

Skripsi

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI BUAH MENGGKUDU
(*Morinda citrifolia*) YANG DIEKSTRAKSI DENGAN METANOL
DAN AIR TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA IN VITRO**



Oleh :

HARIYANI
SURABAYA-JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2004**

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI BUAH MENGKUDU
(*Morinda citrifolia*) YANG DIEKSTRAKSI DENGAN METANOL DAN AIR
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA IN VITRO**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

HARIYANI

NIM 069912658

Menyetujui

Komisi Pembimbing



Suryanie Sarudji, MKes.Drh
Pembimbing Pertama



Dr. Setiawan Koesdarto, MSc.Drh
Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui

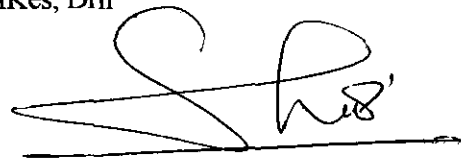
Panitia Penguji



Rahmi Sugihartuti, MKes, Drh
Ketua



Dr. Diah Kusumawati G., SU., Drh
Sekretaris



Dr. Susilohadi W.T., M.S., Drh
Anggota



Suryanie Sarudji., MKes, Drh
Anggota



Dr. Setiawan Koedarto, M.Sc., Drh
Anggota

Surabaya, 4 Februari 2004

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga,

Dekan



Prof. Dr. Ismudjono, MS., Drh
NIP 130687297

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI BUAH MENKUDU
(*Morinda citrifolia*) YANG DIEKSTRAKSI DENGAN METANOL
DAN AIR TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Hariyani

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas antibakteri buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang diekstraksi dengan methanol dan air terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi, *Minimal Inhibitory Concentration Test* (MIC Test), *Minimal Bactericidal Concentration Test* (MBC Test) dan metode difusi disk.

MIC Test dibaca melalui kekeruhan yang timbul setelah inkubasi 24 jam, Sedangkan MBC Test dibaca setelah dilakukan penanaman pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Hasil konsentrasi 1,7% buah mengkudu yang diekstraksi dengan methanol mampu membunuh *Staphylococcus aureus* sedangkan buah mengkudu yang diekstraksi dengan air pada konsentrasi 30% mampu membunuh *Staphylococcus aureus*.

Metode difusi disk, untuk mengetahui perbandingan aktivitas daya hambat buah mengkudu yang diekstraksi dengan methanol dan air terhadap pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus*. Penelitian dilakukan dengan empat perlakuan tujuh ulangan. Pengamatan menunjukkan adanya daerah hambatan di sekitar kertas disk yang berwarna jernih.

Hasil analisis varian (uji F) diketahui terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0.05$) antar perlakuan. Diameter hambatan terbesar diperoleh dari buah mengkudu yang diekstraksi dengan methanol konsentrasi 100% (a_2b_1), yaitu 13,43 mm yang berbeda nyata dengan buah mengkudu yang diekstraksi dengan methanol konsentrasi 50% (a_1b_1), buah mengkudu yang diekstraksi dengan air konsentrasi 100% (a_2b_2) dan konsentrasi 50% (a_2b_1). Diameter hambatan terkecil diperoleh buah mengkudu yang diekstraksi dengan air konsentrasi 50% (a_2b_1) yang tidak berbeda nyata ($p > 0.05$) dengan buah mengkudu yang diekstraksi dengan air konsentrasi 100% (a_2b_2).

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT Yang Maha Kuasa, Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia yang telah dilimpahkan sehingga penyusunan skripsi mengenai Perbandingan Aktivitas Antibakteri Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Yang Diekstraksi dengan Metanol dan Air terhadap *Staphylococcus aureus* dapat terselesaikan.

Adapun tujuan dari penyusunan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung penyusunan skripsi ini tidak akan berhasil. Rasa hormat dan terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis sampaikan kepada Bapak Suryanie Sarudji, MKes. Drh selaku pembimbing pertama dan Bapak Dr. Setiawan Koesdarto, M.Sc. Drh selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, nasehat, perhatian serta dukungan yang sangat membantu dalam penulisan skripsi ini.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak dekan dan para Pembantu Dekan Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta Staf atas didikan dan kesempatan yang diberikan kepada penulis selama ini. Kepada Bapak Didik Handijatno, M.S, Drh beserta staf Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, serta Bapak Drs. Herra Studiawan, M.S dan Saudara Iwan dari Fakultas

Farmasi Universitas Airlangga atas bantuan dan fasilitas yang diberikan selama penelitian, penulis sampaikan terima kasih.

Salam cinta dan hormat penulis sampaikan kepada Bapak, Ibu dan adik Ana tercinta atas kasih sayang, do'a dan dorongan semangatnya. Terima kasih untuk sahabatku Kiki yang telah memberikan dukungan, saran, luangan waktu, menemani dalam suka dan duka demi kelancaran penulisan skripsi ini, serta rekan-rekan mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga angkatan 1999.

Semoga Allah SWT, melimpahkan rahmat dan Hidayah-Nya bagi kita semua dan disertai harapan agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi Ilmu Pengetahuan dan Masyarakat.

Skripsi ini masih jauh dari sempurna, penulis mengharap segala kritik dan saran bagi kesempurnaannya.

Surabaya, Januari 2004

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Landasan Teori.....	3
1.4. Tujuan Penelitian.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	5
1.6. Hipotesis Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan tentang Mengkudu.....	6
2.1.1 Sejarah Mengkudu.....	6
2.1.2 Nama Daerah.....	7
2.1.3 Taksonomi Mengkudu.....	7
2.1.4 Habitat Mengkudu.....	8
2.1.5 Morfologi Mengkudu.....	8
2.1.6 Kandungan dan Manfaat Mengkudu.....	10

2.1.6.1 Terpenoid	12
2.1.6.2 Zat Anti Bakteri.....	12
2.1.6.3 Xeronine dan Proxeronine	12
2.1.6.4 Scolopetin	13
2.1.6.5 Saponin	13
2.1.6.6 Tanin	13
2.1.6.7 Flavonoid	14
2.1.6.8 Asam	15
2.2 Tinjauan tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.2.1 Resistensi.....	17
2.2.2 Penyebaran dan Penularan	18
2.2.3 Pengendalian dan Pengobatan.....	18
2.3 Tinjauan tentang Uji Mikrobial	19
2.3.1 Metode Dilusi.....	19
2.3.2 Metode Difusi Disk.....	20
BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2 Materi Penelitian	22
3.2.1 Isolat kuman	22
3.2.2 Alat-alat Penelitian	22
3.2.3 Bahan-bahan Penelitian.....	22
3.3 Metode Penelitian.....	23
3.3.1 Persiapan Penelitian	23

3.3.1.1 Pembuatan Simplisia	23
3.3.1.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Mengkudu	24
3.3.1.3 Pembuatan Ekstrak Air Mengkudu	24
3.3.1.4 Pembuatan Suspensi Kuman	24
3.3.1.5 Pengisian Kertas Disk	25
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	26
3.3.2.1 <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) dan <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC)	26
3.3.2.2 Difusi Disk	28
3.3.3 Peubah yang diamati	30
3.3.4 Rancangan dan Analisis Statistik	30
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	31
BAB V. PEMBAHASAN	36
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
RINGKASAN.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN	49
GAMBAR	60

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> Akibat Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu Yang Diekstraksi dengan Metanol	32
2.	Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> Akibat Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu Yang Diekstraksi dengan Air.....	33
3.	Rata-rata dan Simpangan Baku Diameter Hambatan Pertumbuhan Kuman <i>Staphylococcus aureus</i>	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pemeriksaan Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram.....	49
2. Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	50
3. Skema Kerja Penentuan MIC dan MBC	51
4. Perhitungan Mengkonversikan Persen ke Gram	54
5. Skema Kerja Metode Difusi Disk.....	55
6. Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 2x2.....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Hasil Dilusi buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan setelah diinkubasi 24 jam.....	60
2.	Hasil Dilusi buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan setelah diinkubasi 24 jam.....	60
3.	Uji MBC dari buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air pada media MHA (penelitian pendahuluan).....	61
4.	Uji MBC dari buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol pada media MHA.....	61
5.	Uji MBC dari buah mengkudu yang diekstraksi dengan air pada media MHA.....	61
6.	Hasil uji difusi disk uji MBC dari buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air	62
7.	Biakan <i>Staphylococcus aureus</i> pada media <i>Blood Agar</i> (BA) dan <i>Mannitol Salt Agar</i> (MSA).....	63

BAB I

PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kemajuan di bidang peternakan semakin pesat dengan adanya berbagai macam penelitian dan penemuan baru dalam lingkup kesehatan masyarakat veteriner. Bersamaan dengan itu, penyakit di bidang peternakan juga semakin beragam, salah satunya adalah *Staphylococcosis*. *Staphylococcosis* merupakan salah satu penyakit pada hewan yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus sp* yang salah satu spesiesnya adalah *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri yang banyak menimbulkan masalah dalam klinik. Bakteri tersebut dapat menimbulkan pioderma pada anjing dan kucing; mastitis pada sapi serta cepat menjadi resisten terhadap beberapa antibiotik sehingga menyulitkan dalam hal pengobatannya (Woolcock, 1991; Jawetz *et al.*, 1995; Kirk, 1995). Berkembangnya populasi mikroba yang resisten menyebabkan antibiotik yang pernah efektif untuk mengobati penyakit tertentu kehilangan nilai terapinya, sehingga jelas ada kebutuhan terus menerus untuk mengembangkan obat baru guna menggantikan obat yang telah kehilangan efektifitasnya (Anonymous, 1995)^a.

Penggunaan obat modern dalam mengobati penyakit pada ternak terasa cukup memberatkan karena harga obat mahal bagi masyarakat Indonesia yang sebagian besar tinggal di pedesaan sebagai peternak.

Apalagi dalam situasi sekarang ini dimana Indonesia, baru saja dilanda krisis ekonomi yang telah menempatkan industri peternakan dalam posisi terpuruk. Tidak terkecuali industri obat hewan sebagai salah satu pilar pendukungnya semakin tidak terjangkau oleh masyarakat peternak karena harga bahan baku obat impor yang tinggi dan makin sempitnya pasar. Untuk itu perlu diupayakan obat yang murah dan mudah didapatkan, serta terjangkau oleh masyarakat peternak. Syarat seperti itu dapat diterapkan apabila menggunakan bahan baku alami yang berasal dari dalam negeri misalnya penggunaan obat tradisional sehingga akan mampu menjamin kelangsungan penyediaan dan stabilitas harga (Anonymous, 1999).

Salah satu obat tradisional yang banyak digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit adalah buah mengkudu. Buah mengkudu yang masak dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk radang tenggorokan, gangguan pencernaan dan gangguan pernafasan (Supriadi, 2001). Selain itu, buah mengkudu masak dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk penyembuhan penyakit darah tinggi, sembelit dan diare yang disebabkan oleh kuman (Wijayakusuma dkk, 1996). Buah mengkudu ini mempunyai potensi sebagai tanaman obat karena mengandung berbagai senyawa kimia diantaranya alkaloid, acubin, asperuloside, alizarin dan beberapa derivat antraquinon yang terbukti sebagai anti bakteri (Maria Goreti Waha, 2002).

Pemanfaatan buah mengkudu sebagai obat dapat diperoleh dengan mengambil kandungan zat yang terdapat dalam buah mengkudu yang akan

terlarut dalam tiap pelarut. Dalam penelitian, pembuatan ekstrak pada umumnya digunakan dua macam pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu metanol dan air. Senyawa aktif dapat terlarut di dalam pelarut yang sesuai kepolarannya dari pelarut yang dipergunakan pada fraksinasi (Murdiati dkk, 2000), sehingga dengan pelarut yang tepat dan konsentrasi yang tepat maka efektifitas senyawa aktif dalam buah mengkudu sebagai antibakteri dapat ditingkatkan. Melalui penelitian ini kami ingin mengetahui manfaat buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan dengan air sebagai antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang masalah tersebut diatas, maka permasalahan yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak buah mengkudu pada konsentrasi tertentu dapat menghambat atau membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro ?
2. Apakah terdapat perbedaan aktivitas daya antibakterial buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan dengan air terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro ?

1.3 Landasan Teori

Studi aktivitas antimikroba dari beberapa ekstrak tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional di Nigeria Utara menyebutkan bahwa

ekstrak tanaman yang mengandung tannin, flavonoid, dan saponin dapat berfungsi sebagai antimikroba. Selain itu alkaloid dan derivat antrakinon (morindin dan alizarin) yang terkandung dalam tanaman juga merupakan zat anti bakteri yang aktif (Ogunleye and Onaolapo, 1991).

Pemanfaatan buah mengkudu sebagai obat dapat diperoleh dengan mengambil kandungan zat yang terdapat dalam buah mengkudu yang akan terlarut dalam tiap pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu metanol dan air. Senyawa aktif buah mengkudu yang dapat terlarut dalam metanol antara lain alkaloid, antrakinon, flavonoid dan tanin sedangkan senyawa aktif buah mengkudu yang terlarut dalam air antara lain saponin, tannin dan gula (Murdiati, dkk 2000).

Menurut Ester (1992) dalam penelitiannya tentang kandungan buah mengkudu telah berhasil mengisolasi iridoid dan kelompok cumarin yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Buah mengkudu menunjukkan efek antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Escheria coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenterial*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio sp* (Ditmarr, 2000; Limyati dkk, 1998), juga memiliki potensi sebagai anti jamur (Limyati, 1998).

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui daya antibakterial dan konsentrasi minimal ekstrak buah mengkudu yang dapat menghambat atau membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Membandingkan aktivitas daya antibakterial buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan dengan air terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang khasiat buah mengkudu sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai bahan obat alami yang berteknologi modern.

1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Ekstrak buah mengkudu pada konsentrasi tertentu dapat menghambat atau membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Terdapat perbedaan aktivitas daya antibakterial buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan dengan air terhadap *Staphylococcus aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Mengkudu

2.1.1 Sejarah Mengkudu

Asal usul mengkudu tidak terlepas dengan keberadaan bangsa Polinesia yang menetap di beberapa kepulauan yang terletak di Samudra Pasifik. Pada tahun 100 M, bangsa Polinesia ini mengembara sampai sekitar Pasifik Selatan. Disaat sebelum pengembaraan mereka telah mempersiapkan diri untuk berpindah ke pulau lain. Hal ini bisa dibuktikan dari adanya sejumlah tumbuhan dan hewan yang ikut dibawa, karena dianggap penting untuk mempertahankan hidup. Salah satu tumbuhan itu yaitu mengkudu. Sejak 1500 tahun lalu penduduk kepulauan yang kini disebut Hawaii itu mengenal mengkudu dengan sebutan *noni*. Mereka menduga tumbuhan tersebut memiliki banyak manfaat. Mereka memandangnya sebagai *Hawaii magic plant*, karena buah ini dipercaya bisa mengobati berbagai macam penyakit, sehingga mereka selalu sehat sepanjang waktu tanpa gangguan penyakit yang berarti (Bangun dan Sarwono, 2002).

Pada tahun 1849, para peneliti Eropa menemukan zat pewarna alami yang berasal dari akar tanaman mengkudu. Zat itu diberi nama *morindone* dan *morindin*. Dari hasil penemuan inilah nama *morinda* diturunkan untuk nama ilmiah mengkudu.

2.1.2 Nama Daerah

Mengkudu (dalam kamus Indonesia baku) dikenal dengan berbagai macam nama daerah seperti udu, eru (Enggano); keumudu (Aceh); lengkudu (Gayo); bengkudu (Batak); bangkudu (Toba); makudu (Nias); mekudu (Lampung); manakudu, wangkudu, labanau, rewonang (Dayak); kudu, cangkudu (Sunda); kodhuk (Madura); wungkudu, tibah (Bali); ai kombo, manakudu, bakudu (Sumba).

2.1.3 Taksonomi Mengkudu

Susunan sistematika tumbuhan mengkudu adalah sebagai berikut (Integrated Taxonomic Information System serial number 35071, 2002) adalah :

Kingdom	:	Plantae
Sub Kingdom	:	Tracheobiota (Vascular plants)
Super division	:	Spermatophyta
Division	:	Magnoliophyta
Class	:	Magnoliopsida-Dicotyledones
Sub class	:	Asteridae
Ordo	:	Rubiales
Family	:	Rubiaceae
Genus	:	Morinda
Species	:	<i>M. citrifolia</i> , Linnaeus

2.1.4 Habitat Mengkudu

Mengkudu (*M. citrifolia*) merupakan tumbuhan perdu dengan tinggi 3 sampai dengan 8 meter, berbatang licin dan berwarna kekuningan, berserabut padat serta cabang dan ranting tumpul.

Tanaman mengkudu dapat hidup di berbagai jenis tanah tetapi paling baik hidup di tanah *porous* (keras) dan subur. Tanaman mengkudu ditanam di dataran rendah sampai pada ketinggian 400 meter di atas permukaan laut, tetapi untuk tanaman mengkudu yang tumbuh liar di hutan-hutan dapat tumbuh hingga ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut (Bangun dan Sarwono, 2002).

2.1.5 Morfologi Mengkudu

1. Pohon

Pohon mengkudu tidak begitu besar, tingginya antara 4 sampai 6 meter. Batang bengkok, berdahan kaku, kasar dan memiliki akar tunggang yang tertancap dalam. Kulit batang coklat keabu-abuan atau coklat kekuningan, berlekah dangkal, tidak berbulu, anak cabangnya bersegi empat. Tajuknya selalu hijau sepanjang tahun. Kayu mengkudu mudah dibelah setelah dikeringkan. Bisa digunakan sebagai kayu bakar dan tiang. Di Malaysia kayu mengkudu digunakan untuk penopang tanaman lada.

2. Daun

Daun mengkudu terletak berhadap-hadapan. Ukuran daun besar - besar, tebal, dan tunggal. Bentuknya jorong lanset, berukuran 15 – 50 x 5 – 17 cm. Tepi daun rata, ujung lancip sampai lancip pendek. Pangkal daun berbentuk pasak. Urat daun menyirip. Warna hijau mengkilap, tidak berbulu. Pangkal daun pendek, berukuran 0,5 – 2,5 cm. Ukuran daun penumpu bervariasi, berbentuk segitiga lebar.

3. Bunga

Perbungaaan mengkudu bertipe bonggol bulat, bergagang 1- 4 cm. Bunga tumbuh di ketiak daun penumpu yang berhadapan dengan daun yang tumbuh normal. Bunga berwarna putih dan berbau harum, merupakan bunga majemuk yang tersusun dalam karangan bunga bentuk terompet yang panjangnya bisa mencapai 1,5 cm. Benang sari tertancap di mulut mahkota. Kepala putik berputing dua. Tangkai sari berambut halus. Bakal buah tenggelam. Bunga bersilangan lima atau enam.

4. Buah

Kelopak bunga tumbuh menjadi buah bulat lonjong sebesar telur ayam bahkan ada yang berdiameter 7,5 – 10 cm. Permukaan buah seperti terbagi dalam sel-sel polygonal (bersegi banyak) yang berbintik- bintik dan berkulit. Mula-mula buah berwarna hijau, menjelang masak menjadi putih kekuningan. Setelah matang warnanya putih transparan dan lunak. Daging buah tersusun dari buah-buah batu berbentuk

piramid, berwarna coklat merah. Setelah lunak daging buah mengkudu banyak mengandung air yang aromanya seperti keju busuk. Perkembangbiakan dilakukan dengan biji yang perlu disemaikan terlebih dahulu, pertumbuhan mengkudu sangat cepat dan mulai menghasilkan buah pertama pada usia 1,5 – 2 tahun.

2.1.6 Kandungan dan Manfaat Mengkudu

Pada awalnya tujuan utama menanam pohon mengkudu pada awal abad – 19 adalah untuk menunjang industri batik. Saat itu ditanam untuk dipanen pepagannya (kulit akar) sebagai sumber zat pewarna. Ketika tanaman berumur 3 – 5 tahun, akarnya digali, dibersihkan dengan air, dan dikupas kulitnya sebagai pepagan (Bangun dan Sarwono, 2002).

Ternyata kemudian, bagian lain dari tanaman itu makin jelas berkhasiat obat, sehingga mengkudu kemudian lebih dikenal sebagai tanaman obat daripada penghasil cat celup. Sari kulit batangnya dulu banyak dipakai sebagai obat demam malaria. Daun mengkudu pun juga berkhasiat. Sakit pegal-pegal linu atau rheumatik setelah dikompres dengan daun mengkudu bisa sembuh. Daun itu dipilih yang lebar-lebar dan diolesi tipis-tipis dengan minyak kelapa, lalu dipanggang di atas api sampai layu. Ketika panas-panasnya ini daun ditempelkan pada bagian tubuh yang sedang sakit. Selain sebagai obat, daun mengkudu muda juga enak dimakan sebagai lalap yang dikukus dan daun yang tua dan lebar sebagai pembungkus pepes ikan.

Saat ini mengkudu lebih banyak diambil buahnya daripada akar atau daunnya. Buah yang sudah masak dapat digunakan untuk radang tenggorokan dan penderita narkoba (Wijayakusuma dkk, 1996), sedangkan air perasan buah mengkudu yang tua serta masak sebagai pengobatan tradisional terhadap tekanan darah tinggi (Dalimarta dkk, 2001). Meski demikian buah yang masih muda bisa dimanfaatkan sebagai sayur kukus untuk dilalap dengan sambal, sedangkan yang setengah masak diiris-iris untuk dirujuk.

Menurut Utami (2002), mengkudu mengandung senyawa scopoletin yang memiliki efek melebarkan pembuluh darah (vasodilatator) dan memperlancar peredaran darah. Buah mengkudu efektif menurunkan tekanan darah dan kadar asam urat dalam darah. Selain itu buah mengkudu juga mengandung senyawa antraquinon yang memiliki efek anti inflamasi dan anti bakteri yang salah satu khasiatnya untuk mengatasi radang sendi atau rheumatik.

Selain itu buah mengkudu juga memiliki efek anti hipertensi dan anti radang karena adanya kandungan scopoletin dan antraquinon. Mengkudu juga mengandung asam askorbat, damnacanthal, xeronine, proxeronine dan serotonin. Damnacanthal dikenal sebagai senyawa anti kanker. Xeronine mengaktifkan enzim dan mengatur fungsi protein dalam sel. Serotonin mengatasi stres, migrain, memperbaiki metabolisme dan menenangkan perasaan. Serotonin juga mempunyai efek diuretic sehingga membuat frekuensi pengeluaran urine meningkat sehingga dengan

demikian zat-zat racun dalam darah dapat dengan mudah dikeluarkan dari tubuh (Rahmadani dan Dripa, 2002)

2.1.6.1 Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa hidrokarbon isometric terdapat pada minyak atau lemak essensial. Jenis lemak ini penting bagi tubuh dalam proses sintesis organik dan pemulihan sel-sel tubuh.

2.1.6.2 Zat Anti Bakteri

Jurnal Pacific Science melaporkan bahwa buah mengkudu mengandung bahan anti bakteri antara lain antrakuinon, acubin, dan alizarin. Senyawa antrakuinon yang banyak terdapat pada buah mengkudu dapat mengontrol bakteri patogen seperti *Salmonella typhi*, *Shigella sp.*, serta *Staphylococcus aureus*.

2.1.6.3 Xeronine dan Proxeronine

Salah satu alkaloid penting yang terdapat dalam buah mengkudu adalah xeronine. Buah mengkudu hanya mengandung sedikit xeronine tapi banyak mengandung bahan pembentuk (precursor) xeronine yaitu proxeronine dalam jumlah besar.

Proxeronine adalah sejenis asam koloid yang tidak mengandung gula, asam amino, atau asam nukleat. Di dalam usus enzim proxeronase akan mengubah proxeronine menjadi xeronine. Selanjutnya xeronine diserap sel-sel tubuh untuk mengaktifkan protein-protein yang tidak aktif, mengatur struktur dan bentuk sel yang aktif (Heinicke, 2000).

2.1.6.4 Scolopetin

Scolopetin pada buah mengkudu adalah sejenis fitonutrien yang dapat mengikat serotonin. Scolopetin berfungsi memperlebar saluran pembuluh darah yang mengalami penyempitan dan melancarkan peredaran darah sehingga jantung tidak perlu bekerja terlalu keras untuk memompa darah (Solomon, 2002).

Menurut Kang *et al* (1999), Scolopetin dapat meningkatkan kegiatan kelenjar pineal yang terdapat didalam otak. Kelenjar ini merupakan tempat serotonin diproduksi dan kemudian digunakan untuk menghasilkan hormon melatonin. Serotonin adalah salah satu zat penting didalam trombosit manusia yang melapisi saluran pencernaan dan otak yang berfungsi sebagai neurotransmitter di dalam otak.

2.1.6.5 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air sehingga bersifat seperti sabun (Robinson, 1991). Sabun memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan hancurnya kuman (Dwidjoseputro, 1994).

2.1.6.6 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang berbentuk serpihan mengkilat berwarna kekuningan sampai coklat muda atau serbuk amorf, tidak berbau atau sedikit berbau khas. Mudah larut dalam air dan etanol, kurang larut

dalam etanol mutlak, larut dalam acetone, praktis tidak larut dalam benzena, kloroform dan eter (Anonimus, 1995)^b.

Tanin bersifat adstringensia, yaitu senyawa yang dengan protein dalam larutan netral atau asam lemah akan membentuk endapan yang tidak larut, terasa kesat dan jika diberikan pada mukosa akan bekerja menciutkan. Tanin akan menyebabkan perapatan dan penciutan lapisan sel terluar, juga menghambat sekresi jaringan yang meradang (Mutschler, 1991).

2.1.6.7 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon, atau dapat dinyatakan struktur flavonoid adalah C₆-C₃-C₆ (Manitto, 1992).

Flavonoid biasanya terdapat dalam jaringan bunga. Berbagai macam warna bunga disebabkan karena adanya senyawa flavonoid, terutama antosianidin yang merupakan pigmen tumbuhan yang penting setelah klorofil. Proantosianidin adalah senyawa tidak berwarna, ditemukan dalam jaringan tumbuhan berkayu, terutama dalam kulit buah. Mempunyai sifat khas sebagai pengendap protein dan mudah terurai dalam asam (Manitto, 1992).

Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid untuk tumbuhan yang mengandungnya ialah pengaturan tumbuh, fotosintesis, kerja antimikroba,

antivirus. Selain itu flavonoid juga memiliki aktivitas antioksidasi, menurunkan agregasi platelet sehingga mengurangi pembekuan darah, tetapi jika dipakai pada kulit, flavonoid lain menghambat perdarahan (Robinson, 1991).

2.1.6.8 Asam

Asam askorbat yang terdapat di dalam buah mengkudu merupakan sumber vitamin C dan antioksidan. Antioksidan berfungsi menetralkan radikal bebas, yaitu partikel-partikel berbahaya yang terbentuk sebagai hasil samping proses metabolisme yang dapat merusak materi genetik dan sistem kekebalan tubuh.

Buah mengkudu juga mengandung asam kaproat, asam kaprik, dan asam kaprilat. Asam kaproat dan asam kaprik inilah yang menyebabkan bau busuk ketika buah mengkudu matang, sedangkan asam kaprilat membuat rasa buah tidak enak.

2.2 Tinjauan tentang *Staphylococcus aureus*

Bakteri ini ditemukan pertama kali oleh Ogston (1831) dinamakan *Micrococci*, baru pada tahun 1957 menurut Bergey's ditetapkan sebagai *Staphylococcus aureus*. Genus *Staphylococcus* lebih kurang terdiri dari 30 spesies, tiga spesies utama dalam klinik adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*.

Staphylococcus adalah kuman yang berbentuk bulat biasanya tersusun bergerombol seperti buah anggur, dapat pula terletak sendiri-sendiri, berpasangan atau membentuk rantai pendek, tumbuh dalam keadaan aerob dan fakultatif anaerob, bersifat Gram positif (Jawetz *et al.*, 1986)

Staphylococcus aureus mudah ditumbuhkan pada berbagai perbenihan, dengan suhu optimum 37° C dan pH 7,1-7,6, namun tumbuh paling baik pada suhu kamar 20° C untuk membentuk pigmen. Juga dapat tumbuh dalam udara yang mengandung 29 – 30 % CO₂ (Duguid, 1987).

Staphylococcus aureus pada media padat membentuk koloni bulat, tepinya rata, permukaan halus mengkilat, sedikit cembung, dengan warna koloni kuning keemasan. Dalam media kaldu daging, pertumbuhannya ditandai dengan adanya endapan berwarna putih seperti serbuk yang melekat didasar tabung. Media selektif *Mannitol Salt Agar* (MSA) menghasilkan koloni kuman berwarna kuning (Joklik *et al.*, 1984; Freeman, 1985; Jawetz *et al.*, 1986).

Staphylococcus aureus membentuk asam tanpa gas dari glukosa, laktosa, maltosa, sukrosa, gliserol dan mannitol serta membentuk katalase positif, memfermentasi lambat karbohidrat dan memproduksi asam laktat (Jawetz *et al.*, 1995). Selain itu *Staphylococcus aureus* merupakan indol negatif dan hemolisis positif, Methylen blue positif, merubah nitrat menjadi nitrit, memproduksi H₂S sedikit, menghidrolisa gelatin, dan mengkoagulasi plasma (Jawetz, 1995).

2.2.1 Resistensi

Staphylococcus aureus relatif tahan terhadap pemanasan dibanding kuman kokus lainnya. Pada pemanasan dengan temperatur 60° C selama 30 menit dapat merusak sel (Merchant dan Packer, 1971). *Staphylococcus aureus* dapat terbunuh dalam larutan formaldehid 10 %, larutan phenol 1%, HgCl 0,5 % serta dalam larutan Gentian Violet dengan konsentrasi 1 : 25.000 (Merchant dan Parker, 1971)

Staphylococcus sensitive terhadap beberapa antibakteri namun seringkali juga terjadi resistensi dengan mekanisme seperti yang dijelaskan Jawetz (1986) bahwa :

1. Produksi beta laktamase, di bawah kontrol plasmid dan membuat beberapa organisme resisten pada penicillin. Plasmid ditransmisikan lewat tranduksi dan mungkin juga lewat konjugasi.
2. Resistensi terhadap nafcilin, methicilin, dan oxa cilin yang tidak tergantung pada produksi beta laktamase. Mekanisme resistensi terhadap nafcilin berhubungan dengan tidak dicapainya *penicillin binding protein* pada organisme.
3. Toleransi berarti pertumbuhan *Staphylococcus aureus* hanya dapat dihambat oleh obat namun tidak dibunuh. Toleransi dapat terjadi karena kurangnya aktivitas enzim autolitik pada dinding sel.
4. Plasmid juga dapat membawa gen yang resisten terhadap tetrasiklin, eritromisin, aminoglikosida, dan beberapa obat lain.

2.2.2 Penyebaran dan Penularan

Sumber utama penularan kuman ini adalah tubuh manusia. Sebagian besar wabah keracunan makanan oleh kuman ini disebabkan karena cemaran tangan manusia atau anggota badan lainnya seperti hidung, mulut atau luka infeksi yang terdapat pada lesi, benda terkontaminasi, saluran pernafasan dan kulit manusia (Kuswanto dan Saleh, 1988).

Penularan pada anak hewan biasanya melalui luka akibat pemotongan pusar dan kulit yang lecet. Pada hewan besar terjadi melalui kuartir kambing, gigitan caplak, selapu lendir dan luka. Demikian pula apabila daya tahan tubuh menurun disertai infeksi virus maka bakteri menjadi ganas.

2.2.3 Pengendalian dan Pengobatan

Pengendalian yang baik untuk menghadapi *Staphylococcus aureus* adalah melalui pencegahan yaitu sanitasi. Hal ini berdasarkan pada berbagai eksperimen mengenai kekebalan terhadap *Staphylococcus aureus* yang telah dilakukan pada manusia dan hewan berupa *formoltoksin*, *toksoid* maupun *adjuvant sel toksoid vaksin* tidak memberikan hasil yang baik.

Pengobatan dengan antibiotik tidaklah selalu memberikan hasil yang baik karena banyaknya strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik (Jawetz *et al.*, 1986).

2.3 Tinjauan tentang Uji Mikrobial

Pemeriksaan uji kepekaan kuman terhadap zat anti mikroba disebut *sensitivity test* (uji kepekaan kuman). Zat anti mikroba adalah suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba. Zat anti mikroba apabila berfungsi menghambat pertumbuhan kuman disebut bakterostatik dan yang membunuh kuman disebut bakteriosidik (Lay, 1994).

Cara untuk mengetahui kepekaan bahan anti bakterial terhadap kuman antara lain menggunakan metode dilusi dan metode diffusi disk.

2.3.1 Metode Dilusi

Prinsip metode ini adalah suatu seri pengenceran larutan anti bakteri dalam pertumbuhan bakteri yang dimulai dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah. Media pertumbuhan diinokulasikan dengan bakteri uji dalam jumlah tertentu. Setelah inkubasi akan tampak adanya hambatan pertumbuhan kuman. Dengan metode ini akan diketahui *Minimal Inhibitory Concentration Test* (MIC Test) dan *Minimal Bactericidal Concentration Test* (MBC Test). *Minimal Inhibitory Concentration Test* (MIC Test) adalah konsentrasi bahan anti bakteri terendah yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sedangkan *Minimal Bactericidal Concentration Test* (MBC Test) adalah konsentrasi anti bakteri terendah yang mampu membunuh 99,9 % inokulum bakteri.

Dalam uji dilusi ini diperlukan suspensi baku dari mikroorganisme yang ditumbuhkan dalam kaldu. Suspensi baku tersebut dimasukkan dalam kaldu yang berisi berbagai konsentrasi bahan anti bakteri. Konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam kaldu ditentukan dengan mengukur kekeruhan setelah diinkubasi. Tabung kaldu yang berisi konsentrasi bahan anti bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen terlihat tetap bening, sedangkan tabung dengan konsentrasi anti bakteri yang tidak dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen terlihat keruh. Kemampuan bahan anti bakteri dapat ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah anti bakteri yang masih mampu mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (Lay, 1994).

2.3.2 Metode Difusi disk

Metode ini didasarkan proses difusi anti bakteri dari cakram disk ke media agar yang mengandung mikroorganisme uji. Metode penyebaran ini dipakai untuk menentukan aktivitas anti bakteri secara kualitatif, yaitu dengan cara mengukur diameter zona hambatan pada pertumbuhan bakteri. Efek anti bakteri dilihat dengan adanya daerah hambatan berupa zona jernih disekeliling cakram disk. Makin aktif bahan anti bakteri atau sensitif kuman, diameter daerah hambatan atau zona jernih akan semakin besar. Faktor lain yang berpengaruh adalah komposisi media, temperatur, waktu inkubasi, ukuran inokulum, ketebalan media, dan laju difusi bahan anti

bakteri terhadap laju pertumbuhan kuman. Kepekaan kuman terhadap bahan anti bakteri dapat dikelompokkan menjadi 3 kategori, yaitu : sangat peka/sensitive, kurang peka/intermediate, tidak peka/resisten (Lay, 1994).

Kuman dikategorikan peka terhadap bahan anti bakteri tertentu apabila dengan konsentrasi tertentu dapat terbentuk diameter hambatan pertumbuhan kuman yang besar, tidak peka/resisten apabila diameter hambatan sangat kecil atau tidak terjadi daerah hambatan. Dalam menentukan kategori tersebut terdapat patokan atau standart yang telah ditentukan, kecuali untuk obat baru. Jumlah kuman yang digunakan dalam pengujian ini adalah 10^6 - 10^8 /ml, dihitung dengan metode Koch/TPC (Beisher,1983).

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, pelaksanaan penelitian berlangsung pada bulan Juli 2003 sampai dengan September 2003.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Isolat kuman

Kuman yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat murni kuman *Staphylococcus aureus* ATCC nomor 25923 yang diperoleh dari Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan (Balai POM) Surabaya.

3.2.2 Alat-alat penelitian

Alat-alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, tabung dilusi, Bunsen, ose, mikro pipet, inkubator, kain kasa, kertas saring, tabung hisap, erlenmeyer, cawan penguap, *autoclave*, *rotatory vacuum evaporator*, mikroskop, objek glass.

3.2.3 Bahan-bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu matang yang diperoleh dari Pasar lokal Sidoarjo, aquadest, metanol 96%, kertas disk, *Manninol Salt Agar* (MSA) untuk media

pertumbuhan kuman, *Mueller Hinton Broth* (MHB), *Mueller Hinton Agar* (MHA).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara *in vitro* menggunakan uji sensitivitas metode dilusi dengan penentuan MIC Test (*Minimal Inhibitory Concentration Test*) dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration Test*) serta metode difusi disk.

3.3.1 Persiapan Penelitian

3.3.1.1 Pembuatan Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun. Buah mengkudu yang digunakan adalah buah mengkudu yang matang, dicuci hingga bersih dan ditiriskan sampai sisa-sisa air dapat dihilangkan. Buah mengkudu diiris tipis-tipis dan dikeringkan dibawah sinar matahari hingga cukup kering. Pengeringan yang dilakukan pada suhu yang terlalu tinggi akan mengakibatkan perubahan kimia dan pengeringan dalam waktu yang lama (lebih dari 10 hari) menyebabkan simplisia ditumbuhi kapang (Murdiati, dkk, 2000). Buah mengkudu yang sudah kering kemudian digiling hingga menjadi serbuk.

3.3.1.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Mengkudu

Pembuatan ekstrak buah mengkudu ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Sejumlah 200 g serbuk buah mengkudu dimaserasi dengan 2000 ml metanol selama 4 kali 24 jam, sambil diaduk. Kemudian disaring dengan menggunakan tabung hisap dan ekstrak cair yang diperoleh pada tiap penyaringan dikumpulkan lalu diuapkan dengan rotatory vacuum evaporator pada suhu tidak lebih dari 50°C sampai diperoleh ekstrak kental yang merupakan ekstrak buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol (Murdiati dkk, 2000)

3.3.1.3 Pembuatan Ekstrak Air Buah Mengkudu

Sejumlah 200 g serbuk buah mengkudu dimaserasi dengan 2000 ml aquadest selama 3 kali 24 jam, sambil diaduk. Kemudian disaring dengan menggunakan tabung hisap dan ekstrak cair yang diperoleh pada tiap penyaringan dikumpulkan lalu diuapkan dengan rotatory vacuum evaporator pada suhu tidak lebih dari 50°C sampai diperoleh ekstrak kental yang merupakan ekstrak buah mengkudu yang diekstraksi dengan air (Murdiati dkk, 2000).

3.3.1.4 Pembuatan Suspensi Kuman

Beberapa koloni *Staphylococcus aureus* diambil dan dicampur dengan 1 ml *Mueller Hinton Broth* (MHB) sehingga terbentuk suspensi. Suspensi

bakteri dibuat dengan cara mengambil 4 – 5 koloni *Staphylococcus aureus* dari pupukan pada media MSA yang berumur 18 jam, kemudian dicampur dengan 1 ml MHB, dan diinkubasi pada suhu 37°C. Kekeruhan dari suspensi bakteri ini disesuaikan dengan standar Mc Farland no. 1 yang memiliki jumlah bakteri 3×10^8 CFU (Coloni Forming Unit) (Bailey, 1986). Bila lebih keruh ditambahkan MHB, bila kurang keruh ditambah kuman lagi.

3.3.1.5 Pengisian Kertas Disk

Kertas disk yang akan digunakan dalam penelitian dimasukkan dalam cawan petri kemudian disterilkan dalam autoclave selama 15-20 menit pada suhu 121°C. Sementara itu disediakan empat tabung reaksi, diberi nomor satu sampai empat. Tabung satu diisi ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol dengan ukuran 1 gram/ml dan tabung dua diisi dengan ekstrak yang sama dengan ukuran 0,5 gram/ml. Dari sini diperoleh ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi 100% dan 50%. Tabung tiga dan empat dengan cara yang sama dengan tabung satu dan dua tapi diisi dengan ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam air. Selanjutnya kertas disk kosong yang telah disterilkan dimasukkan dalam tabung tersebut masing-masing tujuh buah kertas disk. Tunggu beberapa saat sampai jenuh (\pm 15 menit), kemudian diambil dan diletakkan dalam cawan petri steril, dikeringkan dalam inkubator bersuhu 37°C selama 18 jam (Sharma *et al.*, 1977).

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

3.3.2.1 *Minimum Inhibitory Concentration Test* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) Test

a. *Minimum Inhibitory Concentration Test* (MIC) Test

MIC Test digunakan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri tertentu. Cara kerjanya dengan membuat pengenceran ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol dan dalam air dengan beberapa konsentrasi.

Pada penelitian pendahuluan didapatkan bahwa ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol dapat menghambat *Staphylococcus aureus* pada pengenceran 1/10-1/100 sedangkan untuk ekstrak mengkudu yang dilarutkan dalam air menghambat *Staphylococcus aureus* pada pengenceran 1-1/10. Untuk itu dilakukan MIC Test untuk menentukan berapa konsentrasi minimal ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol dan air dapat menghambat *Staphylococcus aureus*.

Dua belas tabung reaksi steril disiapkan dan diberi nomor satu sampai dua belas. Tabung nomor satu diisi dengan 1 mililiter cairan ekstrak buah mengkudu yang telah diencerkan dengan komposisi 1 mililiter ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol ditambah 9 mililiter aquadest steril. Tabung nomor dua diisi 1 mililiter cairan ekstrak buah mengkudu yang telah diencerkan dengan komposisi 1 mililiter ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol ditambah 19 mililiter aquadest steril. Tabung nomor tiga diisi 1 mililiter cairan ekstrak buah

mengkudu yang telah diencerkan dengan komposisi 1 mililiter ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol ditambah 29 mililiter aquadest steril. demikian seterusnya sampai tabung nomor sepuluh, sehingga diperoleh konsentrasi masing-masing tabung 10^{-1} , $1/2 \cdot 10^{-1}$, $1/3 \cdot 10^{-1}$ dan seterusnya. Tabung nomor sebelas diisi dengan 1 mililiter aquadest steril sebagai kontrol aquadest. Tabung nomor dua belas diisi satu milliliter suspensi bakteri sebagai kontrol bakteri.

Untuk tabung nomor satu sampai dengan nomor sepuluh masing-masing ditambah suspensi bakteri sebanyak satu milliliter kemudian dikocok sampai homogen pada keseluruhan tabung yang akan digunakan dalam MIC Test. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian dilihat kekeruhannya (Finegold and Baron, 1986).

Untuk ekstrak air sama dengan ekstrak metanol hanya berbeda pengencerannya sesuai dengan hasil penelitian pendahuluan. Dua belas tabung reaksi steril disiapkan dan diberi nomor satu sampai dua belas. Tabung nomor satu diisi dengan 0,1 mililiter cairan ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam air ditambahkan 0,9 mililiter aquadest steril. Tabung nomor dua diisi 0,2 mililiter cairan ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam air ditambahkan 0,8 mililiter aquadest steril. Tabung nomor tiga diisi 0,3 mililiter cairan ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam air ditambahkan 0,7 mililiter aquadest steril, demikian seterusnya sampai tabung nomor sepuluh, sehingga diperoleh konsentrasi masing-masing tabung 10%, 20%, 30% dan seterusnya. Tabung nomor

sebelas diisi dengan 1 mililiter aquadest steril sebagai kontrol aquadest. Tabung nomor dua belas diisi satu milliliter suspensi bakteri sebagai kontrol bakteri.

Untuk tabung nomor satu sampai dengan nomor sepuluh masing-masing ditambah suspensi bakteri sebanyak satu milliliter kemudian dikocok sampai homogen pada keseluruhan tabung yang akan digunakan dalam MIC Test. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian dilihat kekeruhannya (Finegold and Baron, 1986).

b. *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) Test

Untuk mengetahui *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) Test, terlebih dahulu disiapkan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) steril sebanyak empat buah. Media pertama dibagi menjadi enam bagian dan diberi nomor satu sampai enam. Selanjutnya pada masing-masing tabung hasil MIC yaitu tabung nomor satu sampai dua belas ditanam pada media MHA tersebut sesuai dengan nomor. Hal ini dilakukan dengan tiga kali ulangan. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati untuk menentukan ada tidaknya pertumbuhan kuman.

3.3.2.2 Difusi Disk

Penelitian secara *in vitro* dengan metode difusi disk ini terdiri dari dua taraf, yaitu taraf pelarut dan taraf konsentrasi sehingga terdapat empat perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari tujuh ulangan.

Perlakuan tersebut antara lain :

- a_1b_1 : Ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 100% (30 mg/disk)
- a_2b_1 : Ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 50% (15 mg/disk)
- a_1b_2 : Ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam air dengan konsentrasi 100% (30 mg/disk)
- a_2b_2 : Ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam air dengan konsentrasi 50% (30 mg/disk)

Empat cawan petri steril disiapkan terlebih dahulu, kemudian didalamnya dituangkan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang masih cair. Media dibiarkan hingga dingin dan padat, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitas.

Sebanyak 0,2 ml suspensi kuman diratakan pada seluruh permukaan media dengan spatel bengkok dan dibiarkan kurang lebih 15 menit agar kuman dapat meresap dengan baik.

Kertas disk dalam berbagai perlakuan yaitu a_1b_1 , a_2b_1 , a_1b_2 , dan a_2b_2 diletakkan di atas permukaan media dengan pinset steril dan didiamkan kurang lebih 15 menit agar bahan antibakteri dalam kertas disk dapat berdifusi ke dalam media sebelum pertumbuhan kuman berlangsung optimal. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Koneman, *et al.*, 1992).

3.3.3 Peubah yang diamati

Penentuan MIC dilihat dari keruh tidaknya tabung yang telah diinkubasi selama 24 jam yaitu konsentrasi bahan anti bacterial terendah yang tidak menampakkan pertumbuhan kuman (jernih), sedangkan MBC dilakukan dengan melihat pertumbuhan kuman pada media MHA. Tidak adanya pertumbuhan kuman pada konsentrasi tertentu menunjukkan bahwa zat antimikroba tersebut dapat membunuh kuman.

Penentuan hambatan pertumbuhan kuman dengan metode difusi disk ditunjukkan dengan adanya daerah jernih di sekitar kertas disk yang merupakan daerah yang tidak ditumbuhi kuman.

3.3.4 Rancangan dan Analisis Statistik

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah rancangan acak lengkap pola faktorial dengan faktor A (dua buah taraf) dan faktor B (dua buah taraf) yang dikelompokkan secara acak menjadi empat perlakuan kombinasi dengan masing-masing perlakuan kombinasi diulang sebanyak tujuh kali ulangan.

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa besarnya diameter hambatan kuman. Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis kuantitatif dengan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Kusriningrum, 1989).

BAB IV
HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Penelitian mengenai perbandingan aktivitas antibakteri buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan dengan air terhadap *Staphylococcus aureus* dilaksanakan dengan dua metode, yaitu metode dilusi dengan penentuan *Minimum Inhibitory Concentration Test* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) Test serta metode Difusi Disk adalah sebagai berikut :

4.1 **Pengujian *Minimum Inhibitory Concentration Test* (MIC) Buah Mengkudu Yang Diekstraksi dengan Metanol dan dengan Air**

Pengamatan hasil penelitian terhadap *Minimum Inhibitory Concentration Test* (MIC) Test dari buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air ditentukan dengan cara melihat perubahan yang terjadi pada tabung MIC yaitu menjadi jernih atau tetap keruh. Tabung MIC yang jernih berarti konsentrasi ekstrak buah mengkudu yang dibuat mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* atau konsentrasi ekstrak buah mengkudu pada pengenceran tersebut tidak mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian MIC ini tidak dapat digunakan atau tidak diperoleh hasil dikarenakan ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol dan air pada semua perlakuan menunjukkan warna yang sama sehingga sulit ditentukan kekeruhannya dengan mata telanjang.

4.2 Pengujian *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) Test Buah Mengkudu Yang Diekstraksi dengan Metanol dan dengan Air

Tabel 1. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Akibat Pemberian Buah Mengkudu Yang Diekstraksi dengan Metanol

No	Konsentrasi Ekstrak Mengkudu (%)	Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1	1.10^{-1} (10)	-	-	-
2	$1/2.10^{-1}$ (10/2)	-	-	-
3	$1/3.10^{-1}$ (10/3)	-	-	-
4	$1/4.10^{-1}$ (10/4)	-	-	-
5	$1/5.10^{-1}$ (10/5)	-	-	-
6	$1/6.10^{-1}$ (10/6)	-	-	-
7	$1/7.10^{-1}$ (10/7)	+	+	+
8	$1/8.10^{-1}$ (10/8)	+	+	+
9	$1/9.10^{-1}$ (10/9)	+	+	+
10	$1/10.10^{-1}$ (10/10)	+	+	+
11	Kontrol aquadest	-	-	-
12	Suspensi kuman	+	+	+

Tabel 2. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Akibat Pemberian Buah Mengkudu Yang Diekstraksi dengan Air

No	Konsentrasi Ekstrak Mengkudu (%)	Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1	100	-	-	-
2	90	-	-	-
3	80	-	-	-
4	70	-	-	-
5	60	-	-	-
6	50	-	-	-
7	40	-	-	-
8	30	-	-	-
9	20	+	+	+
10	10	+	+	+
11	Kontrol aquadest	-	-	-
12	Suspensi kuman	+	+	+

Keterangan :

- : tidak ada pertumbuhan kuman

+ : terdapat pertumbuhan kuman

4.3 Diameter Hambatan Pertumbuhan Kuman *Staphylococcus aureus* dari Uji Difusi Disk

Adapun hasil penelitian mengenai uji kepekaan bakteri dengan metode difusi disk adalah terbentuknya daerah jernih disekitar kertas disk yang merupakan diameter hambatan yang tidak ditumbuhi kuman.

Tabel 3. Rata-rata dan Simpangan Baku Diameter Hambatan Pertumbuhan Kuman *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Rata-rata diameter daerah hambatan (mm)
a ₁ b ₁ (metanol 50%)	11,71 ± 1,3081 ^b
a ₂ b ₁ (metanol 100%)	13,43 ± 0,9759 ^a
a ₁ b ₂ (air 50%)	8,43 ± 0,7868 ^c
a ₂ b ₂ (air 100%)	8,57 ± 0,5345 ^c

Keterangan : rataan yang diikuti superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata ($p < 0,05$)

Uji Anava menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dari perlakuan terhadap daya hambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) bertaraf signifikan 5% untuk menentukan perlakuan mana yang berbeda dengan yang lain. Hasilnya menunjukkan bahwa perlakuan a₂b₁ yang berisi buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dengan konsentrasi 100% memberikan diameter hambatan yang paling luas yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (a₁b₁, a₁b₂, dan a₂b₂). Diameter hambatan pertumbuhan kuman terkecil diperoleh dari perlakuan a₁b₂ yang berisi buah mengkudu yang diekstraksi dengan air dengan konsentrasi

50% yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan a_2b_2 yang berisi buah mengkudu yang diekstraksi dengan air dengan konsentrasi 100%.

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan penanaman dari tabung hasil uji dilusi dapat diketahui konsentrasi minimal buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol yang mampu membunuh *Staphylococcus aureus* (MBC) adalah konsentrasi $1/6.10^{-1}$ (1,7%) sedangkan untuk buah mengkudu yang diekstraksi dengan air adalah konsentrasi 30%. Dengan kata lain pada konsentrasi 1,7% buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan konsentrasi 30% buah mengkudu yang diekstraksi dengan air bersifat bakterisida ditandai dengan tidak adanya koloni kuman yang tumbuh pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Mulai konsentrasi $1/7.10^{-1}$ (1,5%) buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan konsentrasi 20% buah mengkudu yang diekstraksi dengan air hingga pengenceran yang lebih rendah terjadi pertumbuhan kuman, sehingga dapat dikatakan bahwa pada konsentrasi 1,5% dan 20% tidak bersifat bakterisid. Hal ini sesuai dengan pendapat Dwidjoseputro (1994), yakni suatu zat kimia itu merupakan antiseptik (bakteriostatik) ataukah desinfektan (bakterisida) kebanyakan bergantung kepada persenan konsentrasi dan lamanya kena zat tersebut. Dari sini dapat dikatakan bahwa makin tinggi persenan konsentrasi ekstrak buah mengkudu makin tinggi kemungkinannya dalam menghambat atau membunuh kuman.

Hasil dari penelitian perbandingan aktivitas antibakteri buah mengkudu antara yang diekstraksi dengan metanol dan air dengan metode difusi disk dapat dilihat berdasarkan terbentuknya daerah jernih di sekitar kertas disk yang merupakan diameter hambatan pertumbuhan bakteri. Adapun hasil dari penelitian menunjukkan buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dengan konsentrasi 100% menghasilkan diameter hambatan rata-rata $13,43 \pm 0,9759$ mm sedangkan buah mengkudu yang diekstraksi dengan air dengan konsentrasi yang sama menghasilkan diameter hambatan $8,57 \pm 0,5345$ mm. Begitu juga dengan konsentrasi 50% dimana buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol menghasilkan diameter hambatan rata-rata $11,71 \pm 1,3081$ mm sedangkan untuk yang diekstraksi dengan air dengan konsentrasi yang sama mempunyai diameter hambatan rata-rata $8,43 \pm 0,7868$ mm. Dari hasil tersebut membuktikan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antibakteri antara buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan dengan air.

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri maupun membunuh bakteri karena zat-zat yang terkandung di dalam buah mengkudu tersebut berfungsi sebagai antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.

Perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak buah mengkudu, dimana buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan buah mengkudu yang diekstraksi dengan air disebabkan senyawa antibakteri yang terlarut dalam

metanol berbeda dengan senyawa yang terlarut dalam air. Senyawa aktif dalam buah mengkudu yang terlarut dalam metanol antara lain alkaloid, antrakuinon dan flavonoid, sedangkan senyawa aktif buah mengkudu yang terlarut dalam air adalah saponin, fenol dan gula (Materia Medika Ind, 1989: Stahl, 1969)

Adanya senyawa aktif alkaloid yang diberi nama "xeronine" dalam buah mengkudu dilaporkan oleh Hirazumi et al (1994), mempunyai aktivitas sebagai antibakteri selain sebagai zat anti kanker. Alkaloid berfungsi sebagai zat racun yang melindungi tanaman dari serangga dan herbivora yang dalam hal ini memungkinkan juga membunuh mikroba (Berghe, 1991). Dengan adanya senyawa alkaloid yang terlarut dalam metanol apabila diberikan pada *Staphylococcus aureus* dapat mengakibatkan denaturasi protein, mengpresipitasi protein dan dapat merupakan pelarut lemak sehingga dapat merusak membran sel. Keadaan ini makin diperberat dengan adanya antrakuinon dan flavonoid yang menyebabkan pengendapan protein (denaturasi protein).

Flavonoid mempunyai kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen (Hardborne, 1987), akibatnya struktur protein menjadi rusak dan protein kehilangan aktivitas biologisnya sehingga struktur dinding sel dan membran sitoplasma yang sebagian besar tersusun dari protein dan lemak menjadi tidak stabil. Oleh karena itu fungsi permeabilitasnya terganggu dan sel kuman mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel kuman.

buah mengkudu yang diekstraksi dengan air mempunyai aktivitas bakteri karena adanya senyawa saponin yang terlarut. Senyawa saponin ini juga bekerja sebagai antibakteri (Robinson, 1991) meskipun aktivitas antibakterinya tidak sekuat alkaloid dan flavonoid. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air sehingga bersifat seperti sabun. Senyawa aktif permukaan umumnya disebut surfaktan, dan sabun termasuk golongan surfaktan anionic karena mengandung gugus hidrofil bermuatan negatif yang berupa gugus karboksil, sulfat dan fosfat (Robinson, 1991; Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Surfaktan mempunyai aktivitas yang nyata terhadap permeabilitas membran sel kuman. Surfaktan dengan aktivitas ringan, menempel satu lapis pada permukaan membran sel sehingga menghalangi penyerapan bahan-bahan yang dibutuhkan oleh membran sel. Surfaktan dengan aktivitas kuat, dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel kuman menjadi rusak dan lisis (Siswandono dan Soekardjo, 1995). Dari hasil diatas dapat dikatakan bahwa aktivitas antibakteri yang terbaik disebabkan oleh senyawa alkaloid, flavonoid, dan atau antrakuinon yang terlarut dalam metanol.

Hasil dari penelitian menggunakan metode difusi disk juga menunjukkan bahwa ada interaksi antara pelarut yang digunakan dengan konsentrasi ekstrak buah mengkudu yang dikandung dalam tiap disk.

Hasilnya seperti tercantum dalam lampiran, terlihat bahwa pada taraf signifikan 5%, a₁b₁ yaitu buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dengan konsentrasi 100% menghasilkan daerah hambatan yang berbeda nyata dengan a₁b₂ yaitu buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dengan konsentrasi 50%. Sedangkan pada buah mengkudu yang diekstraksi dengan air pada konsentrasi 100% hasilnya tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 50%. Hal ini dimungkinkan karena daya serap kertas disk yang terbatas sehingga konsentrasi bahan berkhasiat yang terkandung dalam kertas disk belum mampu menghambat kuman *Staphylococcus aureus* secara optimal. Menurut Lay (1994), besarnya diameter hambatan pertumbuhan kuman selain tergantung pada konsentrasi disk juga dipengaruhi oleh kecepatan difusi obat ke dalam media, kepekan kuman, jenis kuman, jumlah kuman dan waktu inkubasi. Tetapi pada umumnya, pada konsentrasi yang tinggi yang berarti kandungan bahan obat dalam disk juga tinggi maka aktivitas antibakterinya juga meningkat didukung dengan penggunaan pelarut yang tepat.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 KESIMPULAN

Dari hasil penelitian tentang perbandingan aktivitas antibakteri buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air terhadap *Staphylococcus aureus* diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak buah mengkudu dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Konsentrasi minimal buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah konsentrasi 1,7 %, sedangkan pada konsentrasi 30 % buah mengkudu yang diekstraksi dengan air dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
2. Aktivitas antibakterial buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol lebih kuat bila dibandingkan dengan buah mengkudu yang diekstraksi dengan air dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

6.2 SARAN

Berdasarkan penelitian ini disarankan untuk :

1. Membandingkan aktivitas buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air dengan pemakaian secara topikal terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui dosis lethal 50 (LD 50), gejala toksik yang timbul, dan perubahan patologis organ akibat pemberian buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vivo* pada hewan coba.

RINGKASAN

HARIYANI. Perbandingan aktivitas antibakteri buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* (di bawah bimbingan Bapak Suryanie Sarudji, MKes, Drh selaku pembimbing pertama dan Bapak Dr. Setiawan Koesdarto, M.Sc, Drh selaku dosen pembimbing kedua). Krisis ekonomi membuat harga bahan baku obat impor tinggi dan menyempitnya pasar mengakibatkan penggunaan obat murah yang berbahan baku alami dalam negeri menjadi pilihan. Seperti halnya pemanfaatan buah mengkudu sebagai antibakteri. Bahan aktif yang terkandung dalam buah mengkudu diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri, baik gram positif maupun gram negatif.

Pada media pembiakan ditujukan untuk mengetahui apakah ekstrak buah mengkudu dapat menghambat atau membunuh kuman secara *in vitro*.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas antibakterial buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang khasiat buah mengkudu yang mengandung bahan antibakteri.

Persiapan penelitian dilakukan dengan pembuatan simplisia buah mengkudu dan pembuatan buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Kemudian dilakukan pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menggunakan metode dilusi yaitu *Minimal Inhibitory*

Concentration Test (MIC Test), *Minimal Bactericidal Concentration Test (MBC Test)* dan metode difusi disk. Prinsip metode dilusi adalah suatu seri pengenceran larutan anti bakteri dalam pertumbuhan bakteri, dimulai dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah. Media pertumbuhan diinokulasikan dengan bakteri uji dalam jumlah tertentu. Setelah inkubasi akan tampak adanya hambatan pertumbuhan kuman. Prinsip metode difusi disk adalah proses difusi anti bakteri dari cakram disk ke media agar yang mengandung bakteri uji. Metode penyebaran ini dipakai untuk menentukan aktivitas anti bakteri secara kualitatif dengan cara mengukur diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian yang dapat diamati pada metode dilusi adalah MBC dari buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 1,7% sedangkan buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol pada konsentrasi 30%.

Uji kepekaan kuman dengan metode difusi disk dilakukan sebanyak empat perlakuan kombiansi, tujuh ulangan, yaitu a_1b_1 (buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol konsentrasi 50 %), a_2b_1 (buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol konsentrasi 100%), a_1b_2 (buah mengkudu yang diekstraksi dengan air konsentrasi 50%), a_2b_2 (buah mengkudu yang diekstraksi dengan air konsentrasi 100%). Tujuh buah cawan petri steril disediakan kemudian dituangi media MHA cair lalu diinkubasi 24 jam. Hasil pengamatan menunjukkan adanya daerah jernih disekitar kertas disk.

Hasil pengolahan data diperoleh adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dari masing-masing perlakuan. Dari uji BNT 5% diketahui bahwa diameter

terbesar terdapat pada a_2b_1 (buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol konsentrasi 100%) yang berbeda nyata dengan perlakuan yang lain, sedangkan diameter hambatan terkecil pada perlakuan a_1b_2 (buah mengkudu yang diekstraksi dengan air konsentrasi 50%) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan a_2b_2 (buah mengkudu yang diekstraksi dengan air konsentrasi 100%).

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa : 1. buah mengkudu dapat menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. 2. terdapat perbedaan aktivitas antibakteri antara buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air.

Penulis menyarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap khasiat buah mengkudu secara *in vivo* serta sejauh mana efek samping yang ditimbulkannya.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous^a. 1995. Salah Obat, Salah Dosis, Salah pakai, Salah Siapa?. Infovet. Agustus. Hal 7
- Anonimous^b. 1995. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 9, 115
- Anonimous. 1999. Berdayakan Potensi Sumberdaya Obat Hewan dalam Negeri. Poultry Indonesia. Agustus. Hal 8-10
- Bangun, A.P dan B. Sarwono. 2002. Khasiat dan Manfaat Mengkudu. Agro Media Pustaka. Depok. pp 65.
- Bailey, W.R., and E.G. Scott. 1986. Diagnostic Microbiology. 7th Ed. The CV. Mosby Company. Saint Louis. 176-177
- Beisher. 1983. Microbiology in Practice. Individualized Instruction for the Allied Health Sciences. 3rd Ed. Harper and Row Publisher. New York
- Berghe. 1991. Screening methods for Antibacterial Antiviral Agents from Higher Plants. Harcoure Brace Jauvanovich Publ. London
- Dalimarta S dan Wijayakusuma MH. 2001. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah Tinggi. Jakarta: Penebar Swadaya
- Dittmar A. 2000. Traditional Medicinal Plants of Samoa.
- Dwidjoseputro,D. 1994. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Djambatan. Jakarta. 97-99
- Duguid, J.P., B.P Marmion and R.H.A Swain. 1987. Medical Microbiology. 13th ed. Longman Group (FE) Ltd. Hongkong. 236-245
- Ester. 1992. Efek Fraksi Etil Asetat Buah Pace (*Morinda citrifolia*) terhadap *Staphylococcus aureus* in vitro. B. et al (Ed) (1996) : Tinjauan Hasil Penelitian Tanaman Obat di Berbagai Institusi, Part III. Jakarta : Ministry of Health of Republic Indonesia
- Finegold, S.M. and E.J Baron. 1986. Diagnostic Microbiology. 7th Ed. The CV. Mosby Company. Saint Louis.
- Hardbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia, Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Edisi II. ITB Bandung. 6-7; 123-127

- Heinicke R.M, 2000. Noni: Polynesia's Natural Pharmacy.
- Hirazumi A., E. Furusawa., S.C.Chou., Y. Hokama. 1994. Anticancer Activity of of *Morinda citrifolia* on Intraperitoneally Implanted Lewis Lung carcinoma in Syngenic Mice. Proc West Pharmacol Soc.: 37:145-146
- Jawetz, E. 1995. Prinsip Kerja Obat Antimikroba. Dalam B.G. Katzung. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta. 607-633
- Joklik, W.K., Willet, H.P and Amas, D.B. 1984. Zinssar Microbiology. 18th ed. Appoloton-Century-Crofts, Norwalk Connecticut. 24: 234-237, 555-564, 637-638
- Kang T.H., Pae, H.O., Jeong, S.J., Yoo, J.C., Choi, B.M., Jun, C.D., Chung, H.T., Miyamoto, T., Higuchi, R., Kim, Y.C. 1999. Scopoletin: an Inducible Nitric Oxide Synthesis Inhibitory Active Constituent from *Artemisia feddei*. *Planta Med Jun.* 65(5): 400-403
- Konema, W.C., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Shreckenberger and W.C. Winn. 1992. Diagnostic Microbiology. 4th Ed. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. 609-673
- Kusriningrum, R. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 67-76
- Limyati, D.A dan Juniar B.L. 1998. Jamu Gendong, a Kind of Traditional Medicine in Indonesia: The Microbial Contamination of Its Raw Materials and Endproduct. *J EtNOPHarmacol.* Dec 63 (3) : 201-208
- Manitto, P. 1992. Biosintesis Produk alami. IKIP Semarang Press. Semarang. 379-385
- Materia Medika Indonesia. 1989. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan Jakarta. Jilid V : 536-540
- Murdiati, T.B, G. Adiwinata dan D. Hildasari. 2000. Penelusuran Senyawa Aktif dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Dengan Aktivitas Anthelmintik Terhadap *Haemonchus contortus*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 5 (4): 255-259
- Mutschler, E. 1991. Dinamika Obat. Edisi Kelima. Penerbit ITB. 609-613

- Ramadhani, R.B dan Dripa Sjabana. 2002. Pesona Tradisional dan Ilmiah Mengkudu (*Morinda citrifolia*). Salemba Medika. Jakarta. pp 62.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB. Bandung. 72, 154, 157, 191-193
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press. Surabaya.
- Solomon N. 2000. Tahitian Noni Juice: How Much, How Often, for What. Vineyard, Utah USA: Direct Source Publishing
- Supriadi. 2001. Tumbuhan Obat Indonesia. Pustaka Pelopor Obor. Jakarta
- Stahl, E. 1969. Thin Layer Chromatography, a Laboratory Handbook, 2nd ed, Springer Verlag. New York: 873
- Utami. 2002. Khasiat Si Buruk Rupa. Trubus. No. 393. Th. 33. Hal. 55
- Volk, W.A. 1992. Basic Microbiology. 7th. Ed. Harper Collins publisher Inc. New York, USA. 218-222
- Waha, Maria Goreti. 2002. Sehat dengan Mengkudu (*Morinda citrifolia*). Edisi 3. REN media. Jakarta
- Warsa, U.K., 1993. Mikrobiologi Kedokteran. Binarupa Aksara. Jakarta
- Wijayakusuma, H.M.H., S. Dalimartha dan A.S Wirian 1996. Tanaman berkhasiat Obat di Indonesia. Jilid IV. Pustaka Kartini. Jakarta: 109-112
- www. plants. usda.gov. Integrated Taxonomic Information System. Natural Resources Conservation Service USDA. 2003

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pemeriksaan Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram

Suspensi bakteri diletakkan pada gelas preparat dengan menggunakan ose steril kemudian difiksasi diatas api Bunsen. Setelah difiksasi selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan Carbon Gentian Violet selama 3-5 menit. Kemudian ditetesi lugol selama 1-2 menit lalu dicuci dengan air. Proses berikutnya adalah pencucian dengan alkohol 70%, lalu dicuci dengan air yang kemudian dilanjutkan pewarnaan dengan saffranine selama 3 menit. Setelah itu dicuci kembali dengan air, lalu dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x (ditambah minyak emersi).

Hasil : Gram positif bila bakteri mengambil warna Gentian Violet (violet)

Gram negatif bila bakteri mengambil warna saffranine (merah)

Bakteri berbentuk *coccus*, tersusun dalam kelompok yang bergerombol, tunggal dan berpasangan yang berwarna ungu (menyerap zat warna yang tidak dapat dilunturkan oleh alkohol). Dari hasil pemeriksaan yang diperoleh, menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah gram +.

Lampiran 2. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

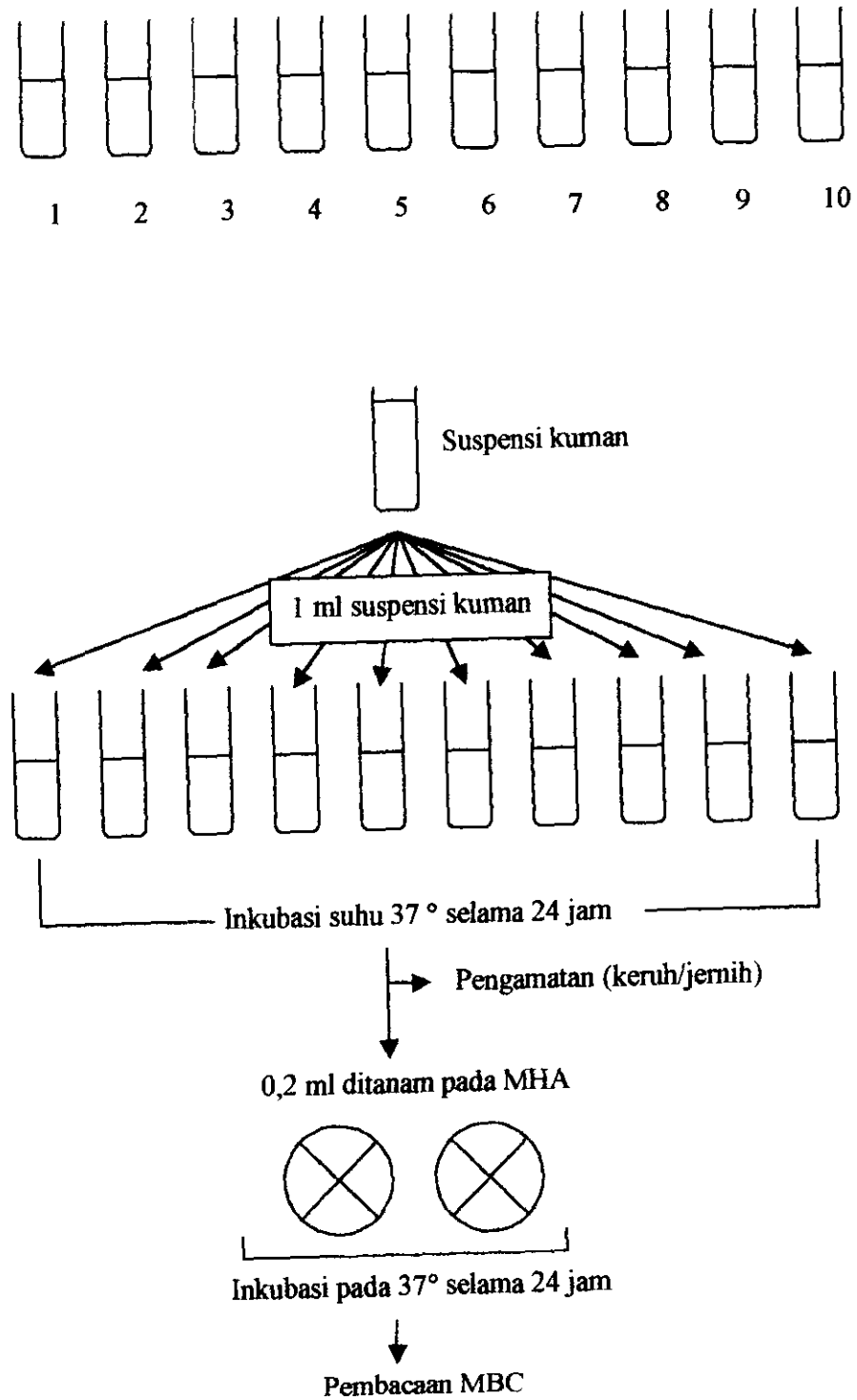
Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dalam bentuk isolat murni dengan strain ATCC nomor 25923 yang diperoleh dari Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan dengan menggunakan ose steril, kemudian ditanam dalam media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dengan cara *streak* untuk mendapatkan isolat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil : Terdapat pertumbuhan bakteri dalam media selektif *Mannitol Salt Agar* (MSA) yaitu berupa koloni bakteri berwarna kuning keemasan yang merupakan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji Koagulase

Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah tumbuh pada media selektif *Mannitol Salt Agar* (MSA) diambil dengan menggunakan ose steril dan diletakkan pada *Nutrien Broth* kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam, diambil 0,5 ml dan ditambahkan 0,5 ml plasma kelinci, lalu diinkubasi 37° C selama 3 jam.

Hasil : Terjadi penggumpalan pada plasma darah kelinci (+), menunjukkan *Staphylococcus aureus* yang patogen.

Lampiran 3. Skema Kerja Penentuan MIC dan MBC

Keterangan pengenceran metode MIC :

Pengenceran untuk Buah Mengkudu yang diekstraksi dengan metanol :

Tabung 1 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 9 ml aquadest

Tabung 2 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 19 ml aquadest

Tabung 3 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 29 ml aquadest

Tabung 4 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 39 ml aquadest

Tabung 5 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 49 ml aquadest

Tabung 6 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 59 ml aquadest

Tabung 7 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 69 ml aquadest

Tabung 8 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 79 ml aquadest

Tabung 9 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 89 ml aquadest

Tabung 10: 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan metanol + 99 ml aquadest

Pengenceran untuk Buah Mengkudu diekstraksi dengan air

Tabung 1 : 1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air

Tabung 2 : 0,9 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,1 ml aquadest

Tabung 3 : 0,8 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,2 ml aquadest

Tabung 4 : 0,7 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,3 ml aquadest

Tabung 5 : 0,6 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,4 ml aquadest

Tabung 6 : 0,5 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,5 ml aquadest

Tabung 7 : 0,4 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,6 ml aquadest

Tabung 8 : 0,3 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,7 ml aquadest

Tabung 9 : 0,2 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,8 ml aquadest

Tabung 10: 0,1 ml buah mengkudu diekstraksi dengan air + 0,9 ml aquadest

Untuk tabung 11 dan 12 pada pengenceran buah mengkudu yang diekstraksi dengan metanol dan air berisi kontrol aquadest dan kontrol kuman.

Lampiran 4. Perhitungan Mengkonversikan Persen ke Gram

Uji difusi disk menggunakan ekstrak buah mengkudu yang diekstraksi dengan methanol dan dengan air dengan konsentrasi 100 % dan 50%. Konsentrasi disk dalam persen harus diubah menjadi bentuk gram untuk mengetahui kandungan ekstrak buah mengkudu per disk, caranya sebagai berikut :

3.1 Ekstrak Buah Mengkudu 100%

mengandung ekstrak mengkudu 1gram/ml dan daya serap disk jenuh adalah 0,03 ml maka kandungan ekstrak buah mengkudu dalam disk (x) adalah :

$$\frac{1 \text{ gram}}{1 \text{ ml}} = \frac{x}{0,03 \text{ ml}}$$

$$x = 30 \text{ mg}$$

3.2 Ekstrak Buah Mengkudu 50%

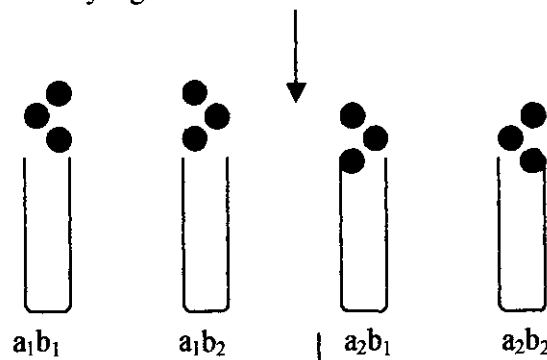
mengandung ekstrak mengkudu 0,5 gram/ml dan daya serap disk jenuh adalah 0,03 ml maka kandungan ekstrak buah mengkudu dalam disk (x) adalah :

$$\frac{0,5 \text{ gram}}{1 \text{ ml}} = \frac{x}{0,03 \text{ ml}}$$

$$x = 15 \text{ mg}$$

Lampiran 5. Skema Kerja Metode Difusi Disk

Pengisian kertas disk dengan bahan anti bakterial dengan ekstrak mengkudu dan konsentrasi yang berbeda



dikeringkan selama 24 jam, 37°C

menyiapkan cawan petri yang berisi media *Muller Hinton Agar* (MHA) yang cair dengan suhu 40-50°C



biarkan memadat

inkubasi selama 24 jam, 37°C

suspensi kuman 0,2 ml dituangkan dan diratakan pada bagian permukaan dan dibiarkan selama 5-10 menit

kertas disk diletakkan pada media MHA dan didiamkan selama 15 menit

inkubasi selama 24 jam, 37°C

amati daerah jernih sekitar kertas disk yang merupakan daerah hambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Lampiran 6. Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 2x2

Faktor A : Konsentrasi
 50 % (a_1)
 100% (a_2)

Faktor B : Pelarut
 Metanol (b_1)
 Air (b_2)

Dari RAL diatas didapatkan 4 perlakuan kombinasi yang masing-masing diberikan secara acak terhadap pertumbuhan *S.aureus* dengan ulangan 6.

Diameter hambatan pertumbuhan *S.aureus* pada media MHA

Ulangan	a_1b_1	a_2b_1	a_1b_2	a_2b_2
1	12	9	14	9
2	12	9	13	8
3	12	9	13	9
4	13	8	15	8
5	11	7	14	8
6	9	14	7	9
7	13	13	8	9
Jumlah	82	94	59	60
Rata-rata	11,71	13,43	8,43	8,57

Total Perlakuan

Pelarut	Konsentrasi		Total
	50%	100%	
Metanol	a_1b_1 82	a_2b_1 94	176
Air	a_1b_2 59	a_2b_2 119	119
Total	141	154	295

$$FK = \frac{295^2}{7 \times 4} = 3108,04$$

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= 12^2 + 14^2 + 9^2 + \dots + 9^2 - 3108,04 \\ &= 3257 - 3108,04 \\ &= 148,96 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= \frac{82^2 + 94^2 + 59^2 + 60^2}{7} - 3108,04 \\ &= 3234,43 - 3108,04 \\ &= 126,39 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKS} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 148,96 - 126,39 \\ &= 22,57 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK(A)} &= \frac{141^2 + 154^2}{7 \times 2} - 3108,04 \\ &= 3114,07 - 3108,04 \\ &= 6,03 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK(B)} &= \frac{176^2 + 119^2}{7 \times 2} - 3108,04 \\ &= 3224,07 - 3108,04 \\ &= 116,03 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK(AB)} &= \text{JKP} - \text{JK(A)} - \text{JK(B)} \\ &= 126,39 - 6,03 - 116,03 \\ &= 4,33 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK(A)} &= \frac{(154-141)^2}{2 \times 7 \times 2} \\ &= \frac{169}{28} \\ &= 6,04 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK(B)} &= \frac{(176-119)^2}{2 \times 7 \times 2} \\ &= \frac{3249}{28} \\ &= 116,04 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK(AB)} &= \frac{[(60+82) - (94+59)]^2}{7 \times 2 \times 2} \\ &= \frac{11^2}{28} \\ &= 4,32 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Sidik Ragam Daerah Hambatan Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

S.K	d.b	J.K	K.T	F hit	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	126,39				
A	1	6,03	6,09	6,42*	4,26	7,82
B	1	116,03	116,03	123,44*		
AB	1	4,33	4,32	4,60*		
Sisa	24	22,57	0,94			
Total	27	148,96				

Kesimpulan :

F hit > F tabel 0,01, berarti terdapat perbedaan yang nyata dari masing-masing perlakuan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%

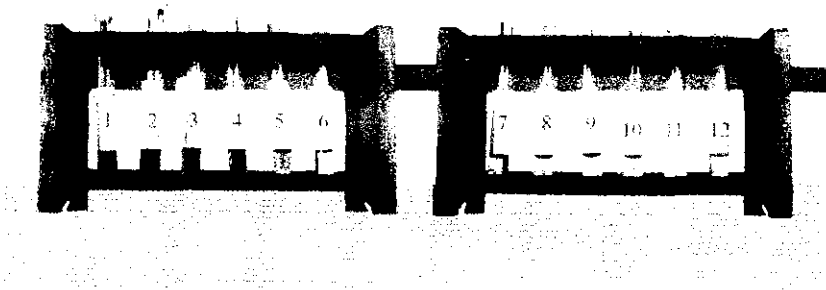
$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= t(5\%)(d.b.s) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}} \\
 &= t(5\%)(24) \times \sqrt{\frac{2 \cdot 0,94}{7}} \\
 &= 2,064 \times 0,5182 \\
 &= 1,07
 \end{aligned}$$

Lampiran 9. Selisih Rata-rata Perlakuan Berdasarkan Uji BNT

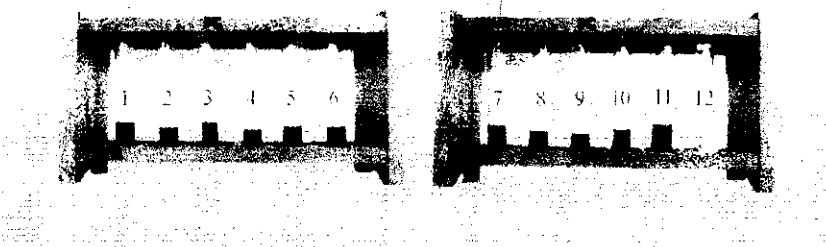
Perlakuan	X	$X - a_2b_2$	$X - a_1b_2$	$X - a_2b_1$	BNT 5%
a_1b_2	13,43	5*	4,86*	1,72*	1,07
a_2b_1	11,71	3,28*	3,14*		
a_1b_2	8,57	0,14			
a_2b_2	8,53				

Menentukan Notasi :

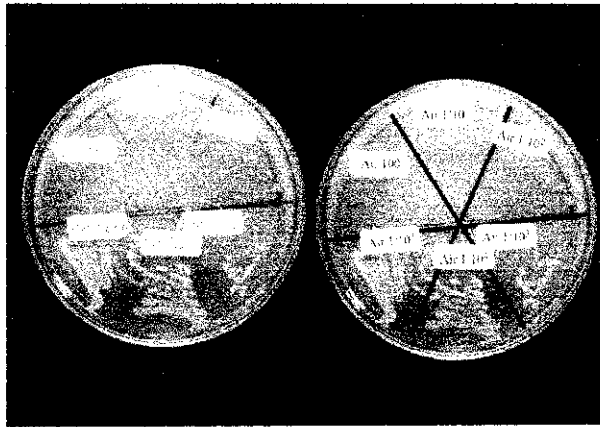
a_1b_2 13,43	a_2b_1 11,71	a_1b_2 8,57	a_2b_2 8,53
<u>a</u>			
	<u>b</u>		
		<u>c</u>	<u>c</u>



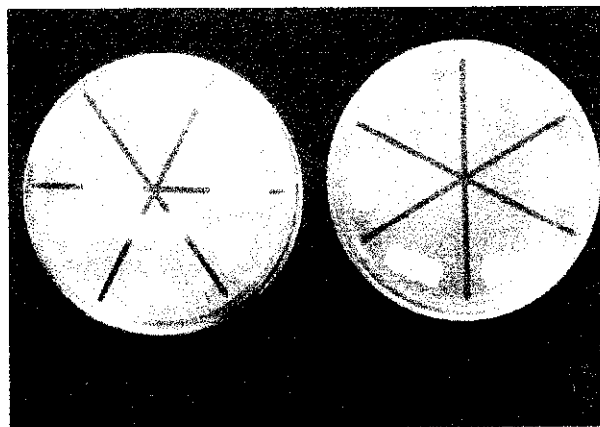
Gambar 1. Hasil Dilusi ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam Metanol dan diinokulasi dengan kuman *Staphylococcus aureus* setelah inkubasi 24 jam.



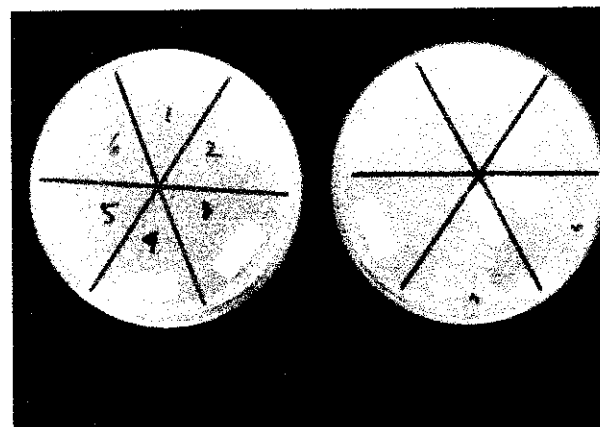
Gambar 2. Hasil Dilusi ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam Air dan diinokulasi dengan kuman *Staphylococcus aureus* setelah inkubasi 24 jam.



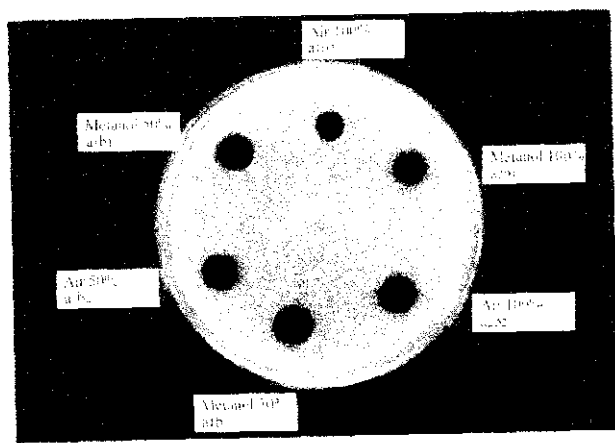
Gambar 3. Uji MBC dari ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol dan air pada media MHA (Penelitian pendahuluan)



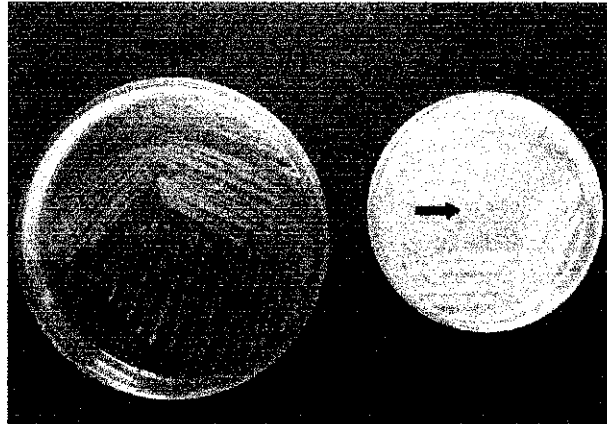
Gambar 4. Uji MBC dari ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam metanol pada media MHA



Gambar 5. Uji MBC dari ekstrak buah mengkudu yang dilarutkan dalam air pada media MHA



Gambar 6. Hasil Difusi Disk setelah inkubasi 24 jam



Gambar 7. Biakan *Staphylococcus aureus* pada media
Blood Agar (BA) dan *Mannitol Salt Agar* (MSA)