

TESIS

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK  
*Andrographis paniculata* Nees DALAM  
SERUM *Rattus norvegicus* TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN MRSA *in vitro***



**ABDUL MAJID**

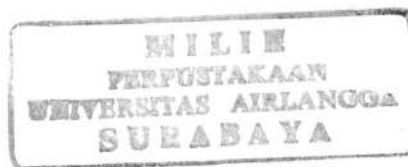


**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2005**

**TESIS**

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK  
*Andrographis paniculata* Nees DALAM  
SERUM *Rattus norvegicus* TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN MRSA *in vitro***

**ABDUL MAJID  
NIM. 090214743 M**



**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2005**

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK  
*Andrographis paniculata* Nees DALAM  
SERUM *Rattus norvegicus* TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN MRSA *in vitro***

**TESIS**

Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh

**ABDUL MAJID**  
NIM. 090214743 M

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
Tanggal 25 Januari 2005**

**Lembar Pengesahan**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 25 JANUARI 2005**

**Oleh**

**Pembimbing Ketua**



**Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK  
NIP. 130676011**

**Pembimbing**



**Dra Marijam Purwanta, MSc, Apt  
NIP. 131791033**

**Telah diuji pada**

**Tanggal 25 Januari 2005**

**PANITIA PENGUJI TESIS**

**Ketua : Dr Susilohadi Widjajanto, drh, MS**

**Anggota : Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK**

**Dra Marijam Purwanta, MSc, Apt**

**Lindawati Alimsardjono, dr, MKes, SpMK**

**Ratna Sofaria Munir, dr, MS, AFK**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabbil Aalamin, saya memanjatkan puji syukur kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan .

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Bapak Dr H Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK selaku Pembimbing Ketua sekaligus dosen selama kuliah di Mikrobiologi, sebagai Ketua Minat Mikrobiologi Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga, dan juga sebagai Penanggung Jawab Laboratorium Gastroenteritis *Tropical Disease Center (TDC)* Universitas Airlangga tempat saya melakukan penelitian, beliau dengan sabar dan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, dan saran, serta meluangkan waktu setiap saya perlukan mulai dari penyusunan proposal hingga penulisan tesis ini selesai.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Ibu Dra Marijam Purwanta, MSc, Apt selaku Pembimbing sekaligus dosen selama kuliah, yang dengan penuh perhatian dan kesabaran selalu meluangkan waktu bila saya perlukan, telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran, mulai dari penyusunan proposal hingga penyelesaian tesis ini.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada: Bapak Prof Kuntoro, dr, MPH, Dr, PH selaku Konsultan yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran. Dr Susilohadi Widjajanto, drh, MS; Ibu Lindawati Alimsardjono, dr, MKes, SpMK; Ibu Ratna Sofaria Munir, dr, MS, AFK, di tengah kesibukan beliau-beliau, dengan sabar membimbing, memotivasi dan memasukkan saran, selama penulisan proposal hingga penulisan tesis ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang tulus saya sampaikan kepada Mas Heri, Mbak Wahyu, dan Mas Sugeng, yang dengan segala pengorbanannya meluangkan waktu, membantu dan mendampingi saya selama penelitian.

Ucapan terima kasih tak lupa saya sampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Airlangga Prof H Dr Med Puruhito, dr atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan pada Program Magister di Universitas Airlangga.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof DR H Muhammad Amin, dr, SpP dan seluruh stafnya, yang telah menerima dan memberikan kesempatan kepada saya menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar.
3. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Prof Retno Handajani, dr, MS, Ph.D telah banyak membantu selama saya mengikuti pendidikan Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
4. Seluruh Dosen Minat Mikrobiologi, dan Dosen pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah mengajar, membimbing, memotivasi saya selama mengikuti kuliah.
5. Ketua TDC dan stafnya yang telah banyak membantu menyediakan fasilitas sehubungan dengan penelitian ini.
6. Rektor, Dekan, Ketua Jurusan MIPA dan Ketua Program Studi Biologi Universitas Muhammadiyah Kupang tempat saya bekerja, yang telah memberikan izin dan memotivasi saya untuk melanjutkan studi di Program Magister Pascasarjana Universitas Airlangga.

Terima kasih yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada orang tua tercinta Ayahanda A Rahman Sada dan Ibunda Hj Hadijah yang telah mengasuh, membimbing, membiayai hingga menjadi anak yang berguna, dan mendo'akan keberhasilan saya. Ucapan terima kepada adik-adik (Saudara-saudaraku) yang tercinta, telah memotivasi dan memberi bantuan baik moril maupun materil.

Terima kasih yang tak terhingga khususnya buat sang isteri tercinta Nikmah Madjid Dra MKes yang selalu bersama dalam suka maupun duka, memotivasi, membantu baik moril maupun materil, juga buat anak-anakku tersayang yang menjadi inspirasiku dan motivasiku Muhammad Abni Setiawan (Abi); Syahrurramadhan (Arul) dan Amin Masyitho (Ito) yang penuh kesabaran, ketabahan, pengertian dan kerelaan untuk selalu saya tinggalkan mengikuti kesibukkan kuliah dan penelitian hingga pendidikan saya selesai.

Kepada teman-teman Minat Studi Mikrobiologi angkatan tahun 2002:

Dwi Kriharyani, SPd, MKes; Dian Rachmawati, dr, MKes; Lukas Seran, Drs, MKes; Toni Hartono, drh; Wiwik Misaco, drh, Mkes; Yunan Jiwintarum, SSi, MKes atas kerjasama yang baik selama kuliah tidak akan saya lupakan selamanya, terima kasih semuanya.

Akhirnya saya menyampaikan permohonan maaf atas segala kesalahan dan kekhilafan selama mengikuti pendidikan pada Program Magister Universitas Airlangga. Semoga Allah SWT. mengampuni dosa-dosa kita, dan senantiasa melimpahkan rahmat dan perlindungan-Nya kepada kita sekalian, Amin.



## RINGKASAN

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK *Andrographis paniculata* Nees  
DALAM SERUM *Rattus norvegicus* TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* DAN MRSA *in vitro***

**Abdul Majid**

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang menonjol diderita dalam suatu negara yang sedang berkembang, seperti Indonesia dan bahkan di seluruh dunia sejak dulu sampai sekarang. Infeksi lebih sering akibat dari interaksi hospes dengan bakteri yang menyusun flora normal hospes, dan bukan dari organisme eksogen.

Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* terutama menimbulkan penyakit pada manusia. Setiap jaringan maupun organ tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri ini dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa suatu piemia yang fatal. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu patogen penyebab infeksi gastrointestinal dengan adanya toksin yang mengakibatkan sekresi cairan, mengganggu fungsi sel atau fungsi neurologis.

*Staphylococcus aureus* mempunyai sensitifitas yang berbeda terhadap berbagai obat antimikroba seperti: penisilin G, ampisilin, tikarsilin, nafsilin, metisilin, okasilin, dan membawa gen resistensi terhadap obat antimikroba tersebut, sehingga sering ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicillin* (MRSA).

Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik menyebabkan pengobatan dengan antibiotik yang tersedia tidak dapat diandalkan lagi dan menjadi tidak efisien. Memperhatikan aspek terapi dengan antibiotik yang tersedia terhadap bakteri ini tidak dapat diandalkan lagi, dan harganya mahal maka perlu dilakukan penelitian tentang efek tanaman obat sebagai alternatif.

Salah satu tanaman yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Tanaman ini mempunyai efek antimalaria, antikanker, dapat melawan *Salmonella* dan *Escherichia coli* yang menyerang penderita demam tifoid dan diare. Penggunaan ekstrak *Andrographis paniculata* Nees sebagai obat alternatif antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA perlu dilakukan penelitian.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan terdiri dari lima dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees, yaitu 0 mg, 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, 320 mg, masing-masing lima replikasi. Perlakuan dilaksanakan dalam dua tahap, yaitu perlakuan terhadap hewan coba dan uji aktivitas ekstrak dalam serum. Perlakuan terhadap hewan coba dilakukan dengan cara: ekstrak *Andrographis paniculata* Nees diberikan dua kali sehari selama lima hari melalui oral. Darah diambil pada hari

kelima, 1,5 jam setelah perlakuan melalui *cardiac puncture* sebanyak 5 ml. Darah tersebut disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum yang terpisah diambil lalu dipisah menjadi dua bagian. Bagian pertama dipanaskan dengan suhu 56°C selama 30 menit, dan bagian kedua tidak dipanaskan. Uji aktivitas ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum dilakukan dengan cara: masing-masing serum tersebut diuji dengan metode dilusi (pengenceran), selanjutnya ditanam pada media agar dengan metode *drop* untuk memperoleh bakteri hidup (koloni *Staphylococcus aureus* dan MRSA dalam satuan CFU/ml). Jumlah koloni bakteri yang dihitung hanya koloni bakteri dengan jumlah antara 30 sampai 300.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan dosis 20 mg sampai 80 mg menghasilkan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) atau jumlah koloni lebih dari 300, dan perlakuan dengan dosis 160 mg dan dosis 320 mg dapat dihitung, dianalisis secara deskriptif (perhitungan menggunakan *Standard Plate Count*) dan uji statistik (uji t sampel independen). Jumlah koloni MRSA pada semua perlakuan yang dicoba (dosis 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, dan 320 mg) menunjukkan jumlah koloni bakteri terlalu banyak untuk dihitung (TBUD).

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan dosis 320 mg, dan tidak menghambat pertumbuhan MRSA. Semakin tinggi ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* semakin aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi tidak aktif menghambat pertumbuhan MRSA.

## SUMMARY

**THE ANTIBACTERIAL EFFECT OF EXTRACT OF *Andrographis paniculata* Nees IN *Rattus norvegicus* SERUM ON *Staphylococcus aureus* AND MRSA in vitro**

**Abdul Majid**

Great proportion of people in the developing countries such as Indonesia, even throughout the world, suffer from infectious disease. Infection is more often caused by an interaction between host and bacteria making up the normal flora host, and not from exogenous bacteria.

Infection by *Staphylococcus aureus* mainly induces a disease in human. Each tissue and organ can be infected by the bacteria and the latter can generate emergence of disease with distinct characteristics: inflammation, necrosis, and abscess. The infection may be a fatal pyaemia. *Staphylococcus aureus* is one of pathogens causing a gastrointestinal infection in which toxin produces fluids secretion, impairs cell function or neurological function.

*Staphylococcus aureus* has different sensitivities to various antimicrobial drugs: penicillin G, ampicillin, ticarcillin, nafcillin, methicillin and oxacillin, and makes a gene resistant to these drugs, so that *Staphylococcus aureus* that is resistant to methicillin (MRSA) is frequently found.

*Staphylococcus aureus* resistance to the antibiotic causes any treatment with antibiotic cannot be relied upon anymore and become inefficient. Given the apparent fact along with the high cost of the antibiotic, then a research about the effect of herbal plant as the alternative should be done.

One of plants that people use widely as traditional drug is *sambiloto* (*Andrographis paniculata* Nees). The plant has the antimalaria and anticancer effect. It can also act against *Salmonella* and *Escherichia coli* infecting typhoid fever and dysentery patients. The use of the *Andrographis paniculata* Nees as the alternative antibacterial drug against *Staphylococcus aureus* and MRSA must be investigated accordingly.

The purpose of this research is to know the effect of the antibacterial extract of *Andrographis paniculata* Nees in *Rattus norvegicus* serum on the *Staphylococcus aureus* and Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

This is the experimental-laboratory research using the complete random design. The treatment included five extract doses of *Andrographis paniculata* Nees of 0 mg, 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg and 320 mg, each with five replications. The treatment was done in two stages, namely treatment of the laboratory animal and the testing of extract activity in serum. Treatment of the animal was performed in this way: *Andrographis paniculata* Nees extract was administered orally twice a day for five days. The blood of 5 ml was taken in fifth day, 1.5 hour after treatment through cardiac puncture. The blood was centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. Serum was taken and then divided into two parts. The first part was heated at 56°C for 30 minutes, and the second was not heated. The activity testing of *Andrographis paniculata* Nees extract in serum was done in this way: each serum was tested using

dilution method and then cultured within media by usage of drop method to secure the viable bacteria (*Staphylococcus aureus* and MRSA colony in CFU/ml).

The results showed that treatment of 20 – 80 mg produce *Staphylococcus aureus* colony which was too much to be counted and achieving more than 300 colonies, while treatment of 160 mg and 320 mg produce colony which can be counted and analyzed in descriptive manner (calculation by using *Standard Plate Count*), as well as statistically (t-test of independent sample). Number of MRSA colony in all other treatments doses (20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, and 320 mg) was too much to be counted.

Based on the results, it can be concluded that *Andrographis paniculata* Nees extract at dose 320 mg in *Rattus norvegicus* serum can inhibit the growth of the *Staphylococcus aureus* but doesn't inhibit the MRSA growth. The higher the extract in serum, the more active it inhibits *Staphylococcus aureus* growth but it doesn't actively inhibit MRSA growth.

## ABSTRACT

### THE ANTIBACTERIAL EFFECT OF EXTRACT OF *Andrographis paniculata* Nees IN *Rattus norvegicus* SERUM ON *Staphylococcus aureus* AND MRSA in vitro

Abdul Majid

The objective of this research is to find out the antibacterial effect of the extract of *Andrographis paniculata* Nees in *Rattus norvegicus* serum on the *Staphylococcus aureus* and *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

This is the experimental-laboratory research using the complete random design. The treatment included five extract doses of *Andrographis paniculata* Nees of 0 mg, 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg and 320 mg, each with five replications. The treatment was done in two stages, namely treatment of the laboratory animal and the testing of extract activity in serum. Treatment of the animal was performed in this way: *Andrographis paniculata* Nees extract was administered orally twice a day for five days. The blood of 5 ml was taken in fifth day, 1.5 hour after treatment through cardiac puncture. The blood was centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. Serum was taken and then divided into two parts. The first part was heated at 56°C for 30 minutes, and the second was not heated. The test of the activity of *Andrographis paniculata* Nees extract in serum was done in this way: each serum was tested using dilution method and then cultured on media by usage of drop method to secure the viable bacteria.

The results showed that treatment of 20 – 80 mg produce *Staphylococcus aureus* colony which was too much to be counted and achieving more than 300 colonies, while treatment of 160 mg and 320 mg produce colony which can be counted and analyzed in descriptive manner (calculation by using *Standard Plate Count*), as well as statistically (t-test of independent sample). Number of MRSA colony in all other treatments doses (20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, and 320 mg) was too much to be counted.

Based on the results, it can be concluded that *Andrographis paniculata* Nees extract at dose 320 mg in *Rattus norvegicus* serum can inhibit the growth of the *Staphylococcus aureus* but doesn't inhibit the MRSA growth. The higher the extract in serum, the more active it inhibits *Staphylococcus aureus* growth but doesn't actively inhibit MRSA growth.

**Key words:** *Andrographis paniculata* Nees, *Rattus norvegicus*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, in vitro

## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| Sampul Depan.....  | i       |
| Sampul Dalam.....  | ii      |
| Prasyarat Gelar.....   | iii     |
| Persetujuan.....   | iv      |
| Penetapan Panitia Penguji.....                                     | v       |
| Ucapan Terima Kasih .....  | vi      |
| Ringkasan.....   | ix      |
| Summary.....   | xi      |
| Abstract.....  | xiii    |
| DAFTAR ISI .....   | xiv     |
| DAFTAR TABEL .....   | xvii    |
| DAFTAR GAMBAR .....  | xviii   |
| DAFTAR LAMPIRAN .....  | xix     |
| BAB 1 PENDAHULUAN.....   | 1       |
| 1.1 Latar Belakang Masalah .....                                   | 1       |
| 1.2 Rumusan Masalah .....  | 5       |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....  | 5       |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                                       | 6       |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....                                       | 7       |
| 2.1 Tanaman Sambiloto ( <i>Andrographis paniculata</i> Nees) ..... | 7       |
| 2.1.1 Deskripsi dan klasifikasi.....                               | 7       |
| 2.1.2 Kandungan kimia .....  | 8       |
| 2.1.3 Pemanfaatan dan kegunaan tanaman .....                       | 9       |
| 2.1.4 Penelitian berkaitan dengan <i>A. paniculata</i> Nees .....  | 10      |
| 2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....                             | 12      |
| 2.2.1 Morfologi .....  | 13      |
| 2.2.2 Fisiologi .....  | 13      |
| 2.2.3 Metabolit .....  | 15      |
| 2.2.4 Penyebaran .....   | 18      |

|   |    |
|---|----|
| 2.2.5 Patogenesis.....  | 19 |
| 2.2.6 Gambaran klinis .....   | 22 |
| 2.2.7 Diagnosis laboratorium.....   | 23 |
| 2.3 <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....            | 25 |
| BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS<br>PENELITIAN .....                   | 27 |
| 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian .....                                      | 27 |
| 3.2 Hipotesis .....   | 29 |
| BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN.....                                       | 30 |
| 4.1 Rancangan Penelitian .....  | 30 |
| 4.2 Sampel Penelitian .....   | 31 |
| 4.2.1 <i>Andrographis paniculata</i> Nees.....                                | 31 |
| 4.2.2 Bakteri uji.....  | 31 |
| 4.2.3 Hewan coba.....   | 31 |
| 4.3 Variabel Penelitian .....   | 32 |
| 4.3.1 Klasifikasi variabel .....  | 32 |
| 4.3.2 Definisi operasional variabel .....                                     | 32 |
| 4.4 Bahan-Bahan Penelitian .....  | 34 |
| 4.5 Instrumen Penelitian .....  | 35 |
| 4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian .....   | 36 |
| 4.6.1 Lokasi penelitian.....  | 36 |
| 4.6.2 Waktu penelitian.....   | 36 |
| 4.7 Prosedur Pengumpulan Data .....   | 36 |
| 4.7.1 Tahap persiapan .....   | 36 |
| 4.7.2 Tahap pelaksanaan .....   | 37 |
| 4.8 Cara Pengolahan dan Analisis Data .....                                   | 42 |
| BAB 5 ANALISA HASIL PENELITIAN.....   | 43 |
| 5.1 Data Penelitian.....  | 43 |
| 5.1.1 Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> .....                          | 43 |
| 5.1.2 Pertumbuhan MRSA.....   | 44 |
| 5.1.3 Efek antibakteri ekstrak <i>A. paniculata</i> Nees <i>in vitro</i> .... | 45 |

|  |    |
|--|----|
| 5.2 Analisis dan Hasil Penelitian .....  | 47 |
| 5.2.1 Analisis pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> .....                              | 47 |
| 5.2.2 Analisis pertumbuhan MRSA.....   | 51 |
| 5.2.3 Analisis efek antibakteri ekstrak <i>A. paniculata</i> Nees<br><i>in vitro</i> ..... | 51 |
| BAB 6 PEMBAHASAN .....   | 53 |
| 6.1 Efek Antibakteri <i>A. paniculata</i> Nees Terhadap <i>S. aureus</i> .                 | 53 |
| 6.2 Efek Antibakteri <i>A. paniculata</i> Nees Terhadap MRSA ....                          | 60 |
| BAB 7 PENUTUP .....  | 65 |
| 7.1 Kesimpulan .....   | 65 |
| 7.2 Saran .....  | 65 |
| DAFTAR PUSTAKA .....   | 66 |
| LAMPIRAN .....   | 71 |



## DAFTAR TABEL

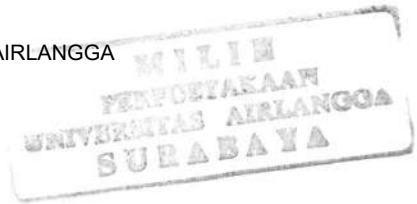
|  | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 5.1 : Jumlah koloni <i>Staphylococcus aureus</i> per ml setelah paparan ekstrak <i>Andrographis paniculata</i> Nees dalam serum <i>Rattus norwegicus</i> dengan metode <i>drop</i> .....       | 44      |
| Tabel 5.2 : Jumlah koloni MRSA per ml setelah paparan ekstrak <i>Andrographis paniculata</i> Nees dalam serum <i>Rattus norwegicus</i> dengan metode <i>drop</i> .....                               | 45      |
| Tabel 5.3 : Jumlah koloni <i>Staphylococcus aureus</i> dan MRSA per ml setelah paparan ekstrak <i>Andrographis paniculata</i> Nees dengan metode <i>drop</i> .....                                   | 46      |
| Tabel 5.4 : Jumlah koloni <i>Staphylococcus aureus</i> dan (CFU/ml) setelah paparan ekstrak <i>Andrographis paniculata</i> Nees dalam serum <i>Rattus norwegicus</i> dengan metode <i>drop</i> ..... | 48      |
| Tabel 5.5 : Deskripsi data masing-masing sampel yang diuji .....   | 49      |

**DAFTAR GAMBAR**

|  | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 2.1 : Siklus <i>Staphylococcus aureus</i> di Rumah Sakit dan<br>di Masyarakat ..... | 19      |
| Gambar 2.2 : Penyakit infeksi oleh <i>Staphylococcus aureus</i> .....                      | 20      |
| Gambar 3.1 : Kerangka konseptual penelitian .....  | 28      |
| Gambar 4.1 : Bagan rancangan penelitian .....  | 30      |
| Gambar 4.2 : Urutan prosedur pelaksanaan penelitian .....                                  | 40      |
| Gambar 4.3 : Bagan alur penelitian .....   | 41      |
| Gambar 6.1 : Struktur molekul adrografolida.....   | 57      |

## DAFTAR LAMPIRAN

|   | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1 : Surat izin melaksanakan penelitian .....   | 71      |
| Lampiran 2 : Surat izin pemakaian alat di TDC-Unair .....   | 72      |
| Lampiran. 3 : Data hasil penelitian jumlah koloni <i>S. aureus</i> setelah paparan ekstrak <i>Andrographis paniculata</i> Nees dalam serum <i>Rattus norwegicus</i> dengan metode <i>drop</i> ..... | 73      |
| Lampiran. 4 : Data hasil penelitian jumlah koloni MRSA setelah paparan ekstrak <i>Andrographis paniculata</i> Nees dalam serum <i>Rattus norwegicus</i> dengan metode <i>drop</i> .....             | 74      |
| Lampiran. 5 : Data hasil penelitian jumlah koloni <i>S. aureus</i> dan MRSA setelah paparan ekstrak <i>Andrographis Paniculata</i> Nees dengan metode <i>drop</i> .....                             | 75      |
| Lampiran 6 : Data Jumlah Koloni <i>S. aureus</i> (CFU/ml) .....   | 76      |
| Lampiran 7 : Hasil uji normalitas data .....  | 77      |
| Lampiran 8 : Hasil uji t sampel independen .....  | 78      |
| Lampiran 9 : Surat keterangan determinasi <i>A. paniculata</i> Nees .....   | 79      |
| Lampiran 10 : Gambar tanaman <i>A. paniculata</i> Nees .....  | 80      |
| Lampiran 11 : Gambar <i>Rattus norwegicus</i> .....   | 81      |
| Lampiran 12 : Gambar pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i> pada berbagai dosis ekstrak <i>A. paniculata</i> Nees dalam serum <i>Rattus norwegicus</i> .....  | 82      |
| Lampiran 13 : Gambar pertumbuhan MRSA pada berbagai dosis ekstrak <i>A. paniculata</i> Nees dalam serum <i>Rattus norwegicus</i> .....  | 83      |



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang menonjol diderita dalam suatu negara yang sedang berkembang, seperti Indonesia dan bahkan di seluruh dunia sejak dulu sampai sekarang (Herman, 1992; Hashim, 2003). Infeksi lebih sering akibat dari interaksi hospes dengan bakteri yang menyusun flora normal hospes, dan bukan dari mikroorganisme eksogen (Shulman *et al.*, 1994).

Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* terutama menimbulkan penyakit pada manusia. Setiap jaringan maupun organ tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri ini dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa suatu piemia yang fatal. Umumnya bakteri ini menimbulkan penyakit yang bersifat sporadik bukan epidemik (Warsa, 1994)

Sumber infeksi *Staphylococcus aureus* adalah tumpukan bakteri pada lesi manusia, benda-benda yang terkontaminasi lesi tersebut (Jawetz *et al.* 2001). Bakteri patogen ini, sering menghemolisis darah, menggumpalkan plasma, dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin. Menurut Baron *et al.* (1994) *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu patogenik penyebab infeksi gastrointestinal dengan adanya produksi toksin yang mengakibatkan sekresi cairan, mengganggu fungsi sel atau fungsi neurologis.

*Staphylococcus aureus* mempunyai sensitifitas yang berbeda terhadap berbagai obat antimikroba seperti: penisilin G, ampisilin, tikarsilin, nafsilin, metisilin, okasilin.

Selain itu dapat membawa gen resisten terhadap tetrasiklin, eritromisin, dan aminoglikosida (Brooks *et al.*, 1998)

Menurut Surono (1997) sekitar 40% *Staphylococcus aureus* yang diisolasi di rumah sakit diketahui resisten terhadap semua antibiotik kecuali terhadap vankomisin. Salah satunya adalah *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Menurut Kloos dan Bannerman (1999) bahwa *strain Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) mengalami penurunan sensitifitas terhadap vankomisin. Suatu saat bakteri ini akan membentuk mutan (bakteri yang bermutasi dan mempunyai sifat-sifat baru) yang juga kebal terhadap serangan vankomisin. Kalau itu terjadi penderita pneumonia (radang paru-paru) atau infeksi pasca bedah akibat infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* mutan ini tidak dapat lagi diobati dengan antibiotik manapun. Menurut Hashim (2003) walaupun sering ditemukan MRSA, antibiotik pilihan adalah vankomisin.

Para pakar yakin, suatu saat akan terbentuk bakteri super yang tidak dapat dilawan dengan vankomisin dan antibiotik apapun. Bakteri ini mungkin dari jenis *Enterococcus* karena sudah ada kira-kira 20% infeksi bakteri ini ditemukan di rumah sakit di Amerika Serikat yang sudah kebal terhadap vankomisin. Jumlah ini akan meningkat tiap tahun. Sifat resistensi terhadap vankomisin dari bakteri itu dalam tahun 1992 terbukti dapat dipindahkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Surono, 1997).

Pertukaran *plasmid* dalam sel bakteri resisten di antara aneka jenis bakteri mudah sekali, karena bakteri-bakteri ini selalu hidup berdampingan pada kulit atau saluran cerna manusia, dan selalu terjadi interaksi antara aneka jenis bakteri tersebut. Timbulnya resistensi terhadap antibiotik pada bakteri oportunistik ini, mengakibatkan pengobatan dengan antibiotik yang tersedia tidak dapat diandalkan lagi dan menjadi

tidak efisien (Surono, 1997).

Memperhatikan aspek terapi dengan antibiotik yang tersedia terbatas, kurang dapat diandalkan lagi, dan harganya mahal, maka perlu dilakukan penelitian tentang efek tanaman obat sebagai alternatif. Banyak laporan menjelaskan bahwa berbagai tanaman telah digunakan untuk mengatasi penyakit yang disebabkan bakteri. Survey penggunaan obat tradisional di masyarakat di Sulawesi, Kalimantan Timur, Aceh, dan Madura telah dilakukan. Dari survey Etnobotani di daerah oleh Pustlitbang Biologi LIPI, dapat disimpulkan bahwa masyarakat, khususnya masyarakat pedesaan masih mengandalkan tanaman disekitarnya untuk menanggulangi penyakit, termasuk disebabkan oleh bakteri (Dzulkarnain dkk., 1996).

Berbagai tanaman obat Indonesia yang digunakan dalam pengobatan tradisional, salah satu yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional adalah *sambiloto* (*Andrographis paniculata* Nees). Gusrizal (2002) melaporkan bahwa *sambiloto* sejak lama digunakan oleh nenek moyang dalam pengobatan tipus, disentri, penurunan panas dan demam, melawan bisa ular, borok, luka bakar, gatal-gatal, dan lain-lain. Orang India selama ratusan tahun menggunakan herba *sambiloto* untuk tonikum, menurunkan panas dan demam, memperkuat pencernaan, obat cacing, pengobatan diabetes dan hepatitis. Dalam pengobatan tradisional Cina, *sambiloto* digunakan untuk menghilangkan racun ular, pengobatan pneumonia, nefritis, tonsilitis, infeksi tenggorokan, gangguan saluran cerna, dan batuk dengan sputum yang kental.

Pengalaman secara empiris itu menjadi dasar untuk mengembangkan *sambiloto* secara ilmiah agar dapat diterima sebagai obat dalam pelayanan kesehatan formal. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tanaman *sambiloto*

bersifat menurunkan panas, antipanas, antibiotik, antiradang, antidiare, antitumor, dan hepatoprotektor. Selain itu hasil penelitian lain menunjukkan sambiloto sangat efektif mengobati infeksi dan merangsang fagositosis (*immunostimulant*), mempunyai efek hipoglikemik, hipotermia, diuretik, antibakteri, analgesik, meningkatkan kekebalan tubuh selular serta meningkatkan aktivitas kelenjar-kelenjar tubuh (Winarto, 2003; Lewis, 2003).

Menurut *Chines Medical Journal*, ekstrak *Andrographis paniculata* Nees mampu mengatasi penyempitan pembuluh darah akibat tingginya kolesterol darah (Gusrizal, 2002). Susanti (2001) melaporkan bahwa senyawa andrografolida dari ekstrak herba *Andrographis paniculata* Nees mempunyai efek antimalaria dengan cara menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* stadium gametosit *in vitro*, dan bahkan lebih efektif dibandingkan primakuin. Selain itu Sukardiman dkk. (2001) melaporkan juga bahwa senyawa andrografolida hasil isolat dari tanaman sambiloto memiliki efek sitotoksik terhadap kultur sel primer kanker leukemia manusia secara bermakna.

Beberapa efek farmakologis atau efek pengobatan sambiloto terhadap bakteri yang sudah diketahui adalah sari sambiloto dapat melawan bakteri *Salmonella* dan *Escherichia coli* pada penderita tifoid dan diare, serta bakteristatik pada *Shigella dysenteriae* (Gusrizal, 2002; Prapanza dan Marianto, 2003).

Informasi tentang konsentrasi antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees maupun kandungan senyawa kimia yang diperoleh dari ekstraksi *Andrographis paniculata* Ness terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) belum diketahui.

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas maka perlu dilakukan penelitian efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA *in vitro*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang diteliti dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus* menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA?
2. Apakah ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus* mematikan bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA?
3. Apakah semakin tinggi dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus*, semakin aktif menghambat/mematikan bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui daya hambat ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.



2. Mengetahui dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* yang menghambat/mematikan bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.
3. Mengetahui hubungan antara tingkatan dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* dengan sensitifitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat bagi:

1. Pengusaha obat tradisional dan konsumen mengenai efek ekstrak *Andrographis paniculata* Nees terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.
2. Ilmu kedokteran berkaitan dengan obat alternatif terhadap bakteri MRSA.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)

##### 2.1.1 Deskripsi dan Klasifikasi

Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) merupakan tumbuhan berkhasiat obat yang banyak digunakan secara tradisional oleh banyak suku di Indonesia. Menurut data spesimen herbarium di Herbarium Bogoriense, sambiloto sudah ada di Indonesia sejak tahun 1893. Tumbuhan ini berasal dari India, kemudian dalam perkembangannya masuk ke daftar tanaman obat di daerah Cina, Malaysia, dan Indonesia (Winarto, 2003). Penyebaran sambiloto hampir seluruh kepulauan Nusantara pada ketinggian 1-700 meter di atas permukaan laut (Stenis, 1987, dalam Sukardiman dkk., 2001).

Di beberapa daerah, sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dikenal dengan berbagai nama, yaitu: bidara, sambiroto, sandiloto, sadilata, sambilata, takilo, sambiloto, paitan (Jawa), ki oray, takila, ki peurat (Sunda); samiroto (Bali); pepaitan atau ampadu (Sumatera) (Widyawaruyanti, 1999; Prapanza dan Marianto, 2003)

Tanaman ini mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: tumbuh tegak dengan tinggi 40-90 cm, mempunyai banyak cabang dengan letak yang berlawanan, bentuk segi empat, dan tidak berambut. Daun berbentuk lanset, ujung daun dan pangkal daun tajam atau agak tajam, tetapi daun rata, panjang daun 3-12 cm dan lebar 1-3 cm. Panjang tangkai daun 5-2 mm dan bagian atas bentuknya seperti daun pelindung. Perbungaan tegak bercabang-cabang, tangkai bunga 3-7 mm, panjang kelopak bunga 3-4 mm. Bunga berbibir seperti tabung, panjang 6 mm, bibir bunga bagian atas berwarna putih

dengan warna kuning di bagian atasnya, ukuran 7-8 mm. Bibir bunga bawah lebar berbentuk biji, berwarna ungu dan panjang 6 mm. Tangkai sari sempit dan melebar pada bagian pangkal. Panjang 6 mm. Bentuk buah jorong dengan ujung yang tajam, panjang sekitar 2 cm. Bila tua agak pecah menjadi empat keping (Widyawaruyanti, 1999; Sukardiman dkk., 2001; Winarto, 2003).

Secara taksonomi (berdasarkan ciri-ciri dan sifat fisik tumbuhan), sambiloto dapat diklasifikasikan, sebagai berikut:

|            |  |
|------------|--|
| Divisi     | : Spermatophyta                        |
| Sub Divisi | : Angiospermae                         |
| Kelas      | : Dicotyledoneae                       |
| Sub Kelas  | : Sympetalae / Metaclamydeae           |
| Ordo       | : Tubiflorae                           |
| Famili     | : Acanthaceae                          |
| Sub Famili | : Acanthoidae                          |
| Genus      | : <i>Andrographis</i>                  |
| Spesies    | : <i>Andrographis paniculata</i> Nees. |

(Tjitrosoepomo, 1988; Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991; Santa, 1996),

### 2.1.2 Kandungan Kimia

Semua bagian tanaman *Andrographis paniculata* Nees, seperti daun, batang, bunga, dan akar, terasa sangat pahit. Rasa pahit itu disebabkan oleh adanya senyawa andrografolida yang banyak terdapat di dalam tanaman ini, terutama bagian daun dan batangnya. Di dalam daun kadar senyawa andrografolida sebesar 2,5 – 4,8% dari berat keringnya (Prapanza, dan Marianto, 2003). Daun dan cabang juga mengandung saponin, flavonoida, dan tanin, kalium, kalsium, natrium, asam kersik, dan damar (Winarto, 2003). Mastuda *et al.* (1994) menyatakan pada bagian akar umumnya terdapat senyawa

golongan flavonoid yang terdiri atas polimetoksiflavon, andrographin, paniculin, mono-o-metil wightin dan apigenin-7,4 dimetilester (Widyawaruyanti, 1999).

Selain andrografolida sebagai kandungan utamanya yang terasa pahit, tanaman ini juga mengandung komponen lakton lain yang juga terasa pahit yaitu 14-deoksi-11-oxoandrografolida ( $C_{20}H_{28}O_5$ ) dengan titik leleh  $98-100^{\circ}C$ , 14-deoksi-11-12-didehidroandrografolida ( $C_{20}H_{30}O_4$ ) dengan titik leleh  $203-204^{\circ}C$ , 14-deoksiandrografolida ( $C_{20}H_{30}O_4$ ) dengan titik leleh  $175^{\circ}C$ . Sedangkan kandungan minor tanaman ini yang tidak pahit adalah neoandrografolida ( $C_{26}H_{40}O_8$ ) dengan titik leleh  $167-168^{\circ}C$  (Anonim, 2002).

Selanjutnya juga dikatakan dari ekstrak ether petroleum daun *Andrographis paniculata* Nees dari Bangladesh telah diisolasi:  $\alpha$ - $\beta$ -lakton yang tidak jenuh, seperti: homoandrografolida ( $C_{22}H_{32}O_9$ ) dengan titik leleh  $115^{\circ}C$ , andrografosterol ( $C_{23}H_{38}O$ ) dengan titik leleh  $135^{\circ}C$ , andrografana ( $C_{40}H_{82}$ ) dengan titik leleh  $67-68^{\circ}C$ , andrografona ( $C_{32}H_{64}O$ ) dengan titik leleh  $85^{\circ}C$ , lilin dan 2 ester mengandung kelompok hidroksi. Akar herba sambiloto juga mengandung epigenin 7,4-di-o-metil eter, andrografolida dan flavonoid alami lainnya, 5-hidroksi 7,8,2,3-tetrametoksi flavonoid ( $C_{19}H_{18}O_7$ ) dengan titik leleh  $150-151^{\circ}C$ . Juga mengandung monohidroksi trimetil flavon, andrografin ( $C_{18}H_{16}O_6$ ) dengan titik leleh  $190-191^{\circ}C$  dan dihidroksi-di-metoksiflavon, panikolin ( $C_{17}H_{14}O_6$ ) dengan titik leleh  $263 - 264^{\circ}C$ .

### 2.1.3 Pemanfaatan dan Kegunaan Tanaman

Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) di Indonesia telah digunakan secara tradisional sebagai obat sejak dulu. Adanya kecenderungan masyarakat mengkonsumsi tanaman obat karena obat kimia memiliki beberapa kelemahan antara

lain adanya efek samping langsung maupun tidak langsung, harganya yang cenderung tinggi dan tidak semua obat kimia efektif menyembuhkan penyakit tertentu (Winarto, 2003).

Penggunaan tanaman sambiloto sebagai obat, baik dalam bentuk daun segar, simplisia, kapsul serbuk, infus, dan kapsul ekstrak. Beberapa faktor yang harus dipertimbangkan dalam menentukan dosis yaitu jenis penyakit, komplikasi, umur, jenis kelamin, lama penyakit, dan gejalanya (Winarto, 2003).

Berikut ini beberapa pengobatan yang menggunakan sambiloto atau campurannya berdasarkan pengalaman pengobatan, praktisi, serta keluarga secara turun temurun, yaitu sebagai obat: borok, keracunan, tipus, demam, gatal-gatal, digigit serangga atau ular berbisa, kencing manis, disentri, eksema, radang telinga, radang usus buntu, radang amandel, radang lambung, radang saluran kencing, radang kantung empedu, radang vagina, radang payudara, radang sendi, rematik, kudis, antikanker (kanker tulang, otak, payudara), TBC Paru, batuk rejan, gangguan prostat, mata merah, jerawat, hepatitis, infeksi ginjal, wasir (ambaien), demam berdarah, infeksi ginjal, flu, sakit kepala, masuk angin, difteri, ayun, kencing nanah, antimalaria, penurunan tekanan darah, keputihan, asma menahun, HIV/AIDS (Widyawaruyanti, 1999; Prapanza dan Marianto, 2003; Winarto, 2003). Di India selain digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, juga digunakan sebagai tonikum. Sedangkan di China tanaman ini digunakan sebagai obat antipiretik, anti inflamasi, antidiare, antidisentri (Widyawaruyanti, 1999).

#### **2.1.4 Penelitian-Penelitian Berkaitan Dengan *A. paniculata* Nees**

Secara tradisional di Indonesia herba tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) telah digunakan oleh masyarakat. Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh

informasi bahwa sambiloto dapat digunakan sebagai obat anti malaria (Widyawaruyanti, 1999), obat anti kanker (Dwiputro, 2000), obat anti leukemia (Sukardiman dkk., 2001). Sedangkan Heyne (1987) melaporkan tanaman ini sebagai obat tonsilitis, bisul, keracunan, tifus, demam, gatal-gatal, digigit serangga atau ular berbisa, kencing manis, disentri, radang telinga, eksema, radang usus buntu, masuk angin, difteri, ayan, kencing nanah, anti malaria, penurunan tekanan darah, keputihan dan penambah nafsu makan. Chang dan Bur (1965) dalam Nikmah (2004) menyatakan herba tanaman ini mempunyai efek antidiare, dimana sediaan ekstrak dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Proteus vulgaris* dan *Shigella dysenteriae*. Sedangkan penelitian mengenai bioaktivitas dari senyawa murni andrografolida yang diperoleh dari herba tanaman ini juga telah banyak dilakukan.

Dari berbagai laporan penelitian bioaktivitas menyebutkan bahwa andrografolida mempunyai berbagai efek farmakologi, antara lain sebagai imunomodulator yaitu menstimulasi produksi antibodi dan penurunan reaksi alergi (Widyawaruyanti, 1999; Hariati, 1991). Isolat andrografolida juga merupakan imunostimulan terhadap sekresi IFN- $\gamma$  oleh subset limfosit T Helper (TH1) dan imunosupresan terhadap sekresi TNF  $\alpha$  oleh subset limfosit TH1 dari mencit (Widyawaruyanti, 1998). Selain itu senyawa andrografolida mempunyai efek sitotoksitas pada kultur sel rabdomiosarkoma (Dwiputro, 2000) tetapi tidak menimbulkan teratogenik pada mencit (Rahmawati, 2001). Juga telah dilaporkan bahwa senyawa andrografolida yang merupakan hasil isolasi dari tanaman *A. paniculata* Nees. mempunyai aktivitas antimalaria dengan

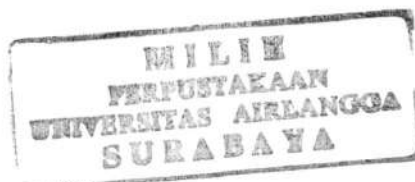
cara menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* stadium gametosit *in vitro*, bahkan lebih efektif dibandingkan primakuin (Susanti, 2001).

Uji klinis untuk diare akut dengan cara acak tersamar ganda, membandingkan hasil pemberian serbuk sabiloto dengan tetrasiklin pada pengobatan diare akut dan disentri basileri. Hasil menunjukkan bahwa sabiloto mampu menurunkan frekwensi dan jumlah feses dibandingkan dengan tetrasiklin (Winarto, 2003).

## 2.2 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* merupakan parasit pada manusia yang ada di mana-mana. Sumber infeksi utama adalah tumpukan bakteri pada lesi manusia, benda-benda yang terkontaminasi lesi tersebut, saluran respirasi manusia dan kulit (Jawetz *et al.*, 2001) *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama pada manusia. Infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang terutama menimbulkan penyakit pada manusia. Setiap jaringan maupun organ tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri ini dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa suatu piemia yang fatal. Umumnya bakteri ini menimbulkan penyakit yang bersifat sporadik bukan epidemik (Warsa, 1994; Jawetz *et al.*, 2001)

Bakteri patogen ini, sering menghemolisis darah, menggumpalkan plasma, dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin. Menurut Baron (1994) bahwa salah satu patogenik penyebab infeksi gastrointestinal adalah adanya produksi toksin yang mengakibatkan sekresi cairan, mengganggu fungsi sel atau fungsi neurologis.



### 2.2.1 Morfologi

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri berbentuk kokus dengan diameter sekitar 0,8-1  $\mu\text{m}$  tersusun bergerombol. Dalam medium cair bakteri ini dapat tersusun sendiri-sendiri, berpasangan, empat-empat atau membentuk rantai. Dengan pewarnaan Gram menunjukkan Gram positif (Joklik *et al.*, 1992).

Pada sediaan langsung yang berasal dari nanah dapat terlihat tersusun sendiri-sendiri, berpasangan, menggerombol dan bahkan dapat tersusun seperti rantai pendek. Bakteri ini tidak bergerak, dan tidak berspora (Warsa, 1994).

### 2.2.2 Fisiologi

Bakteri ini tumbuh dengan cepat pada berbagai macam media, dan aktif memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan berbagai macam pigmen dari putih hingga kuning. Beberapa spesies bakteri merupakan bagian dari flora normal kulit dan membran mukosa manusia, sedangkan yang lain merupakan penyebab dari abses berbagai infeksi bernanah, bahkan menyebabkan septikemia yang fatal (Joklik *et al.*, 1992). Bakteri yang patogen, sering menghemolisis darah, menggumpalkan plasma, dan menghasilkan berbagai enzim ekstraselular dan toksin. Keracunan makanan yang sering dijumpai disebabkan oleh *Staphylococcus enterotoxin*. (Joklik *et al.*, 1992).

*Staphylococcus enterotoxin* secara cepat berkembang menjadi resisten terhadap berbagai macam antibakteri dan menjadi problem dalam terapi. *Staphylococcus enterotoxin* mempunyai sifat koagulasi positif yang membedakan dengan spesies lain. *Staphylococcus enterotoxin* merupakan patogen yang utama bagi manusia (Brooks *et al.*, 1998).



*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri fakultatif aerob namun pertumbuhannya lebih baik pada keadaan aerob. Bakteri tersebut tumbuh dengan cepat pada ruang 20 - 25°C, pH optimum untuk pertumbuhan adalah 7,0 - 7,5 (Joklik *et al.*, 1992). Pada medium padat koloni yang tumbuh berbentuk bundar, halus, cembung, dan berkilau. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas. Pigmen tidak terbentuk pada kondisi anaerob atau dalam medium cair. Berbagai tingkat hemolisis dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan kadang-kadang *Staphylococcus* lain (Brooks *et al.*, 1998).

Energi diperoleh melalui jalur respirasi dan fermentasi. Jalur pentosa fosfat dan siklus asam sitrat terjadi dalam kondisi pertumbuhan yang sesuai. Kemampuan *Staphylococcus* untuk tetap bertahan dalam kondisi potensial oksidasi reduksi yang tinggi maupun yang rendah merupakan keuntungan bagi bakteri ini agar tetap hidup dalam habitatnya dipermukaan mukosa dan memenangkan kompetisi dengan bakteri lain di tempat infeksi (Joklik *et al.*, 1992). Selanjutnya dikatakan enzim katalase yang dihasilkan oleh bakteri yang tumbuh dalam keadaan aerob. *Staphylococcus aureus* patogen menghasilkan banyak substansi ekstraselular (Brooks *et al.*, 1998).

*Staphylococci* cenderung tahan terhadap lingkungan yang tidak menguntungkan. Bakteri tersebut dapat hidup selama berminggu-minggu dalam nanah, sputum yang kering dan agar miring yang tertutup dapat bertahan hidup hingga beberapa bulan. Sebagian besar *strain* tahan terhadap pemanasan dan membutuhkan suhu 60°C selama 1 jam untuk membunuhnya (Joklik *et al.*, 1992).

*Staphylococcus aureus* memproduksi beta laktamase sehingga bakteri ini mempunyai kepekaan yang berbeda terhadap berbagai obat antimikroba seperti:

penisilin G, ampicilin, tikarsilin, nafsilin, metisilin, okasilin. Bakteri ini juga dapat membawa gen resisten terhadap tetrasiklin, eritromisin, dan aminoglikosida (Brooks *et al.*, 1998).

Sekitar 40% *Staphylococcus aureus* yang dapat diisolasi dirumah sakit diketahui kebal terhadap semua antibiotik kecuali terhadap vankomisin. Suatu saat bakteri ini akan membentuk mutan (bakteri yang bermutasi dan mempunyai sifat-sifat baru) yang juga kebal terhadap serangan vankomisin. Kalau itu terjadi penderita pneumonia (radang paru-paru) atau infeksi pascabedah akibat infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* tidak dapat lagi diobati dengan antibiotik manapun (Surono, 1997). Namun menurut Hashim (2003) belakangan ini sering ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten metisilin sehingga antibiotik pilihan masih vankomisin.

### 2.2.3 Metabolit

Menurut Warsa (1994) bakteri *Staphylococcus aureus* membentuk tiga macam metabolit, yaitu :

- a. Metabolit bersifat nontoksin, terdiri dari: antigen permukaan, koagulase, hialuronidase, fibrinolisin, gelatinase, protease, fosfatase dan katalase.
- b. Metabolit bersifat eksotoksin, terdiri dari: Alfa hemolisin, Beta hemolisin, Delta hemolisin, Leukosidin, Sitotoksin, dan Toksin eksfoliatif.
- c. Metabolit bersifat enterotoksin; toksin ini menyebabkan keracunan makanan terutama yang terdiri dari karbohidrat dan protein.

#### Metabolit Nontoksin

- a. **Antigen permukaan:** Antigen ini berfungsi antara lain mencegah serangan oleh faga, mencegah reaksi koagulase dan mencegah fagositosis.

- b. **Koagulase:** Enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat karena faktor koagulase reaktif di dalam serum. Faktor ini bereaksi dengan koagulase dan menghasilkan suatu esterase yang dapat membangkitkan aktivitas penggumpalan, sehingga terjadi deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis.
- c. **Hialuronidase:** enzim ini terutama dihasilkan oleh koagulase positif. Penyebaran bakteri dipermudah oleh adanya enzim ini. Sehingga enzim ini juga disebut sebagai *Spreading factor*.
- d. **Fibrinolisin:** enzim ini dapat melisiskan bekuan darah dalam pembuluh darah yang sedang meradang sehingga bagian-bagian dari bekuan yang penuh bakteri terlepas dan menyebabkan terjadinya lesi metastasis di lain tempat.
- e. **Gelatinase dan Protease:** Gelatinase adalah suatu enzim yang dapat mencairkan enzim. Protease dapat melunakkan serum yang telah diinspirasikan (diupkan airnya) dan menyebabkan nekrosis jaringan termasuk jaringan tulang.
- f. **Fosfatase, Liosin:** Ada korelasi antara aktivitas asam fosfatase, patogenitas kuman, dan pembentukan koagulase, tetapi pemeriksaan fosfatase jauh lebih sulit dan kurang khas jika hendak dipakai sebagai petunjuk virulensi. Lisosin penting untuk menentukan patogenitas bakteri.
- g. **Katalase:** adanya enzim ini dapat diketahui jika pada koloni *Staphylococcus* berumur 24 jam dituangi  $H_2O_2$  3% dan timbul gelembung-gelembung udara.

### Metabolit Eksotoksin

- a. **Alfa Hemolisin:** Toksin ini dibuat oleh *Staphylococcus* virulen dan dapat menyebabkan nekrosis pada kulit manusia dan hewan; dalam dosis yang besar

dapat membunuh manusia dan hewan; bersifat sitotoksik terhadap jaringan biakan manusia.

- b. **Beta Hemolisin:** Dapat menyebabkan terjadinya *hot-cold lysis* pada sel darah merah domba dan sapi.
- c. **Delta Hemolisin:** Toksin ini dapat melisis sel darah merah manusia dan kelinci. Jika toksin pekat disuntikkan pada kelinci secara intra vena, maka akan terjadi kerusakan ginjal yang akut dan berakibat fatal.
- d. **Leukosidin:** Toksin ini dapat merusak sel darah putih manusia dan binatang (domba dan kelinci).
- e. **Sitotoksin:** Toksin ini mempengaruhi arah gerak sel darah putih dan bersifat termotabil. Sel darah putih dapat melakukan fagositosis tetapi tidak dapat menghancurkan bakterinya.
- f. **Eksfoliatif:** Toksin ini dianggap sebagai penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome* (SSS), antara lain meliputi dermatitis ekstoliativa pada neonatus (*Ritter's disease*) impetigo bulosa, *Staphylococcal Scarletiform Rash* dan toksin epidermal nekrolisis pada orang dewasa.

### **Metabolit Enterotoksin**

Toksin ini terdiri dari protein yang bersifat: nonhemolitik; non-dermonekrotik; nonparalitik; termotabil, dalam air mendidih tahan selama 30 menit; tahan terhadap pepsin dan tripsin. Toksin ini penyebab keracunan makanan, terutama dari karbohidrat dan protein. Masa tunas antara 2 - 6 jam dengan gejala yang timbul secara mendadak, yaitu mual, muntah-muntah dan diare. Kadang-kadang dapat terjadi kolaps sehingga dikira kolera.

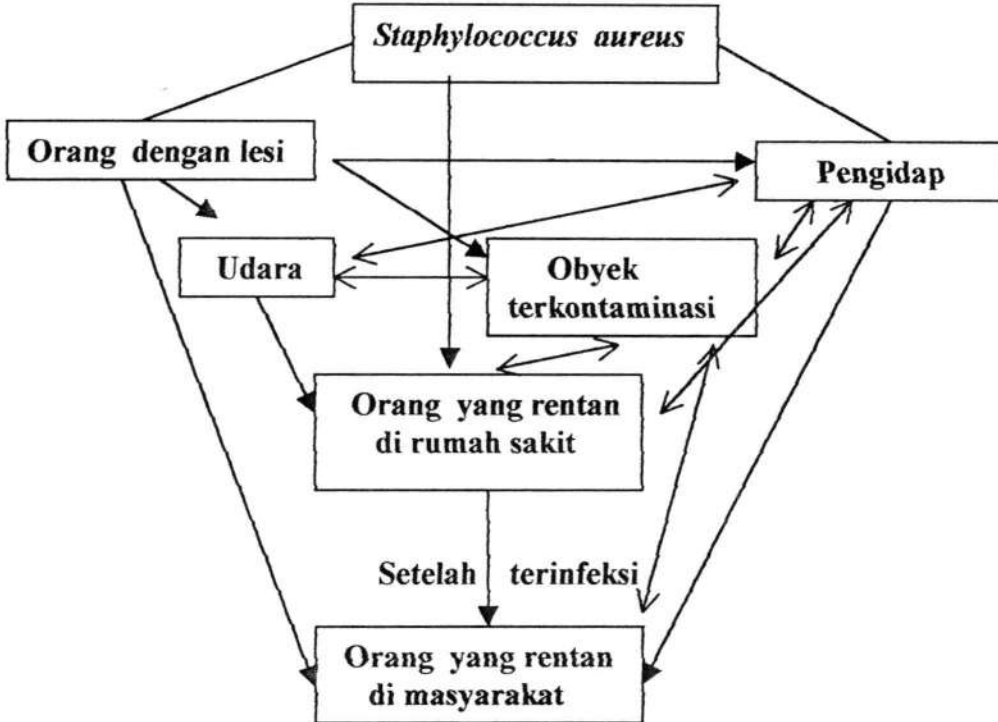
#### 2.2.4 Penyebaran

*Staphylococcus aureus* yang dibawa pengidap tidak menimbulkan gejala, tetapi dapat menularkan pada orang lain atau lingkungannya dengan berbagai cara. *Staphylococcus* dapat dihembuskan dari saluran pernapasan atas pada waktu bersin, dan dapat menjadi sumber penularan ke orang lain. *Staphylococcus* dapat ditularkan melalui tangan pengidap yang tidak bergejala. *Staphylococcus aureus* dapat juga ditularkan secara langsung ke orang lain. Pegawai rumah sakit adalah yang utama paling mungkin menularkan dengan cara ini. Pengidap yang tidak bergejala juga dapat menyebarkan *Staphylococcus aureus* ke kulit pakaiannya sendiri dengan cara bersin atau melalui tangan terkontaminasi (Shulman *et al.*, 1994).

Berbagai penelitian mengamati penularan *strain Staphylococcus aureus* dalam ruang perawatan neonatus. Saluran pernapasan atas dan kulit neonatus terkontaminasi *Staphylococcus* beberapa jam setelah lahir. Dapat terjadi impetigo, konjungtivitis, omfalitis (infeksi sisa umbilikus) bahkan pneumonia atau septikemia. *Strain Staphylococcus* dapat berasal dari bayi lain yang menderita infeksi *Staphylococcus* atau dari pengidap di antara perawat atau pegawai rumah sakit lainnya. Cara utama penularan ke bayi adalah melalui tangan petugas kesehatan yang merawat bayi. Benda-benda seperti popok, pakaian dalam, spre, dan selimut, bila terkontaminasi *Staphylococcus*, benda-benda tersebut dapat juga berfungsi sebagai vektor (Shulman *et al.*, 1994).

Penyakit *Staphylococcus* lebih sering terjadi pada penderita di rumah sakit dibanding dengan populasi di luar rumah sakit. Alasan utama lebih tingginya insiden infeksi ini adalah turunnya pertahanan tubuh hospes. Bila penurunan daya tahan tubuh,

mungkin saja *Staphylococcus aureus* patogen menyebabkan infeksi (Jawetz *et al.*, 2001). Secara ringkas siklus *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada gambar 2.1.



**Gambar 2.1** Siklus *Staphylococcus aureus* di Rumah Sakit dan di Masyarakat  
(Sumber: Shulman *et al.*, 1994, p. 552)

### 2.2.5 Patogenesis

*Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit pada hampir semua organ dan jaringan. Yang paling rentan terhadap infeksi adalah kulit. Penyebaran infeksi *Staphylococcus aureus* pada organ atau jaringan utama yang terkena infeksi seperti kulit, mata hidung dan tenggorokan, gastrointestinal, uretra, vagina. Kemudian kemampuan infeksi *Staphylococcus aureus* menyebar ke jaringan di dekatnya atau melalui sistem limfe masuk ke darah. Infeksi metastatik didapatkan pada berbagai jaringan/organ yaitu: tulang dan sendi, paru-paru, ginjal, jantung, sistem saraf pusat (abses otak), limpa, hati dan pankreas dan lain-lain (Shulman *et al.*, 1994; Kenneth, 2002).

Penyakit infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada gambar 2.2 berikut ini.

**Kolonisasi tidak bergejala atau Infeksi yang berarti Klinik pada Tempat Lokal.**

- 1. Kulit
- 2. Mata
- 3. Hidung dan Tenggorok
- 4. Gastrointestinal
- 5. Uretra
- 6. Vagina

**Infeksi bersebelahan**

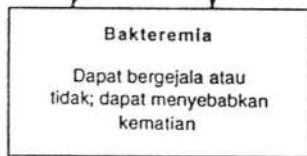
Infeksi jaringan sekitarnya  
Karbunkel, abses subkutan, osteomielitis, artritis (kerusakan penembusan dari kulit)

Infeksi orbital dalam

Sinusitis, peritonsiler, atau abses faring, otitis media (jarang), mastoiditis, bronkitis pneumonia stafilokokus primer, parotitis.

dapat menyebar ke jaringan sebelahnya

dapat menyebabkan bakteremia



Sumber tidak diketahui

Kontaminasi dari suatu Benda Asing

Dimasukkan langsung ke dalam aliran darah atau sistem kardiovaskuler, misalnya kateter intravena, katup jantung artifisial, injeksi narkotik yang terkontaminasi

dapat melibatkan tempat metastasis

**Tempat Infeksi Metastatik**

- 1. Tulang dan sendi
- 2. Paru-paru - pneumoinia *S. aureus* sekunder
- 3. Kulit dan otot - abses
- 4. Jantung - endokarditis, miokarditis, perikarditis
- 5. Ginjal - abses
- 6. Sistem saraf pusat - abses otak, serebritis, meningitis (jarang)
- 7. Lain-lain - misal abses viseral Intraabdomen - limpa, hati, pankreas.

Tempat metastatis yang kemudian mungkin menjadi fokus penting untuk bakteremia berlanjut dan, selanjutnya dapat menyebabkan keterlibatan metastatik lebih lanjut.

**Gambar 2.2 Penyakit Infeksi oleh *Staphylococcus aureus***  
(Sumber: Shulman *et al.*, 1994, p. 553)

Proses penyakit mula-mula terlokalisasi oleh respon radang akut dan pengelompokkan sejumlah besar neutrofil segmen. Lesi cenderung dibatasi oleh timbunan fibrin. Kemudian timbul nekrosis sentral serta terbentuk abses. Jadi infeksi *Staphylococcus aureus* ditandai dengan pembentukan abses. Tampaknya paling sering terjadi pada hospes yang menderita gangguan imun (Shulman *et al.*, 1994).

Besarnya pengaruh benda asing pada kerentanan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* dengan nyata ditunjukkan oleh Elek dan Conan. Kedua peneliti ini menemukan bahwa diperlukan injeksi  $5 \times 10^6$  *Staphylococcus aureus* hidup ke dalam kulit sukarelawan untuk dapat menimbulkan infeksi. Namun 100 *Staphylococcus aureus* hidup saja, sudah cukup bila mikroorganisme diresapkan ke dalam jahitan sutera yang diikatkan pada kulit. Karena itulah tidak heran bila protese jantung, keteter vena terpasang dan benda asing lainnya sangat sering dikolonisasi *Staphylococcus aureus* (Shulman *et al.*, 1994).

*Staphylococcus aureus* mungkin mengeluarkan lebih banyak toksin ekstraselular, hemolisin, enzim, dan komponen selular lain. Semua faktor ini bertanggung jawab akan virulensi (Kenneth, 2002). Sampai saat ini belum jelas apakah salah satu atau salah satu kombinasi faktor-faktor ini berperan pada virulensi *Staphylococcus aureus*. Mungkin saja sebagian besar dari mereka berperan dalam patogenesis penyakit oleh *Staphylococcus*, tetapi sangat mungkin sekali tidak satu faktorpun esensial untuk patogenesis (Warsa, 1994; Shulman *et al.*, 1994).

Namun ada beberapa zat yang menarik, antara lain koagulase dan hemolisin yang dihasilkan oleh *S. aureus*, terutama hemolisin alfa. Hemolisin ini adalah suatu protein eksotoksin yang dikode kromosom yang tidak hanya melisis sel darah dan menghancurkan sel-sel lain (Warsa, 1994). Tampak jelas bahwa meskipun hemolisin alfa berperan dalam



patogenesis penyakit *Staphylococcus* (karena menyebabkan sebagian nekrosis luas), tetapi dia merupakan terpenting timbulnya penyakit (Shulman *et al.*, 1994).

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, misalnya pasca operasi infeksi *Staphylococcus* atau infeksi yang menyertai trauma (osteomielitis kronik setelah patah tulang terbuka, meningitis, yang menyertai patah tulang tengkorak). Jika *Staphylococcus aureus* menyebar dan terjadi bakteremia, maka bisa terjadi endokarditis, osteomielitis, hematogenus akut, meningitis atau infeksi paru-paru dapat dihasilkan (Jawetz *et al.*, 2001).

#### 2.2.6 Gambaran Klinis

Gambaran infeksi lokal *Staphylococcus* adalah suatu “pimple”, infeksi folikel rambut, biasanya terjadi reaksi abses yang hebat, terlokalisir, sakit yang mengalami pnanahan dan sembuh dengan cepat bila nanah dikeluarkan (Jawetz *et al.*, 2001).

Dinding fibrin dan sel-sel sekitar inti abses cenderung mencegah penyebaran organisme dan sebaiknya tidak dirusak oleh manipulasi atau trauma bila organisme tersebar dan bakteremia terjadi, gambaran klinik mirip dengan gambaran klinik yang terlihat pada infeksi pembuluh darah lainnya. Lokalisasi sekunder dalam suatu organ tubuh atau sistem organ diikuti oleh tanda-tanda dan gejala-gejala disfungsi alat tubuh dan pnanahan lokal yang hebat (Jawetz *et al.*, 2001)

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat disertai ruam, suatu sindrom klinik (demam skarlatina *Staphylococcus*), sindrom shok toksik (SST). Sindrom ini ditandai demam tinggi, ruam, muntah, diare, mialgia, shok dan akhirnya deskuamasi (Shulman *et al.*, 1994).

Manifestasi patologi SST sangat beragam dan menyebar. Dapat menyerang banyak jaringan dan organ, termasuk koagulasi intravaskuler tersebar, peradangan dan deskuamasi kulit, radang periportal hepar, pembentukan membran hialin di paru dan nekrosis tubuler akut di ginjal. Sekuelae kroniknya meliputi gagal ginjal kronik, gangguan neoromuskuler berkepanjangan, ruam yang timbulnya akhir, ekstremitas sianotik dan abnormalitas neoropsikologis. Diagnosis SST dibuat secara klinis, memperlihatkan manifestasi klinis utama (Shulman *et al.*, 1994).

### 2.2.7 Diagnosis Laboratorium

#### a. Spesimen

Pus sputum untuk pemeriksaan mikroskopis dan pembiakan. Darah untuk perbenihan. Feses, muntahan, dan sisa makanan jika diduga keracunan makanan. Hapusan rongga hidung bagian depan dibutuhkan untuk mendeteksi karier *Staphylococcus aureus* (Warsa, 1994).

#### b. Pemeriksaan mikroskopis

*Staphylococcus aureus* tidak bergerak, tidak berkapsul, berbentuk kokus Gram positif dengan ukuran yang sama sekitar 1  $\mu\text{m}$  yang tersusun berkelompok, walaupun kadang sendiri atau berpasangan.

#### c. Biakan

*Staphylococcus aureus* tumbuh baik secara aerob. Suhu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan berkisar antara 10 - 42°C, dengan suhu optimum 35 - 37°C. Pada agar dan agar coklat, *Staphylococcus aureus* menghasilkan koloni berwarna kuning sampai krem atau kadang putih dengan diameter 1 - 2 mm. Beberapa *strain* menunjukkan beta

hemolisis jika tumbuh secara aerob. Koloni agak meninggi dan mudah dibuat suspensi pada slide. Agar garam manitol (*Mannitol Salt Agar*) berguna sebagai medium diferensial dan selektif untuk menumbuhkan *Staphylococcus aureus* dari bahan pemeriksaan feses pada saat mendeteksi kemungkinan adanya keracunan makanan oleh *Staphylococcus aureus*, juga digunakan untuk menyaring *Staphylococcus aureus* yang ada di hidung (Warsa, 1994; Jawetz *et al.*, 2001).

#### d. Reaksi Biokimia

Produksi koagulase menunjukkan *Staphylococcus aureus*. Jika tidak terdapat plasma atau hasil tes koagulase kurang jelas, uji DNase dapat juga digunakan untuk identifikasi. *Staphylococcus aureus* menunjukkan DNase positif sedangkan spesies *Staphylococcus* lain menunjukkan DNase negatif. Uji katalase menunjukkan perbedaan antara *Staphylococcus aureus* dengan *Streptococcus* yang dengan cepat. *Staphylococcus aureus* menunjukkan katalase positif sedangkan *Streptococcus* menunjukkan katalase negatif. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada agar yang mengandung 70 -100 g/l sodium klorida.

#### e. Uji Kepekaan Antibiotika

Uji kepekaan secara dilusi maupun secara difusi cakram sebaiknya dilakukan secara rutin pada isolat *Staphylococcus* yang diperoleh dari penderita. Resistensi terhadap *penicilin G* dapat diperiksa dengan tes positif terhadap  $\beta$  laktamase, hampir 90% *Staphylococcus aureus* menghasilkan  $\beta$  laktamase. Resistensi terhadap nafsilin (oksasilin dan metisilin) terjadi pada sekitar 20% *Staphylococcus aureus*. Resistensi terhadap nafsilin berhubungan dengan adanya *MecA*, gen yang mengkode *penicillin binding protein* (PBP) yang tidak terpengaruh oleh obat tersebut. Gen dapat dideteksi

dengan *polimerase chain reaction*, namun hal ini tidak penting karena *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada *Mueller Hinton Agar* yang mengandung NaCl 4% dan 6 µg/ml oksasilin merupakan ciri khas bakteri yang mengandung *gen mecA* dan resisten terhadap nafsilin (Jawetz *et al.*, 2001).

### 2.3 *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*

*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* merupakan *strain Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap oksasilin dan metisilin. Sekitar 90% *Staphylococcus aureus* menghasilkan β-laktamase sehingga bakteri ini juga resisten terhadap semua antibiotik golongan β-laktamase termasuk sefalosporin dan karbapenem. Isolat MRSA sering resisten terhadap antibiotik yang umum digunakan seperti eritromisin, klindamisin, tetrasiklin. Sejak tahun 1996 dilaporkan bahwa *strain MRSA* mengalami penurunan kepekaan terhadap vankomisin (Kloos dan Bannerman, 1999).

Resistensi terhadap oksasilin dan metisilin berhubungan dengan adanya *gen mecA* yaitu *gen yang mengkode penicillin-binding protein (PBP)* tidak dipengaruhi oleh obat tersebut. Perubahan *penicillin-binding protein* tersebut menyebabkan obat tidak dapat berikatan dengan baik pada sel bakteri (Kloos dan Bannerman, 1999).

*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* dianggap penting karena merupakan bakteri patogen dan sering menyebabkan infeksi nosokomial, dan pilihan terapinya sangat terbatas. Belakangan ini sering ditemukan MRSA sehingga antibiotik pilihannya adalah vankomisin atau teikoplanin. Vankomisin diberikan dengan dosis 2 x 1 g sedangkan teikoplanin diberikan 1 x 400 mg. Pada keadaan

berat atau terdapat infeksi endokarditis, dosisnya dinaikan menjadi dua kali lipat

(Bahar, 2002).

### BAB 3

## KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

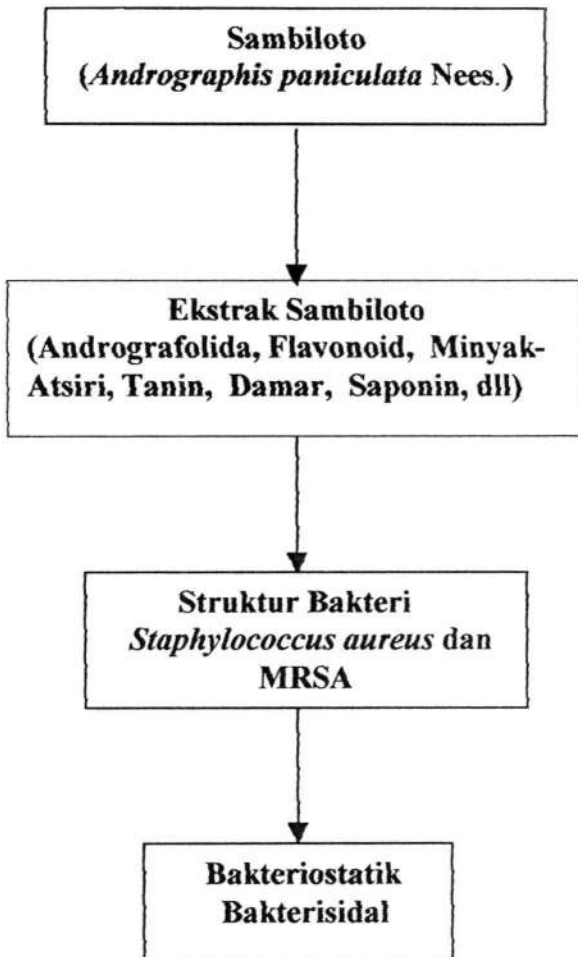
### 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Setiap jaringan maupun organ tubuh dapat diinfeksi oleh *Staphylococcus aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa suatu piemia yang fatal (Warsa, 1994; Joklik *et al.*, 1992).

*Staphylococcus aureus* mempunyai kepekaan yang berbeda terhadap berbagai obat antimikroba dan membawa gen resisten terhadap obat antimikroba tersebut. Sering ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicillin* (MRSA) (Brooks *et al.*, 1998; Hashim, 2003)

Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik menyebabkan pengobatan dengan antibiotik yang tersedia tidak dapat diandalkan lagi dan menjadi tidak efisien (Surono, 1997). Memperhatikan aspek terapi dengan antibiotik yang tersedia terhadap bakteri ini tidak dapat diandalkan lagi, dan harganya mahal maka perlu dilakukan penelitian tentang efek tanaman obat sebagai alternatif.

Salah satu tanaaman yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Tanaman ini mempunyai efek antimalaria, antikanker, dapat melawan *Salmonella* dan *Escherichia coli* yang menyerang penderita demam tifoid dan diare. Penggunaan ekstrak sambiloto sebagai obat alternatif antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA perlu dilakukan penelitian.



**Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian**

### 3.2 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah dan kajian teoritis, maka hipotesis dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

1. Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus* menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.
2. Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus* mematikan bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.
3. Makin tinggi dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus*, semakin aktif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.

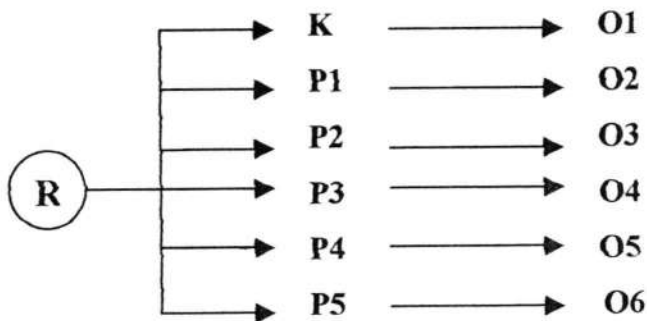


## BAB 4

### MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan acak lengkap. Rancangan ini dapat digambarkan sebagai berikut:



**Gambar 4.1** Bagan Rancangan Penelitian

Keterangan:

- R = Sampel bakteri uji (diambil secara random)  
 K = Kontrol (tanpa ekstrak *A. paniculata* Nees.)  
 P = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees (P1 = 20 mg, P2 = 40 mg, P3 = 80 mg, P4 = 160 mg, P5 = 320 mg)  
 O = Pengamatan (O1, O2, O3, O4, O5, O6), setelah inkubasi

Perlakuan terdiri dari lima (5) dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees (P1, P2, P3, P4, P5) dan kontrol (K), masing-masing 5 replikasi. Banyaknya perlakuan dan dosis mengacu pada hasil penelitian Ajizah (1996) dan hasil pra penelitian dengan dosis dalam mg/kg BB. Banyaknya replikasi menurut Nagar dan Das (1981), yang dilakukan dalam penghitungan koloni bakteri, menggunakan rumus sebagai berikut:

$$r = 1 + \frac{14}{t-1} \rightarrow r = 1 + \frac{14}{5-1}$$

$$r = 4,5 \text{ dibulatkan } 5$$

Keterangan: r = replikasi  
t = perlakuan

## 4.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah: *Andrographis paniculata* Nees, bakteri uji (*Staphylococcus aureus* dan MRSA), dan hewan coba (*Rattus norvegicus*)

### 4.2.1 *Andrographis paniculata* Nees.

Diambil di lereng gunung Pandanjese pada ketinggian 141 meter dari permukaan laut dengan kondisi tanah: lumpur berpasir, berbatu. Tempat ini wilayah Kelurahan Donggala Kodi Palu Barat Sulawesi Tengah. Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Farmasi-Farmakognosi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga (lampiran 9).

### 4.2.2 Bakteri Uji

Bakteri uji sebagai sampel dalam penelitian adalah *Staphylococcus aureus* dan MRSA. *Staphylococcus aureus*: Dalam bentuk suspensi bakteri diambil dari koloni pada media pembenihan secara acak sederhana. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA): Diperoleh dari isolat darah penderita infeksi bernanah pada kulit.

### 4.2.3. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar sebanyak 30 ekor. Hewan ini dibagi secara acak menjadi 5 perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5) dan kontrol (K), masing-masing 5 replikasi.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Klasifikasi Variabel

##### a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees yang diberikan kepada hewan coba *Rattus norwegicus*.

##### b. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada setiap dosis, yaitu jumlah koloni bakteri hidup (*viable count*).

##### c. Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini meliputi :

- *Andrographis paniculata* Nees.
- Hewan coba
- Spesies bakteri uji
- Suspensi bakteri
- Alat-alat yang digunakan
- Bahan yang digunakan
- Jenis medium
- Suhu dan lama inkubasi.

#### 4.3.2 Definisi Operasional Variabel

##### a. Variabel Bebas

Dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees adalah banyaknya ekstrak yang diberikan kepada hewan coba *Rattus norwegicus* dalam satuan mili gram (mg). Dosis

ekstrak *Andrographis paniculata* Nees tersebut adalah K = 0 mg, P1 = 20 mg, P2 = 40 mg, P3 = 80 mg, P4 = 160 mg, P5 = 320 mg.

### b. Variabel Tergantung

Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada setiap dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serun *Rattus norwegicus* adalah jumlah bakteri hidup (*viable count*) pada media NA masing-masing dosis setelah inkubasi.

### c. Variabel Kendali

*Andrographis paniculata* Nees adalah tumbuhan herba yang mempunyai ciri morfologi yaitu tumbuh tegak dengan tinggi 40-90 cm, mempunyai banyak cabang dengan letak yang berlawanan, bentuk segi empat, dan tidak berambut. Daun berbentuk lanset, ujung daun dan pangkal daun tajam atau agak tajam, panjang daun 3-12 cm dan lebar 1-3 cm. Bunga berbibir seperti tabung, panjang 6 mm, bibir bunga bagian atas berwarna putih dengan warna kuning di bagian atasnya, ukuran 7-8 mm. Bentuk buah jorong dengan ujung yang tajam, bila tua pecah menjadi empat keping. Semua bagian *Andrographis paniculata* Nees, seperti daun, batang, bunga, dan akar, terasa sangat pahit. Rasa pahit itu disebabkan oleh adanya senyawa andrografolida yang banyak. Daun dan cabang juga mengandung saponin, flavonoida, dan tanin, kalium, kalsium, natrium, asam kersik, dan damar. Akar umumnya terdapat senyawa golongan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa antibakteri. *Andrographis paniculata* Nees yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Kelurahan Donggala Kodi Palu Barat Sulawesi Tengah.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norwegicus*)

*strain* Wistar, berumur tiga bulan dengan berat badan antara 180-200 gram.

Spesies bakteri uji: *Staphylococcus aureus* dan MRSA. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif, berbentuk kokus, berdiameter 0,8-1  $\mu\text{m}$ , tersusun bergerombol, dan koloni pada NA berwarna kuning keemasan. MRSA adalah *strain Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap oksasilin dan metisilin.

Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* serotipe ATCC 25923 dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, dan MRSA dari instalasi Mikrobiologi RSUD Dr. Sutomo Surabaya.

Alat yang digunakan adalah alat-alat yang telah disterilkan dengan autoklaf. Medium yang digunakan antara lain: Medium pembiakan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah medium cair *nutrient agar* (NA). Medium pembiakan MRSA adalah medium agar darah. Dari koloni pada medium ini dibuat suspensi bakteri.

Dalam penelitian ini akan digunakan larutan standar  $\text{BaSO}_4$  0,5 (Mc.Farland 0,5), jumlah bakteri diperkirakan sebanyak  $1,5 \times 10^8/\text{ml}$  atau 150 juta/ml (Baron *et al.*, 1992). Temperatur inkubasi yang digunakan adalah  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam pada inkubator.

#### 4.4 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)
- Etanol 96 % dan 2%.
- Medium: TSB, BHI, NA.
- Ether, Alkohol 96%.
- Kapas, tissue, aquades, spiritus
- Hewan coba adalah tikus putih jantan (*Rattus norwegicus*)

- Bakteri: *Staphylococcus aureus* serotipe ATCC 25923 dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

#### 4.5 Instrumen Penelitian.

Dalam penelitian ini akan menggunakan beberapa macam instrumen, antara lain:

- Untuk ekstrak: Mesin penggiling, satu set ekstraktor sokhlet, evaporator vakum, water bath, tabung erlenmeyer, blender.
- Autoklaf: Sebelum dilakukan penelitian, semua bahan dan peralatan tertentu harus steril menggunakan autoklaf.
- Oven: Untuk mensterilkan peralatan yang berasal dari gelas sebelum dipakai.
- Inkubator: Digunakan sebab proses pertumbuhan diatur dengan suhu sesuai untuk kebutuhan pertumbuhan bakteri uji.
- Cawan petri  $\phi$  9 cm: Sebagai tempat media untuk pertumbuhan bakteri uji.
- *Colony counter*: Digunakan untuk menghitung jumlah bakteri yang hidup.
- Tabung reaksi dan rak: Digunakan untuk membuat suspensi bakteri uji.
- Pipet dan mikropipet: Digunakan untuk mengukur volume jumlah suspensi bakteri uji, konsentrasi ekstrak dan etanol.
- Timbangan analitik: Digunakan untuk mengukur berat sampel .
- Timbangan hewan: Untuk mengukur berat tikus
- Erlenmeyer: Digunakan untuk tempat bahan dalam pembuatan medium.
- Jarum ose: Digunakan memindahkan bakteri uji dan digunakan untuk suspensi serta menanam bakteri uji.
- Gelas kimia (pirex): Digunakan dalam membuat medium sebelum disterilisasi.
- Vortex: Digunakan dalam proses pembuatan medium supaya homogen.

- Shonde: Digunakan untuk memasukkan ekstrak pada *Rattus norwegicus*.
- Syringe disposable berukuran 5 ml: Digunakan untuk mengambil darah *Rattus norwegicus*.

## 4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

### 4.6.1 Lokasi Penelitian

Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Perlakuan terhadap hewan coba dilakukan di Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Uji aktivitas Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norwegicus* dilaksanakan di Laboratorium *Gastroenteritis Tropical Disease Centre* (TDC).

### 4.6.2 Waktu Penelitian.

Penelitian ini dilaksanakan selama empat bulan (Maret - Juni) 2004.

## 4.7 Prosedur Pengumpulan Data

### 4.7.1 Tahap Persiapan

#### a. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak *Andrographis paniculata* Nees prosedurnya mengacu pada Harbone (1996) dan Farmakope Indonesia (1995) sebagai berikut:

Daun *Andrographis paniculata* Nees dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (tidak dengan sinar matahari langsung). Setelah kering dibuat serbuk halus dengan menggunakan mesin penggiling. Serbuk halus 1 kg direndam dalam pelarut etanol 96% selama 4 x 24 jam. Setiap 24 jam difiltrasi lalu ditambah etanol. Filtratnya ditampung dalam tabung erlenmeyer steril. Filtrat sebanyak 6 liter diuapkan dengan

evaporator vakum sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental dikeringkan dengan freeze dryer.

#### **b. Biakan Bakteri Uji**

Biakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* diperbanyak pada medium nutrisi agar dan biakan bakteri MRSA pada medium agar darah. Setelah ditanam diinkubasi pada suhu 37°C, selama 24 jam.

#### **c. Membuat Suspensi Bakteri Uji**

Dari biakan bakteri uji diambil 4-5 koloni, kemudian disuspensikan/dimasukan dalam tabung yang berisi 5 ml larutan natrium klorida (NaCl) 0,85%. Setelah itu kekeruhan NaCl yang berisi bakteri uji tersebut disesuaikan dengan kekeruhan standar barium sulfat (BaSO<sub>4</sub>) 0,5 (Mc.Farland 0,5). Setelah kekeruhannya sesuai, bakteri uji dalam media cair tersebut dapat ditanam pada media pemeriksaan yang digunakan untuk penelitian (Baron *et al*, 1994).

#### **4.7.2 Tahap Pelaksanaan.**

Untuk mengetahui efek ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA *in vitro*, dilaksanakan dalam dua tahap, yaitu perlakuan terhadap hewan coba dan uji aktivitas ekstrak dalam serum. Pelaksanaan mengacu pada Ajizah (1996) dan Soemarno(2000).

#### **a. Perlakuan Terhadap Hewan Coba**

1. Menyiapkan 30 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), kemudian dibagi menjadi 5 perlakuan dan kontrol, masing-masing 5 ulangan.
2. Pemberian ekstrak *Andrographis paniculata* Nees 2 kali sehari selama 5 hari



melalui oral dengan dosis: K = 0 mg, P1 = 20 mg, P2 = 40 mg, P3 = 80 mg, P4 = 160 mg, P = 320 mg.

3. Darah diambil pada hari kelima, 1,5 jam setelah perlakuan melalui *cardiac puncture* sebanyak 5 ml.
4. Kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung steril dan disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.
5. Serum yang terpisah diambil dengan mikropipet lalu dipisah menjadi dua bagian, yaitu :
  - Dipanaskan dengan suhu 56°C selama 30 menit, untuk menginaktifkan komplemen yang ada di dalam serum.
  - Tidak dipanaskan, sehingga komplemen dalam serum tetap aktif.

#### **b. Uji Efek Ekstrak *A. paniculata* Nees Dalam Serum**

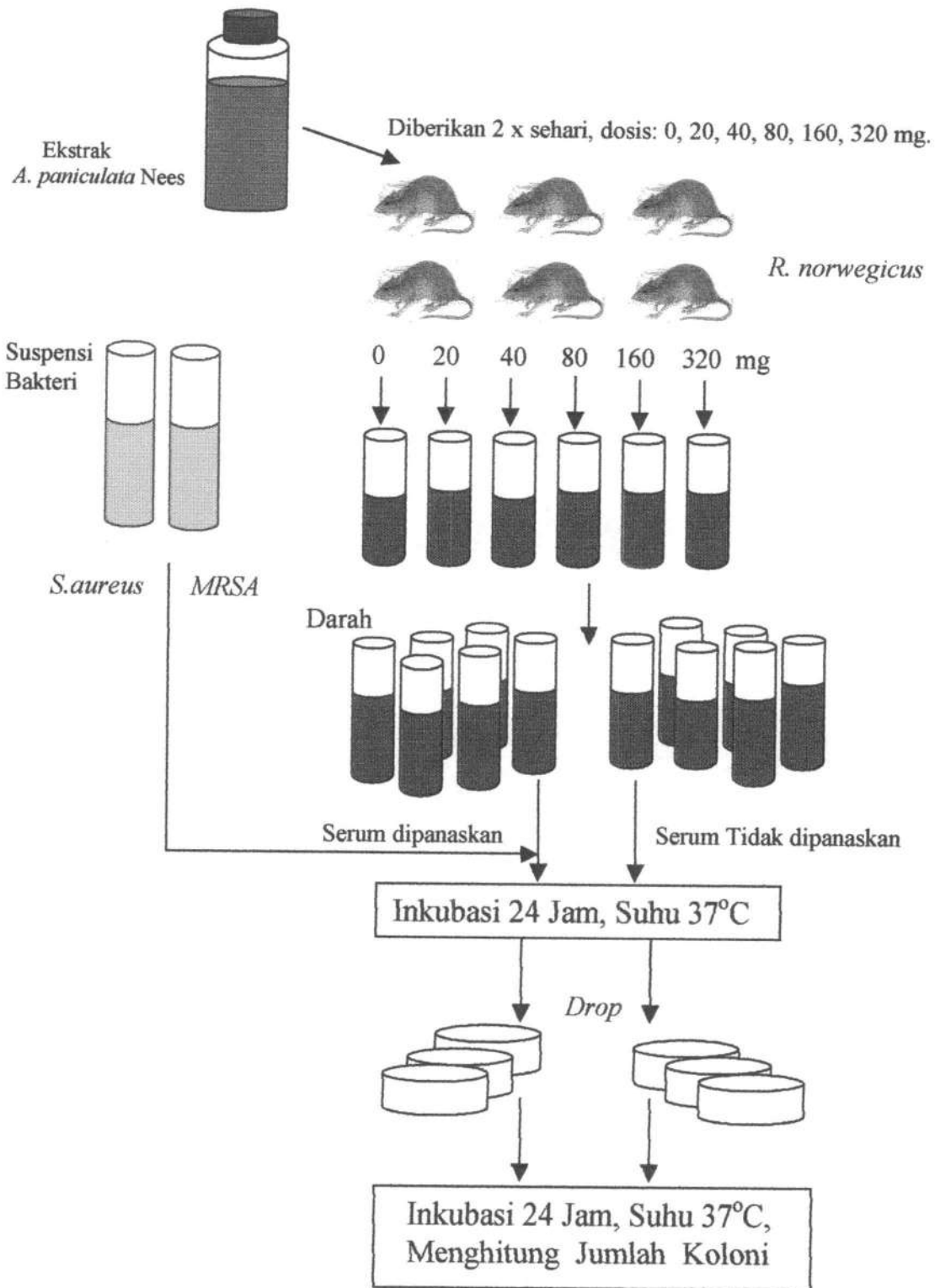
Serum yang diperoleh dilakukan uji aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* dan MRSA dengan cara menurut Berghe dan Vlietinck (1991) dan Soemarno (2000) yaitu:

1. Masing-masing serum (K, P1, P2, P3, P4, P5) diambil 500 µl dan ditambah masing-masing 500 µl suspensi bakteri uji umur 24 jam, sehingga masing-masing konsentrasi mengandung  $7.5 \times 10^6$  CFU/500 µl.
2. Kemudian divortex lalu diinkubasi selama 18 – 48 jam, suhu 37°C.
3. Pada waktunya masing-masing dilakukan pengenceran.
4. Pengenceran  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$  ditanam 50 µl pada media agar dengan metode *drop*.
5. Didiamkan hingga kering pada suhu kamar, diinkubasi selama 24 jam, suhu 37°C.

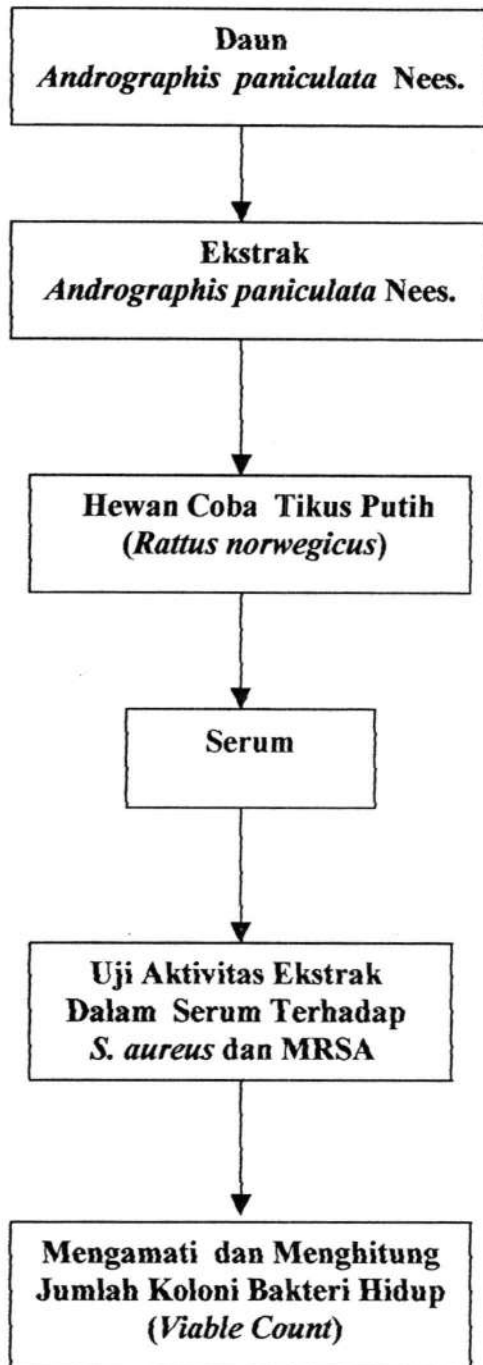
6. Setelah inkubasi dihitung jumlah koloni *S. aureus* dan MRSA. Pada konsentrasi terendah yang memperlihatkan aktivitas bakteriostatik atau bakterisida, kemudian dibandingkan dengan kontrol.

Standar perhitungan yang digunakan adalah berdasarkan SPC (*Standart Plate Count*), yaitu: Jumlah koloni bakteri yang dihitung hanya koloni bakteri dengan jumlah antara 30 dan 300. Di atas dari 300 dianggap jumlah koloni terlalu banyak untuk dihitung (TBUD). Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan angka kurang dari 30 koloni, maka hanya jumlah koloni pada pengenceran yang terendah yang dihitung, hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah koloni yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung (Fardiaz, 1989).

Urutan prosedur pelaksanaan penelitian, seperti gambar 5.1 berikut ini:



**Gambar 4.2 Urutan Prosedur Pelaksanaan Penelitian**



**Gambar 4.3 Bagan Alur Penelitian**

#### 4.8 Cara Pengolahan dan Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan uji statistik. Analisis deskriptif menggunakan *Standard Plate Count* (SPC) menurut Fardiaz (1989). Analisis secara statistik menggunakan Uji t Sampel Independen microsoft SPSS versi 10 dengan signifikansi 5% ( $\alpha = 0.05$ ), dan mengacu pada Steel dan Torrie (1991), Santosa (2003), Walpole (1995).

## BAB 5

### ANALISA HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Data Penelitian

Hasil penelitian efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro*, data diperoleh melalui perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh (*viable count*) meliputi: Jumlah koloni *Staphylococcus aureus* dan MRSA.

Selain itu diperoleh data pengujian efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees *in vitro* dengan metode pengenceran tabung (*Tube Dilution Method*) sebagai pembanding.

##### 5.1.1 Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh (*viable count*) pada media agar sebagai efek ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* dapat dilihat pada lampiran 3. Data yang telah diperoleh ini kemudian dikalikan dengan 20, sehingga diperoleh jumlah koloni *Staphylococcus aureus* hidup per mililiter, seperti terlihat pada tabel 5.1.

**Tabel 5.1 Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* per ml Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dalam Serum *Rattus norvegicus* Dengan Metode Drop**

| Serum                    | Rep-<br>lika-<br>si | K                |                  | P1               |                  | P2               |                  | P3               |                  | P4               |                  | P5               |                  |
|--------------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                          |                     | Pengenceran      |                  | Pengenceran      |                  | Pengenceran      |                  | Pengenceran      |                  | Pengenceran      |                  | Pengenceran      |                  |
|                          |                     | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-4</sup> | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-4</sup> | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-4</sup> | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-4</sup> | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-4</sup> | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-4</sup> |
| Tidak<br>Dipa-<br>naskan | 1                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 80               | 0                | 20               | 0                |
|                          | 2                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 160              | 60               | 40               | 20               |
|                          | 3                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 300              | 80               | 40               | 40               |
|                          | 4                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 120              | 20               | 0                | 0                |
|                          | 5                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 220              | 120              | 20               | 20               |
|                          | Mean                | -                |                  | -                |                  | -                |                  | -                |                  | <b>176</b>       | <b>56</b>        | <b>24</b>        | <b>16</b>        |
| Dipa-<br>naskan          | 1                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 140              | 40               | 20               | 20               |
|                          | 2                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 100              | 20               | 40               | 0                |
|                          | 3                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 240              | 100              | 60               | 40               |
|                          | 4                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 160              | 20               | 0                | 0                |
|                          | 5                   | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | TBUD             |                  | 280              | 120              | 20               | 20               |
|                          | Mean                | -                |                  | -                |                  | -                |                  | -                |                  | <b>184</b>       | <b>60</b>        | <b>28</b>        | <b>16</b>        |

Berdasarkan data pada tabel 5.1 menunjukkan perlakuan dengan dosis 0 mg, (K), 20 mg (P1), 40 mg (P2), dan 80 mg (P3) jumlah koloni bakteri yang terlalu banyak untuk dihitung (TBUD). Perlakuan dengan dosis 160 mg (P4), dan 320 mg (P5) menunjukkan jumlah koloni dengan mean (rata-rata) yang semakin sedikit.

### 5.1.2 Pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Hasil pengamatan jumlah koloni MRSA pada media agar sebagai efek ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* pada semua dosis yang dicoba dapat dilihat pada lampiran 4, dan jumlah koloni MRSA per mililiter, seperti terlihat pada tabel 5.2.

**Tabel 5.2 Jumlah Koloni MRSA per ml Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dalam Serum *Rattus norvegicus* Dengan Metode Drop**

| Serum                    | Rep-<br>lika-<br>si | K                   | P1                  | P2                  | P3                  | P4                  | P5                  |
|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                          |                     | Pengenceran         | Pengenceran         | Pengenceran         | Pengenceran         | Pengenceran         | Pengenceran         |
|                          |                     | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ |
| Tidak<br>Dipa-<br>naskan | 1                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD 1620           |
|                          | 2                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | 3                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD 1400           |
|                          | 4                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | 5                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | Mean                | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | - -                 |
| Dipa-<br>naskan          | 1                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD 1940           |
|                          | 2                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | 3                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD 320            |
|                          | 4                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | 5                   | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | Mean                | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | - -                 |

Tabel 5.2 menunjukkan adanya koloni bakteri terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) pada semua perlakuan (dosis) yang dicobakan, walaupun ada yang bisa dihitung tetapi jumlah koloni masih terlalu banyak (jumlah koloni lebih dari 300).

### 5.1.3 Efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees *in vitro*

Pengujian efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees *in vitro* dengan metode pengenceran tabung (*Tube Dilution Method*) dilakukan sebagai pembandingan, sehingga dapat diketahui perbedaan efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees sebelum dan setelah berada dalam darah *Rattus norvegicus*.



Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA pada media agar semua konsentrasi yang dicobakan dapat dilihat pada lampiran 5.

Jumlah koloni *Staphylococcus aureus* dan MRSA per mililiter, terlihat pada tabel 5.3.

**Tabel 5.3 Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* dan MRSA per ml Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dengan Metode Drop**

| Bakteri          | Rep-likasi | K           | P1        | P2          | P3        | P4          | P5        |             |           |   |
|------------------|------------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|---|
|                  |            | Pengenceran |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           |   |
|                  |            | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ |   |
| <i>S. aureus</i> | 1          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 0         | 0           | 0         | 0           | 0         | 0 |
|                  | 2          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 120       | 20          | 0         | 0           | 0         | 0 |
|                  | 3          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 60        | 20          | 0         | 0           | 0         | 0 |
|                  | 4          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 20        | 0           | 0         | 0           | 0         | 0 |
|                  | 5          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 0         | 0           | 0         | 0           | 0         | 0 |
|                  | Mean       | -           | -         | -           | 40        | 8           | 0         | 0           | 0         | 0 |
| MRSA             | 1          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 1700      | TBUD        | 600       |   |
|                  | 2          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 1540      | TBUD        | 440       |   |
|                  | 3          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 1440      | TBUD        | 460       |   |
|                  | 4          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 1480      | TBUD        | 360       |   |
|                  | 5          | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | TBUD        | 1700      | TBUD        | 400       |   |
|                  | Mean       | -           | -         | -           | -         | -           | 1572      | -           | 452       |   |

Berdasarkan tabel 5.3, menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi: 0 mg/ml (K), 100 mg/ml (P1), 200 mg/ml (P2) jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), dan konsentrasi 400 mg/ml (P3) mean (rata-rata) 40 koloni, sedangkan konsentrasi 800 mg/ml (P4) dan 1600 mg/ml (P5) mean nol koloni (konsentrasi yang mematikan *Staphylococcus aureus*). Jumlah koloni MRSA terlalalu banyak untuk dihitung (TBUD) pada semua konsentrasi dengan pengenceran  $10^{-3}$  yang dicobakan. Pada konsentrasi 800 mg/ml (P4)

dan 1600 mg/ml (P5) dengan pengenceran  $10^{-4}$  jumlah koloni MRSA dapat dihitung, mean masing-masing 1572 dan 452 koloni, jumlah koloni MRSA ini masih dianggap terlalu banyak karena 1572 dan 452 > 300 koloni ( $> 3,0 \times 10^6$  CFU/ml).

## 5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

### 5.2.1 Analisis Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Data jumlah koloni bakteri hidup (*viable count*) pada tabel 5.1 hanya perlakuan P4 dan P5 dapat dianalisis secara deskriptif dan uji statistik, sedangkan perlakuan lain TBUD (TBUD > 300) koloni.

#### a. Analisis Deskriptif

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan *Standard Plate Count* (SPC), perlakuan dosis 160 mg (P4) dan dosis 320 mg (P5) jumlah koloni *Staphylococcus aureus* dalam satuan CFU/ml, seperti terlihat pada tabel 5.4.

**Tabel 5.4 Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* (CFU/ml) Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dalam Serum *Rattus Norwegicus* Dengan Metode Drop**

| Serum            | Replikasi | P4               |                  |                             | P5               |                  |   |
|------------------|-----------|------------------|------------------|-----------------------------|------------------|------------------|---|
|                  |           | Pengenceran      |                  | SPC                         | Pengenceran      |                  | SPC   |
|                  |           | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-4</sup> | CFU/ml                      | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-4</sup> | CFU/ml  |
| Tidak Dipanaskan | 1         | 80               | 0                | 8,0 x 10 <sup>4</sup>       | 20               | 0                | <3,0 x 10 <sup>4</sup> (2,0 x 10 <sup>4</sup> )         |
|                  | 2         | 160              | 60               | 1,6 x 10 <sup>5</sup>       | 40               | 20               | 4,0 x 10 <sup>4</sup>                                   |
|                  | 3         | 300              | 80               | 3,0 x 10 <sup>5</sup>       | 40               | 40               | 4,0 x 10 <sup>4</sup>                                   |
|                  | 4         | 120              | 20               | 1,2 x 10 <sup>5</sup>       | 0                | 0                | 0   |
|                  | 5         | 220              | 120              | 2,2 x 10 <sup>5</sup>       | 20               | 20               | 2,0 x 10 <sup>4</sup>                                   |
|                  | Mean      | <b>176</b>       | <b>56</b>        | <b>1,8 x 10<sup>5</sup></b> | <b>24</b>        | <b>16</b>        | <b>&lt;3,0 x 10<sup>4</sup> (2,4 x 10<sup>4</sup>)*</b> |
| Dipanaskan       | 1         | 140              | 40               | 1,4 x 10 <sup>5</sup>       | 20               | 20               | <3,0 x 10 <sup>4</sup> (2,0 x 10 <sup>4</sup> )         |
|                  | 2         | 100              | 20               | 1,0 x 10 <sup>5</sup>       | 40               | 0                | 4,0 x 10 <sup>4</sup>                                   |
|                  | 3         | 240              | 100              | 1,4 x 10 <sup>5</sup>       | 60               | 40               | 6,0 x 10 <sup>4</sup>                                   |
|                  | 4         | 160              | 20               | 1,6 x 10 <sup>5</sup>       | 0                | 0                | 0   |
|                  | 5         | 280              | 120              | 2,8 x 10 <sup>5</sup>       | 20               | 20               | <3,0 x 10 <sup>4</sup> (2,0 x 10 <sup>4</sup> )         |
|                  | Mean      | <b>184</b>       | <b>60</b>        | <b>1,8 x 10<sup>5</sup></b> | <b>28</b>        | <b>16</b>        | <b>&lt;3,0 x 10<sup>4</sup> (2,8 x 10<sup>4</sup>)*</b> |

Keterangan: \* = Pertumbuhan bakteri terhambat

Hasil analisa berdasarkan *Standard Plate Count* (SPC), perlakuan dosis 160 mg (P4) baik serum tidak dipanaskan maupun serum dipanaskan mempunyai jumlah rata-rata (mean) 1,8 x 10<sup>5</sup> CFU/ml. Perlakuan dosis 320 mg (P5) serum tidak dipanaskan mempunyai mean < 3,0 x 10<sup>4</sup> CFU/ml (2,4 x 10<sup>4</sup> CFU/ml), dan serum yang dipanaskan mempunyai mean < 3,0 x 10<sup>4</sup> CFU/ml (2,8 x 10<sup>4</sup> CFU/ml). Jumlah koloni bakteri kurang dari 30 (< 3,0 x 10<sup>4</sup> CFU/ml) ini merupakan jumlah koloni yang sangat sedikit. Ini berarti ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum tikus putih (*Rattus norwegicus*) pada dosis 320 mg mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*).

## b. Analisis Statistik

Data jumlah koloni hasil perhitungan berdasarkan SPC (CFU/ml) perlakuan dosis 160 mg (P4) dan dosis 320 mg (P5) pada tabel 5.4, selanjutnya dilakukan analisis secara statistik. Analisis data ini untuk membandingkan mean antara P4 dan P5, dan membandingkan mean serum yang tidak dipanaskan dan serum dipanaskan. Data yang dianalisis secara statistik adalah jumlah koloni *Saphylococcus aureus* (lamp. 6).

Deskripsi data masing-masing sampel yang diuji, yaitu mean, standar deviasi, nilai minimum dan nilai maksimum P4 dan P5 serum tidak dipanas, P4 dan P5 serum dipanas, seperti terlihat pada tabel 5.5.

**Tabel 5.5 Deskripsi Data Masing-Masing Sampel Yang Diuji**

| Perlakuan           | N | Mean       | Std. Deviasi | Minimum    | Maksimum   |
|---------------------|---|------------|--------------|------------|------------|
| P4 Tidak Dipanaskan | 5 | 176.000,00 | 86.486,9932  | 80.000,00  | 300.000,00 |
| P5 Tidak Dipanaskan | 5 | 24.000,00  | 16.733,2005  | 0,00       | 40.000,00  |
| P4 Dipanaskan       | 5 | 184.000,00 | 74.027,0221  | 100.000,00 | 280.000,00 |
| P5 Dipanaskan       | 5 | 28.000,00  | 22803,5085   | 0,00       | 60.000,00  |

Data pada tabel 5.5 dilakukan uji normalitas, homogenitas varians dengan taraf signifikansi 5% ( $\alpha = 0,05$ ) dan uji t.

Hasil uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov test) pada lampiran 7, kriteria pengujian yang ditetapkan yaitu probabilitas P4 tidak dipanaskan (Asymp Sig.) = 0,998 >  $\alpha = (0,05)$ , P5 tidak dipanaskan (Asymp Sig.) = 0,953 >  $\alpha = (0,05)$ , P4 dipanaskan (Asymp Sig.) = 0,959 >  $\alpha = (0,05)$  dan P5 dipanaskan (Asymp Sig.) = 0,941 >  $\alpha = (0,05)$ . Berdasarkan hasil uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov) ini dapat disimpulkan bahwa P4 dan P5 serum dipanaskan dan tidak dipanaskan berdistribusi normal.

Berdasarkan hasil uji homogenitas varians (lampiran 8), serum yang tidak dipanaskan diperoleh kesimpulan bahwa P4 dan P5 kedua varians tidak sama. Hal ini tampak dari kriteria pengujian yang ditetapkan yaitu probabilitas P4 (Sig.) = 0,005 <  $\alpha$  = (0,05), P5 (Sig.) = 0,016 <  $\alpha$  = (0,05) yang tampak pada kolom t-test. Pada serum yang dipanaskan diperoleh kesimpulan bahwa P4 dan P5 kedua varians tidak sama. Hal ini tampak dari kriteria pengujian yang ditetapkan yaitu probabilitas P4 (Sig.) = 0,002 <  $\alpha$  = (0,05), P5 (Sig.) = 0,007 <  $\alpha$  = (0,05) yang tampak pada kolom t-test.

Berdasarkan hasil uji t (lampiran 8) serum yang tidak dipanaskan dan serum yang dipanaskan diperoleh kesimpulan bahwa P4 dan P5 rata-rata (mean) tidak sama. Hal ini tampak dari kriteria pengujian yang ditetapkan yaitu probabilitas P4 (Sig.) = 0,024 <  $\alpha$  (0,05), dan P5 (Sig.) = 0,015 <  $\alpha$  (0,05).

Berdasarkan *group statistic* dan uji t sampel independen (lampiran 8), dapat disimpulkan bahwa serum tidak dipanaskan dan serum dipanaskan (P4 dan P5) mempunyai rata-rata yang berbeda (serum tidak dipanaskan rata-rata P4 = 176.000 dan P5 = 24.000, dan serum dipanas rata-rata P4 = 184.000 dan P5 = 28.000). P5 merupakan perlakuan yang terbaik jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya, karena P5 serum tidak dipanaskan mempunyai nilai rata-rata terkecil, dan diikuti P5 serum dipanas. Ini berarti ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan dosis 320 mg. Semakin tinggi ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* semakin aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

### 5.2.2 Analisis Pertumbuhan MRSA

Hasil pengamatan jumlah koloni MRSA (tabel 5.2) pada semua perlakuan yang dicoba (dosis 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, dan 320 mg) menunjukkan jumlah koloni bakteri terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) atau jumlah koloni lebih dari 300. Ini berarti ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* dengan dosis yang dicoba (20 –320 mg) tidak menghambat pertumbuhan MRSA.

### 5.2.3 Analisis Efek Antibakteri Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees *in vitro*

Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA pada semua konsentrasi yang dicoba (tabel 5.3) menunjukkan perlakuan dengan konsentrasi: 0 mg/ml (K), 100 mg/ml (P1), 200 mg/ml (P2) jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), dan pada konsentrasi 400 mg/ml (P3) rata-rata 40 koloni ( $4,0 \times 10^4$  CFU/ml) sedangkan konsentrasi 800 mg/ml (P4) dan 1600 mg/ml (P5) rata-rata nol koloni (konsentrasi yang mematikan *Staphylococcus aureus*).

Jumlah koloni MRSA terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) pada semua konsentrasi dengan pengenceran  $10^{-3}$ . Pada konsentrasi 800 mg/ml (P4) dan 1600 mg/ml (P5) dengan pengenceran  $10^{-4}$  jumlah koloni MRSA masih dianggap terlalu banyak karena 1572 dan  $452 > 300$  koloni. Ini berarti ekstrak *Andrographis paniculata* Nees mematikan *Staphylococcus aureus* dan tidak menghambat/mematikan MRSA.

Perbandingan efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees sebelum dan setelah berada dalam darah/serum *in vitro* adalah sebagai berikut:

- Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees sebelum berada dalam darah mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu dapat menghambat pada konsentrasi 400 mg/ml dan mematikan pada konsentrasi 800 mg/ml, dan tidak mempunyai efek antibakteri terhadap MRSA.
- Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees setelah berada dalam darah mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu dapat menghambat pada dosis 320 mg, dan tidak mempunyai efek antibakteri terhadap MRSA.

Semakin tinggi dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* semakin aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi tidak aktif menghambat pertumbuhan MRSA.

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Efek Antibakteri Ekstrak *A. paniculata* Nees Terhadap *S. aureus*

Penelitian ini menguji efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* terhadap *Staphylococcus aureus* dan MRSA *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa data jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* hanya perlakuan dengan dosis 160 mg (P4) dan dosis 320 mg (P5) dapat dihitung dan dianalisis sedangkan perlakuan lain terlalu banyak untuk dihitung (TBUD). Dengan diperolehnya hasil penelitian pada perlakuan P4 dan P5 membuktikan bahwa *Staphylococcus aureus* peka terhadap ekstrak *Andrographis paniculata* Nees yang telah berada dalam darah.

Hasil perhitungan berdasarkan *Standard Plate Count* (tabel 5.4) dan hasil uji t sampel independen (lampiran 8) menunjukkan bahwa ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu dapat menghambat pertumbuhan dengan dosis 320 mg (P5). Aktivitas antibakteri yang melibatkan inang berarti terkait dengan hubungan antara inang dan bahan antibakteri, perjalanannya di dalam tubuh melalui tahapan absorpsi, ekskresi, distribusi, metabolisme dan toksisitas.

Hasil penelitian membuktikan bahwa bahan antibakteri dari *Andrographis paniculata* Nees terabsorpsi dan masuk ke dalam cairan darah, sehingga serum *Rattus norvegicus* yang diambil masih mengandung zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.



Hasil penelitian menunjukkan efek aktivitas antibakteri ekstrak *Andrographis panicula* Nees dalam serum berbeda dengan efek aktivitas antibakteri ekstrak secara langsung dalam tabung reaksi. Menurut Wagner (1984) dalam Aiache (1993) banyak faktor yang turut menentukan aktivitas zat antibakteri jika melibatkan inang, sedangkan aktivitas antibakteri kontak langsung dalam tabung reaksi langsung berhubungan dengan bahan aktif. Jawetz *et al.* (2001) menjelaskan dua faktor penting yang mempengaruhinya yaitu lingkungan dan konsentrasi. Lingkungan dalam tabung reaksi adalah tetap untuk semua anggota populasi bakteri. Namun pada inang, lingkungan bermacam-macam faktor yang mempengaruhinya, antara lain: kedudukan aktivitas metabolik, distribusi obat, bahan-bahan pengganggu. Dalam tabung reaksi mikroorganisme terpapar oleh obat dengan konsentrasi yang konstan, tetapi dalam tubuh hal ini tidak terjadi, karena antara lain: Absorpsi dari saluran usus (untuk obat per oral) atau dari jaringan (jika disuntikkan) tidak teratur. Konsentrasi obat dalam urin seringkali lebih tinggi dari pada dalam darah.

Wagner (1984) dalam Aiache (1993) mengemukakan perjalanan bahan aktif suatu obat dalam tubuh terdiri dari empat tahap yaitu absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Ke empat tahap tersebut terpisah secara molekuler tetapi secara makroskopis tahapannya seakan-akan bersamaan. Aktivitas serta toksisitas suatu bahan obat tergantung pada lama keberadaan dan perubahan zat aktif di dalam tubuh.

Pada umumnya zat aktif suatu obat akan menunjukkan efek farmakologik pada titik tangkap jaringan, bila bahan tersebut telah mencapai tempat tersebut dengan perantaraan darah. Fenomena absorpsi sebagai tahap awal farmakokinetik ditentukan oleh penembusan zat aktif ke dalam darah, selanjutnya oleh darah dihantarkan menuju

sasaran kerja farmakologik dan kemudian mengalami perubahan hayati (metabolisme dan ekskresi) dan akhirnya habis (Aiache, 1993).

Terbuktinya efek antibakteri ekstrak daun *Andrographis paniculata* Nees yang telah berada dalam serum, maka dapat dikatakan bahwa bahan aktif yang terkandung dalam daun *Andrographis paniculata* Nees tersebut terabsorpsi kedalam cairan darah. Dengan demikian daun *Andrographis panicula* Nees dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat invasif ke sistem peredaran darah.

Berdasarkan hasil penelitian ini, makin tinggi dosis atau konsentrasi ekstrak *Androraphis paiculata* Nees yang dicoba semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang hidup. Hal ini dapat terjadi karena semakin tinggi dosis atau konsentrasi ekstrak *Andrographis paniculata* Nees semakin banyak kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga semakin besar kemampuannya menghambat bakteri. Jawetz *et al.* (2001) mengemukakan diantara beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri *in vitro* yang sangat mempengaruhi hasil uji. Faktor-faktor itu antara lain pH lingkungan, komponen media, stabilitas bahan antibakteri, ukuran inokulum, waktu inkubasi, dan aktivitas metabolit organisme.

Schlegel (1994) dalam Ajizah (1996) mengemukakan bahwa kemampuan suatu bahan antibakteri dalam meniadakan kemampuan hidup suatu organisme tergantung dari konsentrasi bahan antibakteri itu. Artinya jumlah bahan antibakteri dalam suatu lingkungan bakteri sangat menentukan kehidupan bakteri tersebut. Hal inilah yang mungkin menyebabkan semakin tinggi dosis atau konsentrasi ekstrak *Andrographis paniculata* Nees semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang

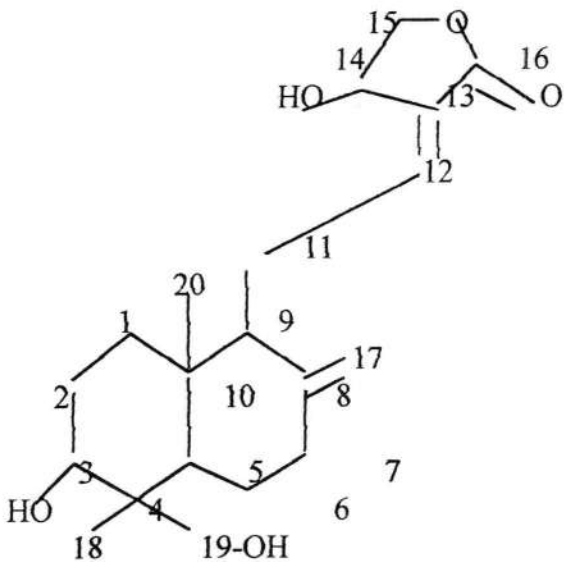
tumbuh. Selain faktor konsentrasi, jenis bahan antibakteri juga menentukan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian ini diduga bahwa kepekaan bakteri *Staphylococcus aureus* karena adanya senyawa-senyawa yang terkandung didalam daun *Andrographis paniculata* Nees yang bersifat antibakteri. Prapanza dan Marianto (2003) menjelaskan semua bagian tanaman *Andrographis paniculata* Nees, seperti daun, batang, bunga, dan akar, terasa sangat pahit. Rasa pahit itu disebabkan oleh adanya senyawa andrografolida yang merupakan senyawa terbanyak terdapat di dalam tanaman ini, terutama bagian daun dan batangnya. Di dalam daun kadar senyawa andrografolida sebesar 2,5 – 4,8% dari berat keringnya. Menurut Winarno (2003) daun dan cabang tanaman *Andrographis paniculata* Nees juga mengandung saponin, flavonoid, tanin, minyak atsiri, kalium, kalsium, natrium, asam kersik, dan damar, dan lain-lain.

Hasil penentuan aktivitas antibakteri yang dilakukan oleh Nikmah (2004) didapatkan hasil bahwa senyawa andrografolida isolat murni dari *Andrographis paniculata* Nees mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, yaitu bersifat bakteristatik terhadap bakteri *EIEC* secara *in vitro* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 10.000 µg/ml. Andrografolida merupakan senyawa diterpen laktone, termasuk senyawa dengan struktur spesifik. Menurut Purwanto (2000) ciri-cirinya antara lain: 1) Efektif pada kadar yang rendah. 2) Melibatkan ikatan kimia yang lebih kuat dibanding ikatan pada senyawa yang berstruktur tidak spesifik. 3) Sifat fisik dan kimia sama-sama berperan dalam menentukan efek biologis.

Siswandono dan Soekardjo (2000) mengemukakan bahwa struktur kimia obat ternyata dapat menjelaskan sifat-sifat obat dan gugus-gugus molekul obat berkaitan

dengan aktivitas biologis. Melihat struktur molekul andrografolida yang mempunyai beberapa macam gugus fungsional (gambar 6.1), dapat diketahui terdapat interaksi yang sangat kuat dengan molekul reseptor biologis, sebagaimana dikemukakan oleh Purwanto dan Susilowati (2000) bahwa aktivitas biologis merupakan akibat interaksi molekul obat dengan gugus fungsional molekul reseptor. Interaksi ini dapat berlangsung karena kekuatan ikatan kimia tertentu untuk suatu tujuan tertentu, misalnya diinginkan efek berlangsung lama dan irreversibel seperti pada obat antibakteri dan antikanker diperlukan ikatan yang lebih kuat yaitu ikatan kovalen.



**Gambar 6.1 Struktur Molekul Andrografolida ( $C_{20}H_{30}O_5$ )**  
(Sumber: Anonim, 2003. COA of the Andrographolide 95%)

Siswandono dan Soekardjo (2000) menyatakan bahwa untuk memberi efek biologis, obat dalam bentuk aktifnya harus berinteraksi dengan reseptor atau tempat aksi atau sel target dengan konsentrasi yang cukup tinggi, sehingga dengan ikatan kovalen tersebut dapat terjadi mekanisme kerja andrografolida dengan enzim transpeptidase (enzim berperan dalam sintesis dinding sel), meskipun harus dengan

konsentrasi yang cukup tinggi, yang ditunjukkan oleh serangan gugus hidroksil serin enzim transpeptidase pada gugus aktif karbonil yang bermuatan positif pada cincin diterpenoid lakton senyawa andrografolida, sehingga terjadi hambatan sintesis peptidoglikan, seperti yang diperlihatkan oleh mekanisme kerja antibiotik laktam (Soekardjo dkk., 2000). Akibatnya dinding sel menjadi lemah, dan karena tekanan turgor dari dalam, dinding sel akan pecah (lisis) sehingga bakteri mengalami kematian.

Kepekaan *Staphylococcus aureus* terhadap ekstrak *Andrographis paniculata* Nees salah satu kemungkinan karena adanya bahan aktif eugenol (minyak atsiri) yang terkandung dalam daun tanaman tersebut, sehingga pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menjadi terhambat. Hal ini sesuai dengan pendapat Winarno dan Sundari (1996), Dzulkarnain (1996) bahwa karena adanya minyak atsiri di dalam daun tumbuhan, itulah yang dapat bersifat antibakteri. Hal ini dijelaskan juga oleh Smith dan Mangkoewidjoyo (1988), dan Darkuni (1996) bahwa bahan aktif eugenol (minyak atsiri) yang terkandung di dalam daun tumbuhan dapat merusak dinding sel atau membran sel sehingga menyebabkan lisisnya sel bakteri tersebut.

Pada tanaman *Andrographis paniculata* Nees juga mengandung senyawa tanin (asam tanat). Dengan adanya tanin ini merupakan salah satu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan oleh efek fisiologis dan efek farmakologis. Efek fisiologisnya yakni tanin mempunyai kemampuan membentuk kompleks baik dengan protein maupun polisakarida, pembentukan kompleks berdasarkan pada pembentukan ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik antara tanin dengan protein (Haslan, 1996). Selain itu

kemampuan tanin menghambat kerja enzim tertentu secara selektif, seperti enzim transkriptase (Cannell, 1998). Menurut Reynold dan Martindale (1996) tanin (asam tanat) dapat berkombinasi dengan protein yang mengakibatkan tanin tahan terhadap enzim pemecah protein, sedangkan menurut Claus (1974) tanin dapat bersifat menghambat pertumbuhan organisme (bakteiostatik) dan mematikan organisme (bakteriosida).

Pada tanin (asam tanat) senyawa aktifnya merupakan senyawa ester galoid yang mengandung gugus HHDP (heksahidroksidipenoil) dan gugus DHHDP (dehidroheksahidroksidipenoil) (Rohman, 1997). Gugus hidroksilnya, baik sebagian atau semuanya membentuk ikatan ester dengan heksahidroksidifenat (Trease dan Evans, 1978). Kemungkinan yang terjadi adalah terdapat adanya suatu ikatan antara gugus aktif tanin yakni ester galoid dengan enzim transpeptidase, sehingga efektivitas enzim menjadi terganggu yang berakibat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* atau bahkan dapat menimbulkan kematian.

Kemampuan masuknya bahan antimikroba ke dalam sel bakteri juga menentukan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan. Menurut Frank C. Luk (1985) dalam Ajizah (1996) mekanisme yang paling penting untuk masuknya suatu bahan adalah difusi pasif lewat membran. Karena bahan-bahan ini masuk dengan cara difusi pengaruh dosis atau konsentrasi bahan aktif menjadi sangat penting. Hal ini berarti difusi bahan antimikroba ke dalam protoplasma sel bakteri ditentukan oleh besar molekul zat, dan konsentrasi bahan antimikroba itu. Mekanisme lain yang mungkin adalah dengan cara filtrasi melalui pori-pori membran, transpor dengan perantaraan carier, dan pencaplokan oleh sel (Frank C. Luk, 1985 dalam Ajizah, 1996).

Kemampuan daun *Andrographis paniculata* Nees dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, ini memberikan gambaran bahwa daun tumbuhan ini mempunyai sifat bakteriostatik, dan bahkan bakteriosida. Hal ini terbukti dari hasil uji *in vitro* dengan metode pengenceran tabung sebelum ekstrak *Andrographis paniculata* Nees berada dalam darah *Rattus norvegicus*. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi 400 mg/ml menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 800 mg/ml mematikan bakteri *Staphylococcus aureus*.

## 6.2 Efek Antibakteri Ekstrak *A. paniculata* Nees Terhadap MRSA

Hasil pengamatan jumlah koloni MRSA pada semua perlakuan yang dicoba (dosis 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, dan 320 mg) menunjukkan jumlah koloni bakteri terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) atau jumlah koloni lebih dari 300 (tabel 5.2). Ini berarti ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* dengan dosis 20 mg sampai 320 mg tidak menghambat pertumbuhan strain *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Walaupun hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa bahan antibakteri dari *Andrographis paniculata* Nees terabsorpsi dan masuk ke dalam darah, sehingga serum tikus yang diambil masih mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi dosis yang dicobakan itu tidak menghambat pertumbuhan MRSA. Hal ini terjadi kemungkinan dosis 20 mg sampai 320 mg yang dicoba ini masih rendah, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berbeda dengan MRSA. Kloos dan Bannerman (1999) menjelaskan MRSA memiliki gen *mecA* yaitu gen yang mengkode *penicillin-binding protein* (PBP) sehingga tidak

dipengaruhi oleh obat tersebut. Perubahan *penicillin-binding protein* tersebut menyebabkan bahan aktif suatu obat tidak dapat berikatan dengan baik pada sel bakteri.

Dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees yang dicoba dianggap masih rendah jika dibandingkan dengan dosis vankomisin dan teikoplanin sebagai antibiotik pilihan untuk MRSA. Menurut Bahar (2002) vankomisin diberikan dengan dosis 2 x 1 g sedangkan teokoplanin diberikan dengan dosis 1 x 400 mg. Pada keadaan berat atau terdapat infeksi endokarditis, dosisnya dinaikkan menjadi dua kali lipat.

Pengujian efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees *in vitro* dengan metode pengenceran tabung (*Tube Dilution Method*) dilakukan sebagai pembandingan, agar diketahui perbedaan efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees sebelum dan setelah berada dalam darah *Rattus noewegicus*. Hasil pengamatan menunjukkan pada konsentrasi 400 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sedangkan konsentrasi 800 dan 1600 mg/ml mematikan *Staphylococcus aureus*. Jumlah koloni MRSA terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) pada semua konsentrasi dengan pengenceran  $10^{-3}$ . Pada konsentrasi 800 mg/ml (P4) dan 1600 mg/ml (P5) dengan pengenceran  $10^{-4}$  jumlah koloni MRSA masih dianggap terlalu banyak karena jumlah koloni lebih besar dari 300 ( $> 3,0 \times 10^6$  CFU/ml).

Berdasarkan hasil pengujian efek antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* Nees *in vitro* dengan metode pengenceran tabung (*Tube Dilution Method*) tersebut merupakan suatu indikasi bahwa makin tinggi dosis atau konsentrasi ekstrak *Androraphis paiculata* Nees yang dicoba semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang hidup. Hal ini dapat terjadi karena semakin tinggi dosis atau konsentrasi ekstrak



*Andrographis paniculata* Nees semakin banyak kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga semakin besar pula kemampuannya untuk menghambat MRSA. Jawetz *et al.* (2001) mengemukakan bahwa di antara beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri *in vitro* yang sangat mempengaruhi hasil uji antara lain: pH lingkungan, komponen media, stabilitas bahan antimikroba, ukuran inokulum, waktu inkubasi, dan aktivitas metabolit mikroorganismenya.

Schlegel (1994) dalam Ajizah (1996) mengemukakan bahwa kemampuan suatu bahan antimikroba dalam meniadakan kemampuan hidup suatu organisme tergantung dari konsentrasi bahan antibakteri itu. Artinya jumlah bahan antibakteri dalam suatu lingkungan bakteri sangat menentukan kehidupan bakteri tersebut. Hal ini memungkinkan bila ditingkatkan konsentrasi/dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees menyebabkan sedikit jumlah koloni bakteri MRSA. Selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Walaupun pada ekstrak *Andrographis paniculata* Nees terdapat beberapa senyawa antibakteri seperti Andrografolida, flavonoid, tanin, minyak atsiri, saponin, damar, dan lain-lain tetapi ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dengan beberapa dosis maupun beberapa konsentrasi yang dicoba tidak dapat menghambat pertumbuhan MRSA. Ini berarti ekstrak dengan dosis tersebut tidak dapat merusak dinding atau membran sel MRSA. Hal ini terjadi karena kemungkinan MRSA mempunyai kemampuan memproduksi penisilinase, enzim beta laktamase, mungkin juga akibat perubahan struktur dinding sel yang disebabkan oleh pemaparan terhadap beberapa antibiotik.

Herman (1992) menjelaskan sebagian besar *Staphylococcus* di Rumah Sakit telah menjadi resisten terhadap penisilin alam karena kemampuannya memproduksi

penisilina. Penelitian lebih lanjut menghasilkan derivat yang tahan terhadap hidrolisa beta laktamase yaitu naflisin, metisilin dan kelompok isoksazolipenisilin.

Nelwan (2002) menjelaskan mekanisme kerja bakteri penghasil enzim beta laktamase, yaitu enzim beta laktamase akan mengikat obat beta laktam sehingga tidak dapat menduduki *protein binding penicillin site* dan dengan demikian tidak dapat menghambat pembentukan dinding sel bakteri. Soebandrio (2002) menjelaskan mekanisme kerja enzim beta laktamase dalam melumpuhkan antibiotik golongan betalaktam tanpa keberadaan penghambat (inhibitor) beta laktamase, yaitu dengan cara enzim berikatan dengan antibiotik dan melisis cincin laktam sehingga menghalangi antibiotik berikatan dengan *protein binding penicillin* (PBP). Dengan adanya *inhibitor* beta laktamase, enzim beta laktamase akan diikat dan dinaktivasi sehingga akan membebaskan antibiotik golongan beta laktam untuk berikatan dengan PBP.

Berdasarkan mekanisme kerja bakteri penghasil enzim beta laktamase seperti telah diuraikan di atas, dapat diduga bahwa mekanisme kerja MRSA dalam melumpuhkan bahan aktif suatu obat seperti ekstrak *Andrographis paniculata* Nes, sama atau mirip dengan mekanisme kerja enzim beta laktamase dalam melumpuhkan obat beta laktam. Hal ini menyebabkan senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak tersebut tidak dapat menduduki *protein binding penicillin site*, sehingga tidak dapat menghambat pembentukan dinding sel MRSA.

Herman (1992) menjelaskan secara klinis diketahui ada empat mekanisme resistensi yang umum, yaitu

1. Perubahan pada sasaran kerja obat sehingga pengikatan obat pada sasarannya tidak terjadi atau berkurang. Tipe resistensi ini terutama berhubungan dengan fungsi ribosom dan mungkin timbul akibat kegagalan pengobatan, akan tetapi secara klinis umumnya dapat diatasi dengan penggunaan antibiotik.
2. Penghambatan transpor obat ke dalam sel yang biasanya terjadi karena perubahan permeabilitas dinding sel bakteri.
3. *Metabolic by-pass* yang melingkupi sel dengan menggantikan langkah metabolisme yang dihambat oleh obat atau peningkatan produksi senyawa biokimia antara yang secara kompetitif bersaing dengan obat pada sel-sel yang peka.
4. Destruksi atau inaktivasi obat yang merupakan mekanisme resistensi terpenting yang ditemukan dalam praktek klinis karena melibatkan resistensi terhadap kelompok beta laktam (penisilin dan sefalosporin) yang paling banyak digunakan dalam terapi.

## BAB 7 PENUTUP

### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan dosis 320 mg, dan tidak menghambat pertumbuhan MRSA.
2. Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* tidak mematikan bakteri *Staphylococcus aureus* dan MRSA.
3. Semakin tinggi dosis ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* semakin aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi tidak aktif menghambat pertumbuhan MRSA.

### 7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan hasil penelitian di atas, disarankan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis atau konsentrasi yang lebih tinggi, guna mengetahui dosis atau konsentrasi ekstrak *Andrographis paniculata* Nees yang menghambat/mematikan MRSA.
2. Melakukan penelitian efek ekstrak *Andrographis paniculata* Nees dalam serum *Rattus norvegicus* terhadap bakteri-bakteri patogen lain.
3. Melakukan penelitian dengan menggunakan tanaman obat yang lain, untuk mencari dan memperkaya obat alternatif terhadap infeksi MRSA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1995. **Farmakope Indonesia**. Edisi 4, Jakarta: Depkes RI, hlm 9-10.
- Anonim, 2002. **Andrographolide: Andrographis Home: Phitochemistry of *A. Paniculata***. <http://www.geocities.com/andrographis/phytochemistry.htm>, pp 1-2.
- Anonim, 2003. **Andrographolide: COA of the Andrographolide 95%**. <http://www.wemai.com/category/botext/andrograph.htm>, pp 1-3.
- Ajizah A, 1996. **Uji Kepekaan Kuman Enteropathogenic *E. Coli* dan *S. typhimurium* Terhadap Ekstrak dan Infusa Daun *P.guajava L.*** Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Aiache JM, 1993. **Farmasetika 2 – Biofarmasi. Edisi ke 2**, (Penerjemah Soeratri Widji). Surabaya: Airlangga University Press, hlm 8, 31.
- Bahar A, 2002. **Tata Laksana Pneumonia pada Pencandu Narkoba**. Surabaya: Simposium penata Laksanaan Kedokteran di Bidang Ilmu Penyakit Dalam di Hotel Sahid 30 – 31 Maret, hlm 1- 4.
- Baron E J, Peterson LR, Finegold SM, 1994. **Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology**, 19<sup>th</sup> ed. Missouri: Mosby-Year Book Inc., pp 9, 101, 102, 170, 174.
- Berghe D A, Vlietinck A J, 1991. **Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agent From Higher Plant**. *Methods in Plant Biochemistry* 6: 47-58.
- Brooks G F, Butel J S, Morse SM, 1998. **Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology**, 21<sup>th</sup> ed. USA: Appleton & Lange, pp 197-202.
- Cannell RJP, 1998. **Natural Products Isolation**. Glaxo Wellcome Research & Development, Stevenage, Herts. Totowan: UK Human Press, pp 354-355.
- Claus, 1974. **Parmacognosy**. Philadelphia: Lea and Febiger, pp 85.
- Darkuni N, 1996. **Daya Bakteri Emulsi Minyak Cengkeh dan Eugenol Sebagai Bahan Desinfektan**. Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Dwiputro AY, 2000. **Uji Sitotoksitas Andrografolida dan Ekstrak Etanol Herba Sambiloto pada Kultur Sel Rbdomiosarkoma dengan Metoda Pewarnaan MTT**. Skripsi, Universitas Airlangga, Surabaya.

- Dzulkarnain B, Dian Sundari, Ali Chozin., 1996. **Tanaman Obat Bersifat Antibakteri di Indonesia**. Jakarta: Puslitbang Farmasi BPPK Depkes RI, hlm 35-37, 48.
- Fardiaz S, 1989. **Analisis Mikrobiologi Pangan**. Bogor: Dirjen Dikti-Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB, hlm 31-38.
- Gusrizal D, 2002. **Sambiloto "King Of Bitter" Dalam Pengobatan Herba**. <http://www.kompas.com/kompascetak/0208/Iptek/samb32.htm>, hlm 1-2.
- Hariati Y, 1991. **Uji Aktivitas Imunomodulator daun Sambiloto Terhadap Sistem Fagositosis Mencit**. Skripsi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Harbone JB, 1996. **Metode Fitokimia, Penuntun Cara Moderen Menganalisa Tumbuhan**. Bandung: ITB, hlm 4-7.
- Haslan E, 1996. **Natural Polifenol (Vegetable Tanin) as drung Product, Possible Modes Action, Natural Product**. American Chemical Society & American Society of Pharmacognosy 2: 88 - 92.
- Hashim NH, 2003. **Keracunan Makanan**. <http://www.kompas.com/kompascetak/0208/Iptek/menc29.htm>, hlm1-2
- Herman M J, 1992. **Antibiotik Beta Laktam**. Jakarta: Puslitbang Farmasi Badan Litbangkes Depkes RI, hlm 1, 2, 5, 6, 11.
- Heyne K, 1987. **Tumbuhan Berguna Indonesia**. Cetakan 1, Jilid III, Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya, hlm 1757, 924-926
- Jawetz, Melnick, & Adelberg's, 2001. **Mikrobiologi Kedokteran** (Penerjemah: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Unair). Jakarta: Salemba Medika, hlm 233-235, 318-325.
- Joklik, WK, Willet H P, Amos DB, Wilfert CM, 1992. **Zinsser Mikrobiology**, 20<sup>th</sup> ed. California: Appleton Lange, Norwalk, Connecticut /San Mateo, pp 403-412.
- Kenneth, 2002. **Staphylococcus**. Bacteriology at UW-Madison. <http://medic.med.uth.tmc.edu/path/00001456.htm>, p1-6.
- Kloos WE, and Bannerman TL, 1999. **Staphylococcus and Micrococcus**. In Murray E J, Baron MA, Pfaller FC, Tenover RH, Tenover FC (ed), **Manual of Clinical Microbiology**, 7<sup>th</sup> ed. Washington: ASM Press, pp 276.

- Lewis R, 2003. *Andrographis paniculata*. OHA Forum Andrographis. File://A:\OHA-Forum-Andrographis.htm, hlm 1-7
- Matsuda T, Kuroyanagi M, Sugiyama S, Umehara K, Ueno A, Nishi K, 1994. **Cell Differentiation Inducing Diterpenes From *A. Paniculata* Nees**. Chemical and Pharmaceutical 42: 1216-1225.
- Nagar AI, and Das RK, 1981. **Basic Statistics**. Bombay : Oxford University Press, pp 190.
- Nelwan RHH, 2002. **Resisten Beta Laktam: Masalah Global**. Simposium Issue dan Penatalaksanaan Resisten Beta Laktam. Jakarta: Bagaian Penyakit Dalam FKUI/RSUPN Cipto Mangunkusumo, hlm 1-2.
- Nikmah M, 2004. **Aktivitas Androgravolida Isolat Dari *Andrographis paniculata* Nees Terhadap Bakteri *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) *in vitro***. Tesis Universitas Airlangga, Surabaya.
- Paxton DJ, 1991. **Assay for Antifungal Activity**. Method in Plant Biochemistry 6: 33 – 46.
- Punjabi NH, 2002. **Demam Tifoid dan Imunisasi Penyakit**. [http://www.pardi.or.id/imunisasi demam tifoid.htm](http://www.pardi.or.id/imunisasi_demam_tifoid.htm), hlm. 2-3.
- Prapanza I dan Marianto LA, 2003. **Khasiat dan Manfaat Sambiloto**. Jakarta: PT Agromedia Pustaka, hlm 4-10, 14, 15, 28-49.
- Purwanto, 2000. **Hubungan Struktur, Kelarutan dan Aktivitas Biologis Obat, dalam: Kimia Medisinal**. Jilid 1, (Editor Siswamondo dan Sukardjo B). Surabaya: Airlangga University Press, hlm 122, 132.
- Purwanto dan Susilowati R., 2000. **Hubungan Struktur, Ikatan Kimia dan Aktivitas Biologis Obat, dalam; Kimia Medisinal**. Jilid 1. (Editor Siswamondo dan Sukardjo B). Surabaya: Airlangga University Press, hlm 181-182.
- Rahmawati T, 2001. **Uji Efek Teratogenik Isolat Andrografolida Dari Herba Sambiloto Terhadap Mencit Betina Hamil**. Skripsi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Reynolds E F, and Martindale J, 1996. **The Extra Pharmacopoeia**, 31<sup>th</sup> ed. London: Royal Pharmaceutical Society, pp 1074-1074.
- Rohman A, 1997. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba dari Daun *Elaeocarpus grandiflorus***. Tesis, UGM, Yogyakarta.

- Santa IGP, 1996. **Studi Taksonomi Sambiloto (*A. paniculata*). Tumbuhan Obat Indonesia 3 : 14.**
- Santosa, Singgih, 2003. **Latihan SPSS Statistik Multivarian. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo, hlm 18-25.**
- Shulman ST, John PP, Herbert MS, 1994. **Dasar Biologis & Klinis Penyakit Infeksi.** Edisi 4, (Penerjemah; Wahab A S). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hlm. 551-666.
- Siswandono dan Soekardjo B, 2000. **Kimia Medisinal.** Surabaya: Airlangga University Press, hlm 2-3.
- Smith J B, Mangkoewidjoyo S, 1988. **Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis.** Jakarta: Universitas Indonesia, hlm 73 - 44.
- Soebandrio A, 2002. **Data Indonesia Mengenai Beta Laktam/Penghambat Beta Laktam *In Vitro*.** Simposium Isu dan Penatalaksanaan Resisten Beta Laktam. Jakarta: Bagian Mikrobiologi, FKUI, hlm 2-3.
- Soemarno, 2000. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik.** Yogyakarta: Akademi Analis Kesehatan Yogyakarta Depkes RI, hlm 22-23.
- Soekardjo, B, Suko Harjono, Robby S, 2000. **Hubungan Struktur Aktivitas Obat,** dalam: **Kimia Medisinal.** Jilid 2. (Editor Siswandono dan Soekardjo B). Surabaya: Airlangga University, hlm 112-113.
- Sukardiman, Abdul Rahman, Ekasari Wiwied, 2001. **Efek Sitotoksik Senyawa Andrografolida Dari *Andrographis paniculata* Nees Terhadap Kultur Sel Kanker Leukemia.** Laporan Penelitian Dosen muda Muda. Surabaya: Universitas Airlangga, hlm 3 - 4.
- Surono, A., 1997. **Infeksi Rumah Sakit Mengancam Pasien:**  
<http://www.indonesia.com/intisari/97/Maret/infeksi.htm>, hlm 1-3.
- Susanti, 2000. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik.** Yogyakarta: Akademi Analis Kesehatan Yogyakarta, Depkes RI, hlm 22-23.
- Steel, R.G.D., and Torrie, J.H., 1980. **Principles and Procedures of Statistics.** Mc Graw - Hill International, (Alih Bahasa; Bambang Sumantri). Jakarta: Gramedia, hlm 168-1180.
- Syamsuhidayat SS, dan Hutapea JR, 1991. **Inventaris Tanaman Obat Indonesia.** Jakarta: Depkes RI Balitbangkes, hlm 34, 54-55.



- Tjitrosoepomo G, 1988. **Taksonomi Tumbuhan**. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hlm 236.
- Trease EG and Evans WC, 1978. **Pharmacognosy**, 20<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, pp 376-380.
- Wahyuni, 2001. **Uji Aktivitas Anti Malaria Ekstrak metanol Terstandar Sambiloto Terhadap *Plasmodium falciparum* Stadium Gametosit *In Vitro***. Skripsi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Walpole E R, 1995. **Pengantar Statistika Edisi Bahasa Indonesia**. Jakarta: Gramedia, hlm 30-39.
- Warsa, UC, 1994. **Coccus Positif Gram**. Dalam **Mikrobiologi Kedokteran**. Jakarta: Binarupa Aksara, hlm 103, 104, 107-109.
- Widyawaruyanti A, 1998. **Uji Immunostimulan *Andrographis paniculata* terhadap Sekresi IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  oleh subset limfosit THI Mencit (TH-1) Dalam Percobaan Kultur Sel**. Laporan Penelitian DIP OPF. Surabaya: Universitas Arlangga, hlm 6 - 8.
- Widyawaruyanti Aty, 1999. **Aktivitas Immunomodulator Senyawa - Senyawa Diterpenoid Dari *Andrographis paniculata* Nees Terhadap Fungsi Sitotoksisitas Limfosit T- Sitotoksik (CD8<sup>+</sup>) Mencit**. Tesis Universitas Airlangga, Surabaya.
- Winarto WP, 2003. **Sambiloto Budi Daya dan Pemanfaatan Untuk Obat Cet 1**, Jakarta: Penebar Swadaya, hlm 1-9, 40-55.
- Winarno MW, Sundari D, 1996. **Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Obat Diare di Indonesia**. *Cermin Dunia Kedokteran* 109: 25-32.

## Lampiran 1

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
PROGRAM PASCASARJANA

Jl. Dharmawangsa Dalam Selatan Surabaya - 60286 ☎ (031) 5023715, 5020170, Fax. : (031) 5030076  
E-mail : pasca@pasca.unair.ac.id URL Address : http://www.pasca.unair.ac.id

/J03.4/PP/2004

27 Pebruari 2004

Izin melaksanakan penelitian

Yth. 1. Dekan Fakultas Kedokteran Univ. Airlangga  
2. Dekan Fakultas Farmasi Univ. Airlangga  
3. Ketua TDC Univ. Airlangga

Guna penulisan penelitian untuk Tesis peserta Program Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar angkatan tahun 2002/2003 Program Pascasarjana Universitas Airlangga,

Nama : Abdul Majid, Drs  
Nim : 090214743-M  
Judul : EFEK ANTI BAKTERI EKSTRAK *A.PANICULATA* NEES TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DAN MRSA

Pembimbing : Dr. Eddy Bagus Wasito, dr, MS, SpMK  
Pembimbing I : Marijam Purwanta, Dra, M. Sc, Apt

Maka dengan ini kami mohon perkenan Saudara untuk memberikan izin kepada yang bersangkutan untuk melaksanakan penelitian di Instansi Saudara.

Demikian dan atas bantuan Saudara kami sampaikan terima kasih.

A.n. Direktur  
As. Dir. Bidang Akademik,  
  
Prof. Dr. I. L. Mahaputra, drh, M. Sc.  
NIP. 130687550

okimia Fak. Kedokteran Unair (unit hewan coba)  
mikrobiologi Fak. Kedokteran Unair  
tokimia Fak. Farmasi Unair  
astroenteritis TDC Unair

EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK...

ABDUL MAJID



DEPARTMENT OF NATIONAL EDUCATION  
TROPICAL DISEASE CENTRE ( T D C )  
AIRLANGGA UNIVERSITY

KAMPUS C, UNAIR JL. MULYOUREJO SURABAYA  
PHONE : 62 - 31 - 5992445, 5992446 FAX : 62 - 31 - 5992445 ZONE : 60115  
E-mail : tdcua@rad.net.id

18 Mei 2004

To. : 137 /TDC-Unair/2004  
Hal. : Pemakaian alat di TDC-UNAIR

Kepada Yth.  
Prof.Dr.Laba Mahaputra,drh.,M.Sc  
As.Dir Bidang Akademik  
Program Pascasarjana Unair  
Surabaya

Menjawab surat no. 741/J03.4/PP/2003 tertanggal 27 Februari 2004 perihal permohonan izin menggunakan fasilitas alat untuk penelitian tesis di TDC-Unair an. *Abdul Majid,Drs* maka dapat kami beritahukan bahwa pada prinsipnya kami dapat memberikan ijin penggunaan fasilitas tersebut dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Ada tenaga analis yang menjadi pendampingnya.
2. Pemakaian alat dilakukan pada jam kerja (08.00 s/d 16.00 WIB), diluar jam kerja harus menghubungi dahulu Dr.Eddy Bagus Wasito,dr.,MS selaku penanggung jawab laboratorium.
3. Biaya pemakaian alat/listrik dan insentif tenaga analis diperhitungkan sesudah kegiatan selesai.

Semikian untuk diketahui.  
atas perhatian serta kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.



Prof.Dr. Yoes Prijatna Dachlan,dr.,MSc  
NIP. 130 359 278

Pembusan : Kepada Yth.  
Abdul Majid,Drs

## Lampiran 3

**Data Hasil Penelitian Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* (Viable Count) Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dalam Serum *Rattus norvegicus* Dengan Metode Drop**

| Serum                    | Rep<br>lika<br>si | K           | P1        | P2          | P3        | P4          | P5        |             |           |
|--------------------------|-------------------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
|                          |                   | Pengenceran |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           |
|                          |                   | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ |
| Tidak<br>Dipa-<br>naskan | 1                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 4           | 0         | 1           | 0         |
|                          | 2                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 8           | 3         | 2           | 1         |
|                          | 3                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 15          | 4         | 2           | 2         |
|                          | 4                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 6           | 1         | 0           | 0         |
|                          | 5                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 11          | 6         | 1           | 1         |
|                          | Mean              | -           | -         | -           | -         | 8,80        | 2,80      | 1,20        | 0,80      |
| Dipa-<br>naskan          | 1                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 7           | 2         | 1           | 1         |
|                          | 2                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 5           | 1         | 2           | 0         |
|                          | 3                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 12          | 5         | 3           | 2         |
|                          | 4                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 8           | 1         | 0           | 0         |
|                          | 5                 | TBUD        | TBUD      | TBUD        | TBUD      | 14          | 6         | 1           | 1         |
|                          | Mean              | -           | -         | -           | -         | 9,20        | 3,00      | 1,40        | 0,80      |

**Keterangan:** K = Kontrol (0)  
 P1 = Dosis 20 mg  
 P2 = Dosis 40 mg  
 P3 = Dosis 80 mg  
 P4 = Dosis 160 mg  
 P5 = Dosis 320 mg  
 TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung  
 0 = Bakteri Tidak Tumbuh

## Lampiran 4

**Data Hasil Penelitian Jumlah Koloni MRSA (*Viable Count*) Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dalam Serum *Rattus norvegicus* Dengan Metode Drop**

| Serum                    | Rep<br>lika<br>si | K                   | P1                  | P2                  | P3                  | P4                  | P5                  |
|--------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                          |                   | Pengenceran         | Pengenceran         | Pengenceran         | Pengenceran         | Pengenceran         | Pengenceran         |
|                          |                   | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ | $10^{-3}$ $10^{-4}$ |
| Tidak<br>Dipa-<br>naskan | 1                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD 81             |
|                          | 2                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | 3                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD 70             |
|                          | 4                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | 5                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | Mean              | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | - -                 |
| Dipa-<br>naskan          | 1                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD 97             |
|                          | 2                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | 3                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD 16             |
|                          | 4                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | 5                 | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD                | TBUD TBUD           |
|                          | Mean              | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | - -                 |

**Keterangan:** K = Kontrol (0)  
 P1 = Dosis 20 mg  
 P2 = Dosis 40 mg  
 P3 = Dosis 80 mg  
 P4 = Dosis 160 mg  
 P5 = Dosis 320 mg  
 TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung

## Lampiran 5

**Data Hasil Penelitian Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* dan MRSA (Viable Count) Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dengan Metode Drop**

| Bakteri          | Replikasi | K           |           | P1          |           | P2          |           | P3          |           | P4          |           | P5          |           |
|------------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
|                  |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           | Pengenceran |           |
|                  |           | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ | $10^{-3}$   | $10^{-4}$ |
| <i>S. aureus</i> | 1         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | 0           | 0         | 0           | 0         | 0           | 0         |
|                  | 2         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | 6           | 1         | 0           | 0         | 0           | 0         |
|                  | 3         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | 3           | 1         | 0           | 0         | 0           | 0         |
|                  | 4         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | 1           | 0         | 0           | 0         | 0           | 0         |
|                  | 5         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | 0           | 0         | 0           | 0         | 0           | 0         |
|                  | Mean      | -           |           | -           |           | -           |           | 2           | 0,4       | 0           | 0         | 0           | 0         |
| MRSA             | 1         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD 85     |           | TBUD 30     |           |
|                  | 2         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD 77     |           | TBUD 22     |           |
|                  | 3         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD 72     |           | TBUD 23     |           |
|                  | 4         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD 74     |           | TBUD 18     |           |
|                  | 5         | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD        |           | TBUD 85     |           | TBUD 20     |           |
|                  | Mean      | -           |           | -           |           | -           |           | -           |           | -           | 79        | -           | 22,6      |

**Keterangan:** K = Kontrol (0)  
 P1 = Konsentrasi 100 mg/ml  
 P2 = Konsentrasi 200 mg/ml  
 P3 = Konsentrasi 400 mg/ml  
 P4 = Konsentrasi 800 mg/ml  
 P5 = Konsentrasi 1600 mg/ml  
 TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung

## Lampiran 6

Data Jumlah Koloni *Staphylococcus Aureus* ( CFU/ml )

| Serum            | Rep  | P4     | P5    | Mean   |
|------------------|------|--------|-------|--------|
| Tidak dipanaskan | 1    | 80000  | 20000 | 50000  |
|                  | 2    | 160000 | 40000 | 100000 |
|                  | 3    | 300000 | 40000 | 170000 |
|                  | 4    | 120000 | 0     | 60000  |
|                  | 5    | 220000 | 20000 | 120000 |
|                  | Mean | 176000 | 24000 | 100000 |
| Dipanaskan       | 1    | 140000 | 20000 | 80000  |
|                  | 2    | 100000 | 40000 | 70000  |
|                  | 3    | 240000 | 60000 | 150000 |
|                  | 4    | 160000 | 0     | 80000  |
|                  | 5    | 280000 | 20000 | 150000 |
|                  | Mean | 184000 | 28000 | 106000 |
| Mean Keseluruhan |      | 180000 | 26000 | 103000 |

## Lampiran 7

## Hasil Uji Normalitas Data

## NPar Tests

## Descriptive Statistics

|                     | N | Mean     | Std. Deviation | Minimum  | Maximum  |
|---------------------|---|----------|----------------|----------|----------|
| P4 Dipanaskan       | 5 | 176000.0 | 86486.9932     | 80000.00 | 300000.0 |
| P5 Dipanaskan       | 5 | 24000.00 | 16733.2005     | .00      | 40000.00 |
| P4 Tidak Dipanaskan | 5 | 184000.0 | 74027.0221     | 100000.0 | 280000.0 |
| P5 Tidak Dipanaskan | 5 | 28000.00 | 22803.5085     | .00      | 60000.00 |

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

|                                  |                | P4<br>Dipanaskan | P5<br>Dipanaskan | P4 Tidak<br>Dipanaskan | P5 Tidak<br>Dipanaskan |
|----------------------------------|----------------|------------------|------------------|------------------------|------------------------|
| N                                |                | 5                | 5                | 5                      | 5                      |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | 176000.0000      | 24000.0000       | 184000.0000            | 28000.0000             |
|                                  | Std. Deviation | 86486.9922       | 16733.2012       | 74027.0234             | 22803.5078             |
| Most Extreme<br>Differences      | Absolute       | .173             | .231             | .227                   | .237                   |
|                                  | Positive       | .173             | .194             | .227                   | .237                   |
|                                  | Negative       | -.134            | -.231            | -.175                  | -.163                  |
| Kolmogorov-Smirnov Z             |                | .388             | .515             | .508                   | .530                   |
| Asymp. Sig. (2-tailed)           |                | .998             | .953             | .959                   | .941                   |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.



Lampiran 8

Hasil Uji t Sampel Independen

T-Test

Group Statistics

| PERLAK           |             | N | Mean      | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|------------------|-------------|---|-----------|----------------|-----------------|
| Tidak Dipanaskan | Perlakuan 4 | 5 | 176000.00 | 86486.99       | 38678.16        |
|                  | Perlakuan 5 | 5 | 24000.00  | 16733.20       | 7483.31         |
| Dipanaskan       | Perlakuan 4 | 5 | 184000.00 | 74027.02       | 33105.89        |
|                  | Perlakuan 5 | 5 | 28000.00  | 22803.51       | 10198.04        |

Independent Samples Test

|                  |                             | Levene's Test for Equality of Variances |      | t-Test for Equality of Means |       |                 |                 |                       |   |           |
|------------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|-----------|
|                  |                             | F                                       | Sig. | t                            | df    | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference |           |
|                  |                             |   |      |                              |       |                 |                 |                       | Lower                                     | Upper     |
| Tidak Dipanaskan | Equal variances assumed     | 7.745                                   | .024 | 3.858                        | 8     | .005            | 152000.00       | 39395.43              | 61153.97                                  | 242846.03 |
|                  | Equal variances not assumed |   |      | 3.858                        | 4.299 | .016            | 152000.00       | 39395.43              | 45557.04                                  | 258442.96 |
| Dipanaskan       | Equal variances assumed     | 9.406                                   | .015 | 4.503                        | 8     | .002            | 156000.00       | 34641.02              | 76117.67                                  | 235882.33 |
|                  | Equal variances not assumed |   |      | 4.503                        | 4.752 | .007            | 156000.00       | 34641.02              | 65538.45                                  | 246461.55 |

Surat Keterangan Determinasi Tanaman *Andrographis paniculata* Nees

UNIVERSITAS AIRLANGGA FAKULTAS FARMASI  
BAGIAN ILMU BAHAN ALAM

Jl.Dharmawangsa Dalam, Surabaya - 60286 Telpon.(031)5033710

SURAT KETERANGAN

No. : 06/J03.1.20.2/DT/2003

Telah dilakukan Identifikasi/determinasi :

Dari tumbuhan : Sambiloto  
a.n. Saudara/I / No.Mhs. : Drs. Abdul Majid / 090214743M  
Untuk keperluan : Penelitian

Hasil Identifikasi/determinasi dari tumbuhan tersebut diatas :

# nama ilmiah (species) : *Andrographis paniculata* Nees.  
# suku (familia) : **Acanthaceae**

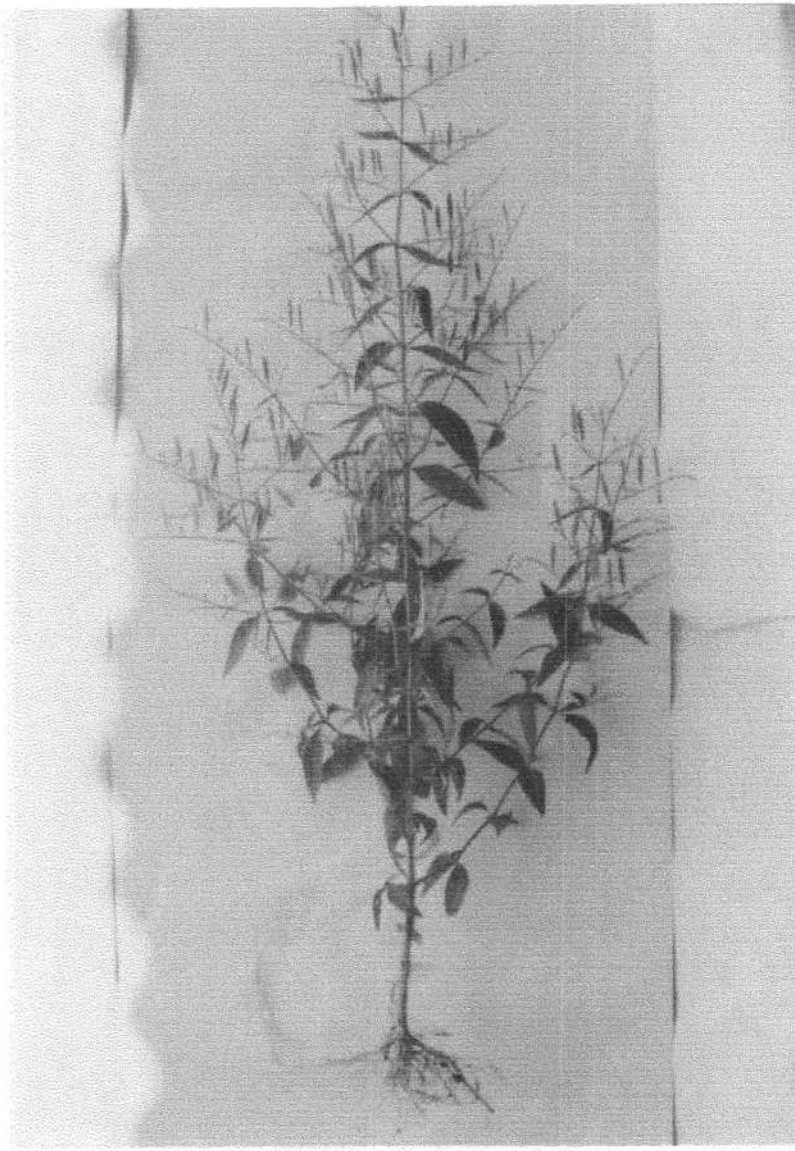
Demikian surat keterangan ini untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Surabaya, 19 Desember 2003  
Dosen Taksonomi Tumbuhan,

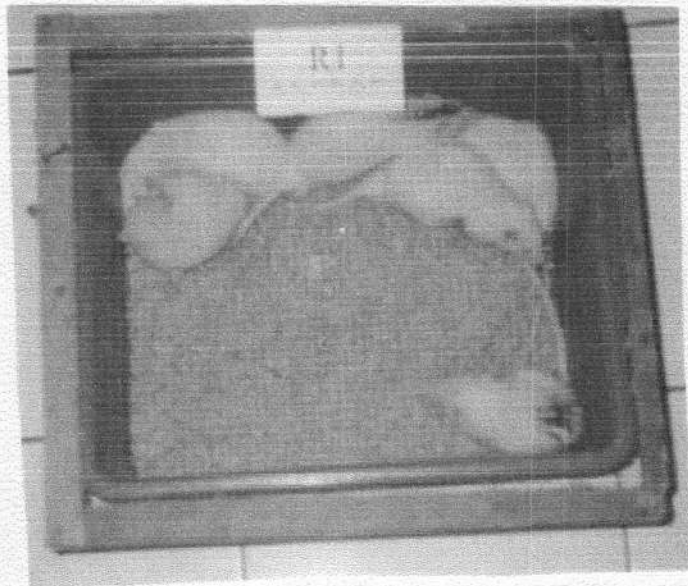


Dr.Bambang Prajogo EW.,Apt.,MS.  
NIP. 131 470 993

**Lampiran 10**

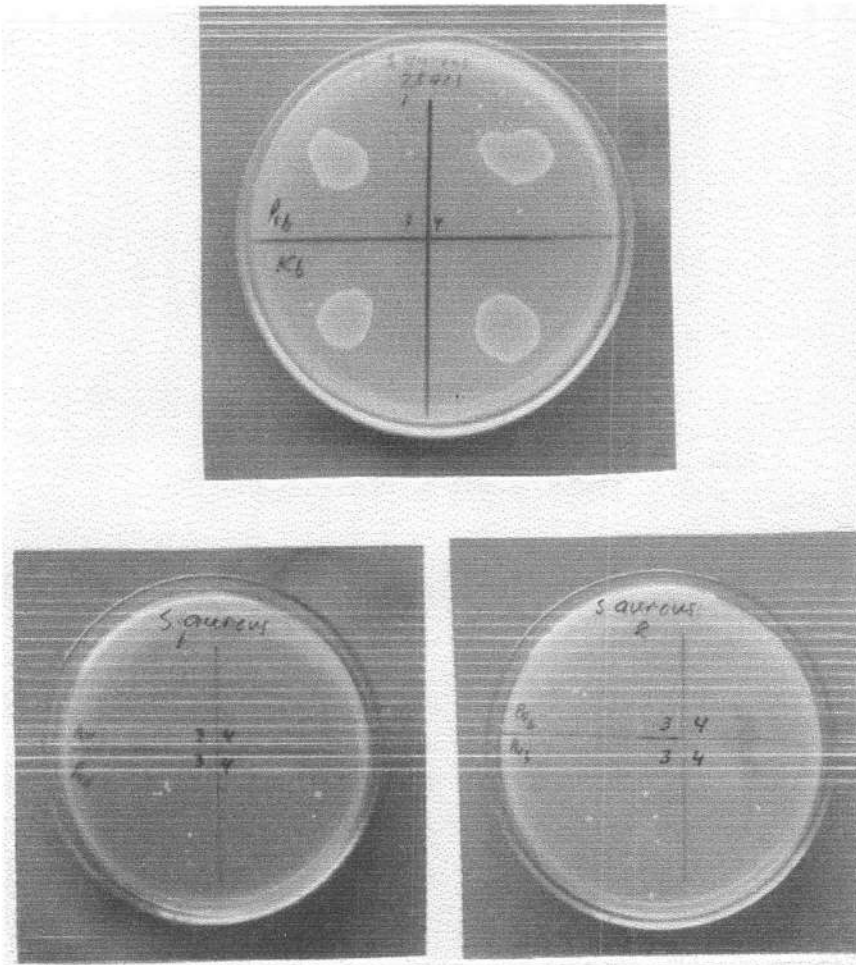


**Gambar Tanaman *Andrographis paniculata* Nees**  
Diambil Dari Lereng Gunung Pandanjese  
Palu Barat Sulawesi Tengah

**Lampiran 11**

**Gambar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)  
Dalam Kotak Masing-Masing Enam Ekor**

## Lampiran 12

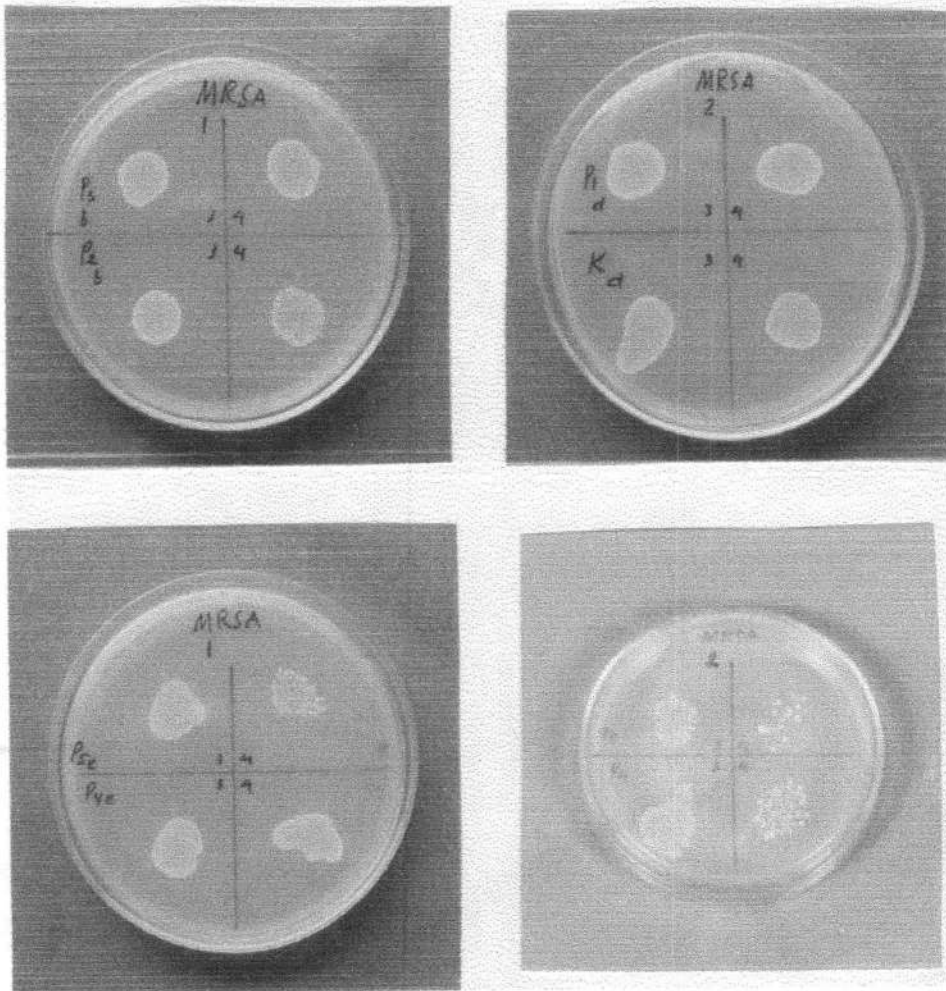


**Gambar Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dalam Serum *Rattus norvegicus* Dengan Metode Drop**

**Keterangan:**

- S. aureus* 1 = Serum tidak dipanaskan  
*S. aureus* 2 = Serum dipanaskan  
 K = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 0 mg.  
 P1 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 20 mg  
 P2 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 40 mg  
 P3 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 80 mg  
 P4 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 160 mg  
 P5 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 320 mg.  
 a, b, c, d, e = ulangan  
 3 = pengenceran  $10^{-3}$   
 4 = pengenceran  $10^{-4}$

## Lampiran 13



**Gambar Pertumbuhan Bakteri MRSA Setelah Paparan Ekstrak *Andrographis paniculata* Nees Dalam Serum *Rattus norvegicus* Dengan Metode Drop**

**Keterangan:**

MRSA 1 = Serum tidak dipanaskan

MRSA 2 = Serum dipanaskan

K = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 0 mg.

P1 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 20 mg

P2 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 40 mg

P3 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 80 mg

P4 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 160 mg

P5 = Dosis ekstrak *A. paniculata* Nees 320 mg.

a, b, c, d, e = ulangan

3 = pengenceran  $10^{-3}$

4 = pengenceran  $10^{-4}$