

SKRIPSI_20820101_AINO RASATI MEININ

by hafidernanda@gmail.com 1

Submission date: 28-Jun-2024 08:06AM (UTC+0530)

Submission ID: 2409654316

File name: SKRIPSI_20820101_AINO_RASATI_MEININ_1_.docx (940.26K)

Word count: 4481

Character count: 29141

**UJI MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION INFUSA
DAUN BERENUK (*Crescentia cujete*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Methicillin-Resistant*
*Staphylococcus aureus***

Aino Rasati Meinin

12

ABSTRAK

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan bakteri yang resisten terhadap antibiotik golongan penisilin. Daun berenuk (*Crescentia cujete*) merupakan salah satu alternatif antibakteri yang berguna menghambat pertumbuhan MRSA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba dan konsentrasi uji MIC infusa daun berenuk terhadap MRSA. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik dengan analisis data menggunakan *random sampling* terhadap 12 perlakuan dan 5 pengulangan. Prosedur penelitian adalah dengan uji *minimum inhibitory concentration* dan uji *minimum bactericidal concentration*. Bakteri dibuat suspensi setara dengan *McFarland* 2,5. Suspensi ditantang dengan MRSA dan infusa daun berenuk konsentrasi 256 $\mu\text{L/mL}$, 128 $\mu\text{L/mL}$, 64 $\mu\text{L/mL}$, 32 $\mu\text{L/mL}$, 16 $\mu\text{L/mL}$, 8 $\mu\text{L/mL}$, 4 $\mu\text{L/mL}$, 2 $\mu\text{L/mL}$, 1 $\mu\text{L/mL}$, dan 0 $\mu\text{L/mL}$. Suspensi diinkubasi 24 jam dan absorbansinya diukur dengan spektrofotometer. Suspensi diuji pertumbuhan pada agar. Data dianalisa dengan *SS 26* menggunakan uji ANOVA. Berdasarkan hasil analisa data ANOVA dari hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pada perlakuan ($P < 0,05$). Nilai MIC pada konsentrasi 8, 16, dan 32 $\mu\text{L/mL}$ dilanjutkan pada uji MBC dan hasilnya memperlihatkan bahwa tidak terdapat pertumbuhan koloni MRSA pada ketiga konsentrasi tersebut. Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa terdapat aktivitas antimikroba infusa daun berenuk terhadap MRSA dan konsentrasi uji MIC infusa daun berenuk terhadap MRSA yaitu 32 $\mu\text{L/mL}$.

34 **ta kunci:** *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, daun berenuk, konsentrasi, *minimum inhibitory concentration*, *minimum bactericidal concentration*.

**UJI MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION INFUSA
DAUN BERENUK (*Crescentia cujete*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Methicillin-Resistant*
*Staphylococcus aureus***

Aino Rasati Meinin

ABSTRACT

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is a bacterium that is resistant to penicillin class antibiotics. Berenuk leaf (*Crescentia cujete*) one of the antibacterial alternatives that is useful to inhibit the growth of MRSA. This study aims to determine the antimicrobial activity and MIC test concentration of berenuk leaf infusa against MRSA. This study uses a laboratory experimental method with data analysis using random sampling of 12 treatments and 5 repetitions. The research procedure is the minimum inhibitory concentration test and the minimum bactericidal concentration test. Bacteria were made into a suspension equivalent to McFarland 0.5. The suspension was challenged with MRSA and berenuk leaf infusion concentrations of 256 $\mu\text{L/mL}$, 128 $\mu\text{L/mL}$, 64 $\mu\text{L/mL}$, 32 $\mu\text{L/mL}$, 16 $\mu\text{L/mL}$, 8 $\mu\text{L/mL}$, 4 $\mu\text{L/mL}$, 2 $\mu\text{L/mL}$, 1 $\mu\text{L/mL}$, and 0 $\mu\text{L/mL}$. The suspensions were incubated for 24 hours and the absorbance was measured with a spectrophotometer. Suspensions were tested for growth on agar. Data were analyzed with SPSS 26 using ANOVA test. Based on the results of ANOVA data analysis of the results showed a significant effect on the treatment ($P < 0.05$). MIC values at concentrations of 8, 16, and 32 $\mu\text{L/mL}$ were continued in the MBC test and the results showed that there was no growth of MRSA colonies at the three concentrations. Based on the results of this study, it is concluded that there is antimicrobial activity of berenuk leaf infusion against MRSA and the MIC test concentration of berenuk leaf infusion against MRSA is 32 $\mu\text{L/mL}$.

Key words: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, calabash leaf, concentration, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration.

⁶ I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Salah satu masalah kesehatan terbesar di dunia adalah infeksi bakteri. ⁷
Staphylococcus aureus adalah salah satu bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi pada manusia (Ali *et al.*, 2018). Bakteri gram-positif *S. aureus* adalah flora yang sering ditemukan di ³ kulit, mulut, dan saluran pernapasan bagian atas. *S. aureus* dapat menyebabkan sepsis, infeksi kulit dan saluran pencernaan, serta ³ infeksi paru-paru, radang selaput otak, radang tulang, sinusitis, dan radang amandel (Hasanah, 2017).

S. aureus dapat diobati dengan antibiotik. Penggunaan antibiotik dapat menimbulkan resistensi antibiotik pada *S. aureus*. Resistensi antibiotik pada *S. aureus* disebut *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). MRSA juga ⁶ resisten terhadap antibiotik golongan penisilin, seperti methicillin, oxacillin, flucloxacillin, dan antibiotik beta-lactam lainnya (Ali *et al.*, 2018). MRSA berpotensi menyebabkan penyakit fatal seperti pneumonia, endocarditis, osteomyelitis dan infeksi nosokomial lainnya (Garoy *et al.*, 2019). MRSA merupakan penyebab utama infeksi nosokomial yang mengakibatkan pasien rawat inap meningkat dua kali lipat dari 127.036 menjadi 278.203 pada tahun 1999-2005 di Amerika Serikat (Garoy *et al.*, 2019). ⁶ Pada tahun 2006 angka prevalensi MRSA di Indonesia mencapai 23,5%. Resistensi yang demikian dapat mengambat efikasi pengobatan MRSA (Ali *et al.*, 2018).

Salah satu usaha dalam menanggulangi masalah tersebut yaitu menggunakan alternatif seperti antibiotik dari bahan alami. ⁶ Antibiotik dari bahan alami diharapkan efek samping lebih kecil. Salah satu herbal yang dapat digunakan ialah dengan menggunakan buah berenuk (Hasanah dan Widhiastuti, 2018).

Berenuk (*Crescentia cujete*), juga dikenal sebagai pohon calabash, memiliki banyak manfaat pengobatan. Tumbuhan ini bertinggi antara 6 dan 10 meter tinggi dan memiliki batang pendek, bercabang, batang panjang, dan mahkota terbuka. Daun berkerumun, dengan daun panjang 56 cm, tumbuh pada cabang atau batang besar. Buah berenuk berbentuk bulat atau lonjong, berwarna hijau, halus, dan keras, dengan diameter 15-20 cm dan daging buah berwarna putih (Ridwanuloh dan Nurohmah, 2021).

Berenuk telah digunakan sejak lama dalam praktik medis tradisional. Daun ³ buah berenuk biasanya digunakan untuk mengobati sakit perut, flu, bronkitis, batuk, asma, uretritis, ekspektoran, antitusif, dan pencahar. Mereka juga digunakan untuk mengobati hematoma, hipertensi, tumor, luka baru, dan sakit kepala (Hasanah, 2017). Beberapa zat antibakteri ditemukan dalam daun berenuk, termasuk ⁹ flavonoid 0,52%, tanin 0,64%, dan fenol 0,46% (Hasanah dan Widhiastuti, 2018). Kulit berenuk dan daun berenuk memiliki sifat antibakteri yang sama (Hidayati *et al.*, 2018).

Saponin adalah alkaloid yang memiliki kemampuan untuk merusak asam bakteri (DNA dan RNA). Senyawa alkaloid ini ditemukan dalam daun berenuk. Dalam fungsinya sebagai antibakteri, tanin menginaktivasi adhesin, yang mencegah

¹⁷ bakteri menempel pada sel epitel hospes. Selain itu, daun berenek mengandung flavonoid, yang akan menyebabkan lisis dan menghentikan pembentukan dinding sel. Daun berenek dapat membunuh dan menghentikan pertumbuhan bakteri melalui mekanisme di atas (Aribisala, 2022).

Minimum inhibitory concentration (MIC) adalah konsentrasi paling rendah sebagai antimikroba yang mampu menghentikan mikroorganisme setelah 24 jam diinkubasi (Soelama *et al.*, 2015). Sensitivitas mikroba yang diuji tidak sebanding dengan MIC. Bakteri lebih sensitif terhadap antibiotik dengan nilai MIC yang lebih rendah (Witasari *et al.*, 2022). Untuk uji MIC, unit yang digunakan adalah mg/L atau g/mL (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021).

Kandungan yang dimiliki oleh daun buah berenek ini diharapkan dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri MRSA. Oleh karena itu ¹⁶ penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba infusa daun berenek terhadap MRSA dan untuk mengetahui konsentrasi uji MIC infusa daun berenek terhadap MRSA.

²⁰ 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah infusa daun berenek memiliki aktivitas antimikroba terhadap MRSA dengan uji MIC?
2. Bagaimana konsentrasi uji MIC infusa daun berenek terhadap MRSA?

8

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui aktivitas antimikroba infusa daun berenek terhadap MRSA dengan uji MIC.
2. Untuk mengetahui konsentrasi uji MIC infusa daun berenek terhadap MRSA.

33

1.4. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat aktivitas antimikroba infusa daun berenek terhadap MRSA dengan uji MIC.
2. Konsentrasi uji MIC infusa daun berenek terhadap MRSA pada rentang yang rendah.

5

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi infusa daun berenek sebagai agen antimikroba terhadap MRSA. Penelitian ini juga dapat memberikan sumbangan ilmiah dalam pengembangan obat-obatan baru untuk pengobatan infeksi MRSA.

1 II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Staphylococcus aureus*

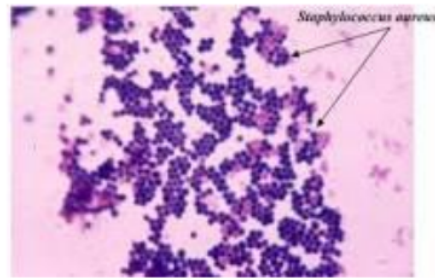
2.1.1. Sejarah dan Morfologi *S. aureus*

Staphylococcus aureus adalah nama genus Staphylococcus. Bakteri *S. aureus* adalah flora normal yang ada di kulit, mulut, dan saluran pernapasan bagian atas. *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi paru-paru, radang selaput otak, radang tulang, sinusitis, radang amandel, sepsis, dan infeksi kulit dan saluran pencernaan. Bakteri bulat ini gram positif, memiliki diameter 0,7–1,2 µm, dan mungkin anaerob dan tidak membentuk spora (Hasanah, 2017).

Pada tahun 1880-an, Ogston dan Rosenbach mempelajari lebih lanjut tentang bakteri *S. aureus*, yang pertama kali dilihat dan dibiakan oleh Pasteur dan Koch. Mereka memberi nama genus Staphylococcus karena kelompok bakteri seperti buah anggur yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur, dan Rosenbach memberi nama spesies aureus karena koloni bakteri terlihat berwarna kuning pada biakan murni (Madhaiyan *et al.*, 2020).

2.1.2. Klasifikasi *S. aureus*

Domain: *Bacteria*; Kingdom: *Bacteria*; Filum: *Eubacteria*; Kelas: *Firmicutes*; Ordo: *Bacillales*; Famili: *Staphylococcaceae*; Genus: *Staphylococcus*; Species: *S. aureus* (Rosenbach, 1884).



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Toelle, 2014)

2.1.3. Penyakit yang Disebabkan oleh *S. aureus*

Rosenbach menunjukkan bahwa *S. aureus* menyebabkan infeksi pada luka dan furunkel. *S. aureus* juga dapat menyebabkan pneumonia dan pasien pasca bedah, terutama selama musim dingin. Peradangan atau nanah pada jaringan lokal dan kemungkinan abses adalah tanda-tanda infeksi *S. aureus*. Manifestasi klinis yang paling umum pada anak-anak adalah furunkel kulit dan impetigo. Infeksi superfisial ini dapat menyebar (metastatik) ke jaringan yang lebih dalam dan menyebabkan osteomielitis, artritis, endokarditis, dan abses di ginjal, paru-paru, otak, dan kelenjar mammae (Kwiecinski dan Horswill, 2020).

S. aureus adalah bakteri yang paling sering menginfeksi luka setelah pembedahan, menyebabkan pneumonia yang disebabkan *S. aureus*. Sumber pencemaran infeksi pasca bedah ini termasuk peralatan medis yang terkontaminasi, pasien, dokter, perawat, atau petugas kesehatan lainnya yang memberikan perawatan dan pembedahan kepada pasien. Infeksi dapat menyebar ke berbagai organ jika terjadi bakteremia (Cheung *et al.*, 2021).

⁶ 2.2. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

2.2.1. Sejarah MRSA

Perang Dunia II adalah peristiwa penting dalam sejarah resistensi antimikroba *S. aureus*. Saat itu, antimikroba penisilin dapat digunakan untuk mengobati berbagai gejala infeksi *S. aureus*, termasuk sepsis. Sekitar ¹ 60% isolat *S. aureus* yang resisten terhadap penisilin ditemukan di Inggris pada tahun 1948, dan ⁷ 90% isolat *S. aureus* yang resisten terhadap penisilin ditemukan di beberapa negara Eropa pada akhir 1950-an. Produksi enzim beta-laktamase, atau penisilinase, oleh *S. aureus* menyebabkan resistensi terhadap penisilin ini. Enzim ini memiliki kemampuan untuk memecahkan ¹ cincin beta-laktam penisilin, membuat antimikroba tersebut tidak aktif (Frickmann, 2018).

Antimikroba semisintetik pertama kali ditemukan pada tahun 1959 yang tidak terpengaruh oleh penisilinase, metisilin, atau methicillin. Namun, ⁴⁶ galur *S. aureus* yang tahan terhadap metisilin atau MRSA ditemukan, yang berarti keberhasilan ini tidak akan bertahan lama (Shenoy *et al.*, 2014).

Dua jenis isolat MRSA muncul: yang pertama berasal ¹ dari penderita yang sebelumnya terpapar metisilin, menunjukkan resistensi bersifat induktif; yang kedua berasal dari penderita yang belum pernah terpapar metisilin, menunjukkan resistensi bersifat bawaan atau intrinsik. Mutasi spontan atau tertular dari pasien carrier dapat menyebabkan resistensi intrinsik. Bakteri MRSA ³¹ tidak sensitif terhadap semua golongan beta-laktam dan lebih dari dua antimikroba nonbeta-

laktam seperti kuinolon, tetrasiklin, kloramfenikol, dan makrolida karena galur multi-resistennya (Andrade *et al.*, 2020).

Galur MRSA muncul di Afrika dan Inggris pada tahun 1962 segera setelah metisilin dipasarkan. Sepuluh tahun kemudian, MRSA muncul di Turki, India, dan Australia. Ini juga muncul ¹ di negara-negara Eropa seperti Inggris, Denmark, Perancis, Polandia, dan Swiss. MRSA menjadi wabah sepuluh tahun setelah ¹ pertama kali dilaporkan di Amerika Serikat pada tahun 1968. Di Eropa, prevalensi MRSA menurun pada tahun 1970. Ini diduga akibat kebijakan antimikroba, terutama pengurangan tetrasiklin dan penerapan standar kebersihan. Namun, hingga tahun 1990-an, prevalensi MRSA meningkat di Australia dan Amerika Serikat (Shenoy *et al.*, 2014).

2.2.2. Mekanisme Resistensi MRSA

Suatu bagian DNA berukuran besar yang disebut *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCCmec), berukuran antara 20 dan 100 kb, ³² terintegrasi ke dalam kromosom *S. aureus* pada area di dekat awal replikasi (ori) kromosom. ⁴ SCCmec selalu mengandung *mecA*, yaitu gen yang menyandi PBP2a, yang merupakan inti dari resistensi MRSA.

Resistensi MRSA terhadap metisilin dan semua antimikroba golongan beta-laktam disebabkan oleh perubahan pada normal *protein binding penicillin* (PBP), yaitu PBP 2 menjadi ¹ PBP 2a. Bakteri dengan afinitas yang sangat rendah terhadap ⁵ beta-laktam dapat hidup dan mensintesa dinding sel meskipun dibiak pada medium

yang mengandung konsentrasi tinggi beta-laktam. Ada perubahan pada situs pengikatan, atau situs pengikatan, yang menyebabkan rendahnya afinitas, seperti yang ditunjukkan oleh pemeriksaan struktur PBP 2a. Gen *mecA* yang merupakan bagian dari SCCmec menyandi PBP 2a (Kemalapatni *et al.*, 2017).

Sekelompok protein yang mengikat penicillin terlibat dalam berbagai proses, termasuk biosintesa peptidoglikan, menghentikan reaksi transpeptidasi, dan pembentukan anyaman peptida. Salah satu ciri peptidoglikan *Staphylococcus* adalah ukuran panjangnya dan struktur anyaman rantai pentaglisin yang fleksibel, juga dikenal sebagai ikatan lintas. Peptidoglikan ini diserang oleh antimikroba yang mengandung betalaktam. Perubahan struktur PBP pada MRSA dan produksi enzim beta-laktamase pada galur *S. aureus* yang menghasilkan betalactamases berkontribusi pada resistensi (Zhang *et al.*, 2022).

Selain berfungsi sebagai enzim transpeptidase, PBP 2 juga melakukan fungsi transglukosilasi. Antimikroba ini tidak dapat memengaruhi reaksi transpeptidasi karena sifatnya yang sangat rendah terhadap beta laktam. Selain itu, fungsi transglukosilasi PBP 2a sama sekali tidak dipengaruhi oleh beta laktam, yang dapat bertanggung jawab atas resistensi MRSA (Liana, 2014).

Meskipun PBP 2a tersedia dalam jumlah minimal, merupakan syarat penting untuk resistensi MRSA. Namun, karena sepasang galur MRSA dengan *mecA* yang sama menunjukkan ekspresi resistensi yang berbeda, peningkatan produksi PBP 2a tidak terkait dengan homogenitas resistensi. Faktor-faktor luar

seperti suhu, ⁴ osmolaritas, kandungan ion, tekanan oksigen, cahaya, dan gen beta-laktamase juga memengaruhi ekspresi resistensi (Zeng *et al.*, 2016).

2.2.3. Pengobatan pada MRSA

Tidak ada pengobatan yang efektif untuk infeksi MRSA. Obat pilihan ¹ untuk infeksi MRSA, glikopeptida vankomisin, memiliki efek bakterisidal yang lambat dan sering menyebabkan kegagalan terapi. Ketika ¹ galur MRSA yang tidak peka terhadap vankomisin dan MRSA yang resisten terhadap vankomisin digabungkan, masalah menjadi lebih kompleks. Antimikroba seperti vankomisin, tidak efektif seperti teikoplanin, ⁵ rifampin, fosfomisin, dan trimetoprim-sulfametoksazol. Galur MRSA yang tidak tahan terhadap antimikroba juga ditemukan (Geriak, 2019).

Vankomisin adalah glikopeptida awal yang diisolasi dari jamur *Streptomyces orientalis* di Kalimantan pada tahun 1956. Penggunaannya sebagai antimikroba meningkat setelah penyebaran MRSA. Ini bertindak sebagai ¹ vankomisin aktif terhadap bakteri gram positif anaerob seperti *Staphylococcus* secara in vitro. Menurut McGuinness *et al.* (2017), vankomisin hanya dapat diberikan secara intravena. Pemberian intramuskuler (IM) atau oral tidak dapat dilakukan karena dapat menyebabkan efek yang tidak menyenangkan dan mengganggu saluran pencernaan. Vankomisin dianggap peka atau ¹ aktif terhadap *Staphylococcus* karena mampu membunuh bakteri pada konsentrasi 4 g/mL, intermediet pada 8-16 g/mL, dan resisten pada 32 g/mL (CLSI, 2020).

Actinoplanes teichomyceticus menghasilkan glikopeptida yang disebut tekoplanin. Tekoplanin lebih mudah diberikan daripada vankomisin, aktif terhadap gram positif, kurang alergenik, dan tidak membutuhkan pengawasan ketat. Tekoplanin dan aminoglikosida menunjukkan sinergi secara in vitro. Jika terjadi alergi terhadap vankomisin, obat ini digunakan sebagai penggantinya (Lai *et al.*, 2013). Terapi pelemahan glikopeptida untuk infeksi MRSA memiliki efek bakterisidalnya yang lambat, sehingga diperkirakan tidak efektif secara in vivo. Hal ini disebabkan oleh pemberian berulang, waktu sterilisasi darah yang lama, dan tingkat infeksi berulang yang tinggi (Zhou *et al.*, 2018).

Pada tahun 1962, metformin pertama kali digunakan untuk mengobati infeksi bakteri pada manusia. Pada tahun 1968, ia diubah menjadi kotrimoksazol dengan sulfonamid, kedua obat yang berfungsi sebagai inhibitor sintesa asam folat. Kedua obat ini bekerja sama dengan baik satu sama lain. Meskipun kotrimoksazol tidak disarankan untuk pengobatan infeksi MRSA berat seperti endokarditis dan pneumonia karena kemampuan bakterisidalnya yang cepat pada konsentrasi 4 kali MIC (Paul *et al.*, 2015). Trimetoprim aktif terhadap *S. aureus in vitro* pada nilai MIC antara 0.05-1.0 mg/L dan sulfametoksazol 0.4-8.0 mg/L (CLSI, 2020).

Rifampin adalah turunan dari makrolida antimikroba rifamisin-B, yang diproduksi oleh jamur *Streptomyces mediterranei*. Rifampin lebih kuat dan mudah larut daripada rifamisin-B, dan diabsorpsi secara cepat ketika diberikan secara oral. Rifampin aktif terhadap MRSA dan MSSA dengan MIC 0.003-0.3 mg/L; juga dapat diberikan secara intra vena (Eum *et al.*, 2021).

Meskipun saat ini sudah dapat dibuat secara sintesis, fosfomisin adalah produk fermentasi *Streptomyces* spp. Untuk kasus MRSA sistemik (berat), obat ini dapat diberikan secara oral atau dikombinasikan dengan golongan beta-laktam atau aminoglikosida (Pujol *et al.*, 2021). Kadar MIC yang efektif melawan MRSA berkisar antara 32 dan 200 mg/L (CLSI, 2020).

2.3. Daun Berenuk (*Crescentia cujete*)

2.3.1. Klasifikasi dan Morfologi Berenuk

Berenuk biasanya bertinggi 6-10 meter dan memiliki mahkota terbuka dan batang pendek, bercabang, dan panjang. Buah berenuk berbentuk bulat atau lonjong, berwarna hijau, halus dan keras, berdiameter 15-20 cm, dan daging buahnya berwarna putih. Bunga tumbuh berkerumun pada cabang besar atau batang, dengan daun panjang 56 cm (Ridwanuloh dan Nurohmah, 2021).

¹⁹ Kingdom: *Plantae*; Subkingdom: *Tracheobionta*; Superdivisi: *Spermatophyta*; Divisi: *Magnoliophyta*; Class: *Magnoliopsida*; Subkelas: *Asteridae*; Ordo: *Scrophulariales*; Famili: *Bignoniaceae*; Genus: *Crescentia*; Species: *C. cujete* (Linnaeus, 1753).



Gambar 2.2 Daun berenuk (*Crescentia cujete*)

2.3.2. Manfaat di Masyarakat

Berenuk telah digunakan sejak lama dalam pengobatan tradisional. Banyak orang menggunakan daun berenuk sebagai pencahar, antitusif, bronkitis, batuk, asma, uretritis, ekspektoran, dan sakit perut. Mereka juga digunakan untuk mengobati hipertensi, tumor, hematoma, sakit kepala, dan luka baru (Hasanah, 2017). Tempelkan sepuluh gram daun berenuk yang telah dicuci dan ditumbuk sampai halus pada luka dan tutup dengan kain bersih (Sostales, 2016).

2.3.3. Kandungan Daun Berenuk

Antara zat antibakteri yang ditemukan dalam daun berenuk adalah flavonoid 0,52%, tanin 0,64%, dan fenol 0,46%. Flavonoid memiliki efek farmakologis terhadap zat antimikroba dalam tumbuhan. Flavonoid juga memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein sel bakteri, yang menyebabkan kerusakan pada membran sel tanpa kemampuan untuk diperbaiki lagi. Tanin dan fenol memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim bakteri dengan mengikat dan

mengendapkan protein pada mukus dan sel epitel mukosa. Sebaliknya, fenol dapat merusak membran sel dengan mengurangi tegangan permukaan sel (Hasanah dan Widhiastuti, 2018).

2.4. Minimum inhibitory concentration (MIC)

2.4.1. Pengertian Uji MIC

Salah satu cara untuk mengukur aktivitas antimikroba suatu zat terhadap mikroorganisme target adalah uji konsentrasi minimum penghambat (MIC). Uji MIC dianggap sebagai standar utama untuk mengukur kerentanan organisme terhadap antimikroba. Selain itu, uji ini digunakan untuk mengevaluasi seberapa efektif pengujian kerentanan tambahan. Uji MIC digunakan di laboratorium diagnostik untuk memastikan resistensi yang tidak biasa atau untuk memberikan jawaban yang jelas ketika hasil batas diperoleh dengan pengujian lain (Andrews, 2001). Untuk menentukan uji MIC, baik difusi cakram maupun dilusi atau tabung enceran dapat digunakan (Nissa *et al.*, 2018). Unit yang digunakan untuk menguji MIC adalah mg/L atau g/mL (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021).

2.4.2. Macam-macam Metode Uji Kepekaan Bakteri

Metode pengenceran dalam agar yaitu antibiotik diencerkan dalam medium agar dengan konsentrasi tertinggi dan kemudian diencerkan secara bertingkat dengan konsentrasi yang lebih rendah. Bakteri yang diuji ditambahkan ke dalam medium agar yang mengandung antibiotik dengan konsentrasi yang berbeda-beda.

Hasil MIC ditentukan sebagai konsentrasi antibiotik terendah yang mencegah pertumbuhan bakteri (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021).

Metode pengenceran menggunakan media cair digunakan untuk menentukan MIC. Dalam metode ini, organisme ³⁷ yang akan diuji diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengenceran dengan konsentrasi yang berbeda. Organisme kemudian diinkubasi dalam kondisi yang sesuai, dan MIC ⁴¹ ditentukan sebagai konsentrasi terendah dari zat antimikroba yang menghambat pertumbuhan organisme (Andrews, 2001).

Metode gradien melibatkan penggunaan strip atau cawan yang mengandung gradien konsentrasi antibiotik yang telah ditentukan sebelumnya. Bakteri yang diuji ditanam pada piring tersebut dan hasil MIC ditentukan sebagai titik dimana pertumbuhan bakteri berhenti pada strip atau cawan (Kowalska-Krochmal dan Dudek-Wicher, 2021).

2.4.3. Hubungan antara MRSA dengan Uji MIC

Konsentrasi paparan beta-laktam memengaruhi ekspresi resistensi MRSA. Nilai MIC ⁴ dalam satu biakan sangat berbeda tergantung pada tipe SCCmec yang ada, tetapi lebih sensitif ketika ada beta-laktam (Witasari *et al.*, 2022).

2 ² III. MATERI DAN METODE

3.1. Tempat Dan Waktu Penelitian

Studi ini akan dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo dan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu pada bulan Desember ² 2023.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: cawan petri, vortex, ose, ⁵ rak tabung reaksi, inkubator, api bunsen, autoklaf, tabung reaksi, erlenmeyer, mikropipet *plate spreader*, spektrofotometer, *juicer*, ²³ alat tulis.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Isolat *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, media larutan Mcfarland 0,5, media Pepton, media *Nutrient Agar*, daun berenuk (*Crescentia cujete*), aquades, antibiotik kloramfenikol, masker, kertas saring, dan kertas label.

²⁸ 3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik mengenai uji MIC infusa daun berenek terhadap pertumbuhan *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu *post-test* dengan analisis data menggunakan *random sampling* terhadap 12 perlakuan dan 5 pengulangan.

¹⁵ 3.3.2. Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini adalah variabel bebas, kendali dan terikat. Variabel bebas yaitu infusa daun berenek dengan berbagai konsentrasi dan antibiotik kloramfenikol $30\mu\text{g/mL}$. Variabel kendali yaitu bakteri MRSA. Variabel terikat yaitu nilai absorbansi suspensi MRSA dan jumlah koloni MRSA terhadap infusa daun berenek.

3.4. Teknik Pengambilan Sampel

Sampel diambil di akhir periode riset (*post-test*) dan diperbanyak menggunakan media *Nutrient Agar*. Selanjutnya membuat suspensi MRSA dan diletakkan di tabung reaksi sebanyak 1 ml. Setelah itu tambahkan infusa daun berenek dengan berbagai konsentrasi.

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Determinasi Spesies

Determinasi spesies dilakukan di Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Jawa Tengah.

3.5.2. Pembuatan Infusa Daun Berenuk

Pertama pilih daun berenuk yang segar dan keringkan dengan oven selama 1 jam pada suhu 80°C. Daun dihaluskan menggunakan *juicer*. Lalu daun direbus dan tambahkan 10% aquades. Perbandingannya yaitu 1 bagian daun dilarutkan dengan 10 bagian pelarut/aquades (1:10). Kemudian dididihkan selama 15 menit. Lalu angkat dan saring. Setelah itu, dinginkan pada suhu ruang. Infusa daun berenuk siap digunakan.

3.5.3. Pengkayaan MRSA

Sampel diambil dari isolat murni yang terjaga dari kontaminasi dan diseleksi menggunakan media selektif MRSA yaitu *Todd Hewitt Agar*. Setelah itu bakteri diperkaya menggunakan media *Nutrient Agar* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.5.4. Pembuatan Suspensi

Sebanyak satu koloni bakteri diambil pada media menggunakan ose bulat steril, kemudian diinokulasikan dalam media pepton lalu divortex. Setelah itu, suspensi disetarakan dengan larutan ⁴⁹ *McFarland 0,5* dengan kepadatan sel bakteri $10^6 - 10^8$ sel/mL. Suspensi siap digunakan.

3.5.5. Pembuatan Konsentrasi

Suspensi bakteri sebanyak 1 ml di dalam tabung reaksi dicampurkan kloramfenikol $30\mu\text{g/mL}$ dan infusa daun berenek dengan berbagai konsentrasi ² ($256\mu\text{L/mL}$, $128\mu\text{L/mL}$, $64\mu\text{L/mL}$, $32\mu\text{L/mL}$, $16\mu\text{L/mL}$, $8\mu\text{L/mL}$, $4\mu\text{L/mL}$, $2\mu\text{L/mL}$, $1\mu\text{L/mL}$, dan $0\mu\text{L/mL}$). Terdapat 11 perlakuan untuk infusa daun berenek dengan lima kali pengulangan dan 1 perlakuan untuk kloramfenikol. Tabung reaksi yang telah diisi suspensi dan bahan uji ¹⁶ diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, bahan uji diletakkan pada kuvet kemudian dimasukkan ke dalam spektrofotometer untuk melihat nilai absorbansinya. Hasil data pengukuran antar bahan uji akan dijadikan perbandingan.

3.5.6. Perhitungan Koloni

Pertama hitung total jumlah bakteri dalam sampel menggunakan uji *total plate count* (TPC). Masukkan sebanyak 1mL dari setiap Pengenceran ¹³ ke dalam media *Nutrient Agar* lalu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Setelah itu, hitung koloni menggunakan *colony counter*.

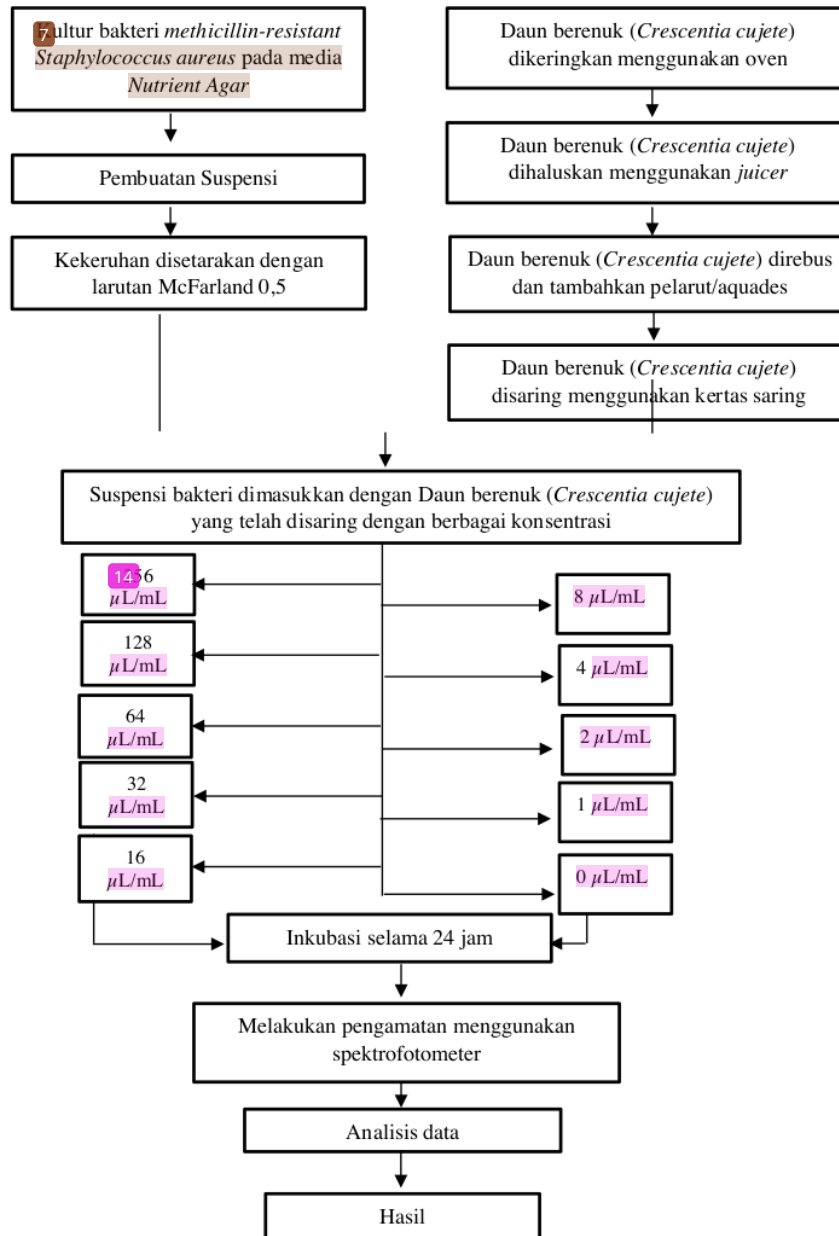
Setelah itu, dilanjutkan dengan menentukan konsentrasi agen antimikroba menggunakan uji *minimum bactericidal concentration* (MBC). Gunakan sampel dari uji TPC. Sampel diinokulasi ke dalam *Nutrient Agar* dan ditambahkan konsentrasi agen antimikroba. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, perhatikan hasilnya. Catat konsentrasi agen antimikroba terendah di mana tidak ada pertumbuhan bakteri yang terlihat pada media.

8

3.6. Analisis Data

Data hasil penelitian diolah menggunakan *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan uji *Post-Hoc* sebagai uji lanjutan untuk mendapatkan taraf signifikan ($\alpha = 0,05$) dari hasil uji MIC infusa daun berenuk terhadap pertumbuhan *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*.

3.7. Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian.

35 3 IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

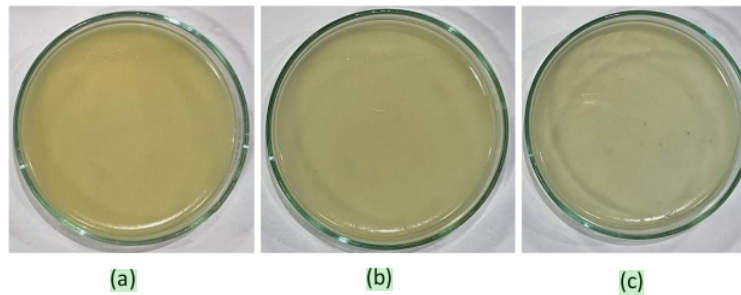
3.1. Hasil

21
Berdasarkan hasil analisa data ANOVA dari hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pada perlakuan ($P < 0,05$). Penentuan nilai MIC dilihat dari nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrofotometer dengan panjang gelombang 456 nm. MIC adalah konsentrasi yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri atau menunjukkan pertumbuhan bakteri setengah dari standar. Standar dari penelitian ini adalah 1,125 Abs dari perlakuan $0 \mu\text{L}/\text{mL}$, maka setengah dari standar penelitian ini adalah 0,562, sehingga MIC pada penelitian ini adalah $32 \mu\text{L}/\text{mL}$. Hal ini karena konsentrasi $32 \mu\text{L}/\text{mL}$ memiliki nilai absorbansi sebesar 0,3132 Abs atau mendekati nilai setengah dari standar. Hasil analisa menunjukkan bahwa nilai absorbansi suspensi MRSA semakin rendah pada konsentrasi yang lebih tinggi (Tabel 4.1).
5

Tabel 4.1. Nilai absorbansi infusa daun berenuk terhadap MRSA

	Perlakuan	Mean±Std. Deviation
P0 (+)	Kloro ¹⁰ fenikol	0,26±0,17 ^a
P ³⁰ (-)	0 $\mu\text{L}/\text{mL}$	1,13±0,39 ^b
P1	0,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0,90±0,24 ^c
P2	1 $\mu\text{L}/\text{mL}$	1,15±0,16 ^d
P3	2 $\mu\text{L}/\text{mL}$	1,06±0,12 ^a
P4	4 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0,65±0,12 ^a
P5	8 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0,77±0,43 ^a
P6	16 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0,89±0,21 ^a
P7	32 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0,31±0,31 ^a
P8	64 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0,47±0,26 ^a
P9	128 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0,42±0,41 ^a
P10	256 $\mu\text{L}/\text{mL}$	0,34±0,07 ^a

Nilai MIC pada konsentrasi 8, 16, dan 32 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dilanjutkan pada uji MBC. Hasil uji MBC memperlihatkan bahwa tidak terdapat pertumbuhan koloni MRSA pada ketiga konsentrasi tersebut (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Hasil uji MBC, (a) konsentrasi 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$, (b) konsentrasi 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$, (c) konsentrasi 32 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

3.2. Pembahasan

Hasil uji MBC menunjukkan bahwa tidak terjadi pertumbuhan koloni MRSA. Uji MBC adalah uji yang dilakukan setelah uji MIC untuk menentukan konsentrasi minimum dari sebuah zat yang diperlukan untuk membunuh mikroorganisme. Uji MBC umumnya dilakukan terhadap bakteri tertentu untuk mengetahui seberapa efektif suatu zat terhadap bakteri tersebut (Omara, 2017). Dalam penelitian ini infusa daun berenuk berperan penting karena terdapat senyawa antibakteri yang dapat menghambat dan membunuh bakteri. Senyawa pada daun berenuk yang berperan sebagai antibakteri adalah flavonoid, fenol, alkaloid dan tanin (Prayitno *et al.*, 2021).

Senyawa pada daun berenuk melakukan berbagai cara untuk menghentikan pertumbuhan bakteri. Tergantung pada konsentrasi bahan yang digunakan, senyawa

⁴⁷ tersebut dapat menghentikan pertumbuhan bakteri atau bahkan membunuh bakteri tersebut. Antibakteri termasuk dalam dua jenis: bakteriostatik (mampu menghentikan perkembangan bakteri) dan bakterisidal (mampu membunuh bakteri) (Violando dan Safitri, 2020).

Alkaloid berfungsi sebagai antibakteri yang mampu mengurai peptide dinding sel bakteri. Hal ini mengganggu pembentukan lapisan dinding bakteri, mengakibatkan kematian pada bakteri (Billacura dan Laciapag, 2017). Saponin merupakan salah satu senyawa yang memiliki kemampuan antibakteri. Cara saponin membunuh bakteri adalah dengan menghambat struktur protein dan enzim dari dalam sel. Saponin merupakan senyawa aktif dengan permukaan yang serupa dengan detergen. Saponin dapat mengurangi pertumbuhan beberapa bakteri dan merusak permeabilitas membran (Billacura dan Pangcoga, 2017).

Golongan flavonoid polifenol banyak terdapat pada biji-bijian, teh, buah-buahan, dan sayuran. Flavonoid memiliki ⁵ gugus flavon, flavanon, katekin, dan antosianin dalam struktur molekul yang memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid berfungsi sebagai antiosteoporosis, antitumor, antivirus, dan antitrombogenik. Konsumsi senyawa flavonoid dari makanan dapat meningkatkan kesehatan. Flavonoid efektif dalam meningkatkan metabolisme energi dengan cara ²⁵ menghambat sistem respirasi menggunakan energi yang cukup besar untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul (Das *et al.*, 2014).

Aktivitas antibakteri tanin ⁴ dengan kemampuannya untuk menghambat sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan menghambat transportasi protein di dalam sel. Tanin bekerja dengan mengeluarkan polipeptida dari dinding sel bakteri yang mengganggu sintesis dinding sel. Akibat gangguan tekanan osmotik dan fisik, sel bakteri mengalami kematian sel (Amin *et al.*, 2019).

Fenol memiliki kemampuan merusak komponen peptida pada bakteri Gram positif seperti MRSA. Mekanisme kerja fenol adalah dengan mencegah ikatan asam N-asetilmuramat dalam struktur mukopeptida yang berpengaruh pada elastisitas dinding sel. Gangguan ³⁹ sintesis dinding sel bakteri menimbulkan pembentukan dinding sel yang tidak sempurna (Hasanah dan Widhiastuti, 2018).

Fenol memiliki kemampuan untuk menghancurkan lapisan luar bakteri serta melepaskan protein dari bagian dalam bakteri. Fenol berpengaruh pada protein, menurunkan permeabilitas membran bakteri, dan menyebabkan lisis pada membran sel. ¹⁵ Pada kadar yang lebih rendah, fenol memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks protein dengan fenol itu sendiri. Hal ini ²² diikuti oleh penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein. Fenol menginaktivasi sistem enzim penting dalam sel bakteri. (Gutierrez, 2022).

4 ²⁴ V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

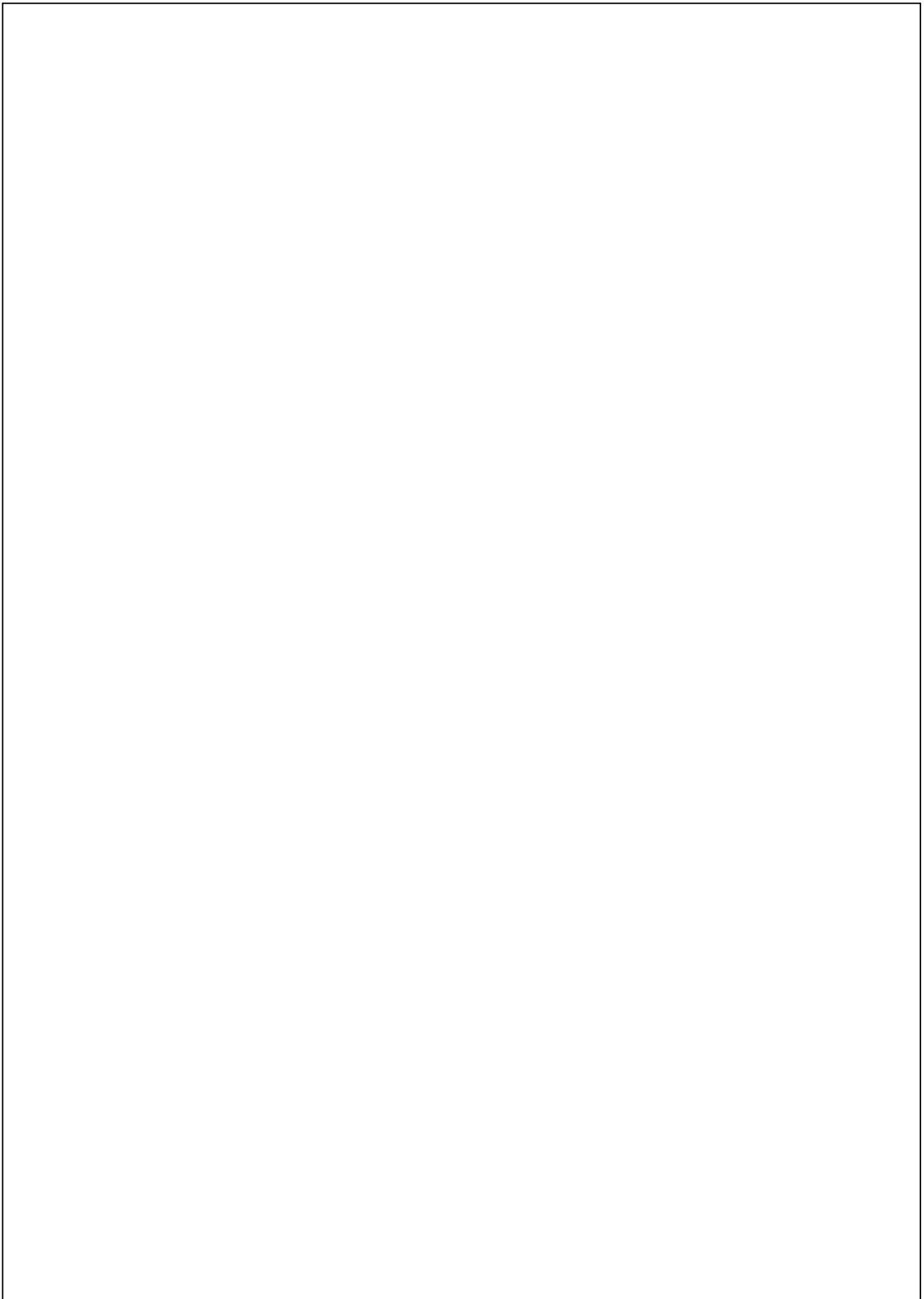
Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa:

1. Terdapat aktivitas antimikroba infusa daun berenuk terhadap MRSA dengan uji MIC.
2. Konsentrasi uji MIC infusa daun berenuk terhadap MRSA yaitu 32 μ L/mL.

²⁹ 5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah peneliti lakukan, saran yang diberikan yaitu:

1. ⁵⁰ Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas infusa daun berenuk dengan menggunakan konsentrasi dan teknik uji yang berbeda.
2. Faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan pengujian yaitu proses pembuatan infusa dan uji antibakteri. Pembuatan infusa dimulai dari pengeringan bahan hingga diperoleh sediaan infusa. Uji antibakteri harus memperhatikan sterilitas alat, bahan, dan ruangan ketika melakukan penelitian agar meminimalisir terjadinya kesalahan dalam penelitian.



ORIGINALITY REPORT

28%

SIMILARITY INDEX

26%

INTERNET SOURCES

9%

PUBLICATIONS

7%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	id.scribd.com Internet Source	6%
2	erepository.uwks.ac.id Internet Source	2%
3	core.ac.uk Internet Source	2%
4	repository.setiabudi.ac.id Internet Source	1%
5	repository.ub.ac.id Internet Source	1%
6	repository.unimus.ac.id Internet Source	1%
7	123dok.com Internet Source	1%
8	repository.unej.ac.id Internet Source	1%
9	media.neliti.com Internet Source	1%

10	dergipark.org.tr Internet Source	1 %
11	garuda.kemdikbud.go.id Internet Source	1 %
12	digilib.ui.ac.id Internet Source	1 %
13	pdfslide.net Internet Source	1 %
14	Salome Dini, Qihe Chen, Faezeh Fatemi, Younes Asri. "Phytochemical and biological activities of some Iranian medicinal plants", <i>Pharmaceutical Biology</i> , 2022 Publication	<1 %
15	text-id.123dok.com Internet Source	<1 %
16	id.123dok.com Internet Source	<1 %
17	Serly D. S. Toding, Herny E. I. Simbala, Deby A. Mpila. "UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN KACAPIRING (<i>Gardenia augusta</i>) TERHADAP BAKTERI <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> DAN <i>Salmonella thypi</i> ", <i>PHARMACON</i> , 2020 Publication	<1 %
18	Finda Rizky Putri Prabowo, Ikhsan Mujahid, Arif Mulyanto. "Potensi Air Kelapa Muda Dan	<1 %

Air Kelapa Obat Terhadap Pertumbuhan
Bakteri Methicillin-Resistant Staphylococcus
Aureus (MRSA) Dengan Metode Dilusi", Jurnal
Analisis Medika Biosains (JAMBS), 2021

Publication

19

www.pstube.us

Internet Source

<1 %

20

www.slideshare.net

Internet Source

<1 %

21

eprints.umm.ac.id

Internet Source

<1 %

22

repository.usd.ac.id

Internet Source

<1 %

23

digilib.unila.ac.id

Internet Source

<1 %

24

repository.umsu.ac.id

Internet Source

<1 %

25

research-report.umm.ac.id

Internet Source

<1 %

26

ejournal2.litbang.kemkes.go.id

Internet Source

<1 %

27

repository.radenintan.ac.id

Internet Source

<1 %

28

repository.unfari.ac.id

Internet Source

<1 %

29	scholar.unand.ac.id Internet Source	<1 %
30	www.coursehero.com Internet Source	<1 %
31	eprints.ums.ac.id Internet Source	<1 %
32	eprints.unsri.ac.id Internet Source	<1 %
33	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	<1 %
34	Irpan Palungan, Robert Antonius Bara, Remy Emile Petrus Mangindaan, Kurniati Kemer, Stenly Wullur, Unstain N. W. J. Rembet. "Antibacterial Activity of Stylissa carteri Sponge Extract from Manado Bay, North Sulawesi", Jurnal Ilmiah PLATAX, 2022 Publication	<1 %
35	deajushou.blogspot.com Internet Source	<1 %
36	docplayer.info Internet Source	<1 %
37	fr.scribd.com Internet Source	<1 %
38	repository.uinjkt.ac.id Internet Source	<1 %

39 Jean Tairas. "Uji efek antibakteri tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap bakteri saluran akar gigi", e-GIGI, 2013 $<1\%$
Publication

40 Nur Alfian Muhammad Zen, Edwin De Queljoe, Marina Singkoh. "Uji Bioaktivitas Ekstrak *Padina australis* Dari Pesisir Pantai Molas Sulawesi Utara Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2015 $<1\%$
Publication

41 digilib.unhas.ac.id $<1\%$
Internet Source

42 repository.uin-malang.ac.id $<1\%$
Internet Source

43 www.acgpubs.org $<1\%$
Internet Source

44 www.researchgate.net $<1\%$
Internet Source

45 docobook.com $<1\%$
Internet Source

46 es.scribd.com $<1\%$
Internet Source

47 pdffox.com $<1\%$
Internet Source

48

tips-obat-tradisional.blogspot.com

Internet Source

<1 %

49

Destik Wulandari, Isna Jati Asih. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) terhadap *Klebsiella pneumoniae*", *Jurnal Farmasi Indonesia*, 2019

Publication

<1 %

50

idoc.pub

Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

SKRIPSI_20820101_AINO RASATI MEININ

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12

PAGE 13

PAGE 14

PAGE 15

PAGE 16

PAGE 17

PAGE 18

PAGE 19

PAGE 20

PAGE 21

PAGE 22

PAGE 23

PAGE 24

PAGE 25

PAGE 26

PAGE 27

PAGE 28

PAGE 29
