

SKRIPSI

**DAYA ANTIBAKTERIAL EKSTRAK WORTEL
(DAUCUS CARROTA) TERHADAP
SALMONELLA PULLORUM
SECARA IN VITRO**



Oleh :

RAKHMA NUR HIDAYATI
MALANG - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002**

DAYA ANTIBAKTERIAL EKSTRAK WORTEL (*DAUCUS CARROTA*)

TERHADAP *SALMONELLA PULLORUM*

SECARA *IN VITRO*

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh

RAKHMA NUR HIDAYATI

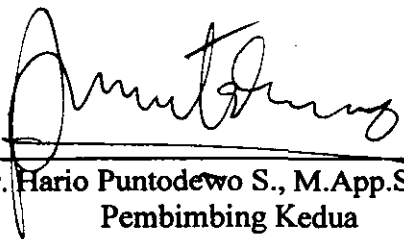
NIM. 069712421

Menyetujui

Komisi Pembimbing,

Almarhumah

Hj. Sorini Hartini, drh.
Pembimbing Pertama



Dr. Hario Puntodewo S., M.App.Sc, 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

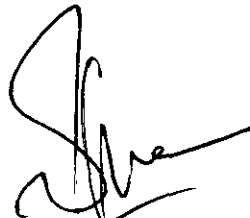
Menyetujui,
Panitia penguji



Erni Rosilawati S. I., M.S., drh.
Ketua



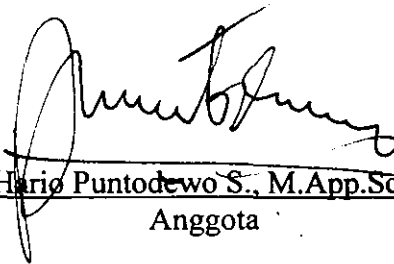
Didik Handijatno, M.S., drh.
Sekretaris



Lilik Maslachah, M.Kes., drh.
Anggota

Almarhumah

Hj. Sorini Hartini, drh.
Anggota



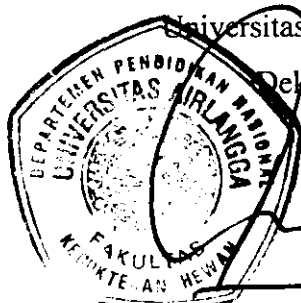
Dr. Harjo Puntodewo S., M.App.Sc., drh.
Anggota

Surabaya, 18 September 2002

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh
NIP. 130 687 297

DAYA ANTIBAKTERIAL EKSTRAK WORTEL (*DAUCUS CARROTA*)

TERHADAP *SALMONELLA PULLORUM*

SECARA *IN VITRO*

Rakhma Nur Hidayati

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakterial ekstrak wortel (*Daucus carrota*) terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro* dan konsentrasi efektifnya.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode dilusi yang dimodifikasi dengan konsentrasi ekstrak wortel 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Suspensi bakteri yang digunakan adalah *Salmonella pullorum* dalam larutan *Physiology Zout* (PZ) dan kekeruhannya disesuaikan dengan standar Mc. Farland I dengan perkiraan jumlah bakteri 3×10^8 sel/ml.

Parameter yang diamati adalah konsentrasi terendah yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri (*Minimal Bactericidal Concentration*). Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan Khi-kuadrat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak wortel mempunyai konsentrasi efektif atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) sebesar 40%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur kehadiran Allah SWT, atas nikmat yang diberikan sehingga penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan. Tak lupa shalawat serta salam selalu tercurahkan untuk Rasulullah Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan orang-orang yang selalu mengikuti sunnahnya.

Segala rasa hormat, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Almarhumah Hj. Sorini Hartini, drh., selaku pembimbing pertama dan Dr. Hario Puntodewo S., M.App. Sc, drh., selaku pembimbing kedua yang telah bersedia memberikan bimbingan, arahan, saran, kritik dan nasehat yang sangat berguna dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Ibu Wiwik Tyasningsih, M.Kes, drh selaku dosen wali yang telah memberikan bantuan moral dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi.

Terima kasih juga kepada Bapak Didik Handijatno, M.S., drh. selaku kepala Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi serta Bapak Herman Setyono, M.S, drh selaku kepala Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Kedokteran Hewan Univesitas Airlangga beserta staf yang telah berkenan membantu dan menyediakan tempat untuk penelitian.

Terima kasih juga kepada Bapak Mustofa Helmi Effendi, DTAPH, drh. yang telah banyak memberikan masukan yang berguna demi terselesaikannya skripsi ini. Kepada Ibu Erni Rosilawati S.I., M.S., drh. dan Ibu Lilik Maslachah,

M.Kes., drh. selaku tim penguji yang juga telah memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini.

Kepada Bapak dan Ibu tercinta, Mas Dayat dan adikku Fifit yang memberi dorongan semangat dan doa restunya selama penulis menjalani pendidikan, terima kasih yang sebesar-besarnya.

Kepada teman-temanku S1 angkatan '97, terima kasih atas bantuannya terutama sobat-sobatku: Isa, Ferra, dan Evi. Buat Mas Aris yang selalu sabar mengarahkan dan memberi saran untuk perbaikan skripsi ini, serta untuk keluarga di Malang terutama Vera yang sudah banyak membantu pengetikan skripsi ini.

Akhirnya kepada semua pihak yang tidak sempat disebutkan, penulis ucapkan terima kasih atas bantuan dan perhatiannya. Semoga amal baiknya mendapat imbalan yang setara dari Allah SWT. Amin.

KATA PENGANTAR

Merujuk pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa wortel memiliki daya antibakterial. Peneliti sebelumnya telah menemukan bahwa wortel dalam bentuk ekstrak atau maserasi memiliki daya antilisteria. Kemudian penelitian tersebut dijadikan dasar untuk penelitian selanjutnya pada berbagai macam bakteri diantaranya adalah *Staphylococcus aureus*. Hasilnya ternyata, jus wortel dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Berdasar penelitian tersebut timbullah ide untuk mengetahui daya antibakterial ekstrak wortel terhadap *Salmonella pullorum*. Alasan dipilihnya bakteri ini karena *Salmonella pullorum* karena spesies ini sangat patogen dengan penyebaran penyakit yang sangat cepat dan sampai sekarang masih menjadi momok bagi perusahaan peternakan ayam.

Serangkaian percobaan dengan konsentrasi ekstrak wortel yang berbeda dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan *Salmonella pullorum*.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, sehingga perlu penelitian-penelitian lebih lanjut sebagai perbaikan.

Malang, 9 Mei 2002

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.5. Landasan Teori	4
1.6. Hipotesis Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Tinjauan tentang Wortel (<i>Daucus carota</i>).....	6
2.1.1. Klasifikasi.....	6
2.1.2. Morfologi dan Penyebaran	7
2.1.3. Jenis-jenisnya	8
2.1.4. Syarat Tumbuh	9
2.1.5. Kandungan Kimia Wortel	10
2.1.6. Kegunaan Wortel.....	11
2.2. Tinjauan tentang Bahan Antibakterial.....	11
2.3. Tinjauan tentang Uji Kepekaan Antibakterial.....	12

2.4. Tinjauan tentang <i>Salmonella pullorum</i>	13
2.4.1. Klasifikasi	13
2.4.2. Sejarah dan Morfologi.....	14
2.4.3. Nama lain	14
2.4.4. Sifat Biokimia	14
2.4.5. Resistensi Kuman.....	15
2.4.6. Struktur Antigen.....	16
2.4.7. Patogenitas	16
BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN	18
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2. Materi Penelitian	18
3.2.1. Bahan Penelitian.....	18
3.2.2. Alat Penelitian.....	19
3.3. Metode Penelitian	19
3.3.1. Persiapan Penelitian	20
3.3.2. Pelaksanaan Penelitian	22
3.4. Parameter yang Diamati	23
3.5. Analisis Data	23
BAB IV HASIL PENELITIAN	24
BAB V PEMBAHASAN	27
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	34
6.1. Kesimpulan	34
6.2. Saran.....	34

RINGKASAN.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman Wortel (<i>Daucus carota</i>)	7
2. Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Negatif	30
3. Struktur Membran Sitoplasma.....	30
4. Hasil Pengamatan MIC Ekstrak Wortel terhadap <i>Salmonella pullorum</i> Secara <i>In Vitro</i>	54
5. Hasil Pengamatan MBC Ekstrak Wortel terhadap <i>Salmonella pullorum</i> pada Media MHA	54
6. Hasil Uji Biokimia <i>Salmonella pullorum</i>	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Komposisi Zat Gizi dalam 100 g wortel menurut Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI (1989)	10
2. <i>Minimal Bactericidal Concentration</i> (MBC) Ekstrak Wortel (<i>Daucus carota</i>) terhadap <i>Salmonella pullorum</i> secara <i>In Vitro</i>	24
3. Analisis Khi-kuadrat konsentrasi 40% dan 30%	25
4. Analisis Khi-kuadrat konsentrasi 30% dan 20%	25
5. Analisis Khi-kuadrat konsentrasi 40% dan 20%	25
6. Hasil Uji Identifikasi.....	42

BAB I

PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Salmonella merupakan bakteri yang biasanya menimbulkan infeksi pada saluran pencernaan. Bakteri ini selain menyerang hewan juga dapat menimbulkan penyakit pada manusia. Bakteri ini sangat merugikan peternak, salah satu spesiesnya adalah *Salmonella pullorum*. *Salmonella pullorum* adalah bakteri yang menyerang ayam dengan gejala klinis yang khas yaitu diare kapur. Anak ayam yang terserang bakteri ini angka kematian mencapai 50% - 90%, sedangkan angka kematian pada ayam dewasa berkisar antara 5% - 25%. Bakteri ini juga menyerang ovarium sehingga dapat menyebabkan gangguan produksi telur dan menurunkan daya tetas telur. Penyakit yang ditimbulkan oleh *Salmonella pullorum* sampai saat ini belum ada obat yang mampu menghilangkan infeksi secara tuntas melainkan hanya menekan jumlah kematian (Anonimus, 1981; Hofstad, 1984).

Antibakterial (obat pembasmi bakteri) merupakan bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri (Pelczar dan Chan, 1988; Setiabudy dan Gan, 1995). Salah satu bahan tersebut adalah antibiotika yang merupakan suatu obat yang telah ditemukan di bidang farmasi untuk membantu meringankan kerja sistem pertahanan tubuh. Antibiotika adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama jamur yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain (Setiabudy dan Gan, 1995). Namun penggunaan antibiotika yang tidak

terkontrol akan menyebabkan turunnya kepekaan suatu bakteri terhadap antibiotika tersebut sehingga timbul resistensi (Mutschler, 1991). Hal ini mendorong para peneliti di bidang obat untuk mencari alternatif pengobatan infeksi bakteri yang bahannya ada di sekitar kita dan mempunyai efek yang tidak berbeda dengan antibiotika. Adapun alternatif yang banyak dipilih untuk diteliti adalah tanaman obat yang pada umumnya didasarkan pada pengalaman turun-temurun dari satu generasi ke generasi berikutnya (Syamsuhidayat, 1994). Salah satu tanaman tersebut adalah wortel dengan nama latin *Daucus carrota*. Dahulu wortel dapat digunakan sebagai obat diare.

Umbi wortel (*Daucus carrota*) sebagai salah satu tanaman obat tradisional dikenal hampir di setiap negara, termasuk Indonesia. Sayuran ini cukup populer oleh karena sarat akan zat gizi dan bahan obat didalamnya. Zat gizi yang dikandung antara lain: vitamin B, vitamin C, zat besi, fosfor, kalsium yang sangat penting bagi tubuh (Soewito, 1991). Sedangkan kandungan bahan obatnya antara lain: *lauric acid* (Babic-I dkk, 1994), *phytoalexin* (Beuchat dan Brackett, 1990), kumarin (Newall dkk, 1996), flavonoid (Karyadi, 1997) dan masih banyak lagi. Semua bahan obat tersebut selama ini digunakan sebagai bahan antibakteri (Robinson, 1991). Beberapa manfaat wortel yang sudah dikenal antara lain: untuk penglihatan, mempertahankan jaringan ari, membantu proses reproduksi, membersihkan darah, menguatkan gigi, mencegah serangan jantung, dan penyempitan pembuluh darah (Berlian dan Estu, 2000). Nguyen-the dan Lund (1991), berhasil membuktikan bahwa wortel dapat menghambat *Listeria monocytogenes* secara *in vitro*.

Penelitian sebelumnya telah meneliti khasiat umbi wortel dalam berbagai bentuk sediaan farmasi mulai dari sediaan sederhana yaitu jus, maserasi, hingga ekstrak. Hal ini bertujuan untuk mencari tahu bentuk sediaan yang paling efektif digunakan untuk pengobatan hingga pada akhirnya tanaman obat yang ternyata berkhasiat perlu dikembangkan dan digunakan dalam pelayanan kesehatan (Syamsuhidayat, 1994).

Menindaklanjuti saran pada penelitian terdahulu bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang daya antibakterial wortel terhadap bakteri selain *Staphylococcus aureus* misalnya bakteri Gram negatif (Willyanto, 2001) serta alasan lain yang telah disebutkan maka penulis mencoba meneliti daya antibakterial ekstrak wortel terhadap *Salmonella pullorum* penyebab penyakit pullorum pada ayam yang sangat meresahkan para peternak ayam terutama peternak ayam bibit.

1.2. Perumusan Masalah

Adapun penelitian tentang daya antibakteri ekstrak wortel terhadap *Salmonella pullorum* ini mempunyai rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak wortel (*Daucus carrota*) mempunyai daya antibakterial terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro*.
2. Berapakah konsentrasi efektif ekstrak wortel (*Daucus carrota*) yang mampu membunuh *Salmonella pullorum* secara *in vitro*.

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka penelitian ini bertujuan:

1. Mengetahui daya antibakterial ekstrak wortel (*Daucus carota*) terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro*.
2. Mengetahui besarnya konsentrasi efektif ekstrak wortel (*Daucus carota*) yang mampu membunuh *Salmonella pullorum* secara *in vitro*.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan tambahan wawasan tentang khasiat dan kegunaan wortel (*Daucus carota*) sebagai antibakterial dalam bentuk ekstrak.

1.5. Landasan Teori

Menurut Beuchat dan Brackett (1990) wortel mempunyai potensi bunuh terhadap bakteri *Listeria monocytogenes*, pendapat yang sama juga diungkapkan oleh Nguyen-the dan Lund (1991). Mereka mengamati bahwa maserasi wortel yang diinokulasi bersama bakteri *Listeria monocytogenes* dan diinkubasi pada suhu 4°C selama 3 jam menurunkan jumlah bakteri hingga mencapai 10^4 dari konsentrasi awal bakteri 10^8 . Efek antilisteria ini bersifat termolabil, dapat dinaktivasi setelah beberapa jam pada suhu 4°C atau pada suhu 30°C dan lebih aktif pada pH antara 5,8-7,0 (Nguyen-the dan Lund, 1991).

Karakteristik dasar antilisteria dari wortel ini tidak seperti yang ditunjukkan oleh antimikroba golongan fenol dan poliasetilena yang sebelumnya telah diisolasi

dari wortel (Nguyen-the dan Lund, 1992). Beuchat dan Brackett (1990) berpendapat bahwa efek toksik dari wortel disebabkan karena adanya *phytoalexin*. Menurut Sarkar dan Phan yang dikutip oleh Nguyen-the dan Lund (1991) bahwa dalam umbi wortel terdapat komponen kimia berupa golongan fenol. Menurut Newall, dkk (1996) dari umbi wortel juga ditemukan komponen flavonoid, kumarin, dan furanokumarin. Babic-I, dkk (1994) menemukan bahwa efek antibakterial ekstrak wortel disebabkan karena adanya asam lemak jenuh. Asam lemak tersebut diidentifikasi sebagai *dodecanoic acid* atau sering disebut *lauric acid*. Efek toksik dari komponen kimia yang terdapat dalam wortel yaitu secara langsung berinteraksi dengan membran sel bakteri dan terjadi gangguan fungsi membran sel (Kurosaki dan Nishi, 1983). Berdasarkan penelitian Willyanto (2001) berhasil membuktikan bahwa jus segar umbi wortel mampu membunuh *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* pada konsentrasi di atas 89,18057%.

Senyawa golongan fenol yang terkandung dalam wortel yaitu flavonoid, kumarin, furanokumarin berfungsi sebagai antibakteri (Robinson, 1995). Flavonoid yang terkandung dalam wortel juga berfungsi sebagai antiinflamasi, antivirus, spasmolitik dan penghambat fungsi enzim (Harborne, 1994).

1.6. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan landasan teori yang telah diuraikan, hipotesis yang dapat diajukan adalah ada perbedaan daya antibakterial ekstrak wortel (*Daucus carrota*) pada berbagai konsentrasi terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Wortel (*Daucus carota*)

Wortel merupakan sayuran terpenting dan yang paling banyak ditanam di berbagai tempat. Kegunaan awalnya hanyalah sebagai obat, tetapi sekarang wortel telah menjadi sayuran utama (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

2.1.1. Klasifikasi

Sistematika lengkap tanaman wortel menurut Berlian dan Estu (2000) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Klas	: Angiospermae
Subklas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Umbellales
Famili	: Umbelliferae / Apiaceae / Ammiaceae
Genus	: <i>Daucus</i>
Spesies	: <i>Daucus carota</i>

Dilihat dari hubungan kekerabatannya, tanaman wortel ternyata masih sekerabat dengan Parsley, Seledri, Parsnip, Dill, Adas, dan lain-lain (Soewito, 1991).

2.1.2. Morfologi dan Penyebaran

Tanaman wortel berasal dari daratan Asia. Selanjutnya berkembang ke Eropa, Afrika Utara, Amerika Selatan, dan Amerika Utara. Beberapa tempat di tanah air sebutan untuk wortel berbeda-beda, yaitu:

Sunda	: Bortol
Jawa	: Wertel, Wertol, Wortol, Bortol
Madura	: Ortel
Kalangan Internasional	: Carrot

(Berlian dan Estu, 2000)



Gambar 1. Tanaman Wortel (*Daucus carota*)

Keterangan : A. Akar dan Bunga; B. Dasar Daun; C. Daun; D. Bunga
Sumber : Ashari (1995)

Susunan tubuh tanaman wortel terdiri atas daun dan tangkainya, batang dan akar. Secara keseluruhan sosok tanaman wortel merupakan tumbuhan ternatahunan, yang tumbuh tegak setinggi 30-100 cm atau lebih (Rukmana, 1995).

2.1.3. Jenis-Jenisnya

Jenis wortel dapat dibedakan menurut panjang umbinya menjadi tiga macam. Ada wortel yang berumbi pendek, sedang, dan panjang (Berlian dan Estu, 2000).

a. Wortel berumbi pendek

Umbi pendek adalah ciri umumnya. Jenis wortel ini ada yang mempunyai umbi berbentuk bundar seperti bola golf dengan panjang sekitar 5-6 cm. Wortel berumbi pendek ini lebih cepat matang, warnanya kuning kemerahan, berkulit halus, rasanya garing dan agak manis, serta memiliki cita rasa yang baik.

b. Wortel berumbi sedang

Panjang umbi sekitar 15-20 cm. Jenis wortel ini memiliki tiga bentuk. Bentuk pertama yaitu memanjang seperti kerucut dengan ujung umbi bertipe nantes. Wortel berumbi sedang ini paling baik untuk ditanam sebagai tanaman pekarangan. Warnanya kuning memikat, berkulit tipis, berasa garing dan agak manis, serta cocok untuk disimpan dingin.

c. Wortel berumbi panjang

Panjang umbi sekitar 20-30 cm. Umbi seperti kerucut dengan ujung bertipe imperator atau meruncing. Jenis ini tidak cocok ditanam sebagai tanaman

pekarangan jika tidak ditumbuhkan pada tanah khusus yang dalam, gembur, dan terkena sinar matahari penuh.

2.1.4. Syarat Tumbuh

A. Keadaan Iklim

Tanaman wortel membutuhkan lingkungan tumbuh yang suhu udaranya dingin dan lembab. Di negara-negara yang beriklim sedang (sub-tropis) perkecambahan benih wortel membutuhkan suhu minimum 9°C dan maksimum 20°C. Namun untuk pertumbuhan dan produksi umbi yang optimal membutuhkan suhu udara antara 15,6-21,1°C.

Suhu udara yang terlalu tinggi (panas) seringkali menyebabkan umbi kecil-kecil (abnormal) dan warnanya pucat atau kusam. Sebaliknya bila suhu udara terlalu rendah (sangat dingin), maka umbi yang terbentuk menjadi panjang kecil.

Di Indonesia wortel umumnya ditanam di dataran tinggi pada ketinggian antara 1.000-1.200 m di atas permukaan laut. Meskipun demikian wortel dapat pula ditanam di dataran medium yang ketinggiannya lebih dari 500 m di atas permukaan laut, namun produksi dan kualitasnya kurang memuaskan (Rukmana, 1995).

B. Keadaan Tanah

Keadaan tanah yang cocok untuk tanaman wortel adalah subur, gembur, banyak mengandung bahan organik atau humus, tata udara dan tata airnya berjalan baik (tidak menggenang), keasaman tanah (pH) antara 5,5-6,5 atau hasil optimal pada pH 6,0-6,8. Jenis tanah yang paling baik adalah andosol. Jenis tanah demikian pada umumnya terletak di daerah dataran tinggi (pegunungan).

Pada tanah-tanah yang asam (pH-nya rendah, kurang dari 5,0), tanaman wortel akan sulit membentuk umbi. Demikian pula tanah yang mudah becek ataupun mendapat perlakuan pupuk kandang yang berlebihan, sering menyebabkan umbi wortel berserat, bercabang, dan berambut (Rukmana, 1995).

2.1.5. Kandungan Kimia Wortel

Menurut Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI (1979) yang dikutip oleh Berlian dan Estu (2000) komposisi zat gizi dalam 100 gram wortel:

No.	Bahan Penyusun	Kandungan Gizi
1.	Kalori (kal)	42,00
2.	Karbohidrat (g)	9,30
3.	Lemak (g)	0,30
4.	Protein (g)	1,20
5.	Kalsium (mg)	39,00
6.	Fosfor (mg)	37,00
7.	Besi (mg)	0,80
8.	Vitamin A (IU)	12.000,00
9.	Vitamin B (mg)	0,06
10.	Vitamin C (mg)	6,00
11.	Air (g)	88,20
12.	Bagian yang dapat dimakan (%)	88,00

Menurut Rubatzky (1998), tanaman wortel umumnya dikenal karena kandungan alfa-karoten dan beta-karoten akar tunggangnya. Kedua jenis karoten ini penting sebagai prekursor vitamin A. Akar tunggangnya juga mengandung sukrosa dan gula lain dalam jumlah banyak. Selain itu wortel juga mengandung antosianin yang dapat menyebabkan umbi berwarna ungu kemerahan.

Pendapat Sarkar dan Phan yang dikutip oleh Nguyen-the dan Lund (1991) bahwa dalam umbi wortel terdapat komponen kimia berupa golongan fenol. Menurut Newall, dkk (1996) dari umbi wortel juga ditemukan komponen flavonoid, kumarin, dan furanokumarin. Selain itu wortel juga mengandung

phytoalexin (Beuchat dan Brackett, 1990) dan *Dodecanoic acid* (Babic-I dkk, 1994). Efek toksik dari komponen kimia yang terdapat dalam wortel yaitu secara langsung berinteraksi dengan membran sel bakteri dan terjadi gangguan fungsi membran sel (Kurosaki dan Nishi, 1983).

2.1.6. Kegunaan Wortel

Selain sebagai sayuran utama karena kandungan gizinya, wortel juga digunakan sebagai pencegah terjadinya kanker karena kandungan antioksidan yang berupa beta-karoten (Karyadi, 1997). Mengunyah wortel segera sesudah makan berkhasiat membunuh kuman yang berbahaya dalam mulut, membersihkan gigi, mencegah pendarahan gusi dan kerusakan gigi, sembelit serta bau busuk dalam mulut (Rukmana, 1995).

Kegunaan lain wortel adalah karoten yang diekstrak untuk pemberi warna margarin. Karoten juga ditambahkan ke dalam pakan ayam untuk meningkatkan warna kulit dan kuning telur (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Newall, dkk (1996) menyebutkan bahwa wortel dapat digunakan sebagai *diuretik*. Secara tradisional juga digunakan untuk mengobati batu pada saluran kencing, *lithuria*, *cystitis*, dan kembung.

2.2. Tinjauan Tentang Bahan Antibakterial

Bahan antibakterial adalah bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri (Pelczar dan Chan, 1996). Berdasarkan toksisitas selektif ada antibakterial yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan bersifat membunuh bakteri (bakterisidal). Sedangkan berdasarkan spektrumnya

antibakterial dibagi menjadi dua kelompok yaitu berspektrum luas yang artinya antibakterial ini dapat berpengaruh pada bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif, dan berspektrum sempit yang artinya antibakterial ini hanya berpengaruh pada bakteri Gram positif atau bakteri Gram negatif saja (Setiabudy dan Gan, 1995). Adapun keadaan yang mempengaruhi kerja bahan antibakterial yaitu: konsentrasi, waktu, jumlah bakteri, temperatur, spesies bakteri, adanya bahan organik, derajat keasaman. Sedangkan cara kerja bahan antibakteri antara lain: merusak dinding sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1986).

2.3. Tinjauan Tentang Uji Kepekaan Antibakterial

Ada tiga macam uji kepekaan antibakterial yaitu uji kepekaan metode dilusi atau pengenceran, metode *diffusi disk*, dan metode penentuan koefisien fenol (Carter dan Cole, 1990; Pelczar dkk, 1993).

a. Metode Dilusi

Metode ini merupakan metode yang paling akurat untuk menentukan kepekaan antibakterial. Penggunaan metode ini memerlukan waktu lama, keahlian yang cukup, dan merupakan cara yang kurang praktis terutama untuk mengetahui kepekaan bakteri pada beberapa antibakterial. Metode ini menggunakan penentuan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC).

b. Metode *Diffusi Disk*

Metode ini merupakan metode untuk menguji kepekaan bakteri terhadap antibakterial yang banyak dipakai di laboratorium. Hal ini karena pelaksanaannya tidak memerlukan waktu yang lama, keahlian khusus, dan cepat memberikan hasil. Hasil pengujian terlihat adanya daerah jernih disekeliling kertas *disk* sebagai daerah hambatan bakteri.

c. Metode Penentuan Koefisien Fenol

Koefisien fenol adalah bilangan yang menyatakan perbandingan daya bunuh dari suatu desinfektan dibandingkan dengan fenol pada kondisi yang sama. Metode ini biasa digunakan pada desinfektan dan hanya digunakan pada *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

2.4. Tinjauan Tentang *Salmonella pullorum*

2.4.1. Klasifikasi

Sistematika lengkap *Salmonella pullorum* dapat digolongkan dalam:

Kingdom	: Procaryotae
Divisi	: Protophyta
Klas	: Schizomicetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: <i>Salmonella pullorum</i>

2.4.2. Sejarah dan Morfologi

Bakteri ini pertama kali diisolasi dari ayam yang menderita diare oleh Rettger pada tahun 1899. Tahun 1909, Rettger dan Stoneburn berhasil menyempurnakan gambaran yang kemudian bakteri ini lebih dikenal dengan *Salmonella gallinarum*. Barulah pada tahun 1915 Smith dan Ten Broeck dapat membedakan antara *Salmonella gallinarum* dan *Salmonella pullorum* (Merchant dan Packer, 1971).

Salmonella pullorum merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek atau panjang, tanpa flagella, non motil, tidak berspora, dan berkapsul (Merchant dan Packer, 1971; Hofstad, 1984).

2.4.3. Nama Lain

- *Bacterium pullorum*
- *Bacillus pullorum*

2.4.4. Sifat Biokimia

Salmonella pullorum memfermentasi glukosa, fruktosa, galaktosa, mannososa, arabinosa, xylosa, mannitol, isodulcitol dengan membentuk asam dan gas. Tidak merubah laktosa, sukrosa, dekstrin, salisin, raffinosa, sorbitol, adonitol, dulcitol ataupun inositol. Untuk maltosa ada beberapa strain yang dapat memfermentasi dengan membentuk asam dan gas sedang beberapa yang lain tidak. H₂S diproduksi lebih lambat dari spesies *Salmonella* yang lain. Mampu merubah nitrat menjadi nitrit. Tidak membentuk indol. Bakteri ini tidak mempunyai enzim urease dan tidak menggunakan unsur karbon dari sumber sitrat (Merchant dan Packer, 1971; Hofstad, 1984).

2.4.5. Resistensi Kuman

Salmonella pullorum dapat bertahan hidup beberapa tahun pada kondisi lingkungan yang mendukung. Bakteri ini lebih tidak tahan panas dan tidak dapat hidup pada kondisi lingkungan yang kurang mendukung dibanding *Salmonella* yang lain penyebab *parathypoid* (Hofstad, 1984).

Resistensi *Salmonella pullorum* pada umumnya sama dengan golongan salmonella yang lain yaitu peka terhadap desinfektansia. Pada temperatur 60°C mati setelah 10 menit, tidak tahan kekeringan tapi tahan hidup beberapa saat pada tinja ayam yang terinfeksi (Merchant dan Packer, 1971).

Temperatur untuk pertumbuhan *Salmonella pullorum* adalah 37°C dengan pH 7,2. Bakteri ini bersifat aerob atau fakultatif anaerob (Merchant dan Packer, 1971). *Salmonella pullorum* tumbuh baik pada *Beef Ekstrak Agar* atau *Broth* dan pada media lain dengan cukup nutrisi. Media selektif sebaiknya tidak digunakan karena ada beberapa strain yang peka sehingga pertumbuhan akan dihambat (Hofstad, 1984).

Adapun media selektif yang biasa digunakan untuk mengisolasi *Salmonella pullorum* antara lain *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Mac Conkay Agar* (MCA) dan *Endo Agar*. Pertumbuhan *Salmonella pullorum* pada media tersebut membentuk koloni yang halus, bulat, tembus cahaya dan tidak berwarna. Koloni yang tumbuh berdesakan umumnya berdiameter 1 mm atau kurang dari 1 mm, sedangkan koloni yang tumbuh sendiri diameternya mencapai 3-4 mm atau lebih (Hofstad, 1984).

2.4.6. Struktur Antigen

Salmonella pullorum hanya memiliki *somatic antigen* sebab bakteri ini bersifat non motil. Struktur lengkap antigen *Salmonella pullorum* terdiri dari 9, 12 dengan *antigenic variants* 12₁, 12₂, 12₃. William menemukan bahwa ketiga tipe antigen dapat dibedakan dengan tes sedimentasi dari amonium sulfat secara makroskopis (Merchant dan Packer, 1971).

2.4.7. Patogenitas

Salmonella pullorum menyebabkan penyakit yang bersifat akut pada anak ayam umur beberapa hari (kurang dari satu minggu) dengan tanda-tanda enteritis yang parah dan bakterimia. Bakteri ini berkembang cepat pada embrio ayam. *Salmonella pullorum* menyebabkan diare putih dengan konsistensi feses seperti pasta sehingga *Salmonella pullorum* disebut juga *Bacillary White Diarrhea*. Pada ayam dewasa bakteri ini menyebabkan infeksi yang bersifat kronis dengan patologi anatomi yang khas yaitu ovarium yang mengkerut dan bentuknya yang mengecil. Septicemia akut juga pernah dilaporkan terjadi pada ayam dewasa (Merchant dan Packer, 1971).

Menurut Hofstad (1984) dan Gordon (1977), *Salmonella pullorum* masuk ke dalam tubuh ayam melalui mulut menuju alat pencernaan yaitu usus, mengadakan penetrasi usus kemudian ikut aliran darah sampai ke ovarium. Keadaan inilah yang dapat menimbulkan "*Egg Born Infection*". *Salmonella pullorum* pada usus dapat menyebabkan iritasi dan kerusakan, akibatnya terjadi peningkatan peristaltik dan gangguan penyerapan sari makanan serta terjadi diare.

Selain menyerang ayam, *Salmonella pullorum* juga ditemukan menyerang burung kenari. Pada ayam kalkun, bakteri ini menyebabkan infeksi yang bersifat kronis seperti pada ayam dewasa, walaupun tidak seberapa parah. *Salmonella pullorum* juga pernah diisolasi dari beberapa spesies mamalia diantaranya sapi, babi, anjing, dan serigala (Merchant dan Packer, 1971).

BAB III

MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya serta laboratorium Makanan Ternak mulai tanggal 19 November 2001 dan berakhir tanggal 10 Desember 2001.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella pullorum* yang diperoleh dari laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Wortel (*Daucus carrota*) didapat dari pasar Jl. Pacar Keling Surabaya. Media untuk pertumbuhan kuman berupa *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), *Nutrient Agar* (NA), media untuk uji sensitifitas berupa *Mueller Hinton Agar* (MHA), pembuatan suspensi bakteri diperlukan larutan *Physiology Zout* (PZ). Untuk media uji biokimia *Salmonella pullorum* yaitu *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfit Indol Motility* (SIM), *Simon Sitrat Agar*, *Urease Agar*, dan Gula-gula yaitu glukosa, laktosa, mannososa, maltosa, sukrosa, dan dulcitol (komposisi media ada di lampiran). Alkohol 70% untuk sterilisasi dan pelarut etanol untuk ekstraksi.

3.2.2. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pembakar bunsen, mikroskop, gelas bengkok, rak dan tabung reaksi, ose, pipet, cawan petri, inkubator, alat penggiling, ayakan nomor 20, autoclave, lemari pendingin, alat ekstraksi (penyaring Buchner, *Rotary vacuum Evaporator*), kain flanel, kapas, gelas obyek, dan gelas penutup. Semua alat harus steril.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan uji kepekaan metode dilusi yang dimodifikasi melalui prosedur *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) sesuai dengan Bailey dan Scott (1986).

Pemilihan metode dilusi ini karena metode ini yang paling sesuai digunakan untuk penentuan potensi suatu bahan dalam hal membunuh bakteri. Metode *diffusi disk* tidak dapat diterapkan pada penelitian ini karena belum ada standar hambatan dari ekstrak wortel untuk pembanding yang dikatakan efektif menghambat bakteri, sedangkan metode penentuan koefisiensi fenol juga tidak dapat digunakan karena metode tersebut hanya digunakan untuk *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (Pelczar dkk, 1993).

Metode dilusi yang dimodifikasi dilakukan karena MIC yang tidak dilakukan pengamatan oleh karena keterbatasan pengamatan dengan mata telanjang. Hal ini disebabkan karena adanya bahan kimia terlarut dengan konsentrasi besar dalam ekstrak wortel (misalnya: *lauric acid*, kumarin, beta

karoten, dll) sehingga penanaman pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) pada prosedur MBC dari semua tabung (11 tabung).

3.3.1. Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi peralatan

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

b. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella pullorum*

Isolasi dan identifikasi *Salmonella pullorum* dilakukan dengan cara menanam isolat bakteri pada media *Bismuth Sulfite Agar* (BSA) dengan cara goresan (streak) yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga didapatkan hasil pertumbuhan berbentuk koloni bulat berwarna putih dengan bintik hitam di tengah. Koloni hasil pemupukan dilakukan pewarnaan Gram untuk membedakan Gram positif atau negatif, setelah itu dilakukan uji biokimia. Jika hasil pengujian benar-benar positif *Salmonella pullorum*, koloni pada media *Bismuth Sulfite Agar* (BSA) digunakan untuk pembuatan suspensi *Salmonella pullorum*.

c. Pembuatan Suspensi *Salmonella pullorum*

Pembuatan suspensi *Salmonella pullorum* dilakukan dengan cara mengambil koloni *Salmonella pullorum* dari media *Bismuth Sulfite Agar* (BSA) dengan menggunakan ose dimasukkan ke dalam PZ lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-5 jam, kekeruhannya dibandingkan dengan standar Mc. Farland I,

jika terlalu keruh diencerkan dengan PZ sampai kekeruhannya sama dengan perkiraan jumlah bakteri sebanyak 3×10^8 sel / ml (Carter dan Cole, 1990).

d. Pembuatan Ekstrak Wortel (*Daucus carrota*)

Pembuatan ekstrak wortel dilakukan dengan mengambil umbi dari wortel yang masih segar dan telah dibersihkan. Umbi wortel yang telah dibersihkan ini diiris tipis dan dikeringkan. Kemudian digiling dengan alat penggiling dan diayak dengan ayakan nomor 20 sampai didapat serbuk halus sebanyak 250 gram. Serbuk tersebut dibasahi cairan penyari (etanol) kurang lebih 1.500 ml. Kemudian diaduk dan diratakan sehingga seluruh serbuk dapat dibasahi, lalu dipindahkan dalam perkolator sedikit demi sedikit. Kemudian dituangkan cairan penyari secukupnya hingga bahan terendam dan biarkan selama 24 jam. Penampungan perkolat dilakukan dengan kecepatan konstan (4 ml/menit). Jika bagian atas tidak terendam etanol lagi tambahkan etanol. Penampungan perkolat dihentikan jika didapat kurang lebih 80% dari jumlah pelarut. Sisa dalam perkolator diperas dengan kain flanel dan ditambahkan dalam penampungan pertama. Kemudian dilakukan pemekatan dengan rotavapor (± 130 rpm) sampai didapat kurang lebih 100 ml ekstrak wortel (Farmakoupe Indonesia, 1979). Hasil ekstraksi murni dianggap konsentrasi awal 100%. Ekstrak diencerkan dengan PZ hingga menghasilkan konsentrasi 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, dan 10%. Caranya dibuat dari konsentrasi 100% yaitu ekstrak wortel tanpa pengencer selanjutnya dilakukan pengenceran berturut-turut sebagai berikut:

Konsentrasi 90% : 2,7 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

Konsentrasi 80% : 2,4 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

Konsentrasi 70% : 2,1 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

Konsentrasi 60% : 1,8 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

Konsentrasi 50% : 1,5 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

Konsentrasi 40% : 1,2 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

Konsentrasi 30% : 0,9 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

Konsentrasi 20% : 0,6 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

Konsentrasi 10% : 0,3 ml ekstrak wortel ditambah PZ hingga 3 ml

3.3.2. Pelaksanaan Penelitian

a. Prosedur *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC)

Prosedur *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) untuk ekstrak wortel dilakukan dengan cara yang pertama beri tanda pada masing-masing tabung label 0%-100%kemudian ambil ekstrak wortel masing-masing sebanyak 1 ml dengan berbagai konsentrasi dan masukkan pada tabung sesuai label (tabung dengan label 0% hanya berisi PZ 1 ml). Kemudian ambil satu tabung, beri label K dan masukkan ekstrak wortel sebagai kontrol. Kemudian ditambahkan suspensi bakteri masing-masing sebanyak 1 ml pada seluruh tabung (11 tabung kecuali tabung K). Setelah itu seluruh tabung diinkubasi 37°C selama 24 jam dalam inkubator.

Hasil *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dapat ditunjukkan dengan perubahan suspensi dari jernih menjadi keruh. Jika kekeruhan tidak dapat dibedakan dengan jelas maka perlu pelaksanaan MBC dari semua tabung.

b. Prosedur *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC)

Penentuan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) untuk ekstrak wortel berdasarkan kelanjutan pemeriksaan yang telah dilakukan sebelumnya yaitu dari masing-masing tabung diambil sampel dengan menggunakan ose kemudian digores pada media MHA selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil yang diamati adalah merupakan MBC yaitu konsentrasi terendah dengan tidak adanya lagi pertumbuhan bakteri pada media uji (Bailey dan Scott, 1986).

3.4. Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah konsentrasi terendah yang tidak ditemukan lagi pertumbuhan bakteri (*minimal Bactericidal Concentration*).

3.5. Analisis Data

Perlakuan yang diberikan pada penelitian ini berupa ekstrak wortel berbagai konsentrasi (11 tabung). Konsentrasi ekstrak wortel tersebut meliputi: 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, dan 0%. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis statistik menggunakan Khi-kuadrat (Scheffler, 1999).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh dari penelitian tentang daya antibakterial ekstrak wortel (*Daucus carrota*) terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro* dengan metode dilusi modifikasi dengan ulangan tiga kali dapat dilihat pada tabel 3 di bawah ini :

Tabel 2. *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) Ekstrak Wortel (*Daucus carrota*) terhadap *Salmonella pullorum* secara *In vitro*

Ulangan	Konsentrasi Ekstrak Wortel (%)										
	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
I	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
II	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
III	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Keterangan:

(-) : Tidak Tumbuh

(+) : Tumbuh

Tabel di atas kemudian dianalisis menggunakan Khi-kuadrat dengan hasil penghitungan X^2 lebih besar dari X^2 tabel dengan tingkat signifikan 0,05 (penghitungan di lampiran 4). Ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak wortel berbagai konsentrasi memberikan perbedaan yang berarti terhadap pertumbuhan *Salmonella pullorum* secara *in vitro*. Kemudian untuk menentukan konsentrasi efektif ekstrak wortel yang mempunyai daya antibakterial maka dilakukan analisis Khi-kuadrat tabel 2x2. Adapun konsentrasi ekstrak wortel yang akan dibandingkan adalah konsentrasi 40% dengan 30%, 30% dengan 20%, dan 40% dengan 20%. Setelah dilakukan analisis hasilnya sebagai berikut :

Tabel 3. Analisis Khi-kuadrat konsentrasi 40% dan 30%

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
40%	3 (2)	0 (1)	3
30%	1 (2)	2 (1)	3
Total	4	2	6

Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak wortel 40% dan 30% tidak berbeda nyata (penghitungan lengkap di lampiran 5).

Tabel 4. Analisis Khi-kuadrat konsentrasi 30% dan 20%

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
30%	1 (0,5)	2 (2,5)	3
20%	0 (0,5)	3 (2,5)	3
Total	1	5	6

Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak wortel 30% dan 20% tidak berbeda nyata (penghitungan di lampiran 6).

Tabel 5. Analisis Khi-kuadrat konsentrasi 40% dan 20%

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
40%	3 (1,5)	0 (1,5)	3
20%	0 (1,5)	3 (1,5)	3
Total	3	3	6

Hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak wortel 40% dan 20% berbeda nyata (penghitungan di lampiran 7).

Penghitungan statistik menunjukkan bahwa konsentrasi efektif ekstrak wortel yang mempunyai daya antibakterial terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro* adalah sebesar 40% karena mulai konsentrasi ini memberikan arti yang berbeda nyata dari konsentrasi awal (20%).

BAB V

PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian secara *in vitro* mengenai *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) diketahui bahwa konsentrasi 40% merupakan konsentrasi efektif atau merupakan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) ekstrak wortel (*Daucus carota*) terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro*, sebab mulai konsentrasi ini memberikan arti yang berbeda nyata dari konsentrasi awal (20%).

Potensi antibakterial yang ditunjukkan oleh ekstrak wortel ini karena adanya beberapa zat yang berfungsi sebagai antibakterial. Salah satu zat itu adalah *dodecanoic acid* (Babic-I dkk, 1994). Babic-I, dkk (1994) berhasil menemukan bahwa *dodecanoic acid* memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan beberapa bakteri pencemar makanan. Zat tersebut adalah suatu asam lemak jenuh yang oleh masyarakat lebih dikenal dengan nama *lauric acid* (Windholz dkk, 1983).

Lauric acid memiliki struktur molekul $C_{12}H_{24}O_2$ tanpa adanya ikatan rangkap. *Lauric acid* bersifat asam yang mudah terbakar, stabil terhadap pemanasan hingga $225^{\circ}C$ pada tekanan 100 mmHg, dan merupakan *oxidising agent* dan *reducing agent* (Windholz dkk, 1983).

Beberapa penelitian menunjukkan potensi *lauric acid*. Wang dan Johnson (1992) menyebutkan bahwa *lauric acid* dapat membunuh beberapa bakteri diantaranya *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Streptococcus*, dan *Listeria*

monocytogenes dengan jalan melisis membran sel bakteri. Menurut Projan, dkk (1994) mekanisme kerja *lauric acid* adalah menghambat sintesis protein (eksoprotein). Bergsson, dkk (1998) menemukan bahwa *lauric acid* dapat menginaktivasi infektifitas dari *Chlamydia trachomatis* dengan cara mempengaruhi membran sel bagian luar yang memicu kerusakan membran sel, ini ditunjukkan dengan adanya badan elementari yang rusak setelah 10 menit diterapi dengan *lauric acid* pada konsentrasi 10 mM.

Tahun 2000, Ruzin dan Novic menemukan bahwa pada konsentrasi lebih dari 20µg/ml, *lauric acid* dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi di bawahnya, *lauric acid* tidak begitu berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri tetapi menghalangi produksi dari berbagai eksoenzim dan faktor virulen antara lain protein A, alfa-hemolisin, β-laktamase, dan *Toxic Shock Syndrome Toxin 1* (TSSI-1) pada *Staphylococcus aureus*. *Lauric acid* juga menghalangi pembentukan resistensi terhadap *Vancomycin* pada *Enterococcus faecalis*. Ruzin dan Novic (2000) mengemukakan bahwa mekanisme kerja dari *lauric acid* dalam menghambat pertumbuhan bakteri tidak diketahui tapi diduga dengan cara menghalangi signal transduksi

Bergsson, dkk (2001) mengemukakan bahwa *lauric acid* memiliki potensi membunuh dengan spektrum luas (*broad spectrum*) terhadap virus dan bakteri secara *in vitro* termasuk virus herpes simplex, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans* serta Streptococcus golongan A dan B. Bergsson, dkk (2001) menemukan perbedaan cara kerja dari *lauric acid* pada bakteri dan *Candida albicans*, jika pada bakteri *lauric acid* merusak membran sel sedangkan pada

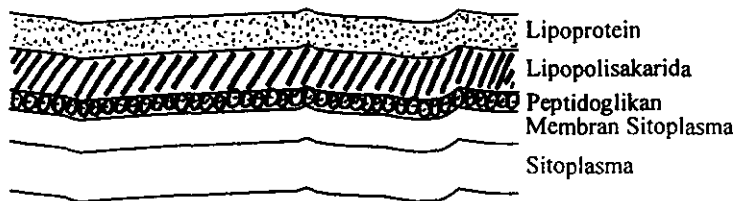
Candida albicans dengan merubah tekanan turgor hidrostatik dari sel yang mengakibatkan disorganisasi dari sitoplasma.

Bahan antibakterial yang satu dengan yang lain berbeda dalam hal daya antibakterialnya terhadap bakteri. Ada yang hanya memiliki daya menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik), ada juga yang memiliki daya membunuh bakteri (bakterisidal). Perbedaan tersebut dapat disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi dan jenis kandungan zat aktif dalam bahan antibakterial tersebut (Pelczar dan Chan, 1988) serta lamanya kontak antara bahan antibakterial dengan bakteri (Dwijoseputro, 1994). Semakin tinggi konsentrasi dan semakin lama kontak maka makin banyak pula bakteri yang akan terbunuh atau dengan kata lain daya antibakterial suatu bahan akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi dan lama kontak (Pelczar dan Chan, 1986).

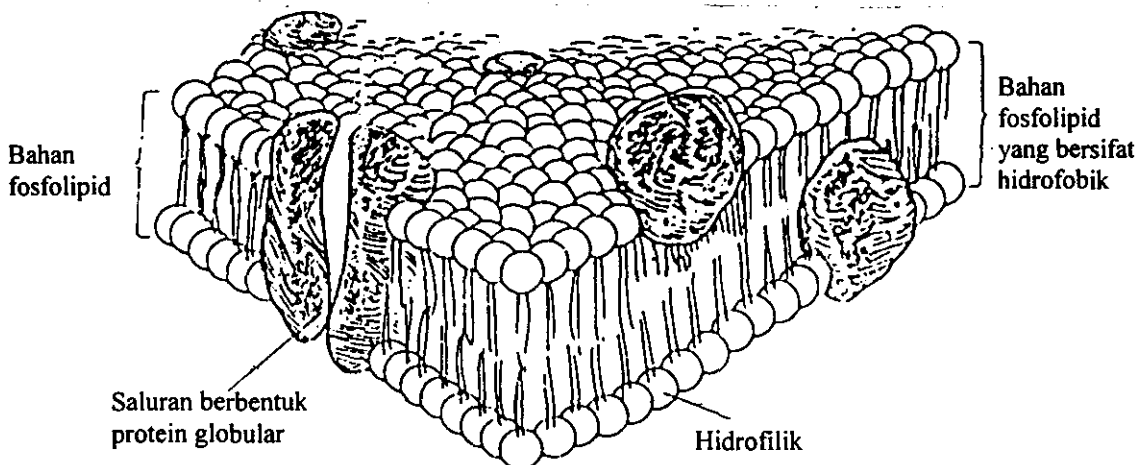
Perbedaan suatu bahan sebagai antibakterial juga sangat bergantung pada spesies bakteri. Spesies bakteri menunjukkan kerentanan yang berbeda-beda terhadap suatu sarana fisik dan bahan kimia, karena keragaman spesies menunjukkan adanya perbedaan struktur tubuh bakteri. Jenis bakteri yang membentuk spora dan memiliki kapsul lebih tahan terhadap antibakterial tertentu karena spora dan kapsul memiliki fungsi sebagai pelindung (Pelczar dan Chan, 1986). Menurut Dwijoseputro (1999) dinding spora bersifat impermeabel yang dapat melindungi bakteri didalamnya dari pengaruh buruk lingkungan sekitarnya seperti sinar matahari, kekeringan, panas, dan dingin serta terhadap desinfektan.

Salmonella pullorum merupakan bakteri Gram negatif yang struktur utama penyusun dinding sel dan membran sitoplasmanya adalah lemak dan protein.

Berbeda dengan bakteri Gram positif (dinding sel tebal, hanya satu lapis), dinding sel bakteri Gram negatif lebih tipis dan terdiri dari tiga lapisan. Lapisan luar merupakan lapisan lipoprotein kemudian lapisan lipopolisakarida pada bagian tengah dan yang terakhir lapisan peptidoglikan di bagian dalam (Pelczar dan Chan, 1986). Sedangkan membran sitoplasma tersusun dari fosfolipid dan protein dengan daerah hidrofilik dan hidrofobik (Jawetz dkk, 1995).



Gambar 2. Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Negatif (Pelczar dan Chan, 1986)



Gambar 3. Struktur Membran Sitoplasma (Jawetz dkk, 1995)

Dinding sel berfungsi sebagai pemberi bentuk pada sel bakteri dan melindungi sel dari lisis osmotik akibat tekanan osmotik bagian dalam sel yang begitu besar. Membran sitoplasma selain berfungsi sebagai barier terhadap lingkungan sekitar juga mengatur keluar masuknya molekul dan ion. Adanya bahan yang dapat menurunkan tegangan permukaan sel dapat menyebabkan

terjadinya gangguan kestabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma (Jawetz dkk, 1995).

Salah satu zat aktif antibakterial selain *lauric acid* adalah flavonoid (Newall dkk, 1996; Karyadi, 1997). Flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi, antivirus, antibakterial, spasmolitik dan penghambat fungsi enzim (Harborne, 1994). Sebagai zat antibakterial, flavonoid mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Robinson, 1995).

Menurut Harborne (1987) flavonoid mempunyai kemampuan membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen akibat adanya gugus fenol. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma yang mengandung protein menjadi tidak stabil sehingga mempengaruhi fungsi permeabilitasnya dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat kematian bakteri.

Selain flavonoid, wortel (*Daucus carrota*) juga mengandung kumarin (Newall dkk, 1996). Menurut Robinson (1995), kumarin mempunyai efek toksik terhadap mikroorganisme. Efek ini terjadi karena adanya gugus fenol. Peleburan dengan basa akan memutuskan gugus alkil sehingga terbentuk fenol sederhana. Menurut Newall, dkk (1996) wortel (*Daucus carrota*) juga mengandung Furanokumarin. Kandungannya sekitar 0,01-0,02 $\mu\text{g/g}$ berat segar. Konsentrasi akan meningkat pada tanaman yang terserang penyakit. Peningkatan ini diperkirakan karena adanya mekanisme pertahanan dari tanaman yang bersangkutan.

Beuchat dan Brackett (1990) beranggapan bahwa ditemukannya populasi *Listeria monocytogenes* dengan jumlah sedikit pada inokulasi bersama wortel

yang dipotong-potong daripada inokulasi bersama wortel utuh (tanpa pemotongan) menunjukkan adanya suatu bahan yang dikeluarkan akibat pecahnya sel wortel. Bahan tersebut disebut *phytoalexin*. *Phytoalexin* adalah suatu komponen alami yang diproduksi oleh tanaman sebagai respon terhadap serangan mikroorganisme atau setelah diberi perangsang. Komponen ini menghambat perkembangan baik jamur maupun bakteri (Marinelli dkk, 1996).

Adapun *phytoalexin* yang terdapat pada wortel adalah *6-methoxymellein* (suatu dihidroisokumarin) (Kurosaki dan Nishi, 1983). Komponen ini memiliki sifat sangat larut lemak sehingga dengan komposisi dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang tersusun oleh lemak (seperti pada gambar 2 & 3) akan memudahkan komponen ini bergerak dan pada akhirnya akan mempengaruhi integritas dari membran sel dan dinding sel bakteri (Marinelli dkk, 1996).

Zat antibakterial selain *lauric acid* yang tersebut di atas yaitu flavonoid, kumarin, furanokumarin dan dihidroisokumarin mengandung gugus fenol (Robinson, 1995). Fenol selama ini telah banyak digunakan sebagai *germicid* (Mechant dan Packer, 1971). Adapun mekanisme kerja fenol yaitu pada kadar rendah membentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, selanjutnya diikuti penetrasi fenol ke dalam sel sehingga menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein, sedangkan pada kadar tinggi dapat menyebabkan koagulasi protein dan lisisnya membran sel yang menyebabkan kematian bakteri (Pelczar dkk, 1993; Siswandono dan Soekardjo, 1995). Menurut Volk dan Wheeler (1988) konsentrasi fenol 0,1% – 2% dapat

merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan disamping itu menginaktifkan sejumlah sistem enzim bakteri.

Penelitian ini telah membuktikan bahwa ekstrak wortel mempunyai daya antibakterial terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro*, tetapi apakah ekstrak wortel mampu mengobati ayam yang terkena penyakit pullorum belum dapat dipastikan, karena belum diketahui secara pasti apakah distribusi ekstrak wortel sampai ke target organ penyakit pullorum, yaitu usus dan ovarium. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian pada hewan coba yang bersangkutan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang daya antibakterial ekstrak wortel (*Daucus carrota*) secara *in vitro* dengan metode dilusi diperoleh kesimpulan:

1. Ekstrak wortel (*Daucus carrota*) mempunyai daya antibakterial terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro*.
2. Konsentrasi efektif (*Minimal Bactericidal Concentration*) ekstrak wortel (*Daucus carrota*) terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro* sebesar 40%.

6.2. Saran

Setelah dilakukan penelitian ini maka disarankan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut pada wortel (*Daucus carrota*) untuk mengetahui distribusi dan dosis ekstrak wortel secara *in vivo*.

RINGKASAN

RINGKASAN

RAKHMA NUR HIDAYATI. Daya Antibakterial Ekstrak Wortel (*Daucus carrota*) terhadap *Salmonella pullorum* secara *In vitro*. (dibawah bimbingan Almarhumah Hj.Sorini Hartini, drh., sebagai pembimbing pertama dan Dr. Hario Puntodewo S., M. App. Sc, drh., sebagai pembimbing kedua).

Latar belakang dari penelitian ini adalah penulis ingin mendapatkan alternatif antibakterial lain pada penyakit diare putih yang disebabkan oleh *Salmonella pullorum*. Sebab antibiotik yang biasa digunakan untuk pengobatan dapat menyebabkan resistensi bakteri dan efek samping lain pada tubuh.

Teori yang mendasari penelitian ini adalah bahwa wortel mempunyai daya antilisteria. Wortel juga mengandung bahan antibakterial yaitu flavonoid, kumarin, furanokumarin, *phytoalexin*, dan *dodecanoic acid* atau biasa disebut *lauric acid*. Di samping itu jus segar umbi wortel terbukti mampu membunuh *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakterial ekstrak wortel terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro* dan konsentrasi efektifnya.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji kepekaan metode dilusi yang dimodifikasi. Penelitian ini menggunakan 11 tabung pada masing-masing ulangan yang berupa konsentrasi ekstrak wortel 0; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80; 90 dan 100%. Perlakuan tersebut diulang sebanyak tiga kali. Sebanyak 11 tabung yang telah berisi ekstrak wortel 1ml masing-masing ditambahkan 1ml suspensi *Salmonella pullorum* yang telah disesuaikan dengan standar

Mc. Farland I dengan perkiraan jumlah bakteri 3×10^8 sel/ml. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator. Hasil yang didapatkan merupakan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dapat ditunjukkan dengan adanya perubahan menjadi lebih keruh. Tingkat kekeruhannya tidak dapat dilihat dengan jelas perbedaannya sehingga perlu dilakukan *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) yaitu penanaman pada media *Mueller Hinton Agar* dari semua tabung.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah konsentrasi terendah yang tidak ditemukan lagi pertumbuhan bakteri (*minimal Bactericidal Concentration*). Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan *Khi-kuadrat*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak wortel yang mampu membunuh *Salmonella pullorum* (MBC) sebesar 40% sebab mulai konsentrasi ini memberikan arti yang berbeda nyata dari konsentrasi awal (20%).

Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak wortel mempunyai daya antibakterial terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro*. Sedangkan konsentrasi efektif ekstrak wortel yang mampu membunuh *Salmonella pullorum* (MBC) adalah 40%. Saran yang diajukan adalah perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui distribusi dan dosis ekstrak wortel.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

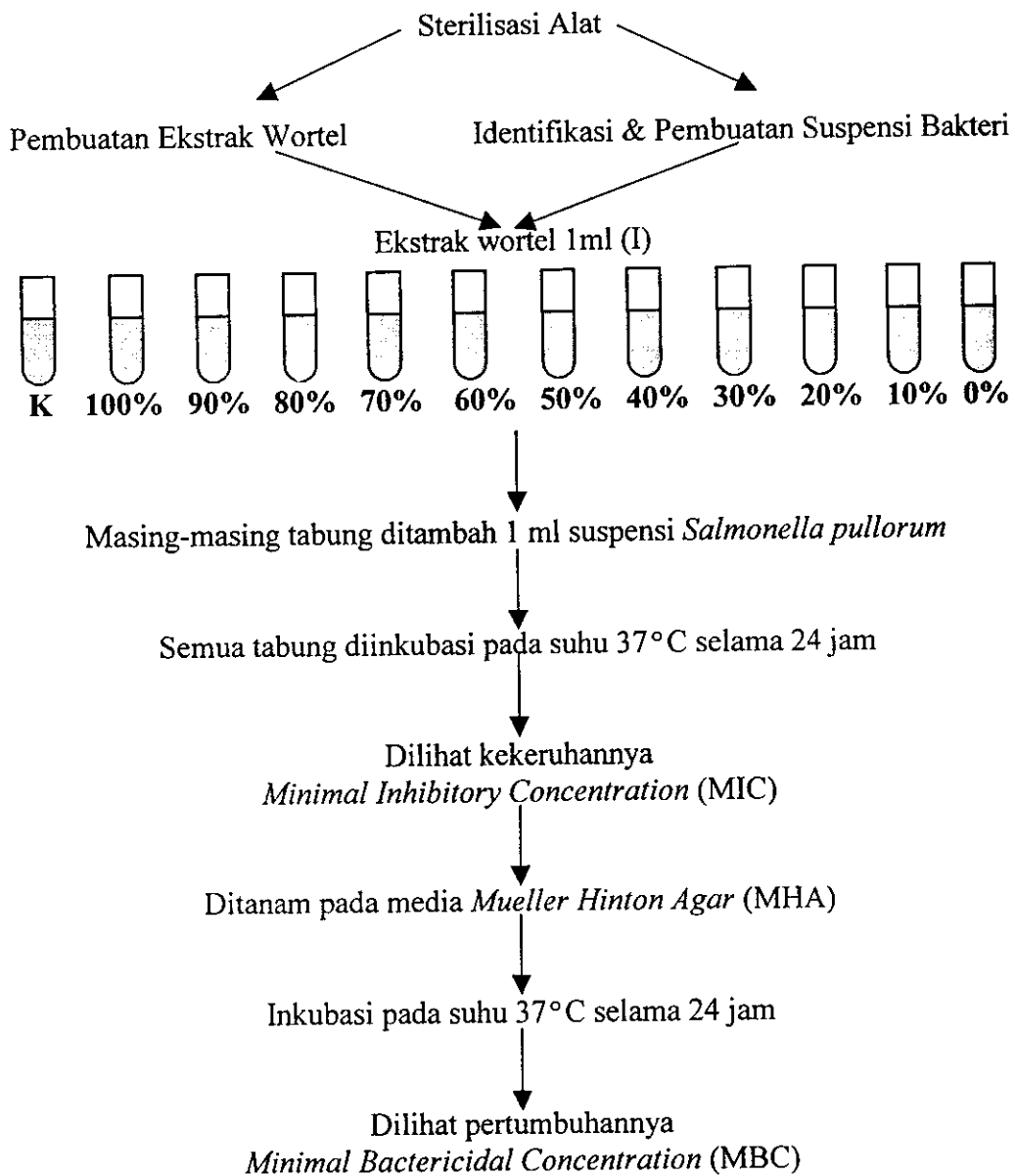
- Anonimus. 1981. *Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular*. Jilid I. Cet. Kedua. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta. 265.
- Babic-I, C. Nguyen-the, M.J. Amiot, and S. Aubert. 1994. *Antibacterial Activity of Shredded Carrot Extracts on Food-Borne Bacteria and Yeast*. J. Appied Bacteriol. Vol. 76 (2)(Abstr): 135
- Bailey, W. R. and Scott, E.G. 1986. *Diagnostic Microbiology*. Sidney M. Finegold, M.D and Allen jo Baron. 7th Ed. The CV Mosby Company. St. Louis. Toronto. Princeton. 257-270.
- Bergsson, G., J. Arnfinnsson, S. M. Karlsson, O. Steingrimsson, and H. Thormar. 1998. *In Vitro Killing of Chlamydia trachomatis by Fatty Acid and Monoglycerides*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 42. No. 9. 2290-2294.
- Bergsson, G., J. Arnfinnsson, O. Steingrimsson, and H. Thormar. 2001. *In Vitro Killing of Candida albicans by Fatty Acid and Monoglycerides*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 45 (11). 3209-3212.
- Berlian dan Estu. 2000. *Wortel dan Lobak*. Cet. 3. PT. Penebar Swadaya. Anggota IKAPI. Jakarta.
- Beuchat, L.R and R.E, Brackett. 1990. *Inhibitory Effects of Raw Carrots on Listeria monocytogenes*. J. Appied and Environmental Microbiol. Vol. 56 (6): 1734-1742.
- Carter, G.R. and J.R. Cole, Jr. 1990. *Diagnostic Procedurs in Veterinary Bacteriology and Micology*. 5th Ed. Antimicrobial Agents and Susceptibility. 479-480.
- Dwijoseputro, D. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta. 97-99.
- Farmakoupe Indonesia. 1979. 3rd Ed. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 177.
- Gordon, R.F. 1977. *Poultry Disease*. First Ed. Bailliere Tindal. London. 10-20.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terbitan II. Diterjemahkan oleh Dr. Kosasih Padmawinata dkk. ITB. Bandung. 123-158.
- Hofstad, M.S. 1984. *Disease of Poultry*. Eighth Ed. Iowa State University Press. Ames Iowa. 66-70.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, A. Adelbergh. 1995. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)*. Ed. 16. Alih Bahasa : H. Tonang. EGC. Jakarta.
- Karyadi, E. 1997. *Antioksidan, Resep Sehat dan Umur Panjang*. Intisari. Ed. Bulan Juni. PT. Intisari Mediatama. Jakarta.
- Kurosaki, F. and A.Nishi. 1983. *Isolation and Antimicrobial Activity of The Phytoalexin 6-Methoxymellein from Cultured Carrot Cells*. *Phytochemistry*. Vol. 22: 669-672.
- Marinelli, F., U. Zanelli and V.N. Ronchi. 1996. *Toxicity of 6-Methoxymellein and 6-Hydroxymellein to The Producing Carrot Cells*. *Phytochemistry*. Vol. 42(3): 641-643.
- Merchant, I. A and Packer, R. A. 1971. *Veterinary Bacteriology and Virology*, 7th Ed. The Iowa State University Press. Amesh, Iowa. U.S.A. 374-376.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Edisi Kelima. ITB. Bandung. 549-651.
- Newall, C. A., L.A. Anderson, J.D. Phillipson. 1996. *Herbal Medicines, A Guide for Health-Care Professionals*. The Pharmaceutical Press. London. 264-265.
- Nguyen-the, C. and B.M. Lund. 1991. *The Lethal Effect of Carrot on Listeria Species*. *Journal of Applied Bacteriol*. Vol. 70: 479-488.
- Nguyen-the, C and B.M. Lund. 1992. *An Investigation of The Antibacterial Effect of Carrot on Listeria monocytogenes*. *Journal of Appied Bacteriol*. Vol. 73 : 23-30.
- Pelczar, M. J. Jr, and E. C. S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Edisi Terjemahan. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pelczar, M. J. Jr, E. C. S, Chan, and N. R. Krieg. 1993. *Mikrcobiology Concepts and Applications*. Mc Graw-Hill, Inc. New York. 225-231.

- Projan S.J., S. Brown-Skrobot, P.M.Schlievert, F. Vandenesch, R.P. Novick. 1994. *Glycerol Monolaurate Inhibits The Production of Beta-lactamase, Toxic Shock Toxin-1, and Other Staphylococcal Exoproteins by Interfering with Signal Transduction*. J. Bacteriol. Jul. 176 (14)(abstr). 4204.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik dari Tumbuhan Tinggi*. Edisi keenam. Penerjemah Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung. 57-199.
- Rubatzky, Vincent E. dan M. Yamaguchi. 1998. *Sayuran Dunia 2: Prinsip, Produksi, dan Gizi*. Ed. 2. Penerbit ITB. Bandung. 159-175.
- Rukmana, R. 1995. *Bertanam Wortel*. Kanisius. Yogyakarta.
- Ruzin, A. And R. P. Novick. 2000. *Equivalence of Lauric Acid and Glycerol Monolaurate as Inhibitors of Signal Transduction in Staphylococcus aureus*. Journal of Bacteriology. Vol. 9. 2668-2671.
- Scheffler, William C. 1999. *Statistika untuk Biologi, Farmasi, Kedokteran, dan Ilmu yang Bertautan*. Ed. 2. Penerbit ITB. Bandung. 107-125
- Setiabudy, R. dan V. H. S. Gan. 1995. *Antimikroba, Farmakologi dan Terapi*. Ed. 4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Gaya Baru. Jakarta. 571-573.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Surabaya. 247-264.
- Soewito, M. DS. 1991. *Memfaatkan Lahan 5, Bercocok Tanam Wortel*. CV.Titik Terang. Jakarta.
- Sutaryadi. 1991. *Pemanfaatan Obat Tradisional dan Simplesia Obat Tradisional Untuk Pelayanan Kesehatan*. Majalah Farmasi Indonesia. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya. Vol. 2 (1):25-32.
- Syamsuhidayat, S. S. 1994. *Perkembangan Penelitian Tumbuhan Obat Indonesia*. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VII. Bandung. 21-33.
- Volk and Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar 1*. Ed. 5. Erlangga. Jakarta.
- Wang, L.L.and E.A Johnson. 1992. *Inhibitory of Listeria monocytogenes by Fatty Acids and Monoglycerides*. J. Appied and Environmental Microbiology. Vol. 58: 624-629.
- Willyanto, H. 2001. *Daya Antibakteri Jus Segar Umbi Wortel (Daucus carrota) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus secara In Vitro*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

Windholz, M., S. Budavari, R.F. Blumetti and E.S. Otterbein. 1983. *The Merck Index (An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals)*. Tenth Ed. Merck & Co., Inc. Rahway. N.J. USA. 707.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian

Tabel 6. Hasil Uji Identifikasi

Uji Identifikasi		Hasil Identikasi
Pewarnaan Gram	Merah	Garam negatif
<i>Triple Sugar Iron Agar</i>	Basa	+
	Asam	+
	H ₂ S	+
	Gas	+
<i>Sulfit Indol Motility</i>	Indol	-
	Motilitas	-
<i>Simon Citrat Agar</i>		+
<i>Urease Agar</i>		-
Gula-gula	Glukosa	+
	Laktosa	-
	Manosa	+
	Maltosa	+
	Sukrosa	-
	Dulcitol	-

Lampiran 2. Komposisi media untuk uji biokimia:

a. *Triple Sugar Iron Agar (TSIA):*

- ekstrak daging sapi 3 g
- *yeast extract* 3 g
- *protease peptone* 5 g
- *lactose* 10 g
- *sucrose* 10 g
- *glucose* 1 g
- *peptone* 15 g
- *ferron sulphate* 0,2 g
- *sodium chloride* 5 g
- *sodium thyosulphate* 0,3 g
- *phenol red* 0,024 g
- agar 12 g

b. *Sulfit Indol Motility (SIM):*

- *trypticase peptone* 20 g
- *thiotone peptone* 6,1 g
- *ferrone ammonium sulphate* 0,2 g
- *sodium thyosulphate* 0,2 g
- agar 3,5 g

c. *Simon Citrat Agar:*

- *magnesium sulphate* 0,2 g
- *monoamonium phosphate* 1 g

- dipotassium phosphate 1 g
- sodium citrate 2 g
- sodium chloride 5 g
- bromothymol blue 0,08 g
- agar 15 g

d. Urease Agar Base:

- peptone 190 (pancreatic digest of gelatin) 1 g
- sodium chloride 5 g
- dextrose 1 g
- potassium phosphate monobasic (KH₂PO₄) 2 g
- urea 20 g
- phenol red 0,012 g

e. Gula-Gula:

- air pepton 100 ml
- gula-gula 2 g
- phenol red 1 ml

f. Mueller Hinton Agar:

- Beef Infusion form 300 g
- Acidase pepton 17,5 g
- Starch 1,5 g
- Agar 17 g

g. Bismuth Sulfite Agar:

- Bacto Beef Extract 5 g

- *Bacto Peptone* 10 g
- *Bacto Dextrose* 5 g
- *Disodium Phosphate* 4 g
- *Ferrous Sulfate* 0,3 g
- *Bismuth Sulfite Indicator* 8 g
- *Bacto Agar* 20 g
- *Brilliant Green* 0,025 g

Lampiran 3. Uji Identifikasi

Guna memastikan bahwa koloni yang tumbuh pada media agar adalah *Salmonella pullorum* maka dilakukan pewarnaan Gram untuk membedakan Gram positif atau negatif serta pengujian secara biokimia pada media TSIA, SIM, Citrat, Urease, dan Gula-Gula sebagai berikut:

a. Pewarnaan Gram:

Membuat preparat ulas, difiksasi, ditetesi Gentian Violet, didiamkan selama 1-2 menit, diberi lugol, dibilas dengan air, ditetesi alkohol aseton, dibilas dengan air lagi, diberi safranin, dibilas air, diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000X. Hasil pewarnaan berwarna ungu menunjukkan bakteri Gram positif, hasil berwarna merah menunjukkan bakteri Gram negatif.

b. *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*

Pemupukan pada media TSIA dilakukan dengan mengambil koloni bakteri dari biakan dengan menggunakan needle steril, lalu dipupuk dengan cara menusukkan sampai pada dasar tabung dilanjutkan dengan goresan pada bagian agar yang miring kemudian media tersebut dimasukkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pemupukan pada media TSIA ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi glukosa, laktosa, sukrosa, dan juga untuk mengetahui apakah bakteri membentuk H₂S dan gas. Hasil fermentasi dikatakan positif jika media semula berwarna merah berubah jadi kuning. H₂S positif jika terbentuk warna hitam. Terbentuknya gas ditunjukkan dengan terangkatnya atau pecahnya media.

c. *Sulfit Indol Motility (SIM)*

Cara pemupukan pada media SIM ini dengan mengambil koloni murni, ditusukkan sampai ke bagian tengah media, dimasukkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menambahkan kloroform dan *reagen Kovach*. Penambahan kloroform bertujuan untuk mengeluarkan triptofan sedangkan *reagen Kovach* sebagai indikator. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri itu membentuk indol atau tidak dan juga untuk mengetahui motilitasnya.

Indol positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin indol warna merah yang berarti bahwa bakteri itu mampu memecah triptofan (untuk pertumbuhannya) menjadi indol. Motilitas positif ditunjukkan dengan adanya bentukan seperti pohon cemara terbalik pada bekas tusukan.

d. *Simon Citrat Agar*

Cara pemupukan pada media ini dengan goresan (*streak*) pada permukaan miring media. Tujuan identifikasi ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri itu dapat sebagai sumber karbon atau dapat menggunakan unsur karbon dari citrat. Hasil positif bila media semula berwarna hijau berubah menjadi biru.

e. *Urease Agar*

Pada permukaan miring media ditanam bakteri dengan cara *streak*. Tujuannya adalah apakah bakteri itu dapat menghasilkan enzim urease yang dapat menghidrolisa urea menjadi amoniak. Hasil positif bila media berwarna merah.

f. Gula-Gula

Cara pemupukannya adalah mengambil koloni bakteri dengan ose steril lalu dicelupkan dalam media cair gula-gula yaitu glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sukrosa, dan dulcitol. Tujuan identifikasi ini adalah untuk mengetahui bakteri yang dapat memfermentasi gula-gula menjadi asam. Hasil positif bila media yang semula berwarna merah berubah jadi kuning.

Lampiran 4. Analisis Khi-kuadrat Seluruh Konsentrasi

Konsentrasi Ekstrak Wortel	Sampel		Total
	Negatif	Positif	
0%	0	3	3
10%	0	3	3
20%	0	3	3
30%	1	2	3
40%	3	0	3
50%	3	0	3
60%	3	0	3
70%	3	0	3
80%	3	0	3
90%	3	0	3
100%	3	0	3
Total	22	11	33

Keterangan : Negatif: Tidak tumbuh bakteri
Positif : Tumbuh bakteri

Frekuensi Harapan :

$$\text{Negatif} : 3/33 \times 22 = 2$$

$$\text{Positif} : 3/33 \times 11 = 1$$

$$\text{Derajat bebas (db)} = (12-1)(2-1)$$

$$= 11$$

Lampiran 5. Analisis Khi-kuadrat Tabel 2x2 Konsentrasi 40% dan 30%

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
40%	3	0	3
30%	1	2	3
Total	4	2	6

Penghitungan frekuensi harapan

$$\text{Negatif (-)} = 3/6 \times 4 = 2$$

$$\text{Positif (+)} = 3/6 \times 2 = 1$$

Tabel yang dilengkapi dengan frekuensi harapan :

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
40%	3 (2)	0 (1)	3
30%	1 (2)	2 (1)	3
Total	4	2	6

Penghitungan Khi-kuadrat (X^2)

$$\begin{aligned} X^2 &= \frac{(3-2)^2}{2} + \frac{(0-1)^2}{1} + \frac{(1-2)^2}{2} + \frac{(2-1)^2}{1} \\ &= 0,5 + 1 + 0,5 + 1 \\ &= 3 \end{aligned}$$

Derajat bebas = 1

X^2 tabel (0,05) = 3,841

$X^2 (3) < X^2$ tabel memberi arti tidak berbeda nyata.

Lampiran 6. Analisis Khi-kuadrat Tabel 2x2 Konsentrasi 30% dan 20%

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
30%	1	2	3
20%	0	3	3
Total	1	5	6

Penghitungan frekuensi harapan

$$\text{Negatif (-)} = 3/6 \times 1 = 0,5$$

$$\text{Positif (+)} = 3/6 \times 5 = 2,5$$

Tabel yang dilengkapi dengan frekuensi harapan :

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
30%	1 (0,5)	2 (2,5)	3
20%	0 (0,5)	3 (2,5)	3
Total	1	5	6

Penghitungan Khi-kuadrat (X^2)

$$\begin{aligned} X^2 &= \frac{(1-0,5)^2}{0,5} + \frac{(2-2,5)^2}{2,5} + \frac{(0-0,5)^2}{0,5} + \frac{(3-2,5)^2}{2,5} \\ &= 0,5 + 0,1 + 0,5 + 0,1 \\ &= 1,2 \end{aligned}$$

Derajat bebas = 1

X^2 tabel (0,05) = 3,841

$X^2(1,2) < X^2$ tabel memberi arti tidak berbeda nyata.

Lampiran 7. Analisis Khi-kuadrat Tabel 2x2 Kondentrasi 40% dan 20%

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
40%	3	0	3
20%	0	3	3
Total	3	3	6

Penghitungan frekuensi harapan

$$\text{Negatif (-)} = 3/6 \times 3 = 1,5$$

$$\text{Positif (+)} = 3/6 \times 3 = 1,5$$

Tabel yang dilengkapi dengan frekuensi harapan :

Konsentrasi	Sampel		Total
	-	+	
40%	3 (1,5)	0 (1,5)	3
20%	0 (1,5)	3 (1,5)	3
Total	3	3	6

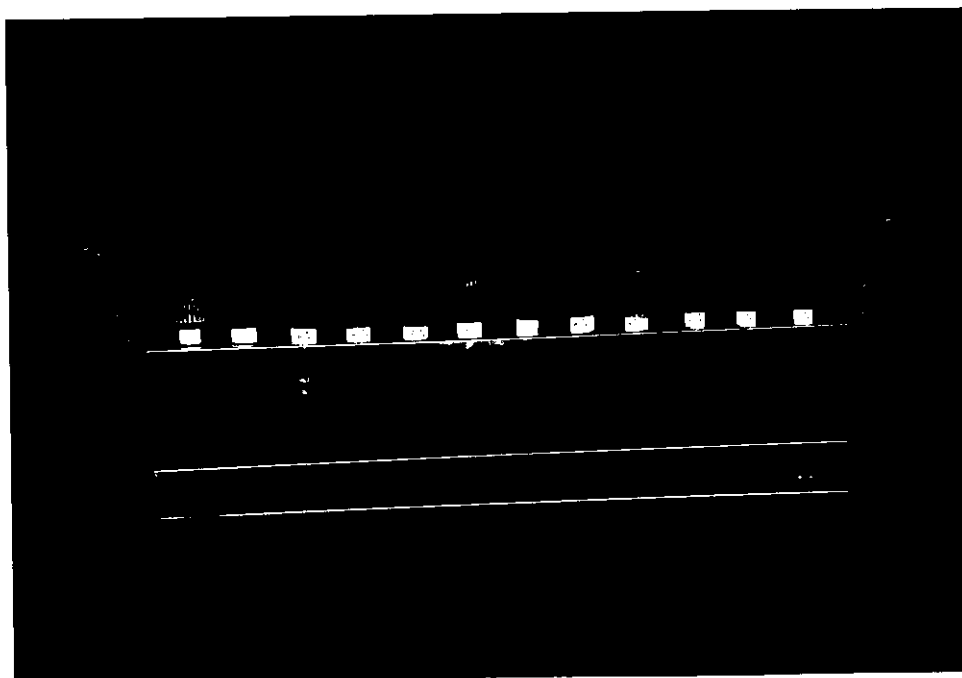
Penghitungan Khi-kuadrat (X^2)

$$\begin{aligned} X^2 &= \frac{(3-1,5)^2}{1,5} + \frac{(0-1,5)^2}{1,5} + \frac{(0-1,5)^2}{1,5} + \frac{(3-1,5)^2}{1,5} \\ &= 1,5 + 1,5 + 1,5 + 1,5 \\ &= 6 \end{aligned}$$

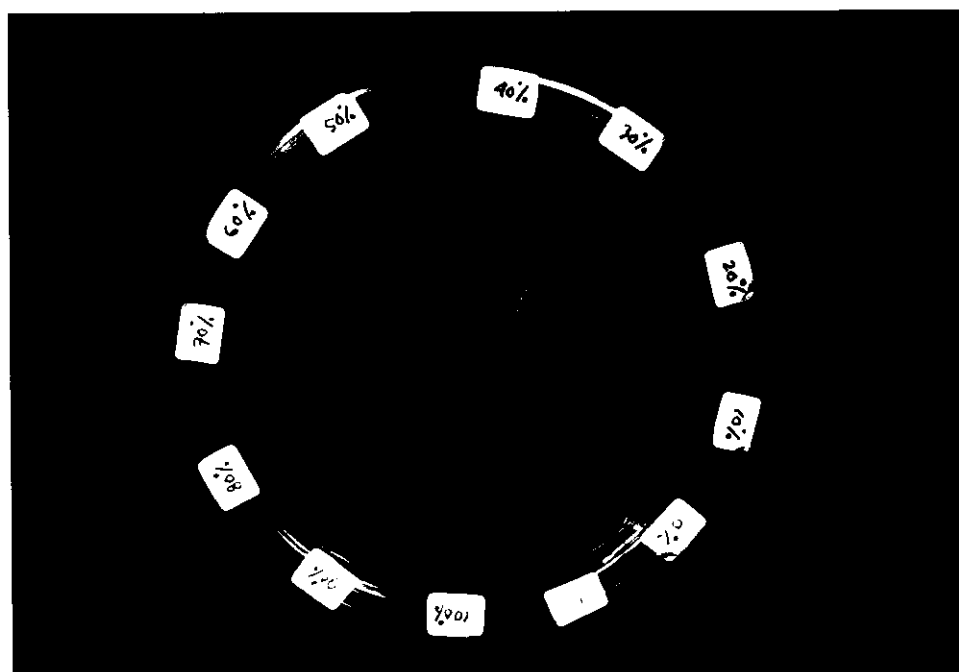
Derajat bebas = 1

X^2 tabel (0,05) = 3,841

$X^2(6) > X^2$ tabel memberi arti berbeda nyata.



Gambar 4. Hasil Pengamatan MIC Ekstrak Wortel terhadap *Salmonella pullorum* secara *In Vitro*.



Gambar 5. Hasil Pengamatan MBC Ekstrak Wortel terhadap *Salmonella pullorum* pada Media MHA



Gambar 6. Hasil Uji Biokimia *Salmonella pullorum*

Keterangan: dari kiri ke kanan

- *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*
- *Sulfit Indol Motility (SIM)*
- *Urease Agar*
- *Simon Citrat Agar*
- Glukosa
- Laktosa
- Mannosa
- Maltosa
- Sukrosa
- Dulcitol