

SKRIPSI

**DAYA ANTIBAKTERI MENIRAN (*phyllanthus niruri*)
TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO***



Oleh :

ENIEK SUWARNI
PROBOLINGGO - JATIM

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001**

SKRIPSI

**DAYA ANTIBAKTERI MENIRAN (*Phyllanthus niruri*)
TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO***

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

Eniek Suwarni
069512157

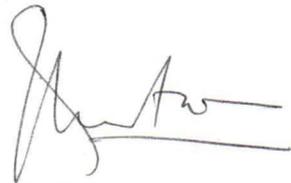
Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Didik Handijatno, Drh., M.S)

Pembimbing Pertama



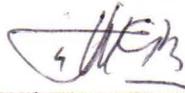
(Eka Pramytha H., Drh., M.Kes.)

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.

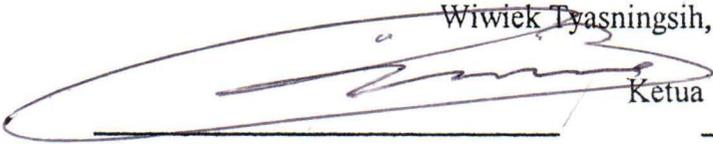
Menyetujui

Panitia Penguji,



Wiwiek Tyasningsih, M. Kes., Drh.

Ketua



Dr. Bambang Sektiari L., DEA., Drh

Sekretaris



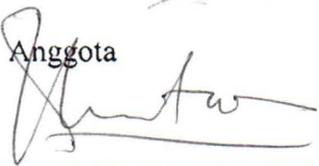
Didik Handijatno, M.S., Drh

Anggota



Djoko Poetranto., M.S., Drh

Anggota



Eka Pramytha H., M.Kes., Drh

Anggota

Surabaya, 29 Januari 2001

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Dr. Ismudiono, M.S., Drh

NIP, 13 0 68 7297



DAYA ANTIBAKTERI MENIRAN (*Phyllanthus niruri*)
TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Eniek Suwarni

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) dapat menghambat ataupun membunuh bakteri *Escherichia coli* dan membandingkannya dengan Kloramfenikol.

Metode yang digunakan adalah metode dilusi yaitu *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC), *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) dan metode disk diffusi. Rancangan Penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak lengkap (RAL) terbagi menjadi lima perlakuan dan lima kali ulangan. Data yang didapat diuji dengan analisis varian atau uji F. Kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hasil penelitian menggunakan metode dilusi menunjukkan bahwa Meniran dapat menghambat ataupun membunuh bakteri *Escherichia coli*. Adapun konsentrasi MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) adalah 3,125% dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) adalah 6,25%. Hasil penelitian menggunakan metode disk diffusi menunjukkan hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* pada kertas disk berisi Meniran 100%, 50%, 25% berbeda sangat nyata. Hasil tertinggi terdapat pada kertas disk berisi Kloramfenikol, sedangkan hasil terendah pada kertas berisi aquades.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas rahmatNya penulisan skripsi tentang Daya Antibakteri Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro* dapat diselesaikan. Selama ini tanaman Meniran banyak diabaikan oleh masyarakat bahkan kadang dianggap sebagai tanaman pengganggu. Sebenarnya bila kita teliti banyak manfaat yang didapat dari tanaman Meniran. Diantaranya untuk diuretik, anti diare, anti disentri, peluruh haid dan sebagainya. Pada kesempatan ini penulis melakukan percobaan tentang Daya Antibakterial Meniran terhadap *Escherichia coli*. Serangkaian percobaan yang telah dilakukan penulis dituangkan dalam skripsi ini.

Pada kesempatan ini Penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Didik Handijatno, Drh., M.S. sebagai pembimbing pertama dan Ibu Eka Pramytha Hestianah, Drh., M.Kes. sebagai pembimbing kedua atas saran, bimbingan dan nasehatnya. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada seluruh staff dan karyawan Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, staff dan karyawan Laboratorium Fitokima Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Drg. Dewi (Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya), KSM (Bagyo, Nasib, Ibenk, Zuhri, Widodo, Dinal, Nana, Vera), Gujadu Family (Erna, Dyah dan Imran, Tina, Upiek, Asri, Kiki, Dewi), Christin'95, teman-teman FKH khususnya angkatan '95 dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu atas bantuan, dorongan dan kebersamaannya selama ini.

Skripsi ini penulis persembahkan buat orang tua, kakak, adik-adik penulis yang selama ini telah membantu penulis baik dalam bentuk spiritual maupun material.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Walaupun demikian penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi kemajuan peternakan di Indonesia.

Surabaya, Agustus 2000

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	i
DAFTAR GAMBAR	ii
DAFTAR LAMPIRAN	iii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Landasan Teori	4
1.6 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan tentang Meniran	6
2.1.1 Habitat dan Morfologi	6
2.1.2. Klasifikasi, Sinonim dan Nama Daerah Meniran	7
2.1.3. Kandungan dan Kegunaan Meniran	7
2.2 Tinjauan Tentang <i>Escherichia coli</i>	8
2.2.1. Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	8

2.2.2	Morfologi dan Sifat Pewarnaan	9
2.2.3	Sifat Pupukan	9
2.2.4	Sifat Biokimia	10
2.2.5	Penyebaran dan Penularan	10
2.2.6	Resistensi	10
2.2.7	Patogenitas	11
2.2.8	Diagnosa dan Pengobatan	12
2.3	Kloramfenikol	12
2.3.1	Sejarah dan Struktur Kimia	12
2.3.2	Aktifitas Antimikroba	13
III.	MATERI DAN METODE	14
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	14
3.2	Materi Penelitian	14
3.2.1	Isolat bakteri	14
3.2.2	Media	14
3.2.3	Bahan-bahan Penelitian	15
3.2.4	Alat-alat Penelitian	15
3.3	Metode Penelitian	15
3.3.1	Pembuktian bakteri <i>Escherichia coli</i>	15

3.3.2	Persiapan Penelitian secara in vitro	15
3.3.2.1.	Pembuatan Suspensi bakteri	15
3.3.2.2.	Pembuatan Ekstrak Meniran	16
3.3.3	Pelaksanaan Penelitian.....	17
3.3.3.1.	<i>Minimal Inhibitory Concentration (MIC) dan Minimal Bactericidal Concentration (MBC)</i>	17
3.3.3.2.	Metode Diffusi Disk	18
3.3.4	Peubah yang Diamati	20
3.4	Rancangan Penelitian dan Analisis data	20
IV.	HASIL PENELITIAN	21
V.	PEMBAHASAN	24
VI.	KESIMPULAN DAN SARAN	30
	RINGKASAN	30
	DAFTAR PUSTAKA	34
	LAMPIRAN	38
	GAMBAR	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Daya hambat Meniran terhadap <i>Escherichia coli</i> dengan metode dilusi ...	21
2. Pertumbuhan koloni <i>Escherichia coli</i> pada media MHA setelah diinkubasi pada 37°C selama 24 jam	22
3. Hasil rata-rata dan simpangan baku diameter hambatan pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i>	23

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Metode Dilusi dengan memperhatikan tingkat kekeruhan pada konsentrasi tertentu	46
2. Pertumbuhan koloni bakteri setelah ditanam pada media MHA	46
3. Metode Diffusi disk	47
4. Tanaman Meniran (<i>Phyllanthus niruri</i>)	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Skema kerja Penentuan MIC dan MBC (Metode Dilusi)	38
2. Skema kerja metode Diffusi Disk	39
3. Hasil pengukuran daerah hambatan pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> oleh Meniran dan Kloramfenikol	40
4. Sidik ragam daerah hambatan pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> oleh Meniran dan Kloramfenikol	42
5. Identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	44

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Pemerintah Indonesia dewasa ini sedang berupaya menata kembali peternakan yang sudah terpuruk karena guncangan ekonomi, baik pada peternakan unggas maupun non unggas. Pemerintah Indonesia berupaya memenuhi kebutuhan protein hewani melalui swasembada peternak dalam negeri. Hal ini sudah terlihat titik terang pada peternakan unggas (Karyoto, 1999).

Selain faktor ekonomi salah satu faktor yang berperan dalam keberhasilan peternakan adalah penanggulangan penyakit. Adapun agen dari penyakit-penyakit yang menyerang ternak dapat berupa virus, bakteri, parasit dan jamur. *Colibacillosis* merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Penyebab dari *Colibacillosis* adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* adalah flora normal pada usus besar (colon). Tetapi dalam keadaan tertentu dapat bersifat patogen yang menyerang hewan maupun manusia (Merchant and Packer, 1971).

Escherichia coli dalam dunia peternakan dapat menyerang sapi (terutama anak sapi), domba, babi dan unggas. *Escherichia coli* juga diduga menjadi penyebab utama diare. *Escherichia coli* juga diduga bertindak sebagai penyebab penyakit sekunder yang mampu merusak dinding usus setelah saluran makanan tersebut dirusak oleh virus sebelumnya (Subronto, 1985). *Escherichia coli* juga dapat menyerang manusia. *Escherichia coli* menyebabkan infeksi intestinal yang bersifat fatal pada anak-anak dan pada yang dewasa menyebabkan peritonitis,

infeksi vesica urinaria, infeksi pankreas, urogenital, pneumonia dan meningitis (Merchant and Packer, 1971).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini sebenarnya dapat sembuh dengan sendirinya. Secara alamiah sistem kekebalan tubuh dapat menanggulangi penyakit ini. Akan tetapi mekanisme pertahanan tubuh tiap makhluk hidup berbeda, karena itu proses penyembuhan dapat berlangsung secara cepat, lama, bahkan dapat pula semakin parah. Oleh karena itu sistem kekebalan ini sering ditunjang dengan penggunaan antibiotik. Kloramfenikol adalah salah satu antibiotik yang sering digunakan untuk pengobatan infeksi baik pada manusia maupun hewan. Tetapi penggunaan Kloramfenikol dapat menimbulkan masalah, yaitu menimbulkan anemia aplastik yang fatal serta reaksi toksik (Setiabudy dan Kunardi, 1995).

Pengobatan alternatif yang banyak dipilih untuk menghindari efek samping dan harganya lebih terjangkau untuk pengobatan penyakit manusia dan hewan yaitu menggunakan obat-obatan tradisional. Terutama dalam masa sekarang dimana Indonesia sedang mengalami goncangan ekonomi yang mengakibatkan harga obat-obatan semakin mahal, pengobatan tradisional semakin populer. Bahan-bahan obat yang digunakan untuk pengobatan tradisional dapat berasal dari tumbuh-tumbuhan dan hewan di alam. Indonesia adalah negara tropis dengan curah hujan yang cukup tinggi. Keadaan demikian sangat memungkinkan tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional tumbuh subur, sehingga dapat dimanfaatkan potensinya misalnya seperti tanaman Meniran.

Wijayakusuma dkk (1996) menyebutkan bahwa tanaman Meniran ini dapat digunakan sebagai obat diuretik, anti diare, penurun panas, dan sebagainya. Hal ini berhubungan dengan kandungan zat yang diambil dari tanaman tersebut. Melalui penelitian ini peneliti ingin mengetahui manfaat tanaman Meniran sebagai antibakterial terhadap *Escherichia coli*.

1.2. Perumusan Masalah

Dari latar belakang diatas timbul beberapa permasalahan yang dapat diajukan peneliti adalah sebagai berikut:

- a) Apakah Meniran dapat menghambat dan membunuh bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.
- b) Berapakah *Minimal Inhibitory Concentration (MIC)* dan *Minimal Bactericidal Concentration (MBC)* dari Meniran terhadap bakteri *Escherichia coli*
- c) Apakah terdapat perbedaan daya antibakterial antara Meniran dengan Kloramfenikol terhadap bakteri *Escherichia coli*

1.3. Tujuan Penelitian

- a) Untuk mengetahui daya antibakterial Meniran terhadap bakteri *Escherichia coli*
- b) Untuk menentukan *Minimal Inhibitory Concentration (MIC)* dan *Minimal Bactericidal Concentration (MBC)* dari Meniran terhadap bakteri *Escherichia coli*
- c) Membandingkan daya antibakterial Meniran dan Kloramfenikol terhadap bakteri *Escherichia coli*

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan kepada masyarakat tentang penggunaan Meniran sebagai antibakterial

1.5. Landasan Teori

Tanaman Meniran yang selama ini diabaikan bahkan sering dianggap sebagai tanaman pengganggu setelah diteliti banyak manfaatnya. Menurut Anonimus 1980 kegunaan tanaman Meniran adalah untuk obat radang ginjal, obat infeksi dan batu saluran kencing, menambah nafsu makan pada anak-anak, anti diare, anti disentri, penyembuhan radang selaput lendir mata, anti virus hepatitis, obat sariawan, peluruh dahak dan peluruh haid.

Tanaman Meniran dapat digunakan sebagai antibakteri karena zat-zat yang dikandung dalam tanaman tersebut dapat berfungsi sebagai antibakteri seperti tanin, alkaloid, damar dan triterpenoid (Anonimus 1983). Tanin adalah suatu zat yang berfungsi sebagai astringensia. Astringensia adalah senyawa yang dengan protein dalam larutan netral atau asam lemah dapat membentuk endapan yang tidak larut, terasa kesat dan jika diberikan pada mukosa akan bekerja menciutkan (Jatmiko, 1998). Alkaloid berfungsi sebagai zat racun yang melindungi tanaman dari serangga dan herbivora yang dalam hal ini memungkinkan juga membunuh mikroba.. Damar atau resin yang terdiri dari asam-asam organik dan alkohol dapat menyebabkan kematian mikroba. Triterpenoid sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba (Tuti, 1997).

Pemakaian Meniran secara berlebihan akan menimbulkan efek samping yang cukup berbahaya seperti kerusakan ginjal, abortus dan impotensia. Tetapi

sampai saat ini belum ada penelitian lebih lanjut sejauh mana efek yang ditimbulkannya (Chairul dan Harapini, 1994).

Dalam penelitian ini peneliti akan membandingkan dengan obat paten Kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang umumnya bersifat bakteriostatik. Kloramfenikol spesifik terhadap bakteri *Salmonella typhosa*, *Haemophilus influenza*, *Escherichia coli* dan lain-lain. Efek toksik kloramfenikol pada sel mamalia terutama terlihat pada sistem hemopoetik dan diduga berhubungan dengan mekanisme kerja obat (Setiabudy dan Kunardi, 1995).

Pada umumnya meskipun tanaman tradisional dapat digunakan untuk menggantikan obat paten tetapi ada perbedaan daya antibakterial antara obat paten dan obat tradisional, karena bagaimanapun juga obat paten sudah diuji dengan serangkaian uji farmakologik.

1.6. Hipotesis

Dari latar belakang, permasalahan, tujuan penelitian, manfaat penelitian dan landasan teori di atas maka peneliti mengajukan hipotesis sebagai berikut:

- a) Meniran dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*
- b) Meniran dapat digunakan sebagai pengganti Kloramfenikol

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan tentang Meniran

2.1.1. Habitat dan Morfologi

- Habitat :

Tanaman Meniran merupakan tanaman yang tumbuh liar pada tempat yang lembab dan berbatu, di pinggir jalan, tanah kosong antara rumput-rumput, pinggir selokan (Wijayakusuma dkk, 1996).

Tanaman Meniran juga disebut tanaman kuburan karena sering tumbuh di tempat pemakaman (Steenis, 1975).

Tanaman ini tumbuh di tempat-tempat yang ketinggiannya sampai mencapai 1000 meter di atas permukaan laut.

- Morfologi :

Tumbuh tegak, tinggi kira-kira 5 cm, bercabang terpenjar, cabang mempunyai daun tunggal yang berseling, bentuk daun bundar telur sampai bundar memanjang, ujung bundar atau lancip, permukaan daun bagian bawah berbintik-bintik kelenjar. Batang berwarna hijau pucat (*Phyllanthus niruri*) atau hijau kemerahan (*Phyllanthus urinaria*).

Dalam satu tanaman ada bunga jantan dan bunga betina. Bunga jantan keluar di bawah ketiak daun dan bunga betina keluar di atas ketiak daun.

Buah bulat, licin, garis tengah 2 mm – 2,5 mm.

2.1.2. Klasifikasi, sinonim dan nama daerah

- Klasifikasi tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) menurut Metcalfe and Chalk (1979) adalah sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Euphorbiaceae
Marga : *Phyllanthus*
Jenis : *Phyllanthus niruri* Linn

- Sinonim :

P. alatus B.I, *P. cantonensis* Hornem = *P. echinatus* Wall = *P. lepidocarpus* Sieb.et Zucc = *P.leprocarpus* Wight (Wijayakusuma dkk, 1996)

- Nama daerah :

Meniran (Jawa), Meniran Merah (Jawa), Memeniran (Sunda), (Wijayakusuma dkk, 1996).

2.1.3. Kandungan dan kegunaan tanaman Meniran

- Kandungan tanaman Meniran menurut Wijayakusuma dkk (1996) adalah filantin, hipofilantin, kalium, damar, dan tanin. Adapun kandungan dari tanaman Meniran adalah Hipofilantin dan filantin dapat menghambat terjadinya kerusakan sel-sel hati yang diinduksi dengan CCl₄ atau dengan galaktosamin sehingga dapat dikategorikan sebagai anti hepatoksik (Syamasundar dkk,1985). Kalium berfungsi menjaga keseimbangan dan volume cairan dalam tubuh. Kalium

banyak ditemukan pada tanaman Meniran yang masih segar (Syamasundar dkk, 1985). Tanin berfungsi sebagai antiseptik dan astringensia. Damar digunakan untuk terapi diare (Mustschler, 1991). Meniran juga mengandung flavonoid (Subarnas dan Sidik, 1993) yang berfungsi sebagai anti inflamasi, antivirus, antibakteri dan antiparasit juga dapat sebagai anti alergi dan anti trombotik (Evans, 1989; Robinson, 1995). Selain itu Meniran juga mengandung alkaloid (Berghe, 1991) yang berfungsi sebagai antimikroba dan juga mengandung triterpenoid yang berfungsi untuk menolak serangga dan antimikroba (Tuti, 1997).

- Kegunaan tanaman Meniran menurut Heyne (1987) untuk obat sakit perut mulas (pada kolik), penyakit kencing batu, dapat dipakai sebagai obat gosok untuk sakit perut, nyeri pinggang, dikunyah bersama pinang untuk menyembuhkan sakit gigi, diberikan kepada anak yang menderita epilepsi dan kejang, di Eropa sering dipakai sebagai obat *Gonorhoe* dan banyak disalahgunakan untuk menggugurkan kandungan.

2.2. Tinjauan tentang *Escherichia coli*

2.2.1. Klasifikasi *Escherichia coli*

Adapun klasifikasi *Escherichia coli* menurut Wistreich and Lechtman (1988) adalah :

Kingdom : Plantae
Phylum : Thallophyta

Class : Eubacteriales
Ordo/order : Eubacteriales
Family : Eubacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*

2.2.2. Morfologi dan sifat pewarnaan

Menurut Dey and Dey (1982) morfologi *Escherichia coli* sebagai berikut: berbentuk cocobacillus maupun filamentous dan batang pendek, panjangnya antara dua sampai empat milimikron, bergerak dengan flagella, tetapi ada strain yang bersifat tidak bergerak. Kuman ini mudah diwarnai dengan pewarnaan sederhana, pewarnaan differensial yaitu pewarnaan gram dan pewarnaan tahan asam (Kingscote, 1989).

2.2.3. Sifat pupukan

Media buatan yang banyak dipakai diantaranya : *Mac Conkey Broth*, *Brilliant Green Bile Broth*, *Laktosa Broth* dan sebagainya. Pada media cair yang mengandung laktosa, *Escherichia coli* akan tumbuh subur dengan membentuk asam dan gas (Ewing and Edward, 1973). Media padat yang sering dipakai *Eosin Methylene Blue Agar*. Pada media ini bakteri akan tumbuh dan membentuk koloni dalam waktu 24 – 48 jam pada suhu 37°C. *Escherichia coli* akan membentuk koloni hijau metalik dengan pusat koloni berwarna kehitaman (Merchant and Packer, 1971).

2.2.4. Sifat biokimia

Escherichia coli dapat memfermentasikan laktosa menjadi asam dan gas dalam waktu 24 sampai 48 jam pada temperatur 30° - 37° C. Selain itu *Escherichia coli* juga dapat memproduksi asam dan gas dari glukosa, fruktosa, galaktosa, maltosa, arabinosa, xylosa, dan manitol.

Methyl Red positif, V.P negatif, tidak mencerna/mencairkan gelatin, indol positif, mereduksi nitrat, mengkoagulasikan serta mengasamkan susu tanpa peptonisasi, mengoksidasi kentang menjadi warna coklat tua dan tidak membentuk H₂S (Merchant and Packer, 1971).

2.2.5. Penyebaran dan Penularan

Sumber utama penularan bakteri ini adalah air minum atau makanan. Bahkan *Escherichia coli* dipakai sebagai indikator adanya pencemaran tinja pada air minum. Hal ini disebabkan *Escherichia coli* dapat bertahan hidup lebih lama dan daya hidup yang lebih tinggi di udara terbuka daripada anggota Enterobacteriaceae lain yang bersifat pathogen (Strobbe, 1971; Redaksi Jawa Pos, 2000).

Escherichia coli selain flora normal pada usus manusia dan hewan terutama colon, kuman ini juga ditemukan pada tanah, air dan debu. Jadi *Escherichia coli* dapat menular atau masuk ke tubuh manusia dan hewan melalui makanan dan minuman yang sudah tercemar .

2.2.6. Resistensi

Escherichia coli mati pada pemanasan 60° C selama 30 menit, meskipun ada beberapa strain yang dapat hidup. Beberapa strain *Escherichia coli* juga

ditemukan dapat hidup pada temperatur dingin di bawah 0⁰ C atau pada keadaan beku selama enam bulan (Merchant and Packer, 1971).

2.2.7. Patogenesis

Escherichia coli yang baru diisolasi dari penderita dapat mematikan marmut, tikus putih, tikus dan kelinci dalam 48 jam. Kematian hewan coba adalah disebabkan *peritonitis fibrino purulent* dan pada beberapa karena *septicemia*.

Pada hewan besar dapat diisolasi dari jaringan atau organ yang terinfeksi *Escherichia coli*. *Escherichia coli* dapat sebagai penyebab utama diare, tetapi dapat juga sebagai penyebab sekunder. Pada anak sapi dapat menyebabkan diare yang biasa disebut White Scour. Pada kenyataannya semua hewan muda dapat terinfeksi oleh kuman ini. *Escherichia coli* dapat menyebabkan pyelonephritis, cervicitis, cystitis, mastitis, metritis dan lain-lain (Schlegel and Schmid, 1994).

Pada tahun 1945 Hjarre dan Wramby di Sweden pernah menemukan coligranuloma yang disebabkan oleh *Escherichia coli* di sepanjang usus ayam. Penyakit ini sering disebut *Hjarre's disease*. Pada ayam yang menderita penyakit ini terdapat lesi granulosomatous pada usus, hepar dan paru-paru (Subronto, 1985).

Escherichia coli dapat juga menyerang manusia. Pada manusia *Escherichia coli* menyebabkan diare, peritonitis, kerusakan usus, pembengkakan pankreas, infeksi saluran urogenital, pneumonia dan meningitis (Merchant and Packer, 1971).

2.2.8. Diagnosa dan Pengobatan

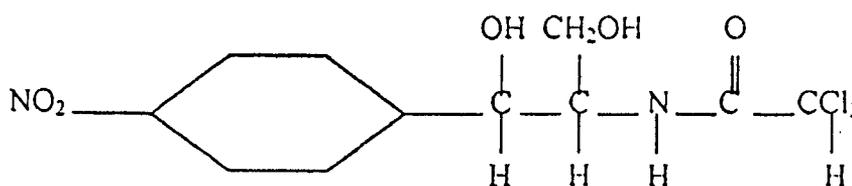
Pada kejadian *Escherichia coli*, dapat didiagnosa berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan patologi anatomi ataupun mengisolasi *Escherichia coli* dari spesimennya. Pengobatan dilakukan terutama untuk mengatasi dehidrasi dan infeksi. Penggunaan antibiotik tidak selalu memberikan hasil yang baik, sebab banyak strain *Escherichia coli* yang resisten terhadap antibiotika. *Escherichia coli* diisolasi pada media selektif EMBA dan diidentifikasi dengan cara ditanam pada media TSIA, SIM, Citrat.

2.3 Kloramfenikol

2.3.1 Sejarah dan struktur kimia

Kloramfenikol diisolasi pertama kali 1974 dari *Streptomyces venezuela*. Karena mempunyai daya antimikroba yang kuat maka penggunaan obat ini meluas dengan cepat, sampai tahun 1950 diketahui dapat menimbulkan anemia aplastik yang fatal. Kloramfenikol merupakan kristal putih yang sukar larut dalam air (1 : 400) dan rasanya sangat pahit.

Rumus molekul Kloramfenikol adalah sebagai berikut :



(Djamhuri, A. 1995)

2.3.2. Aktifitas antimikroba

Kloramfenikol berspektrum luas umumnya bersifat bakteriostatik. Pada konsentrasi tinggi kadang-kadang bersifat bakterisidik terhadap bakteri-bakteri tertentu. Kloramfenikol bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein bakteri, dimana yang dihambat adalah enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesis protein bakteri.

Kloramfenikol spesifik terhadap *Salmonella typhosa*, *Haemophilus influenza*, *Escherichia coli*, dan lain-lain. Efek toksik kloramfenikol pada sel mamalia terutama terlihat pada sistem *hemopoetik* dan diduga berhubungan dengan mekanisme kerja obat (Setiabudy dan Kunardi, 1995).

Pemberian utama per oral diserap dengan baik dan distribusinya luas. Biotransformasinya terjadi di hati dan dikeluarkan melalui air kemih serta empedu (Djamhuri, 1995). Penyerapan obat melalui saluran cerna cukup baik (75-90 %), kadar plasma tertinggi dicapai dalam 2-3 jam. Waktu paruh kira-kira 3 jam, untuk orang dewasa 2 - 3 jam dan untuk bayi di bawah 1 bulan 12 sampai 24 jam. Kloramfenikol mempunyai rasa sangat pahit, untuk pemakaian oral pada anak-anak biasanya digunakan bentuk esternya, yaitu Kloramfenikol palmitat (Lanacetine, pharocetin), yang disuspensikan dengan pembawa air (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

BAB III
MATERI DAN METODE

III BAB III

MATERI DAFTAR METODE

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pakan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan, Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi, Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian dilakukan selama satu bulan dari tanggal 01 April 2000 sampai tanggal 04 Mei 2000.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Isolat Bakteri

Isolat bakteri *Escherichia coli* diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Adapun strain bakteri yang dipakai adalah ATCC (American Type Culture Collection) 25922. Sebelum digunakan untuk penelitian, terlebih dahulu dilakukan identifikasi dengan pemeriksaan mikroskopis, uji biokimia. Setelah itu dilakukan isolasi dengan media EMB (*Eosin Methylen Blue*) Agar untuk membuktikan isolat bakteri tersebut memang benar-benar *Escherichia coli*.

3.2.2. Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Eosin Methylen Blue* (EMB) Agar sebagai pertumbuhan kuman, *Brain Heart Infusion* (BHI) Agar, media untuk uji biokimia (TSIA, SIM, urease, citrat, gula-gula) serta MHA (*Mueller Hinton Agar*).

3.2.3. Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah ekstrak Meniran, kertas disk, Kloramfenikol komersial, metanol, aquades steril, kapas steril, alkohol 70%.

3.2.4. Alat-alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, pembakar bunsen, spatulla, ose, pinset, inkubator, pipet Pasteur, erlenmeyer, timbangan Sartorius, mikroskop, glass obyek, cover glass, almari pendingin, autoclave, cotton swab, spidol marker, kertas etiket, alat ukur panjang (penggaris) dengan ketelitian 1 mm.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1. Pembuktian Bakteri *Escherichia coli*

Menurut Balows 1991 pembuktian bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan cara mengambil satu koloni *Escherichia coli* dari hasil pupukan EMBA dan dipupuk kembali pada EMBA. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasil pupukan bakteri berbentuk bulat, warna hijau metalik. Koloni hasil pupukan dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan sederhana . Kemudian dilanjutkan dengan uji biokimia (TSIA, SIM, urease, citrat, gula-gula).

3.3.2. Persiapan penelitian secara *in vitro*

3.3.2.1. Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu koloni *Escherichia coli* dari hasil pupukan EMBA dan dipupuk kembali pada satu media

EMBA, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Koloni hasil pupukan diambil empat sampai lima koloni bakteri dan disuspensikan dengan media BHI Broth, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama empat sampai delapan jam. Selanjutnya ditambahkan aquades steril sampai kekeruhannya sebanding dengan 10^5 - 10^8 CFU (Colony Forming Units) permilimeter sesuai dengan standard Mc. Farland No. 1 (Kingscote, 1989).

3.3.2.2. Pembuatan Ekstrak Meniran

Tanaman Meniran dikumpulkan dari daerah Probolinggo, di sekitar tanah kosong. Meniran yang sudah dikumpulkan dipotong-potong kira-kira sepanjang 5 cm. Meniran yang sudah dipotong dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Pengeringan tidak dilakukan pada suhu tinggi karena dapat mengakibatkan perubahan kimia pada kandungan senyawa aktifnya. Meniran yang sudah kering kemudian dibuat serbuk. Penyerbukan ini dilakukan di Laboratorium Pakan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Proses selanjutnya adalah pembuatan ekstrak yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Meniran yang sudah menjadi serbuk direndam metanol. Perendaman metanol dilakukan selama 3 hari dan tiap hari dilakukan penyaringan serta penggantian metanol. Perendaman dengan metanol bertujuan untuk menghentikan proses enzimatik yang dapat menguraikan senyawa aktifnya dan mengisolasi senyawa tersebut dari jaringan. Kemudian ekstrak metanol dipisahkan dalam penguap putar (Rotary Vacuum evaporator) pada suhu 30°C - 40°C. Tujuannya adalah untuk

memisahkan metanol dan senyawa yang telah berhasil ditariknya (Anonimus, 1979).

3.3.3. Pelaksanaan Penelitian

3.3.3.1. *Minimal Inhibitory Concentration (MIC)* dan *Minimal Baktericidal Concentration test (MBC)*

MIC test digunakan untuk mengetahui konsentrasi minimal suatu larutan anti mikroba terhadap hambatan pertumbuhan bakteri tertentu. Cara kerjanya adalah membuat ekstrak Meniran dari konsentrasi 100% menjadi beberapa konsentrasi. Disiapkan 11 tabung reaksi yang steril dan diberi nomor 1 - 11. Tabung nomor satu dan dua diisi ekstrak Meniran 100% sebanyak satu mililiter. Tabung nomor dua sampai sepuluh diisi satu mililiter aquades steril. Tabung nomor dua yang diisi ekstrak Meniran 100% dan aquades kemudian dikocok sampai homogen. Dari tabung nomor dua diambil satu mililiter dengan pipet steril dimasukkan ke dalam tabung nomor tiga lalu dikocok lagi sampai homogen. Dari tabung nomor tiga diambil satu mililiter untuk dimasukkan ke dalam tabung nomor empat, demikian seterusnya sampai tabung nomor sepuluh. Dari tabung nomor sepuluh diambil satu mililiter untuk dibuang, tabung nomor sebelas sebagai kontrol aquades.

Selanjutnya tabung nomor satu sampai dengan tabung nomor 11 ditambah suspensi bakteri sebanyak satu mililiter kemudian dikocok sampai homogen. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam dan pengamatan dilakukan dengan melihat tingkat kekeruhannya.

Minimal Bactericidal Concentration (MBC) adalah konsentrasi minimal antibakteri yang dapat membunuh kuman. Untuk mengetahui MBC test, terlebih dahulu disiapkan EMBA steril sebanyak dua buah. Media pertama dibagi menjadi enam bagian dan diberi nomor satu sampai dengan enam. Media kedua dibagi menjadi lima bagian dan diberi nomor 7 - 11 . Kemudian pada masing-masing tabung hasil MIC yaitu tabung 1 - 11 ditanam pada media EMBA tersebut sesuai dengan nomor. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasil pupukan diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni pada media untuk dapat menentukan MIC dan MBC (Allen et al. 1992).

3.3.3.2. Metode difusi Disk

Metode difusi disk ini untuk mengetahui kepekaan bakteri *Escherichia coli* terhadap ekstrak Meniran dalam berbagai konsentrasi dan Kloramfenikol. Jumlah bakteri yang digunakan dalam pengujian ini adalah $10^5 - 10^8$ CFU permililiter sesuai dengan standard Mac. Farland No. 1 .

Dalam penelitian ini menggunakan 25 buah kertas disk yang terdiri atas lima buah kertas disk mengandung ekstrak Meniran 25%, lima kertas disk mengandung ekstrak Meniran 50%, lima kertas disk mengandung ekstrak Meniran 100%, lima kertas disk mengandung Kloramfenikol dan lima kertas disk kosong sebagai kontrol berisi aquades steril. Cara pengisian kertas disk adalah menyiapkan ekstrak Meniran 100%, 50%, 25% pada tabung reaksi. Lima kertas disk dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak Meniran 100%, lima kertas disk dimasukkan dalam tabung yang berisi ekstrak Meniran 50% dan lima kertas disk dimasukkan dalam tabung yang berisi ekstrak Meniran 25%.

Didiamkan dua sampai tiga menit kemudian dirotator agar ekstrak Meniran cepat diserap oleh kertas disk. Setelah itu kertas disk diangkat dari tabung reaksi dengan pinset dan diletakkan di gelas beker. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kloramfenikol menggunakan kertas disk berisi Kloramfenikol yang dijual di pasaran.

Penelitian ini menggunakan lima perlakuan yaitu :

- P0 : kertas disk berisi aquades
- P1 : kertas disk mengandung ekstrak Meniran 25%
- P2 : kertas disk mengandung ekstrak Meniran 50%
- P3 : kertas disk mengandung ekstrak Meniran 100%
- P4 : kertas disk mengandung Kloramfenikol komersial

Di dalam setiap perlakuan ada lima kali ulangan.

Disiapkan lima cawan petri steril yang berisi media MHA yang masih cair dengan suhu 40°-50°C. Media ini digunakan untuk metode difusi disk dengan lima kali ulangan dan lima kali perlakuan. Media kemudian dibiarkan memadat. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitasnya. Suspensi bakteri sebanyak 0,2 ml dituangkan pada permukaan media padat tersebut dan diratakan dengan spatel, biarkan selama 5 –10 menit agar bakteri meresap dengan baik (Koneman dkk, 1992).

Setelah itu kertas disk dengan berbagai perlakuan (ekstrak meniran dalam berbagai konsentrasi, Kloramfenikol sebagai pembanding dan aquades sebagai kontrol) diletakkan pada permukaan media dengan menggunakan pinset steril. Diamkan selama kurang lebih 15 menit agar bahan obat dalam kertas disk

dapat berdiffusi ke dalam media. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu amati daerah hambatan pertumbuhan bakteri yang ada di sekeliling kertas disk dan diukur diameternya menggunakan alat ukur penggaris dengan ketelitian 1 mm (Koneman dkk, 1992).

3.3.3.4. Peubah yang diamati

Pada penentuan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) yang diamati adalah perubahan larutan menjadi jernih. Adanya perubahan kekeruhan menjadi jernih berarti larutan antibakteri pada konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penentuan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) yang diamati adalah dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan koloni pada konsentrasi tertentu. Tidak adanya pertumbuhan koloni pada konsentrasi tertentu menunjukkan bahwa zat antibakteri tersebut dapat membunuh bakteri. Pada penelitian disk diffusi yang diamati adalah terbentuknya daerah jernih di sekitar kertas disk yang merupakan diameter daerah hambatan yang tidak ditumbuhi bakteri (Subiyatmoko, 1998).

3.4. Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), data yang di dapat ditabulasi. Kemudian diuji dengan analisis varian atau uji F. Jika ada perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf signifikan 5% (Kusriningrum, 1989).

BAB IV
HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian mengenai Daya Antibakteri Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap *Escherichia coli* dengan uji sensitivitas metode dilusi yaitu penentuan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) diperoleh hasil seperti tabel 1 dan tabel 2 (Staf Pengajar Lab. Bakteriologi dan Mikologi, 1995).

Tabel 1. Daya hambat Meniran terhadap *Escherichia coli* dengan metode dilusi

No.	Konsentrasi Meniran (%)	Daya Hambat Pertumbuhan bakteri
1.	100	Jernih
2.	50	Jernih
3.	25	Jernih
4.	12,5	Jernih
5.	6,25	Jernih
6.	3,125	<i>Jernih</i>
7.	1,56	Keruh
8.	0,7812	Keruh
9.	0,3906	Keruh
10.	0,1935	Keruh
11.	Kontrol aquades	tetap

Keterangan : jernih = dapat menghambat pertumbuhan bakteri

Keruh = tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri

Tetap = tidak terjadi perubahan

Tabel 2. Pertumbuhan koloni *Escherichia coli* pada media MHA setelah diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam (MBC)

No.	Konsentrasi Meniran (%)	Pertumbuhan Koloni bakteri
1.	100	Tidak ada pertumbuhan
2.	50	Tidak ada pertumbuhan
3.	25	Tidak ada pertumbuhan
4.	12,5	Tidak ada pertumbuhan
5.	6,25	<i>Tidak ada pertumbuhan</i>
6.	3,125	Ada pertumbuhan (sedikit)
7.	1,56	Ada pertumbuhan (banyak)
8.	0,7812	Ada pertumbuhan (banyak)
9.	0,3906	Ada pertumbuhan (banyak)
10.	0,1953	Ada pertumbuhan (banyak)
11.	Kontrol aquades	Ada pertumbuhan (banyak)

Keterangan : Tidak ada pertumbuhan = bakterisid (membunuh)

Ada pertumbuhan (sedikit) = bakteriostat (menghambat)

Ada pertumbuhan (banyak) = tidak menghambat ataupun
membunuh

Dari tabel 1 dan tabel 2 diketahui bahwa konsentrasi minimal tanaman yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (MIC) terdapat pada konsentrasi

3,125%, sedangkan konsentrasi minimal tanaman Meniran yang dapat membunuh bakteri (MBC) terdapat pada konsentrasi 6,25%.

Adapun hasil penelitian mengenai uji kepekaan bakteri dengan menggunakan metode disk difusi adalah terbentuknya daerah jernih di sekitar kertas disk yang merupakan diameter hambatan yang tidak ditumbuhi bakteri. Rata-rata hasil pengukuran diameter hambatan pada masing-masing perlakuan seperti tercantum pada tabel 3 (Staf Pengajar Lab. Bakteriologi dan Mikologi, 1997).

Tabel 3. Hasil rata-rata dan simpangan baku diameter hambatan pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* (Diffusi disk)

No.	Perlakuan	Rata-rata diameter daerah hambatan (mm)
1	P0	6 ± 0^e
2	P1	$0,66 \pm 0,5^d$
3	P2	$12,8 \pm 0,8366^c$
4	P3	$16,8 \pm 1,0955^b$
5	P4	$30,6 \pm 0,8944^a$

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian dengan memperhatikan tingkat kekeruhan dan pertumbuhan koloni bakteri dapat diketahui bahwa konsentrasi Meniran yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (MIC) adalah pada konsentrasi 3,125% (tabel 1). Sedangkan konsentrasi Meniran yang dapat membunuh bakteri *Escherichia coli* (MBC) adalah 6,25% (tabel 2).

Adanya daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan adanya kejernihan tabung reaksi pada konsentrasi tertentu pada percobaan dilusi setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adapun hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa dari konsentrasi 100% sampai 3,125% tabung reaksi jernih, sedangkan konsentrasi 1,56% sampai 0,1935% tabung reaksi keruh. Dari hasil di atas dapat disimpulkan bahwa konsentrasi minimum pada konsentrasi 3,125%. Semakin rendah konsentrasi ekstrak Meniran maka semakin kecil daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Daya bunuh terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat diketahui setelah dilakukan penanaman pada media EMBA dan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adapun hasil dari penelitian tersebut pada konsentrasi 3,125% terdapat sedikit pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*, dimana dapat ditarik kesimpulan bahwa pada konsentrasi tersebut pertumbuhan *Escherichia coli* dapat dihambat. Sedangkan pada konsentrasi 100% sampai 6,25% tidak ada pertumbuhan koloni *Escherichia coli*, hal ini berarti bakteri mati dan pada konsentrasi 1,56% sampai 0,1953% ada

pertumbuhan bakteri yang berarti pada konsentrasi tersebut ekstrak Meniran tidak dapat menghambat ataupun membunuh bakteri *Escherichia coli*. Dari hasil di atas dapat disimpulkan bahwa Meniran (*Phyllanthus niruri*) pada konsentrasi 3,125% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (bakteriostatik) dan pada konsentrasi 6,25% dapat membunuh bakteri *Escherichia coli* (bakterisidik).

Hasil dari penelitian Daya Antibakteri Meniran dengan metode disk difusi dapat dilihat berdasarkan terbentuknya daerah jernih di sekitar kertas disk yang merupakan diameter hambatan pertumbuhan bakteri. Adapun hasil dari penelitian menunjukkan bahwa Meniran dengan konsentrasi 100% menghasilkan diameter hambatan rata-rata 16,8 mm, konsentrasi 50% dan 25% masing-masing menghasilkan diameter hambatan rata-rata 12,8 mm dan 10 mm. Sedangkan Kloramfenikol menghasilkan diameter hambatan rata-rata terbesar yaitu 30,6 mm. Dengan bertambahnya konsentrasi Meniran maka bertambah pula panjang diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (tabel 3).

Meniran (*Phyllanthus niruri*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri maupun membunuh bakteri *Escherichia coli* karena zat-zat yang terkandung di dalam tanaman tersebut berfungsi sebagai antibakteri seperti tanin (Wijayakusuma dkk, 1996), flavonoid (Evans, 1989), damar atau resin, alkaloid (Berghe, 1991) dan triterpenoid (Tuti, 1997).

Tanin adalah suatu zat yang berfungsi sebagai astringensia. Astringensia adalah 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 sebagai astringent apabila diberikan kepada

Escherichia coli akan menyebabkan membran sel bakteri mengkerut yang mengakibatkan perubahan permeabilitas sel. Membran sitoplasma merupakan tempat keluar masuknya makanan dan memelihara integritas komponen-komponen sel, sehingga apabila membran sel bakteri rusak akan mengganggu metabolisme bakteri yang dapat menyebabkan sel bakteri rusak akibatnya bakteri akan mati (Berghe, 1991). Tanin juga dapat menghambat sekresi jaringan yang meradang (Ewing and Edward, 1973). Hal ini menyebabkan tanin sering dipakai sebagai terapi diare.

Golongan flavonoid yaitu rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin, astragalin dimana golongan flavonoid dapat berfungsi sebagai anti inflamasi, anti virus, antibakteri dan anti parasit, juga dapat sebagai anti alergi dan anti trombolik. Sebagai zat anti bakteri flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel dan membran sitoplasma bakteri, mencegah pembelahan bakteri, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak (Evans, 1989 ; Robinson 1995). Golongan flavonoid yang terbanyak pada tanaman *Phyllanthus niruri* Linn. adalah derivat rutin (Tuti, 1997).

Meniran juga mengandung damar atau resin yang terdiri dari asam-asam organik dan alkohol yang menyebabkan kematian mikroba. Alkohol merupakan antibakteri yang bekerja dengan jalan mempresipitasi protein, denaturasi protein. Alkohol juga merupakan pelarut lemak sehingga dapat merusak membran sel. Alkohol yang efektif adalah alkohol dengan konsentrasi 70% (Alcarno, 1994). Asam organik juga merupakan antibakteri karena kuman tidak dapat tumbuh pada suasana yang terlalu asam. Suasana yang terlalu asam dapat mempengaruhi

penurunan pH yang dapat mengakibatkan perubahan struktur protein. Damar juga digunakan sebagai terapi diare kholagen. Diare kholagen adalah diare yang disebabkan karena peningkatan permeabilitas mukosa usus yang dapat terjadi karena penyakit pada usus halus dan usus besar (misalnya colitis ulcerosa atau karsinoma kolon) atau karena tidak terabsorbsinya asam empedu. Hal ini ditemukan setelah reseksi ileum, yang merupakan tempat utama reabsorpsi kembali asam empedu. Asam empedu yang masuk ke kolon akan ke lumen usus dan di sini akan menyebabkan diare (Mustchler, 1991).

Alkaloid berfungsi sebagai zat racun yang melindungi tanaman dari serangga dan herbivora yang dalam hal ini memungkinkan juga membunuh mikroba (Berghe, 1991). Pemeriksaan fitokimia dari ekstrak alkohol daun Meniran menunjukkan bahwa senyawa-senyawa golongan alkaloid merupakan komponen yang dominan dibanding dengan senyawa-senyawa golongan lainnya (Chairul dan Mindarti, 1994). Sedangkan Triterpenoid merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena, senyawa ini kebanyakan berstruktur siklik berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat yang berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba (Tuti, 1997). Alkohol apabila diberikan pada *Escherichia coli* dapat mengakibatkan denaturasi protein, mempresipitasi protein dan dapat merupakan pelarut lemak sehingga dapat merusak membran sel. Aldehida apabila diberikan pada *Escherichia coli* dapat mengakibatkan denaturasi protein. Asam karboksilat apabila diberikan pada *Escherichia coli* akan mempengaruhi penurunan pH yang dapat mengakibatkan

perubahan struktur protein. Pada keadaan seperti ini bakteri tidak dapat tumbuh atau mati (Claus et al., 1970).

Hasil penelitian menggunakan metode diffusi disk menunjukkan bahwa daerah hambatan rata-rata Kloramfenikol lebih besar dari daerah hambatan rata-rata Meniran. Hal ini tidak menunjukkan bahwa Kloramfenikol lebih efektif dibandingkan Meniran, sebab belum ada ketentuan yang pasti tentang kepekaan tanaman Meniran seperti yang terdapat pada obat paten. Hal ini juga dapat terjadi karena pada penelitian ini tanaman Meniran yang diambil tidak memperhatikan aspek lingkungan tumbuh, umur tanaman dan waktu panen sehingga bisa jadi kandungan senyawa aktif sebagai antibakteri pada tanaman tersebut relatif sangat kecil (Gaman and Sherrington, 1992).

Kloramfenikol merupakan antibakteri berspektrum luas yang bereaksi dengan bakteri dengan jalan menghambat sintesis protein bakteri, dimana yang dihambat adalah enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesis protein bakteri. Kloramfenikol mempunyai efek toksik pada sel mamalia terutama terlihat pada sistem hemopoetik, dapat mengakibatkan anemia aplastik dan diduga berhubungan dengan mekanisme kerja obat (Setiabudy dan Kunardi, 1995).

Penelitian ini menggunakan metode dilusi dan diffusi disk. Metode dilusi merupakan metode yang paling akurat untuk menentukan kepekaan antibakteri. Penggunaan metode ini memerlukan waktu yang lama, keahlian yang cukup dan merupakan cara yang kurang praktis terutama untuk mengetahui kepekaan bakteri terhadap beberapa antibiotik. Sedangkan metode diffusi disk merupakan metode

untuk menguji kepekaan bakteri di laboratorium. Hal ini karena pelaksanaannya tidak memerlukan waktu yang lama, keahlian khusus dan cepat memberikan hasil (Jawetz et al., 1984; Jr. Michael, 1988).

Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) dari pemberian Meniran (konsentrasi 25%, 50%, 100%) dan Kloramfenikol bila dibandingkan dengan kontrol (lampiran 4). Pengujian lebih lanjut terhadap metode disk diffusi dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) tentang pengaruh perlakuan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri. Hasilnya seperti yang tercantum dalam lampiran 3 dan 4, terlihat bahwa dengan taraf signifikan 5% perlakuan 4 (Kloramfenikol) menghasilkan daerah hambatan terbesar yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan yang lain. Perlakuan 1 (Meniran 25%), perlakuan 2 (Meniran 50%) dan perlakuan 3 (Meniran 100%) juga berbeda sangat nyata. Hasil terendah didapatkan pada perlakuan 0 (kontrol).

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang didapat dari hasil penelitian ini adalah :

1. Meniran dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* (bakteriostatik) dan membunuh bakteri *Escherichia coli* (bakterisidik) secara *in vitro*.
2. *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dari Meniran terhadap *Escherichia coli* adalah 3,125%, sedangkan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) dari Meniran terhadap *Escherichia coli* adalah 6,25% .
3. Daya antibakterial Kloramfenikol lebih besar bila dibandingkan dengan Meniran pada konsentrasi 100%, 50%,25% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

Berdasarkan penelitian ini penulis menyarankan :

1. Adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui khasiat tanaman Meniran terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* secara *in vivo*.
2. Adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui spesifitas tanaman Meniran terhadap strain *Escherichia coli* dan bakteri lain selain bakteri *Escherichi coli*
3. Adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sejauh mana efek samping yang ditimbulkan oleh Meniran

RINGKASAN

ENIEK SUWARNI. Daya Antibakteri Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro* (di bawah bimbingan Bapak Didik Handijatno, Drh., M.S sebagai pembimbing pertama dan Ibu Eka Pramytha Hestianah, Drh., M.Kes. sebagai pembimbing kedua). Krisis ekonomi yang mengakibatkan harga obat-obatan semakin mahal mengakibatkan manusia cenderung menggunakan obat-obatan tradisional untuk pengobatan manusia sendiri maupun hewan. Seperti halnya pemanfaatan tanaman Meniran sebagai antibakteri. Zat-zat yang terkandung dalam tanaman Meniran diduga dapat menghambat ataupun membunuh bakteri, baik bakteri gram positif maupun gram negatif. Adapun bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* strain ATCC 25922.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah tanaman Meniran dapat menghambat atau membunuh bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* dan membandingkannya dengan Kloramfenikol. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa tanaman Meniran dapat digunakan sebagai antibakteri. Hal ini perlu karena selama ini tanaman Meniran banyak diabaikan oleh masyarakat, dianggap sebagai tanaman pengganggu (gulma) bahkan banyak masyarakat yang belum mengetahui tanaman Meniran.

Persiapan penelitian dilakukan dengan pengumpulan tanaman Meniran dan pembuatan ekstrak tanaman Meniran yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Kemudian juga dilakukan pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* yang sebelumnya telah dilakukan isolasi dan

identifikasi terhadap bakteri *Escherichia coli* tersebut untuk membuktikan bahwa bakteri tersebut benar-benar *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan metode dilusi yaitu MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) serta metode disk difusi. Sebelas tabung reaksi yang steril disiapkan dan diberi nomor 1 - 11. Tabung nomor satu dan dua diisi ekstrak Meniran 100% sebanyak satu mililiter. Tabung nomor 2 - 11 diisi satu mililiter aquades. Tabung nomor dua yang diisi ekstrak Meniran 100% dan aquades kemudian dikocok sampai homogen. Dari tabung nomor dua diambil satu mililiter dengan pipet steril dimasukkan dalam tabung nomor tiga lalu dikocok lagi sampai homogen. Dari tabung nomor tiga diambil satu mililiter untuk dimasukkan ke dalam tabung nomor empat, demikian seterusnya sampai tabung nomor sepuluh. Dari tabung nomor sepuluh diambil satu mililiter untuk dibuang, tabung nomor 11 sebagai kontrol aquades.

Selanjutnya tabung nomor 1 - 11 ditambah suspensi bakteri sebanyak satu mililiter kemudian dikocok sampai homogen. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan diperhatikan kekeruhannya. Kemudian masing-masing tabung ditanam pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) untuk mengetahui MBC.

Hasil dari penelitian dengan metode dilusi ini adalah MIC pada konsentrasi 3,125% dan MBC pada konsentrasi 6,25%.

Selanjutnya uji kepekaan kuman dilakukan dengan metode difusi disk, yang dilakukan lima kali ulangan dan lima perlakuan yaitu P0 (kontrol), P1 (ekstrak Meniran 25%), P2 (ekstrak Meniran 50%), P3 (ekstrak Meniran 100%)

dan P4 (Kloramfenikol). Disiapkan lima cawan petri yang berisi media MHA. Suspensi bakteri sebanyak 0,2 ml dituangkan pada permukaan media tersebut dan diratakan dengan spatel, biarkan selama 5 – 10 menit. Kertas disk dengan kelima perlakuan di atas diletakkan di atasnya dengan pinset steril, didiamkan 15 menit dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengamatan ditunjukkan dengan adanya daerah jernih di sekitar kertas disk.

Dari hasil pengolahan data didapatkan perbedaan yang sangat nyata dari masing-masing perlakuan. Dengan uji BNT 5% diketahui bahwa hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* tertinggi adalah P4 (Kloramfenikol) dan daerah hambatan terendah adalah P0 (kontrol) yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan yang lain.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa : 1. tanaman Meniran dapat menghambat dan membunuh bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. 2. terdapat perbedaan daya anti bakteri antara tanaman Meniran dengan Kloramfenikol terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Penulis menyarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap khasiat tanaman Meniran secara *in vivo*, spesifitasnya terhadap strain *Escherichia coli* dan bakteri lain serta sejauh mana efek samping yang ditimbulkannya.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Alcamo, I.E. 1994. *Fundamental of Microbiology*. Fourth edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Canada. 672-677.
- Allen, S.D., E.W. Koneman, P.C. Schreckenberger, W.C. Winn and W.M. Janda. 1992. *Diagnostic Microbiology*. 4th ed. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. 618 – 137.
- Anonimus. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Dir. Jend. Pengawasan Obat dan Makanan. Dep. Kesehatan RI. Jakarta. 9.
- Anonimus. 1980. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta 23, 47.
- Anonimus. 1983. *TOGA (Tanaman Obat Keluarga)*. Dir. Pengawasan Obat Tradisional, Dir. Jend. Pengawasan Obat dan Makanan. Dep. Kesehatan RI. Jakarta. 28.
- Balows, A. 1991. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. American Society for Microbiology. Washington D.C.
- Berghe. 1991. *Screening methods for Antibacterial Antiviral Agents from Higher Plants*. Harcoure Brace Jauvanovich Publ. London
- Chairul dan Mindarti Harapini .1994. *Pemeriksaan efek Hypoglikemik Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) pada Kelinci*. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Hayati Puslitbang Biologi-LIPI Bogor. Balitbang Botani, Puslitbang Biologi-LIPI. Bogor. 114-119.
- Claus, E.P., V.E. Tyler and L.R. Brady. 1970 . *Pharmacognosy*. 6th ed. Lea Febiger. Philadelphia. 131 – 136.
- Dey, N and T.K. Dey. 1982. *Medical Bacteriology*. 3rd ed. Harper and Publisher. Hagerston. 656.
- Djamhuri, A. 1995. *Sinopsis Farmakologi dengan Terapan Khusus di Klinik dan Perawatan*. Edisi 1. Hipokrates. Jakarta. 126 – 127.
- Evans, W.C. 1989. *Trease and Evans Pharmacognosy Basic of Therapeutics*. 4th ed. W.B. Sanders. Bailliere Tindall. London. 420.

- Ewing, H.W., P.R.Edward.1973. Identification of Enterobacteriaceae by Biochemical Reaction. Burgess Publishing Co. Mineapolis. 61 – 89.
- Gaman, P.M and K.B.Sherrington. 1992. Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi. Edisi II. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.226.
- Heyne,K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia II. Edisi I. Yayasan Sarana Wana Jaya . Jakarta. 1139.
- Jatmiko, C. 1998. Pemanfaatan Tanaman Patikan Kebo untuk Pengobatan Penyakit Berak Ayam Ditinjau dari Skor Perlukaan Sekum dan Pertambahan Berat Badan. Skripsi. FKH – UA. Surabaya.
- Jawetz, E, J.L Melnick and E.A Adelberg. 1984. Microbiology untuk profesi Kedokteran (Review of Medical Microbiology). Edisi 16. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 294, 362,118.
- Jr. Michael, JP and E.C.S Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 808-813.
- Karyoto. 1999. Titik Balik Perunggasan dan Nasib Kemitran. Infovet. Jakarta. Edisi Agustus. 063 : 6.
- Kingscote, B. 1989. Veterinary Microbiology. Introduction to Bacteria and Fungi. Consultant for Canadian International Development Agency.
- Koneman, E.W., S.D.Allen, W.M. Janda, P.C. Scheckenberg, W.C.Winn.1992. Diagnostic Microbiology. 4 th ed. J.B.Lippincott Company. Philadelphia
- Kusriningrum. 1989. Dasar Perencanaan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. FKH – UA. Surabaya.
- Merchant, I.A and Packer, R.A. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. The Iowa State University Press. Bailliere Tindall and Cox. London. 273.
- Metcalf, C.R and Chalk, L. 1979. Anatomy of Dicotyledons. 2nd ed The Clarendon Press.1234 – 1235.
- Mustschler, E. 1991. Dinamika Obat. Edisi V. Penerbit ITB. Bandung. 542.
- Redaksi Jawa Pos. 2000. Meski dimasak, tak layak diminum. Jawa Pos. Jakarta. Selasa Pon 2 Mei 2000. 5.

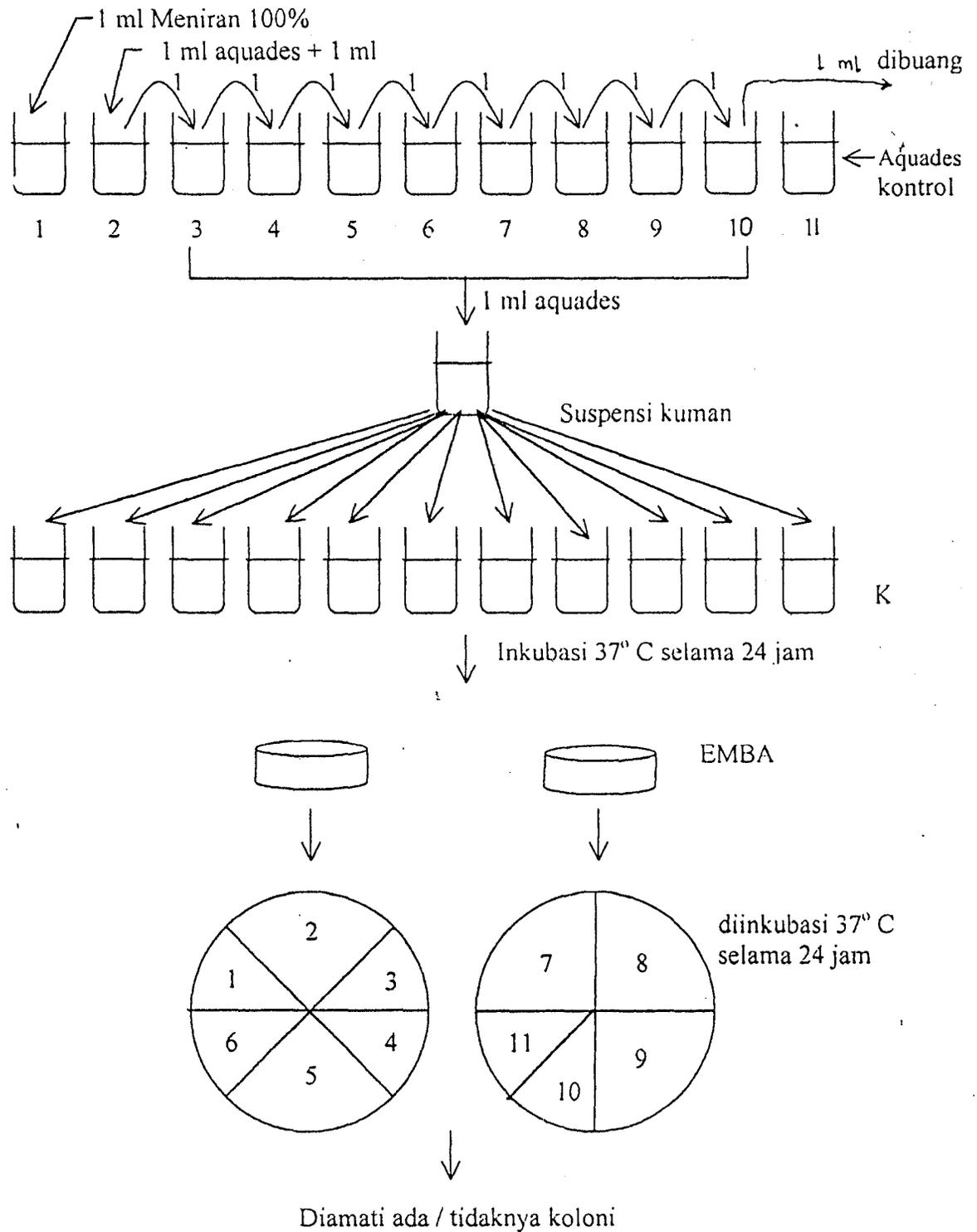
- Robinson, T. 1995. Senyawa Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. ITB. Bandung.
- Schlegel, H.G and K. Schmidt. 1994. Mikrobiologi Umum. Edisi VI. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 59 – 386.
- Setiabudy, R., Kunardi, L. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi 4. FKUI. Gaya Baru. Jakarta. 651 – 660.
- Siswandono dan B. Soekardjo .1995. Kimia Medisinal. Edisi I. Airlangga University Press. Surabaya.385
- Staf Pengajar Lab. Bakteriologi dan Mikologi. 1995. Pedoman Praktikum Bakteriologi dan Mikologi FKH – UA. Surabaya.
- Staf Pengajar Lab. Bakteriologi dan Mikologi. 1997. Petunjuk Praktikum Ilmu Penyakit Bakterial. Edisi 1. FKH – UA. Surabaya.
- Steenis,C.G.G.J. 1975. Flora untuk Sekolah di Indonesia. Pradya Paramita. Jakarta.65.
- Strobbe, M.A.1971. Understanding Enviromental Pollotion. The C.V Mosby Company. Saint Louis.350.
- Subiyatmoko, A. 1998. Daya Anti Bakteri Lendir Bekicot (*Achantina fuliea*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Skripsi. FKH – UA. Surabaya.
- Subarnas, A dan Sidik. 1993. Phyllanthus niruri, Linn, Kimia, Farmakologi dan Penggunaannya sebagai obat tradisional. Warta Tumbuhan Obat Indonesia 2 (4) hal 13 –18.
- Subronto. 1985. Ilmu Penyakit Ternak I. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 156 –160.
- Syamasundar, K.V., B.Singh, R.S.Thakur, A. Husain, Y. Kiso and H.Hikino.1985. Antihepatotoxic. Princip of Phyllanthus niruri, Linn. Herbs J. Ethnopharmacology.14 : 41 –44.
- Tuti, Sri Dias. 1997. Isolasi dan Identifikasi triterpenoid dari batang Meniran. Skripsi. FF – UA. Surabaya.
- Wijayakusuma, H., Dalimartha, S., Wirian, A.S., Wibowo, B. 1996. Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia. Edisi I. Pustaka Kartini. Jakarta. 66 – 67.

Wistreich, G.A and M.D. Lechtman. 1988. Microbiology. Fifth edition. Mac Millan Publishing. New York. A14.

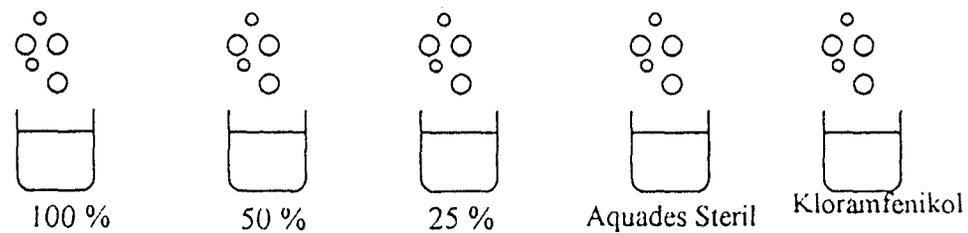
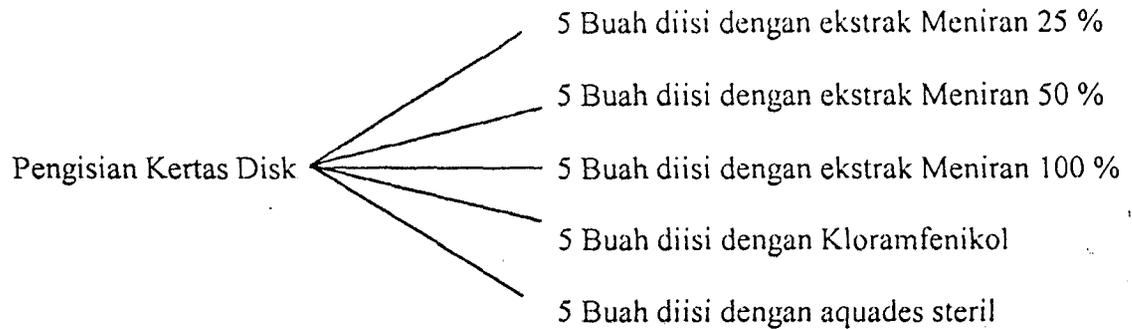
LAMPIRAN

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penentuan MIC dan MBC



Lampiran 2. Metode Difusi Disk



dikeringkan selama 24 jam, 37^oC

menyiapkan cawan petri yang berisi MHA (Mueller Hinton Agar) yang cair dengan suhu 40 – 50^oC



dibiarkan memadat

diinkubasi 37^o C , 24 jam

suspensi kuman 0,2 ml dituangkan dan diratakan

dibiarkan 5 – 10 menit

kertas disk diletakkan dan didiamkan 15 menit

diinkubasi 37^o C , 24 jam

amati daerah hambatan

Lampiran 3. Hasil pengukuran daerah hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* oleh Meniran dan Kloramfenikol

Ulangan	Perlakuan					Total
	P0	P1	P2	P3	P4	
1	6	10	13	18	30	
2	6	9	12	17	32	
3	6	10	13	17	30	
4	6	10	14	15	31	
5	6	11	12	17	30	
Total	30	50	64	84	153	381
Rata-rata	6	10	12,8	16,8	30,6	

P0 = kertas disk berisi aquades

P1 = kertas disk mengandung Meniran 25%

P2 = kertas disk mengandung Meniran 50%

P3 = kertas disk mengandung Meniran 100%

P4 = kertas disk mengandung Kloramphenikol

Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(381)^2}{5 \times 5} = \frac{145.161}{25} = 5806,44$$

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= (6)^2 + (10)^2 + (13)^2 + \dots + (30)^2 - 5806,44 \\ &= 7.605 - 5.806,44 \\ &= 1.798,56 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(30)^2 + (50)^2 + \dots + (153)^2}{5} - \text{FK} \\ &= \frac{37.961}{5} - 5806,44 \\ &= 7592,2 - 5806,44 \\ &= 1.785,76 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK sisa} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 1798,56 - 1785,76 \\ &= 12,8 \end{aligned}$$

Menghitung Kuadrat Tengah

$$\text{KT Perlakuan} = \frac{\text{JKT}}{t-1} = \frac{1798,56}{4} = 449,64$$

$$\text{KT sisa} = \frac{\text{JKS}}{t(n-1)} = \frac{12,8}{20} = 0,64$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi F hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTS}} = \frac{449,64}{0,64} = 702,5625 \\ &= 702,56 \end{aligned}$$

Lamp. 4. Sidik Ragam Daerah Hambatan Pertumbuhan *Escherichia coli* oleh Meniran dan Kloramfenikol

S.K	Db	JK	KT	F.hit.	F.tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	4	1.785,76	449,64	702,56	2,87	4,43
sisa	20	12,8	0,64			
Total	24	1798,56				

Kesimpulan : terdapat perbedaaan yang sangat nyata dari masing-masing perlakuan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri (sebab F. hitung > F. tabel 0,01).

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%

$$\text{BNT } (\alpha) = t(\alpha) (\text{db sisa}) \times \sqrt{\frac{2 \text{ KTS}}{n}}$$

$$= t(5\%) (20) \times \sqrt{\frac{2 \times 0,64}{5}}$$

$$= 2,086 \times \sqrt{0,256}$$

$$= 2,086 \times 0,51$$

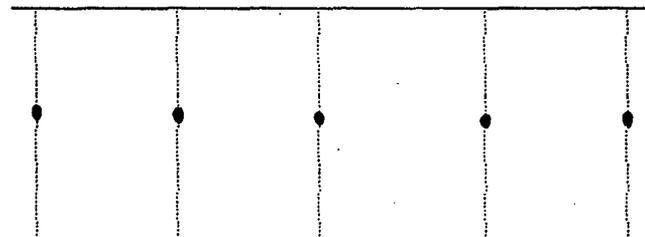
$$= 1,064$$

Selisih rata-rata perlakuan

Perlakuan	\bar{X}	Beda Selisih				BNT 5%
		$\bar{x} - P0$	$\bar{x} - P1$	$\bar{x} - P2$	$\bar{x} - P3$	
P4	30,6 ^a	24,6*	20,6*	17,8*	13,8*	
P3	16,8 ^b	10,8*	6,8*	4*		
P2	12,8 ^c	6,8*	2,8*			1,064
P1	10 ^d	4*				
P0	6 ^e					

Menentukan Notasi

P4	P3	P2	P1	P0
30,6	16,8	12,8	10	6



Perlakuan yang menghasilkan hambatan pertumbuhan *Escherichia coli* tertinggi adalah perlakuan 4 (Kloramfenikol) yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan lain.

Perlakuan 3 (100%), perlakuan 2 (50%) dan perlakuan 1 (25%) juga berbeda sangat nyata. Hasil terendah pada P0 yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan lain.

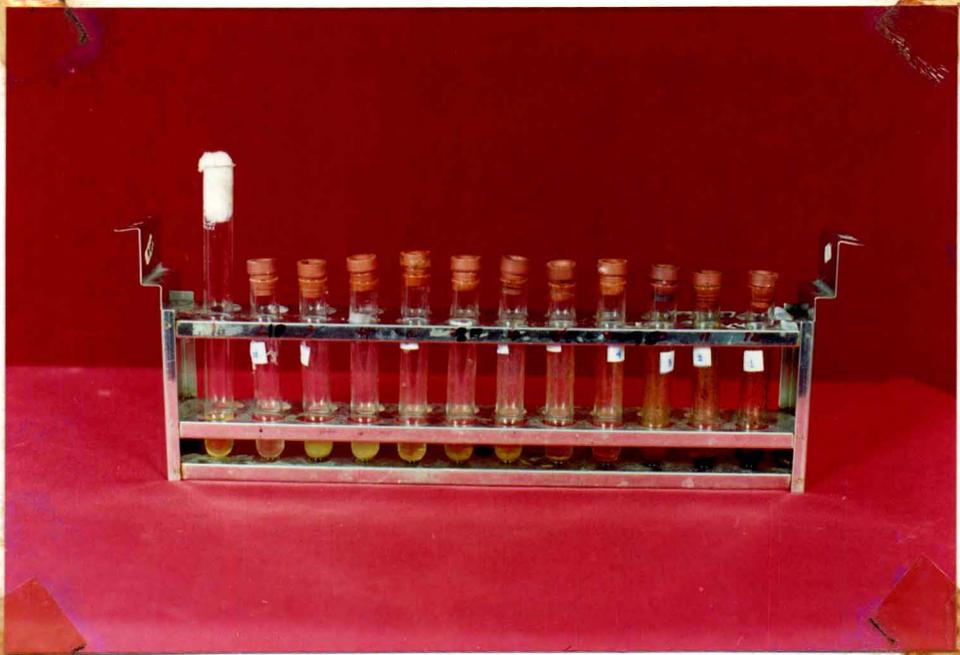
Lampiran 5. Pembuktian kuman *Escherichia coli*

No.	Uji biokimia	Cara	Hasil
1	TSIA (triple Sugar Iron Agar)	<ul style="list-style-type: none"> - Pada media TSIA dilakukan pemupukan dengan jalan pengambilan kuman dari biakan murni dengan needle steril - Kemudian ditusukkan pada media dasar tabung agar dan digoreskan pada bagian agar yang miring - Setelah itu dieramkan pada temperatur 37° C selama 24 jam - Pemupukan pada media ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasikan glukosa, laktosa, sukrosa dan juga untuk mengetahui apakah bakteri tersebut menghasilkan H₂S dan gas 	<ul style="list-style-type: none"> - pada bagian media yang miring berwarna kuning dan pada bagian media yang tegak berwarna kuning (asam) - pembentukan gas yang ditandai dengan pecahnya medium atau terangkatnya medium pada dasar tabung
2	SIM (Sulfit Indol Motility)	<ul style="list-style-type: none"> - pada media SIM pemupukan dilakukan dengan jalan mengambil koloni dari kultur murni dengan ose steril - Kemudian ditusukkan sampai setengah bagian dari media - Setelah itu diinkubasi pada 37° C selama 24 jam - Pengamatan dilakukan dengan penambahan kloroform dan reagen kovach sama banyak 	<ul style="list-style-type: none"> - hasil positif terdapat cincin warna merah

No.	Uji biokomia	Cara	Hasil
3	Citrat agar	<ul style="list-style-type: none"> - pada media ini pemupukan dilakukan dengan jalan melakukan goresan/streak pada permukaan media - pemupukan pada media ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan unsur karbon dari citrat atau tidak 	- hasil negatif, media tetap berwarna hijau
4	Urease/urea agar	<ul style="list-style-type: none"> - pemupukan pada media ini dilakukan dengan jalan mengambil kultur murni bakteri dengan ose steril - Kemudian digoreskan pada permukaan miring media urea agar - pemupukan pada media ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan enzim urease yang dapat menghidrolisa urea menjadi amoniak 	- hasil negatif, warna tetap merah muda
5	Gula-gula: - glukosa - laktosa - manitol - maltosa - sukrosa	<ul style="list-style-type: none"> - pemupukan pada media ini dilakukan dengan jalan mengambil bakteri dengan ose - Kemudian dicelupkan pada media - pemupukan ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri memfermentasikan gula-gula atau tidak 	- hasil positif warna gula-gula menjadi kuning

GAMBAR

GAMBAR



Gambar 1. Metode Dilusi dengan memperhatikan tingkat kekeruhan pada konsentrasi tertentu



Gambar 2. Pertumbuhan koloni bakteri setelah ditanam pada media MHA



Gambar 3. Metode diffusi disk



Gambar 4. Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*)

