Simpulan 65

B. Saran 65

DAFTAR PUSTAKA 66

LAMPIRAN 72

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kategori Diameter Zona Hambat	25
Tabel 2. Definisi Operasional Variabel	35
Tabel 3. Massa Ekstrak Etanol Daun Beluntas	40
Tabel 5. Kategori Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Bakteri <i>Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus</i>	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Beluntas	6
Gambar 2. Morfologi <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	21
Gambar 3. Kerangka Konsep Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Pertumbuhan Bakteri MRSA	30
Gambar 4. Hubungan Antar Variabel Penelitian	34
Gambar 5. Desain penelitian <i>Posttest Only Control Group Design</i>	38
Gambar 7. Daun Beluntas Dan Ekstrak Etanol Daun Beluntas	52

DAFTAR SINGKATAN

ATCC	: <i>American Type Culture Collection</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
DNA	: <i>Deoxybonucleic Acid</i>
Fab	: <i>Fragment Antibodi</i>
Fc	: <i>Field Command</i>
HA-MRSA	: <i>Hospital Acquired- Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
IgG	: <i>Imunoglobulin G</i>
Kemenkes	: <i>Kementerian Kesehatan</i>
LSD	: <i>Least Significant Deference</i>
MGEs	: <i>Mobile Genetic Element</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
MRSA	: <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
PBP 2a	: <i>Penicillin binding protein</i>
SCC mec	: <i>Staphylococcal Cassette Chromosome mec</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Data Diameter Zona Hambat Pertumbuhan <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Beluntas	74
Lampiran 2. Data Hasil Pengukuran Kadar Air Simplisia Daun Beluntas .	75
Lampiran 3. Hasil Uji Statistik.....	76
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air.....	78
Lampiran 5. Gambar Alat dan Bahan serta Dokumentasi Penelitian.....	79
Lampiran 6. Tabel Diameter Zona Hambat Agen Antimikroba untuk bakteri <i>Staphylococcus spp.</i> berdasarkan <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>	87
Lampiran 7. Persetujuan Etik/ <i>Ethical Approval</i>	88

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Perkembangan resistensi bakteri berlangsung secara cepat dan menjadi permasalahan serius yang mengancam kesehatan. Perkembangan resistensi tidak terlepas dari penggunaan antibiotik yang berlebihan, persepsian yang tidak tepat, ketersediaan antibiotik baru yang sedikit, dan hambatan regulasi untuk mengembangkan antibiotik baru (WHO, 2014).

Salah satu jenis bakteri resisten yang memiliki dampak kesehatan yang signifikan di seluruh dunia adalah *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* menyebabkan infeksi terutama yang terjadi di rumah sakit (*Hospital-Acquired infections*, HA-MRSA), sehingga merupakan agen penting dari infeksi nosokomial yang sering dikaitkan dengan peningkatan mortalitas dan biaya kesehatan yang tinggi (Liana, 2014). Berdasarkan hasil program surveilan resistensi regional Asia Pasifik pada tahun 2011, persentase infeksi bakteri MRSA di Indonesia sebesar 28% dan angka morbiditas akibat infeksi bakteri MRSA mencapai 18.650 kasus (Mendes dkk., 2013).

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus merupakan *strain* dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *isoxazolyl penicillin* seperti *methicillin*, *oxacillin* dan *flucloxacillin*. Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* juga mengalami resisten silang terhadap seluruh antibiotika golongan beta laktam (Liana, 2014). Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* yang multiresisten mengakibatkan pemilihan antibiotik

untuk terapi menjadi semakin sulit. Antibiotik pilihan untuk terapi infeksi bakteri MRSA adalah antibiotik golongan *Fluoroquinolon* seperti *Moxifloxacin* dan *Ciprofloxacin*. Namun antibiotik golongan *Fluorokuinolon* mempunyai potensi efek samping yang paling serius, luasnya penggunaan *Fluoroquinolon* berkontribusi dengan peningkatan kecepatan resistensi *Fluorokuinolon* terhadap mikroba di seluruh dunia (Raini, 2016).

Seiring dengan peningkatan kejadian infeksi dan resistensi terhadap bakteri MRSA, *World Health Organization* (WHO) telah merekomendasikan untuk mulai mencari antibiotik baru dan alternatif pengobatan lain baik sebagai obat utama maupun sebagai *adjuvan*, contohnya yaitu pengobatan dengan menggunakan obat dari tanaman tradisional (WHO, 2016). Salah satu tanaman yang dipercaya memiliki khasiat obat adalah daun beluntas (*Pluchea indica* L.). Daun beluntas termasuk jenis tanaman semak atau setengah semak yang tumbuh secara liar. Di masyarakat, tanaman beluntas digunakan sebagai obat tradisional dengan memanfaatkan berbagai bagian tanaman, antara lain bunga, daun, batang, hingga akar. Daun beluntas diketahui dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit karena senyawa bioaktif yang ada di dalamnya (Cahyanto, Sujarwo, dan Lestari, 2015).

Menurut penelitian Fitriansyah (2018) mengenai “Profil Fitokimia Dan Aktivitas Farmakologi Beluntas (*Pluchea indica* L.)” didapatkan hasil bahwa, daun beluntas memiliki berbagai potensi aktivitas farmakologi diantaranya sebagai antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antilarvasida, antibakteri, aktivitas diuretik, dan mengandung senyawa bioaktif seperti terpenoid, saponin, fenol, kuinon, dan tanin sehingga berdasarkan kandungan senyawa bioaktif tersebut,

daun beluntas berpotensi sebagai kandidat Obat Herbal Terstandar (Fitriansyah, 2018).

Dalam penelitian Ratna (2013) mengenai “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* Dan *Pseudomonas aeruginosa*” didapatkan hasil uji daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60% sebesar 15,93 mm, *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 60% sebesar 14,31 mm dan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 60% sebesar 15,25 mm sehingga ekstrak etanol daun beluntas memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori kuat.

Pada penelitian Maftuhah (2015) mengenai “Pengaruh Infusa Daun Beluntas (*Pluchea indica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*” didapatkan hasil bahwa konsentrasi 20% sampai konsentrasi 80% masih tumbuh koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan pada konsentrasi 100% tidak tumbuh koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100% infusa daun beluntas mempunyai daya bunuh terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan bisa dikatakan sebagai nilai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*).

Berdasarkan beberapa hasil penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa daun beluntas memiliki kandungan yang berpotensi menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram untuk mengetahui zona

hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun beluntas terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

B. Rumusan Masalah Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan diatas, maka penulis merumuskan permasalahan yaitu, Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan konsentrasi yang berbeda.

2. Tujuan khusus

- a. Mengetahui zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas 15, 30, 45, 60, dan 75%.
- b. Menganalisis perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas 15, 30, 45, 60, dan 75%.
- c. Mengkategorikan daya hambat ekstrak etanol daun beluntas 15, 30, 45, 60, dan 75% terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan mampu menambah pengetahuan mengenai daun beluntas sebagai antibakteri alami terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

2. Manfaat praktis

Diharapkan masyarakat dapat memanfaatkan daun beluntas dalam kehidupan sehari-hari sebagai alternatif antibiotik alami untuk menanggulangi infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Beluntas

1. Klasifikasi tanaman beluntas

Taksonomi tanaman beluntas adalah :

Kingdom : *Plantae*

Super Divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Sub Kelas : *Asteridae*

Ordo : *Asterales*

Famili : *Asteraceae*

Genus : *Pluchea*

Spesies : *Pluchea indica (L.) Less.* (Fitriansyah, 2018)



Gambar 1. Tanaman beluntas

Sumber : (Fitriansyah, 2018)

2. Deskripsi tanaman beluntas

Tanaman beluntas merupakan tanaman perdu tegak bercabang banyak dan memiliki ketinggian 0,5-2 m. Daun tanaman beluntas berambut, dan berwarna hijau muda hingga hijau. Helaian daun beluntas berbentuk oval elips atau bulat telur terbalik dengan pangkal daun runcing dan tepi daunnya bergigi. Letak daun beluntas berseling dan bertangkai pendek dengan panjang daun sebesar 2,5-9 cm dan lebar 1 cm. Bunga tanaman beluntas merupakan bunga majemuk dengan bentuk bongkol kecil. Bunga beluntas memiliki tabung kepala sari berwarna ungu, dan tangkai putik dengan 2 cabang ungu yang menjulang jauh. Buah tanaman beluntas berbentuk gangsing, keras dan berwarna cokelat. Ukuran buah beluntas sangat kecil dengan panjang 1 mm. Buah beluntas memiliki biji kecil dan berwarna cokelat keputih-putihan (Khodaria, 2013; Herbie, 2015).

3. Kandungan metabolit sekunder daun beluntas

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang dihasilkan tumbuhan yang tidak memiliki fungsi langsung pada fotosintesis, pertumbuhan atau respirasi, transport solut, translokasi, sintesis protein, asimilasi nutrien, diferensiasi, pembentukan karbohidrat, protein dan lipid (Mastuti, 2016).

Fungsi metabolit sekunder bagi tumbuhan adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator, dan sebagai molekul sinyal (Saifudin, 2014). Kandungan senyawa metabolit sekunder memiliki beberapa aktivitas biologis yaitu sebagai antiinflamasi, antipiretik, hipoglikemik, diuretik dan berbagai aktivitas farmakologi (Widyawati, 2013).

Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu, daun beluntas memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu terpenoid, saponin, fenol, kuinon, tanin, dan minyak atsiri (Herbie, 2015; Septiana, Erlin dan Sopyan, 2014). Adapun kandungan dari daun beluntas sebagai zat antibakteri sebagai berikut yaitu :

a. Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa kimia yang terdiri dari beberapa unit isopren. Kebanyakan terpenoid mempunyai struktur siklik dan mempunyai satu gugus fungsi atau lebih. Terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Senyawa terpenoid terdiri atas beberapa kelompok. Senyawa terpenoid ini adalah salah satu senyawa kimia bahan alam yang banyak digunakan sebagai obat. Sudah banyak peran terpenoid dari tumbuhan yang diketahui seperti menghambat pertumbuhan tumbuhan pesaingnya dan sebagai insektisida terhadap hewan tinggi (Mastuti, 2016).

Terpena dan turunannya dikenal sebagai terpenoid yang merupakan komponen dari minyak yang terdapat didalam bunga-bunga, daun-daun, dan akar-akar berbagai jenis tanaman. Tanaman yang mengandung terpen memiliki rasa pahit, bau yang kuat, dan efek racun (Reece *et al.*, 2011). Menurut Ngajow dalam Kuspradini, Pasedan dan Kusuma, (2016) aktivitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik. Selain itu, senyawa fenolik dan terpenoid memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik.

b. Saponin

Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Senyawa ini memiliki struktur asimetri hidrofobikidrofi, yang menyebabkan senyawa ini memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan dan bersifat seperti sabun. Saponin memiliki sifat yaitu terasa manis, ada yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi dan dapat menyebabkan hemolisis (Geelen dan Faizal, 2013).

Saponin memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan mengubah tegangan permukaan dan mengikat lipid pada sel bakteri yang menyebabkan lipid terekskresi dari dinding sel sehingga permeabilitas membran bakteri terganggu (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Rijayanti, 2014).

c. Fenol

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki satu gugus hidroksil pada penyusunnya, sedangkan fenolik yang memiliki gugus hidroksil lebih dari

satu (Pangestuty, 2016). Senyawa fenol memiliki banyak gugus fungsi yang dalam kondisi bebas atau aglikon menyebabkan kadar total fenol semakin tinggi. Senyawa fenolik merupakan pemberi warna, rasa dan aroma yang spesifik pada bagian tanaman tertentu. Karakteristik kelompok senyawa ini dikenal tidak stabil dan mudah teroksidasi terutama dalam kondisi basa, kelarutannya secara umum adalah pelarut organik polar, sedangkan bentuk glikosidanya larut dalam air (Zuraida, Sulistiyani, dan Sajuthi, 2017).

Fenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda-beda yang disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tersebut dengan jumlah dan posisi yang berbeda. Apabila kandungan senyawa fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya juga tinggi karena adanya peningkatan total fenol sehingga dapat dikatakan bahwa sedang terdapat aktivitas antioksidan yang sedang berlangsung (Toripah dkk., 2014). Senyawa fenol memiliki sifat yang dapat merusak membran sel yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan atau matinya sel karena perubahan permeabilitas sel. Senyawa fenol juga dapat mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisiskan dinding sel jamur. Selain itu, senyawa fenol melalui gugus hidroksi yang akan berikatan dengan gugus sulfhidril dari protein fungi sehingga mampu mengubah konformasi protein membran sel target (Kumalasari, 2015).

d. Kuinon

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor dasar pada benzokuinon, yang terdiri dari 2 gugus karbonil yang berkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap. Senyawa kuinon yang terdapat sebagai

glikosida mungkin sedikit larut dalam air, tetapi umumnya kuinon lebih mudah larut dalam lemak dan akan terdeteksi dari tumbuhan bersama-sama dengan karotenoid dan klorofil (Putranti, 2013). Warna pigmen kuinon di alam beragam, mulai dari kuning pucat sampai hitam, dan struktur yang dikenal jumlahnya lebih dari 450.

Senyawa kuinon yang terdapat sebagai glikosida larut sedikit dalam air, tetapi umumnya kuinon lebih mudah larut dalam lemak dan akan terekstraksi dari ekstrak tumbuhan kasar bersama-sama dengan karotenoid dan klorofil (Novianti, 2012).

Kuinon dapat menghambat respirasi sel. Selain itu, kuinon dapat menerima elektron rantai respirasi, proses ini dapat menghasilkan pembentukan radikal bebas dan merusak mitokondria. Aktivitas kuinon menyebabkan *cyanide resistant respiration*, yaitu kurangnya pasokan oksigen dalam proses respirasi (Husnawati, 2018).

e. Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Malanggi, 2018).

Sebagian besar tumbuhan yang banyak mengandung tanin akan dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang pahit. Salah satu fungsi tanin pada tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Jacoeb, 2013).

Tanin berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba yang selektif. Gugus -OH pada tanin mampu berfungsi sebagai antioksidan karena dapat meredam radikal bebas superoksida, hidroksil, peroksida, hidrogen peroksida, oksida nitrit, dan peroksinitrit yang terdapat di dalam tubuh (Septiana, 2014).

f. Minyak atsiri

Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Minyak atsiri memiliki komponen volatil pada beberapa tumbuhan dengan karakteristik tertentu. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Sebagai antibakteri minyak atsiri membantu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk (Muchtaridi, 2016).

Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Dewi, 2018).

4. Manfaat daun beluntas

Daun beluntas sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional yaitu untuk menghilangkan bau badan dan mulut, mengatasi kurang nafsu makan, mengatasi gangguan pencernaan pada anak, menghilangkan nyeri pada rematik, nyeri tulang dan sakit pinggang, menurunkan demam, mengatasi keputihan dan haid yang tidak teratur, hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa fitokimia dalam daun beluntas (Halim, 2015). Aktivitas perasan daun beluntas sebagai obat penurun

demam juga telah dibuktikan pada penelitian Putri, (2011) yang dilakukan secara in vivo menggunakan hewan percobaan bahwa perasan daun beluntas memiliki laju penurunan demam (Putri, 2011).

B. Simplisia

1. Pengertian dan jenis simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun, umumnya dalam keadaan kering, langsung digunakan sebagai obat dalam atau banyak digunakan sebagai obat dalam sediaan galenik tertentu atau digunakan sebagai bahan dasar untuk memperoleh bahan baku obat (Kepmenkes RI, 2017).

Menurut Herbie, (2015) simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu:

a. Simplisia nabati

Simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat atau bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan atau diisolasi dari tanamannya. Simplisia tanaman obat termasuk kedalam golongan simplisia nabati.

b. Simplisia hewani

Simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan (*Oleum iecoris asseli*) dan madu (*Mel depuratum*).

c. Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga.

2. Persyaratan baku dan standarisasi simplisia

Menurut BPOM RI (2014) persyaratan baku simplisia terdiri dari :

- a. Kadar air : Tidak lebih dari 10%
- b. Angka lempeng total : Tidak lebih dari 10
- c. Angka kapang dan khamir : Tidak lebih dari 10
- d. Mikroba patogen : Negatif
- e. Aflatoksin : Tidak lebih dari 30 bagian per juta

Standarisasi obat herbal merupakan rangkaian proses melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan terhadap suatu ekstrak alam atau tumbuhan obat herbal (Saifudin, Rahayu, dan Teruna, 2014).

Standarisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi standar (kimia, biologi dan farmasi), termasuk jaminan stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Standarisasi atau kontrol mutu simplisia menurut acuan Materia Medika Indonesia terdiri dari (Khoirani, 2013) :

- 1) Kebenaran jenis (identifikasi spesies tumbuhan) meliputi parameter makroskopik yaitu deskripsi morfologis simplisia, parameter mikroskopik

mencakup pengamatan terhadap penampang melintang simplisia atau bagian simplisia dan terhadap fragmen pengenal serbuk simplisia, dan reaksi identifikasi mencakup reaksi warna untuk memastikan identifikasi dan kemurnian simplisia (terhadap irisan/serbuk simplisia)

- 2) Kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia, biologis) tidak selalu mungkin memperoleh simplisia sepenuhnya murni. Bahan asing yang tidak berbahaya dalam jumlah sangat kecil pada umumnya tidak merugikan. Simplisia harus bebas dari serangga, kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan menunjukkan tanda-tanda pengotoran lain dan tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya

C. Ekstrak Dan Metode Ekstraksi

1. Ekstrak dan jenis ekstrak

Ekstrak adalah suatu produk hasil pengambilan zat aktif melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut, dimana pelarut yang digunakan diuapkan kembali sehingga zat aktif pada ekstrak menjadi pekat. Bentuk dari ekstrak yang dihasilkan dapat berupa ekstrak kental atau ekstrak kering tergantung jumlah pelarut yang diuapkan (Marjoni, 2016).

Menurut farmakope Indonesia (2015), ekstrak dibagi menjadi :

a. Ekstrak cair

Adalah ekstrak hasil penyarian bahan alam dan masih mengandung pelarut.

b. Ekstrak kental

Adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan, dan tidak mengandung cairan penyari lagi, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar.

c. Ekstrak kering

Adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak mengandung pelarut lagi dan mempunyai konsistensi padat (berwujud kering).

2. Metode ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani, 2014).

Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis ekstraksi secara dingin. Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan cara berikut (Marjoni, 2016):

a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Proses maserasi biasanya dilakukan pada suhu antara 15°C-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat aktif yang dikehendaki larut. Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam

pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang ada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

Pelarut yang dapat digunakan pada maserasi adalah air, etanol, etanol-air atau eter. Pilihan utama untuk pelarut pada maserasi adalah etanol karena etanol memiliki beberapa keunggulan sebagai pelarut diantaranya yaitu etanol bersifat lebih selektif, dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman, bersifat non toksik (tidak beracun), etanol bersifat netral, memiliki daya absorpsi yang baik, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, dan etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak (Atun, 2014).

Menurut Marjoni (2016) metode maserasi memiliki kelebihan dan kekurangan. Adapun kelebihan dari metode maserasi adalah sebagai berikut:

- 1) Peralatan yang digunakan sangat sederhana.
- 2) Teknik pengerjaan relative sederhana dan mudah dilakukan.
- 3) Biaya operasionalnya relatif rendah.
- 4) Dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan.
- 5) Proses ekstraksi lebih hemat penyari.

Adapun kekurangan dari metode ini adalah:

- 1) Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memerlukan banyak waktu.
- 2) Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50%.
- 3) Pelarut yang digunakan cukup banyak.
- 4) Kemungkinan besar ada beberapa senyawa yang hilang saat diekstraksi.
- 5) Beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar.
- 6) Penggunaan pelarut air akan membutuhkan bahan tambahan seperti pengawet yang diberikan pada awal ekstraksi. Penambahan pengawet dimaksudkan untuk mencegah pertumbuhan bakteri dan kapang.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (Pratiwi, 2010).

3. Hal yang perlu diperhatikan dalam ekstraksi

Menurut Marjoni (2016) terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan dalam suatu proses ekstraksi yaitu:

a. Jumlah simplisia yang akan diekstrak

Jumlah simplisia yang akan diekstrak sangat erat kaitannya dengan jumlah pelarut yang akan digunakan. Semakin banyak simplisia yang digunakan, maka jumlah pelarut yang digunakan juga semakin banyak.

b. Derajat kehalusan simplisia

Semakin halus suatu simplisia, maka luas kontak permukaan dengan pelarut juga akan semakin besar sehingga proses ekstraksi akan dapat berjalan lebih optimal.

c. Jenis pelarut yang digunakan

Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sangat dipengaruhi oleh kepolaran dari pelarut itu sendiri. Senyawa dengan kepolaran yang sama akan lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama berdasarkan prinsip *like dissolves like*.

d. Waktu ekstraksi

Waktu yang digunakan selama proses ekstraksi akan sangat menentukan banyaknya senyawa-senyawa yang terekstrak.

e. Metode ekstraksi

Berbagai metode dapat digunakan untuk menarik senyawa kimia dari simplisia.

f. Kondisi proses ekstraksi

Beberapa proses ekstraksi memerlukan keadaan dan kondisi tertentu. Bahan alam yang mengandung senyawa kumarin dan kuinon umumnya dilakukan pada kondisi terlindung dari cahaya. Proses ekstraksi skala laboratorium, dapat dilakukan baik dengan pengadukan ataupun tanpa pengadukan.

D. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan galur dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik. Bakteri MRSA tidak hanya resisten terhadap antibiotik golongan betalaktam tetapi

juga resisten terhadap antibiotik golongan non betalaktam seperti *makrolida* (eritromisin), *inhibitor sintesa protein* (tetrasiklin, kloramfenikol) dan kuinolon (Putri, Dharmana, dan Hadi, 2015). Karakteristik dari struktur cincin antibiotik betalaktam adalah mengikat PBP (*Penicillin binding protein*) yang terkait dalam sintesis peptidoglikan dan mencegah sintesis dinding sel. Resistansi terhadap betalaktam merupakan hasil dari degradasi enzimatis dari cincin betalaktam oleh betalaktamase atau rendahnya afinitas (Qolbaini, 2014).

1. Morfologi dan fisiologi

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus secara mikroskopis adalah organisme gram positif yang berbentuk kokus. Bakteri tersebut tidak memiliki spora dan tidak motil (Greenword, 2012). Organisme ini dapat berbentuk kokus tunggal, berpasangan, atau dalam rantai pendek dengan kecenderungan untuk membentuk kelompok. Bakteri gram positif memproduksi dinding sel luar tebal yang terdiri dari peptidoglikan yang berguna untuk memproteksi bakteri dari sistem pertahanan hospes, yaitu sistem komplemen ataupun kerusakan yang disebabkan tekanan osmotik (Qolbaini, 2014). Bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan protein A, protein ini memiliki afinitas khusus pada bagian IgG. Peptidoglikan adalah unsur utama dari dinding sel *Staphylococcus aureus*, peptidoglikan memberi bentuk dan stabilitas pada mikroorganisme. *Staphylococcus aureus* menghasilkan jumlah racun dan enzim yang berfungsi sebagai faktor patogenesisnya. Enzim tersebut yaitu katalase, koagulase, faktor penggumpalan, *hyaluronidase*, betalaktam, dan lainnya (Haddadin dan Fappiano, 2012).



Gambar 2. Morfologi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Sumber : (Rebecca, 2016)

2. Gen resistensi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Faktor yang mendasari resistensi bakteri MRSA adalah suatu elemen genetik yang disebut *mecDNA* yaitu suatu elemen genetik yang mengandung gen *mecA*. Gen *mecA* secara umum telah diteliti dan diketahui menyebabkan resistensi antibiotik pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri MRSA ini merupakan bakteri yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik metisilin. Resistensi terhadap antibiotik ini terjadi akibat adanya gen yang terletak pada bagian *Mobile Genetic Element* (MGEs) seperti transposons dan plasmid, sedangkan untuk lebih spesifiknya gen resistensi ini terletak pada bagian kaset kromosom *mec* (Prasetio dan Barliana, 2016). Deteksi gen *mecA* bertujuan untuk memastikan munculnya *strain* bakteri MRSA (Khusnan, 2014).

Terdapat perbedaan sub tipe dari elemen di dalam *SCCmec* (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*) untuk setiap jenis resistensi yang terjadi. Tipe elemen kromosom *SCCmec* ini adalah sub tipe I, II, III, IV dan V. Elemen-elemen tersebut terletak pada ukuran 21 hingga 67 kilobasa. Elemen dasar yang terdapat dalam kromosom *mec* ini terdiri dari gen *mec* dan gen kromosom

kompleks yang disertai dengan gen pelengkap seperti transposons (Appelbaum, 2017).

Gen *mecA* menyandi *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP2a) sehingga menyebabkan antibiotik betalaktam akan berikatan dengan protein tersebut dan tidak mempengaruhi sintesis dinding sel bakteri (Aziz dkk, 2016). Bakteri MRSA menghasilkan PBP 2a (*Penicilin binding Protein2a*) yang memberikan resistansi terhadap semua antibiotik jenis betalaktam. *Penicillin Binding Protein 2a* dikodekan oleh gen *mecA* (Qolbaini, 2014).

3. Mekanisme resistensi bakteri MRSA

Resistensi bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah salah satu kelompok *strain Staphylococcus aureus* tahan terhadap betalaktam dan non betalaktam. Kelompok bakteri MRSA resistansi non betalaktam mengalami perubahan dalam molekul reseptor atau antibiotik aktif yang dipompa keluar dari sel disebut mekanisme pompa *efflux* (Suwito dkk., 2014). Resistensi antibiotik betalaktam terjadi setelah duplikasi penisilin oleh *Penicilin binding Protein* (PBP) seperti PBP2 dan PBP2a. *Penicilin binding Protein 2* berhenti berfungsi karena betalaktam akan mengkompensasi *Penicillin Binding Protein 2a*, akibatnya sintesis dinding sel di bakteri MRSA berlanjut. *Penicilin binding Protein 2a* dikodekan oleh gen *mecA* sebagai bagian dari komponen genetik yang diawetkan disebut *biofilm kromosom staphylococcus mecDNA* atau *mec* (SCC*mec*). Gen *mecA* dan SCC*mec* adalah gen dari bakteri MRSA dan bertanggung jawab dalam mekanisme resistensi metisilin dengan menurunkan kemampuan penisilin untuk mengikat protein 2a (Fuda *et al*, 2014).

E. Pengukuran Aktivitas Antimikroba

Penentuan kerentanan bakteri patogen terhadap suatu antimikroba dapat dilakukan pengukuran dengan salah satu dari dua metode utama yaitu dilusi atau difusi. Metode standar diperlukan untuk dapat mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba. Metode pengujian antibakteri ini dapat dilakukan dengan menggunakan organisme uji standar dan contoh obat sebagai kontrol untuk perbandingan, sehingga metode ini dapat digunakan untuk memperkirakan potensi antibiotik dalam sampel atau kerentanan mikroorganisme. Metode utama yang dapat digunakan sebagai pengukuran aktivitas antimikroba adalah sebagai berikut (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013) :

1. Metode difusi

Metode yang banyak digunakan di laboratorium adalah uji difusi cakram. Cakram kertas saring yang berisi jumlah obat yang terukur ditempatkan pada permukaan media padat yang permukaannya telah diinokulasikan organisme uji. Setelah inkubasi, diameter zona hambat yang jelas di sekitar cakram ditentukan sebagai ukuran daya hambat obat melawan jenis organisme uji tertentu. Metode ini subjektif pada berbagai faktor fisik dan kimia selain interaksi sederhana antara obat dan organisme (misalnya sifat medium, *diffusibility*, ukuran molekul, dan stabilitas obat) (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

Interpretasi hasil uji difusi harus didasarkan pada perbandingan antara metode dilusi dan difusi. Garis regresi linier dapat memberikan informasi mengenai hubungan antara log konsentrasi hambat minimum pada uji pengenceran

dan diameter zona inhibisi dalam uji difusi. Penggunaan disk tunggal untuk setiap antibiotik dengan standarisasi kondisi pengujian memungkinkan laporan kerentanan atau resistensi suatu mikroorganisme dengan membandingkan ukuran zona hambat dengan obat standar (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

Cakram kertas yang diresapi antibiotik dalam jumlah tertentu, diletakkan pada media agar yang telah ditanami dengan organisme uji secara merata. Suatu *gradient* konsentrasi zat antimikroba yang terbentuk oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat pada suatu jarak dari cakram yang terkait dengan kepekaan organisme, disamping faktor-faktor lain. Metode modifikasi *Kirby Bauer* merupakan metode difusi cakram, yang mulanya dijabarkan, dibakukan dan dievaluasi secara luas. Agensi-agensi resmi telah merekomendasikannya, dengan sedikit modifikasi, sebagai metode rujukan yang dapat digunakan sebagai teknik rutin dalam laboratorium klinik (Vandepitte *et al*, 2011).

2. Metode dilusi

Susbtansi antimikroba dalam kadar bertingkat dicampurkan ke dalam medium bakteriologis *solid* atau cair. Biasanya digunakan substansi antimikro dengan pengenceran dua kali lipat (\log_2). Medium kemudian diinokulasi dengan bakteri penguji dan diinkubasi. Titik akhir yang diambil adalah jumlah substansi antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penguji. Keuntungan uji dilusi *microboth* adalah mereka memungkinkan dilaporkannya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

Menurut Susanto, Sudrajat dan Ruga dalam Permadani, dkk tahun (2014)

kategori diameter zona hambat dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Tabel 1
Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat	Respons hambat bakteri
≤ 5 mm	Lemah
6– 10mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

F. Antibiotik Dan Mekanisme Kerja Antibakteri

1. Antibiotik

Antibiotik merupakan obat yang digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibiotik digunakan untuk mengobati, mencegah dan mengendalikan penyebaran bakteri patogen (Kemenkes, 2017). Pengujian antibiotik dilakukan untuk memberikan jaminan bahwa kualitas dan mutu antibiotik yang digunakan dalam pengobatan memenuhi persyaratan yang telah ditentukan (Radji, 2015).

Antibiotik yang masih dikategorikan sensitif dalam pengobatan infeksi bakteri MRSA adalah antibiotik *Ciprofloxacin* yang merupakan salah satu obat sintetik turunan terfluorinasi kuinolon yang memiliki aktivitas antibakteri yang sangat meningkat dibandingkan dengan asam nalidiksat dan mencapai kadar bakterisidal dalam darah dan jaringan. Antibiotik *Ciprofloxacin* paling aktif terhadap bakteri gram negatif tetapi terbatas aktivitasnya terhadap organisme gram positif (Pratiwi, 2013).

Mekanisme kerja antibiotik *Ciprofloxacin* adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat dimana antibiotik golongan ini dapat masuk ke dalam sel dengan cara difusi pasif melalui kanal protein terisi air pada membran luar bakteri secara intraselular, secara unik *Ciprofloxacin* menghambat replikasi DNA bakteri dengan cara mengganggu kerja DNA girase (*topoisomerase II*) selama pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

2. Prinsip kerja antibakteri

Antimikroba bekerja menggunakan salah satu dari beberapa mekanisme yaitu, melalui toksisitas selektif, melalui penghambatan sintesis dan fungsi membran sel, melalui inhibisi sintesis protein, atau melalui inhibisi sintesis asam nukleat. Suatu agen antimikroba yang ideal memiliki toksisitas selektif yang artinya obat tersebut hanya berbahaya bagi patogen, tetapi tidak berbahaya bagi penjamu (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

Toksisitas selektif bersifat relatif, bukan absolut yaitu suatu obat dalam konsentrasi yang dapat ditoleransi penjamu tetapi dapat merusak suatu mikroorganisme penyebab infeksi. Toksisitas selektif mungkin merupakan fungsi suatu reseptor spesifik yang diperlukan untuk pelekatan obat, atau mungkin bergantung pada inhibisi peristiwa biokimiawi yang esensial bagi patogen, tetapi tidak esensial bagi penjamu (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

Prinsip kerja antimikroba menurut Gandjar dan Rohman (2012) adalah sebagai berikut :

- 1) Antimetabolit, yaitu terjadi *blockade* pada tahap metabolisme spesifik mikroba.

- 2) Penghambat sintesis dinding sel, yaitu menyebabkan sel mati dan sel menjadi lisis. Penghambatan aktivitas enzim bakteri mengakibatkan terjadi kerusakan pada dinding sel mikroba. Adanya d-alanin pada enzim trepeptidase menyebabkan terjadinya taut silang antara bagian-bagian dinding sel bakteri.
- 3) Penghambat fungsi membran sel, yaitu dengan mempengaruhi permeabilitas membran sel sehingga terjadi kebocoran sel.
- 4) Bekerja langsung pada membran sel, misalnya antimikroba poliena dan polimiksin. Antimikroba berinteraksi dengan sterol membran sel.
- 5) Penghambat sintesis protein dan menghasilkan protein abnormal, contohnya kloramfenikol, eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, dan aminoglikosida. Antimikroba-mikroba ini mempengaruhi fungsi ribosom bakteri sehingga sintesis protein terhambat. Derivat aminoglikosida, tetrasiklin, dan spektinomisin protein berinteraksi dengan ribosom 30S, sedangkan kloramfenikol, linkomisin, klindamisin dan eritromisin berinteraksi dengan ribosom 50S.
- 6) Penghambat sintesis asam nukleat melalui penghambatan enzimnya. Antimikroba ini mempengaruhi metabolisme asam nukleat dengan adanya proses pengikatan pada DNA.

G. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Antimikroba

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas mikroba, berikut merupakan hal-hal yang harus dipertimbangkan karena akan mempengaruhi hasil pemeriksaan (Jawetz, Melnick and Adelberg's, 2013).

1. pH lingkungan

Beberapa obat lebih aktif pada pH asam (misalnya, nitrofurantoin), pada pH basa (misalnya, aminoglikosida, sulfonamida).

2. Komponen medium

Media mempengaruhi ukuran zona melalui efeknya terhadap kecepatan pertumbuhan organisme, kecepatan difusi obat antimikroba, dan aktivitas obat (Vandepitte *et al.*, 2011). *Sodium polyanetholsulfonate* (dalam medium kultur darah) dan detergen anionik dapat menghambat aminoglikosida. Protein serum mengikat penisilin dalam derajat yang berbeda-beda, berkisar dari 40% untuk metisilin hingga 98% untuk dikloksasilin.

3. Kestabilan obat

Pada suhu inkubator, beberapa agen antimikroba kehilangan aktivitas mereka. Antimikroba seperti penisilin mengalami inaktivasi secara lambat, sedangkan aminoglikosida dan siprofloksasin cukup stabil untuk periode yang lama.

4. Lama inkubasi

Semakin lama masa inkubasi berlangsung, semakin besar kesempatan mutan resisten untuk muncul, atau semakin besar kesempatan bagi anggota yang paling tidak sensitif terhadap antimikroba untuk mulai memperbanyak diri seiring dengan berkurangnya obat.

5. Aktivitas metabolik mikroorganisme

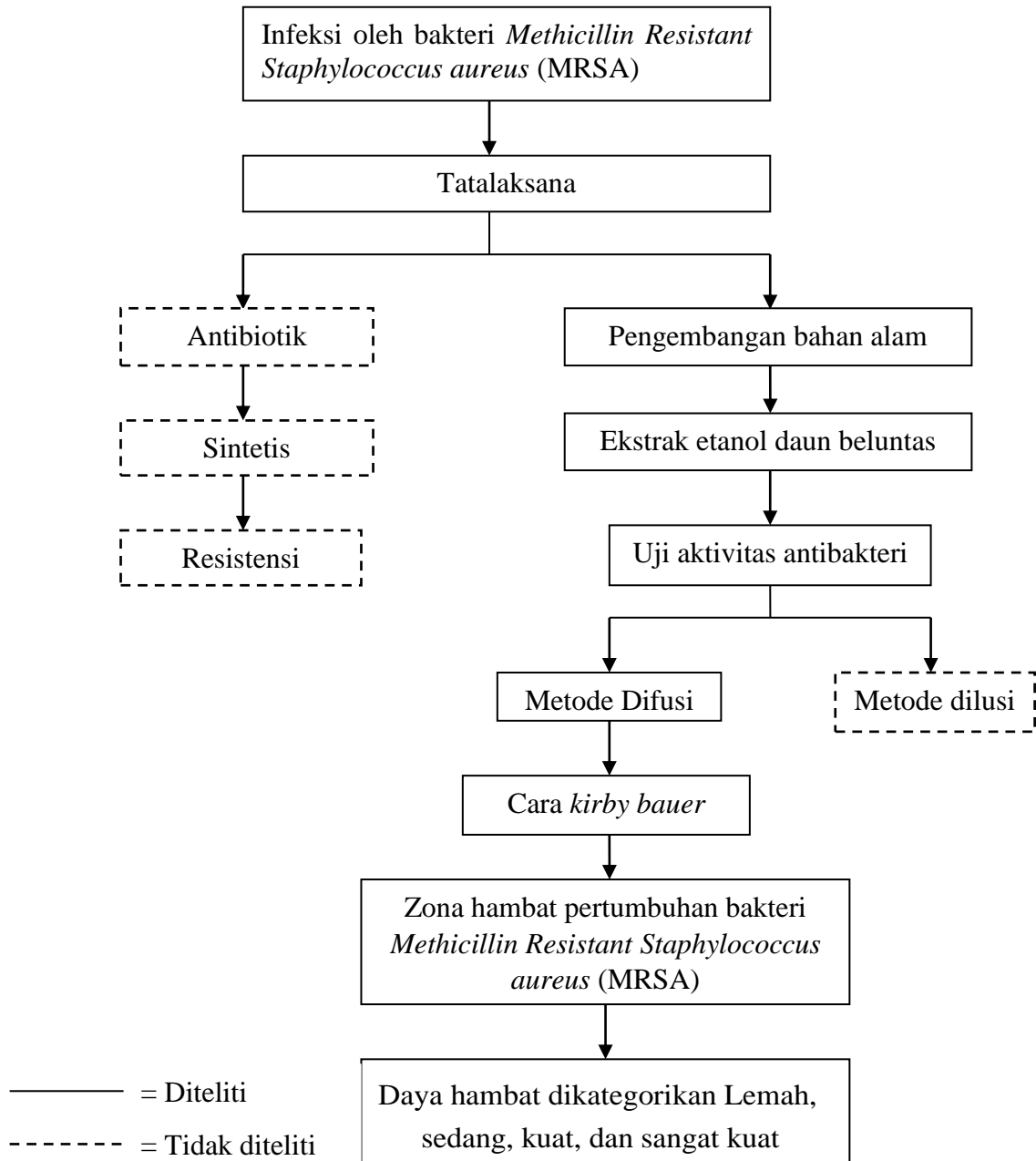
Secara umum, organisme yang aktif dan cepat tumbuh lebih sensitif terhadap kerja obat dibandingkan organisme yang berada dalam fase istirahat.

Organisme yang tidak aktif secara metabolik dan berhasil bertahan hidup pada paparan lama suatu obat mungkin saja memiliki keturunan yang sepenuhnya sensitif terhadap obat yang sama.

BAB III
KERANGKA KONSEP

A. Kerangka Konsep

Kerangka konsep dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 3. Kerangka Konsep Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Pertumbuhan Bakteri MRSA.

Keterangan gambar :

Berdasarkan kerangka konsep tersebut dapat dijelaskan bahwa infeksi bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dapat diobati dengan antibiotik dan pengembangan bahan alam. Antibiotik yang tersedia saat ini digunakan untuk terapi berasal dari senyawa sintetis yang dapat menimbulkan masalah resistensi antibiotik. Bahan alami yang memiliki potensi sebagai antibakteri adalah daun beluntas. Daun beluntas di ekstrak terlebih dahulu sebelum digunakan sebagai sampel uji aktivitas antibakteri. Ekstrak daun beluntas digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang dilakukan dengan metode difusi cakram cara *Kirby Bauer*.

Kekuatan suatu ekstrak bahan alam dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada uji difusi cakram dengan cara *Kirby Bauer*, dapat diketahui dengan melakukan pengukuran pada diameter zona bening yang terbentuk. Zona hambat yang terbentuk dikategorikan ke dalam daya hambat lemah, sedang, kuat atau sangat kuat sesuai dengan diameter zona hambat yang ditimbulkan.

B. Variabel Dan Definisi Operasional

1. Variabel penelitian

a. Variabel bebas (*Independent variable*)

Dalam penelitian ini variabel bebas adalah variasi konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas dengan variasi konsentrasi yaitu 15, 30, 45, 60, dan 75%.

b. Variabel terikat (*dependent variable*)

Dalam penelitian ini, yang menjadi variabel terikat yaitu diameter zona hambat dari pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada media *Muller Hinton Agar*.

c. Variabel kontrol

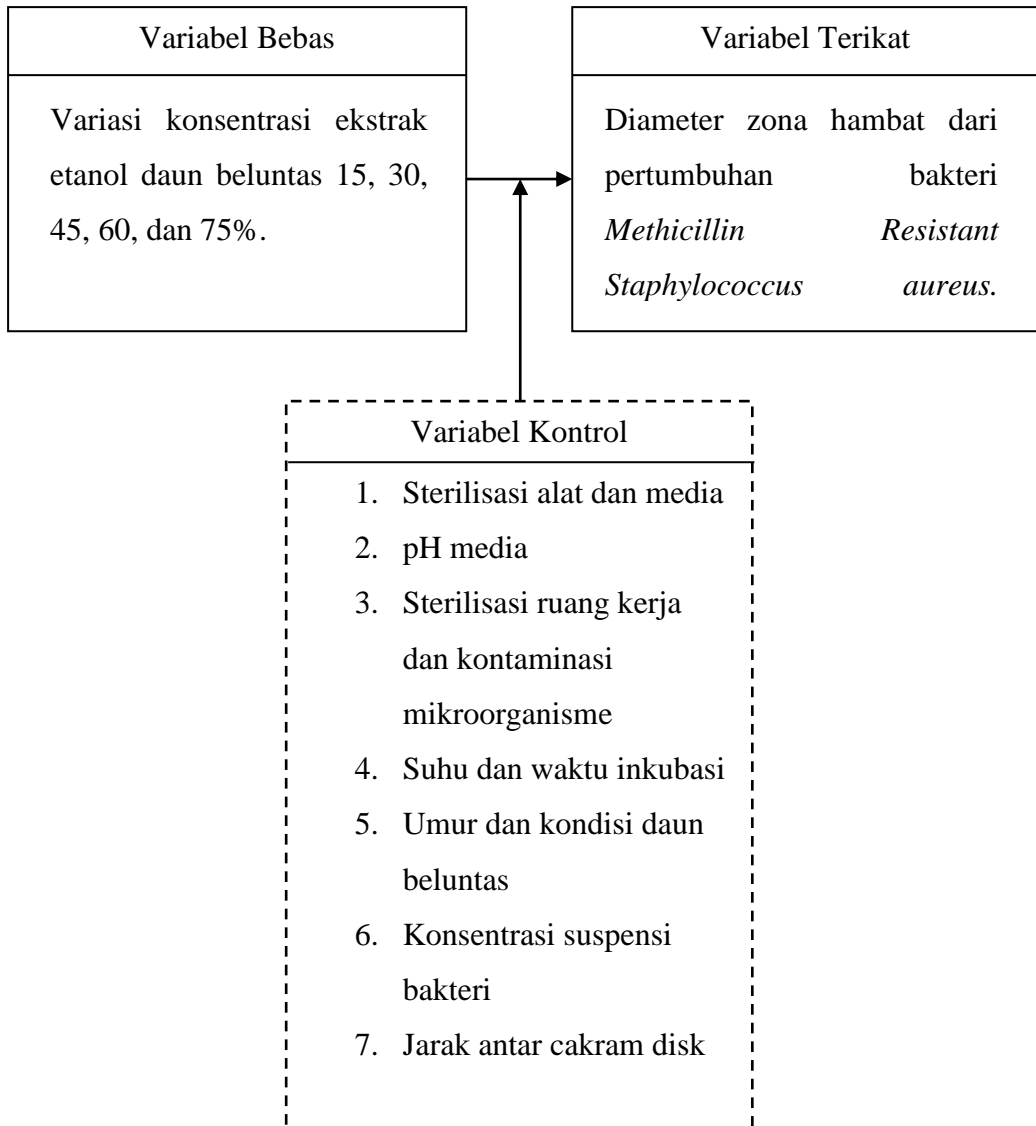
Dalam penelitian ini yang menjadi variabel kontrol adalah sterilisasi media pertumbuhan, alat, ruang kerja, pH media, kontaminasi mikroorganisme lain, suhu dan waktu inkubasi, umur dan kondisi daun beluntas, kekeruhan suspensi bakteri, jarak penempelan antara cakram disk. Variabel kontrol dapat mempengaruhi penelitian ini sehingga harus dikendalikan.

Adapun proses pengendalian variabel kontrol adalah sebagai berikut :

- 1) Kendali untuk mengendalikan kontaminasi dari alat dan media dapat dilakukan proses sterilisasi pada alat dan media tersebut sebelum digunakan untuk bahan uji. Sterilisasi alat gelas dapat dilakukan pada *oven* dengan suhu 150°C sampai 170°C selama 60 menit. Sedangkan untuk media dilakukan sterilisasi pada *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit terhitung dari tercapainya suhu 121°C.
- 2) Pengecekan pH media MHA dengan pH indikator yaitu pH 7,3 pada suhu ruang.
- 3) Untuk mencegah ruang kerja yang menimbulkan kontaminasi, maka sebelum digunakan ruang kerja dilakukan sterilisasi terlebih dahulu dengan sinar UV pada *biosafety cabinet* selama 30 menit dan dilakukan desinfeksi menggunakan alkohol 70 %.

- 4) Suhu dan waktu inkubasi disesuaikan dengan suhu optimum pertumbuhan bakteri pada incubator yaitu suhu 37⁰C selama 24 jam.
- 5) Umur dan kondisi daun beluntas yang digunakan sebagai sampel penelitian adalah daun beluntas yang muda dan segar, berwarna hijau dan tidak berlubang.
- 6) Konsentrasi suspensi bakteri dapat dikendalikan dengan membandingkan kekeruhan yang dibuat dengan standar 0,5 Mc *farland* menggunakan alat ukur Mc *farland* densitometer agar bakteri yang digunakan dalam uji sensitivitas memiliki konsentarsi yang sesuai dengan standar.
- 7) Jarak antara cakram disk agar pengukuran dapat dilakukan dengan benar adalah minimal 15 mm. Hal ini dilakukan dengan memberikan tanda pada plate sebagai tempat peletakkan cakram.

Hubungan antara variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 4. Hubungan Antar Variabel Penelitian

Keterangan :

————— = Diteliti

- - - - - = Tidak diteliti

2. Definisi operasional

Tabel 2

Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi operasional	Cara ukur dan alat ukur	Skala data
1	2	3	4	5
1	Aktivitas antibakteri	Kemampuan zat uji yaitu ekstrak etanol daun beluntas dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA). Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram disk yang mengandung ekstrak etanol daun beluntas di permukaan media pertumbuhan pada uji difusi.	Dengan mengukur zona hambat menggunakan jangka sorong dan dilaporkan dalam satuan millimeter. Nilai diameter dikategorikan lemah, sedang, kuat dan sangat kuat.	Rasio
2	Daun beluntas	Daun beluntas segar, berwarna hijau dan berumur muda hingga sedang. Diambil dari tangkai pertama setelah pucuk daun hingga sampai tangkai ke empat. Panjang daun beluntas sebesar 2,5 - 9 cm dan lebar 1 cm.	Observasional	Nominal

1	2	3	4	5
3	Ekstrak etanol daun beluntas	Ekstrak etanol daun beluntas adalah zat hasil ekstraksi dari daun beluntas yang diperoleh dari daun beluntas yang telah dikeringkan dan dihaluskan menjadi simplisia diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak pekat 100%.	Maserasi <i>Hotplate stirrer</i> dan evaporator	Nominal
4	Konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas	Konsentrasi ekstrak adalah variasi komposisi dari campuran ekstrak etanol daun beluntas 100% dengan pelarut etanol 96%. Seri konsentrasi tersebut dibuat dengan cara mengencerkan ekstrak pekat daun beluntas menggunakan etanol 96% menjadi konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75% (b/v.)	Membuat variasi konsentrasi dengan perbandingan tertentu ekstrak pekat daun beluntas dengan pelarut etanol 96% menggunakan mikropipet(μ l).	Rasio
5	Biakan bakteri MRSA	Bakteri gram positif yang merupakan isolat standar untuk uji sensitivitas.	Observasional	Nominal
6	Zona hambat MRSA	Diameter zona bening di sekitar cakram pada media MHA yang menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri MRSA.	Mengukur zona hambat dengan jangka sorong dan dilaporkan dalam satuan millimeter(mm).	Rasio

1	2	3	4	5
7	Daya hambat	Kemampuan ekstrak daun beluntas dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Dengan Kategori yaitu : Lemah : ≥ 5 mm Sedang : 6-10 mm Kuat : 11-20 mm Sangat kuat : ≥ 21 mm	Observasional	Ordinal

C. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah “Ada aktivitas antibakteri pada variasi konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)”.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan rancangan *Posttest Only Control Group Design* yang bertujuan untuk mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Noor, 2012). Bentuk rancangan pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar dibawah ini :

	Group	Variabel terikat	Posttest
R1	Group Eksperimen	X	O2
R2	Group Kontrol	-	O2

Gambar 5. Desain penelitian *Posttest Only Control Group Design*

Keterangan :

R1 (*Random 1*) : Kelompok eksperimen, dalam penelitian ini yaitu berbagai konsentrasi dari ekstrak etanol daun beluntas konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75%.

R2 (*Random 2*) : Kelompok kontrol, dalam penelitian ini berupa etanol 96%

X (*Exposure*) : Perlakuan (Intervensi)

O2 (Observasi) : Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

B. Tempat Dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Laboratorium Kimia Terapan dan Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai bulan Mei 2019.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun beluntas (*Pluchea indica* (L.)).

2. Kriteria sampel

a. Kriteria inklusi sampel

Kriteria inklusi daun beluntas dari pohon dengan daun hijau muda, dipetik dari tangkai pertama setelah pucuk sampai tangkai keempat, tidak berlubang dan berumur muda hingga sedang.

b. Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi yaitu daun beluntas yang layu, kering, berwarna kuning hingga coklat, dan berlubang yang tidak sesuai dengan kriteria yang ditentukan peneliti.

3. Besar sampel

Dari proses ekstraksi didapatkan ekstrak etanol daun beluntas dengan konsentrasi 100% yang digunakan sebagai stok sampel. Ekstrak daun beluntas diuji dengan 5 perlakuan yaitu menjadi variasi 15, 30, 45, 60, dan 75% yang

dibuat dengan mengencerkan stok sampel menggunakan etanol 96%. Sebagai kelompok kontrol digunakan cakram yang dijenuhkan dengan etanol 96 %. Besar massa ekstrak etanol daun beluntas untuk variasi konsentrasi dapat dilihat dalam tabel 3.

Tabel 3.
Massa Ekstrak Etanol Daun Beluntas

Konsentrasi ekstrak (%)	Massa ekstrak etanol daun beluntas
	100%
15	0,15 gram
30	0,3 gram
45	0,45 gram
60	0,6 gram
75	0,75 gram
Massa total ekstrak yang diperlukan yaitu	2,25 gram

Berdasarkan tabel tersebut, ekstrak etanol daun beluntas yang diperlukan untuk masing-masing konsentrasi yaitu konsentrasi 15% sebanyak 0,15 gram, 30% (0,3 gram), 45% (0,45 gram), 60% (0,6 gram), dan 75% (0,75 gram). Total massa ekstrak etanol daun beluntas yang diperlukan yaitu sebanyak 2,25 gram.

Menurut Hanafiah (2016), dalam penentuan pengulangan dapat dihitung berdasarkan jumlah konsentrasi yang digunakan dan jumlah kelompok kontrol. Dalam penelitian ini digunakan 5 perlakuan konsentrasi dan 1 perlakuan kontrol, sehingga total perlakuan dalam penelitian ini adalah 6 perlakuan. Dalam penelitian ini masing-masing perlakuan diulang dengan jumlah yang dapat ditentukan dari persamaan berikut (Hanafiah, 2016) :

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

Keterangan :

r = Jumlah ulangan

t = Jumlah perlakuan

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

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, pengulangan yang dapat dilakukan dalam penelitian ini adalah lebih dari atau sama dengan empat kali. Menurut Hanafiah, (2016) syarat minimal jumlah pengulangan yang bisa dilakukan untuk percobaan laboratorium adalah cukup tiga kali pengulangan. Semakin banyak pengulangan yang dilakukan maka derajat ketelitian juga semakin tinggi. Pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah empat kali, sehingga diperoleh 20 data perlakuan konsentrasi dan 4 data kontrol.

4. Unit analisis

Unit analisis dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada variasi konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas dengan lima jenis perlakuan konsentrasi yaitu 15, 30, 45, 60, dan 75%. Konsentrasi ini dipilih untuk

mengetahui konsentrasi yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang diperlukan pada penelitian ini antara lain : Blender (myako) (1 buah), tabung vial (2 buah), tempayan (1 buah), neraca analitik (Radwag) (1 buah), pipet ukur (Iwaki- Pyrex®) 1 ml dan 10 ml (masing- masing 1 buah), mikropipet 20µl – 1000µl (secorex) (masing-masing 1 buah), ball pipet (b&n ballpipet) (1 buah), gelas ukur (Iwaki-Pyrex®) 250ml (1 buah), evaporator (IKA®RV 10 basic) (1buah), Erlenmeyer (Iwaki- Pyrex®) 250 ml, 500 ml, 1000 ml (masing-masing 1 buah), tabung reaksi (Iwaki-Pyrex®) (12 buah), rak tabung reaksi (1 buah), ose (1 buah), *hotplate* (2 buah), *magnetic stirer* (2 buah), lampu spritus (1 buah), *petridish steril* (18 buah), *biosafety cabinet* (Biobase), *Mc Farland* densitometer (Biosan) (1 buah), jangka sorong (1 buah), inkubator (Esco) (1 buah), *oven* (Wagtech) dan *autoclave* (Tomy Sx-500).

2. Bahan

Bahan - bahan yang diperlukan pada penelitian ini antara lain : daun beluntas sebanyak 1,45 kg, kertas saring, bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 3155, media *Muller Hinton Agar*, cakram disk kosong (32 buah), cakram antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg (8 buah), tabung *ependorf* (5 buah), *yellow and blue tip* (masing-masing 20 buah), lidi kapas steril (1 buah), etanol 96% (3000 ml), standar *Mac Farlland* 0,5, NaCl fisiologis 0,9 %, aquadest steril 1.000 ml dan aluminium foil, alkohol 70%.

E. Prosedur Kerja

1. Prosedur kerja

a. Persiapan sampel

- 1) Daun beluntas dipetik dari tangkai pertama setelah pucuk sampai keempat dan dipilih daun yang sesuai dengan kriteria sampel yang sudah ditentukan peneliti sehingga diperoleh sampel sebanyak 1,45 kg daun beluntas
- 2) Selanjutnya daun beluntas dibersihkan dari kotoran dengan direndam dalam air bersih, lalu dibilas dan ditiriskan untuk menghilangkan sisa air
- 3) Daun di keringkan dengan cara diletakkan diatas nampan bambu diruangan terbuka tanpa terpapar sinar matahari langsung namun mendapatkan hembusan angin sampai daun menjadi kering, proses pengeringan kurang lebih selama 10 hari
- 4) Bahan yang sudah kering kemudian ditimbang dan daun dihancurkan dengan alat blender, kemudian diayak untuk mendapatkan serbuk halus.

b. Penentuan kadar air simplisia

- 1) Ditimbang berat cawan kosong.
- 2) Ditimbang simplisia sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam cawan.
- 3) Simplisia kemudian dioven pada suhu 105°C selama 1 jam.
- 4) Kemudian cawan berisi simplisia yang sudah dioven didinginkan dan ditimbang.
- 5) Simplisia dioven kembali sampai diperoleh berat yang konstan.
- 6) Dihitung kadar air yang diperoleh.

- c. Pembuatan ekstrak daun beluntas dengan metode maserasi
- 1) Serbuk daun beluntas ditimbang sebanyak 200 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml dan ditutup dengan aluminium foil
 - 2) Ditambahkan etanol 96% sebanyak 1000 ml hingga daun beluntas terendam sempurna dan ditutup rapat menggunakan aluminium foil
 - 3) Kemudian didiamkan selama 7 hari terlindungi dari cahaya matahari sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 8 jam setiap harinya
 - 4) Setelah tujuh hari, kemudian disaring menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung ke dalam botol kaca bersih, selanjutnya residu kembali dimaserasi dengan 600 ml etanol 96%. Ditutup dengan rapat dan biarkan selama 7 hari terlindungi dari cahaya matahari sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 8 jam setiap harinya
 - 5) Sesudah 7 hari kemudian disaring menggunakan kertas saring, filtrat ditampung ke dalam botol kaca yang bersih dan ditutup rapat
 - 6) Filtrat dari maserasi pertama dan kedua dituangkan ke labu penampung pada alat evaporator
 - 7) Setelah itu dimasukkan ke dalam alat evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental konsentrasi 100%
 - 8) Dilakukan proses ekstraksi secara *automatic* dengan diupkan menggunakan alat evaporator suhu diatur 40-60°C karena etanol memiliki titik didih yang rendah yaitu 70°C sehingga suhu ekstrak yang digunakan dapat menarik komponen senyawa kimia pada bahan sampai didapatkan ekstrak kental
 - 9) Hasil ekstraksi daun beluntas yang dihasilkan ditampung dalam tabung vial yang telah disiapkan dan kemudian ditimbang berat bersih ekstrak

- d. Pembuatan ekstrak etanol daun beluntas konsentrasi 15, 30, 45, 60 dan 75%.
- 1) Variasi konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas yang digunakan adalah 15, 30, 45, 60 dan 75%. Masing-masing konsentrasi tersebut dibuat dengan cara penimbangan dan pengenceran ekstrak daun beluntas pekat (konsentrasi 100%) dengan pelarut etanol 96%. Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak dilakukan dalam tabung *eppendorf* dengan volume total 1 ml.
 - 2) Pengenceran dilakukan dengan pembuatan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas menggunakan presentase perbandingan konsentrasi % b/v, melalui rumus berikut:

$$\% = \frac{b}{v} \times 100$$

Keterangan:

% : variasi konsentrasi dalam satuan persen

b : massa ekstrak daun beluntas (100%)

v : volume pengenceran

- 3) Perbandingan masing-masing konsentrasi dari ekstrak pekat (gram) dengan pelarut etanol 96% (ml) adalah sebagai berikut : Adapun jumlah ekstrak daun beluntas konsentrasi 100% yang diperlukan untuk masing-masing konsentrasi adalah :
 - a) Konsentrasi 75% disiapkan dengan cara mencampurkan 0,75 gram ekstrak daun beluntas konsentrasi 100% dan ditambahkan etanol 96% hingga volume 1 ml.
 - b) Konsentrasi 60% disiapkan dengan cara mencampurkan 0,6 gram ekstrak daun beluntas konsentrasi 100% dan ditambahkan etanol 96% hingga

- volume 1 ml.
- c) Konsentrasi 45% disiapkan dengan cara mencampurkan 0,45 gram ekstrak daun beluntas konsentrasi 100% dan ditambahkan etanol 96% hingga volume 1 ml.
 - d) Konsentrasi 30% disiapkan dengan cara mencampurkan 0,3 gram ekstrak daun beluntas konsentrasi 100% dan ditambahkan etanol 96% hingga volume 1 ml.
 - e) Konsentrasi 15% disiapkan dengan cara mencampurkan 0,15 gram ekstrak daun beluntas konsentrasi 100% dan ditambahkan etanol 96% hingga volume 1 ml.
- 4) Campuran pada masing-masing konsentrasi dihomogenkan dan disimpan pada tabung *eppendorf*.
- e. Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)
- 1) Ditimbang sebanyak 9,5 gram bubuk media *Muller Hinton Agar* (MHA) menggunakan neraca analitik kemudian dipindahkan kedalam erlenmeyer dan di tambahkan sebanyak 250 ml *aquadest* (etiket media 38,0 gram medium disuspensikan ke dalam satu L *aquadest*)
 - 2) Medium dipanaskan selama satu menit pada *hot plate* sambil diaduk sampai serbuk benar-benar larut dan tercampur dengan sempurna
 - 3) Setelah bubuk media larut sempurna dan homogen, diukur pH media dengan menggunakan pH stick (pH optimal $7,3 \pm 0,1$ pada suhu 25°C).
 - 4) Dimasukkan ke dalam erlenmeyer untuk disterilisasi di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dihitung dari tercapainya suhu 121°C

- 5) Setelah selesai, keluarkan dari autoklaf dan ditunggu hingga suhu media turun menjadi \pm suhu 40- 45°C
 - 6) Tuangkan ke dalam cawan petri (*plate*) masing-masing plate sebanyak-sebanyak 15 ml, kemudian didiamkan hingga memadat
- f. Pembuatan suspensi bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)
- 1) Koloni bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus auerus* (MRSA) dari biakan murni diambil beberapa ose dan disuspensikan kedalam tabung yang berisi 5 ml larutan NaCl Fisiologis 0,9% steril sampai memperoleh konsentrasi 0,5 *Mac Farland* untuk masing-masing bakteri
 - 2) Kekeruhan suspensi bakteri dibaca dengan menggunakan *Mac Farland* densitometer. 0,5 *Mac Farland* setara dengan $1,5 \times 10^8$ (*Colony Forming Unit*) CFU/ml
- g. Tahap pemeriksaan

Prosedur pemeriksaan uji daya hambat antibakteri berdasarkan langkah kerja yang dilakukan oleh Putri, Hafida dan Megawati (2017) yang disesuaikan dengan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Tahap pemeriksaan uji daya hambat antibakteri
 - a) Lidi kapas steril disiapkan dan dicelupkan ke dalam suspensi bakteri 0,5 *Mac Farland* MRSA. Dibiarkan sebentar agar suspensi meresap kedalam kapas.
 - b) Lidi kapas yang sudah dicelupkan suspensi bakteri 0,5 *Mac Farland* MRSA digoreskan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) hingga tersebar merata pada seluruh permukaan media, kemudian media

ditutup kembali.

- c) Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasikan suspensi bakteri MRSA didiamkan selama 15 menit agar suspensi bakteri meresap kedalam agar.
- d) Setelah permukaan media kering, masing-masing variasi konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75% serta kontrol yang sudah dijenuhkan ke dalam cakram, ditempelkan pada permukaan agar dalam satu plate yang sama dan sedikit ditekan dengan pinset sampai cakram melekat sempurna pada permukaan media.
- e) Cakram antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg yang berfungsi sebagai kontrol kerja ditempelkan masing-masing pada media MHA yang telah diinokulasi suspensi bakteri MRSA pada plate yang berbeda dari kelompok perlakuan.
- f) Jarak antara cakram satu dengan cakram yang lain minimal 15 mm dan cakram yang telah ditempelkan pada permukaan media tidak boleh dipindahkan atau digeser.
- g) Media yang telah ditempelkan cakram disk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi *petridisk* terbalik untuk media yang diinokulasikan bakteri MRSA.

h. Pelaporan hasil

Hasil dilaporkan dengan dilihat dan diukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA yang terjadi dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat yang diukur merupakan daerah bening pada cakram (tidak ada pertumbuhan bakteri) diukur dari sisi yang satu ke sisi yang lain melalui tengah-tengah cakram.

F. Jenis Dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer. Dalam penelitian ini data primer meliputi data diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri MRSA pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas yang diperoleh dari penelitian di laboratorium.

2. Teknik pengumpulan data

Penelitian ini menggunakan teknik pengumpulan data secara observasi dan penelitian laboratorium menggunakan metode difusi cara *Kirby Bauer* dan metode dilusi padat. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

G. Pengolahan Dan Analisis Data

1. Teknik pengolahan data

Data diameter zona hambat yang diperoleh melalui eksperimen pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri MRSA yang dinyatakan dalam satuan mm (millimeter) diolah menggunakan teknik pengolahan data secara tabulating data yaitu data yang disajikan dalam bentuk tabel dan naratif.

2. Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis kuantitatif, dilakukan dengan uji statistik menggunakan bantuan perangkat lunak komputer. Analisis data dilakukan dengan beberapa tahap, antara lain:

- a) Untuk menguji data berdistribusi normal atau tidak digunakan uji *kolmogorov smirnov*.

- b) Apabila data berdistribusi normal digunakan uji *one way annova* untuk mengetahui perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan menggunakan ekstrak etanol daun beluntas antara konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75%.
- c) Apabila data berdistribusi tidak normal digunakan uji *kruskal wallis* untuk mengetahui perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan menggunakan ekstrak etanol daun beluntas antara konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75%.
- d) Untuk mengetahui perbedaan zona hambat antara masing-masing konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA uji statistik yang digunakan adalah LSD (*Least Significant Deference*).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

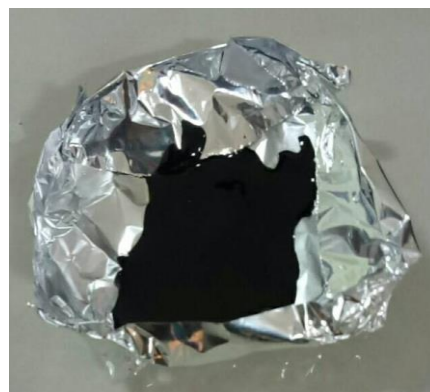
A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik daun beluntas

Objek dalam penelitian ini adalah daun beluntas (*Pluchea indica* L.). Daun beluntas yang digunakan adalah daun beluntas berwarna hijau muda, dipetik dari tangkai pertama setelah pucuk sampai tangkai keempat, tidak berlubang dan berumur muda hingga sedang. Berat basah dari daun beluntas yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1,45 kilogram. Setelah dikeringkan dan dihaluskan, diperoleh 250 gram serbuk simplisia daun beluntas kemudian dilakukan pengukuran kadar air. Hasil pengukuran kadar air simplisia daun beluntas sebesar 9% (Lampiran 2) yang menunjukkan simplisia daun beluntas sudah memenuhi syarat, karena kadarnya tidak melebihi 10%. Digunakan sebanyak 200 gram simplisia daun beluntas yang dilarutkan dalam 1500 ml etanol 96% dan setelah melalui proses evaporasi diperoleh ekstrak pekat etanol daun beluntas sebanyak 15 gram.



(a)



(b)

Gambar 6. (a) Daun beluntas, (b) Ekstrak etanol daun beluntas

2. Diameter zona hambat *Ciprofloxacin*

Ciprofloxacin dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol kerja sebanyak 5 µg dan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali pengulangan. Dari hasil pengukuran diameter zona hambat didapatkan rerata 26,5 mm dengan nilai standar deviasi $\pm 0,4$. (Lampiran 1.)

3. Diameter zona hambat etanol 96%

Dalam penelitian ini kelompok kontrol disebut juga sebagai konsentrasi 0%. Kelompok kontrol yang digunakan adalah etanol 96% dengan empat kali pengulangan. Dari hasil pengukuran diameter zona hambat, didapatkan rerata sebesar 0 mm dengan nilai standar deviasi ± 0 . (lampiran 1.)

4. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun beluntas

Hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada ekstrak etanol daun beluntas berbagai variasi konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75% dengan empat kali pengulangan, didapatkan hasil rerata pengukuran diameter zona hambat yaitu pada konsentrasi 15% rerata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 13,1 mm dengan nilai standar deviasi $\pm 0,2$, konsentrasi 30% sebesar 16,2 mm $\pm 0,1$, konsentrasi 45% sebesar 18,7 mm $\pm 0,2$, konsentrasi 60% sebesar 25,4 mm $\pm 0,2$, dan konsentrasi 75% sebesar 26,6 mm $\pm 0,2$ (Lampiran 1).

5. Analisis data diameter zona hambat pada berbagai konsentarsi ekstrak etanol daun beluntas 15, 30, 45, 60, dan 75%

Hasil pengukuran zona hambat dalam penelitian ini kemudian dianalisis dengan uji statistik sebagai berikut:

- a. Hasil uji *Kolmogorov Smirnov* yang diperoleh dalam penelitian ini adalah nilai probabilitas (p) = 0,219, sehingga bila dibandingkan dengan nilai α (0,05), maka nilai $p > \alpha$ (0,219 > 0,05) yang artinya data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* berdistribusi normal.
- b. Pada uji beda menggunakan *One Way Anova*, diperoleh hasil p (0,000) < α (0,05), yang artinya bahwa ada perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas.
- c. Perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* secara parsial dapat diketahui dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Dalam uji ini diperoleh hasil nilai p (0,000) < α (0,05), pada konsentrasi 15% dibandingkan 30, 45, 60, dan 75%, konsentrasi 30% dibandingkan 15, 45, 60, dan 75%, konsentrasi 45% dibandingkan 15, 30, 60, dan 75%, konsentrasi 60% dibandingkan 15, 30, 45, dan 75%, dan konsentrasi 75% dibandingkan 15, 30, 45, dan 60%, yang menunjukkan bahwa ada perbedaan zona hambat yang signifikan atau bermakna pada masing-masing variasi konsentrasi ekstrak.

B. Pembahasan

1. Diameter zona hambat

- a. Diameter zona hambat *Ciprofloxacin* terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

Kontrol kerja yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik *Ciprofloxacin* 5 µg yang berfungsi untuk mengkonfirmasi beberapa hal dalam penelitian yaitu untuk uji kualitas isolat bakteri, layak atau tidak digunakan sebagai bakteri uji, daya difusi zat, ketepatan konsentrasi suspensi bakteri, sebagai validasi zona hambat yang terbentuk dan untuk mengetahui kondisi media pertumbuhan bakteri yang digunakan dengan melihat kemampuan antibiotik *Ciprofloxacin* yang berdifusi ke dalam media sehingga membentuk suatu zona hambat.

Berdasarkan hasil pengukuran, rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada kontrol kerja adalah 26,5 mm. Penggolongan kekuatan hambat antibiotik dapat dibandingkan dengan tabel CLSI dengan kategori sensitif, resisten, dan intermediet. Antibiotik *Ciprofloxacin* dikatakan sensitif apabila diameter zona hambatnya ≥ 21 mm. Apabila diameter zona hambat yang dihasilkan pada kontrol kerja tersebut dibandingkan dengan tabel CLSI maka kontrol kerja ini termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*.

Antibiotik *Ciprofloxacin* merupakan antibiotik generasi baru dan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* belum mengalami resistensi terhadap *Ciprofloxacin*. Selain itu, *Ciprofloxacin* juga digunakan cukup luas di rumah sakit terhadap pasien-pasien dengan indikasi penyakit infeksi yang membutuhkan terapi

antibiotik seperti infeksi nosokomial yang diakibatkan oleh bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (Sharma, Jain, dan Pahwa, 2010).

Mekanisme kerja antibiotik *Ciprofloxacin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat. Antibiotik golongan ini dapat masuk ke dalam sel dengan cara difusi pasif melalui kanal protein terisi air pada membran luar bakteri secara intra seluler (Pratiwi, 2013).

b. Diameter zona hambat etanol 96% terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini, hasil pengukuran etanol 96% yaitu 0 mm, sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa yang ada pada daun beluntas. Penggunaan etanol 96% sebagai kelompok kontrol bertujuan untuk mengontrol pelarut yang digunakan dalam proses maserasi dan mengetahui pelarut yang digunakan tidak berpengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak.

Pada penelitian ini, etanol 96% tidak membentuk diameter zona hambat karena etanol bersifat mudah menguap dan tidak menetap dalam membunuh bakteri, sifat dari etanol ini menyebabkan etanol tidak sepenuhnya terserap pada cakram disk sehingga difusi tidak sempurna yang mengakibatkan tidak terbentuknya zona hambat. Etanol merupakan salah satu pelarut umum yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa aktif yang terdapat pada bahan-bahan alam dan dapat berfungsi sebagai antimikroba (Henny, 2015). Namun aktivitas

antimikroba pada etil alkohol dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi, waktu kontak, dan volume yang digunakan (Ramadhan, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Ramadhan (2013), tentang uji daya hambat terhadap beberapa merk *hand sanitizer*, menyatakan bahwa diameter terbesar yaitu 12 mm terdapat pada *hand sanitizer* yang mengandung alkohol dengan *triclosan*, namun pada *hand sanitizer* yang mengandung alkohol saja, tidak membentuk zona hambat (0 mm). Hal ini dikarenakan kandungan alkohol saja tidak efektif dalam membunuh bakteri dan hanya bersifat *short acting*.

c. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada ekstrak etanol daun beluntas dengan konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75%

Ekstrak etanol daun beluntas menghasilkan suatu zona hambat yang nilainya ditentukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk. Besar diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan kekuatan menghambat dari ekstrak daun beluntas yang digunakan. Dalam penelitian ini, didapatkan hasil uji bahwa ekstrak etanol daun beluntas dengan berbagai variasi konsentrasi dapat membentuk zona hambat yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil uji yang telah penulis lakukan, ekstrak etanol daun beluntas pada konsentrasi 75% memiliki rerata daya hambat tertinggi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi ekstrak 75%, nilai diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 26,6 mm, lebih besar dari pada konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas lainnya 60% (25,4 mm), 45% (18,7 mm), 30% (16,2 mm), 15%

(13,1 mm), dan etanol 96% (0 mm). Didapatkan bahwa aktivitas antibakteri tertinggi ekstrak etanol daun beluntas konsentrasi 75% memiliki perbedaan yang signifikan dari konsentrasi 15, 30, 45, dan 60%.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian lain yang dilakukan oleh Amalia, Sari, dan Nursanty (2017) mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*, didapatkan hasil uji ekstrak etil asetat daun sembung pada konsentrasi 10, 20, dan 30% masing-masing membentuk rata-rata zona hambat sebesar 10,83 mm, 12,41 mm, dan 13,59 mm. Penelitian lain yang sejalan mengenai daya hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* juga dilakukan oleh Nurjannati (2018), didapatkan hasil ekstrak etanol daun pala mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 4 mg/ml dengan diameter daerah hambat sebesar 10,33 mm dan pada konsentrasi 40 mg/ml dengan diameter daerah hambat sebesar 14,73 mm. Perbedaan hasil diameter zona hambat di antara beberapa penelitian kemungkinan disebabkan oleh perbedaan sensitivitas bakteri, konsentrasi ekstrak, penyari, bahan alam yang digunakan, dan konsentrasi bakteri uji yang digunakan.

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada ekstrak etanol daun beluntas dapat dikategorikan menjadi kategori lemah, sedang, kuat ataupun sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Susanto, Sudrajat, dan Ruga dalam permadani, (2014) kategori diameter zona hambat suatu bahan alam terhadap bakteri uji dapat diklasifikasikan sebagai berikut, ≤ 5 mm termasuk kategori rendah, 6-10 mm

kategori sedang, 11-20 mm termasuk kedalam kategori kuat, dan ≥ 21 mm termasuk kedalam kategori daya hambat sangat kuat. Berdasarkan klasifikasi tersebut, kemampuan menghambat ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 15, 30, dan 45% termasuk kedalam kategori menghambat kuat, sedangkan untuk konsentrasi ekstrak 60 dan 75% termasuk kedalam kategori menghambat sangat kuat.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Amalia, Sari, dan Nursanty, (2017) mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*, hasil rata-rata zona hambat yang terbentuk pada setiap konsentrasi ekstrak daun sembung termasuk kategori kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Sehingga jika dibandingkan dari beberapa hasil diameter zona hambat dan kategori tersebut, ekstrak etanol daun beluntas lebih efektif digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* karena jika dibandingkan dengan ekstrak bahan alam diatas, ekstrak etanol daun beluntas termasuk kedalam kategori sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Terbentuknya diameter zona hambat oleh ekstrak etanol daun beluntas menunjukkan adanya zat aktif yang terkandung didalam cakram yang sudah dijenuhkan dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas dan mampu berdifusi pada media. Pada daerah difusi, senyawa aktif berupa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun beluntas dengan mekanismenya masing-masing menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant*

Staphylococcus aureus membentuk zona bening di sekitar cakram. Zona bening yang terbentuk merupakan zona hambat bagi pertumbuhan bakteri. Hal ini terjadi karena adanya aktivitas antibakteri pada daun beluntas dan zona bening yang terbentuk diakibatkan karena bakteri tidak dapat tumbuh, yang dimana pertumbuhan bakteri telah dihambat oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun beluntas.

Hasil uji skrining fitokimia yang telah penulis lakukan, didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun beluntas memiliki senyawa aktif berupa terpenoid, saponin, fenol, tanin dan kuinon. Hasil uji sejalan dengan uji skrining fitokimia Septiana (2014), didapatkan kandungan senyawa aktif berupa metabolit sekunder pada daun beluntas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri antara lain terpenoid, saponin, fenol, kuinon, tanin, dan minyak atsiri. Senyawa aktif yang terkandung dalam daun beluntas dapat berfungsi sebagai zat antibakteri karena menurut Nurmillah dalam Hafsari (2009) menyatakan saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran sedangkan untuk senyawa fenolik bekerja dengan mengubah permeabilitas membran sitoplasma, menyebabkan kebocoran bahan-bahan intraseluler. Senyawa ini juga mendenaturasi dan menginaktifkan protein seperti enzim. Zat lain yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah tanin. Tanin mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginaktivasi adhesin mikroba, enzim, dan protein transport pada membran sel dan mekanisme kerja dari senyawa kuinon sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri (Naim dalam Hamdiyati, dkk, 2014). Sebagai antibakteri

minyak atsiri dapat mendenaturasikan protein secara dehidrasi sehingga membran sel akan rusak dan terjadi inaktivasi enzim (Kurniawan dan Aryana, 2015).

d. Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan menggunakan ekstrak etanol daun beluntas pada konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas 15, 30, 45, 60, dan 75%

Diameter zona hambat pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada ekstrak etanol daun beluntas dengan berbagai konsentrasi didapatkan hasil zona hambat yang berbeda-beda. Dari konsentrasi terendah yaitu 15% hingga konsentrasi tertinggi 75% memiliki perbedaan diameter zona hambat. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, terdapat peningkatan zona hambat yang berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas. Peningkatan diameter zona hambat dari konsentrasi 15 ke 30% sebesar 3 mm, dari konsentrasi 30 ke 45% sebesar 2,6 mm, dari konsentrasi 45 ke 60% sebesar 6,7 mm, dan dari konsentrasi 60 ke 75 % sebesar 1,2 mm. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa peningkatan terbesar terjadi pada konsentrasi 45 ke 60% yaitu sebesar 6,7 mm. Konsentrasi yang lebih tinggi memiliki diameter zona hambat yang lebih besar daripada konsentrasi yang lebih rendah. Aktivitas antibakteri tertinggi ekstrak etanol daun beluntas ditunjukkan oleh konsentrasi 75% yang berbeda signifikan dari konsentrasi 15, 30, 45, dan 60%.

Konsentrasi 15% ekstrak etanol daun beluntas memiliki kategori kuat dalam menghambat bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 13,1 mm. Jika hasil penelitian ini dibandingkan dengan hasil uji penelitian Suru, Yamlean, dan Astuty (2019)

mengenai formulasi dan uji efektifitas krim antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* didapatkan hasil untuk krim ekstrak etanol daun beluntas konsentrasi 15% memberikan daya hambat kuat dengan zona hambat 10,16 mm. Maka diketahui bahwa terdapat perbedaan antara daya hambat yang terbentuk, ekstrak etanol daun beluntas lebih baik daripada krim antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada sediaan krim yang telah dibuat, krim yang sudah dicampur dengan ekstrak etanol daun Beluntas memiliki daya hambat namun semakin menurun dibandingkan dengan ekstrak etanol daun beluntas. Hal ini disebabkan karena sediaan krim sulit berdifusi sehingga zat aktif tidak dapat lepas dengan baik dari sediaan krim sehingga daya hambat terhadap bakteri semakin menurun (Suru dkk, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian Sari, Ayuchecaria, dan Susanto (2018) mengenai uji aktivitas antifungi ekstrak daun beluntas terhadap *Candida albicans* didapatkan nilai diameter zona hambat pada konsentrasi 30% sebesar 10,07 mm, jika dibandingkan dengan hasil uji penelitian yang penulis lakukan, pada konsentrasi 30% ekstrak etanol daun beluntas memiliki kategori daya hambat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 16,2 mm sehingga dari perbedaan nilai diameter zona hambat yang didapatkan, ekstrak etanol daun beluntas lebih efektif digunakan sebagai antibakteri. Selain itu, dari hasil penelitian tersebut, ekstrak etanol daun beluntas juga dapat digunakan sebagai antifungi.

Penelitian yang penulis lakukan sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Septiana, Erlin, dan Sopyan (2016) mengenai uji ekstrak daun beluntas

terhadap zona hambat bakteri *Escherichia Coli* patogen secara in vitro, didapatkan hasil diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak daun beluntas 45 dan 75% yaitu berturut-turut sebesar 7,84 mm dan 9,36 mm jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan penulis, ekstrak etanol daun beluntas konsentrasi 45 dan 75% memiliki diameter zona hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* sebesar 18,7 mm dan 26,6 mm. Nilai diameter kedua penelitian tersebut memiliki perbedaan yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, perbedaan zona hambat yang terbentuk dengan konsentrasi ekstrak yang sama dapat terjadi karena sifat dan sel penyusun bakteri yang dihambat berbeda karena *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif sedangkan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif.

Perbedaan zona hambat yang terbentuk akibat ekstrak etanol daun beluntas terhadap bakteri yang berbeda juga didukung dalam penelitian Manu (2013) mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, didapatkan hasil uji ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* memberikan diameter zona hambat terbesar terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 60% sebesar 14,3 mm sedangkan diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 60% sebesar 15,2 mm. Dalam penelitian yang telah dilakukan penulis yaitu mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* didapatkan

hasil pada konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas 60% diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 25,4 mm.

Dari perbandingan beberapa penelitian tersebut, terdapat perbedaan hasil uji daya hambat pada bakteri gram positif dan gram negatif yang disebabkan karena perbedaan dinding sel bakteri. Data hasil uji penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas memiliki daya hambat yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dan bakteri *Bacillus subtilis* yang dimana kedua bakteri ini merupakan bakteri gram positif. Secara umum bakteri gram positif lebih peka terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram negatif karena dinding sel bakteri gram positif tidak memiliki lapisan lipopolisakarida sehingga senyawa antibakteri yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik dapat melewati dinding sel bakteri gram positif melalui mekanisme difusi pasif kemudian berinteraksi langsung dengan peptidoglikan pada sel bakteri yang sedang tumbuh dan menyebabkan kematian sel (Manu, 2013).

Hasil diameter zona hambat ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan variasi konsentrasi memiliki diameter zona hambat yang berbeda-beda. Perbedaan zona hambat terjadi karena adanya kadar zat aktif yang berbeda-beda dari setiap konsentrasi yang dipengaruhi oleh seri pengenceran dalam variasi konsentrasi, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka jumlah kandungan senyawa antibakteri yang dilepaskan semakin tinggi, sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel dan semakin banyak zat aktif yang dilarutkan maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk (Zuhud, 2015). Didapatkan hasil

adanya peningkatan diameter zona hambat dari konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75%, peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk disebabkan oleh semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas, maka semakin pekat larutan tersebut dan semakin banyak pula zat-zat antimikroba yang terdapat di dalamnya. Apabila zat antimikroba semakin besar pada ekstrak, maka semakin banyak pula bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* yang dapat dirusak, baik itu struktur tubuh maupun sistem metabolismenya, sehingga bakteri dapat dihambat pertumbuhannya. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun beluntas yang digunakan maka semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan (Virgianti dan Purwati, 2015).

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Dari hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75% didapatkan hasil rerata diameter zona hambat yaitu pada konsentrasi 15% (13,1 mm), 30% (16,2 mm), 45% (18,7 mm), 60% (25,4), dan 75% (26,6 mm).
2. Data diameter zona hambat ekstrak etanol daun beluntas dengan konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75% terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* memiliki perbedaan yang bermakna.
3. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 15, 30, dan 45 % termasuk kategori kuat dan konsentrasi 60 dan 75% termasuk kategori daya hambat sangat kuat.

B. Saran

1. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan untuk mengembangkan penelitian ini pada tahap hubungan daun beluntas terhadap pengobatan herbal.
2. Bagi masyarakat diharapkan dapat memanfaatkan daun beluntas sebagai lulur tradisional untuk pengobatan infeksi akibat mikroorganisme.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A., I. Sari. dan R. Nursanty. 2017. 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)'. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 387–391. Available at: https://www.academia.edu/33062491/Aktivitas_Antibakteri_Ekstrak_Etil_Asetat_Daun_Sembung_Blumea_balsamifera_L._DC._terhadap_Pertumbuhan_Bakteri_Methicillin_Resistant_Staphylococcus_aureus_MRSA
- Appelbaum, P. C. 2017. '*Microbiology of Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus*'. *Clinical Infectious Diseases*, 45(Supplement_3), S165–S170. Available at: <https://doi.org/10.1086/519474>
- Atun. 2014. 'Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam'. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*, 8(2), pp. 53–61.
- Aziz, F., F. B. Lestari, S. Nuraidah, dan Salasia. 2016. 'Deteksi Gen Penyandi Sifat Resistensi Metisilin, Penisilin dan Tetrasiklin pada Isolat *Staphylococcus aureus* Asal Susu Mastitis Subklinis Sapi Perah'. *Sain Veteriner Journal*, 34(1), 60–69. Available at: <https://jurnal.ugm.ac.id/jsv/article/download/22816/15137>
- BPOM RI. 2014. 'Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional'. pp. 1–25. Available at: https://asrot.pom.go.id/img/Peraturan/Peraturan_Kepala_BPOM_No._12_Tahun_2014_tentang_Persyaratan_Mutu_Obat_Tradisional.pdf.
- Cahyanto, Sujarwo, dan T. Lestari. 2015. 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.)) Terhadap *Propionibacterium Acnes* Penyebab Jerawat'. *Issn*, IX(1), 141–161. Available at: <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4234.9843>
- CLSI. 2017. '*Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing*', edition 23.
- Farmakope. 2015. 'Badan Pengawasan Obat dan Makanan'. Farmakope Indonesia Edisi V, 16(6), 1–12.
- Fuda, C. Suvorov, M. Vakulenko, dan Mobashery, 2014. '*The Basis For Resistance To Lactam Antibiotics By Penicillin-Binding Protein 2a Of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus*'. *Journal of Biological Chemistry*, 279(39), 40802–40806. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M403589200>

- Fitriansyah, M. R. 2018. 'Profil Fitokimia Dan Aktivitas Farmakologi Beluntas (*Pluchea indica* L.)'. *Farmaka*, 16(Md), 57–64. Available at: <http://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/download/17554/pdf>
- Gandjar, I. Gholib, Rohman, dan Abdul. 2012. 'Kimia Farmasi Analisis'. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Geelen, D., Faizal. 2013. 'Saponins And Their Role In Biological Processes In Plants'. *Phytochemistry Reviews*, 12(4), 877–893. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9322-4>
- Haddadin, S. A. Fappiano. 2012. 'Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) In The Intensive Care Unit'. *PostgradMedJ*, 14(2), 446–448. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12151652>
- Hanafiah, K. A. 2016. 'Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi'. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada
- Herbie, T. 2015. 'Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 266 Tanaman Obat Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh'. Yogyakarta: Octopus Publishing House.
- Hidayah, N. 2016. 'Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia'. *Sain Peternakan Indonesia*, 11(2), 89–98. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/226058-pemanfaatan-senyawa-metabolit-sekunder-t-d5dd7092.pdf>
- Husnawati. 2018. 'Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium Odoratum* L) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes Aegypti* Sebagai Pengayaan Praktikum Fisiologi Hewan'. Available at: <http://eprints.unram.ac.id/10653/>
- Jacob, A.M. 2013. 'Komposisi Kimia, Komponen Bioaktif Dan Aktivitas Antioksidan Buah Lindur (*Bruguiera Gymnorhiza*)'. 16, 86–94. Available at: http://thp.fpik.ipb.ac.id/wp-content/uploads/karya_ilmiah/AgoesMJacob/Komposisi_Kimia_Bioaktif_Lindur.pdf
- Jawets, Melnick and Adelberg's. 2013. 'Mikrobiologi Kedokteran'. Edisi 26. Alih bahasa oleh A. Adityaputri, dan A. W. Nugroho. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kemenkes. 2017. 'Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik'. *POM; Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2011.01938.x>

- Kepmenkes. 2017. 'Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/187/2017 Tentang Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia'. *Menteri Kesehatan Republik Indonesia*, 91, 399–404. Available at: <http://repository.litbang.kemkes.go.id/556/2/187> lit - pengaruh jenis kemasan dan lama penyimpanan terha_ocr cs.pdf
- Khusnan. 2014. 'Resistensi Antibiotik Dan Deteksi Gen Pengode *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolat Broiler Di Wilayah Yogyakarta'. *Jurnal.Unsyiah.Ac.Id*, 13–18. Available at: <https://doi.org/10.1080/09585192.2013.870293>
- Khoirani, N. 2013. 'Karakteristik Simplisia Dan Sttandarisasi Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum americanum L.*)'. Jakarta: Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. Available at: http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/24292/1/NU_R_KHOIRANI-fkik.PDF.
- Khodaria. 2013. 'Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica Less*) Terhadap Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*'. *Skripsi Universitas Muhammadiyah Purwokerto*.
- Kumalasari, E. N. S. 2015. 'Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera Cordifolia (Tenore) Steen.*) Terhadap *Candida Albicans* Serta Skrining Fitokimia'. *Science*, 1(2), 51–62. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.330.6006.913-a>
- Kurniawan, B. and W. F. Aryana. 2015. Binahong (*Cassia Alata L*) As Inhibitor Of *Eschericia coli* Growth, 4(4), pp. 100–104. Available at: juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/viewFile/588/592.
- Kuspradini, H., W. F. Pasedan, dan I. W. Kusuma 2016. 'Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Pometia pinnata*'. *Jurnal Jamu Indonesia*, 1(1), pp.26–34. Available at: [http://biofarmaka.ipb.ac.id/biofarmaka/2017/Jurnal Jamu Indonesia Vol 1 No 1 Artikel 4.pdf](http://biofarmaka.ipb.ac.id/biofarmaka/2017/Jurnal%20Jamu%20Indonesia%20Vol%201%20No%201%20Artikel%204.pdf).
- Liana, P. 2014. 'Gambaran Kuman *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Patologi Klinik Rumah Sakit'. (3), 171–175.
- Marjoni, Riza. 2016. '*Dasar - Dasar Fitokimia*'. (T. Ismail, Ed.) Jakarta: CV. Trans Info media.

- Maftuhah. 2016. 'Pengaruh Infusa Daun Beluntas (*Pluchea Indica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*'. *Unnes Journal of Life Science*, 4(1), 60–65. Available at : <https://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/UnnesJLifeSci/article/view/12278>
- Malangngi, L. P. 2018. 'Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill*)'. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 1(1), 5–10. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/116214-ID-penentuan-kandungan-tanin-dan-uji-aktivi.pdf>
- Manu, 2013. 'Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*'. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1), 1–10. Available at: <http://journal.ubaya.ac.id/index.php/jimus/article/view/162>
- Mastuti, R. 2016. 'Metabolit Sekunder dan Pertahanan Tumbuhan'. *Universitas Brawijaya*, 3, 1–17. Available at: <http://retnomastutibiologi.lecture.ub.ac.id/files/2016/02/Modul-3-NEW-Metabolit-sekunder-dan-Pertahanan-Tumbuhan.pdf>
- Mendes, R.E., M. Mendoza, M. Castanheira, J. M. Bell, dan J. D. Turnidge. 2013. 'Regional resistance surveillance program results for 12 Asia-Pacific Nations'. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 57(11): 5721–6.
- Muchtaridi. 2016. 'Penelitian Pengembangan Minyak Atsiri Sebagai Produk Sediaan Farmasi'. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, 17, 80–88. Available at: <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/article/download/8874/4029>
- Noor, J. 2012. 'Metodologi Penelitian'. Jakarta: Kencana Prenada Media Group.
- Novianti, N. D. 2012. 'Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan *Artemia salina* Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Jambo-Jambo (*Kjelbergiodendron celebicus* (Koord) Merr)'. Skripsi Universitas Indonesia, 1–59. Available at: http://lib.ui.ac.id/file?file=digital/20314059-S43806-Isolasi_uji.pdf
- Nurjannati. 2018. 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pala (*Myristica Folium*) Terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)'. *Repositori Institusi USU*. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>

- Pramana, R. I. 2012. 'Studi Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica Less.*) Sebagai Inhibitor Korosi Ramah Lingkungan Terhadap Baja Karbon Rendah'. Universitas Indonesia. Available at: <http://lib.ui.ac.id/file?file=digital/20308334-T 31694-Studi ekstrak-full text.pdf>
- Prasetio, M. Barliana. 2016. Article Review: 'Gen MecA Sebagai Faktor Munculnya *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)'. *Farmaka*, 4(3), 1–24. Available at: <http://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/download/10715/5053>
- Pratiwi, D. S. 2013. 'Kajian Uji Resistensi Dan Sensitivitas Antibiotik *Ceftriaxon* dan *Ciprofloxacin* pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di RSUP Fatmawati'. *Skripsi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*. Available at: http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/26446/1/dini_surya_pratiwi-fkik.pdf
- Pratiwi, E. 2010. 'Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi Dan Reperkolasi Dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide Dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees)'. *Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian Institusi Pertanian Bogor*, 1–50. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/137566-ID-ekstraksi-pemisahan-senyawa-dan-identifi.pdf>
- Putranti, R. I. 2013. 'Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut'. *Tesis*, 22–35. Available at: http://eprints.undip.ac.id/42522/1/Bab_I-III.pdf
- Putri, A. L. B., Dharmana, dan E. Hadi. 2015. 'Pengaruh Pemberian Minyak *Nigella Sativa* Dan Kombinasinya Dengan Seftriakson Terhadap Jumlah Kuman *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Pada Kultur Otak Mencit Balb'. *Media Medika Muda*, 4(4), 522–530. Available at: <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/medico>
- Putri, A., Hafida, dan V. Megawati. 2017. 'Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) Pada Konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% dan 80% Terhadap *Streptococcus mutans* (In Vitro)'. *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*, 1(1), pp. 9–14. Available at: journals.ums.ac.id/index.php/jikg/article/download/4147/2662.
- Qolbaini, E. N. 2014. 'Karakterisasi Dan Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik Isolat Bakteri *Staphylococcus Aureus* Diisolasi Dari Sapi Mastitis Subklinis'. Available at: <http://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/70865/1/2014enq.pdf>

- Radji, M. 2009. *'Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran'*. Cetakan ke 2011. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Raini. 2016. 'Manfaat dan Kerugian *Fluoroquinolones Antibiotics*'. Pusat Penelitian Dan Pengembangan Biomedis Dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes (Mariana Raini), 163–174. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/179245-ID-antibiotik-golongan-fluorokuinolon-manfa.pdf>
- Ramadhan, I. 2013. 'Efek Antiseptik Berbagai Merk Hand Sanitizer terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*'. Retrieved from http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/26361/1/Izka_r_Ramadhan-Fkik.pdf
- Ratna. 2013. 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*'. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1), 1–10.
- Reece, I., Urry, C. Wasserman, Minorsky and Jackson. 2011. *'Campbell Biology 9th edition'*. Editor B. Wilbur. Library of Congress Cataloging-in- Publication Data.
- Rijayanti, R. P. 2014. 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro'. *Naskah Publikasi*. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/194452-ID-none.pdf>
- Sari, P. Y., N. Ayuchecaria, dan Y. Susanto. 2018. 'Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) Terhadap *Candida Albicans*'. *Jurnal Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin*. Available at: <http://repository.akfar-isfibjm.ac.id/574/>
- Septiana, I. B., E. Erlin, dan T. Sopyan. 2016. 'Uji Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) Terhadap Zona Hambat Bakteri *Escherichia Coli* Patogen Secara In Vitro'. *Jurnal Pendidikan Biologi (Bioed)*, 4, 64–68. Available at: <https://jurnal.unigal.ac.id/index.php/bioed/article/view/558>
- Sharma, P. C., A. Jain, dan R. Pahwa. 2010. 'Ciprofloxacin: Review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects'. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 25(4), 577–589. <https://doi.org/10.3109/14756360903373350>
- Saifudin, A. 2014. *'Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teknik, Konsep, dan Teknik Pemurnian'*. 1st edn. Yogyakarta: Deepublish. Available at: http://ebook.library.ums.ac.id/Farmasi/Senyawa_Alam_Metabolit_Sekunder_Azis.pdf.

- Septiana, D. 2014. 'Analisis Kadar Alkaloid dan Tanin Tumbuhan Beluntas (*Pluchea indica Less.*) pada Lahan Salin di Desa Asingi Kecamatan Tinanggea dan Non Salin di Desa Lambodijaya Kecamatan Lalembuu Sulawesi Tenggara'. *Biowallacea*, 1(2), 82–89. Available at: <http://ojs.uho.ac.id/index.php/wallacea/article/download/133/92>
- Suru, E., Yamlean, dan W. Lolo. 2019. 'formulasi dan uji efektivitas krim antibakteri ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica Less.*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*'. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(2), 209–218. Available at: <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/view/23641>
- Sudrajat, Sadani dan Sudiastuti. 2012. Analisa Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Etanol Daun Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq.) dan Sifat Antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *J. Trop. Pharm. Chem.*, 1(4), pp. 303–311. available at: <https://jtpc.farmasi.unmul.ac.id/index.php/jtpc/article/download/41/42/>
- Suwito, W., W. S. Nugroho, A. Wahyuni, B. Sumiarto, Y. V. Pramuditya, dan R. Widanarto. 2014. 'Determination of mec A Gene in *Staphylococcus spp.* Isolate Subclinical Mastitis Ettawa Crossbred Goat Milk in Sleman Regency'. *Animal Production*, 16(2), 133–139. Available at: <https://www.neliti.com/publications/67774/determination-of-meca-gene-in-staphylococcus-spp-isolate-subclinical-mastitis-et>
- Vandepitte, J., J. Verhaegen, K. Engbaek, P. Rohner, P. Piot, and Heuck. 2011. 'Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologi Klinis'. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Virgianti, D. P. dan D. M., Purwati. 2015. 'Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *In Vitro*'. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 13, pp. 213–227. Available at: http://ejurnal.stikes-bth.ac.id/index.php/P3M_JKBTH/article/view/7/7. diakses tanggal 10 Juni 2018.
- Wardhani, L. K. dan N. Sulistyani. 2012. 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis', *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), pp. 1–16. Available at: journal.uad.ac.id/index.php/PHARMACIANA/article/view/636.

- WHO. 2014. '*Antimicrobial resistance: Global Health Report on Surveillance*'. Bulletin of the World Health Organization, 1–256. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13312-014-0374-3>
- _____. (2016). '*Antimicrobial Resistance*'. The World Health Organization and the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Organisation for Animal Health.
- Zuraida, Sulistiyani, dan D. Sajuthi. 2017. 'Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai'. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 35(February 2018), pp. 211–219. doi: 10.20886/jphh.2017.35.3.211-219.
- Zuhud, E. 2015. 'Aktifitas Antimikroba Ekstra Kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) terhadap Bakteri Patogen'. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan*. Available at: [http://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/55566/1/Aktifitas Antimikroba Ekstra Kedawung Terhadap Bakteri Pat.2001\).pdf](http://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/55566/1/Aktifitas%20Antimikroba%20Ekstra%20Kedawung%20Terhadap%20Bakteri%20Pat.2001).pdf).

Lampiran 1. Data Diameter Zona Hambat Pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Beluntas



LABORATORIUM BAKTERIOLOGI JURUSAN ANALIS KESEHATAN
DATA HASIL PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH

Perihal : Uji Aktivitas Antibakteri
 Nama Peneliti : Gusti Ayu Putu Wahyu Purnama Dewi
 Judul Penelitian : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA)

Hasil :

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA)

Pengulangan	Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Beluntas					Kontrol	
	15%	30%	45%	60%	75%	Positif	Negatif
I	12,8	16,1	18,5	25,2	26,5	26	0
II	13,1	16,2	18,7	25,5	26,5	26,4	0
III	13,3	16,1	18,7	25,6	26,7	26,8	0
IV	13,3	16,3	18,9	25,2	26,6	27	0
Rata-rata	13,1	16,2	18,7	25,4	26,6	26,5	0
Kategori daya hambat	Kuat	Kuat	Kuat	Sangat kuat	Sangat kuat	Sensitif	Tidak terbentuk daya hambat

Mengetahui,
 a.n Ketua Jurusan Analis Kesehatan
 Kas Sub Unit Laboratorium



Edu Putu Rinawati, S.Si
 NIP. 198512242010122003

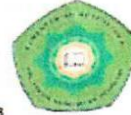
Denpasar, 10 Mei 2019
 Penanggung jawab
 Laboratorium Bakteriologi

Burhannuddin, S.Si., M.Biomed
 NIP. 198602282009121003

Lampiran 2. Data Hasil Pengukuran Kadar Air Simplisia Daun Beluntas



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN DENPASAR
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
Alamat: Jl. Sanitasi No. 1 Sdawarya, Denpasar, Telp: (0361) 710527, Fax: (0361) 710448
Website: www.poltekkes-denpasar.ac.id/analiskesehatan
Email: analiskesehatandenpasar@yahoo.co.id



LABORATORIUM KIMIA JURUSAN ANALIS KESEHATAN

DATA HASIL PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH

Perihal : Uji Kadar Air
Nama Peneliti : Gusti Ayu Putu Wahyu Purnama Dewi
Judul Penelitian : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA)

Tabel 1. Pengukuran Kadar Air Simplisia Daun Beluntas

Bobot Simplisia (g)	Bobot cawan kosong + Simplisia awal (g)	Bobot cawan + simplisia setelah pemanasan (g)	Kadar Air (%)
1	38,7411	38,6510	9

Mengetahui,
a.n. Ketua Jurusan Analis Kesehatan
Ka. Sub Unit Laboratorium,



Luh Putu Rinawati, S.Si
NIP. 198512242010122003

Denpasar, 10 Mei 2019
Penanggungjawab Laboratorium Kimia,

I Wayan Karta, S.Pd., M.Si
NIP. 198603092014021003

Lampiran 3. Hasil Uji Statistik

A. Uji Normalitas Data dengan Uji *Kolmogorov Smirnov*

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zona hambat	konsentrasi sampel
N		24	24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16.6583	37.5000
	Std. Deviation	9.02956	26.16835
	Absolute	.168	.138
Most Extreme Differences	Positive	.134	.138
	Negative	-.168	-.138
Kolmogorov-Smirnov Z		.823	.678
Asymp. Sig. (2-tailed)		.508	.748

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

B. Hasil Uji Beda dengan *One Way Anova*

Oneway

ANOVA

Zona hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1874.828	5	374.966	15696.237	.000
Within Groups	.430	18	.024		
Total	1875.258	23			

C. Hasil Uji LSD (*Least Significant Difference*)

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zona hambat

LSD

(I) konsentrasi sampel	(J) konsentrasi sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	15%	-13.12500*	.10929	.000	-13.3546	-12.8954
	30%	-16.17500*	.10929	.000	-16.4046	-15.9454
	45%	-18.70000*	.10929	.000	-18.9296	-18.4704
	60%	-25.37500*	.10929	.000	-25.6046	-25.1454
	75%	-26.57500*	.10929	.000	-26.8046	-26.3454
15%	0%	13.12500*	.10929	.000	12.8954	13.3546
	30%	-3.05000*	.10929	.000	-3.2796	-2.8204
	45%	-5.57500*	.10929	.000	-5.8046	-5.3454
	60%	-12.25000*	.10929	.000	-12.4796	-12.0204
	75%	-13.45000*	.10929	.000	-13.6796	-13.2204
30%	0%	16.17500*	.10929	.000	15.9454	16.4046
	15%	3.05000*	.10929	.000	2.8204	3.2796
	45%	-2.52500*	.10929	.000	-2.7546	-2.2954
	60%	-9.20000*	.10929	.000	-9.4296	-8.9704
	75%	-10.40000*	.10929	.000	-10.6296	-10.1704
45%	0%	18.70000*	.10929	.000	18.4704	18.9296
	15%	5.57500*	.10929	.000	5.3454	5.8046
	30%	2.52500*	.10929	.000	2.2954	2.7546
	60%	-6.67500*	.10929	.000	-6.9046	-6.4454
	75%	-7.87500*	.10929	.000	-8.1046	-7.6454
60%	0%	25.37500*	.10929	.000	25.1454	25.6046
	15%	12.25000*	.10929	.000	12.0204	12.4796
	30%	9.20000*	.10929	.000	8.9704	9.4296
	45%	6.67500*	.10929	.000	6.4454	6.9046
	75%	-1.20000*	.10929	.000	-1.4296	-.9704
75%	0%	26.57500*	.10929	.000	26.3454	26.8046
	15%	13.45000*	.10929	.000	13.2204	13.6796
	30%	10.40000*	.10929	.000	10.1704	10.6296
	45%	7.87500*	.10929	.000	7.6454	8.1046
	60%	1.20000*	.10929	.000	.9704	1.4296

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air

A. Hasil perhitungan kadar air simplisia daun beluntas

Kadar air =






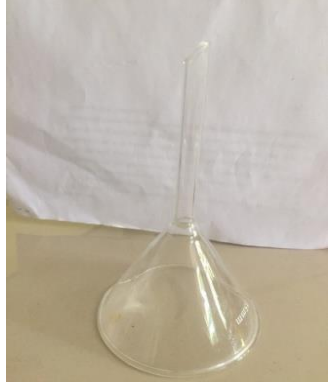



$$\frac{(\text{cawan kosong} + \text{simplisia awal (g)}) - (\text{cawan awal} + \text{simplisia setelah pemanasan (g)})}{\text{bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{(38,7411 - 38,6510)}{1} \times 100\%$$

Kadar air = 9 %

Lampiran 5. Gambar Alat dan Bahan serta Dokumentasi Penelitian

A. Gambar Alat Penelitian

		
Gambar 1. Tabung Reaksi	Gambar 2 Pipet Ukur	Gambar 3. Ball pipet
		
Gambar 4. Cawan porselin	Gambar 5. Beaker glass	Gambar 6. Corong
		
Gambar 7. Bunsen	Gambar 8. Petridisk	Gambar 9. <i>Magnetic stirrer</i>



Gambar 10. Mikropipet



Gambar 11. Hot plate



Gambar 12. Neraca Analitik



Gambar 13. Mac Farland densitometer



Gambar 14. Oven



Gambar 15. Inkubator merk esco



Gambar 16. Autoclave



Gambar 17. Evaporator





Gambar 18. Biosafety cabinet




B. Gambar Bahan Penelitian

Bahan Penelitian

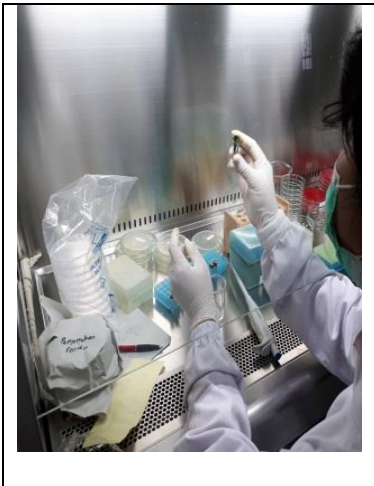

		
<p>Gambar 18. Daun beluntas</p>	<p>Gambar 19. Ekstrak daun beluntas</p>	<p>Gambar 20. <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> ATCC 3351</p>
		
<p>Gambar 20. media Muller Hinton Agar</p>	<p>Gambar 21. cakram <i>disk</i> kosong</p>	<p>Gambar 22. cakram antibiotik <i>ciprofloxacin</i></p>

		
<p>Gambar 23. Etanol 96%</p>	<p>Gambar 24. Lidi kapas steril</p>	<p>Gambar 25. Akuades steril</p>

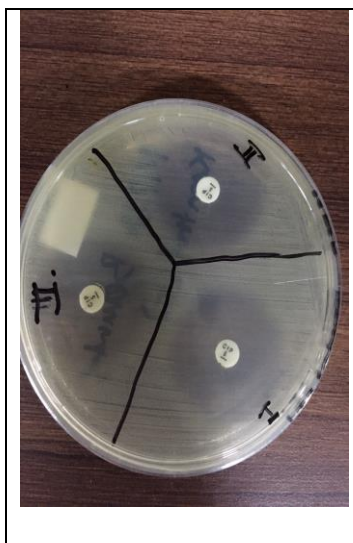
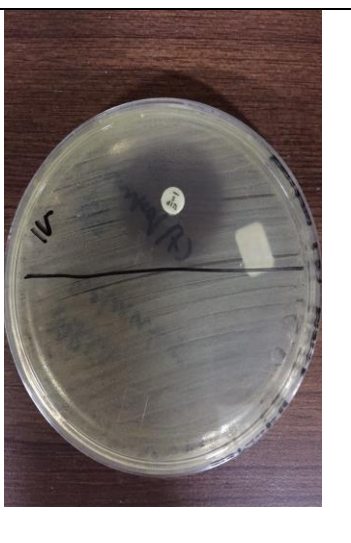
C. Gambar Dokumentasi Kegiatan Penelitian

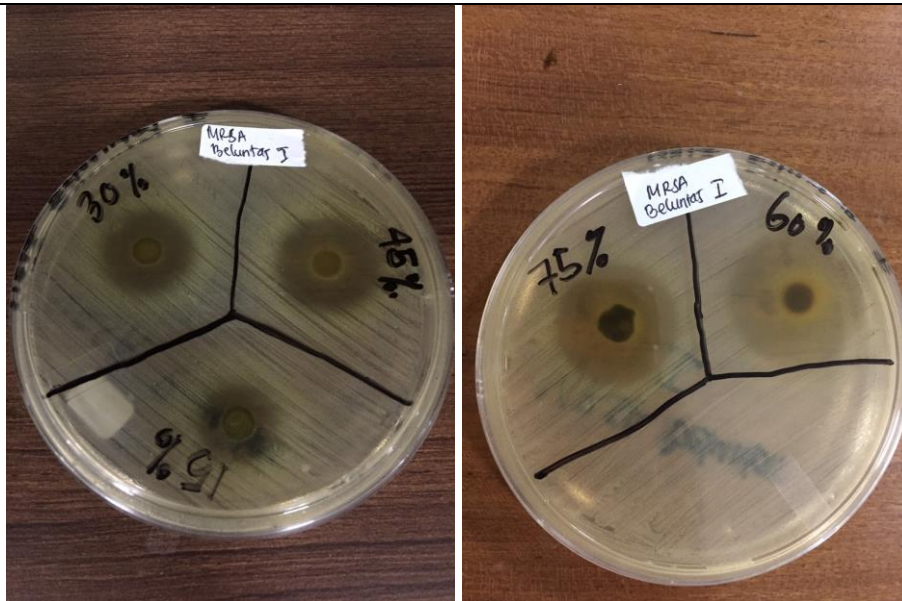
		
<p>Gambar 26. Proses pengeringan daun beluntas</p>	<p>Gambar 27. Daun beluntas yang sudah kering</p>	<p>Gambar 28. Proses pengukuran Kadar Air</p>

		
<p>Gambar 29. Proses Maserasi simplisia daun beluntas</p>	<p>Gambar 30. Proses penyaringan filtrate daun beluntas</p>	<p>Gambar 31. Filtrat daun beluntas</p>
		
<p>Gambar 32. Proses evaporasi</p>	<p>Gambar 33. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas</p>	<p>Gambar 34. Proses pembuatan suspensi bakteri MRSA 0,5 <i>Mac Farland</i></p>

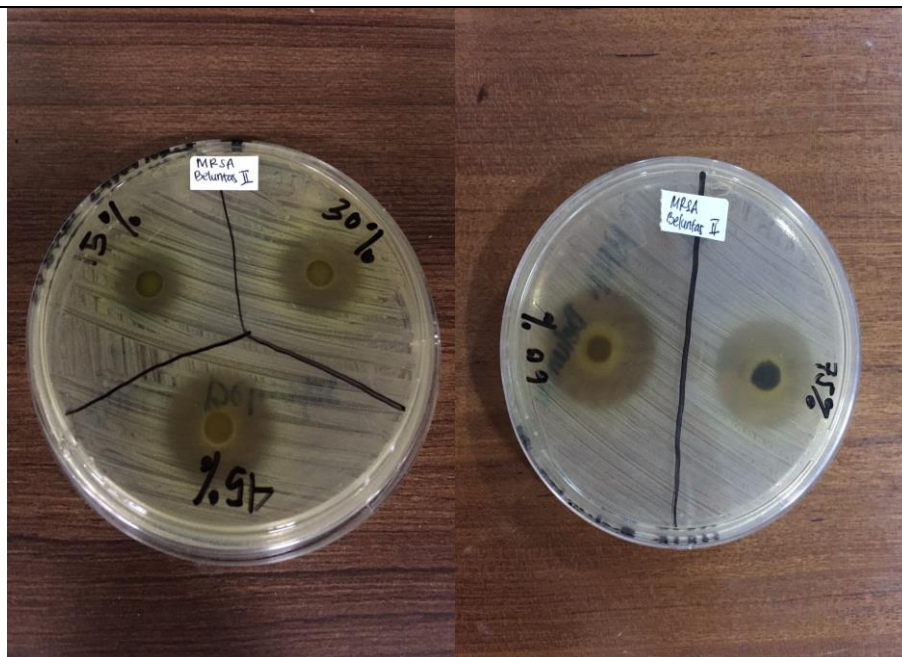
	
<p>Gambar 35. Proses uji aktivitas antibakteri</p>	<p>Gambar 36. Proses pengukuran zona hambat dengan jangka sorong</p>

D. Gambar Hasil Uji Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

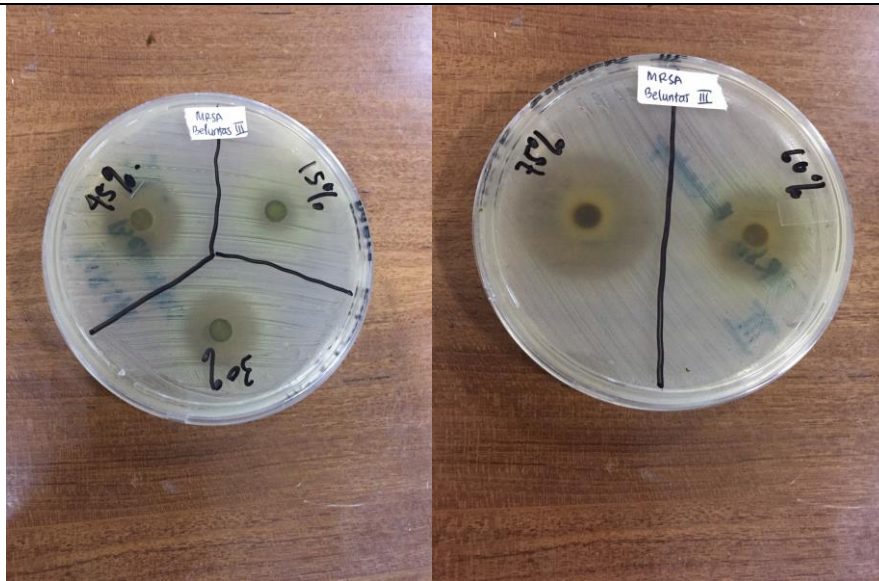
	
<p>Zona Hambat <i>Ciprofloxacin</i></p>	<p>Zona hambat etanol 96%</p>



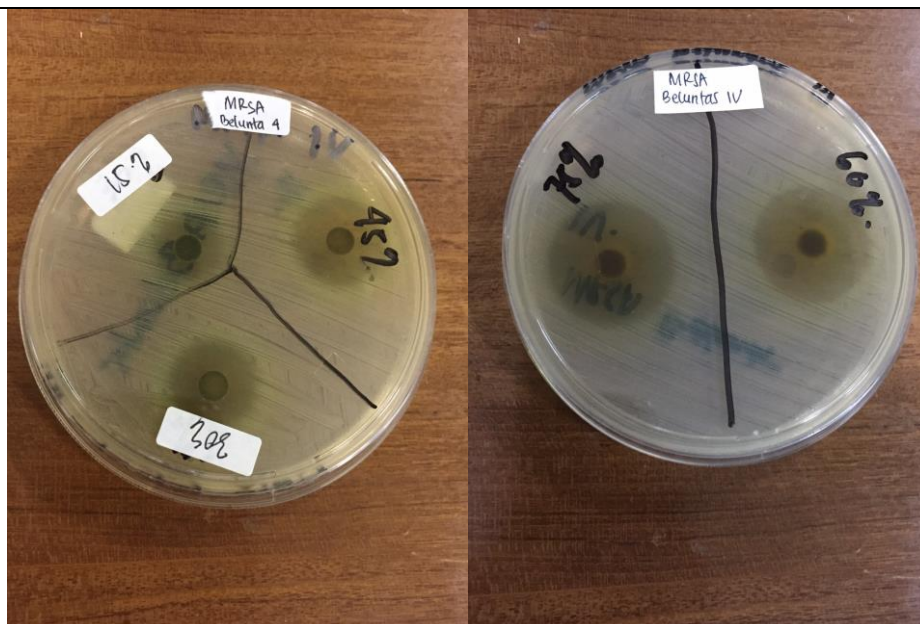
Zona hambat ekstrak etanol daun beluntas variasi konsentrasi 15, 30, 46, 60, dan 75% pengulangan I



Zona hambat ekstrak etanol daun beluntas variasi konsentrasi 15, 30, 46, 60, dan 75% pengulangan II



Zona hambat ekstrak etanol daun beluntas variasi konsentrasi 15, 30, 46, 60, dan 75% pengulangan III



Zona hambat ekstrak etanol daun beluntas variasi konsentrasi 15, 30, 46, 60, dan 75% pengulangan IV

Lampiran 6. Tabel Diameter Zona Hambat Agen Antimikroba untuk bakteri *Staphylococcus spp.* berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute*

A. Standar zona hambat *Ciprofloxacin* terhadap *Staphylococcus Spp.*

Agen Antimikroba	Kandungan cakram	Interpretasi kategori zona hambat (mm)		
		Resisten	Intermediet	Sensitif
<i>Ciprofloxacin</i>	5 µg	≤ 15	16-20	≥21

Lampiran 7. Persetujuan Etik/ *Ethical Approval*



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN SDM KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN DENPASAR
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)



Alamat : Jl. Sanitasi No 1 Sidakarya Denpasar Selatan
Telp : (0361) 710447 FAX : (0361) 710448
Website: www.poltekkes-denpasar.ac.id

PERSETUJUAN ETIK / *ETHICAL APPROVAL*

Nomor : LB.02.03/EA/KEPK/ 0044 /2019

Yang bertandatangan di bawah ini Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Denpasar, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS TERHADAP PERTUMBUHAN *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA)

yang mengikutsertakan manusia sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana/Peneliti Utama :

GUSTI AYU PUTU WAHYU PURNAMA DEWI

LAIK ETIK. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol dengan masa maksimum selama 1 (satu) tahun

Pada akhir penelitian, peneliti menyerahkan laporan akhir kepada KEPK-Poltekkes Denpasar. Dalam pelaksanaan penelitian, jika ada perubahan dan/atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kaji etik penelitian (amandemen protokol)



Denpasar, 7 Februari 2019

Ketua,

[Signature]
Gede Putra Yasa, S.Kp, M.Kep, Sp.MB