

**SKRIPSI**

**DAYA ANTIBAKTERI DEKOKTA KULIT BUAH DELIMA  
PUTIH (*Punica granatum* Linn.) DAN TETRASIKLIN  
TERHADAP *Salmonella pullorum*  
SECARA IN VITRO**



Oleh :

**TRI WAHYUNI UTAMI**  
**SURABAYA - JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2001**

# SKRIPSI

## **DAYA ANTIBAKTERI DEKOKTA KULIT BUAH DELIMA PUTIH (*Punica granatum* Linn.) DAN TETRASIKLIN TERHADAP *Salmonella pullorum* SECARA IN VITRO**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Gelar Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan - Universitas Airlangga

Oleh :

**TRI WAHYUNI UTAMI**  
**SURABAYA - JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2001**

DAYA ANTIBAKTERI DEKOKTA KULIT BUAH DELIMA PUTIH  
*(Punica granatum Linn.)* DAN TETRASIKLIN TERHADAP  
*Salmonella pullorum* SECARA IN VITRO

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh

TRI WAHYUNI UTAMI

NIM 069512253

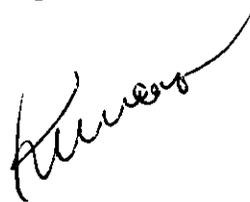
Menyetujui

Komisi Pembimbing,



\_\_\_\_\_  
(Didik Handijatno. M.S., Drh.)

Pembimbing Pertama



\_\_\_\_\_  
(Kuncoro Puguh S., M.Kes., Drh)

Pembimbing Kedua

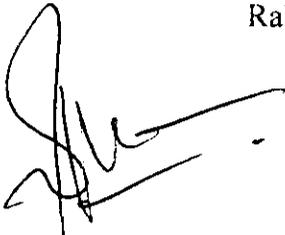
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN**.

Menyetujui  
Panitia Penguji,



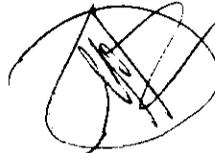
Rahmi Sugihartuti, M.Kes., Drh.

Ketua



Lilik Maslachah, M. Kes., Drh.

Sekretaris



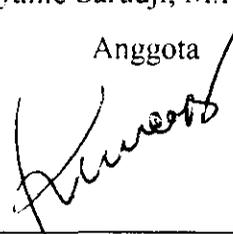
Suryanie Sarudji, M.Kes., Drh.

Anggota



Didik Handijatno, M.S., Drh.

Anggota



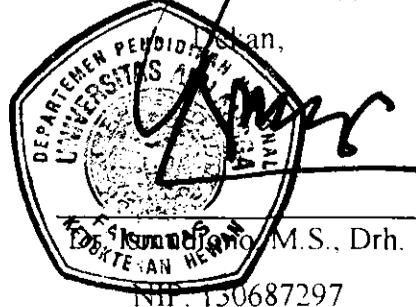
Kuncoro Puguh S., M.Kes., Drh.

Anggota

Surabaya, 12 Januari 2001

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga



Departemen Pendidikan dan Kebudayaan  
Universitas Airlangga  
Kedokteran Hewan  
M.S., Drh.  
NIP. 130687297

**DAYA ANTIBAKTERI DEKOKTA KULIT BUAH DELIMA PUTIH  
(*Punica granatum* Linn.) DAN TETRASIKLIN  
TERHADAP *Salmonella pullorum*  
SECARA IN VITRO**

Tri Wahyuni Utami

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan daya antibakterial dekokta kulit buah delima putih (*Punica granatum* Linn.) dan Tetrasiklin terhadap *Salmonella pullorum* secara in vitro.

Metode yang digunakan adalah metode dilusi untuk menentukan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) serta metode difusi disk.

*Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dibaca dengan melihat kekeruhan yang timbul setelah inkubasi 24 jam, sedangkan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) dibaca setelah dilakukan penanaman pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*). Hasilnya, pada konsentrasi 6,25% dekokta kulit buah delima putih mampu membunuh kuman *Salmonella pullorum*.

Penelitian dengan metode difusi disk adalah untuk mengetahui daya hambat dekokta kulit buah delima putih terhadap pertumbuhan kuman *Salmonella pullorum* yang dibandingkan dengan Tetrasiklin. Penelitian dilakukan dengan enam perlakuan dan enam ulangan. Hasil pengamatan ditunjukkan dengan adanya daerah hambatan di sekitar kertas disk yang berwarna jernih.

Berdasarkan analisis varian (uji F) diketahui bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) antara kelompok perlakuan dengan kontrol. Diameter hambatan terbesar diperoleh dari Tetrasiklin 30  $\mu\text{g}$  (P5), yaitu 24,5 mm yang berbeda nyata dengan dekokta 100% atau delima putih 30 mg perdisk (P4), dekokta 50% atau delima putih 15 mg perdisk (P3), dekokta 25% atau delima putih 7,5 mg perdisk (P2), dekokta 12,5% atau delima putih 3,75 mg perdisk (P1) dan kontrol (P0), sedangkan diameter hambatan terkecil diperoleh dari dekokta 12,5% atau delima putih 3,75 mg perdisk (P1) yang tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan kontrol (P0).

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas rahmat dan karunia yang telah dilimpahkan, sehingga penyusunan skripsi mengenai Daya Antibakteri Dekokta Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum* Linn.) dan Tetrasiklin terhadap *Salmonella pullorum* secara in Vitro ini dapat terselesaikan.

Adapun tujuan penulisan skripsi ini selain memenuhi tugas akhir guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan, juga penerapan disiplin ilmu yang telah penulis pelajari selama studi di Fakultas Kedokteran Hewan.

Banyak pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu terlaksananya tulisan ini. Bersama ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Bapak Dr. Ismudiono, M.S., Drh,
2. Bapak Didik Handijatno, M.S., Drh. selaku pembimbing pertama dan Bapak Kuncoro Puguh S., M.Kes., Drh selaku dosen pembimbing kedua atas bimbingan, saran dan nasehatnya,
3. Kepala PUSVETMA Surabaya Bapak Samsul Bahri Siregar, M.Sc., Drh. dan Bapak Enuh Rahardjo J., M.Sc., Ph.D., Drh. sebagai Kepala Laboratorium Pengendalian Mutu dan Peningkatan Produksi atas fasilitas yang telah diberikan,

4. Bapak Andre Heryanto, Drh. dan Ibu Dyah Istikomah, Dra. beserta staf Laboratorium Pengendalian Mutu dan Peningkatan Produksi Pusat Veterinaria Farma atas saran dan bantuannya,
5. Bapak Drs. Herra Studiawan, M.S. dari Fakultas Farmasi atas segala informasinya,
6. Bapak, Ibu, mbak Ety dan mbak Eni tercinta atas kasih sayang, doa dan dorongan semangatnya,
7. Tyta, Asri dan Sulis terima kasih atas segala bantuannya,
8. Rekan-rekan mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan universitas Airlangga angkatan 1995.

Akhirnya penulis berharap semoga bantuan yang telah diberikan mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT dan disertai harapan semoga hasil-hasil yang dituangkan dalam skripsi ini bermanfaat bagi mereka yang membutuhkan.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik yang bersifat konstruktif sangat penulis harapkan.

Surabaya, Januari 2001

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang Masalah .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	3
1.3. Landasan Teori .....	4
1.4. Tujuan Penelitian .....	6
1.5. Manfaat Penelitian .....	7
1.6. Hipotesis Penelitian .....	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	8
2.1. Delima putih .....	8
2.1.1. Klasifikasi .....	8
2.1.2. Nama lain .....	8
2.1.3. Morfologi .....	9
2.1.4. Kandungan dan manfaat .....	10
2.1.4.1. Tanin .....	11
2.1.4.2. Saponin .....	12

2.1.4.3. Flavonoid .....	12
2.1.4.4. Alkaloid .....	13
2.2. Penyakit Pullorum.....	14
2.2.1. Morfologi <i>Salmonella pullorum</i> .....	14
2.2.2. Sifat biokimia dan karakteristik perbenihan .....	15
2.2.3. Daya tahan hidup kuman .....	15
2.3. Tetrasiklin .....	16
2.3.1. Sejarah .....	16
2.3.2. Sifat kimia .....	17
2.3.3. Aktivitas antimikroba .....	17
2.4. Uji Antimikrobial .....	18
2.4.1. Metode Diffusi Disk .....	18
2.4.2. Metode Dilusi .....	19
2.4.3. Koeffisien Fenol .....	20
BAB III. MATERI DAN METODE .....	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 .....	23
3.3. Metode Penelitian .....	23
3.3.1. Persiapan penelitian .....	23

3.3.1.1. Pembuatan dekokta kulit buah delima putih...	23
3.3.1.2. Pembuatan suspensi kuman .....	24
3.3.1.3. Pengisian kertas disk .....	24
3.3.2. Pelaksanaan penelitian .....	25
3.3.2.1. <i>Minimal Inhibitory Concentration (MIC) dan Minimal Bactericidal Concentration (MBC)</i> .....	25
3.3.2.2. Diffusi Disk.....	26
3.3.3. Peubah yang diamati.....	27
3.4. Analisis Data.....	28
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	29
BAB V. PEMBAHASAN.....	32
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
RINGKASAN.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN .....	45
DAFTAR GAMBAR .....	58

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pertumbuhan <i>Salmonella pullorum</i> Akibat Pemberian Dekokta Kulit Buah Delima Putih .....	29
2. Rata-rata dan Simpangan Baku Diameter Hambatan Pertumbuhan Kuman <i>Salmonella pullorum</i> .....	30

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penentuan MIC dan MBC.....	46
2. Skema Kerja Metode Difusi Disk.....	47
3. Perhitungan untuk Mengkonversikan Persen ke Gram.....	48
4. Hasil Pengukuran Daerah Hambatan Pertumbuhan <i>Salmonella pullorum</i> dengan Pemberian Dekokta Kulit Buah Delima Putih dan Tetrasiklin.....	49
5. Sidik Ragam Daerah Hambatan Pertumbuhan <i>Salmonella pullorum</i> .....	51
6. Selisih Rata-rata Perlakuan Berdasarkan Uji BNJ.....	52
7. Uji Biokimia <i>Salmonella pullorum</i> .....	54
8. Determinasi Delima Putih ( <i>Punica granatum</i> Linn).....	57

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia Tetrasiklin.....	17
2. Struktur Dinding Sel Gram Negatif.....	33
3. Struktur Membran Sitoplasma.....	33
4. Hasil Dilusi setelah Inkubasi pada 24 jam.....	59
5. Hasil Dilusi setelah Ditanam pada Media MHA.....	60
6. Hasil Difusi Disk setelah Inkubasi 24 jam.....	61
7. Hasil Uji Biokimia.....	61
8. Biakan <i>Salmonella pullorum</i> pada media <i>Salmonella Shigella Agar</i> .....	62

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Kemajuan ilmu dan teknologi dalam bidang pengobatan tidak berarti menghilangkan cara-cara terapi alami, walaupun cara ini hanya sebagai pengobatan alternatif. Terutama pada masa sekarang ini muncul keinginan untuk kembali ke alam, sehingga terapi alami cenderung lebih disukai walaupun pemanfaatannya masih pada kalangan tertentu saja. Terapi alami dengan memanfaatkan obat tradisional telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia. Banyak bahan-bahan obat yang berasal dari hewan maupun tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat dan telah terbukti khasiatnya.

Penggunaan obat tradisional belum banyak diketahui dan ditetapkan standar dosis yang efektif untuk mengobati suatu penyakit. Hal ini disebabkan penggunaan obat tradisional masih berdasarkan pengalaman dan belum diteliti secara ilmiah. Pada kenyataannya penentuan konsentrasi ini sangat diperlukan untuk menentukan efektif tidaknya obat terhadap penyakit dan mengetahui tingkat toksisitasnya terhadap tubuh.

Masalah utama berkaitan dengan pemakaian antibiotik secara luas adalah terbentuknya resistensi mikroorganisme terhadap obat. Berkembangnya populasi mikroba yang resisten menyebabkan antibiotik yang pernah efektif untuk mengobati penyakit tertentu kehilangan nilai terapinya, jadi jelas ada kebutuhan

terus-menerus untuk mengembangkan obat baru guna menggantikan obat yang telah menjadi tidak efektif (Pelczar and Chan, 1988).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah delima putih (*Punica granatum* Linn). Tanaman ini mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin (Keys, 1990; Suharmiati dkk., 1995). Bagian yang dapat dimanfaatkan sebagai obat antara lain akar, bunga, buah dan kulit (akar, batang buah).

Kandungan tanin dalam kulit buah delima putih kering mencapai 20% (Verheij and Coronel, 1997). Tanin digunakan dalam pengobatan karena kemampuannya sebagai *adstringent*, selain itu dengan tehnik kultur sel tanin juga efektif melawan Genital Herpes Virus (HSV-2) dengan cara menghambat replikasi, membunuh virus dan menghambat absorpsi terhadap sel (Zhang *et al.*, 1995). Beberapa saponin juga bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1991). Flavonoid bekerja sebagai antimikroba dan antivirus karena mampu bereaksi dengan protein mikroorganisme, selain itu memiliki aktivitas antioksidasi dan menurunkan agregasi platelet sehingga mengurangi pembekuan darah, tetapi jika dipakai pada kulit flavonoid dapat menghambat perdarahan (Robinson, 1991).

Diare dapat disebabkan karena adanya infeksi saluran pencernaan oleh kuman *Campylobacter sp.*, *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, *Yersinia sp.* dan toksin dari *Clostridium difficile*, *pathogenic Escherichia coli*, *Staphylococcus sp.*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio cholerae* (Krupp and Chatton, 1983). Toksin kolera, toksin dari *Salmonella* dan *Shigella* serta Coli patogen menyebabkan terjadinya

diare sekretorik, yaitu diare yang disebabkan meningkatnya sekresi elektrolit dan air ke dalam lumen usus (Mutschler, 1991).

Delima putih umumnya digunakan sebagai obat diare, dan dari beberapa penelitian disebutkan bahwa delima putih mempunyai efek antibakteri terhadap kuman golongan *enterobacteriaceae* seperti *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Shigella dysentri* (Perez and Anesini, 1994, Navarro *et al.*, 1996). *Salmonella pullorum* juga termasuk kuman *enterobacteriaceae* dan menyebabkan diare putih seperti kapur sehingga disebut penyakit berak kapur (Ressang, 1984). Selain itu *Salmonella pullorum* juga bersifat Gram negatif sehingga struktur dinding sel dan membran plasmanya tidak berbeda dengan kuman Gram negatif lain, misalnya *Salmonella typhi* yang berdasarkan penelitian dapat dihambat pertumbuhannya oleh delima putih (Hofstad, 1972, Perez and Anesini, 1994).

Bertitik tolak dari hal diatas, yaitu bahwa delima putih mengandung tanin yang bermanfaat sebagai *adstringent*, flavonoid dan saponin sebagai antimikroba, maka peneliti berkeinginan untuk mengetahui efektivitasnya terhadap kuman *Salmonella pullorum*.

## 1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah, yaitu:

1. Apakah dekokta kulit buah delima putih mampu menghambat pertumbuhan kuman *Salmonella pullorum* secara *in vitro* ?

2. Apakah terdapat perbedaan daya antibakterial antara dekokta kulit buah delima putih dengan Tetrasiklin terhadap kuman *Salmonella pullorum* ?

### 1.3. Landasan Teori

Delima putih umumnya digunakan sebagai obat diare, dan diare dapat disebabkan karena infeksi cacing serta toksin dari jamur dan kuman. Kuman penyebab diare umumnya Gram negatif golongan *enterobacteriaceae* dari genus *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* dan *Proteus* (Krupp and Chatton, 1983). Salah satu jenis *Salmonella* adalah *Salmonella pullorum* yang umumnya menyerang ayam usia muda (Hofstad, 1972).

Berbagai penelitian yang pernah dilakukan mengungkapkan bahwa delima putih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap kuman Gram positif dan Gram negatif, antara lain *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thypi*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* (Navarro et al., 1996, Perez and Anesini, 1994, Guevara et al., 1994).

Komponen khusus dari dinding sel kuman gram positif sebagian besar tersusun dari asam teikhoat dan peptidoglikan, sedangkan dinding sel kuman gram negatif tersusun dari tiga lapisan di luar peptidoglikan. Ketiga lapisan tersebut adalah lipoprotein, phospholipid dan lipopolisakarida yang berfungsi sebagai penghalang difusi dari molekul-molekul besar, karena itu kuman Gram negatif lebih resisten terhadap sebagian besar antibiotika, dan salah satu kuman Gram negatif adalah *Salmonella pullorum* (Bonang, 1982).

Kulit buah delima putih mengandung flavonoid, saponin dan steroid/triterpen (Suharmiati dkk., 1995). Dalam Inventaris Tanaman Obat Indonesia, disebutkan bahwa akar, buah, bunga, kulit (batang dan buah) *Punica granatum* mengandung saponin dan flavonoid, akarnya juga mengandung polifenol, sedangkan kulit batang, bunga dan buah juga mengandung tanin (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

Tanin digunakan dalam pengobatan karena kemampuannya sebagai *adstringent* (Mutschler, 1991). *Adstringent* efektif digunakan untuk merubah sifat suatu permukaan. *Adstringent* mengendapkan protein dan hanya sedikit yang mampu menembus sel, jadi hanya mempengaruhi permukaan sel saja. Akibatnya permeabilitas sel banyak menurun tetapi sel masih tetap dapat hidup (Jones *et al.*, 1977).

Flavonoid adalah pigmen yang terdapat dalam tumbuhan dengan struktur rantai karbon C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, juga merupakan faktor pertahanan alam, antara lain kerja antimikroba, antivirus dan aktivitas terhadap serangga (Robinson, 1991). Flavonoid mempunyai kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen (Harborne, 1987), akibatnya struktur protein rusak dan protein kehilangan aktivitas biologisnya sehingga struktur dinding sel dan membran sitoplasma menjadi tidak stabil dan berkurang fungsi permeabilitasnya maka terjadilah lisis.

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat (Robinson, 1991), dapat menghemolisis sel darah merah karena ikatannya dengan protein, yaitu

menyebabkan rusaknya struktur protein sehingga membran sel tidak terorganisasi lagi, akibatnya terjadilah lisis (Wilson and Gisvolds, 1982).

Struktur utama penyusun dinding sel dan membran sitoplasma dari *Salmonella pullorum* adalah lemak dan protein. Terikatnya flavonoid dan saponin pada protein menyebabkan rusaknya struktur protein atau hilangnya aktivitas biologis protein tersebut sehingga terjadi ketidakstabilan struktur dinding sel dan membran sitoplasma kuman, akibatnya fungsi permeabilitasnya terganggu hingga ion-ion dan makromolekul sel (protein dan organel) keluar dari sel (lisis) yang berakibat pada kematian kuman tersebut (Boyd and Marr, 1980).

Antibiotika yang digunakan sebagai pembanding adalah Tetrasiklin. Tetrasiklin terpilih karena tidak terabsorpsi dengan sempurna dari saluran pencernaan sehingga konsentrasi yang tinggi dapat ditemukan dalam isi usus halus sehingga efektif mengobati diare yang disebabkan oleh bakteri (Wattimena dkk., 1991). Arthur Grollman (1962) menyatakan bahwa Tetrasiklin adalah obat pilihan kedua setelah Kloramfenikol untuk terapi salmonellosis.

#### **1.4. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Kemampuan dekokta kulit buah delima putih dalam menghambat pertumbuhan kuman *Salmonella pullorum* secara in vitro.
2. Membandingkan daya antibakterial dekokta kulit buah delima putih dan Tetrasiklin terhadap kuman *Salmonella pullorum* secara in vitro.

### 1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat melengkapi informasi tentang delima putih (*Punica granatum* Linn.) dan dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan terhadap infeksi kuman *Salmonella pullorum*.

### 1.6. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Dekokta kulit buah delima putih mampu menghambat pertumbuhan kuman *Salmonella pullorum* secara in vitro.
2. Terdapat perbedaan daya antibakterial antara dekokta kulit buah delima putih dengan Tetrasiklin terhadap kuman *Salmonella pullorum*.

## **BAB II**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan Tentang Delima putih

##### 2.1.1. Klasifikasi

Divisio : Spermatophyta  
Subdivisio : Angiospermae  
Class : Dicotyledonae  
Ordo : Myrtales  
Familia : Punicaceae  
Genus : Punica  
Species : *Punica granatum* Linn.  
(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

##### 2.1.2. Nama Lain

Inggris : Pomegranate  
Perancis : Grenadier  
Belanda : Granatappel  
Jerman : Granatbaum  
Malaysia : Delima  
Filipina : Granada  
Vietnam : Lu'u, Thap lu'u

Myanmar : Salebin, Talibin

Kamboja : Totum

Laos : Ph'iilaa

Thailand : Thapthim (bagian tengah), Phila (Nong khai), Bakoh (Bagian utara)

Indonesia : Dalima / Delima

Glima (Aceh), Glimeu mekah (Gayo), Dalimo (Batak),

Endelimau (Melayu), Gangsalan, Dlima (Jawa), Dhalima

(Madura), Jeliman (Sasak), Talima (Bima), Dila dae lok

(Roti), Lelo kase, Rumau / Tetum (Timor), Dilimene

(Kisar)

(Verheij and Coronel, 1997; Heyne, 1987)

### 2.1.3. Morfologi

Habitus : Perdu, tinggi 2-5 m.

Batang : Berkayu, bulat, bercabang, berduri, masih muda berwarna coklat, setelah tua hijau kotor.

Daun : Tunggal, bentuk lancet, tepi rata, ujung runcing, pangkal tumpul, pertulangan menyirip, permukaan mengkilat, hijau.

Bunga : Tunggal, diujung cabang, tangkai pendek, kelopak berlekatan merah/kuning pucat, mahkota membulat, tangkai sari melengkung, kuning, putik putih, merah/kuning.

Buah : Bulat, berdiameter 5 – 12 cm, hijau kekuningan.

Biji : Bulat, keras kecil merah.

Akar : Tunggang, kuning kecoklatan

(Anonimus, 1991).

#### **2.1.4. Kandungan dan Manfaat**

Analisis bagian buah delima yang dapat dimakan di India menunjukkan komposisi per-100 gram, sebagai berikut: air 78 g; protein 1,6 g; lemak 0,1 g; karbohidrat 14,5 g; serat 5,1 g dan mineral 0,7 g. Analisis lain menunjukkan suatu kandungan gula inversi mencapai 20%, yang 5–10% berupa glukosa, asam sitrat (0,5–3,5%), asam borat (sedikit sekali) dan vitamin C (4 mg/100 g). Zat pewarna kuning pada kulit buah delima adalah asam galotanat. Kandungan tanin tertinggi ada pada kulit akar (28%), tetapi kulit buahnya yang kering juga mengandung tanin sebesar 20%. Alkaloid dalam kulit batangnya termasuk dalam kelompok piridina (Verheij and Coronel, 1997).

Produksi buah dan kualitasnya cenderung makin menurun, dan hampir setiap bagian dari pohon delima ini lebih sering digunakan untuk tujuan pengobatan. Obat kumur terbuat dari kulit kering buah delima, dan sari buahnya diminum untuk mengobati sakit demam. Di Asia, kulit cabang dan akarnya dikenal sebagai obat mujarab untuk penyakit cacing pita dan cacing lainnya yang ada dalam usus. Sifat kelat dari kulit batang, daun, buah mentah dan kulit buah dimanfaatkan dalam bentuk rebusan untuk mengobati diare dan disentri. Kekelatannya disebabkan oleh adanya

tanin; kulit batang, daun dan kulit buah merupakan sumber tanin yang baik. Kulit buah juga merupakan pewarna yang digunakan sebagai tinta, pewarna kain atau pada zaman dahulu digunakan oleh wanita untuk menghitamkan giginya (Verheij dan Coronel, 1997).

Syamsuhidayat dan Hutapea, (1991) menulis bahwa akar, buah, bunga, kulit (batang dan buah) *Punica granatum* mengandung saponin dan flavonoid, akarnya juga mengandung polifenol, sedangkan kulit batang, bunga dan buah juga mengandung tanin.

#### 2.1.4.1. 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 aceton, praktis tidak larut dalam benzena, kloroform dan eter (Anonimus, 1995).

Tanin bersifat *adstringentsia*, 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).

Kadar tanin yang tinggi mungkin mempunyai arti pertahanan bagi tumbuhan, membantu mengusir hewan pemangsa tumbuhan tersebut. Beberapa tanin terbukti

mempunyai aktifitas antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor (Robinson, 1991).

#### 2.1.4.2. 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 (Jawetz *et al.*, 1980) sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan hancurnya kuman (Dwidjoseputro, 1994). Pada konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah, dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun untuk ikan. Beberapa saponin juga bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1991).

#### 2.1.4.3. 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  $C_6-C_3-C_6$  (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).

#### 2.1.4.4. Alkaloid

Delima putih mengandung 0,5-1% alkaloid, antara lain *pelletierine* ( $C_8H_{15}NO$ , berbentuk cair, sangat tidak stabil, larut dalam air, alkohol, chloroform, benzena dan ether), *methylpelletierine* ( $C_8H_{14}NO-CH_3$ , minyak cair tidak berwarna, larut dalam air, alkohol, chloroform dan ether), *pseudopelletierine* ( $C_9H_{15}NO$ , larut dalam alkohol, chloroform, air dan ether), *isopelletierine* ( $C_8H_{15}NO$ , minyak cair, larut dalam alkohol, chloroform dan larutan asam), *methilisopelletierine* ( $C_9H_{17}NO$ , minyak cair, tidak berwarna, larut dalam air dan ether) (Keys, 1990)

Alkaloid dalam kulit batang delima putih dimanfaatkan sebagai obat cacing dan lebih efektif untuk *Taenia* daripada *Ascaris* (Keys, 1990).

## 2.2. Tinjauan Tentang Penyakit Pullorum

Penyakit pullorum adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh kuman *Salmonella pullorum* dan kejadiannya pada ayam sering disebut sebagai “*Bacillary White Diare*” atau penyakit berak kapur (Ressang, 1984).

*Salmonella pullorum* dapat juga menyerang manusia dan ditandai timbulnya gastroenteritis. Hal ini terjadi karena manusia memakan telur atau daging yang mengandung kuman *Salmonella pullorum*. Kejadian ini sering disebut “*Food Born Infection*” (Gordon, 1977 dan Whiteman, 1979).

### 2.2.1. Morfologi *Salmonella Pullorum*

*Salmonella pullorum* berbentuk batang, tidak berspora, tidak bergerak (non motil), ukuran panjang 1–2,5  $\mu$  dan lebar 0,3–0,5  $\mu$ . Kuman ini tidak berflagella sehingga tidak mempunyai H antigen, tetapi mempunyai O antigen (Merchant and Packer, 1971).

Untuk kehidupannya *Salmonella pullorum* membutuhkan temperatur optimum 37°C dan pada perbenihan menunjukkan koloni halus dan bening. Pada pewarnaan gram bersifat gram negatif, membentuk rantai lebih dari dua, tetapi lebih sering sendiri-sendiri (Hofstad, 1972).

### 2.2.2. Sifat Biokimiawi dan Karakteristik Perbenihan

Perbenihan pada media gula-gula *Salmonella pullorum* akan membentuk asam dan gas dari glukosa, tidak memfermentasikan laktosa dan sakarosa, tidak membentuk asam dan gas dari dulcitol. Membentuk asam dan gas dari arabinosa, dekstroza, galaktosa, manitol, rhamnosa dan xylosa. Pada dekstrin, inositol salisin dan sorbitol kuman ini membentuk asam dan gas secara bervariasi, tetapi lebih sering tidak membentuk asam dan gas (Merchant and Packer, 1971; Carter, 1973).

Pada uji sitrat dan nitrat umumnya negatif tetapi kadang kala positif. Pada media semi solid pertumbuhan kuman berupa garis putih pada bekas tusukan. Pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) memberi warna merah (basa) pada daerah yang miring dan pada ujungnya berwarna kuning (asam), tampak pembentukan H<sub>2</sub>S yang ditandai dengan adanya warna hitam, serta pembentukan gas yang ditandai dengan pecahnya media atau terangkatnya media dari dasar tabung (Hofstad, 1972).

*Salmonella pullorum* bersifat aerob dan fakultatif anaerob. Pada media Salmonella Shigella Agar tumbuh baik dengan membentuk koloni halus, bening dan tembus cahaya (Carter, 1973).

### 2.2.3. Daya Tahan Hidup Kuman

Pada musim kering dalam temperatur kamar, *Salmonella pullorum* dapat hidup kurang lebih delapan bulan dan keganasannya masih tetap ada selama tiga bulan sampai satu tahun dalam kotoran ditanah. (Hungerford, 1972).

*Salmonella pullorum* akan mati pada suhu pasteurisasi, dalam fenol 0,6% tahan hidup 10-12 menit, dalam  $\text{KMnO}_4$  1% tahan hidup tiga menit, dalam formalin 2% tahan hidup selama satu menit (Anonimus, 1982).

Pada suhu 10 °C *Salmonella pullorum* tahan hidup dalam kuning telur selama dua minggu, pada suhu 2–3 °C dengan kelembaban 30–75% tahan hidup selama 20–32 hari (Hofstad, 1972).

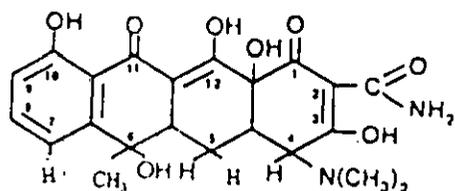
## 2.3. Tetrasiklin

### 2.3.1. Sejarah

Pada tahun 1947 telah ditemukan oleh Duggar obat tetrasiklin pertama yaitu 7-klortetrasiklin atau Aureomisin diberi nama demikian karena warna kuning dari *Streptomyces aureofaciens*. Dua tahun kemudian diperoleh Oksitetrasiklin dari *Streptomyces rimosus*. Elusidasi struktur kimia kedua senyawa ini menunjukkan kemiripannya satu sama lain dan menjadikan dasar diproduksinya senyawa ketiga dari kelompok ini yaitu Tetrasiklin pada tahun 1952. Pada tahun 1957 dikembangkan kelompok baru senyawa Tetrasiklin yang secara kimia ditandai dengan tidak adanya gugus  $\text{CH}_3$  yang terikat pada cincin. Salah satu diantaranya ialah dimetil-Klortetrasiklin yang kemudian dinamakan Demeklosiklin dan digunakan mulai tahun 1959. *Metasiklin* yang merupakan turunan Oksitetrasiklin diperkenalkan mulai tahun 1961, *Doksisiklin* tahun 1966 dan *Minosiklin* tahun 1972 (Wattimena dkk., 1991).

### 2.3.2. Sifat Kimia

Tetrasiklin mempunyai struktur kimia seperti yang diperlihatkan di bawah ini.



Gambar. 1. Struktur Kimia Tetrasiklin

Tetrasiklin bebas merupakan senyawa amfoter berbentuk kristal dengan kelarutan yang rendah, tersedia sebagai hidroklorida dengan kelarutan sekitar 10 % dalam air. Larutan tersebut bersifat asam, kecuali Klortetrasiklin cukup stabil. Secara *in vitro*, Klortetrasiklin sangat tidak stabil, berkurang aktivitasnya dalam beberapa jam, karena alasan ini sekarang tidak banyak digunakan di klinik. Tetrasiklin berikatan erat dengan ion logam bervalensi dua, sehingga kelat ini akan mengganggu absorpsi dan aktivitas molekul ini. Tetrasiklin memberi fluoresensi kuning cerah dengan sinar ultraviolet 360 nm (Jawetz, 1995).

### 2.3.3. Aktivitas Antimikroba

Kelompok Tetrasiklin dikenal sebagai antibiotika spektrum luas yang penting dan sangat efektif terhadap semua mikroba yang peka terhadap Penicillin, berbagai bakteri gram negatif, mikoplasma, spirokhaeta, leptospira, riketsia, chlamidia serta dalam dosis tinggi terhadap amuba (Mutschler, 1991).

Tetrasiklin bekerja baik pada mikroba ekstrasel maupun intrasel. Tipe kerjanya adalah bakteristatik. Mekanisme kerjanya yaitu hambatan pada sintesis protein ribosom yaitu dengan menghambat pengikatan aminoasil-tRNA ke tempat akseptor pada kompleks mRNA ribosom, sehingga efektif mencegah penambahan asam amino baru ke rantai peptida yang tumbuh (Jawetz, 1995).

## 2.4. Uji Antimikrobia

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

Ada tiga cara untuk mengetahui kepekaan bahan antibakterial terhadap kuman, yaitu: (1) Metode Diffusi Disk (*Kirby Bauer Test*), (2). Metode Dilusi, (3). Koeffisien Fenol (*Rideal Walkel Test*).

### 2.4.1. Metode Diffusi Disk

Metode ini banyak digunakan dilaboratorium untuk menguji kepekaan kuman terhadap zat antimikrobia. Hal ini karena pelaksanaannya tidak memerlukan waktu yang lama, keahlian khusus dan cepat memberikan hasil. Uji ini diperkenalkan oleh William Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Pada uji ini lempengan agar disemai dengan mikroorganisme penguji. Hasil pengujian memperlihatkan adanya

wilayah jernih disekeliling kertas disk sebagai daerah hambatan pertumbuhan kuman. Luasnya wilayah jernih merupakan petunjuk kepekaan mikroorganisme terhadap zat antimikroba. Selain itu luas wilayah juga berkaitan dengan kecepatan difusi zat antimikroba ke dalam medium (Lay, 1994) dan konsentrasi cuplikan. Sedangkan menurut Rohde (1973), diameter hambatan dipengaruhi oleh konsentrasi kuman, waktu inkubasi, kemampuan difusi obat, kecepatan pertumbuhan kuman dan perbedaan strain. Kepekaan kuman terhadap zat antimikrobia dapat dikelompokkan menjadi tiga katagori, yaitu: sangat peka/sensitif, kurang peka/intermediate, tidak peka/resisten (Lay, 1994).

Kuman dikategorikan peka terhadap antimikroba tertentu apabila dengan konsentrasi tertentu dapat terjadi diameter hambatan pertumbuhan kuman yang besar. tidak peka apabila diameter hambatan sangat kecil atau tidak terjadi daerah hambatan. Dalam menentukan katagori tersebut terdapat patokan atau standart yang telah ditentukan, kecuali untuk obat baru. Jumlah kuman yang digunakan dalam pengujian ini adalah  $10^5$ - $10^8$ /ml, dihitung dengan Metode Koch atau Total Plate Count (Beisher, 1983), atau mempunyai kekeruhan sesuai dengan standart Mc Farland no. 0,5-1.

#### **2.4.2. Metode Dilusi**

Metode ini merupakan metode yang paling akurat untuk menentukan kepekaan antibakteri. Penggunaan metode ini memerlukan waktu lama, keahlian cukup, dan merupakan cara yang kurang praktis, terutama untuk mengetahui kepekaan kuman terhadap beberapa antibakteri (Lay, 1994).

MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antimikroba terhadap hambatan pertumbuhan kuman tertentu, sedangkan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antimikroba untuk membunuh kuman tertentu (Lay, 1994).

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

#### **2.4.3. Koefisien Fenol (*Rideal Walkel Test*)**

Keampuan bahan anti mikrobia sering kali dibandingkan dengan fenol. Fenol sering digunakan untuk mematikan mikroorganisme. Koefisien fenol adalah cara mengukur kemampuan bahan antimikrobia dibandingkan fenol. Koefisien fenol kurang dari satu, berarti bahan antimikrobia tersebut kurang efektif dibandingkan

fenol. Sebaliknya koefisien fenol lebih besar dari satu menunjukkan bahwa bahan ini lebih ampuh dibandingkan fenol. Koefisien fenol ditentukan dengan cara membagi pengenceran tertinggi dari fenol yang mematikan mikroorganisme dalam 10 menit tetapi tidak mematikannya dalam waktu 5 menit (misalkan pada pengenceran 1:90) dengan pengenceran tertinggi bahan antimikrobia yang mematikan mikroorganisme dalam waktu 10 menit tetapi tidak mematikannya dalam waktu 5 menit (misalkan pada pengenceran 1:350), maka koefisien fenol dari bahan antimikrobia tersebut adalah  $(1:90) : (1:350) = 3,89$  (Lay, 1994).

# **BAB III**

## **MATERI DAN METODE**

## BAB III

### MATERI DAN METODE

#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pengendalian Mutu dan Peningkatan Produksi (PMPP) Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya, mulai tanggal 25 juni 2000 sampai 26 juli 2000.

#### 3.2. Materi Penelitian

##### 3.2.1. Isolat Kuman

Kuman yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat murni kuman *Salmonella pullorum* strain 11 yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya.

##### 3.2.2. Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, bunsen, spatula, ose, pinset, spatel bengkok, inkubator, pipet droplet, erlenmeyer, autoclave, mistar, termometer, waterbath, kain kasa, laminal flow.

### 3.2.3. Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah delima putih yang diambil dari daerah Batu-Malang, kertas disk, antibiotik disk yang berisi tetrasiklin 30 µg, aquadest, alkohol 70%, NaCl fisiologis 0,85% (PZ), *Mueller Hinton Agar* (MHA).

### 3.3. Metode Penelitian

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

#### 3.3.1. Persiapan Penelitian

##### 3.3.1.1. Pembuatan Dekokta Kulit Buah Delima Putih

Delima putih yang didapat dari daerah Batu-Malang diambil kulitnya dan dikeringkan, kemudian digiling hingga menjadi serbuk. Dekokta dibuat dengan mengambil sari dari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 30 menit (Joenoës, 1995). Pada umumnya infusa atau dekokta dibuat dengan menggunakan 10% simplisia, dengan cara sebagai berikut : tiga gram serbuk kering delima putih dicampur dengan air 30 ml, dipanaskan di atas penangas air (waterbath) selama 30 menit terhitung mulai suhu 90°C sambil sekali-sekali diaduk. Saring selagi panas, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume 30 ml.

Perebusan diteruskan hingga diperoleh volume tiga mililiter. Ini disebut dekokta 100%.

### 3.3.1.2. Pembuatan Suspensi Kuman

Suspensi kuman dibuat dengan cara mengambil beberapa koloni kuman dengan ose, kemudian dilarutkan dalam PZ steril hingga terbentuk suspensi yang mengandung kuman sejumlah  $3 \times 10^8$ /ml atau sesuai kekeruhannya dengan standart Mc Farland 1 (Jang, *et al.*, 1980). Jumlah kuman standart uji sensitivitas adalah  $10^5$ - $10^8$ /ml.

### 3.3.1.3. Pengisian Kertas Disk

Kertas disk yang akan digunakan untuk penelitian dimasukkan dalam cawan petri kemudian disterilkan dalam autoclave selama 30 menit pada suhu  $121^\circ\text{C}$ . Sementara itu disediakan lima tabung reaksi, diberi nomor satu sampai lima. Tabung dua sampai lima diisi satu mililiter aquadest, tabung satu dan dua diisi satu mililiter dekokta, dicampur hingga rata. Dari tabung nomor dua diambil satu mililiter dimasukkan tabung nomor tiga, dari tabung nomor tiga diambil satu mililiter dimasukkan tabung empat, dari tabung empat diambil satu mililiter untuk dibuang. Dari sini diperoleh dekokta dengan konsentrasi 100%, 50%, 25% dan 12,5% serta satu tabung hanya berisi akuadest. Selanjutnya kertas disk kosong yang telah disterilkan dimasukkan dalam tabung tersebut masing-masing enam 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 (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Test*

Sepuluh tabung reaksi steril disiapkan dan diberi nomor satu sampai sepuluh. Tabung nomor dua sampai sembilan masing-masing diisi satu mililiter aquadest, tabung nomor satu dan dua diisi satu mililiter dekokta 100%, dicampur hingga homogen. Dari tabung nomor dua diambil satu mililiter untuk dimasukkan tabung nomor tiga, dari tabung nomor tiga diambil satu mililiter dimasukkan tabung nomor empat, begitu seterusnya hingga tabung nomor sembilan. Dari tabung nomor sembilan diambil satu mililiter untuk dibuang. Semua tabung mulai nomor satu sampai sepuluh diisi dengan satu mililiter suspensi kuman dan dikocok sampai homogen. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilihat kekeruhannya.

Untuk mengetahui MBC, terlebih dahulu disiapkan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) steril sebanyak dua buah. Kedua media dibagi menjadi lima bagian dan diberi nomor satu sampai sepuluh. Selanjutnya pada masing-masing tabung hasil MIC ditanam pada media sesuai nomor. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil inkubasi diamati untuk menentukan ada tidaknya pertumbuhan kuman (Koneman, *et al.*, 1992). Setiap perlakuan diulang tiga kali untuk

mendapatkan hasil yang lebih teliti. Pelaksanaan penelitian ini semuanya dikerjakan dalam laminar flow.

### 3.3.2.2. Diffusi Disk

Penelitian secara *in vitro* dengan metode diffusi disk ini terdiri dari enam macam perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari enam ulangan.

Perlakuan tersebut antara lain :

P0 : Kertas disk kosong sebagai kontrol

P1 : Kertas disk mengandung dekokta kulit buah delima putih 12,5% (3,75 mg/disk)

P2 : Kertas disk mengandung dekokta kulit buah delima putih 25% (7,5 mg/disk)

P3 : Kertas disk mengandung dekokta kulit buah delima putih 50% (15 mg/disk)

P4 : Kertas disk mengandung dekokta kulit buah delima putih 100% (30 mg/disk)

P5 : Kertas disk mengandung Tetrasiklin 30  $\mu$ g

Enam cawan petri steril disiapkan terlebih dahulu, kemudian di dalamnya dituangkan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) 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 selama 15 menit agar kuman dapat meresap dengan baik.

Kertas disk dalam berbagai perlakuan yaitu P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> dan P<sub>5</sub> diletakkan di atas permukaan media dengan pinset steril dan didiamkan selama kurang lebih 15 menit agar bahan obat dalam kertas disk dapat berdiffusi ke dalam media sebelum pertumbuhan kuman berlangsung optimal. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Koneman, *et al.*, 1992). Semua perlakuan diatas dilaksanakan dalam laminal flow.

### 3.3.3 Peubah Yang Diamati

Penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilihat dari keruh tidaknya tabung yang telah diinkubasi 24 jam, yaitu pengenceran tertinggi yang tidak menampakkan pertumbuhan kuman (jernih), sedangkan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) dilakukan dengan melihat pertumbuhan kuman pada media MHA. Tidak adanya pertumbuhan kuman pada konsentrasi tertentu menunjukkan bahwa zat antimikroba tersebut dapat membunuh kuman (bakterisida).

Penentuan hambatan pertumbuhan kuman dengan metode diffusi disk ditunjukkan dengan terbentuknya daerah jernih di sekitar kertas disk yang merupakan diameter daerah hambatan yang tidak ditumbuhi kuman.

### 3.4. Analisis Data

Data yang diperoleh dikumpulkan dan dibuat dalam bentuk tabel, kemudian diuji dengan analisis varian atau uji F. Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf signifikan 5% (Kusriningrum, 1989).

# **BAB IV**

## **HASIL PENELITIAN**

**BAB IV****HASIL PENELITIAN**

Penelitian mengenai daya antibakteri dekokta kulit buah delima putih dilaksanakan dengan dua metode, yaitu metode dilusi dengan penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) serta metode Diffusi Disk.

**4.1. Pengujian *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)**

Tabel 1. Pertumbuhan *Salmonella pullorum* Akibat Pemberian Dekokta Kulit Buah Delima Putih pada Pengujian *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)

No	Konsentrasi dekokta (%)	Pertumbuhan Salmonella Pullorum		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1.	100 %	-	-	-
2	50 %	-	-	-
3	25 %	-	-	-
4	12,5 %	-	-	-
5	6,25 %	-	-	-
6	3,125 %	+	+	+
7	1,5612 %	+	+	+
8	0,7812 %	+	+	+
9	0,3906 %	+	+	+
10	Suspensi kuman	+	+	+

Keterangan :

- : tidak ada pertumbuhan kuman
- + : terdapat pertumbuhan kuman

Merujuk dari kepanjangannya, MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) diperoleh dari konsentrasi terendah suatu bahan yang mampu membunuh kuman. Ternyata mulai konsentrasi 0.3906% sampai 3.125% terdapat pertumbuhan kuman dan mulai konsentrasi 6.25% sampai 100% tidak terdapat pertumbuhan kuman. Jadi konsentrasi minimal dari dekokta kulit buah delima putih yang dapat membunuh kuman *Salmonella pullorum* adalah 6.25% (ditunjukkan dengan mulai tidak adanya pertumbuhan kuman pada media biakan).

#### 4.2. Diameter Hambatan Pertumbuhan Kuman *Salmonella pullorum* dari uji Diffusi Disk

Tabel 2. Rata-rata dan Simpangan Baku Diameter Hambatan Pertumbuhan Kuman *Salmonella pullorum*

Perlakuan	Rata-rata diameter daerah hambatan (mm)
P <sub>0</sub> (kontrol)	6 ± 0 <sup>e</sup>
P <sub>1</sub> (delima putih 3,75 mg)	6 ± 0 <sup>e</sup>
P <sub>2</sub> (delima putih 7,5 mg)	7,05 ± 0,2484 <sup>d</sup>
P <sub>3</sub> (delima putih 15 mg)	8,11 ± 0,2735 <sup>c</sup>
P <sub>4</sub> (delima putih 30 mg)	13,22 ± 0,6564 <sup>b</sup>
P <sub>5</sub> (tetrasiiklin 30 µg)	24,5 ± 0,8367 <sup>a</sup>

Keterangan : rataan yang diikuti superskrip yang berbeda pada kolom yang sama berbeda sangat nyata ( $p < 0,01$ )

Hasil pengamatan uji kepekaan kuman dengan metode difusi disk adalah dengan mengukur daerah jernih di sekitar kertas disk yang merupakan diameter hambatan yang tidak ditumbuhi kuman.

Uji Anava menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0.01$ ) dari perlakuan terhadap daya hambat pertumbuhan kuman *Salmonella pullorum*. Pengujian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) bertaraf signifikan 5% untuk menentukan perlakuan mana yang berbeda dengan yang lain. Hasilnya menunjukkan bahwa P<sub>5</sub> yang berisi Tetrasiklin 30 µg memberikan diameter hambatan paling luas yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (P<sub>4</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> dan kontrol). Diameter hambatan pertumbuhan kuman yang paling kecil diperoleh dari P<sub>0</sub> (kontrol) dan P<sub>1</sub> (delima putih 3,75 mg) yang berbeda nyata dengan P<sub>2</sub> (delima putih 7,5 mg), P<sub>3</sub> (delima putih 15 mg), P<sub>4</sub> (delima putih 30 mg) dan P<sub>5</sub> (Tetrasiklin 30 µg).

**BAB V**  
**PEMBAHASAN**

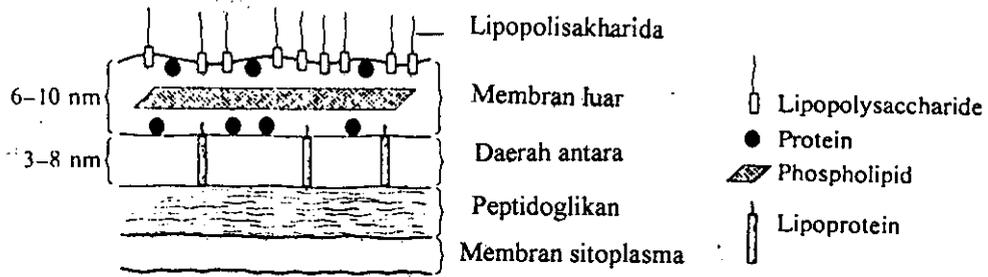
## BAB V

### PEMBAHASAN

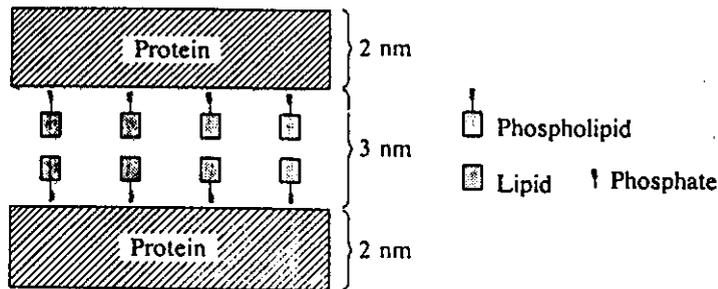
Berdasarkan penanaman dari tabung hasil uji dilusi dapat diketahui konsentrasi minimal dekokta kulit buah delima putih yang mampu membunuh *Salmonella pullorum* (MBC) adalah konsentrasi 6,25 %, dengan kata lain pada konsentrasi 6,25 % dekokta bersifat bakterisida yang ditandai dengan tidak adanya koloni kuman yang tumbuh pada media. Mulai konsentrasi 3,125 % hingga yang lebih rendah terjadi pertumbuhan kuman, sehingga dapat dikatakan bahwa pada konsentrasi 3,125 % dekokta kulit buah delima putih 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 dekokta kulit buah delima putih, makin tinggi kemungkinannya dalam menghambat atau membunuh kuman.

Berbagai penelitian yang pernah dilakukan membuktikan bahwa delima putih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap kuman Gram positif dan Gram negatif, antara lain *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi* dan *Shigella dysenteriae* (Navarro *et al.*, 1996, Perez and Anesini, 1994, Guevara *et al.*, 1994). Hal ini dimungkinkan karena kulit buah delima putih mengandung saponin dan flavonoid.

*Salmonella pullorum* termasuk kuman Gram negatif, dimana struktur utama penyusun dinding sel dan membran plasmanya adalah lemak dan protein seperti pada gambar di bawah ini.



Gambar 2. Struktur dinding sel Gram negatif (Boyd and Marr, 1980)



Gambar 3. Struktur membran sitoplasma (Boyd and Marr, 1980)

Dinding sel berfungsi sebagai pemberi bentuk pada sel kuman dan untuk melindungi sel dari lisis osmotik. Membran sel di samping berfungsi sebagai barier terhadap lingkungan sekitar juga berperan dalam mengatur keluar masuknya molekul-molekul serta ion-ion (Boyd and Marr, 1980). Adanya bahan-bahan yang

dapat menurunkan tegangan permukaan sel dapat mengakibatkan terjadinya gangguan kestabilan pada dinding sel dan membran plasma sel (Jawetz *et al.* 1980). Saponin dalam hal ini bekerja dengan jalan melarutkan struktur lemak. Keadaan ini makin diperberat dengan adanya flavonoid yang menyebabkan pengendapan protein (denaturasi protein).

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 anionik karena mengandung gugus hidrofil bermuatan negatif yang berupa gugus karboksil, sulfat dan fosfat (Robinson, 1991 ; Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Saponin berasal dari kata *sapo* yang artinya sabun. Penyabunan berarti terjadi reaksi antara alkali (basa) dengan lemak (Joenoos, 1995), bila lemak dari dinding sel dan membran sitoplasma kuman larut maka tegangan permukaan sel akan menurun dan fungsi permeabilitas terganggu akibatnya banyak ion-ion dan makro molekul (protein dan organel) yang keluar dari sel (lisis) yang berakibat pada kematian sel kuman (Dwidjoseputro, 1994).

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).

Denaturasi protein terjadi akibat gangguan pada struktur tersier protein, yaitu perubahan pada ikatan hidrogen dan elektrostatik yang bertanggung jawab untuk mempertahankan struktur tersier protein. Denaturasi terjadi melalui hilangnya aktivitas biologis dan perubahan struktur dari protein dengan adanya perubahan tatanan polipeptida karena sifat ikatan dalam molekul (Volk and Wheeler, 1984).

Flavonoid mempunyai kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen (Harborne, 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 akibatnya fungsi permeabilitasnya terganggu, sehingga sel kuman mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel kuman (Boyd and Marr, 1980).

Perbandingan perlakuan dengan pemberian Tetrasiklin 30 µg menunjukkan adanya daerah jernih disekitar antibiotik disk sebagai diameter daerah hambatan pertumbuhan kuman, dengan ukuran rata-rata 24,5 mm. Ukuran ini sesuai dengan standart Kirby-Bauer yaitu *Salmonella sp.* Termasuk kuman yang peka terhadap antibiotik Tetrasiklin bila membentuk diameter daerah hambatan lebih dari 19 mm.

Tetrasiklin bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan kuman). Mempunyai sifat pembentuk kelat, sehingga memudahkan pengangkutan Tetrasiklin ke sisi kerjanya (Siswandono dan Soekardjo, 1995) yaitu ke reseptor subunit 30S ribosom kuman pada posisi yang menghambat pengikatan aminoasil tRNA ke tempat akseptor pada kompleks mRNA ribosom, sehingga efektif mencegah penambahan

asam amino baru ke rantai peptida yang tumbuh hingga menghambat sintesis protein (Jawetz, 1995).

Hasil analisis varian menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dari pemberian kulit buah delima putih 3,75 mg, 7,5 mg, 15 mg, 30 mg dan Tetrasiklin 30  $\mu$ g bila dibandingkan dengan kontrol (Lampiran 5).

Pengujian lebih lanjut terhadap metode difusi disk dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) tentang pengaruh perlakuan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri. Hasilnya seperti tercantum dalam lampiran 5 dan 6, terlihat bahwa pada taraf signifikan 5%, P5 (Tetrasiklin 30  $\mu$ g) menghasilkan daerah hambatan terbesar yang berbeda nyata dengan perlakuan yang lain. P1 yang berisi kulit buah delima putih 3,75 mg memberi diameter hambatan terkecil dan tidak berbeda nyata dengan P0 (kontrol).

Dekokta kulit buah delima putih konsentrasi 12,5% (3,75 mg per-disk) pada uji difusi disk tidak memberi hambatan terhadap pertumbuhan kuman, tetapi dengan uji dilusi konsentrasi 6,25% sudah dapat membunuh kuman *Salmonella pullorum*. Hal ini dikarenakan daya serap kertas disk yang terbatas sehingga konsentrasi bahan berkhasiat yang terkandung dalam kertas disk belum mampu menghambat pertumbuhan kuman *Salmonella pullorum*. Menurut Lay (1994), besarnya diameter hambatan pertumbuhan kuman selain tergantung konsentrasi disk juga dipengaruhi oleh kecepatan difusi obat ke dalam media, kepekaan kuman, jenis kuman, jumlah kuman dan waktu inkubasi.

# **BAB VI**

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Dekokta kulit buah delima putih dapat membunuh kuman *Salmonella pullorum* secara in vitro mulai konsentrasi 6,25 %.
2. Daya antibakteri Tetrasiklin lebih besar dibandingkan dekokta kulit buah delima putih terhadap kuman *Salmonella pullorum* secara in vitro.

#### 6.2. SARAN

Berdasarkan penelitian ini penulis sarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut untuk :

1. Mengetahui khasiat dekokta kulit buah delima putih secara in vivo terhadap penyakit yang disebabkan oleh kuman *Salmonella pullorum*.
2. Mengetahui daya antibakterial dekokta kulit buah delima putih terhadap kuman lainnya.
3. Menggunakan bagian lain dari delima putih dengan sediaan yang lain pula.
4. Mengetahui daya antibakteri dekokta kulit buah delima putih dengan konsentrasi yang lebih rapat.

# **RINGKASAN**

## RINGKASAN

TRI WAHYUNI UTAMI. Daya Antibakteri Dekokta Kulit Buah Delima putih (*Punica granatum* Linn.) dan Tetrasiklin Terhadap *Salmonella pullorum* Secara in Vitro (dibawah bimbingan Bapak Didik Handijatno, M.S., drh sebagai pembimbing pertama dan Bapak Kuncoro Puguh S., M.Kes., drh sebagai pembimbing kedua). Bahan-bahan yang terkandung dalam kulit buah delima putih diduga dapat menghambat pertumbuhan kuman, baik gram positif maupun gram negatif. Pada media pembiakan ditujukan untuk mengetahui apakah dekokta kulit buah delima putih dapat menghambat atau membunuh kuman secara in vitro. Kuman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella pullorum*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan membandingkan daya antibakterial dekokta kulit buah delima putih dengan Tetrasiklin terhadap kuman *Salmonella pullorum* secara in vitro. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat sekaligus untuk memberikan sumbangan ilmiah pada dunia ilmu pengetahuan tentang pemanfaatan kulit buah delima putih sebagai zat antibakteri.

Persiapan penelitian dilakukan dengan membuat suspensi kuman *Salmonella pullorum* serta dekokta kulit buah delima putih. Sepuluh tabung reaksi steril disiapkan dan diberi nomor satu sampai sepuluh. Tabung nomor dua sampai sembilan masing-masing diisi satu mililiter aquadest, tabung satu dan dua diisi satu mililiter dekokta kulit buah delima putih, dicampur hingga homogen. Dari tabung nomor dua

diambil satu mililiter dimasukkan tabung nomor tiga lalu dikocok sampai homogen, demikian seterusnya sampai tabung nomor sembilan. Dari tabung nomor sembilan diambil satu mililiter untuk dibuang. Tabung nomor satu sampai sepuluh masing-masing diisi suspensi kuman sebanyak satu mililiter lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilihat kekeruhannya.

Selanjutnya masing-masing tabung ditanam pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk mengamati pertumbuhan kuman sehingga dapat diketahui MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*). Hasil penelitian yang dapat diamati pada metode dilusi adalah MBC dari dekokta kulit buah delima putih terhadap *Salmonella pullorum*, yaitu pada konsentrasi 6,25%.

Uji kepekaan kuman dengan metode difusi disk dilakukan sebanyak enam perlakuan dan enam ulangan, yaitu P<sub>0</sub> (kontrol), P<sub>1</sub> (delima putih 3,75 mg), P<sub>2</sub> (delima putih 7,5 mg), P<sub>3</sub> (delima putih 15 mg), P<sub>4</sub> (delima putih 30 mg) dan P<sub>5</sub> (Tetrasiklin 30 µg). Enam 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 sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dari masing-masing perlakuan. Dengan uji BNJ 5% diketahui bahwa hasil terbesar terdapat pada P<sub>5</sub> (Tetrasiklin 30 µg), sedangkan hasil terendah didapat dari P<sub>1</sub> (delima putih 3,75 mg) yang berbeda nyata dengan P<sub>2</sub> (delima putih 7,5 mg), P<sub>3</sub> (delima putih 15 mg), P<sub>4</sub> (delima putih 30 mg) dan P<sub>5</sub> (Tetrasiklin 30 µg) tetapi tidak

berbeda nyata dengan  $P_0$  (kontrol). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa : 1. Dekokta kulit buah delima putih dapat membunuh kuman *Salmonella pullorum* secara in vitro mulai konsentrasi 6,25 %. 2. Daya antibakteri Tetrasiklin lebih besar dibandingkan dekokta kulit buah delima putih terhadap kuman *Salmonella pullorum* secara in vitro.

Saran yang dapat penulis sampaikan dari penelitian ini adalah perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui khasiat dekokta kulit buah delima putih secara in vivo terhadap penyakit yang disebabkan oleh kuman *Salmonella pullorum*.

# DAFTAR PUSTAKA

**DAFTAR PUSTAKA**

- Anonimous. 1981. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid I. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian. Jakarta. 73-80.
- Anonimous. 1982. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid IV. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian. Jakarta. 62-69.
- Anonimous. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 490..
- Anonimous. 1995. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 9, 1135.
- Anonimous. 1998. Vademikum Tanaman Obat. Direktorat Jenderal Tanaman Pangan dan Hortikultura. Direktorat Bina Produksi Hortikultura. 15.
- Beisher. 1983. Microbiology in Practice. Individualized Intruccion for The Allied Health Sciences. 3<sup>rd</sup> Ed. Harper and Row Publisher. New York.
- Bonang, G. 1982. Mikrobiologi. Terjemahan dari : Review of Medical Microbiology by Ernest Jawetz, Joseph L. Melnick and Edward A. Adelberg. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 14-22.
- Boyd, R.F. and J.J. Marr. 1980. Medical Microbiology. Little, Brown and Company. Boston. 22-43.
- Carter, G.R. 1973. Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology. Clinical Microbiology Laboratory. Departement of Microbiology and Public Health Michigan State University East Lansing Michigan. 2<sup>nd</sup> Ed. 47-57.
- Dwidjoseputro, D. 1994. Dasar-dasar Mikrobiologi. Penerbit Djambatan. Jakarta. 97-99.
- Gordon, R.F. 1977. Poultry Disease. 1<sup>st</sup> Ed. Bailliere Tindal. London. 10-20.
- Grollman, A. 1962. Pharmacology and Therapeutics. Fifth edition. Lea and Febiger. Philadelphia. 615.

- Guevara, J.M., J. Chumpitaz and E. Valencia. 1994. The in Vitro Action of Plants on *Vibrio cholerae*. Rev. Gastroenterol. 14(1):27-31.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penerbit ITB. Bandung.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Alih bahasa oleh Badan Litbang Kehutanan. Jilid III. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta. 1478.
- Hofstad, M.S., B.W. Calnek, C.F. Helmboldt, W.M. Reid and H.W. Yoder. 1972. Disease of Poultry. 6<sup>th</sup> Ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 83-108.
- Hungerford, T.G. 1972. Disease of Poultry. 4<sup>th</sup> Ed. F.H. Booth and Son Ltd. London. 231-240.
- Jang, S.S., E.L. Biberstein and D.C. Hirsh. 1980. A Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Micology. Peradeniya. California.
- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1980. Review of Medical Microbiology. 14<sup>th</sup> Ed. Lange Medical Publication. Dravier, Los Altos, California. 567-571.
- Jawetz, E. 1995. Prinsip Kerja Obat Antimikroba. Dalam B.G. Katzung. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta. 607-633.
- Joenoos, N.Z. 1995. Ars Prescribendi, Resep yang Rasional. Edisi 1 dan 2. Airlangga University Press.
- Jones, L.M., N.H. Booth and L.E. McDonald. 1977. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Fourth edition. Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi. 715.
- Keys, J.D. 1990. Chinese Herbs, Their Botany, Chemistri and Pharmacodynamics. Tuttle Company. Tokyo, Japan. 155.
- Koneman, W.C., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger and W.C. Winn. 1992. Diagnostic Microbiology. 4<sup>th</sup> Ed. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. 609-673.
- Krupp, M.A. and M.J. Chatton. 1983. Current Medical Diagnosis and treatment. Lange Medical Publication. Los Altos. California. 341.

- 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.
- Manitto, P. 1992. Biosintesis Produk Alami. IKIP Semarang Press. Semarang. 379-385.
- Merchant, I.A. and R.A. Packer. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7<sup>th</sup> Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 301-306.
- Mutschler, E. 1991. Dinamika Obat. Edisi Kelima. Penerbit ITB. 609-613.
- Navarro, V., M.L. Villareal, G. Rojas and X. Lozoya. 1996. Antimicrobial Evaluation of Some Plants Used in Mexican Traditional Medicine for the Treatment of Infectious Disease. J. Ethnopharmacol. 53(3):143-7.
- Pelczar, M.J. and E.C.S. Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Alih Bahasa oleh Hadioetomo, R.S. dkk. Universitas Indonesia. Jakarta. 450-490.
- Perez, C. and C. Anesini. 1994. In Vitro Antibacterial Activity of Argentine Folk Medicinal Plants Against *Salmonella typhi*. J. Ethnopharmacol. 44(1):41-6.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Edisi Kedua. Team Leader IFAD Project. Bali Cattle Disease Investigation. Denpasar. Bali. 591-593.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organic Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB. Bandung. 72, 154, 157, 191-193.
- Seneviratna, P. 1969. Disease of Poultry. 2<sup>nd</sup> Ed. John Wright and Sons Ltd. Paradeniya. 46-50.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press. Surabaya.
- Suharmiati, L. Handayani, K.R. Sugijono, L.K. Wiludjeng, D. Madjedi dan S. Darmawan. 1995. Penelitian Khasiat Ramuan (*Granati Fructus Cortex*, *Curcuma domesticae Rhizoma* dan *Pluchae indica Folium*) untuk Pengobatan Fluor Albus sebagai Pengobatan Alternatif. Pusat Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Surabaya.

- Syamsuhidayat, S.S. dan J.R. Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jilid I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 490.
- Verheij, E.W.M. and R.E. Coronel. 1997. Sumber Daya Nabati Asia Tenggara, Buah-buahan yang Dapat dimakan. Gramedia Pustaka Umum bekerja sama dengan Prosea Indonesia dan European Commission. Jakarta. 347-350.
- Volk, W.A. and M.F. Wheeler. 1984. Basic Microbiology. 5<sup>th</sup> Ed. Harper and Row Publishers, Inc. 218-222.
- Wattimena, J.R., N.C. Sugiarto, M.B. Widiyanto, E.Y. Sukandar, A.A. Soemardji dan A.R. Setiadi. 1991. Farmakodinami dan Terapi Antibiotik. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 195-219.
- Whiteman, C.E. and A.A. Bickford. 1979. Avian Disease Manual. 3<sup>rd</sup> Ed. Colorado State University. 96-99.
- Wilson and Gisvold's. 1982. Kimia Farmasi dan Medisinal Organik. IKIP Semarang Press. Semarang. 135-137.
- Zhang, J., B. Zhan, X. Yao, Y. Gao and J. Shong. 1995. Antiviral Activity of Tanin from the Pericarp of *Punica granatum* L. Against Genital Herpes Virus in Vitro. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih.* 20(9):556-8.

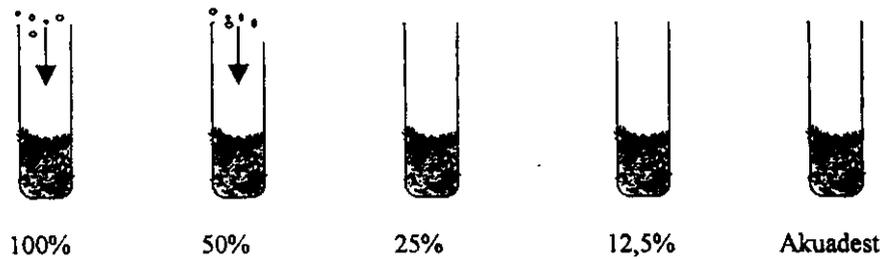
# LAMPIRAN - LAMPIRAN

# LAMPIRAN

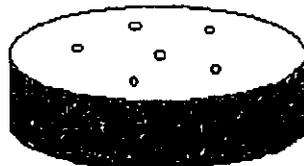


## Lampiran 2. Skema Kerja Metode Diffusi Disk

1. Pengisian kertas disk dengan bahan antibakterial pada empat konsentrasi yang berbeda



2. Dikeringkan selama 24 jam/37 °C
3. Diletakkan pada cawan petri yang berisi media Mueller Hinton Agar (MHA) padat dan suspensi kuman yang telah diratakan pada bagian permukaannya.



Inkubasi 37 °C  
Selama 24 jam

4. Diamati daerah jernih sekitar kertas disk yang menunjukkan daerah hambatan pertumbuhan *Salmonella pullorum*

### Lampiran 3. Perhitungan Mengkonversikan Persen ke Gram

Uji difusi disk menggunakan dekokta kulit buah delima putih konsentrasi 100%, 50%, 25% dan 12,5%. Konsentrasi disk dalam persen harus diubah menjadi bentuk gram untuk mengetahui kandungan delima putihnya perdisk, caranya sebagai berikut:

#### # Dekokta 100% (P4)

mengandung delima putih 1 gram/ml dan daya serap disk jenuh adalah 0,03 ml  
maka kandungan delima putih dalam disk(x) adalah :  $\frac{1 \text{ gram}}{1 \text{ ml}} = \frac{x}{0,03 \text{ ml}}$

$$\begin{aligned} x &= 0,03 \text{ g} \\ x &= 30 \text{ mg} \end{aligned}$$

#### # Dekokta 50% (P3)

mengandung delima putih 0,5 gram/ml dan daya serap disk jenuh adalah 0,03 ml  
maka kandungan delima putih dalam disk (x) adalah :  $\frac{0,5 \text{ gram}}{1 \text{ ml}} = \frac{x}{0,03 \text{ ml}}$

$$\begin{aligned} x &= 0,015 \text{ g} \\ x &= 15 \text{ mg} \end{aligned}$$

#### # Dekokta 25% (P2)

mengandung delima putih 0,25 gram/ml dan daya serap disk jenuh adalah 0,03 ml  
maka kandungan delima putih dalam disk (x) adalah :  $\frac{0,25 \text{ gram}}{1 \text{ ml}} = \frac{x}{0,03 \text{ ml}}$

$$\begin{aligned} x &= 0,0075 \text{ g} \\ x &= 7,5 \text{ mg} \end{aligned}$$

#### # Dekokta 12,5% (P1)

mengandung delima putih 0,125 gram/ml dan daya serap disk jenuh adalah 0,03 ml  
maka kandungan delima putih dalam disk (x) adalah :  $\frac{0,125 \text{ gram}}{1 \text{ ml}} = \frac{x}{0,03 \text{ ml}}$

$$\begin{aligned} x &= 0,00375 \text{ g} \\ x &= 3,75 \text{ mg} \end{aligned}$$

**Lampiran 4.** Hasil Pengukuran Daerah Hambatan Pertumbuhan *Salmonella pullorum* oleh Dekokta Kulit Buah Delima Putih dan Tetrasiklin.

Ulangan	Perlakuan						Total
	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>5</sub>	
1	6	6	7	8	13	23	
2	6	6	7.33	8	14	25	
3	6	6	6.67	8	13	25	
4	6	6	7.33	8.67	14	25	
5	6	6	7	8	12.33	24	
6	6	6	7	8	13	25	
Total	36	36	42.33	48.67	79.33	147	389,33
Rata-rata	6	6	7.05	8.11	13.22	24.5	

Keterangan :

P<sub>0</sub> = Kertas disk kosong (kontrol)

P<sub>1</sub> = Kertas disk mengandung kulit buah delima putih 3,75 mg

P<sub>2</sub> = Kertas disk mengandung kulit buah delima putih 7,5 mg

P<sub>3</sub> = kertas disk mengandung kulit buah delima putih 15 mg

P<sub>4</sub> = Kertas disk mengandung kulit buah delima putih 30 mg

P<sub>5</sub> = Kertas disk mengandung Tetrasiklin 30 µg

Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{(389.33)^2}{36} = 4210,4958$$

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= 6^2 + 6^2 + \dots + 25^2 - \text{FK} \\ &= 5782.1445 - 4210.4958 \\ &= 1571.6487 \end{aligned}$$

$$\text{JKP} = \frac{36^2 + 36^2 + \dots + 147^2}{6} - \text{FK}$$

$$= 5775.8078 - 4210.4958$$

$$= 1565.3119$$

$$\text{JKS} = \text{JKT} - \text{JKP}$$

$$= 1571.6487 - 1565.3119$$

$$= 6.3368$$

Menghitung Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KTP} = \frac{1565.3119}{5}$$

$$= 313.0624$$

$$\text{KTS} = \frac{6.3368}{30}$$

$$= 0.2112$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = 1482.30$$

**Lampiran 5.** Sidik Ragam Daerah Hambatan Pertumbuhan *Salmonella pullorum*.

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	1565,3119	313,0624	1482,30**	2,53	3,70
Sisa	30	6.3368	0,2112			
Total	35	1571.6487				

**Kesimpulan :**

**F hitung > F tabel 0.01, berarti terdapat perbedaan yang sangat nyata dari masing-masing perlakuan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri.**

Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 5%

$$\text{BNJ } 5\% = Q \ 5\% (6.30) \times \sqrt{\frac{0.2112}{6}}$$

$$= 4.30 \times 0.1876$$

$$= 0.81$$

**Lampiran 6. Selisih Rata-rata Perlakuan Berdasarkan Uji BNJ**

Perlakuan	X	Beda					BNJ 5%
		X-P <sub>0</sub>	X-P <sub>1</sub>	X-P <sub>2</sub>	X-P <sub>3</sub>	X-P <sub>4</sub>	
P <sub>5</sub>	24.5 <sup>a</sup>	18.50*	18.50*	17.45*	16.39*	11.28*	0.81
P <sub>4</sub>	13.22 <sup>b</sup>	7.22*	7.22*	6.17*	5.11*		
P <sub>3</sub>	8.11 <sup>c</sup>	2.11*	2.11*	1.06*			
P <sub>2</sub>	7.05 <sup>d</sup>	1.05*	1.05*				
P <sub>1</sub>	6 <sup>e</sup>	0					
P <sub>0</sub>	6 <sup>e</sup>						

**Menentukan Notasi**

P <sub>5</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>0</sub>
24.4	13.22	8.11	7.05	6	6

a

b

c

d

e

e

Hasil tertinggi didapat pada perlakuan P<sub>5</sub> (Tetrasiklin) yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Hasil terendah terdapat pada kontrol (P<sub>0</sub>) dan perlakuan delima putih 3,75 mg (P<sub>1</sub>) yang berbeda nyata dengan perlakuan lain.

## Lampiran 7. Uji Biokimia *Salmonella pullorum*

### 1. Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Pemupukan pada media ini dilakukan dengan menusukkan ose yang mengandung kuman mulai bagian tengah agar miring sampai ke dasar tabung, kemudian media diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Pemupukan ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kuman dalam memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa serta untuk mengetahui apakah kuman membentuk H<sub>2</sub>S dan gas. Apabila glukosa, laktosa dan sukrosa difermentasi akan terjadi perubahan warna pada media orange kemerahan menjadi kuning (karena terbentuk asam) dan terdapat celah pada bagian bawah yang tegak karena dihasilkan udara. Apabila tidak terjadi fermentasi, media tetap berwarna merah. Pembentukan H<sub>2</sub>S akan menghasilkan warna hitam pada bagian yang tegak.

Pada media TSIA kuman *Salmonella pullorum* menghasilkan H<sub>2</sub>S. Pada bagian tegak berwarna kuning sedangkan bagian miring berwarna merah.

### 2. Sulfit Indol Motility (SIM)

Cara pemupukan pada media ini adalah dengan menusukkan ose yang mengandung koloni kuman sampai duapertiga bagian dari media, kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menambah 0,5 ml kloroform dan 0,5 ml reagen kovach. Hasil positif ditandai dengan

### Lanjutan lampiran 7

terbentuknya cincin indol yang berwarna ungu kemerahan. Adanya H<sub>2</sub>S ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada media.

Pada media ini *Salmonella pullorum* menunjukkan garis putih pada bekas tusukan karena bersifat non motil dan terjadi pembentukan H<sub>2</sub>S tanpa membentuk cincin indol.

### 3. Sitrat Agar

Pemupukan pada media ini dilakukan dengan menggoreskan ose yang mengandung koloni kuman pada bagian miring permukaan media, kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru.

*Salmonella pullorum* tidak merubah warna media, sehingga hasil negatif ditandai dengan media yang tetap hijau.

### 4. Urea Agar

Pemupukan pada media ini dilakukan dengan menggoreskan ose yang mengandung koloni kuman pada bagian miring permukaan media, inkubasi dilakukan pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Pada media ini *Salmonella pullorum* tidak dapat menghidrolisa urea karena tidak mempunyai enzim urease sehingga media tetap berwarna merah muda.

## Lanjutan lampiran 7

### 5. Media Gula-gula

Pemupukan pada media ini dilakukan dengan memasukkan ose yang mengandung kuman pada media gula yang diujikan. Tujuan pemupukan pada media ini adalah untuk mengetahui apakah kuman memfermentasi gula-gula atau tidak. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari merah menjadi kuning karena dihasilkannya asam dari proses fermentasi gula-gula.

*Salmonella pullorum* mampu menghasilkan asam dari glukosa, maltosa, dan manitol tetapi tidak bisa memfermentasi laktosa dan sukrosa.



PEMERINTAH PROPINSI DAERAH TINGKAT I JAWA TIMUR  
IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**DINAS KESEHATAN DAERAH UNIT MATERIA MEDICA**

Jalan Lahor 87 Telpn 91770 Batu (65313)

BATU - MALANG

N o m e r : 703/1080/115.21/2000  
S i f a t : Biasa  
Lampiran : -  
Perihal : Determinasi Tanaman Delima Putih.

Memenuhi permohonan Determinasi tanaman Delima Putih dari Mahasiswa  
Universitas Airlangga Surabaya :

N a m a : Tri Wahyu Utami

No. Pokok : 069512253

Maka bersama ini kami sampaikan dengan hormat :

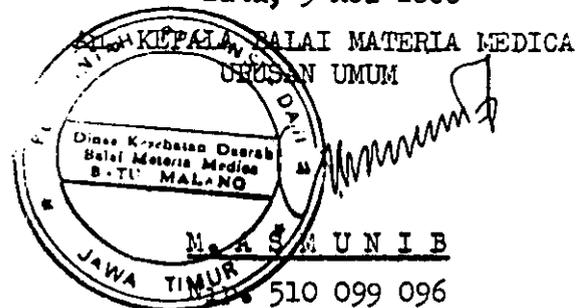
DELIMA PUTIH

Klasifikasi

Divisi : Spermatophyta  
Sub divisi : Angiospermae  
Kelas : Myrtales  
Suku : Puniceae  
Marga : Punica  
Jenis : Punica granatum L.

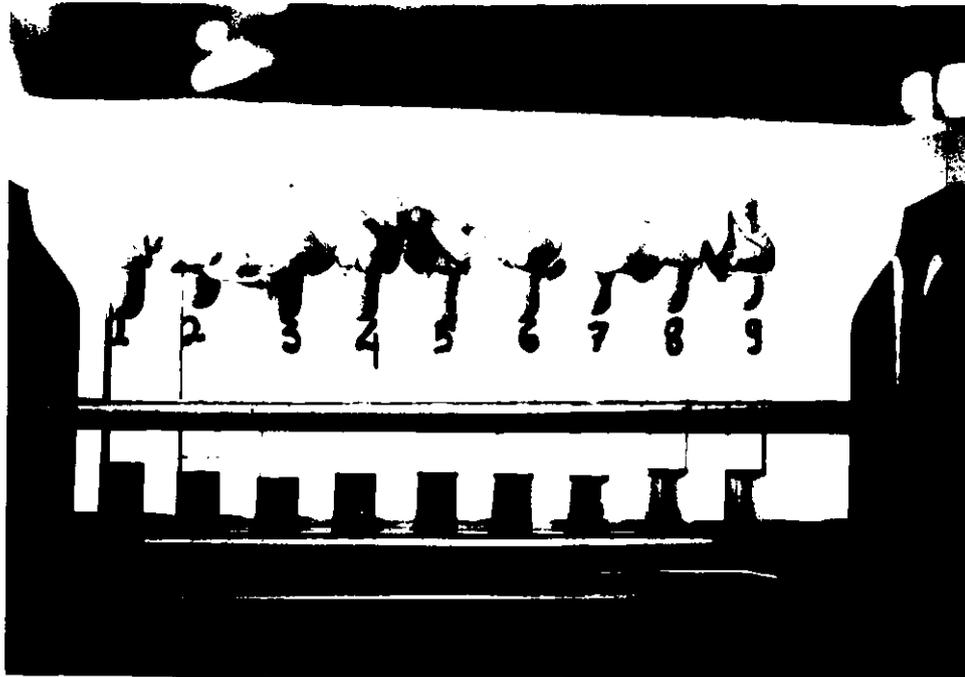
Demikian surat keterangan determinasi tanaman delima putih ini,  
dan agar dapat dipergunakan sebagaimana perlunya.

Batu, 9 Mei 2000



# DAFTAR GAMBAR

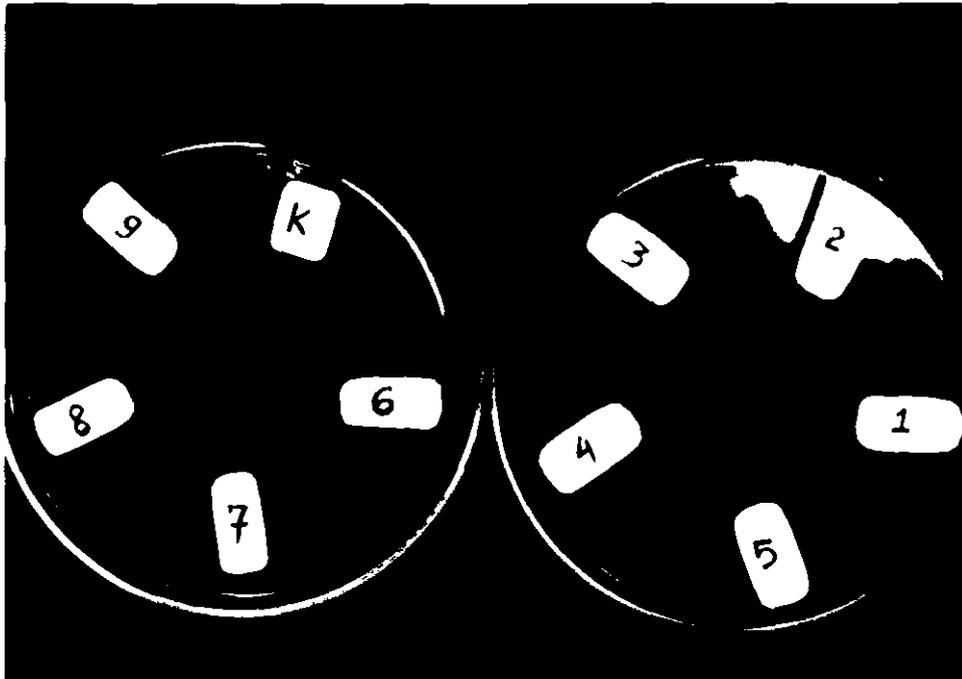
**DAFTAR ISI**



Gambar 4. Hasil Dilusi setelah Inkubasi 24 jam.

Keterangan :

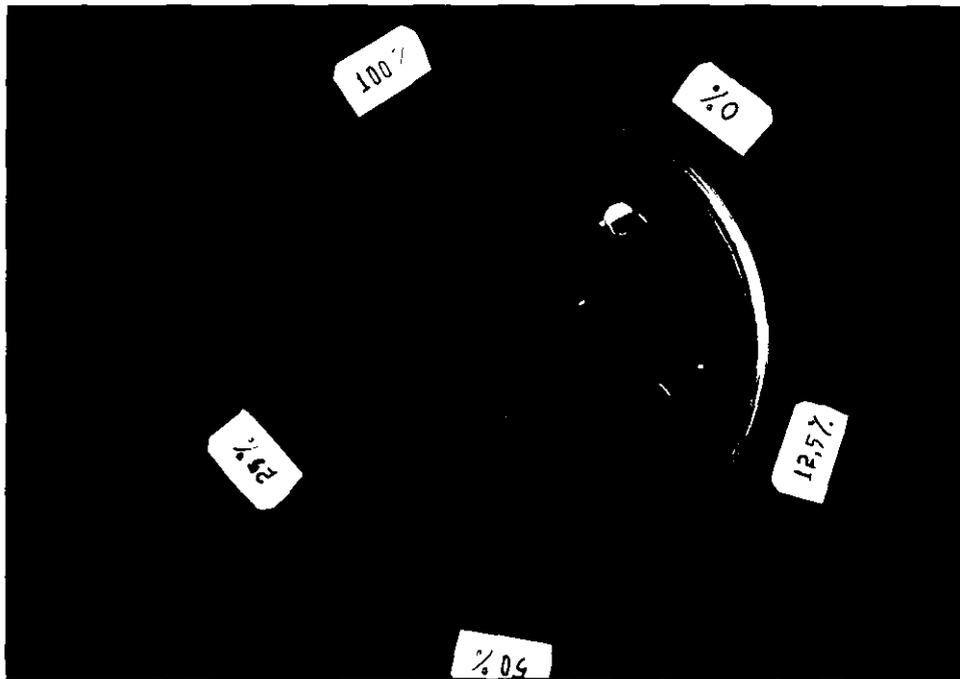
1. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 100%
2. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 50%
3. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 25%
4. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 12.5%
5. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 6.25%
6. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 3.125%
7. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 1.5612%
8. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 0.7812%
9. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 0.3906%



Gambar 5. Hasil Dilusi setelah ditanam pada media MHA.

Keterangan :

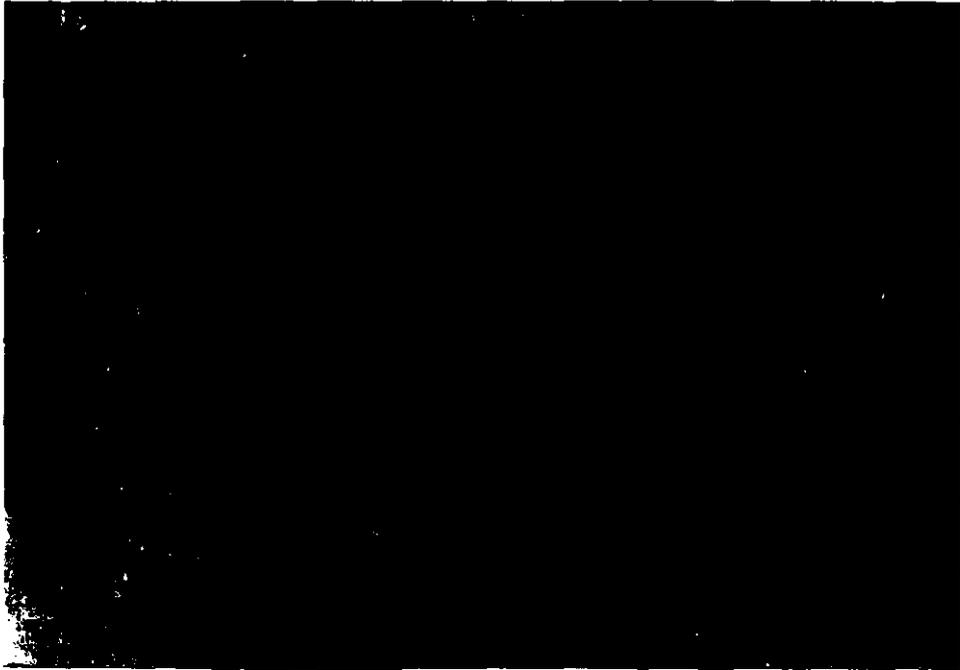
1. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 100%
2. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 50%
3. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 25%
4. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 12.5%
5. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 6.25%
6. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 3.125%
7. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 1.5612%
8. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 0.7812%
9. Konsentrasi dekokta kulit buah delima putih 0.3906%
10. Kontrol kuman



Gambar 6. Hasil Difusi Disk setelah inkubasi 24 jam.



Gambar 7. Hasil uji biokimia *Salmonella pullorum*.



Gambar 8. Biakan *Salmonella pullorum* pada media *Salmonella Shigella Agar*