

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
ETANOLIK DAUN KEPUH (*Sterculia foetida L.*)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
Klebsiella pneumonia ISOLAT PASIEN
INFEKSI SALURAN KEMIH (ISK)
DAN KULTUR MURNI
ATCC 25922**

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Sarjana Sains Terapan



Oleh :
Tikha Rosyafatul Ummah
06130172 N

**PROGRAM STUDI D-IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN

Tugas Akhir :

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN KEPUH (*Sterculia foetida* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Klebsiella pneumonia* ISOLAT PASIEN INFEKSI SALURAN KEMIH (ISK) DAN KULTUR MURNI ATCC 25922

Oleh :

Tikha Rosyafatul Ummah
06130172N

Surakarta, 14 Juli 2017

Menyetujui Untuk Ujian Sidang Tugas Akhir

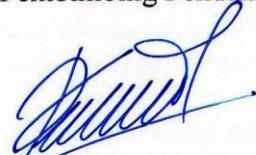
Mengetahui,

Pembimbing Utama



Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si
NIS. 01201303251170

Pembimbing Pendamping



Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc.
NIS. 01201310161180

LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir :

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN KEPUH (*Sterculia foetida L.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Klebsiella pneumonia* ISOLAT PASIEN INFEKSI SALURAN KEMIH (ISK) DAN KULTUR MURNI ATCC 25922

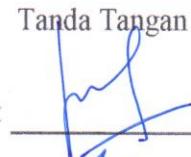
Oleh :

Tikha Rosyafatul Ummah

06130172N

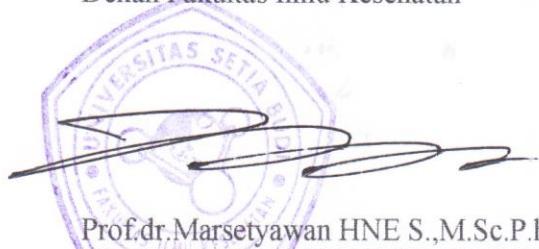
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada tanggal 29 Juli 2017

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I	: Dra. Nony Puspawati, M.Si.	: 	10-08-2017
Penguji II	: Ifandari, S.Si., M.Si.	: 	10-08-2017
Penguji III	: Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc.	: 	10-08-2017
Penguji IV	: Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si.	: 	10-08-2017

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



Prof.dr.Marsetyawan HNE S.,M.Sc.P.hD.

NIDN. 0029094802

Ketua Program Studi

D-IV Analis Kesehatan



Tri Mulyowati, S.KM.,M.Sc.

NIS. 01.2011.153

HALAMAN PERSEMBAHAN

Tugas Akhir ini kupersembahkan untuk :

“Allah SWT yang selalu memberikanku kekuatan untuk menjalani hidup ini,
yang atas kuasanya aku bisa merasakan nikmat iman, islam dan kesehatan, dan
atas kasih sayang-Nya aku masih diberikan kenikmatan untuk terus melakukan
kebaikan dan menuntut ilmu untuk bekal dihari kelak”

“Keluarga yang selalu memberi doa, semangat, nasehat, cinta dan kasih sayang
yang tiada hentinya diberikan kepada saya. Saya akan selalu berusaha
memberikan yang terbaik dan karya kecil ini kupersembahkan kalian”

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tugas akhir ini merupakan jiplakan dari penelitian / karya ilmiah / tugas akhir orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 7 Juli 2017



Tikha Rosyafatul Ummah
NIM. 06130172N

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat ALLAH SWT, atas rahmat dan limpahan kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul **“Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* Isolat Pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK) dan Kultur Murni ATCC 25922”**.

Penulisan tugas akhir ini diajukan dengan maksud dan tujuan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains Terapan pada Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta. Tugas akhir ini dapat terselesaikan dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Orang Tua dan segenap keluarga besarku yang selalu memberikan doa dan dukungan selama penulis menyelesaikan penyusunan tugas akhir ini.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc. Ph.D., selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta
4. Tri Mulyowati S.KM., M.Si., selaku Ketua Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.
5. Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dan panduan dalam penyusunan tugas akhir ini.

6. Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan dan panduan dalam penyusunan tugas akhir ini.
7. Seluruh staf karyawan laboratorium dan dosen D-IV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta yang telah banyak membantu dalam proses penelitian tugas akhir ini.
8. Sahabat-sahabatku Yunita, Farida, Ende, Puput, Irdha dan mahasiswa D-IV Analis Kesehatan Reguler Angkatan VI serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

Penulis telah berusaha semaksimal mungkin untuk menyelesaikan tugas akhir ini, namun penulis menyadari bahwa penulisan ini masih belum sempurna. Kritik dan saran yang membangun dari pembaca sangat penulis harapkan agar menjadi lebih baik. Akhir kata, penulis berharap semoga tugas akhir ini bermanfaat untuk kemajuan di bidang analis kesehatan pada khususnya dan ilmu pengetahuan pada umumnya.

Surakarta, 7 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tinjauan Pustaka	6

1. Tanaman Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.)	6
2. Simplisia	10
3. Ekstraksi	11
4. Infeksi Saluran Kemih (ISK)	14
5. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	15
6. Bakteri <i>Klebsiella pneumonia</i>	18
7. Aktivitas Antibakteri	20
B. Landasan Teori.....	22
C. Hipotesis.....	25
 BAB III. METODE PENELITIAN.....	26
A. Waktu dan Tempat Penelitian	26
B. Rancangan Penelitian	26
C. Populasi dan Sampel	27
D. Variabel Penelitian.....	27
E. Bahan dan Alat.....	28
F. Prosedur Penelitian.....	29
1. Determinasi Tanaman.....	29
2. Preparasi Sampel	30
3. Penentuan Nilai Kadar Air Serbuk Daun Kepuh.....	30
4. Proses Ekstrasi Serbuk Daun Kepuh	31
5. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kepuh	31
6. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kepuh.....	32
7. Teknik Pengambilan Urin pada Pasien.....	32
8. Isolasi Bakteri dan Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	33
9. Isolasi Bakteri dan Identifikasi <i>Klebsiella pneumonia</i>	34
10. Pembuatan Suspensi Bakteri	35
11. Pengujian Aktivitas Antibakteri	36
12. Pembacaan Hasil.....	36
G. Teknik Analisis Data.....	37
H. Desain Penelitian.....	38

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	39
1. Determinasi Tanaman Kepuh.....	39
2. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kepuh	39
3. Hasil Pembuatan Ekstrak Maserasi dengan Etanol 96%.....	40
4. Identifikasi Golongan senyawa	41
5. Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	43
6. Identifikasi Bakteri <i>Klebsiella pneumonia</i>	47
7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	54
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	63
A. Kesimpulan	63
B. Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN	69

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Desain penelitian	38
Gambar 2. Hasil goresan <i>Escherichia coli</i> pada media MCA	43
Gambar 3. Hasil goresan <i>Escherichia coli</i> pada media EA	43
Gambar 4. Hasil isolasi <i>Escherichia coli</i> pada media BHI.....	44
Gambar 5. Hasil uji biokimia <i>Escherichia coli</i>	45
Gambar 6. Hasil pengecatan Gram <i>Escherichia coli</i>	46
Gambar 7. Hasil penggoresan <i>Klebsiella pneumonia</i> pada media MCA.....	48
Gambar 8. Hasil goresan <i>Klebsiella pneumonia</i> pada media EA	48
Gambar 9. Hasil isolasi <i>Klebsiella pneumonia</i> pada media agar darah	49
Gambar 10. Hasil isolasi <i>Klebsiella pneumonia</i> pada media urease.....	49
Gambar 11. Hasil isolasi <i>Klebsiella pneumonia</i> pada media BHI.....	49
Gambar 12. Hasil uji biokimia <i>Klebsiella pneumonia</i>	51
Gambar 13. Hasil pengecatan Gram <i>Klebsiella pneumonia</i>	53
Gambar 14. Hasil pengecatan kapsul <i>Klebsiella pneumonia</i>	53
Gambar 15. Grafik uji aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i>	58
Gambar 16. Grafik uji aktivitas antibakteri <i>Klebsiella pneumonia</i>	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Sifat fisika dan kimia etanol.....	14
Tabel 2. Konsentrasi ekstrak daun kepuh	32
Tabel 3. Kadar air serbuk daun kepuh	39
Tabel 4. Rendemen ekstrak.....	40
Tabel 5. Identifikasi golongan senyawa.....	41
Tabel 6. Identifikasi makroskopis <i>Escherichia coli</i>	44
Tabel 7. Identifikasi uji biokimia <i>Escherichia coli</i>	46
Tabel 8. Identifikasi mikroskopis <i>Escherichia coli</i>	47
Tabel 9. Identifikasi makroskopis <i>Klebsiella pneumonia</i>	50
Tabel 10. Identifikasi uji biokimia <i>Klebsiella pneumonia</i>	51
Tabel 11. Identifikasi mikroskopis <i>Klebsiella pneumonia</i>	53
Tabel 12. Hasil diameter zona hambat <i>Escherichia coli</i> kultur murni.....	55
Tabel 13. Hasil diameter zona hambat <i>Escherichia coli</i> isolat pasien ISK	55
Tabel 14. Hasil diameter zona hambat <i>Klebsiella pneumonia</i> kultur murni....	56
Tabel 15. Hasil diameter zona hambat <i>K. pneumonia</i> isolat pasien ISK	57

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian.....	69
Lampiran 2, surat Pengantar Penelitian	70
Lampiran 3. Surat Pengajuan Kelaikan Etik	71
Lampiran 4. Surat Kelaikan Etik.....	72
Lampiran 5. Surat Keterangan Determinasi.....	73
Lampiran 6. Surat Keterangan Selesai Penelitian	74
Lampiran 7. Foto Alat dan Bahan	75
Lampiran 8. Foto Hasil Identifikasi Senyawa.....	77
Lampiran 9. Foto Hasil Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	78
Lampiran 10. Foto Hasil Identifikasi Bakteri <i>Klebsiella pneumonia</i>	80
Lampiran 11. Foto Hasil Uji Antibakteri	83
Lampiran 12. Formulasi Pembuatan Media.....	85
Lampiran 13. Hasil Uji Statistik <i>Escherichia coli</i>	92
Lampiran 14. Hasil Uji Statistik <i>Klebsiella pneumonia</i>	93
Lampiran 15. Hasil Perhitungan	94

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

ISK	Infeksi Saluran Kemih
UTI	<i>Urinary Tract Infection</i>
BPOM	Badan Pengawasan Obat dan Makanan
KIA	<i>Kliger's Iron Agar</i>
SIM	<i>Sulphide Indole Motility</i>
LIA	<i>Lysine Indole Agar</i>
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
ml	<i>mililiter</i>
kg	<i>kilogram</i>
cm	<i>centimeter</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxida</i>
PAM	Perusahaan Air Minum

INTISARI

Rosyafatul, T.U. 2017. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* Isolat Pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK) dan Kultur Murni ATCC 25922. Program Studi D-IV Analis Kesehatan. Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan salah satu tanaman yang bermanfaat yang mengandung senyawa saponin, flavonoid, triterpenoid, tanin dan polifenol sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* pada isolasi pasien ISK dan kultur murni.

Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Ekstrak kental daun kepuh dibuat dalam berbagai konsentrasi antara lain 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% dengan menggunakan pengencer Dimetil Sulfoksida 2%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi. Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* diisolasi dari urin pasien ISK dan kultur murni.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun kepuh mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia*. Diameter zona hambat ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Escherichia coli* kultur murni pada konsentrasi 50% sebesar 20,33 mm, sedangkan rerata ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Escherichia coli* isolat pasien ISK sebesar 15,33 mm. Rerata Diameter zona hambat ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* kultur murni pada konsentrasi 50% sebesar 20,33 mm, sedangkan rerata ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK sebesar 18,67 mm. Hal ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat kedua bakteri kultur murni lebih besar daripada isolat pasien ISK.

Kata kunci: Antibakteri, Daun Kepuh, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*

ABSTRACT

Rosyafatul, T.U. 2017. Antibacterial Activity Comparison *Sterculia foetida* L. Leaves Ethanolic Extract Againsts *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* Urinary Tract Infection (UTI) Isolates Patient and Pure Culture ATCC 25922. D-IV Study Program Health Analyst. The Faculty of Health Sciences. Setia Budi University.

Sterculia foetida L. leaves extract is useful plants which contains triterpenoids, saponins, flavonoids, tannins and polyphenols, so it can be used as an antibacterial. The research to find out weather there are difference results antibacterial activity of *Sterculia foetida* L. leaves extracts against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* in a patient's UTI and pure culture.

The Method used for obtaining the extract by maceration using ethanol solvent. Thick extract of *Sterculia foetida* L. leaves made in different concentrations, among others, 10%, 20%, 30%, 40% and 50% by using a diluent Dimethyl Sulfoxide 2%. Antibacterial activity carried out by diffusion methods. *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* isolated from the urine of patients UTI and pure culture.

The results showed, *Sterculia foetida* L. leaves Extract has antibacterial activity againts *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia*. The inhibition zones pure culture *Sterculia foetida* L. leaves extract againts *Escherichia coli* on the concentration of 50% is 20,33 mm, the average *Sterculia foetida* L. leaves extract againt *Escherichia coli* isolates patients UTI is 15,33 mm. The inhibition zones curvatures *Sterculia foetida* L. leaves extract against *Klebsiella pneumonia* pure culture on concentration 50% is 20,33 mm, *Sterculia foetida* L. leaves extract againt *Klebsiella pneumonia* isolates patients UTI of 18,67 mm. This shows that the inhibition zones of pure culturing both is greater rather than isolate patients UTI.

Keywords: Antibacterial, *Sterculia foetida* L. leaves, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Seiring dengan perkembangan teknologi saat ini, telah banyak diproduksi obat-obatan modern yang dibuat dari bahan kimia. Obat-obat kimia ini jika tidak digunakan secara tepat dan rasional dapat menyebabkan adanya efek samping yang merugikan bagi kesehatan. Sehingga diperlukan alternatif menggunakan tanaman obat yang lebih aman dan memiliki efek samping yang rendah (Rahmi, 2015).

Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang sudah lama digunakan oleh masyarakat. Salah satu manfaat tanaman obat adalah menjaga tubuh dari infeksi bakteri. Penyakit infeksi bakteri sangat mudah menular dari satu penderita ke penderita lain (Inayati, 2015).

Tumbuhan obat merupakan aset nasional yang perlu digali, diteliti, dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya. Pada umumnya tanaman obat banyak terdapat disekitar pekarangan rumah sehingga mudah dijangkau. Banyak orang yang belum mengetahui tentang manfaat dan efek samping dari tanaman obat tersebut sehingga perlu dilakukan penelitian (Rahmi, 2015). Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) digunakan sebagai pengobatan tradisional antara lain demam, kepala pusing serta memiliki aktivitas inflamantori dan analgesik. Berdasarkan data dari BPOM daun Kepuh diketahui memiliki kandungan senyawa kimia seperti saponin, flavonoid, triterpenoid, tannin dan polifenol pada bagian daun (Asih *et al.*, 2010).

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan jenis infeksi nosokomial yang sering terjadi. Beberapa penelitian menyebutkan Infeksi Saluran Kemih merupakan 40% dari seluruh infeksi nosokomial dan dilaporkan penyebab 80% Infeksi Saluran Kemih terjadi setelah katerisasi (Darmadi, 2008). Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah infeksi yang terjadi disepanjang saluran kemih, termasuk ginjal itu sendiri, akibat proliferasi suatu mikroorganisme. Sebagian besar Infeksi Saluran Kemih disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan sebagian kecil disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumonia*. Infeksi Saluran Kemih terjadi pada anak perempuan atau perempuan dewasa. Salah satu penyebab adalah uretra perempuan yang lebih pendek sehingga bakteri kontaminan lebih mudah memperoleh akses ke kandung kemih (Corwin, 2007).

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang dalam sel tunggal atau berpasangan, merupakan anggota family *Enterobacteriacea* dan flora normal intestinal yang mempunyai kontribusi pada fungsi normal intestinal dan nutrisi, tetapi bakteri ini akan menjadi patogen bila mencapai jaringan di luar jaringan intestinal. *Enterobacteriacea* adalah bakteri yang bertanggung jawab pada sekitar 50% infeksi nosokomial. Penyebab paling sering infeksi nosokomial adalah *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia* dan *Serratia marcencens*. *Escherichia coli* adalah penyebab utama Infeksi Saluran Kemih (Noviana, 2004).

Klebsiella pneumonia secara klinis adalah bakteri yang paling penting dari genus *Klebsiella*, dapat ditemukan dalam flora normal usus tetapi dalam jumlah yang rendah dibanding dengan *Escherichia coli*. *Klebsiella pneumonia* merupakan

bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, memiliki kapsul, tetapi tidak membentuk spora. *Klebsiella pneumonia* tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasi karbohidrat membentuk asam dan gas (Amelinda, 2014).

Menurut penelitian Joko Waluyo pada tahun 2014, ekstrak daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne* karena adanya senyawa triterpenoid dalam daun Kepuh yang berpotensi sebagai zat antibakteri. Uji ekstrak daun Kepuh terhadap penghambatan pertumbuhan dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi sumur yang masing-masing diisi dengan ekstrak daun Kepuh pada cawan yang berbeda. Hasil uji didapatkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanolik daun Kepuh adalah 3% dengan diameter zona hambat sebesar 2,03 mm.

Berdasarkan kandungan yang dimiliki oleh daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada daun tanaman Kepuh terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan isolat pasien ISK Infeksi Saluran Kemih (ISK). Uji aktivitas antibakteri tersebut dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan ekstraksi metode maserasi dengan etanolik sebagai pelarutnya. Hal ini dilakukan untuk meneliti lebih lanjut tentang manfaat daun Kepuh sebagai antibakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan isolat pasien ISK Infeksi Saluran Kemih (ISK).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan isolat pasien ISK?
2. Apakah ada perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) pada bakteri *Escherichia coli* kultur murni dan *Escherichia coli* isolat pasien ISK ?
3. Apakah ada perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) pada bakteri *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk :

1. Untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan isolat pasien ISK.
2. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* kultur murni dan *Escherichia coli* isolat pasien ISK.

3. Untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK.

D. Manfaat penelitian

1. Bagi ilmu pengetahuan :

Menambah wawasan tentang morfologi, pemanfaatan, pengaplikasian tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) dan sebagai pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.

2. Bagi masyarakat :

Memberikan uraian informatif kepada masyarakat tentang pemanfaatan tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) sebagai obat tradisional dan antibakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia*.

3. Bagi peneliti :

Menambah wawasan tentang morfologi, pemanfaatan, dan pengaplikasian tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.).

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.)

a. Sistematika Tanaman

Adapun sistematika tanaman Kepuh menurut *National Plant Database* (2003) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobiota
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliopyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Dilleniidae
Ordo : Malvales
Familia : Malvaceae
Genus : Sterculia
Species : *Sterculia foetida* L.

b. Deskripsi Tanaman

Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tumbuhan berupa pohon dengan tinggi mencapai 40 m dan diameter antara 90-120 cm. Tanaman Kepuh mempunyai bentuk pohon yang tinggi dan lurus, bercabang banyak dan bentuk percabangannya simpodial seperti halnya karakter dari genus-genus pohon tropis lainnya. Susunan percabangan Kepuh mempunyai kemiripan dengan percabangan terminalia bertingkat. Cabang-cabang tumbuh mendatar

dan berkumpul pada ketinggian yang kurang lebih sama, bertingkat-tingkat. Daun-daunnya berbentuk majemuk menjari, mempunyai tangkai 12,5–23 cm, terkumpul di ujung ranting. Anak daun berjumlah 7-9, berbentuk jorong lonjong dengan ujung dan pangkal meruncing, panjang 10–17 cm (Herdiana, 2005).

Bunga tanaman Kepuh berkelamin satu, berumah satu biasanya terdapat pada ketiak daun yang masih muda dan mengeluarkan bau busuk. Bentuk bunga majemuk tersusun dalam mulai dekat ujung ranting, panjang 10–15 cm, hijau atau ungu pudar dengan kelopak yang berbagi-5 laksana mahkota, taju hingga 1,3 cm, berwarna jingga (Herdiana, 2005).

Buah tanaman Kepuh berukuran relatif besar, berwarna hijau jika masih muda setelah matang berubah menjadi merah, kadang-kadang hitam dan membuka (Herdiana, 2005). Bentuk buah bumbung besar, lonjong gemuk, berukuran 7,6–9 x 5 cm, berkulit tebal, merah terang, akhirnya mengayu, berkumpul dalam karangan berbentuk bintang. Tingkat kematangan buah tergantung spesiesnya, tetapi biasanya memerlukan waktu 4-6 bulan. Bijinya berbentuk elipsoid atau elipsoid-oblong, dengan ukuran panjang ± 2 cm, berwarna hitam, licin dan mengkilat dengan hilum yang berwarna putih serta karpelnya berwarna merah atau merah tua (Zanzibar, 2011).

c. Manfaat Tanaman

Tanaman Kepuh mempunyai cukup banyak manfaat, mulai dari kulit, batang, daun, buah hingga biji. Kulit pohon dan daun dapat digunakan sebagai obat untuk beberapa penyakit antara lain *rheumatic*, *diuretic*, dan *diaphoretic*.

Kulit buah Kepuh dimanfaatkan sebagai bahan ramuan untuk membuat kue. Biji Kepuh mengandung minyak nabati yang bisa digunakan untuk bahan produk industri seperti kosmetik, sabun, shampoo, pelembut kain, cat, dan plastik. Pohon Kepuh memiliki tajuk dan perakaran yang cukup besar dapat berfungsi sebagai pengatur siklus hidrologi (Maryanti dan Rina, 2014).

d. Kandungan Kimia Tanaman Kepuh

Tanaman Kepuh mempunyai kandungan kimia senyawa aktif saponin, flavonoid, polifenol, tanin dan triterpenoid (Asih *et al.*, 2010).

1) Saponin

Saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin. Saponin dapat dideteksi dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih yang stabil (Gunawan dan Mulyani, 2004). Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel (Mahanani *et al.*, 2012).

2) Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang aktif. Senyawa fenol dan senyawa fenolik derivatnya juga dapat menimbulkan denaturasi protein yang terdapat pada dinding sel sehingga dapat merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom dan dinding sel (Erianti *et al.*, 2015).

3) Polifenol

Polifenol merupakan bahan polimer penting dalam tanaman dan cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida. Antioksidan polifenol memiliki aktivitas biologis sebagai penangkap radikal bebas sehingga dapat di manfaatkan sebagai obat untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas seperti kanker (Hernani dan Raharjo, 2005).

4) Triterpenoid

Senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiologis tertentu, seperti antijamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi, dan dapat mengatasi penyakit diabetes (Asih *et al.*, 2010). Sedangkan mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan mengalami kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Santoso *et al.*, 2012).

5) Tanin

Senyawa tanin adalah senyawa astringent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenol yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Zat astringent dari tanin dapat menyebabkan rasa kering dan *puckery* (kerutan) di dalam mulut setelah mengkonsumsi teh pekat, anggur merah atau buah yang mentah. Tanin bertindak seperti asam ringan berdasarkan banyak gugus –OH fenolik. Asam *tannic* adalah bentuk paling sederhana dari *hydrolysable* tanin. Salah satu sifat paling penting dari tanin dan asam *tannic* adalah kemampuannya untuk membentuk kompleks *chelat* dengan ion logam. Asam *tannic* dapat berfungsi sebagai agen antimikroba alami, tetapi tidak aktif terhadap spektrum yang luas dari jamur dan bakteri (Ismarani, 2012).

2. Simplisia

a. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Herbie, 2015). Menurut Materia Medika Indonesia simplisia dibedakan menjadi tiga, yaitu: simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican (mineral). simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya

yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Depkes, 1995).

b. Proses Pembuatan Simplisia

Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan. Adapun tahapan tersebut dimulai dari pengumpulan bahan, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan (Gunawan dan Mulyani, 2004).

c. Pengumpulan Simplisia

Simplisia berdasarkan bahan bakunya dapat diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia diambil dari tanaman budidaya, keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Pengambilan simplisia dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur, dan tempat tumbuh (Depkes, 1985).

d. Pencucian

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan-bahan yang tercemar pestisida. Pencucian bisa dilakukan dengan menggunakan air yang berasal dari berbagai sumber seperti: mata air, sumur, PAM (Gunawan dan Mulyani, 2004).

e. Proses Pengeringan Simplisia

Proses pemanasan selama pengeringan perlu diperhatikan, karena suhu yang tidak terkontrol dapat menyebabkan kerusakan pada bahan.

Beberapa senyawa kimia yang mudah rusak karena panas diantaranya triterpenoid hidrokarbon, minyak atsiri, senyawa-senyawa yang memiliki ikatan rangkap dan lain-lain (Depkes, 2011).

3. Ekstraksi

a. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses melarutkan dan menarik senyawa dengan menggunakan pelarut yang tepat. Ada tiga tahapan proses pada waktu ekstraksi yaitu: penetrasi pelarut ke dalam sel tanaman dan pengembangan sel, disolusi pelarut ke dalam sel tanaman dan pengembangan sel selanjutnya difusi bahan yang terekstraksi ke luar sel. Prinsip utama ekstraksi adalah yang berkaitan dengan kelarutan, yaitu senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar akan mudah larut dalam pelarut nonpolar. Ada beberapa macam cara melakukan ekstraksi diantaranya berdasarkan atas energi yang digunakan. Cara ini terbagi menjadi cara ekstraksi panas dan ekstraksi dingin. Ekstraksi panas antara lain reflux, soxhlet, destilasi, infusa dan dekokta sedangkan ekstraksi dingin antara lain pengocokan, maserasi dan perkolasji (Emilan, 2011).

b. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Merasasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar (Indraswari, 2008). Metode ekstraksi maserasi dipilih karena mempunyai

banyak keuntungan dibandingkan metode ekstraksi lainnya. Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak memerlukan pemanasan sehingga bahan alam tidak terurai. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut ekstraksi pada suhu kamar (Istiqomah, 2013).

c. Pelarut

Syarat sebuah pelarut yang digunakan antara lain berkapasitas besar, selektif, volatilitas cukup rendah (kemudahan menguap/titik didihnya rendah) dengan cara penguapan pada temperatur 60°C, harus dapat diregenerasi, non toksik, non korosif dan viskositas rendah (Emilan, 2011). Pemilihan pelarut harus diperhatikan sifat metabolit yang akan diekstrak. Sifat yang penting adalah sifat kepolaran dan gugus polar pada senyawa yang akan diekstrak. Dengan mengetahui sifat metabolit yang akan dapat dipilih pelarut yang sesuai berdasarkan kepolaran. Senyawa polar akan lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar lebih mudah larut dalam pelarut non polar. Derajat kepolaran bergantung pada tetapan dielektrikum. Makin besar tetapan elektrik makin polar pelarut tersebut (Maryuni, 2008).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol. Etanol termasuk pelarut universal. Etanol disebut juga etil alkohol yang di pasaran lebih dikenal sebagai alkohol, merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH . Kondisi suhu ruang etanol berwujud cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, dan tak berwarna (Munawaroh dan Prima, 2010).

Penggunaan pelarut etanol dikarenakan etanol sebagai pelarut organik universal yang aman dan diharapkan dapat menarik senyawa polar, semi polar ataupun non polar (Febriani *et al.*, 2015).

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia Etanol

Karakteristik	Syarat
Rumus molekul	C_2H_5OH
Bobot molekul	46,07 gram/mol
Wujud	Cair
Titik lebur	-114,3°C
Titik didih	78,32°C
Densitas pada 20°C	0,7893 gr/ml
Kelarutan dalam air	Sangat larut
Viskositas pada 20°C	1,17 cP
Kalor spesifik pada 20°C	0,579 kal/g°C

(Sumber: Munawaroh dan Prima, 2010)

4. Infeksi Saluran Kemih (ISK)

a. Pengertian

Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah istilah umum yang menunjukkan keberadaan mikroorganisme dalam urin. Bakteriuria bermakna (Signifikan bakteriuria) menunjukkan pertumbuhan mikroorganisme lebih dari 10^5 cfu/ml air kemih (urin) porsi tengah. Bakteriuria bermakna digunakan untuk membedakan antara bakteri yang benar-benar berkembang biak di dalam air kemih. Bakteriuria bermakna tanpa disertai presentasi klinis Infeksi Saluran Kemih (ISK) dinamakan bakteriuria asimptomatik sebaliknya bakteriuria bermakna disertai presentase klonik Infeksi Saluran Kemih (ISK) dinamakan bakteriuria sitomatik. Beberapa faktor yang menyebabkan hasil negatif palsu pada pasien dengan presentase dini Infeksi Saluran Kemih (Sukandar, 2009).

b. Gejala Klinis

Penderita Infeksi Saluran Kemih pada umumnya mempunyai gejala-gejala yang terkait dengan tepat dan keparahan infeksi. Gejala tersebut berupa menggigil, demam, nyeri pinggang dan sering nausea serta muntah (biasanya terkait dengan pielonefritis akut), hematuria (biasanya terkait asitis) dan terburu-buru kencing (Shulman, 1994).

c. Etiologi

Saluran kemih merupakan salah satu pertahanan tubuh yang tidak spesifik sehingga bisa menjadi jalur masuknya mikroorganisme patogen ke dalam tubuh inang. Bermacam-macam mikroorganisme yang ada di dalam saluran kemih dapat menyebabkan infeksi, namun yang menjadi penyebab terbanyak adalah kelompok Gram negatif yaitu *Enterobacteriaceae* seperti *Escherichia coli*, kemudian diikuti oleh *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, termasuk bakteri yang biasanya menghuni usus yang kemudian naik ke sistem saluran kemih. Jenis *coccus* Gram positif lebih jarang sebagai penyebab infeksi sedangkan *Enterococcus* dan *Staphylococcus aureus* sering ditemukan pada pasien dengan batu saluran kemih, laki-laki usia lanjut dengan hipertrofil prostat atau pada pasien yang menggunakan kateter (Tessy *et al.*, 2001).

5. Bakteri *Escherichia coli*

a. Sistematika

Sistematika bakteri *Escherichia coli* sebagai berikut :

Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacterales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Jawetz <i>et al.</i> , 2007).

b. Morfologi dan Sifat

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, berderet, dan merupakan flora yang paling banyak diusus, bergerak dengan flagel. Galur *Escherichia coli* dapat menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan panas, yang dapat meningkatkan sekresi air dan klorida dalam lumen usus dan menyebabkan hipermotilitas yang akan menyebabkan diare ringan pada anak-anak (Jawetz *et al.*, 2012).

c. Faktor-faktor Patogenitas

- 1) Antigen permukaan. Terdapat 2 tipe *fimbriae* pada *Escherichia coli* yaitu, tipe manosa sensitif (pili) dan tipe manosa resisten (CFAs I & UU) melekatkan *enteropathogenic Escherichia coli* pada sel epitel usus binatang.

2) Enterotoksis. Ada 2 amcam enterotoksin yang telah berhasil diisolasi dari *Escherichia coli* yaitu, toksin LT (termolabil) dan toksin ST (termostabil). Produksi kedua macam toksin ini diatur oleh plasmid yang mampu pindah dari satu kuman ke sel kuman lainnya. Terdapat 2 macam plasmid, satu plasmid mengkode pembentukan toksin LT dan ST dan satu plasmid lainnya mengatur pembentukan toksin ST saja (Karsinah *et al.*, 1994).

d. Toksin

Toksin pada *Escherichia coli* dibagi menjadi empat yaitu 1) *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC) memproduksi toksin LT dan toksin ST. Toksin-toksin ini bekerja pada enterosit untuk menstimulasi sekresi cairan, menyebabkan terjadinya diare. 2) *Escherichia coli* enteroinvatif (EIEC) menyebabkan penyakit diare seperti disentri yang disebabkan *Shigella*. Bakteri menginvasi sel mukosa, menimbulkan kerusakan sel dan terlepasnya lapisan mukosa. 3) *Escherichia coli* enteropathogenic (EPEC) merupakan *Escherichia coli* yang pertama dikenali sebagai patogen primer yang menyebabkan wabah diare di tempat perawatan anak. Penempelan berhubungan dengan hilangnya mikrovilli dan disebabkan oleh pengaturan ulang dari aktin sel penjamu. 4) *Escherichia coli* enterohemoragik (EHEC) memproduksi verotoksin yang bekerja pada sel vero *in vitro*. Diare berdarah yang disebabkannya dapat dipersulit oleh hemolisis dan gagal ginjal akut. Organisme ini ditransmisikan ke manusia melalui buruknya higiene di tempat produksi makanan (Gillespie dan Bamford, 2008).

e. Sifat *Escherichia coli*

Bakteri uji *Escherichia coli* dapat diketahui sifat fisiologisnya dengan inokulasi pada media-media yang dilakukan secara: makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia. Sifat fisiologinya yaitu *Escherichia coli* secara khas memberikan hasil positif pada uji indol, lisin dekarboksilase dan fermentasi manitol serta menghasilkan gas dari glukosa. Lebih dari 90% isolat *Escherichia coli* memberikan hasil yang positif untuk glukoronidase- β dengan menggunakan substrat 4-methylum-belliferyl- β -glucoronide (MUG). Isolat dari lokasi anotomis selain urine, dengan sifat yang khas seringkali dapat dipastikan sebagai *Escherichia coli* dengan hasil pemeriksaan MUG yang positif (Jawetz *et al.*, 2013).

6. Bakteri *Klebsiella pneumonia*

a. Sistematika

Sistematika bakteri *klebsiella pneumonia* sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Klebsiella

Species : *Klebsiella pneumonia* (Brisse *et al.*, 2009)

b. Morfologi dan sifat bakteri *Klebsiella pneumonia*

Bakteri ini termasuk Gram negatif, berbentuk panjang atau pendek yang bersifat fakultatif anaerob. Bakteri *Klebsiella* berbentuk basil atau batang, tidak berspora, berukuran 0,5-1,5 x 1-2 mikron. Mempunyai selubung yang lebarnya 2-3 kali ukuran kuman. Berpasangan atau berderet, tetapi bakteri *Klebsiella* tidak bergerak (Soemarno, 2000).

Bakteri ini berasal dari family *Enterobacteriaceae*. *Klebsiella* pertama kali diteliti dan diberi nama oleh Edwin Klebs (1834-1913). Penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri ini antara lain adalah bronkopneumonia dan pneumonia bakteri Gram negatif. Hampir semua pneumonia disebabkan bakteri ini. *Klebsiella pneumonia* terdapat dalam saluran nafas dan feses sekitar 5% orang normal (Ravichitra *et al.*, 2014).

Klebsiella pneumonia dapat menyebabkan penyakit karena mempunyai dua tipe antigen pada permukaan selnya:

a. Antigen O

Antigen O adalah lipopolisakarida yang terdapat dalam sembilan varietas.

b. Antigen K

Antigen K adalah polisakarida yang dikelilingi oleh kapsula dengan lebih dari 20 varietas.

Kedua antigen ini meningkatkan patogenitas *Klebsiella pneumonia* karena mampu memproduksi enzim *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) yang dapat melumpuhkan kerja berbagai jenis antibiotik. Hal ini dapat menyebabkan bakteri menjadi kebal dan sulit dilumpuhkan (Jawetz *et al.*, 2005).

c. Patogenensis

Faktor virulensi bakteri yang mempengaruhi patogenesis pada tubuh manusia adalah kapsul polisakarida, endotoksin, reseptor dinding sel. *Klebsiella* pada umumnya memiliki kapsul besar yang terdiri dari polisakarida K yang menutupi antigen somatik. Struktur kapsul tersebut berfungsi melindungi bakteri dari fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear dan mencegah kematian bakteri oleh serum bakterisidal. Adanya antigen pada kapsul yang dimiliki *Klebsiella* meningkatkan patogenesis bakteri. Reseptor dinding sel yang dimiliki bakteri memungkinkan *Klebsiella* melekat pada sel *host*, mengubah permukaan bakteri sehingga makrofag terganggu. Invasi pada sel inang dipengaruhi oleh kapsul polisakarida yang mengelilingi sel bakteri dan memproduksi endotoksin (Ravichitra *et al.*, 2014).

d. Kolonisasi *Klebsiella pneumonia*

Kolonisasi bakteri patogen respiratori terkadang kurang ditemui tanda klinis namun akan mulai menimbulkan masalah apabila menjadi sumber penularan dan penyebaran pada orang lain. Salah satu bakteri patogen respiratori yang berkolonisasi di nesofaring adalah *Klebsiella pneumonia* sebesar 7% pada balita (Amelinda *et al.*, 2010).

7. Aktivitas Antibakteri

a. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas bakteri digunakan untuk mengukur respon pertumbuhan populasi bakteri terhadap zat antimikroba yang diujikan agar mendapatkan pengobatan yang efektif dan efisien (Pratiwi, 2008). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu dilusi dan difusi (Jawetz *et al.*, 2012). Metode dilusi dilakukan dengan mengukur Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode difusi dilakukan dengan cakram kertas, sumuran, dan silinder (Pratiwi, 2008).

b. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Menurut Rostinawati (2009) sensitivitas bakteri terhadap antibakteri ditentukan oleh diameter zona hambat. Teknik pada metode difusi agar sebagai berikut:

1) Teknik Cakram Kertas

Teknik cakram kertas adalah metode yang paling sering digunakan. Medium agar dalam cawan petri diinokulasikan dengan bakteri uji kemudian diletakkan cakram kertas yang telah ditambahkan zat uji ke dalam agar dan diinokulasi, jika terdapat aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona inhibisi disekeliling kertas cakram.

2) Teknik Sumuran

Agar padat yang telah diinokulasi bakteri dibuat lubang yang jumlah dan letaknya disesuaikan dengan tujuan penelitian. Zat uji diinjeksikan ke

lubang kemudian diinkubasi. Aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona inhibisi disekeliling lubang.

3) Teknik Silinder

Silinder gelas diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Zat uji dimasukkan ke dalam silinder kemudian diinkubasi. Aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona bening di sekitar silinder.

c. Antibiotik

Antibiotik merupakan bahan kimiawi yang dihasilkan oleh organisme bakteri dan jamur yang dapat mengganggu mikroorganisme lain. Antibiotik ini dapat membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mikroorganisme lain. Antibiotik terbagi menjadi dua yaitu bersifat aktif terhadap beberapa spesies bakteri (berspektrum luas) dan bersifat lebih spesifik terhadap spesies tertentu (berspektrum sempit) (Tjay dan Raharja, 2002).

Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah meropenem untuk bakteri *Klebsiella pneumonia* dan Siprofloxacin untuk bakteri *Escherichia coli*. Kedua antibiotik tersebut termasuk dalam antibiotik spektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Sebutan spektrum didasarkan pada klasifikasi klinis dari antibiotik terhadap mikroorganisme (Beale dan John, 2011).

B. Landasan Teori

Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) memiliki banyak kegunaan dari tiap bagianya. Kulit pohon dan daun dapat digunakan sebagai obat beberapa penyakit seperti *rheumatic*, *diuretic*, dan *diaphoretic* (Maryanti dan Rina, 2014). Tanaman Kepuh mempunyai kandungan kimia senyawa aktif saponin, flavonoid, polifenol, tanin dan triterpenoid (Asih *et al.*, 2010).

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan (Herbie, 2015). Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan. Adapun tahapan tersebut dimulai dari pengumpulan bahan, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Ekstraksi adalah proses melarutkan dan menarik senyawa dengan menggunakan pelarut yang tepat (Emilan, 2011). Metode ekstraksi maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar (Indraswari, 2008). Pemilihan pelarut harus diperhatikan sifat metabolit yang akan diekstrak. Sifat yang penting adalah sifat kepolaran dan gugus polar pada senyawa yang akan diekstrak (Maryuni, 2008). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol. Etanol termasuk pelarut universal diharapkan dapat menarik senyawa polar, semi polar ataupun non polar (Febriani *et al.*, 2015).

Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah istilah umum yang menunjukkan keberadaan mikroorganisme dalam urin (Sukandar, 2009). Saluran kemih

merupakan salah satu pertahanan tubuh yang tidak spesifik sehingga bisa menjadi jalur masuknya mikroorganisme patogen ke dalam tubuh inang. Bermacam-macam mikroorganisme yang ada di dalam saluran kemih dapat menyebabkan infeksi, namun yang menjadi penyebab terbanyak adalah kelompok Gram negatif yaitu *Enterobacteriaceae* seperti *Escherichia coli*, kemudian diikuti oleh *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, termasuk bakteri yang biasanya menghuni usus yang kemudian naik ke sistem saluran kemih (Tessy *et al.*, 2001).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, berderet, dan merupakan flora yang paling banyak diusus, bergerak dengan flagel (Jawetz *et al.*, 2012). Sifat fisiologis *Escherichia coli* secara khas memberikan hasil positif pada uji indol, lisin dekarboksilase dan fermentasi manitol serta menghasilkan gas dari glukosa (Jawetz *et al.*, 2013).

Bakteri *Klebsiella pneumonia* termasuk Gram negatif, berbentuk panjang atau pendek yang bersifat fakultatif anaerob (Soemarmo, 2000). Faktor virulensi bakteri yang mempengaruhi patogenesis pada tubuh manusia adalah kapsul polisakarida, endotoksin, reseptor dinding sel. *Klebsiella* pada umumnya memiliki kapsul besar yang terdiri dari polisakarida K yang menutupi antigen somatik. Struktur kapsul tersebut berfungsi melindungi bakteri dari fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear dan mengagih kematian bakteri oleh serum bakterisidal. Adanya antigen pada kapsul yang dimiliki *Klebsiella* meningkatkan patogenesis bakteri (Ravichitra *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Joko Waluyo pada tahun 2014, ekstrak daun Kepuh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri dilakukan

secara *in vitro* terhadap penghambatan pertumbuhan *Propionibacterium acne*. Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang memiliki kandungan *phenolic* untuk kegiatan antibakteri dan antimikroba. Ekstrak dari daun Kepuh dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli* (Shivarkumar & Vidyasagar, 2014). Minyak dari biji Kepuh dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Yoganandam *et al.*, 2012).

Uji aktivitas bakteri digunakan untuk mengukur respon pertumbuhan populasi bakteri terhadap zat antimikroba yang diujikan agar mendapatkan pengobatan yang efektif dan efisien (Pratiwi, 2008). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu dilusi dan difusi (Jawetz, 2012). Metode dilusi dilakukan dengan mengukur Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode difusi dilakukan dengan cakram kertas, sumuran, dan silinder (Pratiwi, 2008). Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah meropenem untuk bakteri *Klebsiella pneumonia* dan siprofloxasin untuk bakteri *Escherichia coli*. Kedua antibiotik tersebut termasuk dalam antibiotik spektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

C. Hipotesis

1. Ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan *Escherichia coli* isolat pasien ISK.

2. Ada perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) pada bakteri *Escherichia coli* kultur murni dan *Escherichia coli* isolat pasien ISK.
3. Ada perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) pada bakteri *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK.

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Juni 2017 di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi Surakarta.

B. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional dengan pendekatan *cross sectional* yaitu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh terhadap *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* dari masing-masing kultur murni dan kultur kultur isolat pasien klinis. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengekstrak daun Kepuh yang telah dibuat menjadi beberapa konsentrasi (10%, 20%, 30%, 40% dan 50%), kemudian diuji daya hambat antibakterinya. Zona hambat yang terbentuk dibandingkan dengan kontrol positif (antibiotik) dan kontrol negatif (DMSO 2%).

C. Populasi dan Sampel

Subjek dalam penelitian ini daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.). Sedangkan Objek pada penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* dari kultur murni dan berasal dari urin pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK).

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang tumbuh di daerah Surakarta, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun Kepuh yang diambil secara acak dengan memilih daun yang bebas dari hama.

D. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia*.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak etanolik etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.). Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu diameter zona hambat yang terbentuk dari bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* dari masing-masing kultur murni dan kultur sampel klinis.

3. Definisi operasional Variabel Utama

- a. Sampel uji adalah daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) diperoleh dari tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang tumbuh di Surakarta, Jawa Tengah. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan memilih daun yang terbebas dari hama.

- b. Serbuk daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) adalah daun yang dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, setelah itu dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung hingga kering, kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan No. 40.
- c. Ekstrak etanolik daun Kepuh adalah ekstrak yang diperoleh dari sumber penyarian daun Kepuh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol.
- d. Aktivitas antibakteri adalah uji yang ditentukan dari metode difusi dengan mengukur luas zona inhibisi dengan menggunakan kontrol positif antibiotik dan kontrol negatif DMSO 2%.

E. Bahan dan Alat

1. Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) dan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* dari kultur murni dan berasal dari urin pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK).

a. Kultur dan Identifikasi *Escherichia coli*

Bahan yang di gunakan yaitu medium *Brain Heart Infusion* (BHI), medium *Mac Conkey Agar* (MCA), medium *Endo Agar* (EA), medium *Kligler Iron Agar* (KIA), medium *Sulfida Indol Motility* (SIM), medium *Lysine Iron Agar* (LIA).

b. Kultur dan Identifikasi *Klebsiella pneumonia*

Bahan yang di gunakan yaitu medium *Brain Heart Infusion* (BHI), medium *Mac Conkey Agar* (MCA), medium *Endo Agar* (EA), medium agar

darah, medium Urease, medium *Kligler Iron Agar* (KIA), medium *Sulfida Indol Motility* (SIM), medium *Lysine Iron Agar* (LIA), medium Citrat.

c. Bahan Lain

Bahan-bahan lain yang digunakan seperti: Spiritus, cat Gram (A, B, C, dan D), minyak imersi, aquades, etanol, larutan H_2O_2 3%, NaCl fisiologis (NaCl 0,9%), Siprofloxacin, Meropenem, H_2SO_4 pekat, dan anhidra asetat (Ac_2O), HCl pekat, $FeCl_3$, HCl 2N.

d. Uji Sensitivitas Bakteri

Bahan yang digunakan yaitu medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan sumuran yaitu dengan melihat daerah hambatan disekitar sumuran.

2. Alat

Alat yang digunakan yaitu alat pelindung diri, botol maserasi, penangas air, pipet ukur, timbangan analitik, corong, rangkaian alat *Bidwell-sterling*, *blender*, *boorprof*, erlenmeyer, *clinipette*, botol penampung specimen, rak tabung reaksi, tabung reaksi steril, tabung vial, cawan petri steril, *beaker glass*, inkas, kaca objek, mikroskop, pinset, pembakar spiritus, jarum ose, jarum ent, kapas lidi steril, *incubator*, *autoclave*, kompor, mistar.

F. Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Tahap pertama penelitian adalah melakukan deskripsi tanaman Kepuh. Deskripsi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman dengan ciri-ciri morfologi baik secara makroskopis maupun mikroskopis tanaman

Kepuh. Determinasi tanaman dilakukan di kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi.

2. Preparasi Sampel

Mencari dan mengumpulkan daun Kepuh, kemudian 4 kg daun Kepuh dibersihkan dengan mencuci dibawah air mengalir sampai bersih sehingga terbebas dari kotoran dan debu. Ditiriskan, dipotong kecil-kecil, lalu dikeringkan dengan sinar matahari secara tidak langsung. Sampel yang telah kering diserbukkan dengan menggunakan *blender*, kemudian diayak dan disimpan dalam wadah tertutup.

3. Penentuan Nilai Kadar Air Serbuk Daun Kepuh

Penetapan kadar air daun Kepuh secara destilasi, air yang ada dalam bahan diuapkan kemudian dibawa oleh cairan kimia yang mempunyai titik didih yang lebih tinggi daripada air dan tidak dapat bercampur dengan air serta mempunyai berat jenis yang lebih rendah daripada air. Air dikumpulkan dalam tabung *reciver* dan volume air dapat diketahui. Zat kimia pembawa air yang dapat digunakan antara lain: toluen, *xylen*, benzen dan tetrakhlorethilen.

Mula-mula bahan ditimbang dengan seksama sebanyak 20 gram dan dimasukkan dalam labu alas bulat kemudian ditambahkan *xylen* 90 ml atau sampai semua bahan terendam. Pasang alat destilasi *Bidwell Sterling* dan dipanaskan dengan api kecil, pemanasan dihentikan apabila sudah tidak ada air yang menetes lagi pada tabung *reciver* kemudian dibaca volume air yang telah terdestilasi pada skala *reciver*.

4. Proses Ekstrasi Serbuk Daun Kepuh

Serbuk daun Kepuh dihaluskan hingga diperoleh serbuk berukuran 40 mesh. Sebanyak 300 gram serbuk daun Kepuh dengan menggunakan perbandingan 1:10 dimaserasi menggunakan 3 liter etanol pada suhu kamar selama 1 hari maserasi disaring dan residu diperas agar ekstrak yang diperoleh maksimal. Ampas diekstrak kembali dengan etanol menggunakan perbandingan 1:5 atau maserasi serbuk daun Kepuh dimaserasi dengan 1,5 liter etanol, dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Kemudian dilanjutkan ke tahap pengentalan ekstrak menggunakan *Rotatory evaporator* (60 rpm, 50°C).

5. Skrining Fitokimia Ekstrak etanolik Daun Kepuh

Skrining fitokimia terhadap ekstrak etanolik daun Kepuh meliputi pemeriksaan flavonoid, triterpenoid, saponin, polifenol dan tanin.

a. Identifikasi flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 2 ml etanol 95%, kemudian 0,5 gram serbuk seng dan 2 ml HCl 2N. Larutan didiamkan selama 1 menit dan kemudian ditambahkan 2 ml HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk warna merah jingga atau kuning (Rumanggit *et al.*, 2015).

b. Identifikasi triterpenoid

Uji triterpenoid menggunakan metode Liebermann-Burchard yaitu 2 mg ekstrak kering dilarutkan dalam anhidra asetat, dipanaskan sampai mendidih, didinginkan dan 1 ml H₂SO₄ pekat ditambahkan pada tabung reaksi, jika terbentuk warna merah atau ungu maka terdapat kandungan triterpenoid (Balafit *et al.*, 2013)

c. Identifikasi saponin

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 10 ml aquadest panas dalam tabung reaksi, dikocok kuat-kuat selama 10 detik, kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl 2N. Hasil positif jika terbentuk busa stabil (Setyawati *et al.*, 2014).

d. Identifikasi tanin

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 2 ml air dan kemudian ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna biru kehitaman (Sastrawan *et al.*, 2013).

e. Identifikasi Polifenol

Sebanyak 2 ml sampel dilarutkan dalam akuades 10 ml, dipanaskan 5 menit dan disaring, filtrat ditambahkan 4-5 tetes FeCl_3 5%. Adanya fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Ningsih *et al.*, 2016).

6. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak etanolik Daun Kepuh

Pembuatan konsentrasi ekstrak etanolik daun Kepuh dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Konsentrasi Ekstrak etanolik Daun Kepuh

Konsentrasi Ekstrak etanolik Daun Kepuh	Ekstrak etanolik Daun Kepuh (gram)	DMSO 2% (ml)
10%	0,3	2,7
20%	0,6	2,4
30%	0,9	2,1
40%	1,2	1,8
50%	1,5	1,5

7. Teknik Pengambilan Urin pada Pasien

Sampel urin Infeksi Saluran Kemih yang digunakan untuk pemeriksaan yaitu urin pancar tengah (*midstream*). Pada kondisi tertentu, urin kateter juga dapat

digunakan untuk pengambilan sampel urin. Namun, prosedur ini menyebabkan 1-2% resiko infeksi dan menimbulkan trauma uretra dan kandung kemih.

Prosedur pengambilan urin pancar tengah (midstream):

Pasien diberikan penjelasan cara pengambilan sampel urin yang benar, kemudian pasien mencuci tangan dengan sabun sebelum dan sesudah pengambilan sampel urin. Dibersihkan daerah labia dan vulva menggunakan kasa steril dengan arah dari depan ke belakang (wanita), sedangkan untuk pria dibersihkan bagian glans (kepala penis), setelah dilakukan pembersihan, dibilas dengan air bersih dan kemudian dikeringkan dengan kasa steril yang lain. Kemudian urin dikeluarkan, aliran urin yang pertama dibuang. Aliran urin selanjutnya ditampung dalam wadah steril yang telah disediakan. Pengumpulan urin selesai sebelum aliran urin habis, terakhir wadah ditutup rapat dan segera dikirim ke laboratorium (Shulman, 1994).

8. Isolasi Bakteri dan Identifikasi *Escherichia coli*

a. Makroskopis

Bakteri *Escherichia coli* sampel pasien ISK dan kultur murni Laboratorium yang tumbuh pada media BHI dilakukan pengamatan secara makroskopis, kemudian dilakukan penggoresan dengan prosedur sebagai berikut: Kultur bakteri dari media BHI diinokulasikan pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan *Endo Agar* (EA) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian koloni yang tumbuh di media MCA diinokulasikan pada media uji biokimia (KIA, LIA, SIM, Citrat) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

b. Mikroskopis

Bakteri *Escherichia coli* sampel pasien ISK dan kultur murni laboratorium diinokulasi pada media BHI, kemudian dilakukan pengecatan Gram dengan prosedur sebagai berikut: Diambil 1 ose bakteri dari media BHI ratakan di objek glass yang kering dan bebas lemak secara aseptis kemudian di fiksasi sebentar, kemudian genangi preparat dengan cat Gram A (Kristal Violet) tunggu 1 menit, kemudian buang cat dan aliri dengan air. Selanjutnya genangi dengan Gram B (lugol iodin) tunggu \pm 1 menit, kemudian buang cat dan aliri dengan air. Setelah itu genangi dengan Gram C (alkohol) tunggu sampai cat luntur, kemudian buang cat dan aliri dengan air. Genangi dengan Gram D (safranin) tunggu 1 menit, kemudian buang cat dan aliri dengan air. Terakhir tiriskan, kemudian amati dengan mikroskop perbesaran 100x dengan minyak imersi.

9. Isolasi Bakteri dan Identifikasi *Klebsiella pneumonia*

a. Makroskopis

Bakteri *Klebsiella pneumonia* sampel pasien ISK dan kultur murni Laboratorium yang tumbuh pada media BHI dilakukan pengamatan secara makroskopis, kemudian dilakukan penggoresan pada media seperti prosedur di bawah ini: Kultur bakteri dari media BHI diinokulasikan pada media *Mac Conkey Agar* (MCA), *Endo Agar* (EA) dan Agar Darah selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah itu koloni yang tumbuh di media MCA diinokulasikan pada media uji biokimia (KIA, LIA, SIM, Citrat), Urea. selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

b. Mikroskopis

Bakteri *Klebsiella pneumonia* sampel pasien ISK dan kultur murni laboratorium diinokulasi pada media BHI, kemudian dilakukan pengecatan Gram dan pengecatan Kapsul seperti prosedur di bawah ini:

1) Pengecatan Gram

Ambil 1 ose bakteri dari media BHI ratakan di objek glass yang kering dan bebas lemak secara aseptis kemudian di fiksasi sebentar. Genangi preparat dengan cat Gram A (Kristal Violet) tunggu 3 menit, kemudian buang cat dan aliri dengan air. Setelah itu genangi dengan Gram B (lugol iodin) tunggu \pm 1 menit, kemudian buang cat dan aliri dengan air. Selanjutnya genangi dengan Gram C (alkohol) tunggu sampai cat luntur, kemudian buang cat dan aliri dengan air. Genangi dengan Gram D (safranin) tunggu 1-2 menit, kemudian buang cat dan aliri dengan air, tiriskan, preparat dikering udarakan. Terakhir amati dengan mikroskop perbesaran 100x dengan minyak imersi.

2) Pengecatan Kapsul metode Buri

Bersihkan gelas benda dengan alkohol agar bebas lemak, kemudian buat pengecatan negatif dari biakan yang tersedia. Tetesi dengan cat biru metilen blue atau kristal violet selama 2 menit. Setelah itu cuci dengan air mengalir dan tiriskan, preparat dikering udarakan. Terakhir amati preparat di bawah mikroskop dengan perbesaran kuat menggunakan minyak imersi.

10. Pembuatan Suspensi Bakteri

- Biakan bakteri *Escherichia coli* diinokulasikan pada medium BHI, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kekeruhan

disetarakan dengan standart *Mc. Farland* $1,5 \times 10^8$ cfu/ml (1,5 ml Barium Klorida dalam 8,5 ml Asam Sulfat).

- b. Biakan bakteri *Klebsilla pneumonia* diinokulasikan pada medium BHI, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kekeruhan disetarakan dengan standart *Mc. Farland* $1,5 \times 10^8$ cfu/ml (1,5 ml Barium Klorida dalam 8,5 ml Asam Sulfat).

11. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri yang sudah distandardkan kekeruhannya dan tunggu hingga cairan meresap pada kapas. Kemudian lidi diangkat dan diperas dengan menekankan pada dinding tabung bagian dalam sambil diputar-putar. Setelah itu, kapas lidi steril diswab merata pada media *Muller Hinton Agar* sampai merata. Pada media MHA dibuat lubang sumuran dengan menggunakan *boorproof*. Satu bagian untuk kontrol positif, satu sumuran untuk kontrol negatif dan sumuran yang lain untuk ekstrak etanolik yang diuji dengan beberapa konsentrasi dengan pengisian masing masing 50 μ l. Selanjutnya inkubasi pada suhu 37°C selama \pm 24 jam, perlakuan tersebut dilakukan 3 kali pengulangan. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Siprofloxacin untuk bakteri *Escherichia coli* dan antibiotik meropenem untuk bakteri *Klebsiella pneumonia*.

12. Pembacaan Hasil

Pembacaan hasil dilakukan setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C dengan melihat zona transparan (radikal) disekitar sumuran. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan

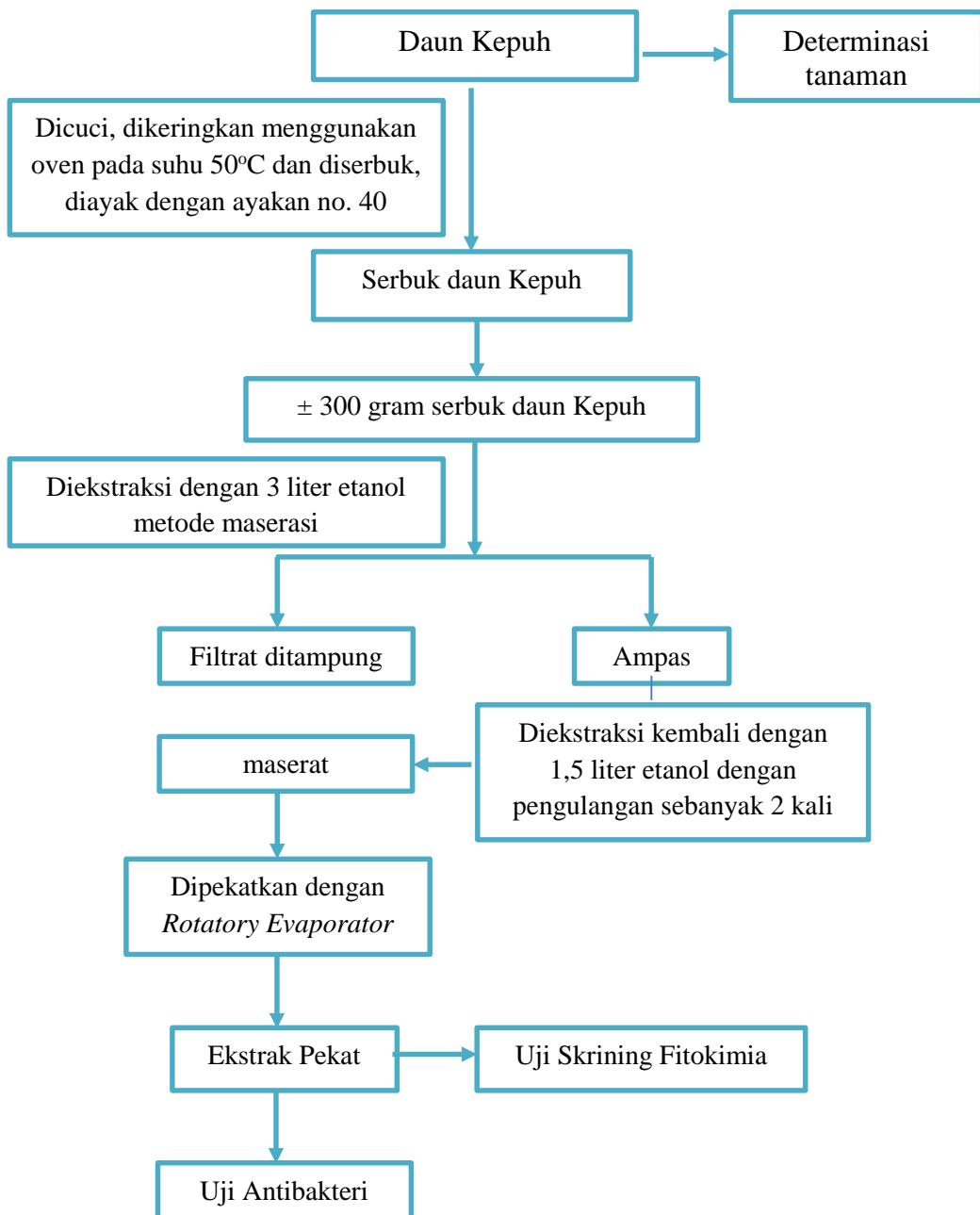
antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter (mm) menggunakan penggaris. Kemudian diameter zona hambat dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Widyasanti *et al.*, (2015), yaitu sebagai berikut:

- a. Diameter zona bening >20 mm artinya daya hambat sangat kuat.
- b. Diameter zona bening 10-20 mm artinya daya hambat kuat.
- c. Diameter zona bening 5-10 mm artinya daya hambat sedang.
- d. Diameter zona bening <5 mm artinya daya hambat lemah.

G. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun Kepuh terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* kultur murni di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta dan kultur isolat pasien dari RS dr. Moewardi secara difusi terknik sumuran dianalisis dengan menggunakan uji statistik. Uji statistik yang digunakan adalah *Analisis of Varians (ANOVA) one way* dengan software SPSS 17. Analisa data dengan statistik dilakukan untuk mengetahui beda nyata atau tidak diameter hambat dari bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* kultur murni dari Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta dan kultur isolat pasien dari RS dr. Moewardi serta kontrol positif dan kontrol negatif.

H. Desain Penelitian



Gambar 1. Desain penelitian

BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman Kepuh

Determinasi tanaman dilakukan di kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi. Habitus tanaman Kepuh berupa pohon menahun yang berakar tunggang dan batang berkayu dengan percabangan monopodial. Daun tanaman Kepuh majemuk menjari, ibu tangkai berukuran 9-45 cm, anak daun berukuran 5-9 cm, bertangkai pendek, bulat memanjang sampai lanset dan ujung meruncing. Tanaman Kepuh memiliki bunga majemuk dengan kelopak bercangap berwarna merah tua pada bagian tabung, lobi mula-mula berupa warna kuning kehijauan di bagian pangkal dan sepanjang marginal, benang sari berukuran 12-15 cm dan capella sebanyak 5 (Backer and Brink, 1965).

2. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kepuh

Penetapan kadar air pada penelitian ini menggunakan metode destilasi dengan alat *Bidwell-sterling*. Serbuk daun Kepuh ditimbang sebanyak 20,8327 gram ditambah dengan 90 ml xylen, didapatkan volume air yang telah terdestilasi pada skala *reciver* yaitu 1,8 ml.

Tabel 3. Kadar Air Serbuk daun Kepuh

Berat bahan (gram)	Skala (ml)	Kadar Air (%)
20,8327	1,8	8,64

Salah satu tahapan penting dalam penelitian tentang senyawa bioaktif pada tumbuhan adalah penentuan kadar air. Penentuan kadar air bertujuan untuk

menentukan proporsi atau presentase air dalam sampel yang diuji. Kebutuhan air pada mikroorganisme seperti bakteri yang habitatnya sesuai dengan lingkungan penyimpanan tanaman obat akan menjadi tempat yang baik untuk pertumbuhan organisme tersebut. Informasi ini nantinya digunakan sebagai acuan untuk menentukan lama penyimpanan, cara penyimpanan, cara pengolahan dan cara pengemasan tanaman obat (Pradana, 2001).

Kadar air pada serbuk daun Kepuh adalah 8,64% sudah memenuhi standar untuk pembuatan ekstrak yaitu kurang dari 10% (Emilan, 2011).

3. Hasil Pembuatan Ekstrak Maserasi dengan Etanol

Simplisia daun Kepuh diblender dan ditimbang 600 gram. Serbuk tersebut diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh dan didapatkan serbuk halus sebanyak 300 gram. Selanjutnya yaitu dilakukan ekstrak maserasi dengan etanol selama 3 hari. Hasil ekstraksi diuapkan dengan *rotatory evaporator* pada suhu 50⁰ C dan 60 rpm, kemudian diuapkan dengan oven pada suhu 50°C. Ekstrak yang didapatkan berwarna hijau pekat dan kental.

Rendemen ekstrak merupakan bioaktif daun Kepuh yang terekstrak oleh pelarut yang digunakan. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Rendemen Ekstrak

Serbuk Kasar (gram)	Serbuk Halus (gram)	Ekstrak yang didapat (gram)	Rendemen (%)
1000	300	24	7,2

Hasil pengukuran menunjukkan nilai rendemen 7,2%. Hal ini menunjukkan bahwa komponen yang terdapat pada daun Kepuh terekstrak dengan baik. Menurut Kresnawaty dan Zainuddin (2009) kuantitas rendemen tidak dapat digunakan untuk

memperkirakan banyaknya jenis bioaktif yang terdapat di dalam rendemen tersebut. Informasi ini dapat digunakan untuk pemilihan pelarut yang tepat saat ekstraksi metabolit sekunder yang diharapkan.

4. Identifikasi Golongan senyawa

Uji identifikasi fitokimia kandungan ekstrak daun Kepuh secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun Kepuh mengandung saponin, flavonoid, polifenol, tanin, dan triterpenoid (tabel 5).

Tabel 5. Identifikasi Golongan Senyawa

Uji	Prosedur	Pustaka	Hasil	Keterangan
Saponin	Ekstrak + 10 ml aquadest, kocok +HCl 2N	Reaksi positif jika terbentuk busa stabil (Setyawati <i>et al.</i> , 2014)	Terbentuk busa stabil	+
Flavonoid	Ekstrak + 2 ml etanol 95% + serbuk seng + 2ml HCl pekat	Reaksi positif jika terbentuk warna merah jingga atau ungu (Rumanggit <i>et al.</i> , 2015).	Merah jingga	+
Polifenol	Ekstrak + 10 ml aquadest, dipanaskan dan disaring, filtrat + 3 tetes FeCl_3	Reaksi positif jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman (Ningsih <i>et al.</i> , 2016)	Hijau kehitaman	+
Tanin	Ekstrak + aquadest + 2 tetes FeCl_3	Reaksi positif jika terbentuk warna biru kehitaman (Sastrawan <i>et al.</i> , 2013)	Biru Kehitaman	+
Triterpenoid	Ekstrak + anhidra asetat, dipanaskan-didinginkan + H_2SO_4 pekat	Reaksi positif jika terbentuk warna merah atau ungu (Balafif <i>et al.</i> , 2013)	Merah	+

Menurut Asih *et al.*, (2010) Kepuh mempunyai kandungan kimia senyawa aktif saponin, flavonoid, triterpenoid, polifenol dan tanin. Senyawa Saponin

mempunyai sifat seperti sabun yang merupakan senyawa surfaktan agen yang kuat sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel. Diabsorbsinya saponin pada permukaan sel akan mengakibatkan kerusakan dengan naiknya permeabilitas atau kebocoran membran sel, sehingga bahan-bahan esensial yang dibutuhkan oleh bakteri untuk kehidupannya hilang dan dapat menyebabkan kematian sel bakteri (Miranti *et al.*, 2013).

Menurut Darmawi (2013) flavonoid merupakan salah satu zat antimikroba. Mekanisme flavonoid sebagai zat antimikroba adalah dengan meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel mikroba. Komponen fenol pada flavonoid juga dapat mendenaturasi enzim. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel mikroba meskipun pada konsentrasi yang sangat rendah.

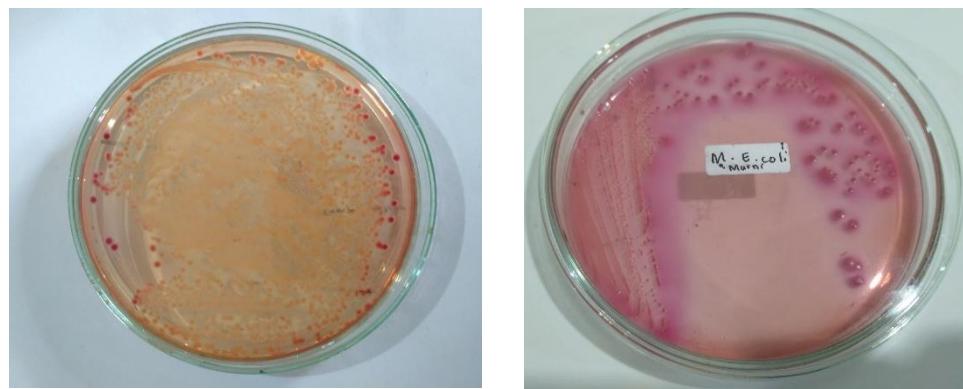
Senyawa tanin mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri (Pratiwi, 2008). Pada penelitian Ajizah (2004) menggunakan ekstrak daun *Psidium guava* L. yang mengandung tanin dapat menekan pertumbuhan *Escherichia coli*.

Menurut Darmawi (2013) senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan dalam usahanya menerobos dinding sel. Senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran nutrien sel dengan merusak ikatan hidrofilik komponen membran sel (seperti protein dan fosfolipid) sehingga terjadinya kerusakan membran sel bakteri mengakibatkan terhambatnya aktivitas biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme bakteri.

5. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

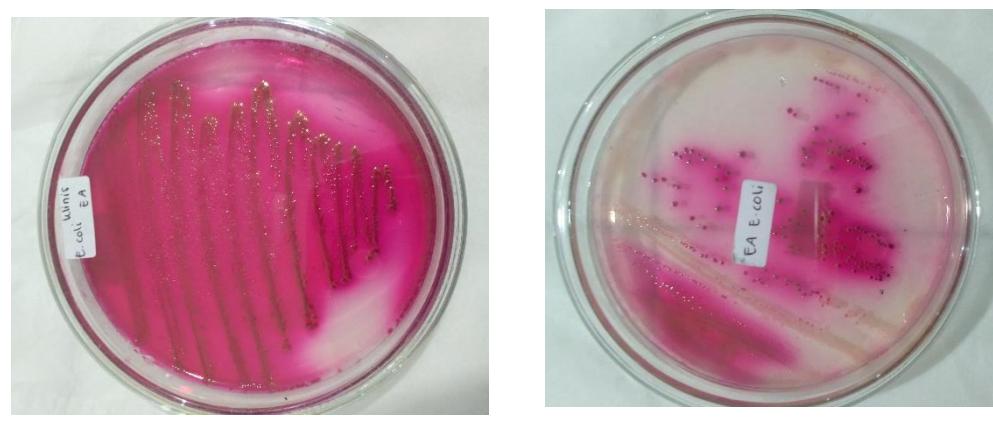
a. Makroskopis

Bakteri kultur murni dan urine isolat pasien ISK diisolasi pada Media *Mac Conkey Agar* kemudian diinkubasi selama 24 jam. Pertumbuhan koloni pada media *Mac Conkey* dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel 6.



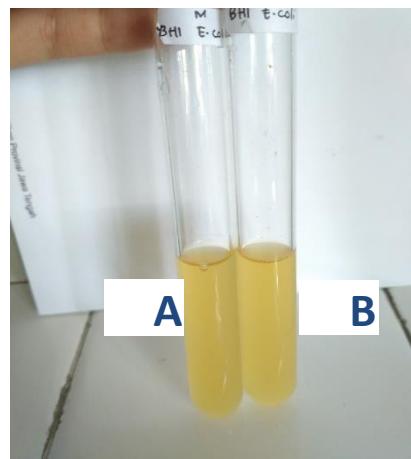
Gambar 2. Hasil goresan media MCA. **A:** Hasil goresan media MCA *E.coli* isolat pasien ISK, **B:** Hasil goresan media MCA *E.coli* kultur murni

Pertumbuhan bakteri pada media MCA diisolasi pada media Endo Agar dan uji biokimia kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil dapat dilihat pada gambar 3 dan tabel 6.



Gambar 3. Hasil goresan media EA. **A:** Hasil goresan media EA *E.coli* isolat pasien ISK **B:** Hasil goresan media EA *E.coli* kultur murni

Pertumbuhan bakteri pada media EA diisolasi pada media BHI kemudian diinkubasi 24 jam. Hasil dapat dilihat pada gambar 4 dan tabel 6.



Gambar 4. Hasil isolasi pada media BHI. **A:** Hasil isolasi pada media BHI *E.coli* isolat Pasien ISK. **B:** Hasil isolasi pada media BHI *E.coli* kultur murni

Tabel 6. Identifikasi makroskopis *E.coli* isolat pasien ISK dan kultur murni

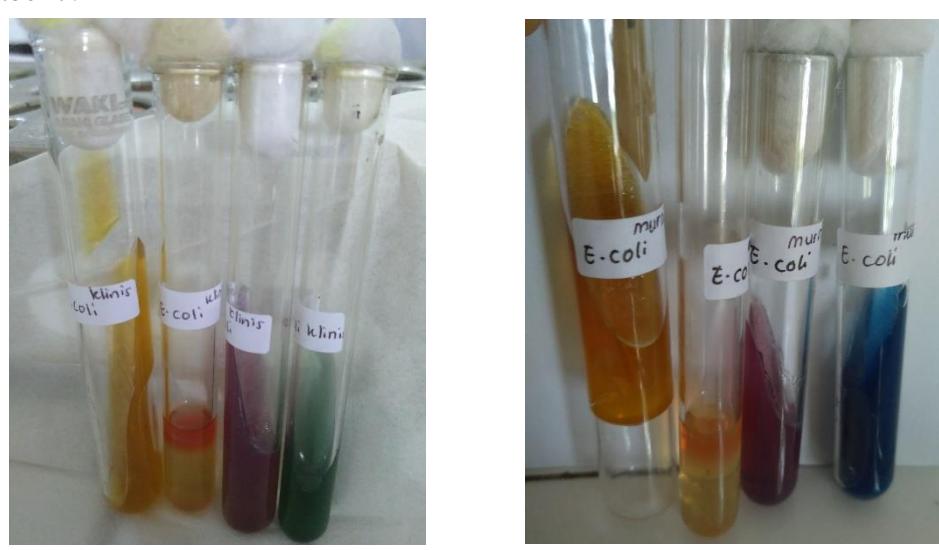
Media yang digunakan	Hasil	
	<i>E.coli</i> isolat pasien ISK	<i>E.coli</i> kultur murni
Mac Conkey	Bentuk : bulat halus warna : merah muda Permukaan : cembung	Bentuk : bulat halus warna : merah muda Permukaan : cembung Khas : kilat logam
Endo Agar	Bentuk : bulat warna : merah muda Permukaan : cembung Khas : kilat logam	Bentuk : bulat warna : merah muda Permukaan : cembung Khas : kilat logam
BHI	Positif (+) keruh	Positif (+) keruh

Identifikasi makroskopis *Escherichia coli* dilakukan pada media *Mac conkey agar* (MCA), Endo agar (EA) dan BHI. Pada media MCA *Escherichia coli* sampel isolat pasien ISK terdapat perbedaan dengan *Escherichia coli* kultur murni yaitu pada warna koloninya. Sementara itu pada media Endo agar dan BHI keduanya memiliki ciri-ciri makroskopis yang sama antara *Escherichia coli* isolat pasien ISK dengan *Escherichia coli* kultur murni.

Escherichia coli menghasilkan jumlah asam yang lebih banyak dari laktosa dibandingkan dengan spesies *coliform* lainnya. Media disekeliling pertumbuhan juga menjadi merah karena kerja asam yang mengendapkan garam-garam empedu, diikuti dengan absorpsi merah netral (Cappuccinno & Sherman, 2014).

Bakteri Gram negatif yang tumbuh dibedakan dalam kemampuan memfermentasikan karbohidrat, *Mac Conkey agar* dengan persenyawaan utama laktosa, garam empedu, dan merah netral dapat menghambat Gram positif yang disebabkan oleh garam empedu dan kristal violet. Koloni dari bakteri yang memfermentasikan laktosa berwarna merah bata dan dapat dikelilingi oleh endapan garam empedu. Endapan ini disebabkan oleh penguraian laktosa menjadi asam yang bereaksi dengan garam empedu (Lay, 1994).

Hasil uji biokimia *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar 5 dan tabel 7.



Gambar 5. Hasil uji biokimia *E. coli*. **A:** Hasil uji biokimia *E. coli* isolat pasien ISK **B:** Hasil uji biokimia *E. coli* Kultur Murni

Tabel 7. Identifikasi Uji Biokimia *E.coli* isolat pasien ISK dan kultur murni

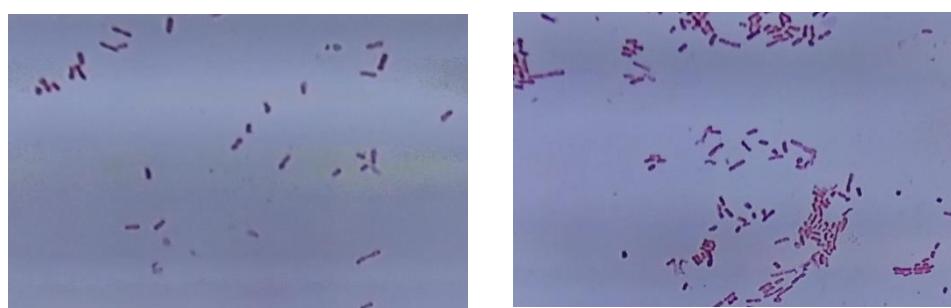
Sampel	KIA	SIM	LIA	Citatr
<i>E.coli</i> isolat pasien ISK	A/AG S-	— + +	K/K S-	—
<i>E.coli</i> kultur murni	A/AG S-	— + +	K/K S-	—

Uji biokimia bertujuan untuk mengidentifikasi suatu biakan hasil isolasi melalui sifat fisiologisnya. Karakterisasi dan klasifikasi sebagian mikroorganisme seperti bakteri berdasarkan pada reaksi enzimatik maupun biokimia. Mikroorganisme dapat tumbuh pada beberapa tipe media yang memproduksi tipe metabolit yang dapat dideteksi dengan reaksi antara mikroorganisme dengan reagen tes yang dapat menghasilkan perubahan warna reagen (Cowan, 2004).

Perbedaan uji biokimia dari kedua sampel terebut menunjukkan tidak adanya perbedaan antara *Escherichia coli* isolat pasien ISK dengan *Escherichia coli* kultur murni, karena didapatkan ciri-ciri yang sama.

b. Mikroskopis

Biakan bakteri *Escherichia coli* isolat pasien ISK dan kultur murni dari media BHI dicat Gram. Hasil dapat dilihat pada gambar 6 dan tabel 8.



Gambar 6. Hasil Pengecatan Gram. **A:** Hasil Pengecatan Gram *E. coli* isolat pasien ISK, **B:** Hasil Pengecatan Gram bakteri *E. coli* bakteri *E.coli* kultur murni

Tabel 8. Identifikasi mikroskopis *Escherichia coli* secara cat gram

<i>Escherichia coli</i> isolat pasien ISK	<i>Escherichia coli</i> kultur murni
Bentuk : Batang	Bentuk : Batang
Warna sel : merah	Warna sel : merah
Susunan : menyebar	Susunan : menyebar

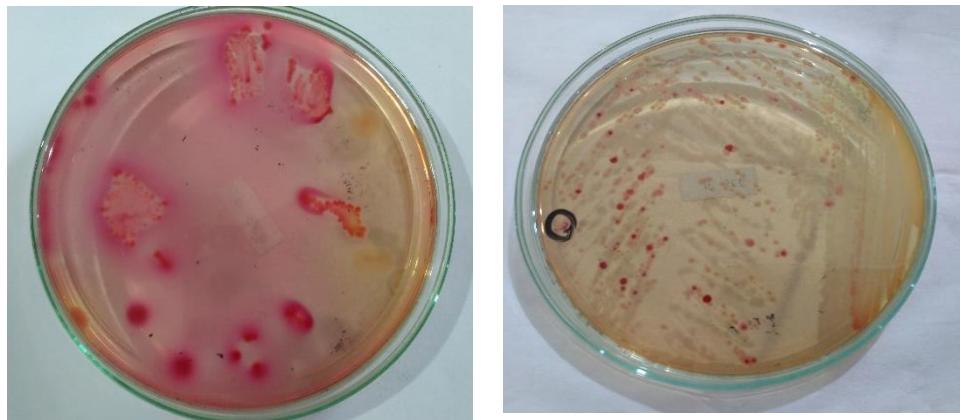
Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis hanya 1-2 lapisan dan susunan dinding selnya tidak kompak. Permeabilitas dinding sel lebih besar dan masih memungkinkan terlepasnya kompleks kristal yodium (Oman, 2008). Warna kristal violet akan hilang ketika terjadi proses dekolorisasi dengan alkohol. Ini terjadi karena ketika terjadi proses dekolorisasi dengan alkohol peptidoglikan pada sel bakteri gram negatif akan mengalami dehidrasi dan menyebabkan lemak yang berada diluar membran gram negatif akan ikut larut sehingga ikatan antara kristal violet dan iodin keluar dari sel. Bakteri gram negatif akan menyerap zat warna merah dari safranin yang ditambahkan setelah proses dekolorisasi dengan alkohol (Rao *et al.*, 2010).

Identifikasi pengecatan Gram yang telah dilakukan antara *Escherichia coli* kultur murni dan isolat pasien ISK menunjukkan tidak ada perbedaan antara keduanya, yaitu didapatkan ciri-ciri mikroskopis bentuk, warna dan susunan yang sama.

6. Identifikasi Bakteri *Klebsiella pneumonia*

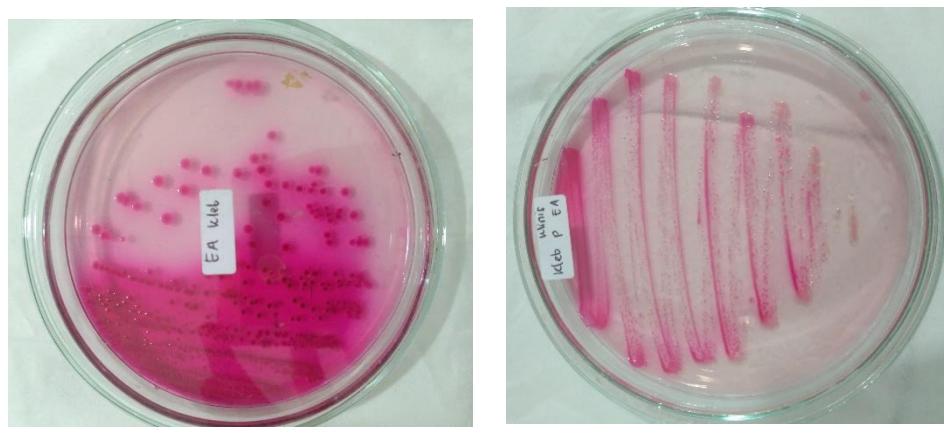
a. Makroskopis

Bakteri kultur murni dan urine isolat pasien ISK diisolasi pada Media *Mac Conkey Agar* kemudian diinkubasi selama 24 jam. Pertumbuhan koloni pada media *Mac Conkey* dapat dilihat pada gambar 7 dan tabel 9.



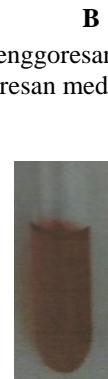
Gambar 7. Hasil penggoresan media MCA. **A:** Hasil penggoresan media MCA *K.pneumonia* pasien ISK. **B:** Hasil penggoresan media MC *K. Pneumonia* kultur murni

Pertumbuhan bakteri pada media MCA diisolasi pada media Endo Agar, agar darah, urease dan uji biokimia kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil dapat dilihat pada gambar 8, 9,10 dan tabel 9.



Gambar 8. Hasil penggoresan media EA. **A:** Hasil penggoresan media EA *K. pneumonia* pasien ISK. **B:** Hasil penggoresan media EA *K. Pneumonia* kultur murni





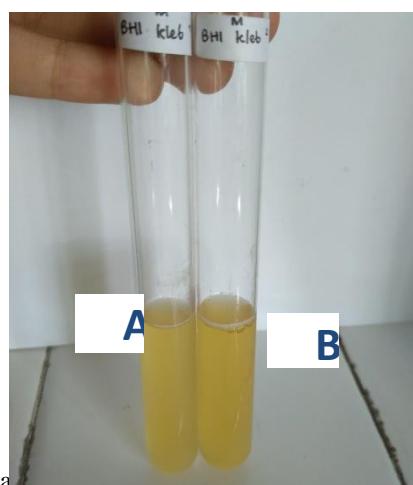
Gambar 9. Hasil penggoresan media Agar darah. **A:** Hasil penggoresan media Agar darah *K. pneumonia* Isolat pasien ISK. **B:** Hasil penggoresan media Agar darah *K. pneumonia* kultur murni

A

B

Gambar 10. Hasil uji urease. **A:** Hasil uji urease *K.pneumonia* Isolat pasien ISK. **B:** Hasil Uji urease *K.pneumonia* kultur murni

Pertumbuhan bakteri pada media EA diisolasi pada media BHI kemudian diinkubasi 24 jam. Hasil dapat dilihat pada gambar 11 dan tabel 9.



Gambar 11. Hasil isolasi pada media EA diisolasi pada media BHI *K.pneumonia* isolat Pasien ISK. **B:** Hasil isolasi pada media BHI *K.pneumonia* kultur murni

Tabel 9. Identifikasi makroskopis *K. pneumonia* isolat ISK dan Kultur Murni

Media yang digunakan	<i>K.pneumonia</i> isolat pasien ISK	Hasil <i>K.pneumonia</i> kultur murni
Mac Conkey	Bentuk : bulat warna : merah muda Permukaan : cembung Khas : berlendir	Bentuk : bulat warna : merah muda Permukaan : cembung Khas : berlendir
Endo Agar	Bentuk : mukoid besar	Bentuk : mukoid besar

	warna : merah muda Permukaan : cembung Khas : berlendir	warna : merah muda Permukaan : cembung Khas : berlendir
Agar darah	Bentuk : bulat warna : abu-abu Permukaan : cembung Khas : berlendir	Bentuk : bulat warna : abu-abu Permukaan : cembung Khas : berlendir
Uji Urease	Berwarna merah (+)	Berwarna merah (+)
BHI	Positif (+) keruh	Positif (+) keruh

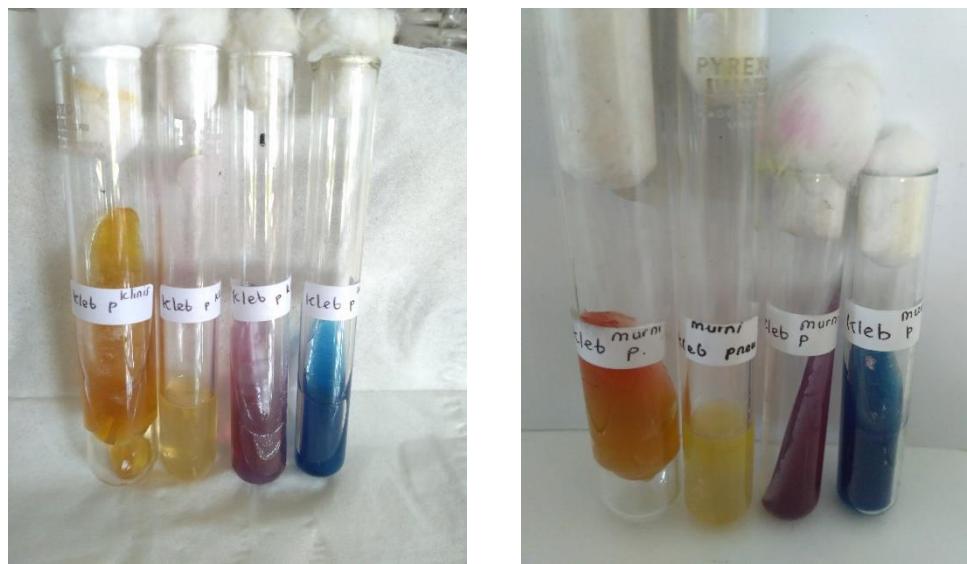
Klebsiella pneumonia isolat pasien ISK dan kultur murni dari masing-masing identifikasi menunjukkan tidak ada perbedaan diantara keduanya, karena keseluruhan memiliki ciri-ciri makroskopis yang sama.

Media Blood Agar digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang sulit untuk dibiakkan dan juga untuk membedakan kelompok mikroorganisme yang melisikan butir darah merah. Blood agar terdiri dari bahan dasar yang mengandung 5% darah domba. Lisis butir darah merah terlihat sebagai wilayah jernih disekitar koloni (Cappucino & Sherman, 2104).

Uji urease adalah uji penegasan dengan media diferensial. Prinsipnya adalah menetukan kemampuan organisme untuk memecah urea membentuk dua molekul amonia dengan keaktifan enzim urease. Keaktifan enzim ini digunakan untuk membedakan *Klebsiella* yang memiliki hasil positif dari *Escherichia* dengan hasil negatif (Brooks *et al.*, 2001). Tes ini digunakan untuk mengidentifikasi beberapa mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim urease dan urea menjadi amonia, CO₂. Digunakan untuk membedakan *Klebsiella* sp. Bakteri patogen menghasilkan enzim urease yang dapat melepaskan amonia. Dengan adanya indikator fenol red

dalam suasana basa (membebaskan amonia) menyebabkan naiknya pH 6,8-8,1 sehingga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah keunguan (Cowan, 2004).

Pertumbuhan bakteri pada media *Mac Conkey agar* dilanjutkan dengan uji biokimia. Hasil dapat dilihat pada gambar 12 dan tabel 10.



Gambar 12. Hasil uji biokimia. **A:** Hasil uji biokimia *K.pneumonia* isolat pasien ISK. **B:** Hasil uji biokimia *K.pneumonia* Kultur murni

Tabel 10. Identifikasi Uji Biokimia *K.pneumonia* isolat ISK dan kultur murni

Sampel	KIA	SIM	LIA	Citrat
<i>K.pneumonia</i> isolat pasien ISK	A/AG S-	---	K/K S-	+
<i>K.pneumonia</i> kultur murni	A/AG S-	---	K/K S-	+

Klebsiella pneumonia isolat pasien ISK dan kultur murni tidak memiliki perbedaan secara makroskopis. Hasil uji biokimia dilakukan pada media *Kliger's Iron Agar* (KIA), *Sulphide Indol Motility*, *Lysine Indole Agar* dan *citrat* untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh pada media *Mac Conkey Agar* tersebut merupakan bakteri *Klebsiella pneumonia*. Hasil uji

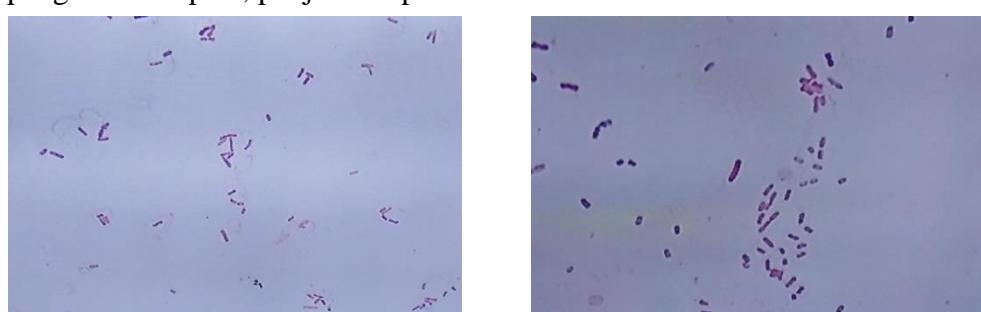
biokimia kultur murni dan kultur klinis yang terduga positif terdapat bakteri *Klebsiella pneumonia* menunjukkan hasil positif.

Pada uji biokimia *Klebsiella pneumonia* didapatkan Uji indol pada media SIM memberikan hasil negatif (tidak terdapat cincin merah) ini diisebabkan karena triptofan. Triptofan merupakan asam amino esensial yang dapat mengalami oksidasi dengan kegiatan enzimatik beberapa bakteri. Konversi triptofan menjadi produk metabolik di mediasi oleh enzim Tryptophanase (Karsinah *et al.*, 1994).

Hasil positif uji citrat *Klebsiella pneumonia* disebabkan karena bakteri tersebut memanfaatkan citrat sebagai sumber karbon dan menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali, dengan adanya indicator brom tymol blue menyebabkan terjadinya warna biru. Pada bakteri Klebsiella, hanya jenis rhinos yang tidak memanfaatkan citrat, sehingga pada penanaman media citrat hasilnya negatif, sedangkan spesien *Klebsiella pneumonia*, *oxytoca*, dan *ozaenae* menunjukkan hasil positif pada media ini (Jawets *et al.*, 2012).

b. Mikroskopis

Biakan bakteri *Klebsiella pneumonia* sampel klinis pasien ISK dan kultur murni dari media BHI dicat Gram dan cat kapsul. Hasil dapat dilihat pada gambar 13 dan tabel 11 untuk pengecatan Gram dan gambar 14 untuk pengecatan kapsul, penjelasan pada tabel 11.



A

Gambar 13. Hasil pengecatan Gram. **A:** Hasil pengecatan Gram *K. pneumonia* pasien ISK. **B:** Hasil pengecatan Gram *K. Pneumonia* kultur murni

B**A****B**

Gambar 14. Hasil pengecatan kapsul **A:** Hasil pengecatan kapsul *K. pneumonia* pasien ISK **B:** Hasil pengecatan kapsul *K. Pneumonia* kultur murni

Tabel 11. Identifikasi mikroskopis *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK dan kultur murni

Pengecatan yang digunakan	Hasil	
	<i>K.pneumonia</i> isolat pasien ISK	<i>K.pneumonia</i> kultur murni
Cat Gram	Bentuk : Batang Warna sel : merah Susunan : meyebar	Bentuk : Batang Warna sel : merah Susunan : meyebar
Pewarnaan kapsul	Bentuk : Batang Warna sel : transparan Susunan : menyebar Latar Belakang : hitam	Bentuk : Batang Warna sel : transparan Susunan : menyebar Latar Belakang : hitam

Beberapa jenis bakteri dan alga biru hijau mampu mensekresikan substansi berlendir dan lengket pada permukaan selnya yaitu kapsul (bentuk kompak dan pasti) dan lendir (tidak teratur bentuknya). Kapsul dan lendir pada bakteri tidak esensial bagi sel tetapi berguna sebagai cadangan makanan, perlindungan terhadap fagositosis, dehidrasi. Kemampuan membentuk kapsul dan ukuran kapsul tergantung pada fisiologis setiap sel bakteri. Kapsul bakteri sulit diamati dengan

mikroskop cahaya karena kapsul tidak berwarna dan mempunyai indeks bias yang rendah sehingga diperlukan teknik pewarnaan secara khusus (Ravicitra, 2014).

Uji identifikasi mikroskopis *Klebsiella pneumonia* dengan pengecatan Gram dan pengecatan kapsul, keduanya memiliki ciri mikroskopis yang sama antara *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK dengan kultur murni (Widyasanti, 2015).

7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil perbandingan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Kepuh terhadap *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK dan kultur murni dengan metode difusi menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dengan menggunakan kontrol positif antibiotik Siprofloksasin untuk *Escherichia coli* dan antibiotik Meropenem untuk bakteri *Klebsiella pneumonia* sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO 2%, kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam dan dilihat ada tidaknya zona jernih disekitar sumuran.

Ekstrak etanolik daun Kepuh yang diuji aktivitas antibakteri dapat menghasilkan zona hambat disekeliling sumuran yang artinya Ekstrak etanolik daun Kepuh dapat menghambat *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK dan kultur murni pada konsentrasi 10 %, 20%, 30%, 40%, dan 50%.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Escherichia coli* kultur murni dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil diameter zona hambat *Escherichia coli* kultur murni

Jenis		Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-rata diameter zona hambatan (mm)	Keterangan
		R1	R2	R3		
Konsetrasi Ekstrak Kepuh	10%	10	10	10	10	Kuat
	20%	12	12	12	12	Kuat
	30%	15	14	13	14	Kuat

	40%	18	16	17	17	Kuat
	50%	21	20	20	20,33	Sangat Kuat
Kontrol +	Siprofloksasin	24	25	23	24	Sangat kuat
Kontrol -	DMSO 2%	-	-	-	-	

Daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanolik daun Kepuh terhadap *Escherichia coli* kultur murni pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% adalah kuat. Sedangkan konsentrasi 50% sangat kuat dengan rerata diameter zona hambat 20,33 mm. Rerata zona hambat yang dihasilkan antibiotik lebih besar dibanding dengan rerata zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanolik daun Kepuh.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Escherichia coli* isolat pasien ISK dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil diameter zona hambat *Escherichia coli* isolat pasien ISK

Jenis		Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-rata diameter zona hambatan (mm)	Keterangan
		R1	R2	R3		
Konsetrasi Ekstrak Kepuh	10%	8	8	7	7.67	Sedang
	20%	9	9	9	9	Sedang
	30%	10	12	10	10.67	Kuat
	40%	11	13	12	12	Kuat
	50%	15	16	15	15.33	Kuat
Kontrol +	Siprofloksasin	23	24	23	23.33	Sangat kuat
Kontrol -	DMSO 2%	-	-	-	-	

Daya hambat yang dihasilkan ekstrak etanolik daun Kepuh terhadap *Escherichia coli* isolat pasien ISK berdasarkan tabel 14 pada konsentrasi 10% dan 20% adalah sedang. Konsentrasi 30%, 40% dan 50% adalah kuat. Rerata zona hambat yang dihasilkan antibiotik sangat kuat dengan rerata zona hambat 23,67. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat antibiotik Siprofloksasin lebih kuat dibanding dengan rerata zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanolik daun Kepuh.

Perbandingan antara *Escherichia coli* kultur murni dan isolat pasien ISK diketahui bahwa zona hambat ekstrak daun Kepuh terhadap *Escherichia coli* kultur murni lebih besar daripada *Escherichia coli* isolat pasien ISK, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* isolat pasien kecil dibandingkan dengan kultur murni (Mahanani, 2012).

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* kultur murni dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil diameter zona hambat *Klebsiella pneumonia* kultur murni

Jenis		Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-rata diameter zona hambatan (mm)	Keterangan
		R1	R2	R3		
Konsetrasi	10%	11	10	12	11	Kuat
	20%	13	13	14	13.33	Kuat
	30%	16	15	16	15.67	Kuat
	40%	18	18	19	18.33	Kuat
	50%	20	20	21	20.33	Sangat kuat
Kontrol +	Meropenem	15	16	15	15	Kuat
Kontrol -	DMSO 2%	-	-	-	-	

Daya hambat yang dihasilkan *Klebsiella pneumonia* kultur murni pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% adalah kuat. Sedangkan pada konsentrasi 50% adalah sangat kuat dengan rerata diameter zona hambat 20,33. Rerata zona hambat yang dihasilkan antibiotik lebih kecil dibanding dengan rerata zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanolik daun Kepuh pada konsentrasi 40% dan 50%. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat yang dihasilkan ekstrak daun kepuh pada konsentrasi 50% terhadap *Klebsiella pneumonia* kultur murni lebih kuat dari antibiotik Meropenem.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Hasil diameter zona hambat *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK

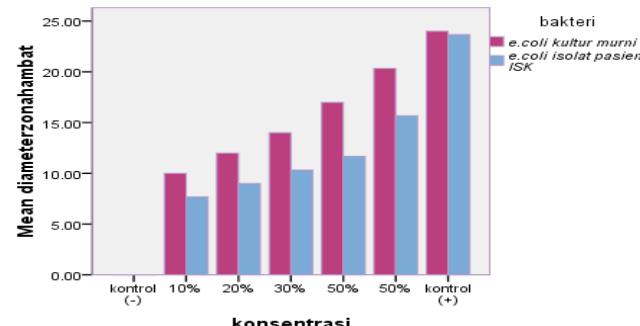
Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-rata diameter zona hambatan (mm)	Keterangan
		R1	R2	R3		
Ekstrak Kepuh	10%	9	9	9	9	Sedang
	20%	11	11	11	11	Kuat
	30%	13	14	13	13.33	Kuat
	40%	16	16	15	15.67	Kuat
	50%	19	19	18	18.67	Kuat
Kontrol +	Meropenem	16	16	16	16	Kuat
Kontrol -	DMSO 2%	-	-	-	-	-

Daya hambat yang dihasilkan *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK pada konsentrasi 10% adalah sedang dengan rerata 8,33 mm. Pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% adalah kuat. Rerata zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun Kepuh pada konsentrasi 50% terhadap *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK lebih kuat dari antibiotik Meropenem.

Perbandingan antara *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan isolat pasien ISK diketahui bahwa zona hambat ekstrak daun Kepuh terhadap *Klebsiella pneumonia* kultur murni lebih besar daripada *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Klebsiella pneumonia* isolat pasien lebih lemah dibandingkan dengan kultur murni (Mahanani, 2012).

Hasil perbandingan diameter zona hambat ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Escherichia coli* kultur murni dan isolat pasien ISK dapat dilihat pada

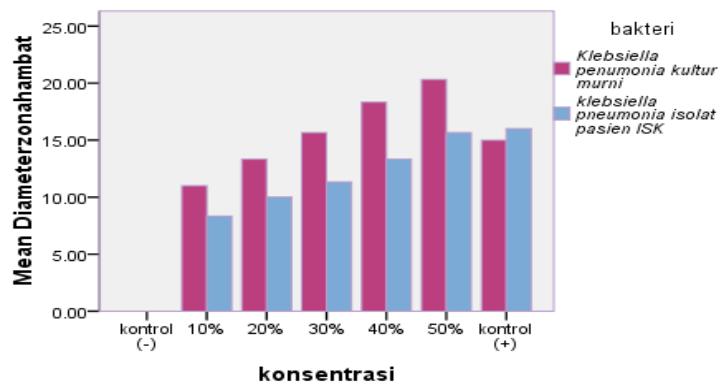
gambar 15.



Gambar 15. Diagram Uji Aktivitas Antbakteri *Escherichia coli* Kultur murni dan isolat ISK

Gambar 15 Diagram rerata diameter zona hambat dengan konsentrasi ekstrak bahwa zona hambat dari *Escherichia coli* kultur murni lebih tinggi daripada zona hambat *Escherichia coli* isolat pasien ISK. Diameter zona hambat mengalami peningkatan pada setiap konsentrasi ekstrak etanolik daun Kepuh.

Hasil perbandingan diameter zona hambat ekstrak daun Kepuh terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan isolat pasien ISK dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar 16. Diagram Uji Aktivitas Antibakteri *Klebsiella pneumonia* Kultur murni dan isolat ISK

Gambar 16 Diagram rerata diameter zona hambat dengan konsentrasi ekstrak bahwa zona hambat dari *Klebsiella pneumonia* kultur murni lebih besar daripada zona hambat *Klebsiella pneumonia* isolat pasien ISK. Diameter zona hambat mengalami peningkatan pada setiap konsentrasi ekstrak etanolik daun Kepuh.

Perbedaan rata-rata diameter zona hambat antara bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* diisolasi dari pasien ISK dan kultur murni laboratorium dapat disebabkan adanya perbedaan sifat bakteri tersebut. Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* yang berasal dari pasien ISK memiliki zona hambat yang lebih kecil bisa disebabkan karena terjadinya mutasi dalam tubuh pasien seperti

penelitian sebelumnya yang mengatakan bakteri yang resisten terhadap antibiotika, terdapat dua jenis, yaitu bakteri yang secara alamiah resisten terhadap antibiotika dan bakteri yang berubah sifatnya dari peka menjadi resisten. Perubahan sifat bakteri tersebut dapat terjadi karena mutasi kromosom dan atau perolehan materi genetik dari luar (Cita, 2010).

Hasil uji normalitas dengan *kolmogorov-smirnov* dengan nilai signifikansi 0,834 dan $0,997 > 0,05$ bahwa data tersebut terdistribusi normal. Hasil uji statistik dengan *one way anova* hasil terdapat perbedaan diameter zona hambat dari *Escherichia coli* yang bermakna ($\alpha = 0,05$), ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,000 yaitu $< 0,05$, kemudian dilihat nilai F hitung 10,334 dan F tabel 4,75. Nilai F tabel 4,75 $< 10,334$ maka H_0 ditolak, artinya terdapat perbedaan zona hambat dari *Escherichia coli* kultur murni dan isolat pasien ISK. Sedangkan hasil uji statistik dengan *one way anova* hasil tidak terdapat perbedaan diameter zona hambat dari *Klebsiella pneumonia* yang bermakna ($\alpha \neq 0,05$), ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,000 yaitu $> 0,05$, kemudian dilihat F hitung 0,524 dan F tabel 4,75. Nilai F tabel 4,75 $> 0,524$, maka H_0 diterima, artinya tidak terdapat perbedaan zona hambat dari *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan isolat pasien ISK.

Ekstrak etanolik daun Kepuh yang diuji aktivitas antibakteri dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* dari kultur murni dan isolat pasien ISK karena mempunyai senyawa metabolit sekunder yaitu Saponin, flavonoid, polifenol, tannin, triterpenoid. Senyawa metabolit sekunder memiliki kemampuan masing-masing untuk merusak sel bakteri.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut DMSO 2%, tujuannya adalah sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri ekstrak. Hasil zona hambat kontrol negatif terhadap bakteri uji adalah 0 mm. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan DMSO 2% tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri dari ekstrak.

Berdasarkan penelitian Radji *et al* (2011) di Jakarta menyebutkan bahwa *Klebsiella pneumonia* juga sensitif terhadap antibiotik golongan karbapenem yaitu imipenem dan meropenem. Penelitian Mulia sari (2015) menyebutkan bahwa bakteri *Escherichia coli* sensitif terhadap antibiotik Siprofloxacin, menghasilkan zona hambat sebesar 40 mm.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Joko Waluyo pada tahun 2014, ekstrak daun Kepuh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri dilakukan secara *in vitro* terhadap penghambatan pertumbuhan *Propionibacterium acne*. Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang memiliki kandungan *phenolic* untuk kegiatan antibakteri dan antimikroba.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Arifin (2012) senyawa flavonoid, minyak atsiri, polifenol dan saponin mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*.

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang aktif. Senyawa fenol dan senyawa fenolik derivatnya juga dapat menimbulkan denaturasi protein yang terdapat pada dinding sel sehingga dapat merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom, dan dinding sel (Erianti *et al.*, 2015).

Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Mahanani, 2012). Senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiologis tertentu, seperti antijamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi, dan dapat mengatasi penyakit diabetes (Asih *et al.*, 2010).

Senyawa tanin adalah senyawa astringent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenol yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein (Ismarani, 2012). Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang memiliki kandungan *phenolic* untuk kegiatan antibakteri dan antimikroba. Ekstrak dari daun Kepuh dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli* (Shivarkumar & Vidyasagar, 2014).

Saponin merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat dialam. Saponin ini berasa pahit, berbusa dalam air dan bersifat antimikroba. Dalam menekan pertumbuhan bakteri, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel (Widodo, 2005). Senyawa saponin merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah atau lisis (Pratiwi, 2008). Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan dat dengan mudah masuk

kedalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan isolat pasien ISK.
2. Ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) mempunyai perbedaan aktivitas antibakteri secara signifikan terhadap bakteri *Escherichia coli* kultur murni dan *Escherichia coli* isolat pasien.
3. Ekstrak etanolik daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) tidak mempunyai perbedaan aktivitas antibakteri secara signifikan terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* kultur murni dan *Klebsiella pneumonia* pasien.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian antibakteri ekstrak Kepuh terhadap bakteri patogen lainnya yang menyebabkan penyakit pada manusia.
2. Perlu dilakukan penelitian antibakteri ekstrak daun kepuh dengan konsentrasi lebih dari 50%.

DAFTAR PUSTAKA

- Amelinda I. Djamal A, Usma E. 2014. Pola Sensitivitas Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Napas Bawah Non Tuberkulosis terhadap Kortimoksazol di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Dr M Djamil Pa&g Periode 1 Januari-31 Desember 2012. *Jurnal Kesehatan Andalas* 3(3):387-396.
- Arifin, Zainal.2012. *Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Jahe Merah (Zingiber officinale Roscoe var rubrum) terhadapi Staphylococcus aureus Escherichia coli Candida albicans* [skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Asih, I.A.R Astiti, IW.G. Gunawan, & N.M. Desi Ariani. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak n-Heksana Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas. *Jurnal Kimia* 4(2):135-140 (diakses pada 3 Desember 2016)
- Balafit, Ragaya Abd. R., Yayuk Andayani & Erin Ryantin Gunawan. 2013. Analisis Senyawa Triterpenoid dari Hasil Faksinasi Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn). *Chem. Prog.* 6(2): 56-61.
- Beale, John M. & John H. Block. 2011. *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. London: Lippincott Williams & Wilkins.
- Brisse S, Fevre C, Pessel V, Issenhuth JS, Grimont P. 2009. Viroilent Clonse of *Klebsiella pneumoniae*: Ident. And Evalutionary Sceario Based on Genomic and Phenotypic Characteristic. *Journal Pone*. 4(3).
- Cappucino, J.G. & Sherman, N. 2014. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: EGC
- Cita, Y.P. 2010. Bakteri *Salmonella Typhi* dan Demam Tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 6(1).
- Corwin, E.J. 2007. Patofisiologi: Buku Saku (Nike Budhi Subekti, penerjemahan). Jakarta: ECG.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Suplemen II Farmakope herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Emilan, T., A. Kurnia, B. Utami, L.N.Diyani & A. Maulana. 2011. "Konsep Herbal Indonesia: Pemastia Mutu Produk Herbal". Depok: Program Studi Megister Ilmu Herbal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

- Erianti, Farizka, Dona Marisa & Eko Suhartono. 2015. Potensi Antiinflamasi Jus Buah Belimbing (*Averrhoa carambola* L.) terhadap Denaturasi Protein. Berkala Kedokteran 11(!):33-39.
- Febriani, Diana, Dina Mulyanti & Endah Rahmawati. 2015. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn). *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba 2015*: 475-480
- Gillespie SH, Bamford KB. 2008. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Edisi III. Astikawati R, Safitri A. Editor. Jakarta: Erlangga.
- Gunawan & Sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alami (Farmakogonosi)* jilid 1. Bogor: Penerbit Swadaya.
- Herbie, Tandi. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat*. Yogyakarta: Octopus Publishing House.
- Herdiana N. 2005. Potensi Budidaya Kepuh (*Sterculia foetida* Linn). Proseding Hasil-Hasil Penelitian Hutan Tanaman Baturaja, 5 Desember 2005.
- Hernani & Raharjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksi&*. Bogor:Swadaya.
- Inayati, Riski. 2015. *Perbedaan Antibakteri Ekstrak Perkolasi Daun Tentir (Jatropha multifida* L.) dan *Daun Kemloko (Phylianthes emblica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Ilmu Kesehatan, USB.
- Indraswari, A. 2008. *Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (Eugeniaauniflora* L.) Menggunakan Metode Maserasi Dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, UMS.
- Ismarani. 2012. Potensi Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah* 3(2):46-55.
- Istiqomah. 2013. “Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*)”. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.
- Jawetz E., Melbick, J.L., Adelberg, EA. 2005. *Microbiology Kedokteran*. Jakarta: Selemba Medika.
- Jawetz E., Melnick, *et al.*, 2007. *Medical Microbiology 24th edition*. USA: McGraw Hill companies.

- Jawetz E., Melnick JL, Brooks KC, Caroll J, Moerse TA. 2012. *Medical Microbiology*. US: McGraw-Hill Companies.
- Jawetz E., Melbick, J.L., Adelberg, F.A. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke 25, penerjemah: Nugroho AW, dkk, editor Adityaputri A, dkk, Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Karsinah, Luck HM, Suharto, Mardiastuti. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Mahanani, Ratih. S., Depi Praharani & Purwanto. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viri*&s. Artikel Ilmiah Hasil Penlitian Mahasiswa Universitas Jember
- Maryanti, Alin & Rina Laksmi hendrati. 2014. Budidaya Kepuh (*Sterculia foetida* L.) untuk Antisipasi Kondisi Kering. Bogor: IPP Press.
- Maryuni, A. E. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri Minyak Atsiri Daun Zodia*. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Munawaroh, Safaatul & Prima Astuti Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan Pelarut Etanol dan n-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik* 2(1): 73-78.
- National Tropical Botanical Garden. 2016. *Sterculia foetida* [online]. (http://www.ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=10732, diakses pada 22 November 2016)
- Ningsih, Dian Riana, Zusfahair & Dwi Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak sebagai Antibakteri. *Molekul* 11(1): 101-111.
- Noviana, H. 2004. Pola Kepakaan Antibiotik *Escherichia coli* yang Diiisolasi dari Beberapa Spesimen Klinis. *Kedokteran Trisakti Oktober-Desember* Vol 23 (No.4).
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Radji, M., Siti, F., Nurgani, A., 2011. Antibiotic Sensitivity Pattern of Bacterial Pathogens in The Intensive Care Unit of Fatmawati Hospital Jakarta. *Asian Pac J Trop Biomed*, Jakarta, 1, 1, pp. 39-42.

- Rahmi A. 2015. "Uji Aktivitas Bakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolin, Swingle*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*". Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran, Universitas Jember.
- Ravicitra KN, Phema P, Subaryudu, Usreen R, 2014. *Isolation and Antibiotic Sensitivity of Klebsiella pneumonia fro pus, sputum and urine samples. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.* 3(3):115-119.
- Rostinawati. 2009. Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa Multiresisten* dan *Staphylococcus aureus Resisten Metisilin* [Penelitian Mandiri]. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran.
- Rumanggit, Hanna M, Max R.J Runtuwene & Sri Sudewi. 2015. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksi dan dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea herbacea*. *Jurnal Ilmia Farmasi-UNSRAT* 4(3):183-192.
- Sari, Mulia. 2015. Uji Bakteriologi & Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* & *Shigella sp* pada Makanan Gado-Gado Di Kantin. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. UIN Syarif Hidayatullah
- Santoso, R. M., Praharani, D., & Purwanto. 2012. *Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (Momordica charantia) dalam Menghambat Pertumbuhan Streptococcus viri&s.* [Artikel Ilmiah]. Fakultas Kedokteran Gigi: Universitas Jember.
- Sastrawan, Idza N, Meiske Sangi & Vanda Kamu. 2013. Skrining Fitokimia & Uji Aktivitas Antioksi& Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunkan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains* 13(2):110-115
- Setyawati, Widiastuti Agustina Eko, Sri Retno Dwi Ariani, Ashadi, Bakti Mulyani, & Cici Putri Rahmawati. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr.*) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*: 271-280
- Soemarno. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik*. Akademi Analis Kesehatan Yogayakarta. *Depkes RI* 25-38.
- Shivakumar, Singh P & Vidyasagar GM. 2014. Green Synthesis Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles by using *Sterculia foetida L* Young Leaves aqueous extract. *Internatinal Journal of Green Chemistry and bioprocess* 4(1):1-5.

- Shulman. 1994. *Dasar Biologi dan Klinis Penyakit Infeksi*. Edisi IV. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Hal 245-246,252.
- Sukandar, E. 2009. Infeksi Saluran Kemih pada Penderita Gagal Ginjal Kronik di RSUP H. Adam Malik [KTI]. Me&: Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatra Utara.
- Tessy, A., Ardaya & Suwanto. 2001. *Buku Ajar Ilmu Penyakit dalam*. Edisi III. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. Hal 369-374.
- Tjay, T.H. & Raharja K. 2007. *Obat-obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek Efek Sampingnya*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Waluyo, Joko. 2014. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) dan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acne*. Jurnal sintifica Vol 16 (No.1)
- Widyasanti, Asri, Siti Hajar, & Da& Rohdiana. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teh Putih terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Penelitian Teh & Kina* 18(1): 55-60
- Yoganandam, Prakash G., Gopal V., & Kaviarasan L. 2012. Promissing Pharmaceutical Prospective of Java Olive-*Sterculia foetida* Linn (Sterculiaceae). *International Journal of Pharmacy Review & Research* 2(2): 93-96
- Zanzibar M, 201. Kepuh (*Sterculia Foetida* Linn). Dalam: Atlas Benih Tanaman HutanIndonesia Jilid II. Publikasi Khusus Vol.5 No.1, November 2011. Burharman dkk.(eds), Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Balai Penelitian Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan Bogor, Bogor.

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian



Nomor : 192 / H6 – 04 / 16.01.2017
 Lamp. : - helai
 Hal : Ijin Penelitian

Kepada :
Yth. Direktur
RSUD. DR. MOEWARDI
Di Surakarta

Dengan Hormat,

Guna memenuhi persyaratan untuk keperluan penyusunan Tugas Akhir (TA) bagi Mahasiswa Semester Akhir Program Studi D-IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, yang pelaksanaannya di RSUD. dr. Moewardi Surakarta, terkait bidang yang ditekuni dalam melaksanakan kegiatan tersebut bersamaan dengan ini kami menyampaikan ijin bahwa :

NAMA : TIKHA ROSYAFATUL UMMAH
NIM : 06130172 N
PROGDI : D-IV Analis Kesehatan
JUDUL : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia Foetida L.*) terhadap *Escherichia coli* dan *Klebsiella Pneumonia* Kultur Murni dan Sampel Klinis Di RSUD. dr. Moewardi.
 (Sampel Urin ISK *Escherichia coli* dan *Klebsiella Pneumonia*)

Untuk ijin Penelitian tentang Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia Foetida L.*) terhadap *Escherichia coli* dan *Klebsiella Pneumonia* Kultur Murni dan Sampel Klinis (Sampel Urin ISK *Escherichia coli* dan *Klebsiella Pneumonia*) di Instansi Bapak / Ibu.

Demikian atas bantuan dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Surakarta, 16 Januari 2017

Dekan



Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D.

Lampiran 2. Surat Pengantar Penelitian



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TENGAH
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH
Dr. MOEWARDI

Jalan Kolonel Sutarto 132 Surakarta Kode pos 57126 Telp (0271) 634 634,
Faksimile (0271) 637412 Email : rsmoewardi@jatengprov.go.id
Website : rsmoewardi.jatengprov.go.id

Surakarta, 14 Februari 2017

lomor : /DIK/ II / 2017
ampiran : -
'erihal : Pengantar Penelitian

Kepada Yth. :
Ka. Instalasi Lab. Mikrobiologi & Parasitologi Klinik

RSUD Dr. Moewardi
di-
SURAKARTA

Memperhatikan Surat dari Dekan FIK-USB Surakarta Nomor : 192/H6-04/16.01.2017; perihal Permohonan Ijin Penelitian dan disposisi Direktur tanggal 18 Januari 2017, maka dengan ini kami menghadapkan siswa:

**Nama : Tikha Rosyafatul Ummah
NIM : 06130172 N**

Institusi : Prodi D.IV Analis Kesehatan FIK-USB Surakarta

Untuk melaksanakan penelitian dalam rangka pembuatan **Skripsi** dengan judul : "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia Foetida L.*) terhadap *Escherichia Coli* dan *Clebsiella Pneumonia* Kultur Murni dan Sampel Klinis di RSUD Dr. Moewardi".

Demikian untuk menjadikan periksa dan atas kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Kepala
Bagian Pendidikan & Penelitian,


Slamet Gunanto, SKM, M.Kes 
NIP. 19660310 198902 1 002

embusan Kepada Yth.:

1. Wadir Umum RSDM (sebagai laporan)
2. Arsip

S.D.M. Cepat, Tepat, Nyaman dan Mudah

Lampiran 3. Surat Pengajuan Kelaikan Etik

Form A2 <http://www.komisietika.net/admin/ec/bukti.pengajuan.php?id=ND...>

**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSUD Dr. Moewardi
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret**

BUKTI PENGAJUAN KELAIKAN ETIK

Yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa data yang saya isikan adalah benar.

Peneliti	: TIKHA ROSYAFATUL UMMAH 06130172 N
Judul Penelitian	: Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksana Daun Kepuh (Sterculia foetida L.) terhadap Escherechia coli dan Klebsiella pneumonia di RSUD Dr. Moewardi
Lokasi Tempat Penelitian	:


06130172 N-4687

Mengetahui
Petugas
Arifah Phenita

Surakarta : 19 Jan 2017
Peneliti
Yme
(TIKHA ROSYAFATUL UMMAH)
06130172 N

Lampiran 4. Surat Kelaikan Etik

HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi


School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 58 / I / HREC /2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret University Of Surakarta
Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

after reviewing the proposal design, here with to certify
setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
Bawa usulan penelitian dengan judul

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSANA DAUN KEPUH
(STERCULIA FOETIDA L.) TERHADAP ESCHERICHIA COLI DAN KLEBSIELLA PNEUMONIA
DI RSUD DR. MOEWARDI

<i>Principal investigator</i> Peneliti Utama	: Tikha Rosyafatul Ummah 06130172 N
<i>Location of research</i> Lokasi Tempat Penelitian	: RSUD Dr Moewardi

Is ethically approved
Dinyatakan laik etik

Issued on : 30 Januari 2017



Chairman
Ketua
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNS RSUD DR. MOEWARDI SURAKARTA
Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F.MM NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 5. Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan


**UNIVERSITAS
SETIA BUDI**
UPT- LABORATORIUM

NO. : 161/DET/UPT-LAB/23/V/2017
 Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :
 Nama : Tikha Rosyafatul Ummah
 NIM : 16130172 N
 Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kepuh / Sterculia foetida L.**
 Hasil determinasi berdasarkan : **Baker : Flora of Java**
 1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
 – 26b – 27b – 799b – 800b – 801b – 802b – 806b – 807b – 809b – 810b – 811b – 825b – 826b
 – 829b – 830b – 831b – 832b – 833b – 834a – 835a – 836a – 837a – 838b – 839b – 840b –
 845b – 846a. familia 94. Sterculiaceae. 1a – 2a. 15. *Sterculia foetida L.*

Deskripsi :
 Habitus : Pohon, menahun.
 Akar : Tunggang
 Batang : Berkayu,percabangan monopodial.
Daun : Majemuk menjerji, ibu tangkai 9 – 45 cm, anak daun 5 – 9 cm, bertangkai pendek, bulat memanjang sampai lanset, ujung meruncing.
 Bunga : Majemuk, kelopak bercangap, tabung kelopak merah tua,lobi mula-mula kuning kehijauan di pangkal dan sepanjang marginal, benang sari 12– 15, carpella 5.
 Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only).
 N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surakarta, 23 Mei 2017
 Tim determinasi

 Dra. Kartinah Wiryoendjojo, SU.

Jl. Let.Jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
 Homepage :www.setiabudi.ac.id, e-mail :info@setiabudi.ac.id

Lampiran 6. Surat Keterangan Selesai Penelitian



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TENGAH
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. MOEWARDI
 Jalan Kolonel Sutarto 132 Surakarta Kodepos 57126 Telp (0271) 634 634,
 Faksimile (0271) 637412 Email : rsdm@jatengprov.go.id
 Website : rsmoewardi.jatengprov.go.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : 045 / 8.556 / 2017

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dr. dr. Suharto Wijanarko, Sp.U
Jabatan : Wakil Direktur Umum RSUD Dr. Moewardi

Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Tikha Rosyafatul Ummah
NIM : 06130172N
Institusi : Prodi D.IV Analis Kesehatan FIK-USB Surakarta

Telah selesai melaksanakan penelitian di RSUD Dr. Moewardi dalam rangka penulisan Skripsi dengan judul "Perbandingan Antibakteri Ekstrak Daun Kepuh (*sterculia foetida L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* Isolat Pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK) dan Kultur Murni".

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 19 Juli 2017
 a.n DIREKTUR RSUD Dr. MOEWARDI
 PROVINSI JAWA TENGAH
 Wakil Direktur Umum

Dr. dr. SUHARTO WIJANARKO, Sp.U
 Pembina Utama Muda
 NIP. 19610407 198812 1 001

Lampiran 7. Foto Alat dan Bahan

Serbuk Daun Kepuh



Daun Kepuh



Ekstrak Kental



Konsentrasi Ekstrak daun Kepuh



Auctoclave



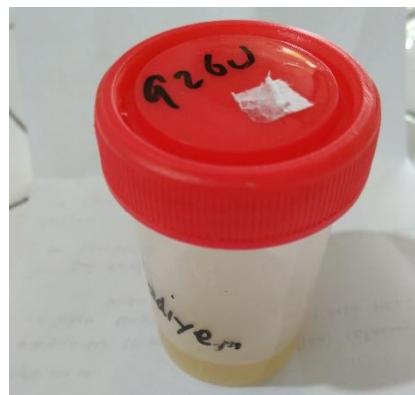
Rotatory Evaporator



Rangkaian alat *Bidwell-Sterling*



Oven



Sampel urin pasien ISK



Blender

Lampiran 8. Foto Hasil Identifikasi Senyawa

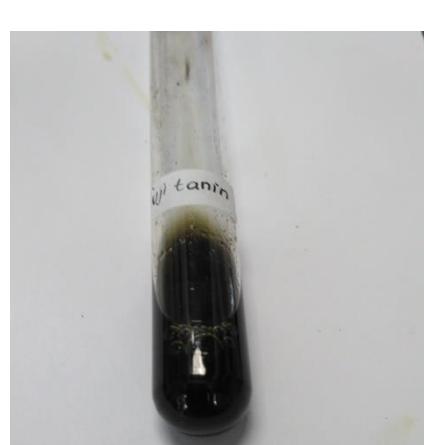
Uji Saponin



Uji Saponin + HCl 2N



Uji Triterpenoid



Uji Tanin



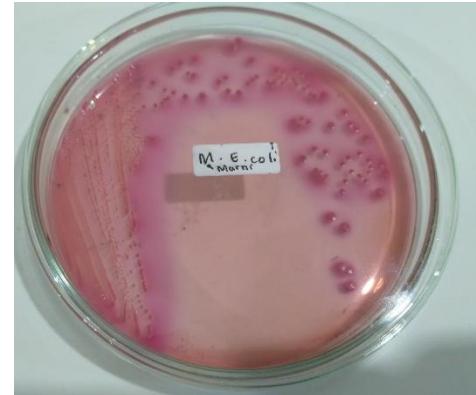
Uji Flavonoid



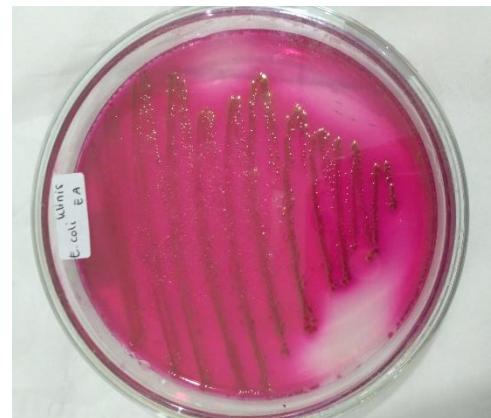
Uji Polifenol

Lampiran 9. Foto Hasil Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Isolasi media pada MCA



Isolasi pada media Endo Agar



A

B

Hasil Pengecatan Gram



A

B

Uji Biokimia



A



B

Perbandingan dengan *Mc Farland*



A



B

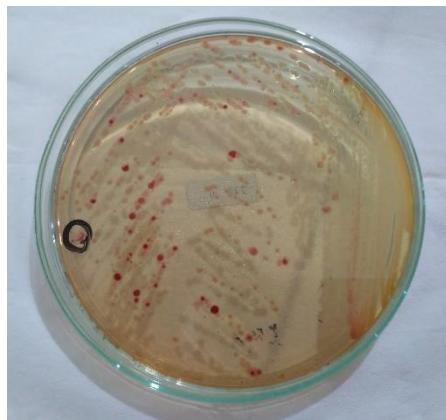
Keterangan:

A : *Escherichia coli* Kultur Murni

B : *Escherichia coli* Isolat Pasien ISK

Lampiran 10. Foto Hasil Identifikasi Bakteri *Klebsiella pneumonia*

Isolasi pada media *Mac Conkey Agar*

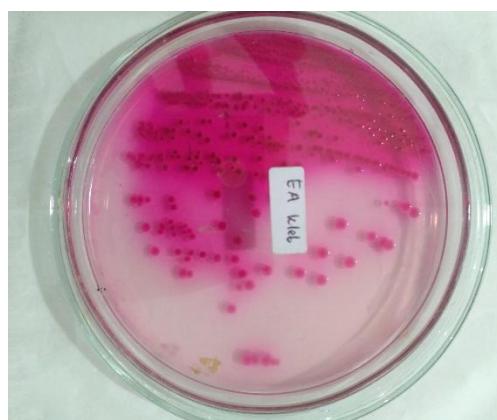


A



B

Isolasi pada media *Endo Agar*



A

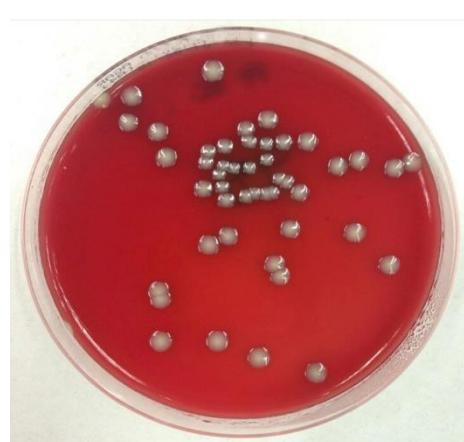


B

Isolasi pada media Agar Darah



A



B

Uji Biokimia



A



B

Perbandingan dengan *Mac farland*

A



B

Uji Urease



A



B

Hasil Pengecatan Gram



A



B

Hasil Pengecatan Kapsul



A



B

Ketereangan :

A : *Klebsiella pneumonia* Kultur Murni

B : *Klebsiella pneumonia* Isolat Pasien ISK

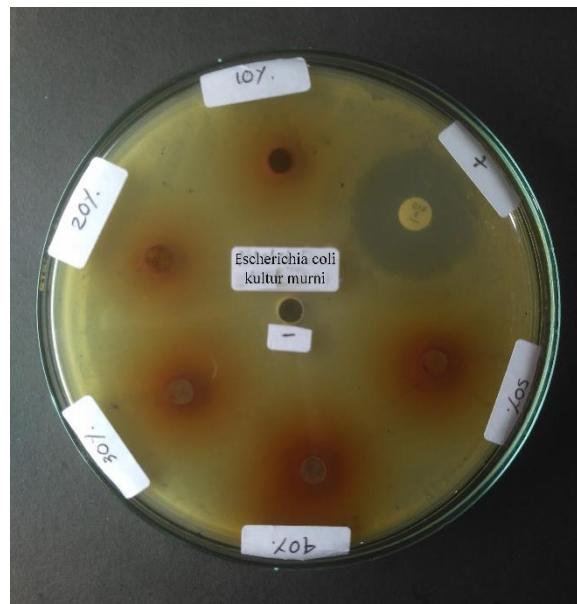
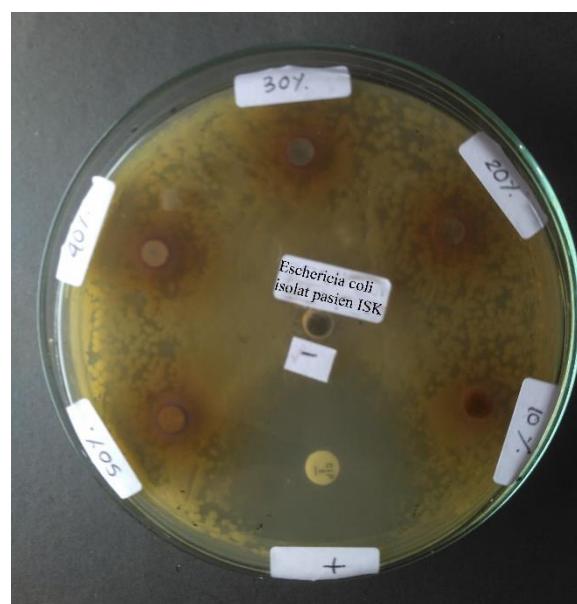
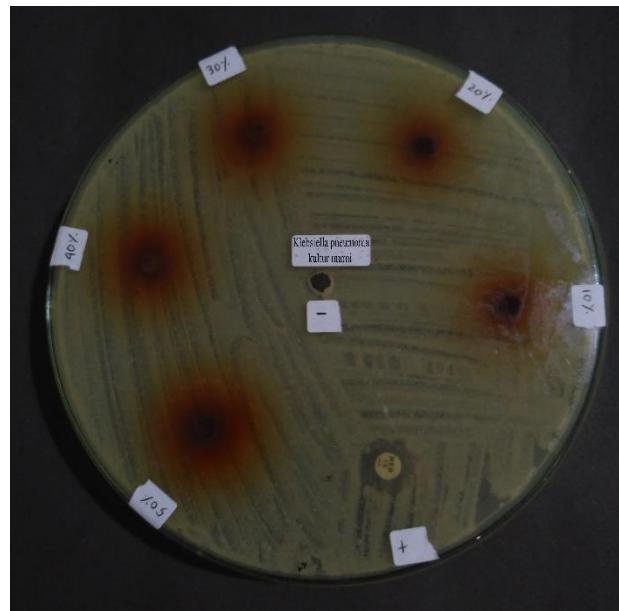
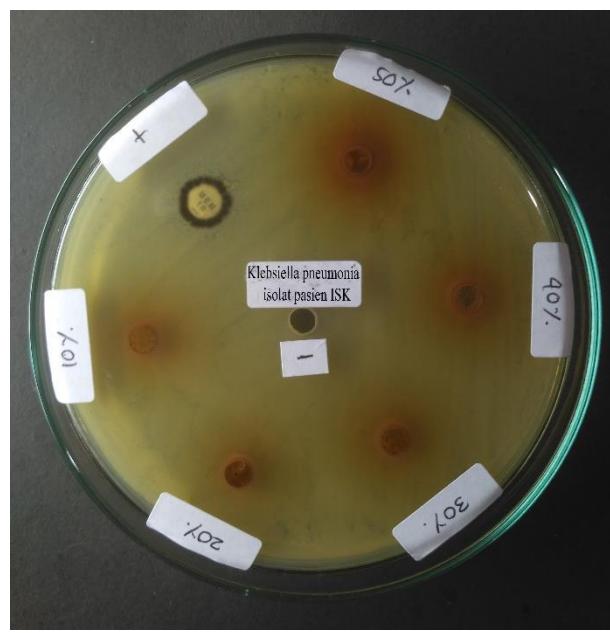
Lampiran 11. Foto Hasil Uji AntibakteriUji Antibakteri *Escherichia coli* Kultur MurniUji Antibakteri *Escherichia coli* Isolat Pasien ISK

Foto Hasil Uji Antibakteri



Uji Aktivitas Antibakteri *Kelbsiella pneumonia* Kultur Murni



Uji Aktivitas Antibakteri *Kelbsiella pneumonia* Isolat Pasien ISK

Lampiran 12. Formulasi dan Pembuatan Media

1. Brain Heart Infusion (BHI)

Brain Infusion Solids 12,5 g/l

Brain Heart Infusion Solide 5,0 g/l

Protease peptone 10,0 g/l

Glukose 2,0 g/l

Sodium chloride 5,0 g/l

Disodium hydrogen phosphatase 2,5 g/l

Agar 10,0 g/l

pH 7,4±0,2 @ 25°C

Suspensikan 37 gram media dalam 1000 ml aquades. Larutkan dan tuang dalam tabung reaksi. Sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit

2. Kliger's Iron Agar (KIA)

‘Lab-lemco’ Powder 3,0 g/l

Yeast extract 3,0 g/l

Peptone 20,0 g/l

Sodium chloride 5,0 g/l

Lactose 10,0 g/l

Glukose 1,0 g/l

Ferric citrate 0,3 g/l

Sodium thiosulfate 0,3 g/l

Phenol red 0,05 g/l

Agar..... 12,0 g/l

pH 7,4±0,2 @ 25°C

Suspensikan 55 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring.

3. Media Sulfida Indol Motility (S.I.M)

Tryptone 20,0 g/l

Peptone..... 6,1 g/l

Ferrous ammonium sulphate 0,2 g/l

Sodium thiosulphate..... 0,2 g/l

Agar..... 3,5 g/l

pH 7,3±0,2 @ 25°C

Suspensikan 30 gram media dalam 1000 ml aqades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

4. Media lysine Iron Agar (LIA)

Bacteriological peptone..... 5,0 g/l

Yeast extract..... 3,0 g/l

Glucose..... 1,0 g/l

L-lysine 10,0 g/l

Ferric ammonium citrate 0,5 g/l

Sodium thiosulphate..... 0,04 g/l

Bromocresol purple.....0,02 g/l

Agar.....14,5 g/l

pH 6,7±0,2 @ 25°C

Suspensikan 34 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring

5. Media Citrat (Simons Citrate Agar)

Magnesium sulphate0,2 g/l

Ammonium dyhydrogen phosphate0,2 g/l

Sodium ammonium phosphate.....0,8 g/l

Sodium citrate, tribasic2,0 g/l

Sodium chloride5,0 g/l

Bromotymol blue0,08 g/l

Agar.....15,0 g/l

pH 7,0±0,2 @ 25°C

Suspensikan 23 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring.

6. Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef, dehydrate infusion from300,0 g/l

Casein hydrolysate7,5 g/l

Starch 1,5 g/l

Agar 17,0 g/l

pH 7,3±0,2 @ 25°C

Suspensikan 38 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

7. Standar Mac. Farland

Suspensi Standart Mac. Farland adalah suspensi yang menujukan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10^8 CFU/ml.

Komposisi :

Larutan Asam Sulfat 1% b/v 8,5 ml

Larutan Barium klorida 1,175% v/v 1,5 ml

Cara Pembuatan :

Campur kedua larutan tersebut dalam tabung reaksi dikocok dan dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standar, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 CFU/ml.

8. Komposisi Cat Gram

Cat Gram A (warna ungu)

Kristal violet 2 gram

Etil Alkohol 95% 20 ml

Amonium oksalat 0,8 gram

Aquadest 80 ml

Cat Gram B (warna coklat)

Yodium..... 1 gram

Kalium Iodida 2 gram

Aquadest..... 300 ml

Cat Gram C (tak berwarna)

Aceton 50 ml

Etil alkohol..... 10 ml

Cat Gram D (warna merah)

Safranin 0,25 gram

Etil alkohol..... 10 ml

Aquadest..... 90 ml

9. Komposisi reagen Erlich

Erlich A

Paradimethyl Amino benzaldehyde 2 gram

Alkohol 95% 190 ml

HCl_{conc} 40 ml

Erlich B

Kalium Persulfat (K₂S₂O₈) jenuh dalam aquadest.

10. *Mac Conkey Agar* (MCA)

Pancreatic digest of casein 10 g

Peptic digest of animal tissue 10 g

Lactose 10 g

Bile salt 5 g

Sodium chloride 5 g

Agar 12 g

Neutral red 0,05 g

PH 7,4±0,2 @25°C

Suspensikan 52 gram media dalam 1000 ml aquades. Dipanaskan sampai mendidih dan dituang dalam tabung reaksi. Sterilisasi menggunakan *auctoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit

11. Endo Agar (EA)

Dipotassium phosphate 3,5 g

Peptic digest of animal tissue 10 g

Agar 15 g

Lactosa 10 g

Sodium sulfide 2,5 g

Basic fuchsin 0,5 g

Ph 7,4±0,2 @25°C

Suspensikan 38 gram media dalam 1000 ml aquades. Dipanaskan sampai mendidih dan dituang dalam tabung reaksi. Sterilisasi menggunakan *auctoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit

12. Media Urease

Pancreatic digest of gelatin 1 g

Dextrosa 1 g

Sodium chloride 5 g

Potassium phosphate 2 g

Urea 20 g

Phenol red 0,0129 g

Ph 6,8±0,2 @25°C

Suspensikan 21 gram media dalam 1000 ml aquades. Dipanaskan sampai mendidih dan dituang dalam tabung reaksi. Sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

13. Media Agar Darah

Heart muscle, infusion from (solids)..... 2 g

Pancreatic digest of casein 13 g

Yeast extract..... 5 g

Sodium chloride 5 g

Agar..... 15 g

Ph 7,3±0,2 @25°C

Suspensikan 40 gram media dalam 1000 ml aquades. Dipanaskan sampai mendidih dan dituang dalam tabung reaksi. Sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Lampiran 13. Hasil Uji Statistik *Escherichia coli*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DiameterZonaHambat
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	14.6117
	Std. Deviation	5.59906
Most Extreme Differences	Absolute	.180
	Positive	.180
	Negative	-.114
Kolmogorov-Smirnov Z		.622
Asymp. Sig. (2-tailed)		.834

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

DiameterZonaHambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	240.230	2	120.115	10.334	.005
Within Groups	104.614	9	11.624		
Total	344.844	11			

Kriteria Uji

H_0 diterima jika F hitung $<$ F kritis

H_0 ditolak jika F hitung $>$ F kritis

F hitung sebesar 10.334 dan F tabel 4,75

Dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak, atau terdapat perbedaan yang signifikan antara *Escherichia coli* isolat pasien ISK dan kultur murni.

Lampiran 14. Hasil Uji Statistik *Klebsiella pneumonia*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DiameterZonaHambat
		t
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	14.7775
	Std. Deviation	3.40919
Most Extreme Differences	Absolute	.116
	Positive	.116
	Negative	-.109
Kolmogorov-Smirnov Z		.402
Asymp. Sig. (2-tailed)		.997

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

DiameterZonaHambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.331	2	6.665	.524	.609
Within Groups	114.517	9	12.724		
Total	127.848	11			

Kriteria Uji

H_0 diterima jika F hitung < F kritis

H_0 ditolak jika F hitung > F kritis

F hitung sebesar 0,524 dan F tabel 4,75

Dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima, atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara *Escherichia coli* isolat pasien ISK dan kultur murni.

Lampiran 15. Hasil Perhitungan

1. Perhitungan Kadar Air

Berat Wadah = 163, 8801 g

Berat sampel = 20,8327 g

Berat wadah + sampel = 184,7128 g

Hasil yang didapat pada tabung *reciver* = 1,8 ml

$$\begin{aligned} \text{Perhitungan} &= \frac{\text{hasil}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{1,8}{20,8324} \times 100\% = 8,64\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan Rendemen

$$\begin{aligned} \text{Perhitungan} &= \frac{\text{serbuk} \times \text{ekstrak}}{1000} \\ &= \frac{300 \times 24}{1000} = 7,2\% \end{aligned}$$