

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN DAUN BELUNTAS
(*Pluchea indica Less*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO**



Oleh :

SUMITRO

Lamongan - Jawa Timur

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001**

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN DAUN BELUNTAS
(*Pluchea indica Less*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO**

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

Oleh :

SUMITRO

Lamongan - Jawa Timur

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2001

PENGARUH PEMBERIAN PERASAN DAUN BELUNTAS

(*Pluchea indica Less*) TERHADAP PERTUMBUHAN

***Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO**

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh

Sarjana kedokteran Hewan

Pada

Fakultas kedokteran Hewan , Universitas Airlangga

Oleh

SUMITRO

NIM. 069512162

Menyetujui

Komisi Pembimbing



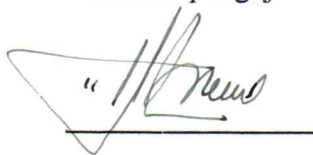
Julien Supraptini , S.U., Drh.
Pembimbing Pertama



Sri Agus Sudjarwo, Ph.D., 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

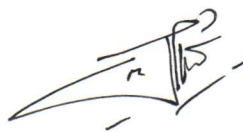
Menyetujui,
Panitia penguji



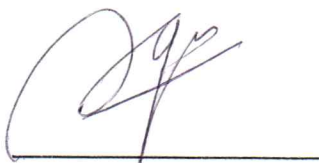
Soeharsono, M.Si., Drh.
Ketua



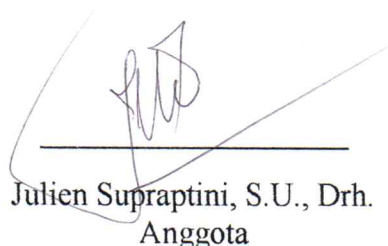
Suryanie Sarudji, M.Kes., Drh.
Sekretaris



Tutik Juniastutik, M.S., Drh.
Anggota

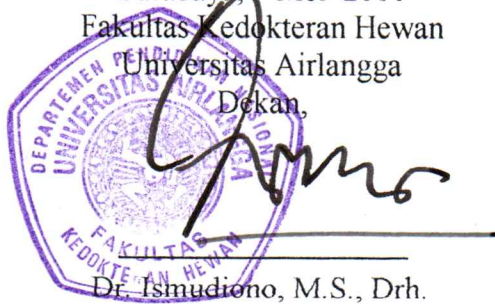


Sri Agus Sudjarwo, Ph.D., Drh.
Anggota



Julien Supraptini, S.U., Drh.
Anggota

Surabaya, Mei 2001
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Dr. Ismudiono, M.S., Drh.
NIP. 130 687 297

**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN DAUN BELUNTAS
(*Pluchea indica Less*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO**

SUMITRO

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian perasan daun beluntas terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

Penelitian ini menggunakan uji sensitivitas metode Dilusi dengan empat kali ulangan. Konsentrasi perasan daun beluntas yang digunakan adalah 0%, 10%, 20%, 30%, 40% sampai 100%. Inokulat kuman yang digunakan adalah kuman standar *American Type Culture Collection Staphylococcus aureus* 25923 dan disesuaikan dengan standar Mc. Farland No. 1.

Parameter yang diamati adalah konsentrasi terendah perasan daun beluntas yang dapat menghambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* (MIC) dan yang dapat membunuh kuman *Staphylococcus aureus* (MBC). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi terendah perasan daun beluntas yang dapat menghambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* adalah 57,48 % dan konsentrasi terendah yang dapat membunuh kuman tersebut adalah 69,44 % secara *in vitro*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas rahmat dan karunia – Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi mengenai **“Pengaruh Pemberian Perasan Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro”**.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Julien Supraptini, S.U., Drh., selaku dosen pembimbing pertama dan Bapak Sri Agus Sudjarwo, Ph.D., Drh., selaku dosen pembimbing kedua .

Terima kasih kepada bapak Dr. Ismudiono, M.S.,Drh. Selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga beserta seluruh staf pengajar, yang telah memberikan bekal ilmu yang sangat berharga. Demikian pula kepada Bapak Didik Handijatno, M.S., Drh., selaku kepala Lab. Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, terima kasih atas bantuan fasilitas dan ijin yang diberikan.

Kepada seluruh keluargaku, ayah, ibu, kakak, adik serta teman-teman tercinta , terima kasih atas doa restu dan dukungan yang telah diberikan selama berlangsungnya penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga skripsi ini bermanfaat bagi yang menggunakan dan dapat menambah informasi bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Kritik dan saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan tulisan ini.

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Landasan Teori.....	3
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
1.6 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Beluntas.....	5
2.2 Tinjauan Tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	7
BAB III. MATERI DAN METODE.....	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
3.2 Materi Penelitian.....	10
3.2.1 Bahan-bahan Penelitian.....	10
3.2.2 Peralatan Penelitian.....	10

3.3 Metode penelitian	11
3.3.1 Persiapan Penelitian	11
a. Sterilisasi Peralatan Penelitian	11
b. Pembuktian <i>Staphylococcus aureus</i>	11
c. Pembuatan Suspensi Kuman	12
d. Pembuatan Perasan Daun Beluntas	12
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	14
a. MIC (<i>Minimal Inhibitory Concentration</i>)	14
b. MBC (<i>Minimal Baktericidal Concentration</i>)	14
3.4 Parameter yang Diamati.....	15
3.5 Rancangan Penelitian dan Analisa Data	15
BAB IV. HASIL PENELITIAN	16
BAB V. PEMBAHASAN	25
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	26
RINGKASAN	27
DAFTAR PUSTAKA	29

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil Pengamatan Penghambatan Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> Setelah Perlakuan dengan Perasan Daun Beluntas.....	16
2. Hasil Pengamatan Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> Setelah Perlakuan dengan Perasan Daun Beluntas	19

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman Beluntas (<i>Pluchea indica</i> Less).....	5
2. Kandungan Kimia Daun Beluntas.....	6
3. Hasil Pengamatan MIC (<i>Minimal Inhibitory Concentration</i>) Perasan Daun Beluntas dengan Metode Dilusi	17
4. Hasil Analisis Probit Pada Bagian Kuman <i>Staphylococcus aureus</i> yang Tidak Terhambat Setelah Pemberian Perasan Daun Beluntas dengan Beberapa Konsentrasi yang Diulang Sebanyak Empat Kali.....	18
5. Hasil Pengamatan MBC (<i>Minimal Bactericidal Concentration</i>) Perasan Daun Beluntas Pada Media MHA.....	20
6. Hasil Analisis Probit Pada Bagian yang ditumbuhi Kuman <i>Staphylococcus aureus</i> Setelah Pemberian Perasan Daun Beluntas Dengan Beberapa Konsentrasi yang Diulang Sebanyak Empat Kali.....	20

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Analisis Probit Penentuan MIC Perasan Daun Beluntas Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> Secara In vitro.....	32
2. Analisis Probit Penentuan MBC perasan Daun beluntas Terhadap <i>Staphylococcus Aureus</i> Secara In vitro.....	34

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Jumlah penduduk yang semakin meningkat seiring dengan peningkatan pendapatan dan kesejahteraan masyarakat, secara tidak langsung akan menyebabkan perubahan pola konsumsi dari bahan makanan yang berasal dari nabati ke bahan asal hewani. Untuk memenuhi kebutuhan protein hewani tersebut, pemerintah berusaha meningkatkan produksi telur, daging dan susu. Dan dalam rangka usaha pemenuhan kebutuhan protein hewani tersebut, masalah kesehatan ternak secara umum mutlak harus diperhatikan. Salah-satu penyakit yang dapat menyerang ternak adalah *Staphylococcosis* yang disebabkan oleh genus *Staphylococcus*.

Staphylococcus aureus adalah salah satu anggota genus *Staphylococcus*, kuman ini secara umum dapat ditemukan pada kulit dan selaput lendir atau mukosa. Kuman ini merupakan kuman patogen yang bersifat invasif, dapat menyerang hewan dengan kejadian penyakit dalam bentuk akut, kronis dan dapat disertai kejadian septikemia. Infeksi kuman ini pada hewan dapat menyebabkan mastitis, pustular dermatitis dan abses (Merchant dan Parker, 1971).

Dari segi ekonomis kejadian mastitis sangat merugikan peternak sapi perah, karena disamping dapat menurunkan produksi air susu dari sapi yang terserang, juga biaya yang dikeluarkan untuk pengobatan relatif mahal dan penyembuhan secara tuntas sering mengalami kesulitan (Anonimus, 1985).

Banyak obat-obatan antimikrobia memiliki efek terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Namun, cepatnya terbentuk resistensi terhadap kebanyakan obat dan ketidakmampuan obat bekerja pada bagian nekrotik sentral dari lesi, menimbulkan kesulitan untuk memberantasnya. Obat antimikrobia yang dapat digunakan untuk pengobatan terhadap infeksi kuman ini antara lain; penisilin, tetrasiklin, aminoglikosid dan eritromisin (Jawetz, 1995).

Pada daerah yang jauh dari perkotaan sering kali kesulitan untuk mendapatkan obat antibiotik untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme, oleh karena itu perlu alternatif pengobatan dengan menggunakan bahan-bahan alami yang terdapat di sekitar lingkungan tempat mereka tinggal. Salah-satu alternatif yang dapat digunakan adalah daun beluntas.

Tumbuhan beluntas (*Pluchea indica Less*) tersebar hampir di seluruh wilayah nusantara, tumbuhan ini telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia digunakan untuk pengobatan pada manusia, termasuk tumbuhan yang mudah di dapatkan dan murah harganya. Daun beluntas berkhasiat untuk menambah nafsu makan dan membantu pencernaan serta digunakan untuk menghilangkan bau keringat (Heyne, 1987).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian diatas, rumusan masalah yang di ajukan adalah:

1. Apakah perasan daun beluntas dapat menghambat atau membunuh kuman *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

2. Berapa konsentrasi terendah dari perasan daun beluntas yang menghambat atau membunuh kuman *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasar perumusan masalah di atas dapat ditetapkan tujuan penelitian sebagai berikut :

1. Membuktikan apakah pemberian perasan daun beluntas dapat menghambat atau membunuh kuman *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
2. Mengetahui konsentrasi minimal dari perasan daun beluntas yang dapat menghambat atau membunuh *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.4 Landasan Teori

Daun beluntas mengandung benzil alkohol, benzil asetat dan linolol (Rasmehudi, 1986). Benzyl alkohol adalah salah satu derivat alkohol yang dapat menyebabkan denaturasi protein sel bakteri, selain itu aktivitas benzil alkohol dapat pula menyebabkan hambatan pada sistem fosforilasi, yang efeknya terlihat jelas pada mitokondria, yaitu pada hubungan substrat-Nikotinamid Adenin Dinukleotida (NAD). Eugenol adalah salah satu derivat fenol, berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah akan terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan akan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol kedalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi akan

menyebabkan koagulasi protein dan lisisnya membran sel. Eugenol mempunyai koefisien fenol sebesar 14,4 kali lebih tinggi dibanding fenol (Siswandono dan Sukardjo, 1995).

Staphylococcus aureus tidak tahan terhadap sinar matahari langsung, mati oleh fenol 1% selama 15 menit dan mati oleh fenol 2 % selama 12 menit (Merchant dan Parker, 1971).

1.5 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan landasan teori di atas maka hipotesa yang dapat ditarik pada penelitian kali ini adalah:

Perasan daun beluntas dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh kuman *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*

1.6 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan tambahan wawasan tentang khasiat dan kegunaan tumbuhan tradisional yang ada di sekitar kita khususnya daun beluntas sebagai alternatif pengobatan terhadap infeksi kuman *Staphylococcus aureus*.

BAB II

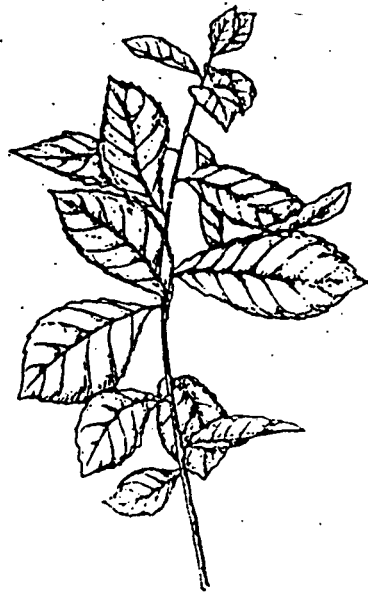
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

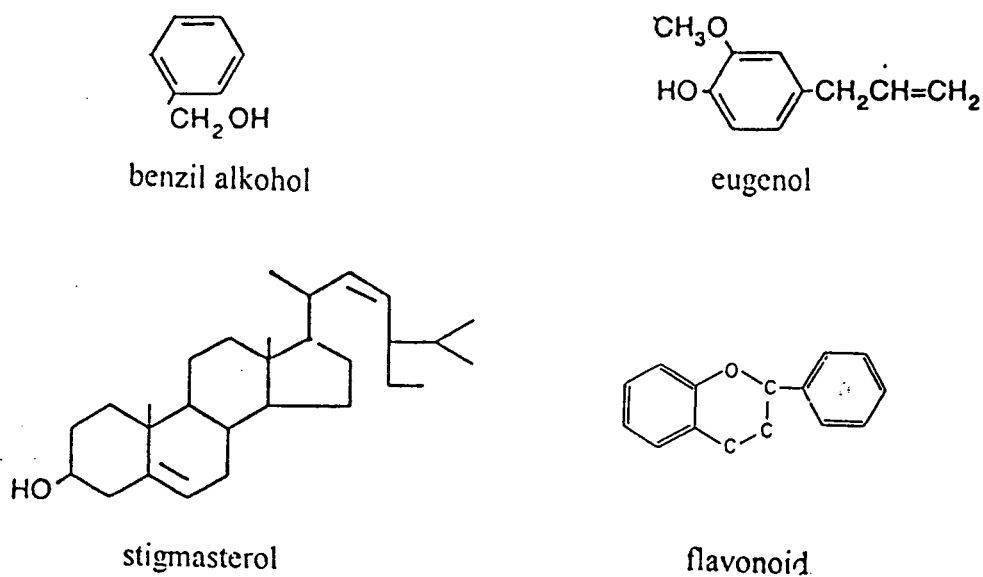
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Beluntas

Tanaman beluntas dapat tumbuh liar di hutan, ladang serta dapat ditanam di halaman rumah sebagai tanaman pagar. Beluntas mempunyai nama latin *Pluchea indica* Less., tumbuhan ini terdapat hampir di seluruh Indonesia dikenal dengan nama yang berbeda tiap-tiap daerah, seperti tersebut di bawah ini ; Beluntas (Sumatra), Luntas (Jawa), Beluntas dan Beruntas (Sunda), Beluntas (Madura), Lamutase (Makasar), Lenaboui (Timor) (Heyne, 1987).



Gambar 1. Tanaman Beluntas (*Pluchea indica* Less)

Beluntas merupakan tanaman perdu yang tumbuh tegak, banyak terdapat di pantai utara dan berkembang biak secara vegetatif (Steenis, 1987). Beluntas juga tumbuh di daerah yang mendapatkan sinar matahari atau sedikit teduh dengan ketinggian 700-1000 m di atas permukaan laut dan Dinas Kehutanan menggunakan tumbuhan ini sebagai tanaman antara di antara tanaman jati yang diremajakan (Heyne, 1987).



Gambar 2. Kandungan Kimia Daun Beluntas

Tumbuhan beluntas mempunyai batang yang berkayu, bulat, tegak, bercabang, kalau masih muda berwarna ungu, setelah tua putih kotor, berbulu seperti beludru (halus), tinggi 0,5 m sampai 2 m kadang-kadang lebih. Helaihan daun lemas, tunggal, bertangkai pendek, letak berseling, berwarna hijau kekuningan sampai hijau tua, berbentuk bulat telur berbalik seperti jorong,

panjang 2,5 cm sampai 9 cm, lebar 1,5 cm sampai 5 cm, ujung daun meruncing, tepi daun bergerigi-bergigi lemah atau kasar, panjang daun tangkai 4 mm sampai 8 mm. Tulang daun menyirip, pada permukaan atas dan bawah daun tidak licin, berambut cukup rapat (Wijayakusuma, dkk., 1992).

Daun Beluntas mengandung benzil alkohol, benzil asetat, eugenol dan linolol (Rasmehudi, 1986), flavonoid dan polifenol (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991), stigmasterol (Iyam, 1984) serta mengandung asam amino esensial (triptofan, treonin, leusin, isoleusin), lemak, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A dan vitamin C (Hakim, 1988).

2.2 Tinjauan Tentang *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk *coccus*, tersusun satu-satu, berpasangan, tersusun empat-empat atau tidak beraturan, juga dapat tersusun seperti buah anggur (Jawetz, 1995), kuman ini berdiameter 0,8-1 mikrometer, tidak berflagella, tidak mempunyai spora, tidak berkapsul. dan pada pewarnaan gram bersifat gram positif (Didik dan Narumi, 1989).

Menurut Merchant dan Parker (1971), *Staphylococcus aureus* tidak tahan terhadap sinar matahari langsung, pada pemanasan 60 ° C selama 30 menit mematikan *Staphylococcus aureus*, karena pada pemanasan tersebut dapat menghancurkan seluruh sel, tetapi beberapa sel membutuhkan temperatur 80 ° C dalam waktu yang sama. Kuman ini lebih tahan terhadap bahan kimia daripada kuman non spora lainnya, kuman ini dapat dibunuh dengan menggunakan larutan fenol 1% selama 15 menit, larutan fenol 2% selama 12 menit, larutan formalin

10% selama 10 menit, dan larutan *gentian violet* pada pengenceran 1 : 25.000 selama 5 sampai 10 menit.

Menurut Jawet dkk., (1996), dinding sel bakteri terdiri atas peptidoglikan, ribitol, teichoic acid dan precipitinogen protein A. *Staphylococcus aureus* menghasilkan bermacam-macam toksin ekstra seluler yang berperan terhadap keganasan penyakit, toksin yang dihasilkan adalah hemotoksin dan dermonekrotoksin (Cottral, 1978). Juga menghasilkan enterotoksin yang bersifat koagulasi positif (dapat menggumpalkan plasma darah) (Nurwantoro dan Djarijah, 1997). Kemampuan memproduksi koagulasi oleh *Staphylococcus aureus* menyebabkan kuman ini dapat dibedakan atas beberapa grup berdasarkan sifat imunitas koagulasenya, yaitu koagulase tipe I sampai IV (Fardiaz, 1993). Enterotoksin yang diproduksi oleh *Staphylococcus aureus*, bersifat tahan panas dan masih aktif setelah dipanaskan pada suhu 100 ° C selama 30 menit (Jawetz, 1995). Enterotoksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*, ini pada manusia dapat menyebabkan gastroenteritis dengan gejala mual, pusing, muntah-muntah dan diare setelah makan atau minum makanan yang mengandung toksin (Soedjoko, dkk., 1989).

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologik dan dapat tumbuh pada kondisi aerobik atau mikroaerobik, sedangkan temperatur yang optimum adalah 37 ° C (Jawetz, 1995). Pada plat agar, *Staphylococcus aureus* membentuk koloni bulat, permukaan halus dan mengkilat, sedikit cembung, tepi koloni tidak beraturan dengan koloni berwarna putih atau keemasan (Cruickshan *et al.*, 1980). Pada media *Manitol Salt Agar*

(MSA) koloni akan tampak berwarna keemasan, yang menunjukkan bahwa koloni tersebut *Staphylococcus aureus*. (Fraizer dan Westhroff, 1988).

Staphylococcus aureus dapat membentuk asam tanpa gas pada glukosa, maltosa, laktosa, sukrosa, manitol dan gliserol. Dapat membentuk NH_3 dan sedikit H_2S , tidak membentuk indol, reaksi terhadap *methyl red* dan *voges proskouer* positif, mereduksi *methylen blue*, mereduksi nitrat menjadi nitrit serta mencairkan gelatin (Merchant dan Parker, 1971).

Beberapa kasus *Staphylococcus aureus* pada manusia, bakteri ini menyebabkan penyakit pneumonia (sampai mencapai angka mortalitas 50%), endokarditis, bakterimia, meningitis, osteomyelitis, keracunan makanan, *Toxic Shock Syndrom* (TSS) (Wellstood, 1992). Pada osteomyelitis, kuman terdapat pada pembuluh darah bagian terminal dalam metafisis tulang panjang, sehingga dapat terjadi nekrosis dari tulang dan peradangan kronis (Warsa, 1993). Pada hewan, *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan mastitis, pustular dermatitis dan abses (Merchant dan Parker, 1971).

BAB III
MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tentang Pengaruh Pemberian Perasan Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga mulai tanggal 8 sampai 14 Maret 2001.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan-bahan Penelitian :

Kuman *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923 diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, beluntas yang digunakan sebagai bahan penelitian berasal dari daerah Mulyorejo Surabaya, kain kasa steril, aquades steril, media MSA untuk pemupukan kuman *Staphylococcus aureus*, BHI (*Brain Heart Infusion*) Broth dan media MHA (*Muller Hinton Agar*) sebagai media pertumbuhan kuman.

3.2.2 Peralatan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi beserta raknya, pembakar bunsen, inkubator, ose, gelas ukur dan pipet pasteur, timbangan sartorius, corong gelas, vortek, sentrifuge, mortir dan autoclave.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan uji kepekaan metode dilusi yang meliputi MIC (*Minimal Inhibitor Concentration*) dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*).

3.3.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi peralatan penelitian

Sebelum penelitian dilaksanakan, seluruh peralatan yang akan digunakan disterilisasi dengan menggunakan autoclave, sterilisasi dilakukan pada suhu 120 °C, tekanan 2 atm selama 20 menit.

b. Pembuktian *Staphylococcus aureus*

Lima buah koloni kuman *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari isolat murni, diambil dengan ose steril dan ditanam pada media MSA dengan cara goresan (*streak*), kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasil pertumbuhan kuman pada media MSA berbentuk bulat, mengkilat dan berwarna kekuningan. Koloni hasil dari pupukan dilanjutkan dengan pengujian koagulase, katalase dan pewarnaan Gram untuk pemeriksaan di bawah mikroskop.

Pada pewarnaan Gram akan terlihat seperti buah anggur, berwarna ungu, bulat bergrombol. Uji katalase akan bereaksi positif yang menunjukkan adanya enzim katalase. Uji ini membedakan *Staphylococcus aureus* yang bereaksi positif (+) dengan *Sterptococcus* yang bereaksi negatif (-). Uji katalase beraksi positif apabila terbentuk gelembung-gelembung gas. Uji

koagulase digunakan untuk menunjukkan kemampuan kuman mengumpalkan plasma darah kelinci dengan enzim koagulase. Uji ini untuk membedakan *Staphylococcus aureus* yang positif (menggumpalkan plasma darah kelinci)) dengan *Staphylococcus epidermitis* yang negatif (tidak menggumpalkan plasma darah kelinci)

Apabila pada pengujian pembuktian ternyata hasilnya *Staphylococcus aureus*, yaitu koagulase, katalase dan pewarnaan gram menunjukkan hasil positif, maka koloni hasil pupukan MSA ini digunakan untuk suspensi kuman.

c. Pembuatan suspensi kuman

Pembuatan suspensi kuman dilakukan dengan cara mengambil satu koloni kuman hasil pupukan MSA, kemudian dipupuk kembali pada media MSA dan diinkubasi selama 18 jam dengan suhu 37 °C. Koloni hasil pupukan diambil sebanyak 5 koloni dan disuspensikan dengan 1 ml BHI Broth, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 4 jam. Selanjutnya ditambahkan NaCl fisiologis sampai terbentuk kekeruhan yang sesuai dengan standar Mc. Farland No. 1, dimana jumlahnya sama dengan 10^5 - 10^8 organisme permililiter (Bonang dan Kuswardono, 1982).

d. Pembuatan perasan dan pengenceran daun beluntas

Persentase yang digunakan dalam penelitian ini adalah % berat per volume, yang pembuatannya dengan cara menumbuk daun beluntas menggunakan mortil steril sebanyak yang diperlukan, disesuaikan dengan konsentrasi akhir yang diinginkan kemudian ditambahkan aquades steril

sampai batas yang ditentukan kemudian disaring menggunakan kain kasa steril dan ditampung pada gelas ukur. Pada penelitian ini volume akhir sebanyak 5 ml. Adapun urutannya adalah sebagai berikut:

- a. Tabung nomor satu diisi perasan 5 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 100 %).
- b. Tabung nomor dua diisi perasan 4,5 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 90 %).
- c. Tabung nomor tiga diisi perasan 4 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 80 %).
- d. Tabung nomor empat diisi perasan 3,5 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 70 %).
- e. Tabung nomor lima diisi perasan 3 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 60 %).
- f. Tabung nomor enam diisi perasan 2,5 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 50 %).
- g. Tabung nomor tujuh diisi perasan 2 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 40 %).
- h. Tabung nomor delapan diisi perasan 1,5 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 30 %).
- i. Tabung nomor sembilan diisi perasan 1 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 20 %).
- j. Tabung nomor sepuluh diisi perasan 0,5 gram daun beluntas dalam aquades steril 5 ml (konsentrasi 10 %).

k. Tabung nomor sebelas diisi aquades steril 5 ml (konsentrasi 0 %).

Selanjutnya semua isi tabung dicampur hingga homogen dengan menggunakan vortek.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

MIC bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antibakterial yang mampu menghambat pertumbuhan kuman tertentu (Lay, 1994). Caranya yaitu dengan mengambil 1 ml larutan perasan daun beluntas dari masing-masing tabung (konsentrasi 100 % hingga 0 %) dan dimasukkan ke dalam tabung lain, kemudian tiap-tiap tabung tersebut ditambahkan 1 ml suspensi kuman yang disesuaikan dengan standar Mc. Farland No. 1 yang jumlahnya setara dengan $10^5 - 10^8$ organisme permililiter. kemudian dicampur hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Minimal Bactericidal Concentration (MBC)

MBC bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari suatu larutan antibakterial dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada media (Finegold dan Baron, 1986). Caranya yaitu dengan mengambil suspensi kuman pada masing-masing tabung dari uji MIC, kemudian ditanam pada media Muller Hinton Agar (MHA) dengan cara goresan (*streak*), selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C .

3.4 Parameter yang Diamati

Parameter pada penelitian pengaruh pemberian perasan beluntas terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan kuman (MIC) dilihat dari kejernihan cairan pada tabung dan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media pertumbuhan (MBC).

3.5 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan sebelas perlakuan serta empat ulangan. Perlakuan yang diberikan meliputi berbagai konsentrasi perasan daun beluntas (*Pluchea indica Less*) mulai dari 100 % hingga 0 %. Hasil yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan analisis probit.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan penelitian tentang Pengaruh Pemberian Perasan Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923 Secara In Vitro, menunjukkan bahwa konsentrasi diatas 57,48 % dari perasan daun beluntas mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan kuman. Hasil selengkapnya penelitian ini dapat ditunjukkan pada Tabel 1.

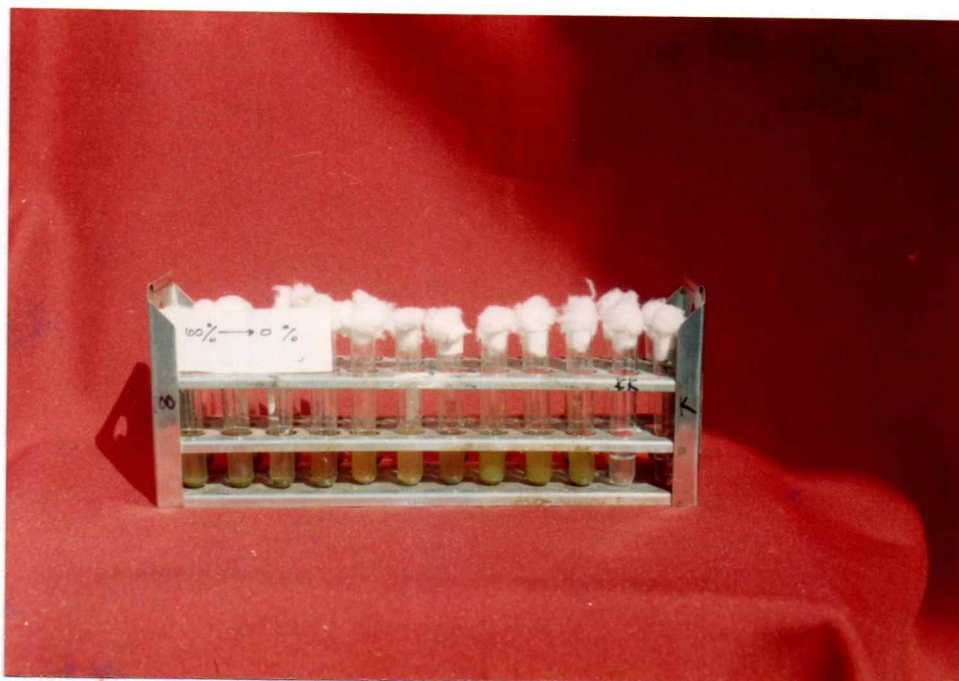
Tabel 1. Hasil Pengamatan Penghambatan Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* setelah Perlakuan dengan Perasan Daun Beluntas

No.	Perlakuan (%)	Ulangan			
		I	II	III	IV
1	0	-	-	-	-
2	10	-	-	-	-
3	20	-	-	-	-
4	30	-	-	-	-
5	40	-	-	-	-
6	50	-	+	+	+
7	60	+	+	+	+
8	70	+	+	+	+
9	80	+	+	+	+
10	90	+	+	+	+
11	100	+	+	+	+

Keterangan :

- (+) Jernih = terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri
 (-) Keruh = tidak terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri

Bentuk penghambatan kuman ini ditunjukkan dengan terlihat jernihnya campuran antara suspensi kuman dengan perasan daun beluntas, seperti yang tampak pada Gambar 3. dibawah ini.

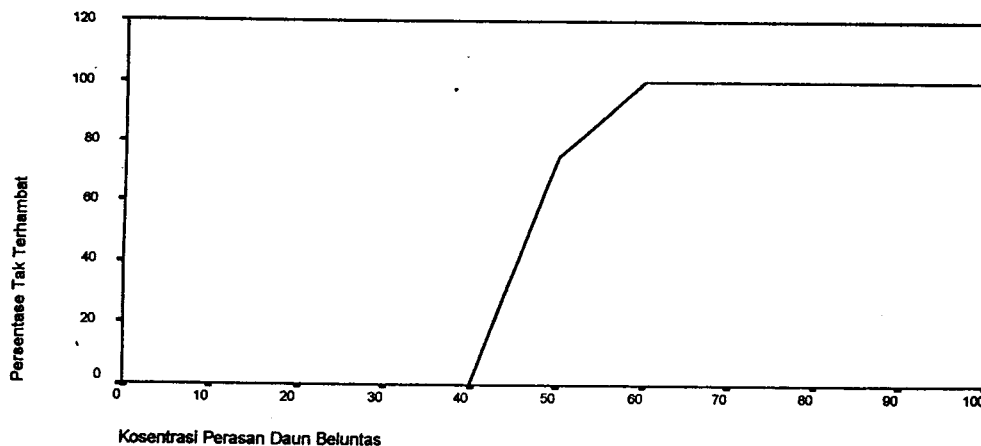


Gambar 3. Hasil Pengamatan MIC Perasan Daun Beluntas Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro

Konsentrasi mulai timbul penghambatan pertumbuhan terdapat pada konsentrasi 38,86 % dan tingkat penghambatan pertumbuhan kuman ini sejajar dengan peningkatan konsentrasi perasan daun beluntas yang diberikan. Pada konsentrasi diatas 57,48 % tingkat penghambatannya mencapai 100 % . Hubungan antara terjadinya penghambatan pertumbuhan kuman dengan konsentrasi perasan daun beluntas yang diberikan dapat ditunjukkan oleh fungsi $y = (-12,04 \pm 7,3,9) - (0,25 \pm 0,15) x$, dimana y menunjukkan hambatan pertumbuhan kuman dan x adalah konsentrasi perasan daun beluntas yang diberikan. Hasil penelitian penentuan nilai MBC perasan daun

beluntas terhadap kuman *Staphylococcus aureus* secara invitro ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi diatas 69,44 % dapat membunuh kuman sampai 100% (Lampiran 1).

Hubungan antara penghambatan pertumbuhan kuman dengan konsentrasi perasan daun beluntas yang diberikan dapat digambarkan secara kasar oleh Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Analisis Probit pada Bagian Kuman *Staphylococcus aureus* yang Tidak Terhambat setelah Pemberian Perasan Daun Beluntas dengan Beberapa Konsentrasi yang Diulang Sebanyak Empat Kali

Hasil penelitian pertumbuhan kuman pada media MHA menerangkan bahwa pada konsentrasi diatas 69,44 % perasan daun beluntas dapat membunuh *Staphylococcus aureus* secara in vitro, dan hasil selengkapnya penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* setelah Perlakuan dengan Perasan Daun Beluntas

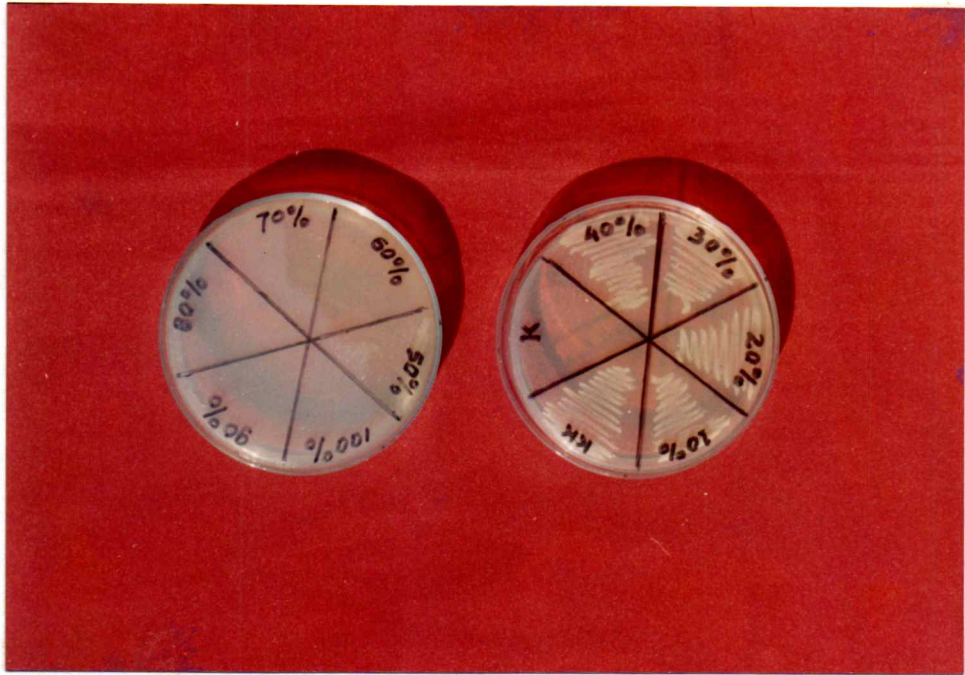
No.	Perlakuan (%)	Ulangan			
		I	II	III	IV
1	0	+	+	+	+
2	10	+	+	+	+
3	20	+	+	+	+
4	30	+	+	+	+
5	40	+	+	+	+
6	50	+	-	+	+
7	60	-	-	+	-
8	70	-	-	-	-
9	80	-	-	-	-
10	90	-	-	-	-
11	100	-	-	-	-

Keterangan :

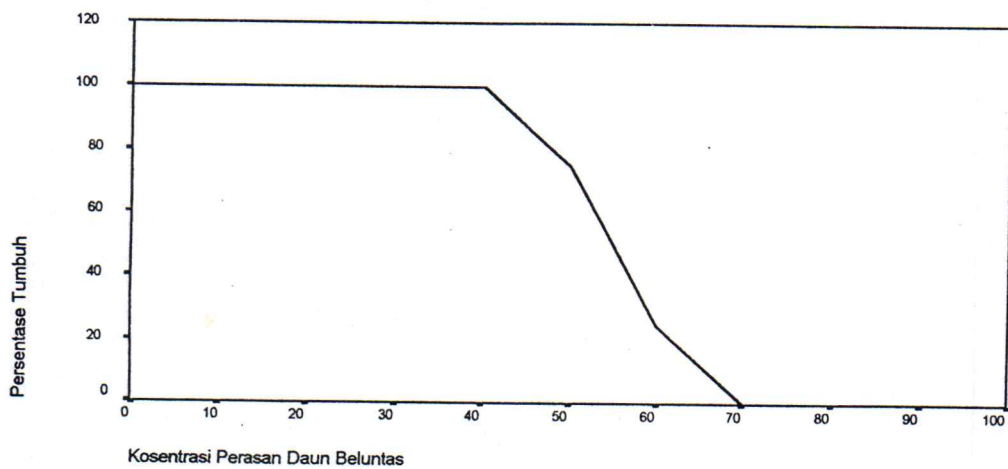
- (+) = terjadi pertumbuhan bakteri
 (-) = tidak terjadi pertumbuhan bakteri

Tidak adanya pertumbuhan kuman pada media MHA yang merupakan parameter pada penentuan MBC dapat diterangkan pada Gambar 5. Sedangkan konsentrasi mulai tidak adanya pertumbuhan kuman pada media terjadi pada konsentrasi 40,68 %, yang apabila diberikan perlakuan pada konsentrasi tersebut terdapat satu kuman yang mati dari seratus kuman yang tumbuh . Peningkatan kematian kuman ini sebanding dengan peningkatan konsentrasi perasan daun beluntas yang diberikan. Apabila konsentrasi ditingkatkan diatas 69,44 % dengan

kisaran antara 61,49 % sampai 159,37 % maka kuman akan mati seluruhnya (Lampiran 2.).



Gambar 5. Hasil Pengamatan MBC Perasan Daun Beluntas Terhadap *Staphylococcus aureus* pada Media MHA



Gambar 6. Hasil Analisis Probit pada Bagian Kuman yang Ditumbuhkan *Staphylococcus aureus* setelah Pemberian Perasan Daun Beluntas dengan Beberapa Konsentrasi yang Diulang Sebanyak Empat Kali

Hubungan antara pertumbuhan kuman pada media MHA dengan konsentrasi perasan daun beluntas yang diberikan dapat diterangkan melalui fungsi $y = (8,91 \pm 3,94) - (-0,16 \pm 0,07) x$, y menunjukkan kematian kuman dan x adalah konsentrasi perasan daun beluntas (Lampiran 2.). Dan hubungan antara kematian kuman dengan konsentrasi perasan daun beluntas yang diberikan secara kasar dapat ditunjukkan oleh Gambar 6.

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V**PEMBAHASAN**

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh Pemberian Perasan Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, yang dilaksanakan dengan metode Dilusi dengan cara menambahkan satu bagian perasan daun beluntas dengan satu bagian kuman yang telah disesuaikan dengan standar Mc. Farland No. 1 yang terdiri atas berbagai konsentrasi . Diketahui bahwa konsentrasi minimal perasan daun beluntas yang dapat menghambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* adalah 57,48 %, sedangkan konsentrasi minimal yang dapat membunuh kuman tersebut adalah 69,44 %.

Penentuan konsentrasi minimal perasan daun beluntas yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah dengan melakukan pemeriksaan kejernihan dan kekeruhan dan dibandingkan dengan kontrol. Adanya kekeruhan menandakan adanya pertumbuhan kuman dan sebaliknya bila jernih menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan kuman. Sedangkan penentuan konsentrasi minimal perasan daun beluntas yang dapat membunuh kuman dilakukan dengan cara penanaman pada media MHA (*Muller Hinton Agar*).

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) perasan daun beluntas lebih rendah dari nilai MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*). Hal ini sesuai dengan pendapat Lay (1994) dan Muslimin (1995) serta Wattimena dkk.(1991), bahwa bahan antibakterial kelompok bakterisid pada konsentrasi rendah dapat bersifat bakteristatik atau

menghambat pertumbuhan kuman, memperlambat proses metabolisme dan dapat pula tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan kuman apabila konsentrasi yang diberikan sangat rendah.

Hambatan pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* pada penelitian ini disebabkan oleh kandungan kimia yang terkandung dalam daun beluntas. Menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991), menyebutkan bahwa kandungan daun beluntas adalah saponin, flavonoid dan polifenol. Sedangkan Wijayakusuma (1992) menambahkan daun beluntas mempunyai kandungan alkaloid dan minyak atsiri. Pada penelitian Rasmehudi (1986) menyebutkan bahwa minyak atsiri daun beluntas mengandung benzil alkohol, benzil asetat, eugenol dan linolol.

Benzil alkohol adalah salah-satu derivat atau turunan alkohol dan mempunyai aktivitas yang hampir sama dengan alkohol yaitu dapat menyebabkan denaturasi sel bakteri melalui penghambatan sistem fosforilasi dan efeknya terlihat jelas pada mitokondria yaitu pada hubungan pada substrat-NAD (*Nikotinamid Adenin Dinukleotida*). Eugenol adalah salah-satu derivat fenol yang juga efek atau mekanismenya hampir sama dengan fenol itu sendiri, yaitu berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, selanjutnya diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein, sedangkan pada kadar yang tinggi dapat menyebabkan koagulasi protein dan lisisnya sel membran (Siswandono dan Sukardjo, 1995).

Flavonoid meliputi banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada semua tumbuhan mulai dari fungus sampai *angiospermae* (Robinson, 1995). Flavonoid adalah salah satu metabolit sekunder yang mempunyai berbagai jenis bioaktivitas mulai yang bersifat , insektisida, hormonal, antimikrobial, toksin dan lain-lain. Metabolit sekunder ini dipandang sebagai "*chemical messenger*" yang artinya metabolit sekunder yang dihasilkan oleh makhluk hidup sebagai alat komunikasi dalam proses interaksi antara sesama atau masing-masing makhluk hidup, yang mempengaruhi metabolisme makhluk hidup yang bersangkutan. Atau dengan kata lain metabolit sekunder dapat berfungsi sebagai pengendali pertumbuhan untuk diri sendiri atau makhluk hidup lain dalam proses simbiosis, dapat sebagai penarik serangga untuk proses reproduksi dan dapat sebagai senjata kimia untuk mempertahankan diri dari makhluk lain (Syamsul Arifin dkk., 1990). Flavonoid sering disebut juga sebagai vitamin P (*Permeability factor*) karena berkhasiat menurunkan permeabilitas kapiler sehingga dapat mencegah pendarahan kapiler dan memperbaiki kerapuan kapiler (Evans, 1985).

Menurut Merchan dan Parker (1971) *Staphylococcus aureus* tidak tahan terhadap sinar matahari secara langsung, mati pada larutan fenol 1 % selama 15 menit, mati pada larutan fenol 2 % selama 12 menit, mati dalam larutan formalin 10 % selama 10 menit. Sedangkan penelitian Rasmehudi (1986) menyebutkan daun beluntas memiliki kandungan eugenol yang lebih lanjut dijelaskan oleh Siswandono dan Sukarjo (1995) eugenol memiliki koefisien fenol 14,4 kali lebih besar dari fenol. Sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa daun beluntas memiliki kemampuan sebagai bahan antimikrobial.

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI**KESIMPULAN DAN SARAN****KESIMPULAN**

Setelah dilakukan penelitian tentang Pengaruh Pemberian Perasan Daun Beluntas (*Pluchea Indica Less*) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro dengan menggunakan metode Dilusi maka dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi diatas 57,48 % perasan daun beluntas dapat menghambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi diatas 69,44 % dapat membunuh kuman tersebut secara *in vitro*.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan sebelumnya maka saran yang dapat diberikan untuk penelitian lebih lanjut:

1. Perlu dilakukan terapan penelitian secara *in vivo* perasan daun beluntas terhadap infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bentuk sediaan dan kuman yang lain pada penelitian ini.
3. Perlu penelitian lebih lanjut tentang kandungan kimia daun beluntas yang secara spesifik berpengaruh terhadap pertumbuhan kuman.

RINGKASAN

SUMITRO. Pengaruh Pemberian Perasan Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro dibawah bimbingan Ibu Julien Supraptini, S.U., Drh., sebagai pembimbing pertama dan Bapak Sri Agus Sudjarwo, Ph.D., Drh. sebagai pembimbing kedua.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah perasan daun beluntas dapat menghambat atau membunuh kuman *Staphylococcus aureus* secara in vitro dan apabila berpengaruh, berapakah konsentrasi yang terendah yang dapat menghambat atau membunuh kuman tersebut.

Penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* strain ATCC (*American Type Culture Collection*) 25923, sedangkan metode yang digunakan adalah metode Dilusi dengan konsentrasi; 0 %, 10 %, 20 %, 30 %, sampai 100 %. Pada pelaksanaan MIC masing-masing konsentrasi perasan daun beluntas diambil 1 ml dan ditambah 1 ml suspensi kuman *Staphylococcus aureus* yang telah disesuaikan dengan standar Mc Farland no. 1. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan dilihat kejernihannya yang menandakan adanya penghambatan pertumbuhan kuman. Selanjutnya ditanam pada media MHA (*Muller Hinton Agar*) dengan cara streak untuk penentuan nilai MBC -nya, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian dilihat pertumbuhan bakterinya. Perlakuan ini diulang sebanyak empat kali.

Parameter yang diamati pada penelitian kali ini adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus*

(MIC) dan yang dapat membunuh kuman *Staphylococcus aureus* (MBC). Rancangan percobaan yang dipakai pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis Probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi terendah perasan daun beluntas yang dapat menghambat pertumbuhan kuman *Staphylococcus aureus* adalah 57,48 % dan konsentrasi terendah yang dapat membunuh kuman tersebut adalah 69,44 %.

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa perasan daun beluntas mempunyai kemampuan sebagai bahan antibakterial terhadap *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa eugenol, benzil alkohol dan flavonoid yang terkandung di dalamnya. Sehingga daun beluntas dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan pengganti antibiotik terutama di daerah pedesaan terhadap infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Bonang, G. dan E. S. Kuswardono. 1982. Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik. Gramedia. Jakarta.
- Cottral. G. E. 1978 Manual of Standardized Methode for Veteriner Microbiology Comstock Publishing a Division of Cornell University Press Ithaca and London.
- Cruickshand, R., Duguid, J.P., Marmion, B.P. and Swain. 1980. Medical Mikrobiologi. 12th Ed. Churchill Livingstone. Edinburg. London and New York. Vol. 11.
- Didik Handijatno, H. E. Narumi. 1989. Bakteri Gram Positif. Diklat : Kuliah Bakteriologi. Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Evans, W.C. 1985. Pharmacognosi Trease , Evans. 12th ed. Baillcre Tindall. London.
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Finegold, S. M. and E. J. Baron. 1986. Diagnostic Microbiology. 7th Ed. The CV. Moby Company. ST. Louis.
- Frazier, W. C. and D. C. Westhoff. 1988. Food Microbiology. 4th Ed. Mc. Graw-Hill, Inc. United State Of America.
- Hakim, A. S. 1988. Bunga Rampai Petunjuk Praktis Pemanfaatan Tanaman Berkhasiat Indonesia. Jilid I. Jakarta.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid I. Cetakan ke-satu. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kehutanan.
- Ilmu Penyakit Bakterial. Diklat Kuliah Ilmu Bakterial. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Iyam, S. S. 1984. Pemeriksaan Pendahuluan Senyawa kimia Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*). Skripsi pada Jurusan Farmasi-FMIPA. Institut Teknologi Bandung. Bandung

- Jawetz, E. 1995. Prinsip Kerja Obat Antimikroba. *In* Katzung, B.G. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi Ketiga. Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Jawetz, Melnick and Adelberg. 1996. Mikrobiologi Kedokteran. Alih Bahasa Nugroho Adi dan Maulany, R.F. Edisi 20. Penerbit Buku Kedokteran. E.G.C.
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Cetakan Ke-satu. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Medical Herb Index In Indonesia. 1986. PT. Eisai Indonesia. Jakarta.
- Merchant, I.A. And R.A. Parker. 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 7th Ed. The Iowa State University Press Amess, Iowa, USA.
- Muslimin, L.W. 1995. Mikrobiologi Lingkungan. Universitas Hasanuddin Bekerjasama dengan Proyek Pengembangan Pusat Studi Lingkungan . Direktorat Jenderal Pendidikan dan kebudayaan ..
- Nurwantoro dan A. S. Djarijah . 1997. Mikrobiologi Pangan Hewani-Nabati. Cetakan Ke-satu. Kanisius. Yogyakarta.
- Penyakit Mastitis Merupakan Masalah yang Serius. 1985. Swadaya Peternakan Indonesia. No. 6. Juni-Juli .
- Rasmehudi, 1986. Pemeriksaan Minyak Atsiri dan Flavanoid dari Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*). Skripsi pada Jurusan Farmasi-FMIPA. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Robinson. 1995. Terjemahan oleh Kosasih. P. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Edisi ke-enam. Penerbit Institut Teknologi Bandung
- Siswandono dan B., Sukarjo. 1995. Kimia Medisinal. Airlangga University Press.
- Soedjoko, R.B., Sudarno, R. Kusdarwati. 1989. Dasar-Dasar Bakteriologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
- Steenis, C. G. G. J. V. 1987. Flora Untuk Sekolah di Indonesia. PT. Pradya Paramita. Jakarta.
- Syamsuhidayat, S. S. dan J. R. Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Departemen Kesehatan RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.

- Syamsul Arifin, A.A. , E. Hollisotan, H., Lukman, M. 1990 . Flavonoid dan Phytomedika, Kegunaan dan Prospek.. Phytomedika. Volume I. No. 2.
- Warsa, U. K. 1993. Mikrobiologi Kedokteran. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Wattimena, J. R., Sugiarto, N. C. Widiyanto, M. B. Sukandar, E.Y. Sumardji,, Andreanus dan Setiadi. 1991. Farmakodinami dan Terapi Antibiotik. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wellstood, S. 1992. Gram Positive Cocci in Encyclopedia of Microbiology. Vol. 2. Academic Press, Inc., San Diego. California.
- Wijayakusuma, H. M. H., A.S. Wirian, T. Yaputro, S. Dalimartho, B. Wibowo. 1992. Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia. Pustaka Kartini. Jakarta.

LAMPIRAN

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis Probit Penentuan Nilai MIC Perasan Daun Beluntas Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro

***** PROBIT ANALYSIS *****

DATA Information

11 unweighted cases accepted.
0 cases rejected because of missing data.
1 case is in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

>Warning # 13527

>Parameter estimates did not converge in maximum number of iterations.
Number of iterations = 20
Optimal solution not found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
PERLAKUA	.24996	.15132	1.65182

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-12.04075	7.39252	-1.62878

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = .190 DF = 9 P = 1.000
Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Observed and Expected Frequencies

PERLAKUA	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	4.0	.0	4.3394E-33	-4.3394E-33	1.1E-33
10.00	4.0	.0	2.8243E-21	-2.8243E-21	7.1E-22
20.00	4.0	.0	3.8007E-12	-3.8007E-12	9.5E-13
30.00	4.0	.0	.000	.000	.00000
40.00	4.0	.0	.082	-.082	.02055
50.00	4.0	3.0	2.705	.295	.67620
60.00	4.0	4.0	3.994	.006	.99845
70.00	4.0	4.0	4.000	.000	1.00000
80.00	4.0	4.0	4.000	3.5527E-15	1.00000
90.00	4.0	4.0	4.000	.000	1.00000
100.00	4.0	4.0	4.000	.000	1.00000

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective PERLAKUA
95% Confidence Limits

Prob	PERLAKUA	Lower	Upper
.01	38.86427	.	.
.02	39.95486	.	.
.03	40.64680	.	.
.04	41.16732	.	.
.05	41.59072	.	.
.06	41.95110	.	.
.07	42.26708	.	.
.08	42.55001	.	.
.09	42.80732	.	.
.10	43.04418	.	.
.15	44.02482	.	.
.20	44.80420	.	.
.25	45.47284	.	.
.30	46.07330	.	.
.35	46.62971	.	.
.40	47.15770	.	.
.45	47.66853	.	.
.50	48.17126	.	.
.55	48.67399	.	.
.60	49.18482	.	.
.65	49.71281	.	.
.70	50.26922	.	.
.75	50.86968	.	.
.80	51.53832	.	.
.85	52.31770	.	.
.90	53.29835	.	.
.91	53.53520	.	.
.92	53.79251	.	.
.93	54.07544	.	.
.94	54.39142	.	.
.95	54.75180	.	.
.96	55.17520	.	.
.97	55.69572	.	.
.98	56.38766	.	.
.99	57.47825	.	.

Lampiran 2. Hasil Analisis Probit Penentuan Nilai MBC Perasan Daun Beluntas Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro

***** PROBIT ANALYSIS *****

DATA Information

11 unweighted cases accepted.
 0 cases rejected because of missing data.
 1 case is in the control group.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

>Warning # 13527

>Parameter estimates did not converge in maximum number of iterations.
 Number of iterations = 20
 Optimal solution not found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
PERLAKUA	-.16180	.07102	-2.27827
	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	8.90901	3.93738	2.26268

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = .142 DF = 9 P = 1.000
 Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Observed and Expected Frequencies

PERLAKUA	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	4.0	4.0	4.000	.000	1.00000
10.00	4.0	4.0	4.000	6.1551E-13	1.00000
20.00	4.0	4.0	4.000	.000	1.00000
30.00	4.0	4.0	4.000	.000	.99997
40.00	4.0	4.0	3.970	.030	.99260
50.00	4.0	3.0	3.174	-.174	.79362
60.00	4.0	1.0	.849	.151	.21216
70.00	4.0	.0	.031	-.031	.00783
80.00	4.0	.0	.000	.000	.00003
90.00	4.0	.0	.000	.000	7.9E-09
100.00	4.0	.0	7.1401E-13	-7.1401E-13	1.8E-13

***** PROBIT ANALYSIS *****
 **

Confidence Limits for Effective PERLAKUA

Prob	PERLAKUA	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	69.44003	61.49312	159.37422
.02	67.75523	60.42184	147.47973
.03	66.68628	59.71862	139.95659
.04	65.88215	59.17394	134.31290
.05	65.22806	58.71870	129.73437
.06	64.67132	58.32101	125.84754
.07	64.18317	57.96330	122.44856
.08	63.74609	57.63480	119.41340
.09	63.34858	57.32837	116.66070
.10	62.98267	57.03901	114.13414
.15	61.46772	55.74511	103.76935
.20	60.26369	54.55733	95.69118
.25	59.23073	53.35748	88.94167
.30	58.30311	52.05916	83.10121
.35	57.44353	50.57481	77.97043
.40	56.62787	48.80306	73.46506
.45	55.83871	46.62963	69.56530
.50	55.06206	43.94566	66.27238
.55	54.28541	40.67724	63.56390
.60	53.49625	36.79895	61.36900
.65	52.68059	32.31058	59.58025
.70	51.82101	27.19247	58.08323
.75	50.89338	21.36124	56.77568
.80	49.86043	14.61846	55.56910
.85	48.65639	6.54529	54.37632
.90	47.14144	-3.81566	53.07858
.91	46.77553	-6.34155	52.78855
.92	46.37803	-9.09359	52.48147
.93	45.94095	-12.12813	52.15234
.94	45.45280	-15.52649	51.79401
.95	44.89606	-19.41271	51.39571
.96	44.24196	-23.99064	50.93987
.97	43.43783	-29.63371	50.39457
.98	42.36888	-37.15619	49.69068
.99	40.68409	-49.04990	48.61863