

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KELUAK (*Pangium edule*) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh:
RICKO ARIE JATMIKO
NIM. 16910024



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KELUAK

(Pangium edule) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)

Oleh:
RICKO ARIE JATMIKO
NIM. 16910024

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KELUAK

(Pangium edule) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh:

RICKO ARIE JATMIKO

NIM. 16910024

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 13 Juni 2020

Pembimbing I,

Pembimbing II,

dr. Alvi Miliana, M. Biomed.
NIP. 19820404 201101 2 011

dr. Christyaji Indradmodjo
NIP. 19770611 200912 1 004

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed
NIP. 19831024 201101 2 007

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KELUAK

(*Pangium edule*) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*

SKRIPSI

Oleh:

RICKO ARIE JATMIKO

NIM. 16910024

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)
Tangga: 13 Juni 2020

Penguji Utama	<u>dr. Avin Ainur Fitrianiingsih,</u> <u>M.Biomed</u> NIP. 19800203 200912 2 002	
Ketua Penguji	<u>dr. Christyaji Indradmodjo</u> NIP. 19770611 200912 1 004	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Alvi Miliana, M. Biomed.</u> NIP. 19820404 201101 2 011	
Penguji Kajian Integrasi Islam	<u>dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed</u> NIP. 19831024 201101 2 007	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed
NIP. 19831024 201101 2 007

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya tercinta, Ibu Rutik Eko Prasetyowati dan Bapak Anam Widodo
2. Kakek saya tercinta Wadi Mangku Siswo dan Nenek saya tercinta Kasiati dan Djeni.
3. Saudara kembar saya Ricky Arie Jatmiko, paman saya Anang Eko Purnomo dan Dedy Purnomo.
4. Guru saya Alm. Riyanto yang telah memberi ilmu agama dan kehidupan
5. Guru-guru sejak saya taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah memberikan ilmu dengan ikhlas dan bermanfaat bagi saya
6. Teman-teman saya yang selalu mendukung dan mendoakan, Rido Angger Kurniawan, Wahyu (Ucup), Wawan Singgih Prasetyo, Taufik Basuki Putra dan teman yang telah berjasa untukku
7. Teman seperjuangan Neoantus yang selalu bersama mulai dari awal masuk ke Kedokteran
8. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ricko Arie Jatmiko

NIM :16910024

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Batu, 13 Juni 2020

Yang membuat pernyataan,



Ricko Arie Jatmiko

NIM. 16910024

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. DR. H. Abd. Haris, M. Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp. BP, RE(K) dan dilanjutkan oleh Prof. Dr. dr. Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes, Sp.Rad (K), selaku dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.
3. dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. dr. Yuliono Trika Nur Hasan, Sp.M selaku dosen pembimbing akademik, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga
5. dr. Alvi Milliana, M. Biomed. selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
6. dr. Christyaji Indradmodjo, selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.

7. dr. Avin Ainur Fitriyaningsih, M.Biomed, selaku dosen penguji skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
8. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Batu,

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	4
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi	4
1.4.3 Manfaat Bagi Pemangku Kepentingan	4
1.4.4 Manfaat Bagi Masyarakat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6

2.1 <i>Salmonella typhi</i>	6
2.1.1 Taksonomi	6
2.1.2 Morfologi	6
2.1.3 Identifikasi pada Media Agar.....	7
2.1.4 Patogenesis.....	9
2.1.5 Resistensi Antibiotik.....	11
2.1.5.1 Resisten Dimediasi Plasmid	12
2.1.5.2 Resistensi Dimediasi Kromosom	14
2.2 Demam Tifoid.....	15
2.2.1 Definisi.....	15
2.2.2 Epidemiologi.....	16
2.2.3 Faktor Risiko.....	17
2.2.4 Manifestasi Klinis	17
2.2.5 Pemeriksaan Penunjang	19
2.1.5.1 Kultur Bakteri	19
2.1.5.2 Tes Widal	20
2.2.6 Kriteria Diagnosis	21
2.2.7 Tatalaksana	22
2.2.7.1 Tatalaksana Etiologi	22
2.2.7.2 Tatalaksana Klinis	23
2.2.7.3 Tatalaksana Suportif	24
2.2.8 Prognosis.....	25
2.3 Tanaman Keluak	26
2.3.1 Taksonomi <i>Pangium edule</i>	26

2.3.2	Habitat Alami	26
2.3.3	Morfologi	27
2.3.4	Manfaat	28
2.3.5	Kandungan Kimia Biji Keluak.....	28
2.3.5.1	Flavonoid	29
2.3.5.2	Saponin	30
2.3.5.3	Alkoloid	31
2.4	Metode Uji Antimikroba.....	31
2.4.1	Metode Difusi Cakram.....	31
2.4.2	Metode Dilusi.....	32
2.3.2.1	Metode Dilusi Cair	32
2.3.2.1	Metode Dilusi Padat	33
2.5	Ekstraksi	33
2.5.1	Ekstrak	33
2.5.2	Ekstraksi	34
2.5.2.1	Ekstraksi UAE.....	35
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS		36
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	36
3.2	Hipotesis Penelitian	37
BAB IV METODE PENELITIAN		38
4.1	Desain Penelitian	38
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	38
4.2.1	Tempat Penelitian	38
4.2.2	Waktu Penelitian	38

4.3 Sampel Penelitian.....	38
4.4 Identifikasi Variabel.....	39
4.5 Definisi Operasional	39
4.6 Alat dan Bahan.....	40
4.6.1 Alat.....	40
4.6.2 Bahan	40
4.7 Prosedur Penelitian	41
4.7.1 Sterilisasi Alat.....	41
4.7.2 Pembuatan Simplisia	41
4.7.3 Pembuatan Ekstrak Biji Keluak (<i>Pangium edule</i>)	41
4.7.4 Uji Fitokimia	42
4.7.5 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	44
4.7.6 Uji Aktivitas Antibakteri	44
4.7.6.1 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	44
4.7.6.2 Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	45
4.8 Alur Penelitian	46
4.9 Analisis Data.....	47
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	48
5.1 Hasil	48
5.1.1 Determinasi Tumbuhan <i>Pangium edule</i>	48
5.1.2 Hasil Ekstraksi <i>Pangium edule</i>	48
5.1.3 Hasil Uji Fitokimia	49
5.1.4 Hasil Pengamatan KHM dan KBM Ekstrak <i>Pangium edule</i> terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	49

5.1.4.1 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	50
5.1.4.2 Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	51
5.1.5 Analisis Data Statistik Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	52
5.1.5.1 Uji Normalitas.....	52
5.1.5.2 Uji Homogenitas	53
5.1.5.3 Uji Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Keluak (<i>Pangium edule</i>) sebagai AntiBakteri terhadap Konsentrasi Bunuh Minimum Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella typhi</i> Homogenitas	53
5.1.5.4 Uji Korelasi dengan spearman	56
5.2 Pembahasan	57
5.2.1 Hasil Uji Fitokimia	57
5.2.2 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	62
5.2.3 Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	65
5.3 Kajian Integrasi Islam dalam Uji Aktivitas Antibakteri Biji Keluak terhadap bakteri <i>Salmonella typhi</i>	67
5.4 Keterbatasan Peneliti	70
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	72
6.1 Kesimpulan	72
6.2 Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN-LAMPIRAN	80

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Antibiotik untuk Demam tifoid	22
Tabel 2.2 Kandungan Biji Keluak	29
Tabel 5.1 Uji Fitokimia	49
Tabel 5.2 Hasil dilusi tabung	50
Tabel 5.3 Jumlah Koloni dari Hasil Colony Counter	52
Tabel 5.4 Uji Kenormalan	52
Tabel 5.5 Uji Homogenitas	53
Tabel 5.6 Chi Square	54
Tabel 5.7 Analisis <i>Mann Whitney</i>	55
Tabel 5.8 Analisis <i>Spearman test</i>	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Salmonella typhi</i>	6
Gambar 2.2 Patogenesis <i>Salmonella typhi</i>	10
Gambar 2.3 Mekanisme resistensi terhadap antibiotik	12
Gambar 2.4 Pohon dan Biji Keluak	26
Gambar 5.1 Ekstrak <i>Pangium edule</i> yang telah di oven	48
Gambar 5.2 Hasil Dilusi Tabung	50
Gambar 5.3 Hasil colony counter	51
Gambar 5.4 Rata-Rata Kosentrasi Bunuh Minimum Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella typhi</i> Berdasarkan Pemberian Ekstrak Biji Keluak (<i>Pangium edule</i>)	56
Gambar 5.5 Reaksi Uji Wilstater	58
Gambar 5.6 Reaksi Uji Tanin dengan FeCl_3	58
Gambar 5.7 Reaksi Uji Saponin dengan Metode Forth	59
Gambar 5.8 Reaksi Senyawa Fenolik dengan FeCl_3	59
Gambar 5.9 Reaksi Uji Dragendorff	60
Gambar 5.10 Reaksi Terpenoid dengan Pereaksi Liebermann-Burchard.....	61
Gambar 5.11 Reaksi Steroid dengan Pereaksi Liebermann-Burchard.....	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tanaman	80
Lampiran 2 Sertifikat Hasil Uji Bakteri	81
Lampiran 3 Perhitungan Rendemen	82
Lampiran 4 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Pangium edule	82
Lampiran 5 Laporan Hasil Uji Fitokimia	84
Lampiran 6 Dokumentasi Hasil KHM	85
Lampiran 7 Dokumentasi Hasil KBM	86
Lampiran 8 Analisis Statistik	88
Lampiran 9 Surat Keterangan Etik	104

ABSTRAK

Jatmiko, Ricko Arie. 2020. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KELUAK (*Pangium edule*) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) dr. Alvi Miliana, M. Biomed (II) dr. Christyaji Indradmodjo

Demam tifoid sering terjadi di berbagai negara di dunia dan umumnya terjadi di negara dengan tingkat kebersihan rendah. Demam tifoid merupakan penyakit sistemik yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella typhi*. Terapi utama demam tifoid yaitu antibiotik. Tantangan penggunaan antibiotik sintesis pada saat ini adalah timbulnya efek samping resistensi. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah ekstrak biji keluak (*Pangium edule*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif jenis eksperimental dengan rancangan *true experimental post-test control design*. Metode yang digunakan pada penelitian ini menggunakan uji fitokimia secara kualitatif dan dilusi tabung. Penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi yaitu 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 mg/ml. Suspensi bakteri digunakan sebagai kontrol negatif dan ekstrak 100 mg/ml digunakan sebagai kontrol positif. Berdasarkan uji fitokimia menunjukkan bahwa biji keluak (*Pangium edule*) mengandung alkaloid dan terpenoid. Ekstrak biji keluak memiliki KHM pada konsentrasi 10 mg/ml dan KBM 30 mg/ml. Data KBM dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* (signifikansi $p = 0,000$) dan uji statistik *rank spearman* diketahui terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni bakteri ($p \text{ value} = 0,000$) dengan (koefisien korelasi = -0,990) hubungan antara kedua variabel sangat kuat. Kesimpulannya, biji keluak (*Pangium edule*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*.

Kata kunci: *Pangium edule*, Biji keluak, *Salmonella typhi*, Antibakteri

ABSTRACT

Jatmiko, Ricko Arie. 2020. ANALYSIS OF ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF KELUAK SEED EXTRACT (*Pangium edule*) ON BACTERIA *Salmonella typhi*. Thesis. Medical Study Program, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University. Supervisor: (I) dr. Alvi Miliana, M. Biomed (II) dr. Christyaji Indradmodjo

Typhoid fever often occurs in various countries in the world and generally occurs in countries with low levels of cleanliness. Typhoid fever is a systemic disease caused by *Salmonella typhi* bacterial infection. The main therapy for typhoid fever is antibiotics. The challenge of using synthetic antibiotics nowadays is the emergence of side effects of resistance. One of the plants that can be used as an antibacterial is extract of *keluak* seed (*Pangium edule*). This study aims to determine the antibacterial activity of *keluak* seed (*Pangium edule*) antibacterial extract on the growth of *Salmonella typhi*. This research is a quantitative type of experimental research with true experimental post-test control design). The method used in this study used a qualitative phytochemical test and dilution of the tube. This study uses 6 concentrations which are 5, 10, 15, 20, 25, and 30 mg/ml. Bacterial suspension was used as negative control and extract 100 mg/ml was used as positive control. Based on the phytochemical test show that the seeds of the *keluak* seed (*Pangium edule*) contain alkaloids and terpenoids. The extract of *keluak* seed seed has a MIC at a concentration of 10 mg/ml and MKC 30 mg/ml. MKC data were analyzed by the Kruskal-Wallis test (significance $p = 0,000$) with (coefficient correlation= -0,990) the relationship between the two variables is very strong. In conclusion, *keluak* seed (*Pangium edule*) seeds can inhibit the growth of *S. typhi* bacteria.

Keywords: *Pangium edule*, *Keluak* seed, *Salmonella typhi*, Antibacterial

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Demam tifoid sering terjadi di berbagai negara di dunia dan umumnya terjadi di negara dengan tingkat kebersihan rendah (Kasuku, 2017). Berdasarkan data WHO (*World Health Organisation*) insiden demam tifoid di seluruh dunia sekitar 11 sampai 21 juta jiwa per tahun dengan angka kematian mencapai 128.000 hingga 161.000 dan sebagian besar terjadi di Asia Selatan dan Asia Tenggara (WHO, 2018). Jumlah penderita demam tifoid di Indonesia mencapai 350-810 per 100.000 penduduk (Depkes RI, 2013). Berdasarkan data profil kesehatan Jawa Timur tahun 2012 demam tifoid merupakan salah satu dari 10 penyakit terbesar pada pasien rawat inap di rumah sakit pemerintah Jawa Timur pada tahun 2011 (Umah dan Wirjatmadi, 2014). Kota Malang adalah salah satu kota di wilayah Jawa Timur dengan prevalensi demam tifoid sebanyak 1,2% dari 10.996 sampel pada tahun 2007 berdasarkan data Dinas Kesehatan Jawa Timur tahun 2010 (Lailiyah *et al.*, 2018).

Demam tifoid merupakan penyakit sistemik yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella typhi* (Alba *et al.*, 2016). *Salmonella typhi* adalah bakteri batang Gram negatif, tidak berspora, bergerak dengan flagel, dan bersifat fakultatif anaerob (Riedel *et al.*, 2019). Gejala utama dari demam tifoid berupa demam dan malaise, tetapi dapat terjadi komplikasi yang gawat, seperti perdarahan usus atau perforasi, ensefalitis, infeksi pernapasan, dan metastasis abses (Brainard *et al.*, 2018)

Terapi utama demam tifoid yaitu antibiotik. Antibiotik yang sering digunakan dalam pengobatan modern saat ini adalah antibiotik sintetis yang diproduksi oleh industri obat-obatan. Tantangan penggunaan antibiotik sintetis pada saat ini adalah timbulnya efek samping resistensi (Utami, 2012). Suswati dan Juniarti (2011) menyatakan bahwa terjadi resistensi antibiotik kloramfenikol sebanyak 76,9% dan amoksisilin sebanyak 84,6% di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang sedangkan di RSUD Dr. Soetomo Surabaya terjadi resistensi seftriakson sefotaksim dan amoksisilin sebanyak 68,4% pada tahun 2008-2009. Oleh karena itu perlu alternatif lain untuk mengobati infeksi bakteri seperti penggunaan tanaman obat tradisional (Fitriyah *et al.*, 2013).

Indonesia terkenal sebagai negara pengguna tumbuhan obat terbesar di dunia. Pemanfaatan tanaman sebagai obat-obatan sejak berlangsung ribuan tahun yang lalu (LIPI Press, 2015). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat dan banyak dimanfaatkan masyarakat dalam kehidupan sehari – hari adalah keluak. Biji keluak telah tersebar di berbagai daerah di Indonesia. Masyarakat Indonesia memanfaatkan biji keluak sebagai bumbu penyedap masakan tradisional, minyak goreng, dan bahan pengawet makanan (Sari, 2015).

Heruwati *et al.*, (2009) menyatakan salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, salah satunya bakteri *Salmonella typhi* yang dihambat dengan dosis dalam dosis 10,11 mg/ml. Biji keluak memiliki kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri (Mamuaja dan Lumoindong, 2017). Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena

menyebabkan kerusakan membran sel bakteri dan dapat menghambat enzim DNA girase bakteri (Mufti *et al.*, 2017). Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri karena dapat berinteraksi dengan DNA bakteri (Ningrum *et al.*, 2017). Senyawa saponin berinteraksi dengan membran sel sehingga menyebabkan kerusakan membran sel (Dewi *et al.*, 2014)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri pada biji keluak sebagai obat alternatif infeksi *Salmonella typhi*. Hal ini merupakan salah satu contoh implementasi Al-Qur'an dalam Surat Asy-Syu'ara Ayat 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَىٰ لَأَرْضٍ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (القرآن سورة الشعراء: ٧)

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuhan-tumbuhan yang baik?” (Q.S. As-Syu'ara': 7).

Berdasarkan tafsir Qur'an surat As-Syu'ara ayat 7 telah dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan di bumi pasti memiliki manfaat, banyak tumbuhan yang telah dapat dimanfaatkan manusia sebagai bahan makanan untuk dikonsumsi dan mampu digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Kemenag, 2010).

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik melakukan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap *Salmonella typhi*.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Apakah terdapat aktivitas antibakteri ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1.3.1.1 Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui kandungan senyawa aktif ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) dengan uji fitokimia.

1.3.2.2 Mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

1.3.2.3 Mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

1.4.2 Manfaat Bagi Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat memberi sumbangsih keilmuan dan literatur khususnya dalam bidang mikrobiologi.

1.4.3 Manfaat Bagi Pemangku Kepentingan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk pembuatan obat alternatif yang memiliki efek terapeutik yang dapat dimanfaatkan untuk demam tifoid.

1.4.4 Manfaat Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi kepada masyarakat tentang manfaat biji keluak (*Pangium edule*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*.



BAB II

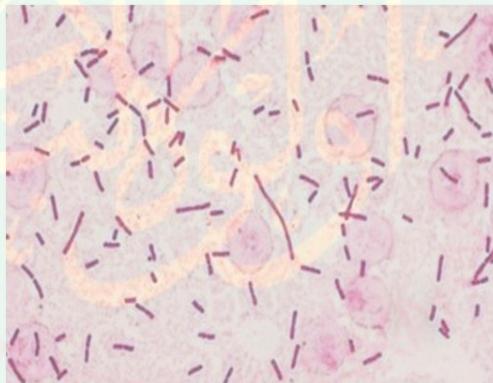
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Salmonella typhi*

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi *Salmonella typhi* menurut (Riedel *et al.*, 2019):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Ordo	: Gamma proteobacteria
Class	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>



Gambar 2.1 Pewarnan Gram Negatif *Salmonella typhi* (Hardanti *et al.*, 2018)

2.1.2 Morfologi

Salmonella typhi merupakan bakteri berbentuk batang Gram negatif, tidak berspora, memiliki flagel peritrik, berkembang biak dengan cara membelah diri, dan berukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm . *Salmonella typhi* tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif aerob, pada suhu 15-41°C dengan suhu optimal 37,5 °C dengan pH media 6-8. *Salmonella typhi* akan mati pada suhu

56 °C dalam keadaan kering, dapat tahan hidup di air selama 4 minggu, hidup subur pada medium yang mengandung garam empedu, dan tahan terhadap zat warna hijau brillian, senyawa Natrium tetrionat, dan Natrium deoksikolat (Riedel *et al.*, 2019).

Struktur antigen pada bakteri ini ada tiga yaitu antigen Vi (kapsul), H (flagel), dan O (somatik). Antigen O (somatik) tahan terhadap pemanasan hingga suhu 100°C, asam, dan alkohol. Antigen H (flagel) akan rusak pada pemanasan dengan suhu lebih dari 60°C, asam, dan alkohol. antigen Vi (kapsul) merupakan polimer polisakarida dengan sifat asam yang rusak pada pemanasan 60°C dengan penambahan asam dan fenol selama 1 jam, serta terdapat pada bagian luar bakteri (Riedel *et al.*, 2019).

2.1.3 Identifikasi Pada Media Agar

Media Salmonella shigella agar (SSA) adalah media selektif tinggi untuk mengisolasi kuman *Salmonella sp.* dan *Shigella sp.* dari sampel feses, urin, dan makanan. Bakteri *Salmonella sp.* akan tumbuh pada media SSA, berbentuk bulat, elevasinya cembung dengan pinggir rata, berwarna hitam, dan terdapat zona kuning diantara koloni hitam (Fatiqin *et al.*, 2018).

Media MacConkey yang merupakan media selektif dan media diferensial yang digunakan untuk mengisolasi bakteri basil enterik Gram negatif. Pada media MacConkey akan memperlihatkan koloni bulat, tepi tajam, permukaan halus, tidak berwarna atau buram, dan diameter koloni 1-3 mm. Media ini mengandung nutrisi dasar yang juga berisi kristal violet dan garam empedu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Mikroba yang mampu tumbuh pada media agar MacConkey mampu memfermentasi

laktosa dan menghasilkan produk sampingan berupa asam sehingga mengakibatkan penurunan pH di daerah sekitar koloni bakteri. Penurunan pH menyebabkan perubahan indikator warna merah yang merupakan kondisi pH normal menjadi warna kuning. Mikroba yang tidak dapat memfermentasi laktosa akan membentuk koloni yang tidak berwarna dan tembus cahaya (transparan). Gambaran *Salmonella typhi* pada pewarnaan Gram didapatkan hasil sel bakteri yang berbentuk batang dan berwarna merah, maka digolongkan ke dalam bakteri Gram negatif (Kundera *et al.*, 2014).

Uji biokimia pada bakteri *Salmonella sp.* meliputi uji indol, uji TSIA, uji *Simmon's citrate*, dan uji glukosa. Uji indol digunakan untuk mengetahui adanya enzim triptofanase pada bakteri yang dapat menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat. Asam amino triptofan merupakan asam amino yang lazim terdapat pada protein, sehingga asam amino ini dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi. Pada bakteri *Salmonella sp* positif dengan terbentuknya presipitat berwarna hitam karena memproduksi H_2S dan bersifat motil (Sari *et al.*, 2018).

Uji TSIA berfungsi untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan gas H_2S atau tidak. Media yang digunakan mempunyai dua bagian yaitu *slant* (miring) dan *butt* (tusuk). Reaksi spesifik untuk *salmonella sp.* pada TSIA adalah pada bagian *slant* berwarna merah/alkaline (reaksi basa), memproduksi H_2S (kehitaman pada agar hingga menutupi warna agar dasar, dengan atau tanpa memproduksi gas) (Sari *et al.*, 2018).

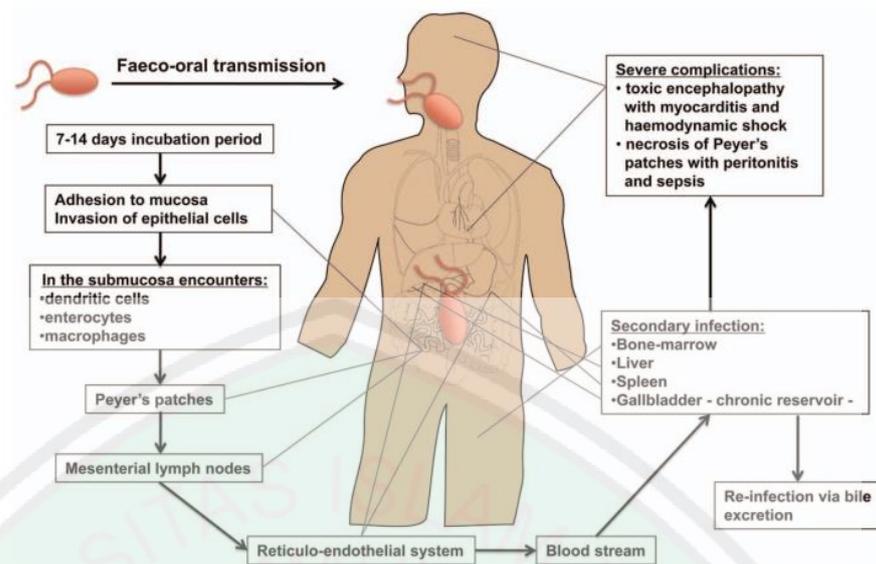
Uji *Simmon's citrate* bertujuan untuk menentukan apakah bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri yang dapat

menggunakan sitrat akan menggunakan garam amonium dan menghasilkan amonia, sehingga asam akan dihilangkan dari medium dan menyebabkan peningkatan pH. Peningkatan pH ini yang akan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. *Salmonella sp* positif menggunakan natrium sitrat (Fatiqin *et al.*, 2018).

Uji Glukosa *Salmonella sp.* tidak mampu memfermentasikan laktosa melainkan hanya glukosa saja. Ditandai dengan perubahan warna media dari biru menjadi kuning, artinya bakteri ini membentuk asam dari fermentasi glukosa. *Salmonella sp* dalam uji katalase positif, sedangkan oksidase negatif (Sari *et al.*, 2018).

2.1.4 Patogenesis

Bakteri *Salmonella typhi* masuk kedalam tubuh manusia secara *fecal oral* bersama minuman atau makanan yang terkontaminasi (Soedarmo *et al.*, 2015). Bakteri *Salmonella typhi* bersifat infeksius pada manusia jika memiliki jumlah antara 1.000 dan 1 juta organisme (Chowdhury *et al.*, 2014). *Salmonella typhi* yang masuk ke lambung akan mengaktifkan respon toleransi asam, bakteri memiliki fungsi homeostatis pH yang dapat diinduksi untuk mempertahankan pH intraseluler pada nilai yang lebih tinggi daripada lingkungan ekstraseluler (Fabrega dan Vila, 2013).



Gambar 2.2 Patogenesis *Salmonella typhi* (De Jong *et al.*, 2012)

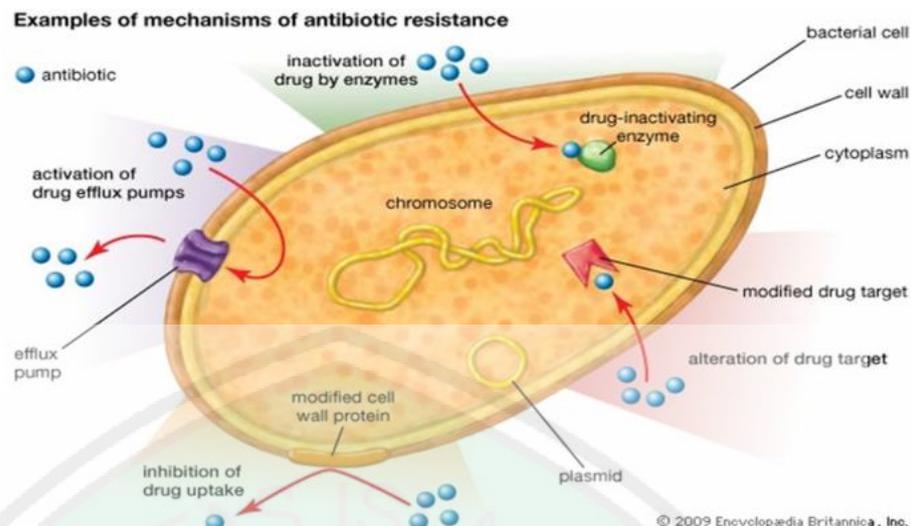
Bakteri di usus halus akan menempel pada sel mukosa dan kemudian menyerang mukosa. Mereka dengan cepat menembus epitel mukosa melalui sel-sel mikrofold atau enterosit dan mencapai di lamina propria. *Salmonella typhi* berinternalisasi pada *peyer's patch* yang dilapisi oleh sel-sel M (*Microfold*). *Salmonella typhi* mampu mentransfer protein bakteri ke sel M, protein *Salmonella pathogenicity islands* (SPI) mengkodekan untuk *type III secretion system* (T3SS), protein multi-channel yang memungkinkan *Salmonella typhi* untuk menyuntikkan efekturnya melintasi membran sel epitel usus ke dalam sitoplasma pejamu. Efektor bakteri kemudian mengaktifkan jalur transduksi sinyal mengaktifkan sel *Rho GTPases* pejamu memicu rekonstruksi sitoskeleton aktin sel inang memasukkan bakteri ke fagosom sehingga terbentuk *Salmonella-containing vacuoles* (SCVs). *Salmonella typhi* melakukan replikasi di dalam SCV (Eng *et al.*, 2015). Sebagian kecil dari SCV ini *transcytose* ke membran basolateral setelah melintasi epitel usus, *Salmonella* ditelan oleh fagosit. Tiga jenis fagosit dilaporkan berinteraksi dengan bakteri *Salmonella*

typhi yaitu neutrofil, monosit inflamasi yang berdiferensiasi menjadi makrofag, dan sel dendritik, jenis monosit lain yang berfungsi sebagai sel penyaji antigen. Dua tipe sel pertama akan diambil dari darah sebagai respons terhadap sinyal-sinyal inflamasi (Fabrega dan Vila, 2013)

Setelah itu melalui saluran limfe mesenterik, *Salmonella typhi* masuk secara sistemik ke aliran darah (bakteremia ke-1) lalu mencapai *Reticuloendotelial System* (RES) di organ hati dan limpa serta jaringan tubuh. *Salmonella typhi* bermultiplikasi dalam sel fagosit mononuklear pada folikel limfe usus halus, kelenjar limfe mesenterika, hepar, dan limpa. Saat inkubasi selesai, *Salmonella typhi* akan keluar melalui duktus torasikus ke sirkulasi sistemik (bakteremia ke-2) hingga mencapai organ tubuh. Gejala infeksi yang muncul ditentukan oleh virulensi dan jumlah *Salmonella typhi* serta respon imun manusia yang terinfeksi (Soedarmo *et al.*, 2015)

2.1.5 Resistensi Antibiotik

Resistensi antibiotik telah terjadi saat antibiotik digunakan untuk mengobati infeksi. Kegagalan pengobatan dini dengan antibiotik tidak menjadi awal masalah klinis yang signifikan karena kelas agen lain dengan target seluler yang berbeda tersedia. Masalah utama di klinik saat ini adalah munculnya resistensi multi-obat, yaitu resistensi terhadap beberapa jenis agen antimikroba (Pratiwi, 2017).



Gambar 2.3 Mekanisme resistensi terhadap antibiotik (Ugboko and De, 2014).

2.1.5.1 Resistensi Dimediasi Plasmid

Resistensi antibiotik pada *Salmonella typhi* sering dimediasi oleh plasmid. Plasmid dari *incompatibility group* (Inc) HII adalah vektor penting dari resistensi antibiotik pada *Salmonella typhi*. Resistensi plasmid sering menjadi kode untuk enzim yang menghancurkan atau memodifikasi obat misalnya hidrolisis penisilin atau asetilasi kloramfenikol dan obat aminoglikosida. Gen yang terkait dengan plasmid telah terlibat dalam resistensi terhadap aminoglikosida, kloramfenikol, penisilin, sefalosporin, eritromisin, tetrasiklin, sulfonamid, dan lainnya (Saragih and Purba, 2018).

Mekanisme resistensi obat biasanya dimediasi oleh R plasmid melibatkan:

a. Inaktivasi obat

Inaktivasi obat adalah penyebab umum resistensi yang menghancurkan atau menonaktifkan agen antimikroba. Bakteri patogen menahan serangan dengan menonaktifkan obat melalui modifikasi kimia. Salah satu enzim jenis

ini adalah β -laktamase. Beberapa β -laktamase ada di berbagai bakteri. Salah satu contoh yang paling dikenal adalah hidrolisis cincin β -laktam dari Penicillin oleh enzim penicillinase. Mereka mampu memecahkan cincin β -laktam dari penisilin dan beberapa sefalosporin. Strain awal *S.typhi* yang kebal antibiotik membawa *chloramphenicol acetyltransferase* tipe I yang mengkode enzim yang menonaktifkan kloramfenikol melalui asetilasi (Bandyopadhyay *et al.*, 2019).

Kloramfenikol mengandung dua gugus hidroksil yang dapat diasetilasi dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh enzim kloramfenikol asetiltransferase dengan asetil KoA sebagai donor. Aminoglikosida dapat dimodifikasi dan dinonaktifkan dengan beberapa cara. Acetyltransferase mengkatalisis asetilasi gugus amino. Beberapa enzim pengubah aminoglikosida mengkatalisis penambahan gugus hidroksil dari fosfat (fosfotransferase) atau gugus adenil (adenyltransferase) (Ugboko and De, 2014).

b) Mengurangi permeabilitas membran

Mekanisme pengurangan permeabilitas obat. Mekanisme ini mencegah akses agen antimikroba ke target obat intraselulernya, sehingga memberikan resistensi antimikroba. Saluran porin adalah contoh terkenal yang ditemukan di membran luar bakteri Gram negatif. Bakteri mungkin tidak diatur atau dianggap rusak untuk mengurangi aktivitas permeabilitas bakteri sehingga memberikan resistensi terhadap aminoglikosida, β -laktam, fluoroquinolon, dan kloramfenikol (Bandyopadhyay *et al.*, 2019)

c) Modifikasi tempat target

Resistensi muncul ketika enzim target atau struktur seluler patogen dimodifikasi sehingga tidak lagi rentan terhadap obat. Mekanisme ini ditemukan pada *S. typhi* dan bakteri resisten sulfonamide lainnya. Organisme ini telah mengembangkan enzim yang memiliki afinitas sangat tinggi untuk asam *p-aminobenzoat* (PABA) dan afinitas yang sangat rendah untuk sulfonamide. Akibatnya, bahkan di hadapan sulfonamida enzim bekerja cukup baik untuk memungkinkan bakteri tetap hidup (Ugboko and De, 2014).

d) Ekstrusi atau penghabisan antibiotik secara cepat

Mekanisme resistensi ini bekerja dengan memompa obat keluar dari sel setelah masuk. Beberapa patogen memiliki *translocate* membran plasma, sering disebut pompa eflux, yang mengeluarkan obat-obatan. Karena mereka relatif tidak spesifik dan dapat memompa banyak obat yang berbeda termasuk kuinolon, protein transpor ini sering disebut pompa multidrug resistensi (MDR). Banyak antiporter obat/proton yaitu proton masuk ke dalam sel saat obat keluar (Willey *et al.*, 2013)

Resistensi terhadap sulfonamid dimediasi oleh sistem transpor plasmid yang secara aktif mengeksport obat keluar dari sel. Banyak gen seperti *β -laktamase* yang dimediasi plasmid, gen resistansi tetrasiklin, dan enzim pengubah aminoglikosida diorganisasikan pada transposon (Ugboko and De, 2014).

2.1.5.2 Resistensi Dimediasi Kromosom

Resistensi kromosom telah dikaitkan dengan mutasi pada gen yang mengkode target obat atau sistem transportasi dalam membran yang

mengontrol penyerapan obat. Frekuensi mutasi spontan biasanya berkisar antara 10^{-7} hingga 10^{-9} yang jauh lebih rendah daripada frekuensi perolehan resistensi plasmid. Oleh karena itu, resistensi kromosom kurang dari masalah klinis daripada resistensi yang dimediasi oleh plasmid (Ugboko and De, 2014).

Fenomena resistensi obat yang dimediasi kromosom terhadap fluoroquinolon telah dilaporkan baru-baru ini sebagai akibat dari tekanan selektif pada populasi bakteri karena penggunaannya yang tidak terkontrol. Ini telah dikaitkan dengan mutasi titik tunggal di wilayah penentu resistensi kuinolon (QRDR) dari gen topoisomerase *gyrA* yang mengkode DNA gyrase (Zaki and Karande, 2011).

Resistensi terhadap trimethoprim terutama disebabkan oleh mutasi pada gen kromosom yang mengkode dihydrofolate reductase, enzim yang mengurangi dihydrofolate menjadi tetrahydrofolate. Resistensi terhadap sulfonamida juga telah ditemukan dimediasi oleh mutasi kromosom dalam pengkodean gen untuk enzim target *dihydropteroate synthetase* yang mengurangi ikatan afinitas obat (Ugboko and De, 2014).

2.2 Demam Tifoid

2.2.1 Definisi

Demam tifoid adalah penyakit sistemik yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella typhi* (Alba *et al.*, 2016). Manifestasi klinis demam tifoid bervariasi dari penyakit ringan dengan demam ringan, sakit kepala, kelelahan, malaise, kehilangan nafsu makan, batuk, sembelit, ruam kulit atau bintik-bintik mawar, komplikasi fatal seperti perforasi usus, perdarahan gastrointestinal, ensefalitis, dan neuritis kranial. Kasus demam tifoid dapat dikonfirmasi dengan

demam (suhu aksila $\geq 38^{\circ}\text{C}$) selama setidaknya 3 hari dengan kultur darah positif *Salmonella typhi* yang dikonfirmasi laboratorium (Habte *et al.*, 2018).

2.2.2 Epidemiologi

Demam tifoid sering terjadi di berbagai negara di dunia dan umumnya terjadi di negara dengan tingkat kebersihan rendah (Kasuku, 2017). Berdasarkan data WHO (*World Health Organisation*) insiden demam tifoid di seluruh dunia sekitar 11 sampai 21 juta jiwa per tahun dengan angka kematian akibat demam tifoid mencapai 128.000 hingga 161.000 dan kebanyakan terjadi di Asia Selatan/Tenggara dan Afrika sub-Sahara (WHO, 2018). Jumlah penderita demam tifoid di Indonesia mencapai 350-810 per 100.000 penduduk (Rahmasari dan Lestari, 2016). Berdasarkan data profil kesehatan Jawa Timur tahun 2012. Demam tifoid merupakan salah satu dari 10 penyakit terbesar pada pasien rawat inap di rumah sakit pemerintah Jawa Timur pada tahun 2011 (Umah dan Wirjatmadi, 2014). Kota Malang adalah salah satu kota di wilayah Jawa Timur dengan prevalensi demam tifoid sebanyak 1,2% dari 10.996 sampel pada tahun 2007 berdasarkan data Dinas Kesehatan Jawa Timur tahun 2010 (Lailiyah *et al.*, 2018).

Kejadian demam tifoid sangat dipengaruhi oleh sumber dari air yang dikonsumsi dan makanan yang dikonsumsi faktor resiko lainnya seperti kepadatan penduduk, sanitasi yang buruk, tingkat kebersihan yang rendah, status sosial ekonomi yang rendah, dan kontak langsung dengan penderita demam tifoid (Wain *et al.*, 2015). Demam tifoid banyak terjadi pada dewasa muda dengan rentang usia 20-30 tahun dan pada anak – anak (Alba *et al.*, 2016).

2.2.3 Faktor Risiko

Faktor risiko demam tifoid menurut Ikatan Dokter Indonesia (2014) antara lain yaitu:

1. Kebersihan personal yang kurang baik, seperti jarang mencuci tangan sebelum makan dan setelah buang air besar, kondisi kuku jari tangan yang panjang dan kotor.
2. Kebersihan makanan dan minuman yang dikonsumsi kurang baik, misalnya makanan yang dicuci dengan air yang tidak bersih dan terkontaminasi, sayuran yang ditanam dengan diberi pupuk tinja manusia, dan makanan yang tercemar bakteri.
3. Sanitasi lingkungan yang buruk, seperti tidak tersedianya jamban sehat di suatu lingkungan.
4. Adanya wabah demam tifoid yang berada di lingkungan sekitar tempat tinggal sehari-hari.
5. Adanya karier demam tifoid di sekitar pasien.

2.2.4 Manifestasi Klinis

Demam tifoid adalah salah satu penyakit demam yang paling umum di negara berkembang. Demam tifoid memiliki masa inkubasi 7 hingga 14 hari, timbul demam dan malaise (Paul and Bandyopadhyay, 2017). Tingkat keparahan infeksi *Salmonella* pada manusia bervariasi tergantung pada serotipe yang terlibat dan status kesehatan inang manusia. Anak-anak di bawah usia 5 tahun, orang tua dan pasien dengan immunosupresi lebih rentan terhadap infeksi *Salmonella* daripada orang sehat. Hampir semua jenis *Salmonella* bersifat patogen karena mereka memiliki kemampuan untuk menyerang, mereplikasi,

dan bertahan hidup dalam sel inang manusia sehingga berpotensi penyakit yang fatal (Eng *et al.*, 2015).

Gejala umum yang sering terjadi pada penderita demam tifoid adalah demam yang terus meningkat pada minggu pertama serangan, lalu demam akan menetap atau *remiten* pada minggu kedua. Demam terjadi pada sore atau malam hari dan muncul secara tiba-tiba (Ardiaria, 2019). Manifestasi klinis penderita demam tifoid mulai dari ringan seperti demam tinggi, denyut jantung lemah, sakit kepala, malaise, dan myalgia, hingga berat seperti ketidaknyamanan perut dan komplikasi pada hati dan limfa yang terjadi hingga 10-14 hari. Manifestasi klinis penderita demam tifoid pada minggu pertama akan terjadi gejala demam, pusing, nyeri kepala, mual, muntah, rasa tidak nyaman pada perut, obstipasi atau diare, batuk, serta epitaksis (Sudoyo *et al.*, 2009).

Gejala demam tifoid pada minggu kedua akan terjadi gejala demam yang lebih berat, serta terjadi peningkatan bertahap terutama pada sore dan malam hari, bradikardi, lidah berselaput, pembesaran hati dan limfa, serta gangguan mental seperti delirium, stupor, somnolen, atau psikosis (Yoga Pratama dan Lestari, 2015).

Demam tifoid dapat menimbulkan komplikasi. Komplikasi yang disebabkan oleh demam tifoid yang paling sering terjadi pada bagian intestinal berupa pendarahan, perforasi usus, paralitik ileus, dan pancreatitis, namun bisa menyebar ke bagian di luar intestinal seperti gangguan kardiovaskuler, anemia hemolitik, gangguan ginjal, hepatitis, hingga komplikasi neuropsikiatrik/tifoid toksik (Yoga Pratama dan Lestari, 2015).

2.2.5 Pemeriksaan Penunjang

Pemeriksaan darah perifer lengkap pada pasien demam tifoid sering ditemukan leukopenia, dapat pula terjadi kadar leukosit normal, atau leukositosis. Leukositosis dapat terjadi walaupun tanpa disertai infeksi sekunder. Pasien demam tifoid dapat ditemukan anemia ringan dan trombositopenia. Pemeriksaan hitung jenis leukosit pada pasien demam tifoid ditemukan aneosinofilia maupun limfopenia dan pada pemeriksaan laju endap darah terjadi peningkatan. Pemeriksaan SGOT dan SGPT seringkali meningkat tetapi akan kembali lagi setelah sembuh (Sudoyo *et al.*, 2009).

Isolasi bakteri penyebab pada pasien demam tifoid dengan kultur tetap menjadi standar emas untuk diagnosis. Biakan adalah cara yang paling dapat diandalkan untuk mendeteksi demam tifoid pada pasien yang terinfeksi dan biasanya dengan biakan darah, tetapi kultur sumsum tulang memiliki sensitivitas yang lebih besar. Namun, disebagian besar negara berkembang tes serologis yang dikenal dengan tes Widal paling umum diterapkan (The National Institute for Communicable Diseases, 2016).

2.2.5.1 Kultur Bakteri

Diagnosis definitif demam tifoid adalah isolasi *Salmonella typhi* dari darah yang steril. Sampel darah dapat dikultur pada media yang diperkaya (agar Darah) dan media diferensial (agar MacConkey). *Salmonella typhi* adalah fermentor non-laktosa yang menghasilkan koloni pucat halus pada media selektif. Volume darah yang dikumpulkan dari pasien adalah salah satu faktor kunci dalam isolasi *Salmonella typhi* (The National Institute for Communicable Diseases, 2016).

Salmonella typhi di isolasi dari kultur tinja/rektum yang lebih sering digunakan di sebagian besar laboratorium diagnostik menunjukkan adanya demam tifoid. Beberapa tantangan dalam penerapan pendekatan berbasis kultur dalam mengisolasi *Salmonella typhi* di negara-negara endemik termasuk waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan hasil kultur yang membutuhkan setidaknya 5-7 hari, sensitivitas rendah, kurangnya infrastruktur, dan pasokan tenaga kerja terlatih yang tidak memadai (The National Institute for Communicable Diseases, 2016).

2.2.5.2 Tes Widal

Tes Widal digunakan mendeteksi keberadaan antibodi *Salmonella* dalam serum pasien. Tes Widal mengukur antibodi aglutinating terhadap antigen O dan H dari *Salmonella typhi* dalam serum orang yang diduga mengalami demam tifoid. Pasien yang terinfeksi *Salmonella* menghasilkan antibodi terhadap antigen organisme. Reaksi aglutinasi menunjukkan hasil positif, sedangkan tidak ada aglutinasi menunjukkan hasil negatif. Pada prinsipnya, untuk melakukan uji Widal, sampel serum fase akut dan fase pemulihan harus dikumpulkan kira-kira 10 hari terpisah. Hasil positif ditentukan oleh peningkatan titer antibodi 4 kali lipat (The National Institute for Communicable Diseases, 2016).

Tes Widal sederhana, murah untuk dilakukan, dan banyak digunakan di negara berkembang meskipun memiliki nilai diagnostik yang terbatas. Tes widal di negara berkembang memiliki kelemahan karena kurangnya standarisasi reagen, spesifisitas yang buruk, dan interpretasi hasil yang tidak tepat. Interpretasi yang tepat dari hasil uji Widal mensyaratkan bahwa setiap

negara menentukan titer yang sesuai untuk mendiagnosis demam tifoid (The National Institute for Communicable Diseases, 2016).

2.2.6 Kriteria Diagnosis

Diagnosis demam tifoid tidak dapat dikonfirmasi berdasarkan gejala klinis saja, karena gejala demam tifoid sangat bervariasi, diagnosis bandingnya bisa sangat luas. Diagnosis definitif membutuhkan isolasi organisme penyebab dari jaringan. Biopsi punch dari *rose spots* pada kulit, atau kultur dari darah, urin, sumsum tulang atau feses seringkali memadai untuk diagnosis. Kultur sumsum tulang adalah yang paling sensitif, yaitu 55-90%, dan dapat menumbuhkan *Salmonella typhi* bahkan dalam 5 hari pengobatan antibiotik. Tes serologis yang sering digunakan untuk diagnosis demam tifoid adalah tes widal. Tes widal mengevaluasi aglutinasi antara antibodi dalam darah pasien ke antigen H (flagella) dan O (somatik) dari *S. typhi*. Tes ini terganggu oleh tingkat positif palsu yang tinggi karena antibodi dari penyakit menular lainnya seperti demam berdarah, malaria dan salmonella non-typus juga bereaksi silang dengan antigen *Salmonella typhi*. Imunisasi atau pajanan terhadap penyakit sebelumnya juga dapat menyebabkan positif palsu pada penyakit akut. Persiapan antigen komersial yang buruk menyebabkan positif palsu dan negatif palsu (Kasper *et al.*, 2012).

Negara di dunia yang menjadi endemik demam tifoid identifikasi PCR dari *Salmonella typhi* memecahkan banyak kekurangan kultur dan tes widal, tetapi pemeriksaan ini mahal dan membutuhkan teknologi canggih. Keterbatasan laboratorium menyebabkan pemeriksaan ini tidak bisa dilakukan sehingga praktisi harus memiliki indeks kecurigaan yang tinggi untuk penyakit

ini dan bergantung pada kumpulan gejala yang sudah dikenal sebelumnya (Mouton *et al.*, 2017).

2.2.7 Tatalaksana

2.2.7.1 Tatalaksana Etiologi

Pengobatan untuk etiologi demam tifoid yaitu dengan pemberian antibiotik. Antibiotik lini pertama untuk demam tifoid adalah kloramfenikol, ampicilin atau amoxilin (aman untuk penderita yang sedang hamil), dan trimetoprim-sulfametokazol. Bila pemberian antibiotik lini pertama tidak efektif, dapat diganti dengan antibiotik lini kedua yaitu Seftriakson (diberikan untuk dewasa dan anak), cefixim (efektif untuk anak), dan quinolone (Ikatan Dokter Indonesia, 2014).

Tabel 2.1 Antibiotik untuk demam tifoid

Antibiotik	Dosis	Keterangan
Ciprofloxacin	PO 5-7 hari Dewasa: 1 gram/hari dalam 2 dosis terbagi Anak-anak: 30 mg/kg/hari dalam 2 dosis terbagi	Tidak direkomendasikan pada anak-anak usia dibawah 15 tahun akan tetapi risiko yang mengancam jiwa dari typhoid melebihi risiko efek samping (alternatif 2, fully sensitive multidrug resistant)
Cefixime	PO 7 hari Anak-anak (lebih dari usia 3 bulan): 20 mg/kg/hari dalam 2 dosis terbagi	Dapat menjadi alternatif dari Ciprofloxacin bagi anak-anak di bawah 15 tahun
Amoksisilin	PO 14 hari Dewasa: 3 gram / hari dalam 3 dosis terbagi Anak-anak: 75-100 mg/kg/hari dalam 3 dosis terbagi	Jika tidak adanya resisten (<i>fully sensitive</i>)
Kloramfenikol	PO 10-14 hari (tergantung tingkat keparahan)	Jika tidak adanya resisten (pilihan utama, <i>fully sensitive</i>)

	Anak-anak 1-12 tahun: 100 mg/kg/hari dalam 3 dosis terbagi ≥ 13 tahun: 3 gram/ hari dalam 3 dosis terbagi	
Tiamfenikol	PO 5-6 hari 75 mg/kgBB/hari	Efek samping hematologis pada penggunaan tiamfenikol lebih jarang daripada kloramfenikol (alternatif 1)
Azitromisin	PO 6 hari 20 mg/kg/hari	Azitromisin efektif dan aman diberikan pada anak-anak dan dewasa yang menderita demam tifoid tanpa komplikasi
Antibiotic Ceftriaxone	IM/IV (3 menit) 10-14 hari (tergantung keparahan) Dewasa: 2-4 gram sehari sekali Anak-anak: 75 mg/kg sehari sekali	<i>Salmonella typhi</i> dengan cepat berkembang resisten terhadap kuinolon (<i>quinolone resistant</i>). Pada kasus ini gunakan ceftriaxone

Sumber: Review: *Manajemen Terapi Demam Tifoid: Kajian Terapi Farmakologis Dan Non Farmakologis*, (2018)

2.2.7.2 Tatalaksana klinis

Terapi simptomatik diberikan dengan pertimbangan untuk perbaikan keadaan umum penderita. Terapi yang diberikan berupa obat antiemetik (Ondasetron, Domperidon, dan Metoklopramid) untuk mengurangi keluhan gastrointestinal, antipiretik (Parasetamol dan Ibuprofen) untuk menurunkan demam, dan Vitamin (B kompleks, curcuma, vitamin B6 dan multivitamin) (Hasyul *et al.*, 2019).

2.2.7.3 Tatalaksana suportif

- a. Tirah baring

Tirah baring atau *bed rest* merupakan upaya yang dilakukan pada pasien dengan tujuan untuk mengurangi aktivitas pasien sehingga tidak memperburuk kondisinya. Selama *bed rest* aktivitas yang boleh dilakukan oleh pasien tergantung pada penyakit yang diderita pasien. Tirah baring (*bed rest*) direkomendasikan bagi pasien demam tifoid untuk mencegah komplikasi perforasi usus atau perdarahan usus. Mobilisasi harus dilakukan secara bertahap sesuai dengan pulihnya kekuatan pasien (Rahmasari dan Lestari, 2016).

b. Cairan

Penderita demam tifoid diharuskan untuk memperoleh cairan yang cukup. Cairan dapat diberikan melalui oral atau parenteral. Kriteria pemberian cairan secara parenteral yaitu apabila penderita mengalami sakit berat, terdapat komplikasi, penurunan kesadaran dan sulit makan. Dosis cairan parenteral yang diberikan disesuaikan dengan kebutuhan harian (tetesan rumatan). Cairan yang diberikan harus mengandung elektrolit dan kalori yang optimal (Rahmasari dan Lestari, 2016)

c. Diet lunak rendah serat

Pasien demam tifoid sering mengalami gangguan pencernaan sehingga perlu diberikan jenis makanan yang lunak dan rendah serat. Makanan yang diberikan harus dapat mencukupi kebutuhan cairan, kalori, protein, dan vitamin. Pemberian makanan rendah serat direkomendasikan karena makanan rendah serat akan memungkinkan meninggalkan sisa sehingga dapat membatasi volume feses yang terbentuk agar tidak merangsang saluran cerna. Pemberian diet lunak rendah serat bertujuan

untuk mengurangi resiko terjadinya komplikasi pendarahan saluran cerna atau perforasi usus, direkomendasikan pemberian bubur saring (Rahmasari dan Lestari, 2016)

d. Kontrol dan monitoring dalam perawatan

Kontrol dan monitoring suhu tubuh dan tanda-tanda vital (suhu, nadi, nafas dan tekanan darah) dan keseimbangan cairan (Ikatan Dokter Indonesia, 2014).

2.2.8 Prognosis

Prognosis pada pasien yang menderita demam tifoid tergantung ketepatan terapi, usia, keadaan kesehatan sebelumnya, dan ada atau tidaknya komplikasi. Kematian akibat demam tifoid yang tidak diobati sekitar 10% hingga 15%, paling tinggi terjadi pada anak di bawah usia satu tahun dan orang tua. Jika kondisi ini diobati dengan antimikroba yang efektif, angka kematian sekitar 1% hingga 2% (Stoesser *et al.*, 2013). Pemberian terapi antibiotik yang adekuat diberbagai negara maju berdampak pada angka mortalitas <1% sedangkan di negara berkembang terjadi keterlambatan diagnosis, perawatan, dan pengobatan yang dapat meningkatkan kemungkinan komplikasi dan waktu pemulihan yang menyebabkan angka mortalitasnya >10%. Kekambuhan demam tifoid dapat timbul beberapa kali. Individu yang mengeluarkan *Salmonella enterica serotype Typhi* lebih dari 3 bulan setelah infeksi umumnya menjadi karier kronis. Risiko terjadinya karier demam tifoid pada anak-anak rendah dan meningkat sesuai usia. Karier kronik dapat terjadi pada 1-5% dari seluruh pasien demam tifoid (Ikatan Dokter Anak Indonesia, 2008).

2.3 Tanaman Keluak

2.3.1 Taksonomi *Pangium edule*

Taksonomi tanaman keluak menurut Sari dan Suhartati (2015) adalah:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Parietales
Famili	: Flacourtiaceae
Genus	: Pangium
Spesies	: <i>Pangium edule</i> Reinw.



Gambar 2.4 Pohon dan Biji Keluak (Sari dan Suhartati, 2015)

Keluak banyak tersebar di seluruh wilayah Indonesia sehingga setiap daerah memiliki nama daerah sendiri antara lain kepayang (Jakarta), pakem atau pucung (Jawa), keluak atau hapesong (Batak), kayu ruba buah (Lampung), pacung atau picung (Sunda), dan kalowa (Sumbawa).

2.3.2 Habitat Alami

Pohon Keluak memiliki habitat alami untuk dapat tumbuh secara liar di hutan jati atau pinggir sungai, daerah perbukitan rendah, dan sering ditemukan tumbuh di daerah yang kering atau tergenang air (Samudry *et al.*, 2018). Pohon

keluak dapat tumbuh dengan baik pada daerah yang memiliki ketinggian 10-1.000 meter dari permukaan air laut pada tanah Podsolik, Aluvial, tanah liat yang miskin hara atau tanah berbatu (Heriyanto dan Subiandono, 2008). Pohon Keluak membutuhkan pH tanah 5.5 – 6.5 untuk dapat tumbuh dengan baik (Arini, 2012).

2.3.3 Morfologi

Pohon keluak memiliki tinggi bisa mencapai 40 meter dan diameter batangnya bisa mencapai 100 centimeter. Kulit kayu memiliki warna abu-abu kecokelatan atau kemerahan dan terkadang banyak celah yang mengeras sehingga teraba kasar. Pohon keluak memiliki daun tunggal dan berlekuk tiga pada pohon muda sedangkan pohon tua memiliki bentuk seperti jantung dan ujung daun meruncing. Daun bergerombol di ujung ranting dan panjangnya sekitar 20-60 cm dengan lebar 15-40 cm. Bunga pohon keluak memiliki warna cokelat kehijauan, tumbuh di ujung ranting (Heriyanto dan Subiandono, 2008).

Tumbuhan keluak berbuah sepanjang musim setelah berumur 15 tahun. Bentuk buah tidak teratur dengan bentuk bulat seperti telur dan ujungnya tumpul. Buahnya memiliki panjang sekitar 7-10 cm dengan diameter sekitar 10-25 cm. Kulit buah memiliki warna cokelat kemerahan dengan permukaan kasar. Buah keluak mengandung biji yang banyak sekitar 12-30 biji dan tersusun rapi pada poros buah. Bijinya memiliki ukuran besar, berbentuk limas, berwarna kelabu, dan keras. Pada biji memiliki inti biji (endosperm) yang mengandung banyak lemak. Buah yang masih segar memiliki endosperma yang berwarna putih, apabila buah sudah disimpan dalam waktu yang lama akan berubah warna menjadi kehitaman (Sari dan Suhartati, 2015).

2.3.4 Manfaat

Pohon keluak memiliki banyak manfaat dari batang, daun, dan bijinya. Batang keluak dapat dimanfaatkan sebagai bahan konstruksi dan dapat dimanfaatkan sebagai racun ikan. Daunnya memiliki manfaat sebagai pestisida alami karena memiliki kandungan ekstrak heksana yang menjadi antifeedant, selain itu juga sering dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan sayur dan juga berguna sebagai antiseptik (Nawir *et al.*, 2017). Biji sering dimanfaatkan sebagai bumbu masak dan dapat dijadikan menjadi berbagai bentuk makanan ringan, selain itu biji keluak juga dimanfaatkan sebagai bahan pengawet makanan dan obat tradisional (Sari dan Suhartati, 2015).

2.3.5 Kandungan Kimia Biji Keluak

Biji keluak mengandung vitamin C, Ion besi, dan β karoten yang berfungsi sebagai senyawa antioksidan sebagai antikanker serta senyawa flavonoid, saponin dan alkaloid yang bekerja sebagai antibakteri (Mamuaja dan Lumoindong, 2017). Biji keluak juga mengandung protein, lemak, kalsium, Vitamin B1, Phosphor, dan asam sianida (Sari dan Suhartati, 2015).

Tabel 2.2. Kandungan Biji Keluak

Kandungan	Jumlah (gram)
Air	51,0
Protein	10,0
Karbohidrat	13,5
Lemak/minyak	24,0
Kalsium (Ca)	0,040

Phosphor (P)	0,10
Besi (Fe)	0,002
Vitamin B1	0,00015
Vitamin C	0,03
Energi (Kal/gram)	2,73

Sumber: Pangi (*Pangium edule* reinw.) Sebagai Tanaman Serbaguna dan Sumber Pangan (2015)

2.3.5.1 Flavanoid

Flavonoid adalah salah satu kelas terbesar dari metabolit sekunder molekul kecil yang diproduksi diberbagai bagian tanaman. Flavonoid memiliki berbagai efek farmakologi dan kesehatan yang bermanfaat bagi manusia antara lain aktivitas antioksidan, kapasitas pembilasan radikal bebas, pencegahan penyakit jantung coroner, anti-peradangan, dan aktivitas antikanker. Mekanisme aktivitas antibakteri dari flavonoid yang ditemukan dalam tanaman menggunakan mekanisme yang berbeda dari obat konvensional dan dengan demikian dapat menjadi penting dalam peningkatan terapi antibakteri (Górniak *et al.*, 2019).

Senyawa flavonoid menjadi senyawa antibakteri karena menyebabkan koagulasi atau penggumpalan protein sel. Protein yang menggumpal mengalami denaturasi sehingga tidak berfungsi lagi. Flavonoid dalam konsentrasi tinggi menyebabkan kerusakan membran sel bakteri secara total dan mengendapkan protein sel, sedangkan dalam konsentrasi rendah menyebabkan kebocoran sel bakteri sehingga keluaranya metabolit penting dari sel bakteri. Flavonoid juga dapat menghambat enzim DNA girase bakteri. Enzim DNA girase berperan dalam membuka pilinan DNA untuk proses replikasi DNA. Enzim DNA gyrase yang terhambat maka proses replikasi DNA dan

transkripsi juga terhambat sehingga mengakibatkan kerusakan pada sel bakteri dan akhirnya kematian sel bakteri (Mufti *et al.*, 2017).

2.3.5.2 Saponin

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang mempunyai aglikon berupa triterpenoid dan steroid. Saponin memiliki berbagai kelompok glikosil yang terikat pada posisi C3, tetapi beberapa saponin memiliki dua rantai gula yang menempel pada posisi C3 dan C17. Struktur saponin ini menyebabkan saponin memiliki sifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami. Saponin memiliki berbagai macam sifat biologis seperti kemampuan hemolitik aktivitas antibakterial, antimolluska, aktivitas antivirus, aktivitas sitotoksik atau anti kanker, efek hipokolesterolemia, dan antiprotozoa (Yanuartono *et al.*, 2017).

Senyawa saponin berinteraksi dengan membran sel sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran sel berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel rapuh dan lisis. Rusaknya membran sel bakteri mengakibatkan membran plasma pecah, sel kehilangan sitoplasma, transport zat terganggu, dan metabolisme terhambat sehingga bakteri mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian sehingga menyebabkan sel bakteri lisis (Dewi *et al.*, 2014).

2.3.5.3 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen yang ditemukan dalam jaringan hewan dan tumbuhan. Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan terutama angiosperm. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman seperti

bunga, biji, daun, ranting, kulit batang, dan akar. Alkaloid biasanya ditemukan dalam kadar yang kecil sehingga harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (*Ningrum et al.*, 2017).

Senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri dikaitkan dengan kemampuan mereka berinteraksi dengan DNA sehingga menghambat sintesis DNA (Mawan dan Indriwati, 2018).

2.4 Metode Uji Antimikroba

2.4.1 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram adalah metode yang paling sering digunakan dimana cara kerja difusi cakram yaitu antibakteri fraksi yang akan diuji diserapkan pada kertas cakram dan ditempelkan pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri kemudian diinkubasi sampai terlihat zona hambat didaerah sekitar cakram. Penentuan kriteria kekuatan daya antibakteri yaitu 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang, dan 5 mm atau kurang berarti lemah (Novita, 2016).

Metode ini memiliki kekurangan yaitu area penghambatan pertumbuhan bakteri tidak berarti terjadi kematian bakteri, sehingga tidak dapat membedakan efek bakterisidal dan bakteristatik (*Haryati et al.*, 2017). Metode ini memiliki banyak keuntungan yaitu sederhana, cepat, mudah, dan biaya yang murah karena tidak memiliki alat khusus dan agen antimikroba yang sangat banyak (*Katrin et al.*, 2015).

2.4.2 Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang paling tepat dalam menentukan nilai KHM karena metode ini mampu untuk memperkirakan konsentrasi agen antimikroba yang diuji dalam agar (dilusi agar) atau media kaldu (macrodilution atau mikrodilusi). Baik metode kaldu atau dilusi yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroba *in vitro* secara kuantitatif terhadap bakteri dan jamur. Nilai KHM yang diperoleh didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang diuji yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diuji, dan biasanya dinyatakan dalam mg/mL atau mg/L (Balouiri *et al.*, 2016).

2.4.2.1 Metode Dilusi Cair

Broth mikro atau makro dilusi adalah salah satu metode pengujian aktivitas antimikroba yang paling dasar. Prosedur ini melakukan pembuatan pengenceran agen antimikroba dua kali lipat (misalnya 1, 2, 4, 8, 16, dan 32 mg/mL) dalam media pertumbuhan cair yang dituangkan dalam tabung yang berisi volume minimal 2 mL (macrodilution) atau dengan yang lebih kecil volume menggunakan plat mikrotitrasi 96-well (mikrodilusi). Kemudian, setiap tabung atau sumur diinokulasi dengan inokulum mikroba yang disiapkan dalam media yang sama setelah pengenceran suspensi mikroba standar yang disesuaikan dengan skala 0,5 McFarland. Setelah pencampuran dengan baik, tabung yang diinokulasi atau pelat mikrotitrasi 96- baik diinkubasi (kebanyakan tanpa agitasi) dalam kondisi yang sesuai tergantung pada mikroorganisme uji (Ouedrhiri *et al.*, 2015).

2.4.2.2 Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat melibatkan penggabungan berbagai konsentrasi yang diinginkan dari zat antimikroba ke dalam media agar (media agar cair) yang biasanya menggunakan pengenceran dua kali lipat berurutan diikuti dengan inokulasi inokulum mikroba yang ditentukan ke permukaan pelat agar. Teknik ini cocok untuk pengujian kerentanan antibakteri dan antijamur. Jika beberapa isolat diuji terhadap senyawa tunggal atau jika senyawa (atau ekstrak) yang diuji menutupi deteksi pertumbuhan mikroba dalam media cair dengan pewarnaannya, metode pengenceran agar sering lebih disukai daripada pengenceran kaldu untuk penentuan KHM. Metode dilusi padat sering direkomendasikan sebagai metode standar untuk organisme yang sulit seperti anaerob dan spesies *Helicobacter*. Metode dilusi padat juga telah digunakan untuk kombinasi obat-agen antijamur terhadap *Candida sp.*, *Aspergillus*, *Fusarium*, dan dermatofita (Balouiri *et al.*, 2016).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kental yang didapatkan dengan cara mengekstraksi senyawa aktif yang ada pada simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut, kemudian sebagian atau semua pelarut diuapkan dan menghasilkan massa atau serbuk yang tersisa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.5.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan produk alami yang diinginkan dari bahan baku. Metode ekstraksi meliputi ekstraksi pelarut, metode distilasi, ekstraksi penekanan, dan ekstraksi sublimasi

yang sesuai dengan prinsip ekstraksi. Ekstraksi pelarut adalah metode yang banyak dipakai untuk ekstraksi. Efisiensi ekstraksi dipengaruhi oleh berbagai hal diantaranya sifat-sifat pelarut ekstraksi, ukuran partikel bahan baku, rasio pelarut, suhu ekstraksi, dan durasi ekstraksi.

Ekstraksi produk alami berlangsung melalui tahap-tahap berikut:

- (1) Pelarut menembus ke dalam matriks padat
- (2) Zat terlarut larut dalam pelarut
- (3) Zat terlarut keluar dari matriks padat
- (4) Zat terlarut yang diekstrak dikumpulkan.

Metode ekstraksi konvensional, termasuk maserasi, perkolasi dan ekstraksi refuks, biasanya menggunakan pelarut organik dan membutuhkan volume besar pelarut dan waktu ekstraksi yang lama. Beberapa metode ekstraksi modern seperti ekstraksi *Supercritical fluid extraction* (SFC), *Pressurized liquid extraction* (PLE), dan *Microwave assisted extraction* (MAE) juga telah diterapkan dalam ekstraksi produk alami dan mereka menawarkan beberapa keuntungan seperti konsumsi pelarut organik yang lebih rendah, waktu ekstraksi lebih pendek, dan selektivitas lebih tinggi (Zhang *et al.*, 2018).

2.5.2.1 Ekstraksi UAE

Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) telah digunakan dalam beragam aplikasi teknologi mengekstrak senyawa bioaktif dari bahan tanaman. UAE menggunakan gelombang ultrasonografi dengan frekuensi 20-20.000 kHz digunakan untuk mengganggu dinding sel tanaman yang membantu meningkatkan kemampuan pelarut untuk menembus sel dan mendapatkan hasil ekstraksi yang lebih tinggi. UAE dapat menggunakan suhu operasi yang rendah

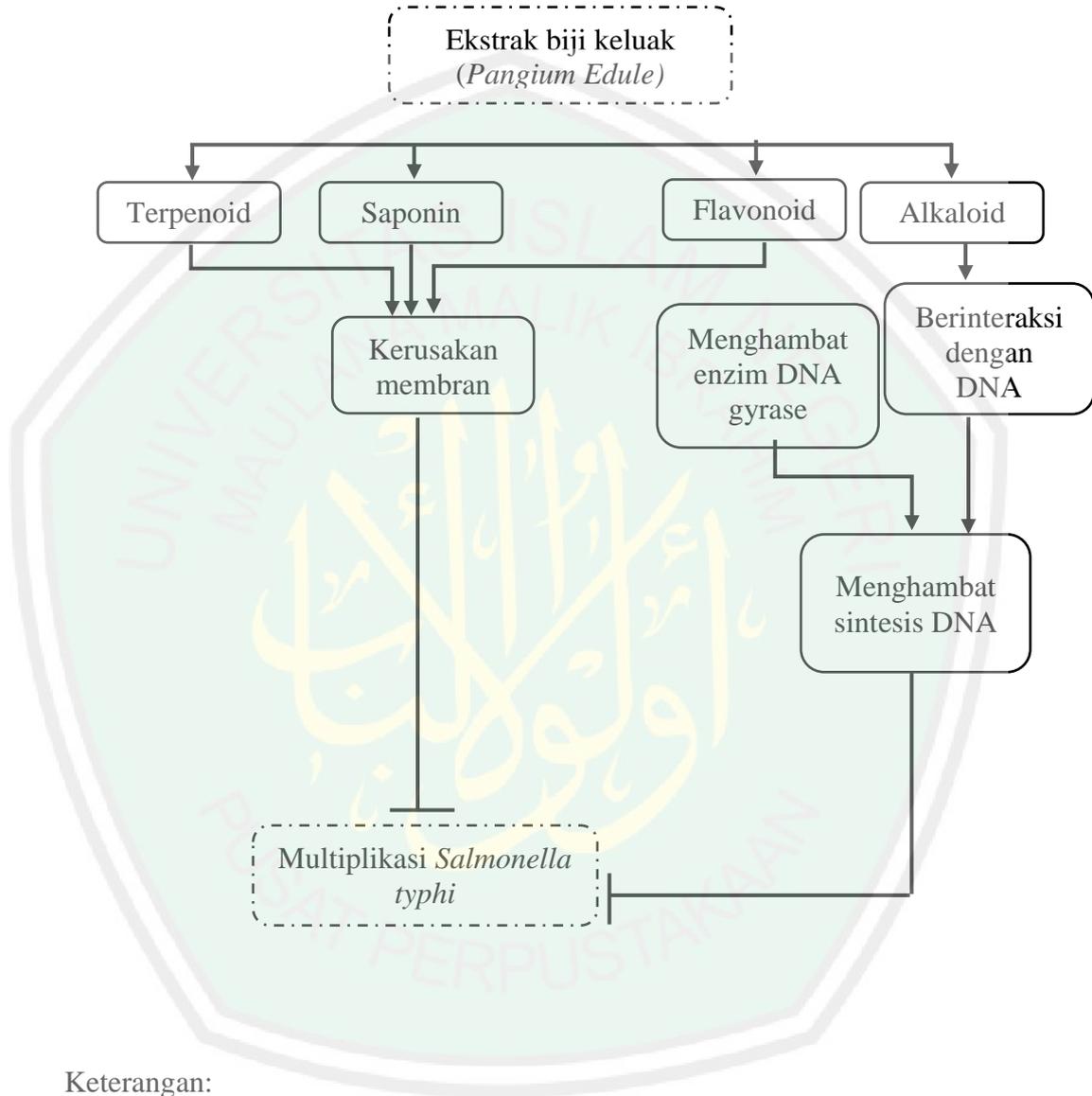
dalam prosesnya untuk menjaga kualitas ekstrak. UAE dikenal sebagai salah satu teknik ekstraksi yang paling mudah karena menggunakan peralatan laboratorium umum seperti rendaman ultrasonik. Teknik UAE membuat sampel hancur dicampur dengan pelarut yang sesuai dan ditempatkan kedalam rendaman ultrasonik, sementara suhu dan waktu ekstraksi dikontrol. UEA dari berbagai sampel organik dan anorganik dapat menggunakan berbagai pelarut. Peralatan umum yang digunakan dalam *Ultrasonic-Assisted Extraction* meliputi rendaman ultrasonik dan sistem probe ultrasonik (Altemimi *et al.*, 2017).



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

□ : Variabel yang tidak diteliti

□ : Variabel yang diteliti

↓ : Memicu

┬ : Menghambat

Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin yang bekerja sebagai antibakteri. Senyawa flavonoid menjadi senyawa antibakteri karena menyebabkan kerusakan membran sel bakteri sehingga keluarnya metabolit-metabolit penting dari sel bakteri. Flavonoid juga dapat menghambat enzim DNA girase bakteri. Enzim DNA girase berperan dalam membuka pilinan DNA untuk proses replikasi DNA. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis DNA. Senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri dikaitkan dengan kemampuan mereka berinteraksi dengan DNA, sehingga menghambat sintesis DNA. Senyawa saponin berinteraksi dengan membran sel sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran sel berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel rapuh dan lisis. Aktifitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik. Senyawa fenolik dan terpenoid memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik.

3.2 Hipotesis Penelitian

H0: Ekstrak biji keluak (*Pangium Edule*) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

H1: Ekstrak biji keluak (*Pangium Edule*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental di laboratorium dengan rancangan *true experimental post-test control design*, yang bertujuan untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia jurusan Farmasi, Laboratorium Mikrobiologi jurusan Pendidikan Dokter, dan Laboratorium Fitokimia jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2019 – April 2020.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari isolat murni Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Yogyakarta.

Banyaknya pengulangan sampel dihitung dengan menggunakan rumus Federer (Sastroasmoro, 2014):

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n : Jumlah pengulangan

t : Jumlah perlakuan

Pada penelitian ini digunakan 6 konsentrasi ekstrak dan 2 sebagai kontrol positif dan kontrol negatif maka didapatkan pengulangan:

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times (8-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times (7) \geq 15$$

$$(7n-7) \geq 15$$

$$(7n) \geq 22$$

$$n \geq 3,14 \approx 4$$

Dari hasil perhitungan di atas jadi pengulangan dilakukan dalam penelitian ini adalah sebanyak 4 kali.

4.4 Identifikasi Variabel

1. Variabel dependen: Variabel dependen pada penelitian ini adalah kekeruhan bakteri pada tabung dan jumlah koloni bakteri *Salmonella typhi*.
2. Variabel independen: Variabel independen pada penelitian ini adalah ekstrak biji keluak (*Pangium Edule*) dengan konsentrasi 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, dan 30 mg/ml.

4.5 Definisi Operasional

- a. *Salmonella typhi*: Bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Yogyakarta yang telah bersertifikat.
- b. Biji Keluak: Biji keluak (*Pangium edule*) yang digunakan adalah biji yang sudah kering dan berasal dari UPT. Materia Medica Batu yang telah terdeterminasi.
- c. Ekstrak biji keluak: Berupa cairan yang kental, diperoleh dari *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 96% yang kemudian di

Rotavapor dan akan menghasilkan pasta dan dilarutkan dengan pelarut aquades

- d. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM): Konsentrasi minimal ekstrak biji keluak yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi 24 jam yang dilakukan dengan metode dilusi tabung dan diketahui dengan melihat kekeruhan pada tabung.
- e. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM): Konsentrasi minimal Ekstrak biji keluak yang dapat membunuh bakteri sebesar 99% atau 100% pada media MHA yang diukur dengan menggunakan *colony counter*.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain cawan petri, tabung reaksi, bunsen, pinset, ose bulat, *rotary evaporator*, autoklaf, labu *erlenmeyer*, mikro pipet, eksikator, batang L, saringan, pipet tetes, gelas beaker, gelas ukur, neraca analitik, toples kaca, inkubator, oven, kertas cakram, batang pengaduk, kertas saring, dan *colony counter*.

4.6.2 Bahan

Bahan penelitian terdiri dari simplisia serbuk biji keluak (*Pangium edule*) yang berasal dari UPT. Materia Medica Batu, pelarut Etanol 96%, Media Agar, Media *Mueller Hinton Agar* (MHA), Media cair *Mueller Hinton Broth* (MHB), Aquades, Nacl fisiologis 0,9%, dan Bakteri *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Yogyakarta.

4.7 Prosedur penelitian

4.7.1 Sterilisasi Alat

- a. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu.
- b. Alat-alat gelas disterilkan dalam oven pada suhu 170°C.
- c. Jarum ose dan pinset dibakar dengan pembakaran diatas api langsung dilakukan pada LAF.
- d. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

4.7.2 Pembuatan Simplisia

- a. Biji keluak dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir.
- b. Dikeringkan di dalam ruang pengeringan selama kurang lebih 5 x 24 jam hingga biji tersebut benar-benar kering.
- c. Biji keluak yang telah kering ditumbuk atau dimasukkan ke dalam mesin penggiling sehingga menghasilkan serbuk biji keluak.
- d. Serbuk biji keluak dimasukkan didalam wadah.

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Biji Keluak (*Pangium edule*)

- a. Simplisia serbuk biji keluak (*Pangium edule*) ditimbang sebanyak 50 gram dan dimasukkan kedalam labu erlenmeyer.
- b. Dilarutkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml.
- c. Dilakukan ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik (>20 kHz) selama 6 menit dengan 3 kali jeda tiap 2 menit, pada tiap jeda pengulangan diaduk menggunakan batang pengaduk.
- d. Ekstrak etanol 96% disaring dengan menggunakan kertas saring lalu diambil filtratnya.
- e. Dilakukan ekstraksi kedua menggunakan 150 ml etanol 96% dengan cara yang sama.

- f. Dilakukan ekstraksi ketiga menggunakan 150 ml etanol 96% dengan cara yang sama hingga total pelarut yang telah digunakan sejumlah 500 ml.
- g. Hasil filtrat diuapkan menggunakan vacuum rotary evaporator dengan suhu 50°C dan putaran 70 rpm hingga ekstrak menjadi kental.
- h. Ekstrak kental ditampung kedalam cawan petri, lalu dimasukkan kedalam oven pada suhu 40°C hingga ekstrak menjadi kental.

4.7.4 Uji Fitokimia

a. Flavanoid

- 1) Masukkan 1 ml ekstrak pekat kedalam tabung reaksi
- 2) Kemudian ditambahkan 1-2 ml methanol panas
- 3) Ditambahkan serbuk logam Mg
- 4) Ditambahkan 0,5 ml HCl pekat
- 5) Menghasilkan warna merah atau jingga, maka ekstrak positif mengandung flavonoid

b. Tanin

- 1) Sebanyak 1,5 ml ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- 2) Ditambahkan beberapa tetes aquades panas, lalu didinginkan dan disaring
- 3) Ditambahkan 3 tetes NaCl 10%, lalu disaring
- 4) Ditambahkan 2 tetes FeCl₃
- 5) Menghasilkan warna hijau kehitaman/ biru tua, maka sampel positif mengandung tanin

c. Saponin dengan metode forth

- 1) Sebanyak 1 ml ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi

- 2) Ditambahkan 5 ml akuades dan dikocok selama 30 detik
- 3) Jika timbul busa dan tidak hilang selama 30 detik maka ekstrak positif mengandung saponin
- 4) Ditambahkan HCl 1 M untuk mempertahankan busa bias

d. Fenolik

- 1) Sebanyak 1 ml ekstrak pekat dimasukkan dalam tabung reaksi
- 2) Ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1%
- 3) Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat

e. Alkaloid

- 1) Sebanyak 1 ml ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- 2) Tambahkan 3-5 tetes pereaksi *Dragendroff*
- 3) Reaksi positif terjadi apabila terbentuk endapan coklat atau jingga

f. Terpenoid/Steroid

- 1) Sebanyak 1 ml ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- 2) Tambahkan 0,5 ml kloroform
- 3) Tambahkan 0,5 ml asetat anhidrat
- 4) Tambahkan 3-5 tetes H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung
- 5) Ekstrak positif mengandung steroid jika terbentuk warna hijau atau biru
- 6) Ekstrak positif mengandung terpenoid jika terbentuk cincin warna ungu atau coklat

4.7.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

- a. Diambil 1 ml dari hasil peremajaan biakan murni bakteri *Salmonella typhi* dimasukkan tabung reaksi yang berisi 5 ml NaCl fisiologis 0,9%
- b. Kemudian di vortek supaya homogen,
- c. Dibandingkan dengan standart Mc Farland dengan kepadatan bakteri sebanyak 10^8 sel/ml, bakteri siap diujikan.

4.7.6 Uji Aktivitas Antibakteri

4.7.6.1 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

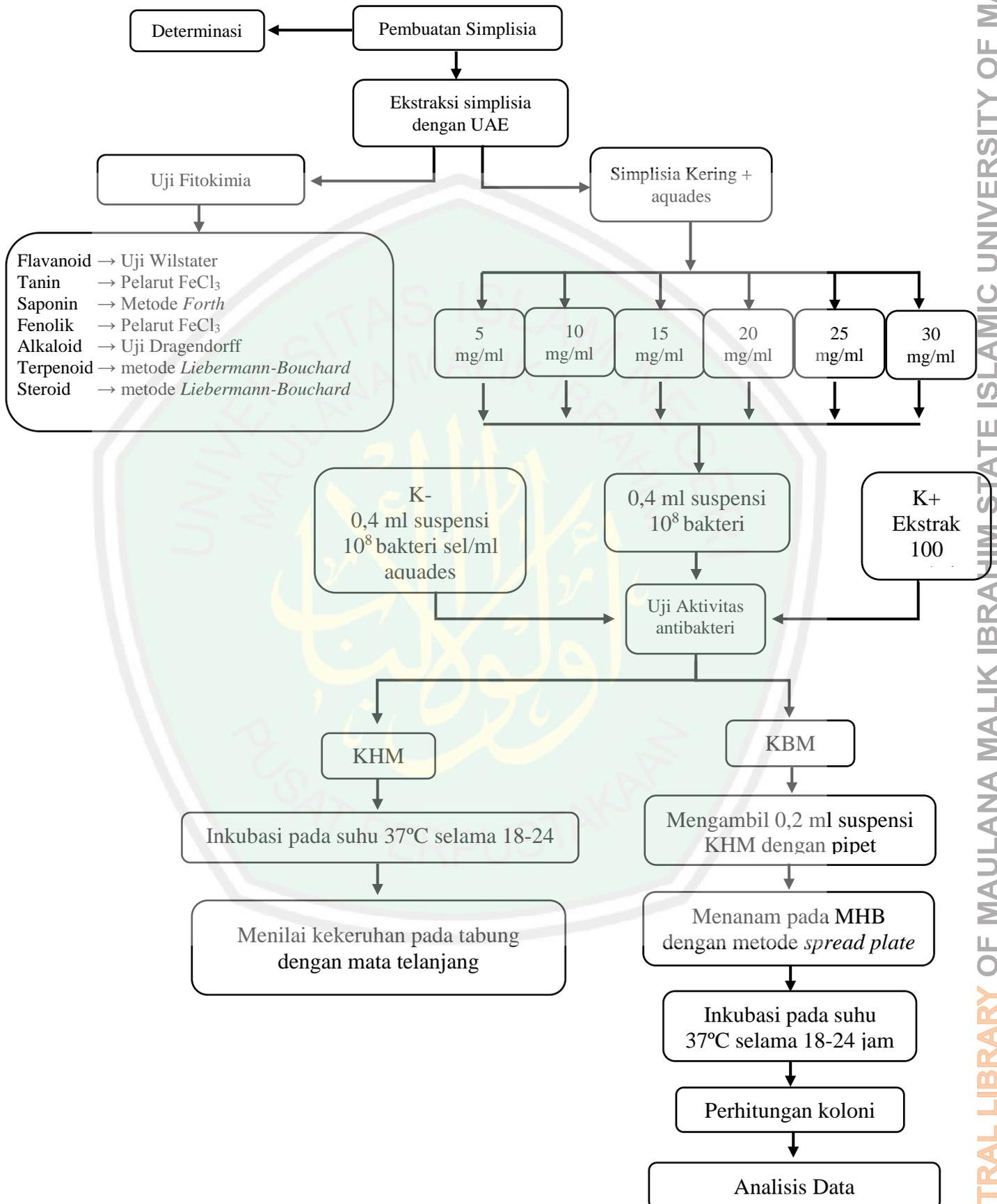
- a. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan dalam kondisi steril.
- b. Menyiapkan tabung reaksi sebanyak 8 tabung yang di tandai dengan KP (kontrol positif), KN (Kontrol negatif) ,1, 2, 3, 4, 5 dan 6
- c. Kontrol positif diisi dengan 4 ml aquades dan 400 mg ekstrak biji keluak
- d. Kontrol negatif diisi dengan 4 ml aquades dan 0,4 ml media MHB dengan suspensi bakteri konsentrasi 10^8 bakteri sel/ml uji tanpa pencampuran dengan ekstrak biji keluak
- e. Tabung 1-6 diisi dengan 4 ml aquades
- f. Ambil 20 mg ekstrak biji keluak dan masukkan pada tabung 1 dan divortek
- g. Ambil 40 mg ekstrak biji keluak dan masukkan pada tabung 2 dan divortek
- h. Ambil 60 mg ekstrak biji keluak dan masukkan pada tabung 3 dan divortek.
- i. Ambil 80 mg ekstrak biji keluak dan masukkan pada tabung 4 dan divortek.
- j. Ambil 100 mg ekstrak biji keluak dan masukkan pada tabung 5 dan divortek
- k. Ambil 120 mg ekstrak biji keluak dan masukkan pada tabung 6 dan divortek
- l. Pada tabung tabung 1-6 ditambahkan 0,4 ml MHB suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 bakteri sel/ml.
- m. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam

- n. KHM ditentukan dengan melihat kekeruhan setelah perlakuan inkubasi. Apabila ada tabung dengan konsentrasi terendah yang memiliki kejernihan maka didapatkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

4.7.6.2 Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

- a. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan dalam kondisi steril.
- b. Mengambil 0,2 ml suspensi KHM dengan menggunakan pipet.
- c. Menanam pada MHA dengan metode *spread plate*.
- d. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- e. Diamati pada konsentrasi berapa ekstrak mampu membunuh bakteri uji tersebut.
- f. Diamati ada tidaknya pertumbuhan (koloni) bakteri.
- g. Dilakukan penghitungan koloni bakteri dengan menggunakan *colony counter*.

4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

Pada penelitian ini data dianalisis menggunakan Uji *One-Way Analysis of Variance (ANOVA)* karena variabel bebas dan variabel terikat berjumlah satu, data yang digunakan berupa data numerik serta kelompok perlakuan lebih dari dua. Syarat Uji *One-Way Analysis of Variance (ANOVA)* adalah data yang diuji harus homogen (homogenitas) dan berdistribusi normal (normalitas).

Uji normalitas *Kalmogorov-Smirnov Test* dengan tujuan untuk mengetahui apakah data yang diuji berdistribusi normal atau tidak. Jika hasil uji signifikan dengan standar signifikansi ($\alpha = 0,05$) maka normalitas dan homogenitas terpenuhi. Apabila nilai signifikansi (p) lebih besar dari $\alpha = 0,05$ maka data terdistribusi normal sedangkan jika nilai signifikansi (p) lebih kecil dari $\alpha = 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal. Uji homogenitas *Levene Test* dengan tujuan mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data berasal dari populasi yang memiliki varians sama atau tidak.

Jika distribusi data tidak normal maka Uji *One-Way ANOVA* tidak dapat dilakukan sehingga dilakukan Uji *Kruskall-Wallis*. Jika uji *One-Way ANOVA* atau Uji *Kruskall-Wallis* bermakna yaitu $p < 0,05$ maka dilakukan Uji *Post Hoc LSD (Least Significance Different)* untuk melihat pada konsentrasi mana yang memiliki kebermaknaan. Semua analisis data diolah menggunakan program analisis statistik yaitu *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil

5.1.1 Determinasi Tumbuhan *Pangium edule*

Determinasi tumbuhan *Pangium edule* dilakukan di UPT. Materia Medica Batu guna identifikasi sampel *Pangium edule* yang diperoleh. Dari hasil determinasi didapatkan spesies *Pangium edule Reinw* dengan nama umum keluak, picung, kepayang dan nama simplisia *pangii edule* semen/biji keluak.

5.1.2 Hasil Ekstraksi *Pangium edule*

Hasil dari ekstraksi *Pangium edule* dengan teknik *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) yaitu berupa ekstrak cair berwarna coklat. Ekstrak yang diperoleh masih mengandung banyak pelarut, oleh karena itu perlu diuapkan kembali menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan oven dengan suhu 40°C 30 hari untuk didapatkan ekstrak kental biji *Pangium edule* seperti yang tampak gambar 5.1 (Abeysena I and Darrington R, 2014). Ekstrak biji *Pangium edule* yang sudah kental dihitung rendemen yang menghasilkan rendemen sebesar 7,1 %. Rendemen adalah perbandingan berat kental produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Dewatisari *et al.*, 2018).



Gambar 5.1 Ekstrak *Pangium edule* yang telah di oven

5.1.3 Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia sekunder pada *Pangium edule*. Hasil uji kimia tertera pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Uji Fitokimia

No	Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
1	Flavanoid	-	Kuning jernih
2	Tanin	-	Kuning keruh
3	Saponin	-	Tidak ada busa
4	Fenolik	-	Kuning jeruh
5	Alkaloid	+	Ada endapan jingga
6	Terpenoid	+	Cincin coklat
7	Steroid	-	Kuning jernih

Dari tabel 5.1 tampak bahwa ekstrak *Pangium edule* mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid. Ekstrak tidak mengandung flavonoid, tanin, saponin, fenolik, dan steroid.

5.1.4 Hasil Pengamatan KHM dan KBM Ekstrak *Pangium edule* terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

Pengamatan KHM dilakukan dengan Uji dilusi tabung dan dilanjutkan dengan penanaman pada media agar untuk mencari KBM berbagai ekstrak *Pangium edule* terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung untuk menentukan KHM dan KBM. Masing-masing uji diulang sebanyak 4 kali. Konsentrasi ekstrak yang digunakan ada 6 konsentrasi yaitu 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, dan 30 mg/ml. Terdapat dua kontrol yaitu kontrol positif atau kontrol bahan yang berisi ekstrak *Pangium edule* dengan konsentrasi 100 mg/ml dan kontrol negatif atau kontrol bakteri yang berisi suspensi bakteri *Salmonella typhi*.

5.1.4.1 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Hasil uji dilusi tabung didapatkan konsentrasi hambat minimum dengan melihat kekeruhan pada tabung. Hasil dari uji dilusi tabung untuk mengetahui aktivitas antibakteri terlihat di gambar 5.2 dan tabel 5.2.



Gambar 5.2 Hasil Dilusi Tabung

Tabel 5.2 Hasil dilusi tabung

Konsentrasi	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4
5 mg/ml	-	-	-	-
10 mg/ml	-	-	-	-
15 mg/ml	+	+	+	+
20 mg/ml	++	++	++	++
25 mg/ml	++	++	++	++
30 mg/ml	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat
K(+)	Pekat	Pekat	Pekat	Pekat
K (-)	+	+	+	+

Keterangan :

+ : Keruh

++ : Sangat Keruh

- : Jernih

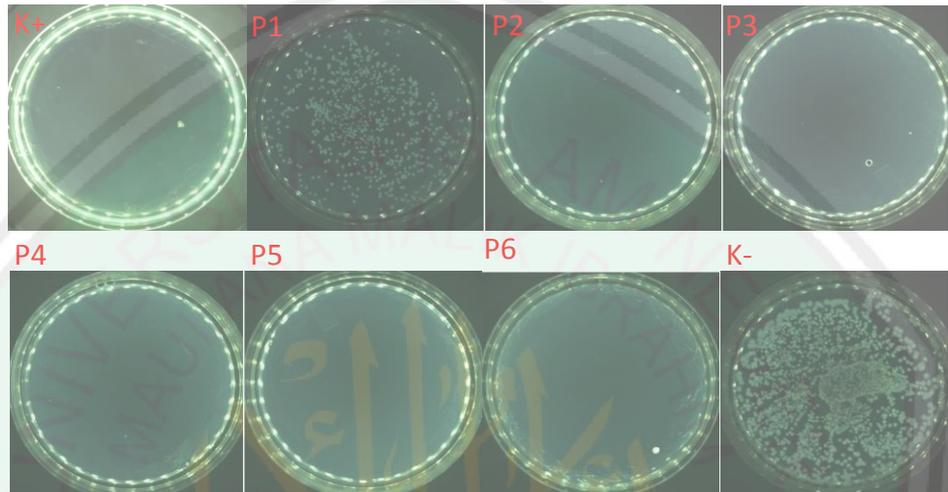
K+ : Ekstrak 100mg/ml dan aquades

K- : Suspensi bakteri dan aquades

Berdasarkan hasil pengamatan visual pada setiap tabung didapatkan nilai KHM berada pada konsentrasi 10 mg/ml.

5.1.4.2 Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Hasil penelitian didapatkan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh dengan menggunakan colony counter dan nilai KBM ditentukan apabila nilai koloni adalah 0-2 koloni. Hasil tampak pada gambar 5.3 dan tabel 5.3.



Gambar 5.3 Hasil *colony counter*

Keterangan :

- K+ : Ekstrak 100mg/ml dan aquades
- P1 : Konsentrasi 5 mg/ml
- P2 : Konsentrasi 10 mg/ml
- P3 : Konsentrasi 15 mg/ml
- P4 : Konsentrasi 20 mg/ml
- P5 : Konsentrasi 25 mg/ml
- P6 : Konsentrasi 30 mg/ml
- K- : Suspensi bakteri dan aquades

Tabel 5.3 Jumlah Koloni dari Hasil Colony Counter

Konsentrasi	Pengulangan 1 (CFU/ml)	Pengulangan 2 (CFU/ml)	Pengulangan 3 (CFU/ml)	Pengulangan 4 (CFU/ml)
K +	0	0	0	0
P1	229	235	251	234
P2	134	158	146	138
P3	69	80	76	55
P4	30	45	44	31
P5	18	26	23	22
P6	1	0	0	1
K -	473	410	408	473

Keterangan :

K+ : Ekstrak 100mg/ml dan aquades

P1 : Konsentrasi 5 mg/ml

P2 : Konsentrasi 10 mg/ml

P3 : Konsentrasi 15 mg/ml

P4 : Konsentrasi 20 mg/ml

P5 : Konsentrasi 25 mg/ml

P6 : Konsentrasi 30 mg/ml

K- : Suspensi bakteri dan aquades

Berdasarkan hasil hitung bakteri menggunakan *colony counter* didapatkan nilai KBM pada konsentrasi 30 mg/ml dimana didapatkan jumlah koloni 0-1 CFU/ml.

5.1.5 Analisis Data Statistika Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

5.1.5.1 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*, dengan kriteria apabila nilai probabilitas $>$ *level of significance* ($\alpha = 5\%$) maka residual dinyatakan normal. Hasil pengujian normalitas dapat dilihat melalui tabel 5.4.

Tabel 5.4 Uji Kenormalan

<i>Kolmogorov-Smirnov</i>	0.165
Probabilitas	0.027

Berdasarkan tabel 5.4 dapat diketahui bahwa hasil statistik *Kologorov-Smirnov* sebesar 0.165 dengan probabilitas sebesar 0.027. Hal ini dapat diketahui bahwa pengujian normalitas menghasilkan probabilitas $< \alpha$ (5%), sehingga data KBM tersebut dinyatakan tidak berdistribusi normal.

5.1.5.2 Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan menggunakan *Levene Test*, dengan kriteria apabila nilai probabilitas $> level\ of\ significance$ ($\alpha = 5\%$) maka data dinyatakan homogen. Hasil pengujian homogenitas dapat dilihat melalui tabel 5.5.

Tabel 5.5 Uji Homogenitas

<i>Levene Statistic</i>	35.178
Probabilitas	0.000

Berdasarkan tabel 5.5 dapat diketahui bahwa pengujian kehomogenan menghasilkan statistik *Levene* sebesar 35.178 dengan probabilitas sebesar 0.000. Hal ini dapat diketahui bahwa pengujian menghasilkan probabilitas $< \alpha$ (5%), sehingga data KBM tersebut dinyatakan memiliki ragam yang tidak homogen.

5.1.5.3 Uji Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Keluak (*Pangium edule*) Sebagai Anti Bakterial terhadap Kosentrasi Bunuh Minimum Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*

Pengujian perbedaan pengaruh pemberian ekstrak biji keluak (*pangium edule*) sebagai anti bakterial terhadap kosentrasi bunuh minimum pertumbuhan

bakteri *Salmonella typhi* dilakukan menggunakan *Kruskal Wallis* dengan hipotesis berikut ini:

H0: Tidak ada perbedaan pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) sebagai anti bakterial terhadap konsentrasi bunuh minimum pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*

H1: Minimal ada satu pasang perlakuan pemberian ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) sebagai anti bakterial terhadap konsentrasi bunuh minimum pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yang berbeda signifikan

Kriteria pengujian menyebutkan apabila probabilitas \leq level of significance (alpha = 5%) maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang pemberian ekstrak biji keluak (*pangium edule*) sebagai antibakterial terhadap KBM pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yang berbeda signifikan.

Hasil pengujian perbedaan pengaruh pemberian ekstrak biji keluak (*pangium edule*) sebagai anti bakterial terhadap KBM pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat melalui tabel 5.6:

<i>Chi-Square Statistic</i>	30.479
Probabilitas	0.000

Tabel 5.6 menginformasikan bahwa pengujian perbedaan pemberian ekstrak biji keluak (*pangium edule*) sebagai anti bakterial terhadap KBM pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* menghasilkan statistik uji *Chi-square* sebesar 30.479 dengan probabilitas sebesar 0.000. Hal ini dapat diketahui bahwa probabilitas < alpha (5%), sehingga H0 ditolak. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang pemberian ekstrak biji keluak

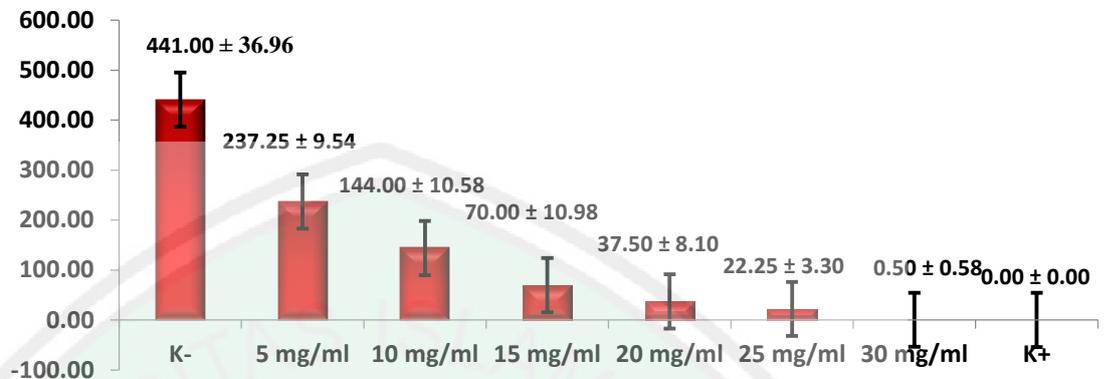
(*Pangium edule*) sebagai antibakteri terhadap KBM pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yang berbeda signifikan.

Untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) sebagai antibakteri terhadap KBM pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dilakukan menggunakan uji *Mann Whitney* dengan kriteria bahwa apabila satu pasang perlakuan menghasilkan probabilitas \leq level of significance (alpha = 5%) maka dapat dinyatakan terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) sebagai antibakteri terhadap KBM pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yang berbeda signifikan. Hasil analisis *Mann Whitney* perbedaan pengaruh pemberian ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) sebagai antibakteri terhadap KBM pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dapat diketahui melalui tabel 5.7.

Tabel 5.7 Analisi *Mann Whitney*

Perlakuan	Rata-Rata	Probabilitas								Notasi
		K-	5 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml	10 mg/ml	K+	
K-	441.00		0.020*	0.020*	0.020*	0.020*	0.020*	0.019*	0.013*	A
5 mg/ml	237.25	0.020*		0.021	0.021*	0.021*	0.021*	0.019*	0.014*	B
10 mg/ml	144.00	0.020*	0.021*		0.021*	0.021*	0.021*	0.019*	0.014*	C
15 mg/ml	70.00	0.020*	0.021*	0.021*		0.021*	0.021*	0.019*	0.014*	D
20 mg/ml	37.50	0.020*	0.021*	0.021*	0.021*		0.021*	0.019*	0.014*	E
25 mg/ml	22.25	0.020*	0.021*	0.021*	0.021*	0.021*		0.019*	0.014*	F
30 mg/ml	0.50	0.019*	0.019*	0.019*	0.019*	0.019*	0.019*		0.127	G
K+	0.00	0.013*	0.014*	0.014*	0.014*	0.014*	0.014*	0.127		G

Keterangan : * = Signifikan P < 0,05



Gambar 5.4 Rata-Rata Kosentrasi Bunuh Minimum Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* Berdasarkan Pemberian Ekstrak Biji Keluak (*Pangium edule*)

Hasil analisis di atas menginformasikan bahwa P6 dengan Kontrol positif memiliki perbedaan data yang tidak signifikan sedangkan data yang lain memiliki perbedaan data yang signifikan.

5.1.5.4 Uji Korelasi dengan spearman

Uji korelasi yang dilakukan menggunakan *Spearman test* yang bertujuan melihat tingkat kekuatan hubungan dua variabel, arah jenis hubungan dua variabel, dan apakah hubungan signifikan atau tidak. Hasil pengujian korelasi dapat dilihat dalam tabel 5.8:

Tabel 5.8 Analisis *SpearmanTest*

Spearman test	-0.99
Probabilitas	0.000

Berdasarkan tabel 5.8 dapat diketahui bahwa menghasilkan statistik *Spearman test* sebesar -0.99 dengan probabilitas sebesar 0.000. Hal ini dapat diketahui bahwa uji korelasi memiliki hubungan yang sangat kuat karena nilai

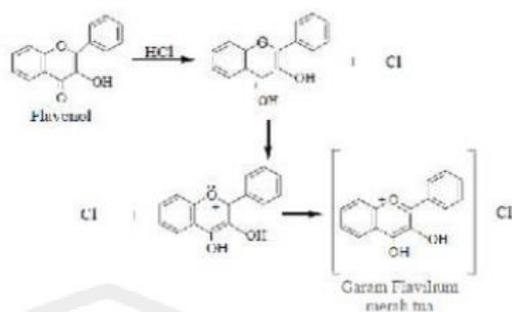
Spearman test bernilai diantara 0,77 dan 0,99. Arah korelasi kedua variabel tidak searah karena koefisien bernilai negatif. Kedua variabel memiliki hubungan yang signifikan karena nilai probabilitas $< 0,01$. Jadi hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni memiliki hubungan yang sangat kuat dan berpengaruh. Nilai koefisien negatif mellihatkan bahwa kedua variabel memiliki hubungan yang tidak searah. Hubungan tidak searah ini ditunjukkan dimana semakin besar konsentrasi ekstrak akan menyebabkan jumlah koloni semakin turun.

5.2 Pembahasan

5.2.1 Hasil Uji Fitokimia

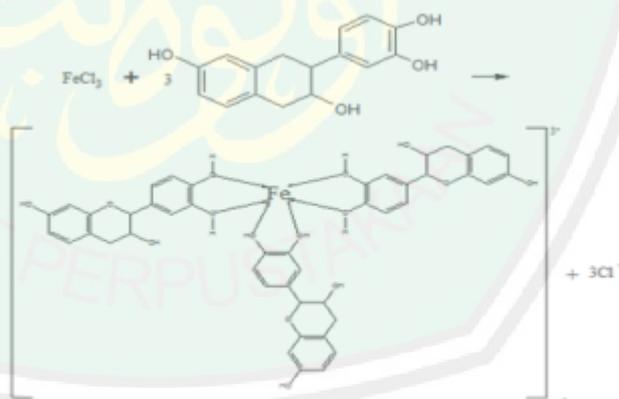
Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) yang telah diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Ekstrak kental yang dihasilkan dari ekstraksi kemudian dilakukan uji fitokimia secara kualitatif. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi flavonoid, tanin, saponin, fenolik, alkaloid, terpenoid, dan steroid.

Pada pengujian flavonoid menggunakan uji Wilstater tampak bewarna jernih yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa flavonoid. Pada uji Wilstater magnesium dan asam klorida bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H_2 , sedangkan logam Mg dan HCl pekat pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk warna menjadi merah, kuning atau jingga (Illing et al., 2017).



Gambar 5. 5 Reaksi Uji Wilstater (Illing *et al.*, 2017)

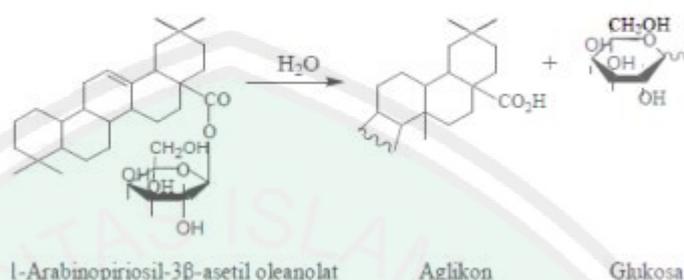
Pada uji tanin menggunakan FeCl_3 tampak warna kuning keruh yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa tanin. Pada uji tanin dengan larutan FeCl_3 1 % dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Ergina and Pursitasari, 2014).



Gambar 5. 6 Reaksi Uji Tanin dengan FeCl_3 (Ergina and Pursitasari, 2014)

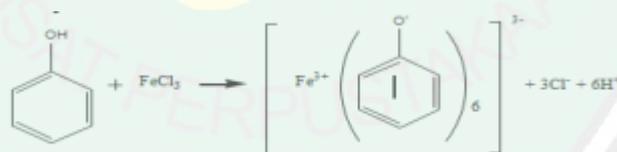
Pada uji saponin menggunakan metode Forth tampak tidak ada busa yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa saponin.

Pada uji Forth timbulnya buih menunjukkan adanya glikosida saponin dalam ekstrak tersebut yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain (Afriani et al., 2016).



Gambar 5. 7 Reaksi uji saponin dengan metode forth (Illing *et al.*, 2017)

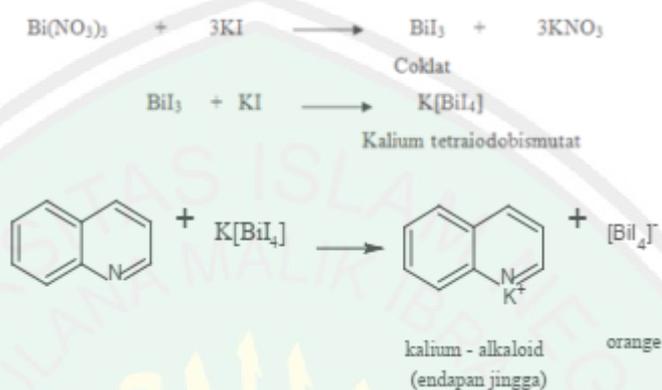
Pada uji fenolik menggunakan FeCl_3 tampak kuning jeruh yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa fenolik. Uji senyawa fenol dilakukan dengan cara menambahkan FeCl_3 1%, yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat, yang terjadi ketika FeCl_3 bereaksi dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol (Putri et al., 2018).



Gambar 5.8 Reaksi senyawa fenolik dengan FeCl_3 (Putri et al., 2018)

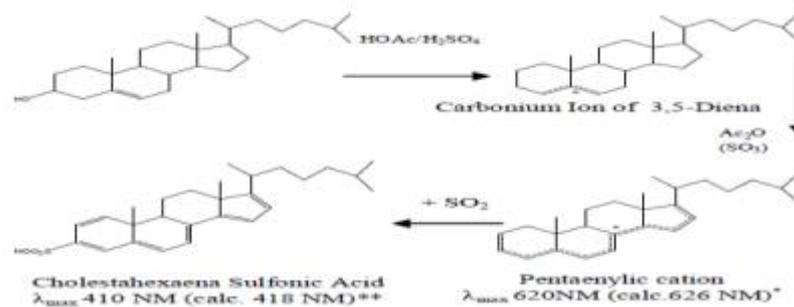
Pada uji alkaloid menggunakan uji *Dragendorff* tampak ada endapan jingga yang mengindikasikan bahwa ekstrak mengandung senyawa alkaloid. Pada uji *Dragendorff* hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning (jingga). Endapan tersebut adalah kalium

alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi *Dragendorff*, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 5.3 (Ergina and Pursitasari, 2014).



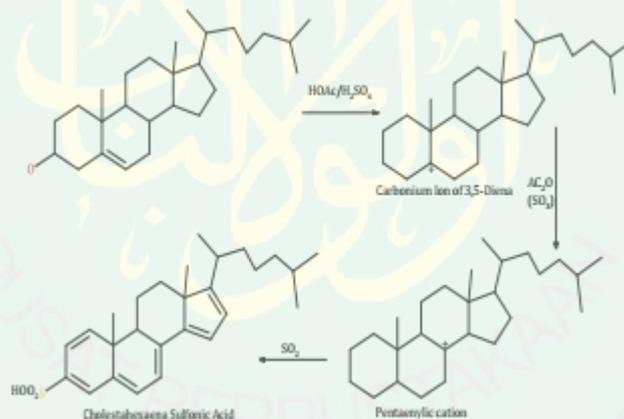
Gambar 5.9 Reaksi uji Dragendorff (Ergina and Pursitasari, 2014)

Pada uji terpenoid diuji pereaksi *Lieberman Burchard* tampak cincin coklat yang mengindikasikan bahwa ekstrak mengandung senyawa terpenoid. Uji terpenoid dengan hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin coklat pada batas larutan saat ditambah dengan H_2SO_4 . Analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa terpenoid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam klorida. Perubahan warna terjadi karena oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Illing *et al.*, 2017).



Gambar 5.10 Reaksi terpenoid dengan pereaksi Liebermann-burchard (Illing *et al.*, 2017)

Pada uji steroid menggunakan metode *Liebermann-Bouchrd* tampak warna kuni ng jernih yang mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa steroid. Reaksi steroid dengan pereaksi *Liebermann* menghasilkan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid (Habibi *et al.*, 2018).



Gambar 5.11 Reaksi steroid dengan pereaksi Liebermann-burchard (Habibi *et al.*, 2018)

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Anggara *et al.*, (2014) dalam ekstrak *Pangium edule* mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan fenolik. Penelitian yang dilakukan (Warnasih and Hasanah, 2018), ekstrak *Pangium edule* dengan pelarut etanol memiliki

kandungan flavanoid, tannin, alkaloid, dan saponin. Penelitian Listaty et al., (2016) menyebutkan bahwa biji keluak mengandung senyawa sekunder alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin, dan fenolik dalam kadar sedikit. Namun hasil dalam penelitian tersebut menyebutkan bahwa biji keluak tidak mengandung terpenoid. Penelitian Manoppo *et al.*, (2019) juga menyebutkan biji keluak tidak mengandung terpenoid dimana dalam penelitian tersebut ekstrak *Pangium edule* dengan pelarut etanol memiliki kandungan alkaloid, saponin, tannin, dan fenol. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Jati et al., (2019) menyatakan bahwa senyawa alkaloid memiliki aktivitas antibakteri sedangkan menurut penelitian yang dilakukan oleh Wulansari et al., (2020) menyatakan senyawa terpenoid memiliki aktivitas antibakteri.

5.2.2 Kadar Hambat Minimum (KHM)

Ekstrak yang digunakan pada penelitian ini berasal dari biji keluak (*Pangium edule*) yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Ekstrak kental kemudian di *vacuum rotary evaporator* dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C selama beberapa hari hingga ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian di larutkan ke dalam aquades dengan berbagai konsentrasi dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk digunakan pada metode dilusi. KHM pada penelitian ini menggunakan metode dilusi tabung dimana nilai KHM ditentukan dengan nilai kekeruhan pada tabung yang diamati secara visual.

KHM pada penelitian ini adalah 10 mg/ml dan konsentrasi ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Heruwati *et al.*, (2009) yaitu 10,11 mg/ml. Penelitian Heruwati *et al.*, (2009) memiliki perbedaan dengan penelitian

ini dimana ekstrak yang digunakan memakai biji keluak yang masih segar dan diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi sedangkan penelitian ini menggunakan ekstrak biji keluak yang sudah difermentasi atau telah di proses terlebih dahulu dan diekstraksi dengan menggunakan metode *UAE (Ultrasound-Assisted Extraction)*. Penelitian Faikha (2018) ekstrak keluak memiliki Konsentrasi hambat minimum pada 0,5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada penelitian Makagansa *et al.*, (2015) uji aktivitas antibakteri ekstrak aquades biji keluak menggunakan metode difusi cakram kertas dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak 4% dan *Bacillus cereus* pada konsentrasi ekstrak 2%, sedangkan untuk bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat menghambat pada konsentrasi 4%. Ekstrak keluak memiliki aktivitas antibakteri karena ekstrak keluak mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid sebagai senyawa antibakteri (Rahman *et al.*, 2017).

Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder yang besar dan beragam secara struktural yang memiliki asal mikroba, tumbuhan, atau hewan. Alkaloid dapat ditemukan disekitar 300 famili tumbuhan, meskipun alkaloid terdapat di berbagai bagian tanaman, namun hanya terbatas pada bagian tertentu. Alkaloid adalah struktur heterosiklik yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Mereka diklasifikasikan berdasarkan struktur kimianya atau asal alami karena beberapa alkaloid terbatas pada sumber tertentu. Terdapat dua divisi besar dalam klasifikasi menurut struktur kimianya. Divisi pertama berisi alkaloid non-heterosiklik atau atipikal, juga disebut protoalkaloid atau amina biologis.

Divisi kedua meliputi heterosiklik atau alkaloid khas. Divisi kedua dapat dibagi menjadi 14 kelompok berdasarkan pada struktur cincin (Othman *et al.*, 2019)

Mekanisme kerja antibakteri senyawa alkaloid memiliki banyak mekanisme tergantung jenis kelas senyawa alkaloid yang ada dalam kandungan ekstrak terdapat tiga. Mekanisme kerja antibakteri senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid dapat menghambat sintesis asam nukleat karena menghambat enzim *dihydrofolate reductase*. Selain itu alkaloid juga dapat menghambat enzim BCG3185c yang merupakan gen oksidase sehingga mengganggu homeostasis bakteri. Senyawa alkaloid dapat menyebabkan gangguan pada membran sel bakteri karena senyawa alkaloid dapat menembus lapisan tunggal liposakarida sehingga menyebabkan depolarisasi membran sitoplasma (Cushnie *et al.*, 2014).

Terpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang tersusun oleh unit isopren yang berkarbon 5(-C5) yang disintesa dari asetat melalui jalur asam mevalonik. Terpenoid merupakan kelas metabolit sekunder yang mempunyai jenis senyawa yang beragam. Terpenoid memiliki struktur yang beragam dapat berupa molekul linier hingga polisiklik, dengan ukuran dari hemiterpen berunit lima karbon hingga yang memiliki ribuan unit isoprene (Harman-Ware *et al.*, 2016).

Aktifitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik. Senyawa fenolik dan terpenoid memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik (Ngajow *et al.*, 2013). Menurut Marisa (2011), mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa terpenoid diduga senyawa terpenoid akan 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 substansi, akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.

Menurut Mahizan *et al.*, (2019) terpenoid mampu menghambat dua proses penting untuk kelangsungan hidup mikroba, proses tersebut adalah pengambilan oksigen dan fosforilasi oksidatif. Aerobik mikroba membutuhkan oksigen untuk menghasilkan energi untuk pertumbuhannya. Sementara itu, oksidatif fosforilasi adalah proses biokimia penting yang bertanggung jawab untuk respirasi seluler yang terjadi di membran sitoplasma. Interaksi terpenoid mengarah pada perubahan respirasi seluler yang kemudian menyebabkan pemutusan fosforilasi oksidatif dalam mikroba. Selain itu, karbonilasi terpenoid diyakini meningkatkan aktivitas bakteristatik tetapi tidak selalu memiliki aktivitas bakterisida. Agen bakteristatik adalah agen yang menghentikan atau menghambat pertumbuhan mikroba, sedangkan bakterisida adalah bertanggung jawab dalam membunuh mikroba.

5.2.3 Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi bunuh minimal (KBM) yang didapatkan dari pengamatan jumlah koloni dengan menggunakan *Colony counter* pada penelitian ini terdapat pada konsentrasi 30 mg/ml, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin turun jumlah koloni bakteri *Salmonella typhi*. Penelitian yang dilakukan Wahyuni (2015) menyebutkan Konsentrasi Hambat Minimum (KBM) ekstrak biji keluak terhadap *Salmonella typhi* adalah 25%.

KBM pada penelitian dihitung dengan *colony counter* didapatkan pada konsentrasi 30 mg/ml tetapi jika dilakukan dengan pengamatan secara visual didapatkan bahwa pada konsentrasi 10 mg/ml sudah tidak tampak pertumbuhan koloni. Pengamatan KBM pada penelitian ini menggunakan metode total count plate menggunakan *colony counter* tanpa menggunakan penghitungan manual. Kekurangan dari penggunaan *colony counter* yaitu sangat sensitifitas sehingga jika ada debris yang bukan koloni maka akan dianggap sebagai koloni sehingga sebaiknya dilakukan penghitungan koloni secara manual agar dapat sebagai acuan dalam penentuan nilai KBM.

Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid seperti dijelaskan di hasil uji fitokimia. Alkaloid dan terpenoid memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan melalui beberapa mekanisme seperti yang dijelaskan pada pembahasan KHM.

Berdasarkan hasil uji normalitas *Kalmogorov-Smirnov Test* data tidak terdistribusi normal yang berarti bahwa data KBM pada penelitian ini berjumlah tidak sama di atas maupun di bawah *mean* data. Sedangkan hasil uji homogenitas *Levene Test* hasilnya adalah data tidak homogen yang artinya ada kelompok data KBM yang tidak memiliki varians yang sama atau hanya sedikit memiliki perbedaan. Rencana uji statistik dalam penelitian ini menggunakan uji One Way Anova tetapi karena data yang dihasilkan tidak memenuhi syarat data parametrik sehingga peneliti menggunakan uji non parametrik yaitu uji *Kruskall-Wallis*. Selanjutnya hasil dari uji *Kruskall-Wallis* pada penelitian ini yaitu $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada semua perlakuan.

Namun tidak semua konsentrasi memiliki perbedaan yang bermakna satu sama lain sehingga dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk menentukan antar dua konsentrasi yang memiliki perbedaan bermakna. Konsentrasi yang tidak memiliki perbedaan data bermakna yaitu pada kontrol positif terhadap konsentrasi 30 mg/ml. Berdasarkan uji korelasi *Spearman* didapatkan bahwa kedua variabel memiliki hubungan sangat kuat dan signifikan tetapi hubungannya tidak searah. Hubungan tidak searah ini ditunjukkan dimana semakin besar konsentrasi ekstrak akan menyebabkan jumlah koloni semakin turun.

5.3 Kajian Integrasi Islam dalam Uji Aktivitas Antibakteri Biji Keluak ke Bakteri *Salmonella*

Salmonella typhi merupakan bakteri enteropathogenik dari genus *Salmonella* yang menyebabkan infeksi penyebab demam tifoid. Demam tifoid merupakan penyakit menular yang tersebar diseluruh dunia bisa menyebabkan wabah dan sampai sekarang masih menjadi masalah dibidang kesehatan (Cita, 2011). Gejala utama dari demam tifoid berupa demam dan malaise, tetapi dapat terjadi komplikasi yang gawat, seperti perdarahan usus atau perforasi, ensefalitis, infeksi pernapasan, dan metastasis abses (Brainard *et al.*, 2018).

Sebagaimana telah diketahui bahwa segala penyakit pada dasarnya berasal dari Allah, maka yang dapat menyembuhkan juga hanya Allah semata. Sebagaimana yang telah tertulis dalam QS. Asy-Syuara ayat 80 yang berbunyi:

وإِذَا مَرَضْتُمْ فَهُوَ يُشْفِيكُمْ (القرآن سورة الشعراء: ٨٠)

Artinya: “Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku”.
(Q.S. As-Syu'ara': 80) (*Al-Qur'an Cordoba Hafalan Mudah Mushaf Tahfiz A5*, 2018)

Berdasarkan ayat diatas, dimaksudkan bahwa Allah akan menyembuhkan hambanya apabila ia sakit. Allah berkuasa menyembuhkan penyakit apa saja yang diderita oleh seseorang. Tetapi tidak serta merta Allah sembuhkan begitu saja. Untuk mencapai kesembuhan maka diperlukan usaha terlebih dahulu. Karena sesungguhnya setiap Allah datangkan penyakit, maka bersama dengan itu Allah juga datangkan obatnya (Kemenag, 2010).

Setiap penyakit pasti ada obatnya. Allah tidak akan menurunkan suatu penyakit kecuali Dia juga menciptakan penawarnya. Hal ini sesuai dengan yang disabdakan Rasulullah SAW dalam hadis riwayat Bukhari:

ما أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً (رواه البخاري و مسلم)

Yang artinya “Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya”(HR. Bukhari) (Al-Bukhari, 2011).

Hadits ini menunjukkan bahwa seluruh jenis penyakit, memiliki obat yang dapat digunakan untuk mencegah, menyembuhkan, ataupun untuk meringankan penyakit tersebut. Bagi setiap orang yang sakit diwajibkan untuk berobat karena Allah SWT tidak menaruh suatu penyakit melainkan menyediakan obatnya, melainkan penyakit pikun. Berobat merupakan ikhtiar melaksanakan ajaran agama, sedang yang menentukan kesembuhan adalah Allah (Yuliatun, 2014). Obat yang bisa digunakan tidak hanya obat yang berasal dari sintesis tetapi dapat menggunakan obat tradisional atau obat alamiah yang berasal dari tumbuhan (Ningsih, 2016).

Banyak tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Hal tersebut telah dicontohkan oleh Rasulullah SAW saat mengobati sakit yang dideritanya. Seperti yang tertera dalam Al-Qur'an Surat Asy-Syu'ara Ayat 7 yang berbunyi:

أَوَمْ يَرْوَأْ إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (القرآن سورة الشعراء: ٧)

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuhan-tumbuhan yang baik?” (Q.S. As-Syu'ara': 7)

Berdasarkan tafsir Qur'an surat As-Syu'ara ayat 7 telah dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan di bumi pasti memiliki manfaat, banyak tumbuhan yang telah dapat dimanfaatkan manusia sebagai bahan makanan untuk dikonsumsi dan mampu digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Kemenag, 2010).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan adalah pohon keluak (*Pangium edule*). Pohon keluak (*Pangium edule*) memiliki banyak manfaat mulai dari batang, daun, dan bijinya. Batang keluak dapat dimanfaatkan sebagai bahan konstruksi dan dapat dimanfaatkan sebagai racun ikan. Daunnya memiliki manfaat sebagai pestisida alami karena memiliki kandungan ekstrak heksana yang menjadi antifeedant, selain itu juga sering dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan sayur dan juga berguna sebagai antiseptik (Nawir *et al.*, 2017). Biji keluak sering dimanfaatkan sebagai bumbu masak dan dapat dijadikan menjadi berbagai bentuk makanan ringan, selain itu biji keluak juga dimanfaatkan sebagai bahan pengawet makanan dan obat tradisional (Sari dan Suhartati, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian, setelah dilakukan uji fitokimia biji keluak (*Pangium edule*) memiliki senyawa aktif alkaloid dan terpenoid. Alkaloid

adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen yang ditemukan dalam jaringan hewan dan tumbuhan. Senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri dikaitkan dengan kemampuan mereka berinteraksi dengan DNA sehingga menghambat sintesis DNA. Terpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang tersusun oleh unit isopren yang berkarbon 5(-C5) yang disintesa dari asetat melalui jalur asam mevalonik. Senyawa terpenoid memiliki kemampuan sebagai senyawa antibakteri karena dapat merusak membran sel bakteri.

Kandungan senyawa alkaloid dan terpenoid pada biji keluak (*Pangium edule*) memiliki aktivitas antibakteri sesuai dengan hasil penelitian ini dimana biji keluak (*Pangium edule*) dapat menghambat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 10 mg/ml sedangkan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada konsentrasi 30 mg/ml.

5.4 Keterbatasan Penelitian

- a. Penelitian ini menggunakan ekstrak yang masih dalam bentuk pasta sehingga dimungkinkan ekstrak masih mengandung senyawa pelarut etanol, dimana etanol juga memiliki aktivitas antibakteri sehingga mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian ini.
- b. Dalam penelitian ini hanya dilakukan uji fitokimia secara kualitatif sehingga tidak dapat diketahui konsentrasi senyawa sekunder yang berada dalam ekstrak sehingga perlu dilakukan uji fitokimia secara kuantitatif seperti analisis kromatografi lapis tipis (KLT).

- c. Penelitian ini dalam uji KHM hanya menggunakan uji dilusi cair sehingga masih memiliki banyak kekurangan karena penilaiannya subjektif dalam menilai kekeruhan, mungkin bisa dilakukan pengukuran nilai KHM dengan menggunakan metode difusi sumuran atau difusi cakram.
- d. Penelitian ini dalam penentuan nilai KBM menggunakan *colon counter* dan tidak dilakukan penghitungan jumlah koloni secara manual.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap bakteri *Salmonella typhi*, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*.
2. Ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) memiliki kandungan senyawa alkaloid dan terpenoid.
3. Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* adalah 10 mg/ml.
4. Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) terhadap bakteri *Salmonella typhi* adalah 30 mg/ml.

6.2 Saran

Penelitian ini merupakan penelitian secara *in vitro* sehingga bagi peneliti selanjutnya bisa dilakukan uji klinis biji keluak (*Pangium edule*) sebagai antibakteri terhadap demam tifoid pada manusia melalui beberapa tahap uji klinis. Uji klinis dimulai fase 1 yaitu menilai farmakokinetik obat dan dosis toksis pada manusia, selanjutnya fase 2 yaitu menilai efek obat pada penyaki tertentu, dan efek samping kemudian fase 3 yaitu menilai kemanjuran efektivitas dan keamanan obat, dan yang terakhir fase 4 yaitu evaluasi penggunaan obat tersebut dalam masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abeyseena I, Darrington R, 2014. Understanding Evaporation and Concentration Technologies. Part 1-Basic Principle of Commonly Used Evaporation Technologies. Genevac Ltd.*
- Afriani, N., Idiawati, N., Alimuddin, A.H., 2016. Skrining Fitokimiadan uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (Artocarpus anisophyllus) terhadap LARVA Artemia salina. JKK 5, 7.*
- Alba, S., Bakker, M.I., Hatta, M., Scheelbeek, P.F.D., Dwiyantri, R., Usman, R., Sultan, A.R., Sabir, M., Tandirogang, N., Amir, M., Yasir, Y., Pastoor, R., van Beers, S., Smits, H.L., 2016. Risk Factors of Typhoid Infection in the Indonesian Archipelago. PLOS ONE 11, e0155286. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155286>*
- Al-Bukhari, 2011. Ensiklopedia Hadist: Shahih al-Bukhari, 1. Almahira, Jakarta.*
- Al-Qur'an Cordoba Hafalan Mudah Mushaf Tahfiz A5, 2018. . Gramedia Widiasarana Indonesia, Jakarta.*
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D., Lightfoot, D., 2017. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. Plants 6, 42. <https://doi.org/10.3390/plants6040042>*
- Anggara, Y., Teruna, H.Y., Jasril, 2014. Isolasi Dan Uji Toksisitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Dari Daging Biji Tumbuhan Pangium edule Reinw (Flacourtiaceae). Repos. FMIPA 1–6.*
- Apriyadi, E., Sarwili, I., 2018. Perilaku Higiene Perseorangan dengan Kejadian Demam Tifoid. J. Ilm. Ilmu Keperawatan Indones. 8, 355–362.*
- Ardiaria, M., 2019. Epidemiologi, Manifestasi Klinis, dan Penatalaksanaan Demam Tifoid. J. Nutr. Health 7, 7.*
- Arini, D.I.D., 2012. Pengawet Alami dan Prospek Pengembangannya di Sulawesi Utara. Jurnak Info BPK Manado 2, 103–114.*
- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J. Pharm. Anal. 6, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>*
- Bandyopadhyay, M., Jha, V., Kumar, B.A., 2019. Molecular Insights into Antimicrobial Resistance in Salmonella Species 10.*
- Brainard, J., D'hondt, R., Ali, E., Van den Bergh, R., De Weggheleire, A., Baudot, Y., Patigny, F., Lambert, V., Zachariah, R., Maes, P., Kuma-Kuma Kenge, D., Hunter, P.R., 2018. Typhoid fever outbreak in the Democratic Republic*

- of Congo: Case control and ecological study. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12, e0006795. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006795>
- Chowdhury, M.J., Shumy, F., Anam, A.M., Chowdhury, M.K., 2014. Current status of typhoid fever: a review. *Bangladesh Med. J.* 43, 106–111. <https://doi.org/10.3329/bmj.v43i2.21394>
- Cita, Y.P., 2011. Bakteri *Salmonella* Thypi dan Demam Tifoid. *STIKes Istara Nusant.* 6, 42. <https://doi.org/doi.org/10.24893/jkma.v6i1.87>
- Cushnie, T.P.T., Cushnie, B., Lamb, A.J., 2014. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int. J. Antimicrob. Agents* 44, 377–386. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- De Jong, H.K., Parry, C.M., van der Poll, T., Wiersinga, W.J., 2012. Host–Pathogen Interaction in Invasive Salmonellosis. *PLoS Pathog.* 8, e1002933. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002933>
- Departemen Kesehatan RI, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan 1. ed. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Depkes RI, 2013. Sistematika Pedoman Pengendalian Penyakit Demam Tifoid. Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan, Jakarta.
- Dewatisari, W.F., Rumiyaniti, L., Rakhmawati, I., 2018. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. *J. Penelit. Pertan. Terap.* 17, 197. <https://doi.org/10.25181/jppt.v17i3.336>
- Dewi, M.K., Ratnasari, E., Trimulyono, G., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Lentera Bio* 3, 51–57.
- Eng, S.-K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Ser, H.-L., Chan, K.-G., Lee, L.-H., 2015. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Front. Life Sci.* 8, 284–293. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>
- Ergina, S.N., Pursitasari, I.D., 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kim.* 3, 165–172.
- Fabrega, A., Vila, J., 2013. *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Skills To Succeed in the Host: Virulence and Regulation. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 308–341. <https://doi.org/10.1128/CMR.00066-12>
- Faikha, N., 2018. Pengaruh Konsentrasi Etanol Sebagai Cairan Pengekstraksi Terhadap Aktivitas Antibakteri Dari Biji Pangi (*Pangium edule* Reinw)

- (Skripsi). *Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar, Makassar.*
- Fatiqin, A., Novita, R., Apriani, I., 2018. *Pengujian Salmonella dengan Menggunakan Media SSA dan E. coli Menggunakan Media EMBA Pada Bahan Pangan. indobiosains 1, 8.*
- Fitriyah, N., Wahuningsih, N., Kismanto, J., 2013. *Obat Herbal Antibakteri Ala Tanaman Binahong. J. KesMaDaSka 116–122.*
- Górniak, I., Bartoszewski, R., Króliczewski, J., 2019. *Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. Phytochem. Rev. 18, 241–272. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>*
- Habibi, A.I., Firmansyah, R.A., Setyawati, S.M., 2018. *Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (Syzygium polyanthum). Indones. J. Chem. Sci. 4.*
- Habte, L., Tadesse, E., Ferede, G., Amsalu, A., 2018. *Typhoid fever: clinical presentation and associated factors in febrile patients visiting Shashemene Referral Hospital, southern Ethiopia. BMC Res. Notes 11, 605. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3713-y>*
- Hardanti, S., Wardani, A.K., Rukmi, W.D., 2018. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteriofag Spesifik Salmonella Typhi dari Kulit Ayam. J. Teknol. Pertan. 19, 107–116. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2018.019.02.5>*
- Harman-Ware, A.E., Sykes, R., Peter, G.F., Davis, M., 2016. *Determination of Terpenoid Content in Pine by Organic Solvent Extraction and Fast-GC Analysis. Front. Energy Res. 4. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2016.00002>*
- Haryati, S.D., Darmawati, S., Wilson, W., 2017. *Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (Persea americana Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas aeruginosa Dengan Metode Disk dan Sumuran 5.*
- Hasyul, S.F.P., Puspita, T., Nuari, D.A., Muntaqin, E.P., Wartini, E., Eka, M.Y., 2019. *Evaluation of Antibiotic Treatment of Tyhoid Fever in Garut Regency January-December 2017. J. Ilm. Farm. Bahari 10, 160–170.*
- Heriyanto, N.M., Subiandono, E., 2008. *Ekologi Pohon Kluwak/Pakem (Pangium edule Reinw.) di Taman Nasional Meru Betiri, Jawa Timur. Bul. Plasma Nutfah 14, 33. <https://doi.org/10.21082/blpn.v14n1.2008.p33-42>*
- Heruwati, E. sri, Ismaini, L., Mangunwardoyo, W., 2009. *Antibactertal Test of Pangium (Pangium Edule Reinw) Extract Against The Growth of Fish Spoilage Bacteria. Researih Cent. Mar. Fish. Prod. Process. Biotechnol.-Petamburan 15, 65–73.*
- Ikatan Dokter Anak Indonesia, 2008. *Buku Ajar Infeksi & Pediatri Tropis, Kedua. ed. IDAI, Jakarta.*

- Ikatan Dokter Indonesia*, 2014. *Panduan Praktis Klinis Bagi Dokter di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Primer*, 2nd ed. Jakarta.
- Illing, I., Erfiana, Safitri, W., 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *J. Din.* 8, 66–84.
- Jati, N.K., Prasetya, A.T., Mursiti, S., 2019. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alkaloid pada Daun Pepaya. *J. MIPA* 6.
- Kasper, D., Fauci, A., Hauser, S., 2012. *Harrison's Principles of Internal Medicine: Salmonellosis*, 18th ed. McGraw Hill Medical, New York.
- Kasuku, W., 2017. Typhoid Fever, a Public Health Problem in Hospitals : Case Study at a Work station in Kinshasa, DR Congo. *Juniper Online J. Public Health* 2. <https://doi.org/10.19080/JOJPH.2017.02.555586>
- Katrin, D., Idiawati, N., Sitorus, B., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea gracieae* Vidal) Terhadap Bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKK* 4, 6.
- Kemenag, R. (Ed.), 2010. *Tafsir ilmi, Cet. 1. ed. Lajnah Pentashihan Mushahaf al-Qur'an*, Badan Litbang & Diklat, Kementerian Agama RI, Jakarta.
- Kundera, I.N., A, A., Santoso, S., 2014. Ekspresi Protein Adhf36 Strain *Salmonella Typhi* dari Beberapa Daerah di Indonesia. *J. Kedokt. Hewan - Indones. J. Vet. Sci.* 8. <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v8i1.1248>
- Lailiyah, S.H., Athiroh, N., Santoso, H., 2018. Behavior Identification of Patients' Post Typhoid Year 2016 in Subdistrict – District - Lowokwaru of Malang City 4, 7.
- LIPI Press (Ed.), 2015. *Kekinian keanekaragaman hayati Indonesia, 2014, Cetakan kedua. ed. LIPI Press, Menteng, Jakarta.*
- Listaty, H., Teruna, H.Y., Jasril, 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dan Toksisitas Ekstrak n-Heksana Daging Biji Kluwak. *Repos. FMIPA* 7.
- Mahizan, N.A., Yang, S.-K., Moo, C.-L., Song, A.A.-L., Chong, C.-M., Chong, C.-W., Abushelaibi, A., Lim, S.-H.E., Lai, K.-S., 2019. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. *Molecules* 24, 2631. <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>
- Makagansa, C., Mamuaja, C.F., Mandey, L.C., 2015. The Antibacterial Activity of Pangi Kernel Extract (*Pangium edule* Reinw) towards *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* in Vitro. *J Ilmu Dan Teknol. Pangan* 3, 16–25.
- Mamuaja, C.F., Lumoindong, F., 2017. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji Kluwek (*Pangium Edule*) sebagai Bahan Pengawet Alami Bakso Ikan Tuna 20, 10.

- Manoppo, J.S.S., Sakul, E.H., Tengker, A.C., 2019. *Potensi Bioinsektisida Dari Ekstrak Daun, Kulit Batang Dan Biji Tumbuhan Pangi (pangium edule reinw.) Dalam Meningkatkan Mortalitas Larva Crocidolomia Binotalis. J. Sains Dan Teknol. Univ. Negeri Manado* 2, 9–19.
- Marisa, H., 2011. *Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (Pithecolobium lobatum Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya. J. Penelit. Sains* 4.
- Mawan, A.R., Indriwati, S.E., 2018. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Buah Syzygium polyanthum terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherchia coli. Bioeksperimen* 4, 64–68.
- Mouton, F., Ohuoba, E.I., Evans, F.M., Desalu, I., 2017. *Typhoid enteric fever – part 1. Update Anaesth.* 32, 4.
- Mufti, N., Bahar, E., Arisanti, D., 2017. *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sawo terhadap Bakteri Escherichia coli secara In Vitro. J. Kesehat. Andalas* 6, 289–294. <https://doi.org/10.25077/jka.v6.i2.p289-294.2017>
- Nawir, M., Taskirawati, I., Baharuddin, B., 2017. *Pemanfaatan Tanaman Pangi (Pangium Edule Reinw) pada Lahan Agroforestri Desa Watu Toa Kecamatan Marioriwawo Kabupaten Soppeng. J. Hutan Dan Masy.* 9, 123–130. <https://doi.org/10.24259/jhm.v9i2.3039>
- Ngajow, M., Abidjulu, J., Kamu, V.S., 2013. *Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometia pinnata) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus secara In vitro. J. MIPA* 2, 128. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
- Ningrum, R., Purwanti, E., Sukarsono, S., 2017. *Alkaloid Compound Identification of Rhodomyrtus tomentosa Stem as Biology Instructional Material for Senior High School X Grade. J. Pendidik. Biol. Indones.* 2, 231–236. <https://doi.org/10.22219/jpbi.v2i3.3863>
- Novita, W., 2016. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (Piper betle L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Sterptococcus mutans Secara In Vitro. JMJ* 4, 16.
- Othman, L., Sleiman, A., Abdel-Massih, R.M., 2019. *Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. Front. Microbiol.* 10, 911. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00911>
- Ouedrhiri, W., Bouhdid, S., Balouiri, M., Lalami, A.E.O., Moja, S., Chahdi, F.O., Greche, H., 2015. *Chemical composition of Citrus aurantium L. leaves and zest essential oils, their antioxidant, antibacterial single and combined effects. J. Chem. Pharm. Res.* 7, 7.
- Paul, U.K., Bandyopadhyay, A., 2017. *Typhoid fever: a review. Int. J. Adv. Med.* 4, 300–306. <https://doi.org/10.18203/2349-3933.ijam20171035>

- Pratiwi, R.H., 2017. *Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. J. -Life* 4, 12.
- Putri, H.D., Sumpono, Nurhamidah, 2018. *Uji Aktivitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (Hevea brassiliensis) dan Aplikasinya dalam Penghambatan Ketengikan Daging Sapi. J. Pendidik. Dan Ilmu Kim.* 2, 97–105.
- Rahman, F.A., Haniastuti, T., Utami, T.W., 2017. *Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (Annona muricata L.) pada Streptococcus mutans ATCC 35668. Maj. Kedokt. Gigi Indones.* 3, 1–7. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>
- Rahmasari, V., Lestari, K., 2016. *Review: Manajemen Terapi Demam Tifoid: Kajian Terapi Farmakologis dan Non Farmakologis. Farmaka Suplemen* 16, 184–195.
- Riedel, S., Morse, S.A., Mietzner, T., 2019. *Medical Mikrobiologi Jawetz, Melnick, & Adelberg Ed. 28. McGraw-Hill Education, New York.*
- Samudry, E.G., Sukainah, A., Mustarin, A., 2018. *Analisis Kualitas Kluwek (Pangium Edule Reinw) Hasil Fermentasi Menggunakan Media Tanah Dan Abu Sekam. J. Pendidik. Teknol. Pertan.* 3, 25. <https://doi.org/10.26858/jptp.v3i1.5191>
- Saragih, R.H., Purba, G.C.F., 2018. *Antimicrobial resistance problems in typhoid fever. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 125, 012091. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/125/1/012091>
- Sari, N., Erina, Abrar, M., 2018. *Isolation and Identification of Salmonella sp and Shigella sp on Feces of Bendi's Horse in Bukittinggi West Sumatera. JIMVET* 2, 402–410.
- Sari, R., Suhartati, 2015. *Pangi (Pangium Edule Reinw.) Sebagai Tanaman Serbaguna Dan Sumber Pangan. Info Tek. EBONI* 12, 23–37.
- Stoesser, N., Eyre, D., Basnyat, B., Parry, C., 2013. *Treatment of enteric fever (typhoid and paratyphoid fever) with third and fourth generation cephalosporins. Cochrane Database Syst. Rev.* 1–12. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010452>
- Sudoyo, A., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III edisi V. Interna Publising, Jakarta.*
- Suswati, I., Juniarti, A., 2011. *Sensitivitas Salmonella typhi terhadap Kloramfenikol dan Seftriakson di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang Tahun 2008-2009. J. Biomedika* 3, 27–32.
- The National Institute for Communicable Diseases, 2016. *Typhoid: NICD recommendations for diagnosis, management and public health response. Natl. Inst. Commun. Dis. NICD* 2.

- Ugboko, H., De, N., 2014. *Mechanisms of Antibiotic resistance in Salmonella typhi* 16.
- Umah, A.K., Wirjatmadi, R.B., 2014. *Asupan Protein, Lemak, Karbohidrat dan Lama Hari Rawat Pasien Demam Tifoid di Rsud Dr. Moh. Soewandhie Surabaya. J. Widya Med. Surabaya* 2, 8.
- Utami, E.R., 2012. *Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. SAINSTIS* 1, 124–138.
- Wahyuni, 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Picung (Pangium edule Reinw) Terhadap Bakteri Salmonella Typhi Atcc 13311 Secara Dilusi (Skripsi). UNIVERSITAS SETIA BUDI, Surakarta.*
- Wain, J., Hendriksen, R.S., Mikoleit, M.L., Keddy, K.H., Ochiai, R.L., 2015. *Typhoid fever. The Lancet* 385, 1136–1145. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62708-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62708-7)
- Warnasih, S., Hasanah, U., 2018. *Ekstraksi Zat Warna dari Kluwek (Pangium edule reinw) Menggunakan Berbagai Pelarut. Ekologia*, 1 18.
- WHO, 2018. *Weekly epidemiological record. WHO* 93, 153–172.
- Wiley, J., Sherwood, L., Woolverton, C., 2013. *Prescott s Microbiology. 9th Edition. MCGRAW-HILL EDUCATION.*
- Wulansari, E.D., Lestari, D., Khoirunissa, M.A., 2020. *Kandungan Terpenoid dalam Daun Ara (Ficus carica L.) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. PHARMACON J. Ilm. Farm.* 9.
- Yanuartono, Purnamaningsih, H., Nururrozi, A., Indarjulianto, S., 2017. *Saponin : Dampak terhadap Ternak (Ulasan). J. Peternak. Sriwij.* 6. <https://doi.org/10.33230/JPS.6.2.2017.5083>
- Yoga Pratama, K., Lestari, W., 2015. *Efektifitas Tubex Sebagai Metode Diagnosis Cepat Demam Tifoid. Intisari Sains Medis* 2, 70–73. <https://doi.org/10.15562/ism.v2i1.87>
- Zaki, S.A., Karande, S., 2011. *Multidrug-resistant typhoid fever: a review. J. Infect. Dev. Ctries.* 5, 324–337. <https://doi.org/10.3855/jidc.1405>
- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., Ye, W.-C., 2018. *Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chin. Med.* 13, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/697A / 102.7 /2018
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Kluwak

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : RICKO ARIE JATMIKO
NIM : 16910024
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman kluwak

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Dilleniidae
Ordo : Violales
Famili : Flacourtiaceae
Genus : *Pangium*
Spesies : *Pangium edule* Reinw
Nama Umum : Kluwak, kluwek, picung, kepayang.
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-128b-129b-135b-136b-139b-140b-142b-143b-146a-147b-150b-151b-152b-153a-Fam 83 a-1.

2. Deskripsi : Habitus: Pohon besar, menyebar luas mencapai ketinggian 25 meter. Batang: Berkayu; bulat; diameter batang pohon 100 cm- 2,5 m; pucuk atas tanaman kluwak biasanya lebat, dengan cabang dan ranting yang mudah patah. Daun: Tunggal, berkumpul pada ujung ranting dan bertangkai panjang; helaian daunnya dari pohon muda berlekuk tiga; pohon yang sudah tua helaian daun berbentuk bulat seperti telur melebar di pangkal berbentuk jantung, dan ujung daun meruncing; permukaan daun pada bagian atas licin berwarna hijau mengkilap, sedangkan pada permukaan bawahnya berambut coklat dan tersusun rapat dengan tulang daun menonjol; panjang daun berkisar antara 20-60 cm dan lebar 15-40 cm. Bunga: Berwarna coklat kehijauan, tumbuh pada ketiak daun atau hampir di setiap ujung ranting; bunga jantan tersusun dalam malai, sedangkan bunga betina umumnya muncul tunggal di ujung ranting. Buah: Buni berbentuk bulat seperti telur atau lonjong, kulit buah yang telah tua berwarna coklat dengan permukaan kasar; diameter berkisar antara 10-25 cm; daging buah berwarna kuning pucat, lunak dan dapat dimakan; tiap buah kluwak berisi sampai 18 biji atau lebih. Akar: Tunggang, kecoklatan.

3. Nama Simplisia : *Pangium edulii* Semen/ Biji Kluwek.
4. Kandungan kimia : Gynocardine dan cyanwatestof. Biji juga menghasilkan minyak kernel pamitic dan asam oleat, dan minyak optik aktif, baik hydnocarpic atau chaulmoogric, atau keduanya.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
• Anonim. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=943>, diakses tanggal 12 Des 2014.
• Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.


Provinsi Jawa Timur, 14 Desember 2019
Kepala Laboratorium Herbal Materia Medica Batu
Kepala Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal,
DINAS KESEHATAN

Fitria Rahmawati, S.Farm., Apt.
NIP.19900430 201403 2 002

Lampiran 2 Sertifikat Hasil Uji Bakteri



PEMERINTAH DAERAH PROVINSI DAERAH ISTIMEWA YOGYAKARTA
DINAS KESEHATAN
BALAI LABORATORIUM KESEHATAN DAN KALIBRASI
Jl. Ngadinegaran MJ III- 62 Yogyakarta Telepon (0274) 378187 Facsimile (0274) 381582
Website : <http://jogjaprov.go.id> Email : labkes_yk@yahoo.com Kode Pos 55143

SERTIFIKAT HASIL UJI**Pengujian Mikrobiologi**

1. Contoh Uji : Stock Strain Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta
2. Nomor Contoh uji : S . 24 . 2 .
3. Asal Contoh uji : EQAM BELGIA 1991
4. Penguji : Evina .W., S.ST
Staf Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta
5. Tanggal Penguji : 24 - 28 Desember 2019.
6. Permintaan : Wawan Singgih Prasetyo Universitas Islam Negeri Malang

Uraian

S. 14. 1 . Biakan murni *Salmonella typhosa* O 901

I Ciri Ciri Koloni Pada Media Isolasi	
1. Salmonella Shigella Agar	: Koloni tidak berwarna, kecil-kecil, keping, smooth, bulat
2. Mac Conkey	: Koloni tidak berwarna, jernih, keping, sedang, bulat smooth
II Uji Fermentasi Karbohidrat dan Biokimia Penegasan	
Uji Fermentasi Karbohidrat	Biokimia Penegasan
1. Glukosa : positif (gas: positif)	1. Oksidase : negatif
2. Laktosa : negatif	2. Reduksi Nitrat : positif
3. Manitol : positif	3. Catalase Test : positif
4. Maltose : positif	4. Malonate Broth : negatif
5. Sakarose : negatif	5. Phenylalanine Deaminase : negatif
6. SIM : Sulfur: + Indol: - Motyliti: +	6. Urease : negatif
7. Simon citrat : negatif	7. Lysine decarboxylase : positif
III UJI SEROLOGIS	
1. Antiserum Salmonella O Group D Factor 9,12 : Positif	8. ONPG : negatif
	9. KCN Broth : negatif
	10. Triple Sugar Iron Agar: Dasar : merah Lereng : kuning Sulfur : positif

Catatan :

1. Hasil uji ini hanya berlaku untuk contoh yang diuji

Yogyakarta, 24 Desember 2019
Penanggung Jawab strain
Mikrobiologi
**BALAI LABKES
DAN KALIBRASI**
Sigit Sulistya, S.Si
DIS KNP 196704141987031006

Lampiran 3 Perhitungan Rendemen

Berat simplisia biji keluak (*Pangium edule*) = 400 gram

Berat ekstrak biji keluak (*Pangium edule*) = 28,455 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% = \frac{28,455 \text{ g}}{400 \text{ g}} \times 100\% = 7,1\%$$

Lampiran 4 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak *Pangium edule*

No	Golongan Senyawa	Gambar	Keterangan (Hasil Uji)
1	Flavanoid		Kuning jernih Hasil (-) flavanoid
2	Tanin		Kuning keruh Hasil (-) tanin
3	Saponin		Tidak ada busa Hasil (-) saponin

4	Fenolik		Kuning keruh Hasil (-) fenolik
5	Alkaloid		Ada endapan jingga Hasil (+) alkaloid
6	Terpenoid/steroid		Terbentuk cinci coklat Hasil (+) terpenoid

Lampiran 5 Laporan Hasil Uji Fitokimia



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN KIMIA
Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933
www.uin-malang.ac.id Email: info uin@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

LAPORAN HASIL PENGUJIAN

Nama konsumen : Ricko Arie jatmiko
Instansi Asal/Jurusan : UIN/Pendidikan Dokter
Nama sampel : Ekstrak keluwak
Jumlah sampel : 1 (satu)
Jenis Uji : Fitokimia
Tgl Penyerahan sampel : 20 Februari 2020
Tanggal pengujian : 21 Februari 2020

Sampel tersebut di atas telah dilarutkan dengan pelarut methanol, dan diuji kandungan fitokimia di Laboratorium Jurusan Kimia UIN Maliki Malang dengan hasil sebagai berikut:

No	Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
1.	Flavonoid	-	Kuning jernih
2.	Tanin	-	Kuning keruh
3.	Saponin	-	Tidak ada busa
4.	Fenolik	-	Kuning jeruh
5.	Alkaloid	+	Ada endapan jingga
6.	Terpenoid	+	Cincin coklat
7.	Steroid	-	Kuning jernih

Demikian laporan hasil pengujian ini dikeluarkan untuk diketahui dan di gunakan seperlunya, atas perhatian dan kepercayaannya diucapkan terima kasih.

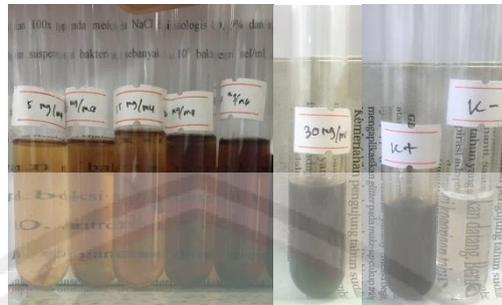
Malang, 21 Februari 2020



Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlaq, Keluasan Ilmu dan Kematangan Profesional

Lampiran 6 Dokumentasi Hasil KHM

Pengulangan 1



Pengulangan 2



Pengulangan 3

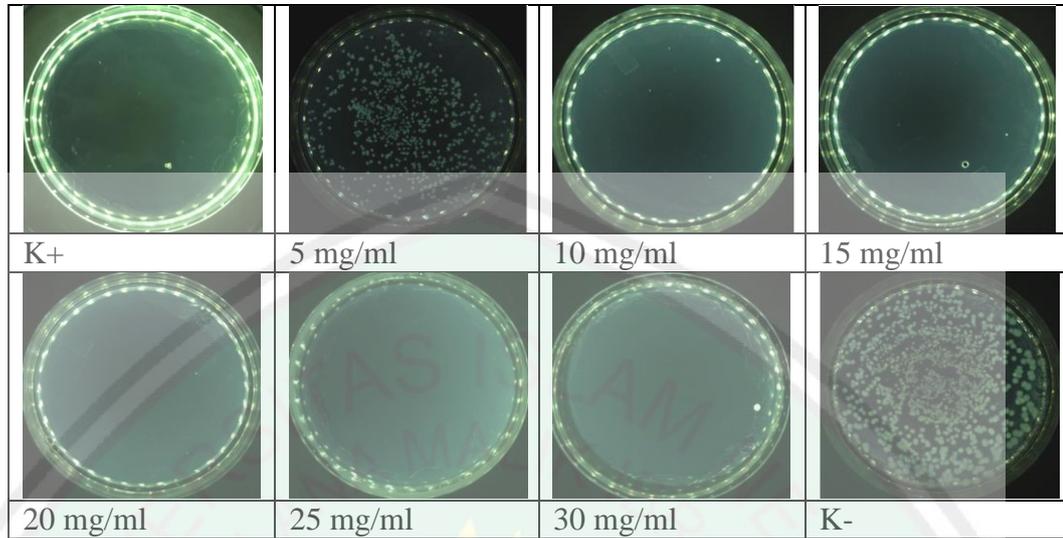


Pengulangan 4

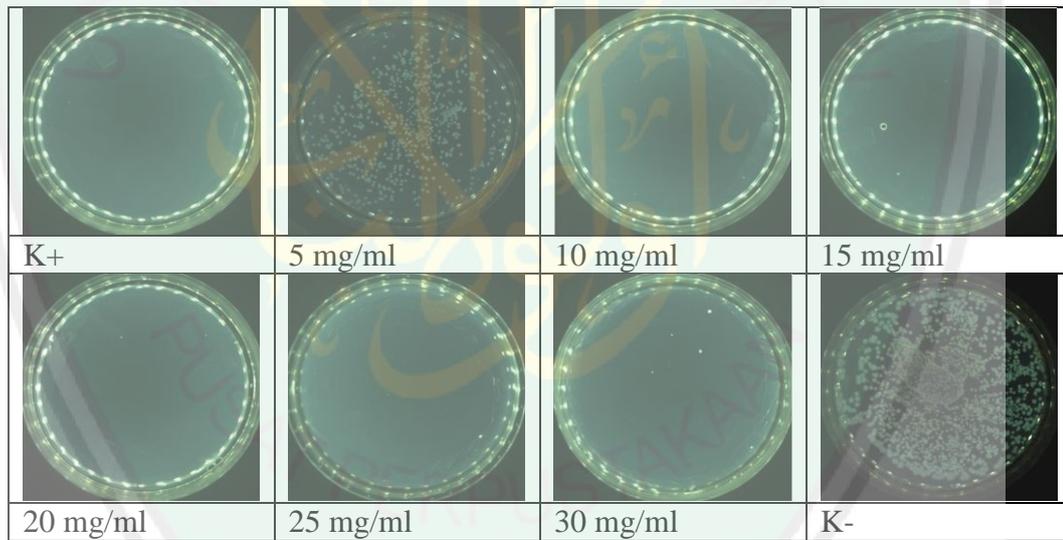


Lampiran 7 Dokumentasi Hasil KBM

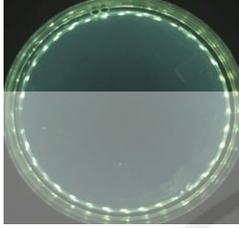
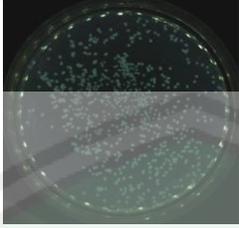
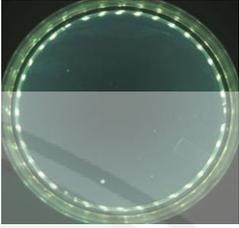
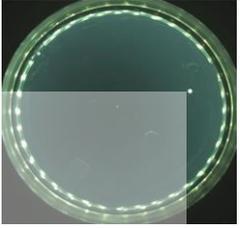
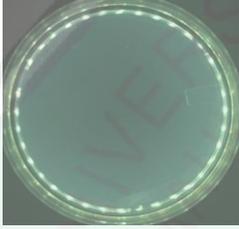
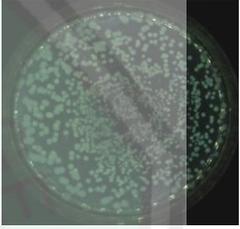
Pengulangan 1



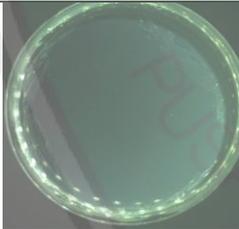
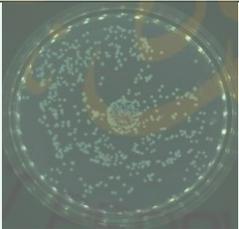
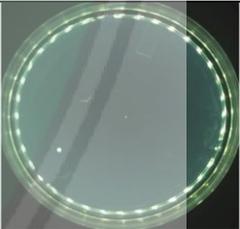
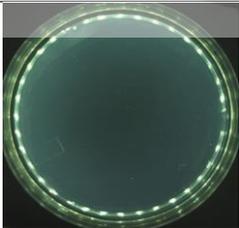
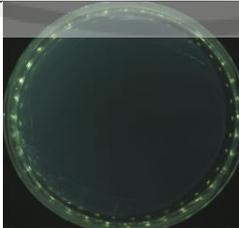
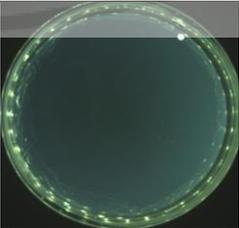
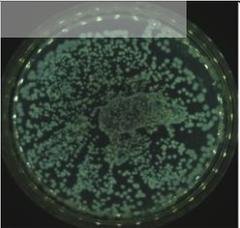
Pengulangan 2



Pengulangan 3

			
K+	5 mg/ml	10 mg/ml	15 mg/ml
			
20 mg/ml	25 mg/ml	30 mg/ml	K-

Pengulangan 4

			
K+	5 mg/ml	10 mg/ml	15 mg/ml
			
20 mg/ml	25 mg/ml	30 mg/ml	K-

Lampiran 8 Analisis Statistik

Descriptive Statistics

Dependent Variable: KBM

Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
K-	441.0000	36.95944	4
P1	237.2500	9.53502	4
P2	144.0000	10.58301	4
P3	70.0000	10.98484	4
P4	37.5000	8.10350	4
P5	22.2500	3.30404	4
P6	.5000	.57735	4
K+	.0000	.00000	4
Total	119.0625	146.45222	32

Asumsi Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Residual for Y
N		32
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000
	Std. Deviation	13.07485
Most Extreme Differences	Absolute	.165
	Positive	.165
	Negative	-.139
Test Statistic		.165
Asymp. Sig. (2-tailed)		.027 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Residual for Y	.165	32	.027	.891	32	.004

a. Lilliefors Significance Correction

Asumsi Homogenitas

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: KBM

F	df1	df2	Sig.
35.178	7	24	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Perlakuan

Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
KBM	K-	4	30.50
	P1	4	26.50
	P2	4	22.50
	P3	4	18.50
	P4	4	14.50
	P5	4	10.50
	P6	4	5.50
	K+	4	3.50
	Total		32

Test Statistics^{a,b}

	KBM
Chi-Square	30.479
Df	7
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Perlakuan

Post Hoc (Mann Whitney)

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	K-	4	6.50	26.00
	P1	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	K-	4	6.50	26.00
	P2	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	K-	4	6.50	26.00
	P3	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	K-	4	6.50	26.00
	P4	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	K-	4	6.50	26.00
	P5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	K-	4	6.50	26.00
	P6	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.352
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	K-	4	6.50	26.00
	K+	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P1	4	6.50	26.00
	P2	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P1	4	6.50	26.00
	P3	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P1	4	6.50	26.00
	P4	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P1	4	6.50	26.00
	P5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P1	4	6.50	26.00
	P6	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P1	4	6.50	26.00
	K+	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P2	4	6.50	26.00
	P3	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P2	4	6.50	26.00
	P4	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P2	4	6.50	26.00
	P5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P2	4	6.50	26.00
	P6	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P2	4	6.50	26.00
	K+	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P3	4	6.50	26.00
	P4	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P3	4	6.50	26.00
	P5	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P3	4	6.50	26.00
	P6	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P3	4	6.50	26.00
	K+	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P4	4	6.50	26.00
	P5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P4	4	6.50	26.00
	P6	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P4	4	6.50	26.00
	K+	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P5	4	6.50	26.00
	P6	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P5	4	6.50	26.00
	K+	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KBM	P6	4	5.50	22.00
	K+	4	3.50	14.00
Total		8		

Test Statistics^a

	KBM
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

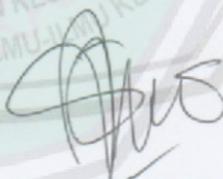
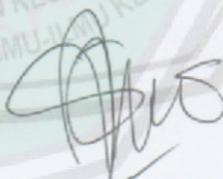
Uji Korelasi

Correlations

		KBM	Perlakuan
Spearman's rho	KBM	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000
		N	32
	Perlakuan	Correlation Coefficient	-.990**
		Sig. (2-tailed)	.000
		N	32

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 9 Surat Keterangan Etik

	<p style="text-align: center;">FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN</p> <p style="text-align: center;">Gedung Klinik UMMI K 2 Jalan Gajayana No. 56, Dinoyo, Kec Lowokwaru, Kota Malang E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id</p>
	<p style="text-align: center;">KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 003/EC/KEPK-FKIK/2020</p>
<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :</p>	
Judul	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kesambi (<i>Schleichera aleosa</i> Lour Oken), Ekstrak biji Keluak (<i>Pangium edule</i>), Ekstrak Daun Pucuk Merah (<i>Syzygium myrtifolium</i> Walp.) dan Ekstrak Kulit Buah Apel Rome Beauty (<i>Malus Sylvestris</i> Mill) terhadap pertumbuhan <i>Salmonella thypi</i>
Sub Judul	<ol style="list-style-type: none"> 1. Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Apel Rome Beauty (<i>Malus Sylvestris</i> Mill) terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella thypi</i> 2. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ekstrak biji Keluak (<i>Pangium edule</i>) terhadap Bakteri <i>Salmonella thypi</i> 3. Ekstrak Daun Pucuk Merah (<i>Syzygium myrtifolium</i> Walp.) sebagai Anti Mikroba terhadap Bakteri <i>Salmonella thypi</i> 4. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kesambi (<i>Schleichera aleosa</i> Lour Oken) terhadap <i>Salmonella thypi</i>
Peneliti	<ol style="list-style-type: none"> 1. Nike Aprilia 2. Ricko Arie Jatmiko 3. Faiza Shema Salsabila 4. Wawan Singgih Prasetyo
Unit / Lembaga	Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Tempat Penelitian	Laboratorium Mikrobiologi FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
<p>DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.</p>	
Mengetahui, Dekan FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang	<p style="text-align: right;">Malang, 13 ¹¹ 2020 Ketua</p> 
 Prof. Dr. Bambang Pardijanto, SpB, SpBP-RE(K) NIPT. 20161201 1 515	 dr. Avin Ainur F, M. Biomed NIP. 19800203 200912 2 002
<p>Keterangan :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan. - Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk <i>soft copy</i>. - Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol). 	