

**PENGARUH REBUSAN BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa*, L. Miers)
TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi* SECARA *in vitro*
(Studi Eksperimental Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*
Dengan Metode *Tube Dilution*)**

Karya Tulis Ilmiah

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan

Untuk Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Praditya Kusuma

01.207.5409

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2011**

KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH REBUSAN BATANG BROTOWALI (*Tinospora crisper*, L. Miers)
TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi* SECARA *in vitro*
(Studi Eksperimental Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*
Dengan Metode *Tube Dilution*)**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Praditya Kusuma

01.207.5409

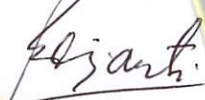
telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal 26 Januari 2011

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Dra. Edijanti Goenarwo, Apt

Anggota Tim Penguji



dr. Masfiyah

Pembimbing II



dr. Hj. Qathrunnada Djam'an, Msi, Med

UNISSULA
معهد سلطان أجونغ الإسلامية

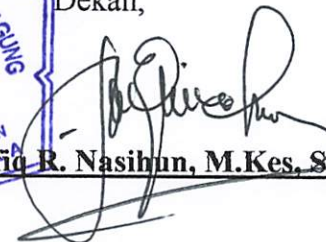
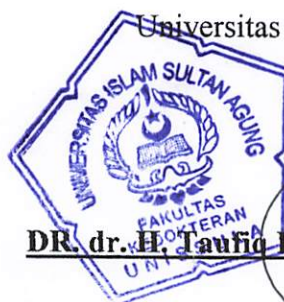
dr. H. Sumarno, M.Si Med., Sp. PA

Semarang, Februari 2011

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



DR. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr. wb

Pertama-tama penulis memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT karena hidayah dan pertolongan-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan karya tulis dengan judul PENGARUH REBUSAN BATANG BROTOWALI (*Tinospora crista*, L. Miers) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi* SECARA *in vitro* ini tepat dengan waktu yang telah ditentukan.

Karya tulis ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran.

Dalam penyusunan karya tulis ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, maka dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. DR. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M. Kes, Sp.And. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung
2. Dra. Edijanti G, Apt. selaku Dosen Pembimbing I dan dr. Hj. Qathrunnada Djam'an, Msi,Med selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan banyak ilmu, perhatian dan memberikan bimbingan dengan sabar dalam penyusunan KTI ini
3. Ibu dr. Masfiah selaku Dosen Penguji I dan bapak dr. Sumarno selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan banyak masukan.
4. Bapak Ibu ku serta adik-adikku yang tercinta atas segala doa,nasehat yang sangat berharga, petunjuk, dukungan, kesabaran, biaya dan restunya yang tulus.
5. Bapak Haning , mbak Ita , mbak Eva dan Pak Kamami yang telah banyak membantu dalam penelitian ini.
6. Maya Sintaningrum atas semua bantuan, kesabaran, motivasi dan semangatnya yang banyak membantu dalam terselesaikannya karya tulis ini.
7. Semua pihak yang turut membantu terselesaikannya karya tulis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penulisan karya tulis ini masih banyak terdapat kekurangan. Karena itu penulis mengharapkan saran-saran dan kritik-kritik yang bersifat membangun.

Akhir kata penulis berharap penulisan karya tulis ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan dapat menjadi bahan acuan yang bermanfaat dikemudian hari. Dan semoga niat baik selalu diridhoi Allah SWT.

Wassalamu'alaikum wr. wb

Semarang, Februari 2011



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
INTISARI	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Salmonella typhi	5
2.1.1 Taksonomi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Fisiologi	6
2.1.4 Struktur Antigen	6
2.1.5 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri	7
2.2 Rebusan Batang Brotowali (<i>Tinospora crispa</i> , L.Miers)	8

2.2.1	Klasifikasi	8
2.2.2	Morfologi	8
2.2.3	Kandungan Kimia	9
2.3	Mekanisme Kerja Brotowali	10
2.4	Mekanisme Kerja Zat Anti Mikroba	11
2.5	Kerangka Teori	13
2.6	Kerangka Konsep	14
2.7	Hipotesis	14
BAB III METODE PENELITIAN		15
3.1.	Jenis dan Rancangan Penelitian	15
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional	15
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	16
3.4.	Instrumen dan Bahan Penelitian	16
3.5.	Cara Penelitian	17
3.5.1	Persiapan Penelitian	17
3.5.2	Cara Penelitian	18
3.5.3	Pelaksanaan Penelitian	20
3.6.	Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.7	Kerangka Kerja	21
3.8.	Analisis Hasil	22
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		23
4.1.	Hasil Penelitian	23
4.2	Pembahasan	26

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN 1	xi
LAMPIRAN 2	xiv
LAMPIRAN 3	xv
LAMPIRAN 4	xv
LAMPIRAN 5	xvii



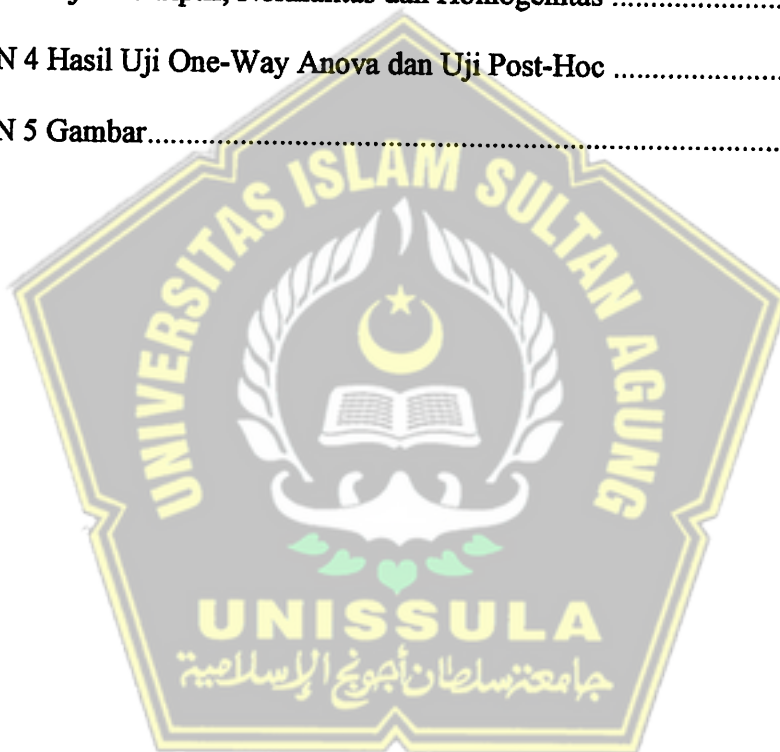
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Jumlah Pertumbuhan Koloni Bakteri <i>Salmonella typhi</i> pada media <i>Salmonella Shigella Agar</i>	23
Tabel 4.2 Data Hasil Uji Normalitas	24
Tabel 4.3 Data Hasil Uji One-way Anova	24
Tabel 4.4 Data Hasil Uji Post-Hoc	25



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 Surat Keterangan Penelitian	xi
LAMPIRAN 2 Hasil Penelitian	xiii
LAMPIRAN 3 Uji Deskriptif, Normalitas dan Homogenitas	xiv
LAMPIRAN 4 Hasil Uji One-Way Anova dan Uji Post-Hoc	xv
LAMPIRAN 5 Gambar.....	xvii



INTISARI

Salmonella thypi adalah bakteri penyebab demam tifoid yang masih menjadi masalah di Indonesia. Batang brotowali yang mengandung tanin, flavonoid dan berberin memperlihatkan adanya khasiat antibakteri dan antipiretik. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa L.Miers*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* secara *invitro*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *post test only control group design*. Penelitian dengan metode dilusi terdiri dari 6 kelompok, terdiri dari kontrol negatif (aquadest), rebusan batang brotowali 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100% yang sudah dicampur bakteri *Salmonella thypi* sebanyak 0,4 ml yang sudah disamakan standar Mc Farland I, kemudian ditanam pada media SSA dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah koloni. Data diuji dengan uji *One-Way Anova* dan uji *Post-Hoc*.

Nilai rerata jumlah koloni tiap kelompok adalah kontrol negatif (156), rebusan 12,5% (158), rebusan 25% (243), rebusan 50% (253), rebusan 75% (263) dan rebusan 100% (586). Hasil uji *One-Way Anova* terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri yang signifikan pada keenam kelompok dengan nilai $p = 0,000$. Hasil Uji *Post-Hoc* antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100% memiliki nilai $p = 0,000$ berarti terdapat perbedaan bermakna dan didapatkan beda signifikan antara kelompok 100% dengan 25% dan 12,5% ; 75% dengan 25% dan 12,5% , tetapi tidak terdapat beda antara kelompok 100% dengan 75% ; kelompok 50% dengan 25% dan 12,5%.

Rebusan batang brotowali berpengaruh terhadap penurunan pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* secara *in vitro*, dan pertumbuhan paling sedikit pada kelompok perlakuan 100%.

Kata kunci : Batang Brotowali (*Tinospora crispa L.Miers*) , *Salmonella thypi*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers) adalah tanaman obat yang sudah tidak asing lagi bagi sebagian masyarakat Indonesia. Brotowali dipercaya dapat menurunkan demam, sakit perut (diare), sakit kuning, sakit pinggang, kencing manis, kudis, dan gatal-gatal (Kresnadi, 2003). Berdasarkan berbagai literatur, brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers) diduga mengandung zat aktif Tanin yang berfungsi untuk inaktivasi enzim bakteri, flavonoid berfungsi merusak membrane sel bakteri dan alkaloid berfungsi membunuh bakteri dan analgetik (Jawetz, 2001). Batang brotowali dapat digunakan sebagai alternatif dalam menyembuhkan penyakit tifoid yang disebabkan bakteri *Salmonella typhi* karena diyakini mengandung antibakteri, antipiretik dan analgetik (Sadiq M.J, dkk, 2009).

Salmonella typhi adalah bakteri penyebab demam tifoid yang masih menjadi masalah di Indonesia (Setiawan, 2003). Obat utama demam tifoid adalah kloramfenikol, namun banyak dilaporkan bahwa *Salmonella typhi* sudah resisten terhadap kloramfenikol (Hadinegoro, 2003). Kotrimoksazol ditemukan sebagai pengganti kloramfenikol dalam mengobati demam tifoid, ternyata kotrimoksazol juga cepat menjadi resisten (Hadinegoro, 2003). Selain itu, Kloramfenikol mempunyai efek toksik terhadap sum-sum tulang (Rasmillah, 2001). Sehingga diharapkan rebusan batang brotowali (*Tinospora*

crispa, *L.Miers*) dapat digunakan sebagai alternatif lain untuk mengobati demam tifoid.

Brotowali mengandung berbagai macam zat, antara lain tanin, flavonoid dan berberin. Tanin memiliki efek antimikroba, cara kerja tanin antara lain dengan melalui reaksi dengan membrane sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi materi genetik (Azizah,2004). Flavonoid merusak membrane sitoplasma yang seharusnya 50 persen dalam keadaan cair sehingga mengakibatkan protein terputus dengan fosfolipid dan flavonoid juga merusak enzim-enzim dan asam amino dalam sel protein dalam membrane sel. Berberin merusak membrane sel yang mengakibatkan kematian bakteri, sehingga mengakibatkan bakteri tidak dapat melangsungkan hidupnya (Jawetz,2001). Dari hasil penelitian sebelumnya yang sejenis dengan penelitian ini yaitu penelitian dengan judul Rendaman Batang Brotowali (*Tinospora crispa*, *L.Miers*) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare (Gastroenteritis) dengan mengukur zona hambat dengan metode difusi secara invitro didapat kadar rendaman batang brotowali yang paling efektif menghambat *Salmonella typhi* adalah kadar 100%.(Sadiq M.J,dkk,2009).

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian tentang efek antimikroba rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa*, *L. Miers*) terhadap *Salmonella typhi* dengan metode tube dilution dengan konsentrasi 12,5% , 25%, 50%, 75%, dan 100% mengingat kloramfenikol dapat menimbulkan resistensi jika digunakan terus menerus. Dari hasil penelitian ini apabila

ternyata rebusan batang brotowali memiliki efektivitas dalam berkurangnya jumlah koloni *Salmonella typhi*, maka diharapkan rebusan brotowali dapat menjadi alternatif yang lebih aman dan terjangkau dalam mengobati penyakit tifoid.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa*, *L. Miers*) berpengaruh terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro*?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa*, *L. Miers*) terhadap berkurangnya jumlah koloni *Salmonella typhi* secara *in vitro*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1 Untuk mengetahui pengaruh rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa*, *L. Miers*) 100%, 75%, 50%, 25% dan 12,5% terhadap berkurangnya jumlah koloni bakteri *Salmonella typhi* secara *in vitro*.

1.3.2.2 Untuk mengetahui perbedaan pengaruh brotowali dalam dosis 100%, 75%, 50%, 25% dan 12,5% terhadap berkurangnya jumlah koloni *Salmonella typhi*.

1.4. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi :

1.4.1 Manfaat untuk penelitian

Hasil penelitian dapat dijadikan informasi bagi penelitian selanjutnya

1.4.2 Manfaat untuk masyarakat

Sebagai pengetahuan awal masyarakat mengenai kegunaan rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers) yang dapat digunakan sebagai obat tifoid.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Salmonella typhi*

Salmonella typhi adalah bakteri yang berasal dari family Enterobacteriaceae, gram negatif dan juga kuman / basil enteric karena hidup pada keadaan normal di dalam usus besar manusia, dapat menyebabkan demam enterik, dan yang terberat adalah demam tifoid (Karsinah dkk, 1994)

2.1.1 Taksonomi

Klasifikasi *Salmonella typhi* menurut Karsinah dkk (1994) adalah

sebagai berikut :

- Kingdom : Prokaryotae
- Divisio : Bacteria
- Classis : Schizomyctes
- Ordo : Eubacteriales
- Subordo : Eubacteriaceae
- Familia : Enterobacteriaceae
- Genus : *Salmonella*
- Spesies : *Salmonella typhi*

2.1.2 Morfologi

Bakteri ini berbentuk batang, tidak berspora, pada pewarnaan gram bersifat negatif gram, ukuran 1-3,5 um x 0,5-0,8 um, besar koloni rata-rata 2-4 mm, mempunyai flagel peritrikih (Suharto dkk, 1994).

Salmonella typhi dapat bertahan lama dalam air membeku (Brooks,2005)

2.1.3 Fisiologi

Kuman ini tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob pada suhu 15-41°C (suhu pertumbuhan optimum 37,5°C) dan pH pertumbuhan 6-8. Kuman ini mati pada suhu 56°C dan juga pada keadaan kering. Kuman ini bisa bertahan hidup 4 hari di dalam air dan hidup subur pada medium yang mengandung garam empedu. (Karsinah dkk, 1994)

Pada umumnya isolat kuman *Salmonella* dikenal dengan sifat-sifat: gerak positif, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, DNase, fenilalanin deaminase, urease, Voges Proskauer, reaksi fermentasi terhadap sukrose, laktose, adonitol serta tidak tumbuh dalam larutan KCN. (Karsinah dkk, 1994).

2.1.4 Struktur Antigen

Salmonella sp. mempunyai 3 macam antigen, Antigennya yaitu Antigen O = Ohne Hauch =somatik antigen (tidak menyebar), Antigen H = Hauch (menyebarkan) terdapat pada flagella dan bersifat termolabil dan antigen Vi = Kapsul; merupakan kapsul yang menyelimuti tubuh kuman dan melindungi O antigen terhadap fagositosis.

Antigen-antigen tersebut dapat menimbulkan pembentukan 3 macam antibody pada manusia yang disebut dengan agglutinin. (Rampengan, 1990)

Menurut Joklik dkk (1992) Salmonella menghasilkan berbagai macam toksin yaitu endotoksin berperan dalam fase bakteremia yang akan mengakibatkan terjadinya demam pada demam tifoid pada saat bakteri lisis, eksotoksin tidak terlalu kelihatan efeknya bagi tubuh manusia, cytotoksin berperan dalam proses invasi dan penghancuran sel, terdapat pada permukaan membran luar pada bakteri.

2.1.5 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri

Menurut Jawetz dkk (2001), banyak faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba antara lain:

1. pH Lingkungan

Mikroorganisme pada bahan pH asam dapat dibunuh pada suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan mikroorganisme yang sama dalam lingkungan basa.

2. Waktu inkubasi

Pada beberapa hal, mikroorganisme tidak dimatikan tapi hanya dihambat pada pemaparan singkat terhadap antimikroba. Inkubasi lebih lama yang terus-menerus, memberi kesempatan lebih besar bagi mutan resisten untuk tumbuh dan membentuk populasi yang resisten. Perbanyakkan bakteri resisten semakin

meningkat, bersama makin menurunnya aktivitas antimikroba selama inkubasi

3. Temperatur

Selain berpengaruh pada laju pertumbuhan, temperatur yang ekstrim dapat membunuh mikroorganisme. Panas yang ekstrim digunakan untuk sterilisasi dan dingin yang ekstrim juga dapat membunuh mikroba, meskipun tidak aman untuk sterilisasi.

2.2 Rebusan Batang Brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers)

2.2.1 Klasifikasi

Menurut Kresnady (2003) Klasifikasi tanaman brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotylodena
Bangsa	: Ranunculales
Suku	: Manispermaceae
Marga	: <i>Tinospora</i>
Jenis	: <i>Tinospora crispa</i> L.Miers

2.2.2 Morfologi

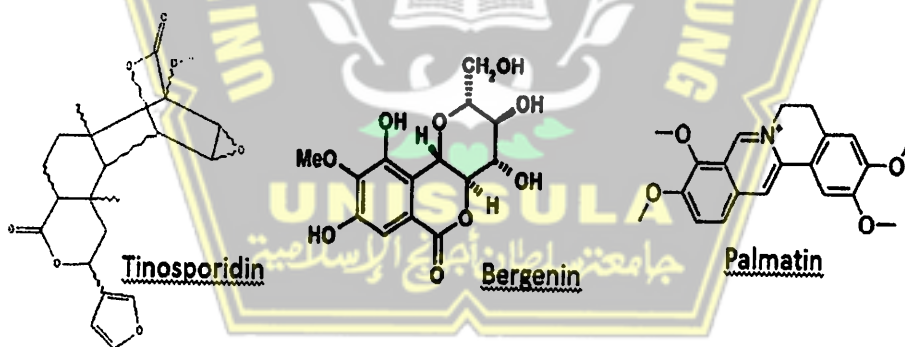
Tanaman brotowali biasa ditemukan di hutan, diladang dan juga di pekarangan. Tanaman brotowali ini hidup di tempat terbuka yang terkena sinar matahari. Tanaman ini memiliki daun, batang dan bunga. (Dalimartha, 2008)

Batang brotowali sebesar jari kelingking, bercabang-cabang berbintil-bintil, berwarna hijau dan pahit. Panjang batang bisa mencapai 2,5 meter. (Dalimartha,2008)

2.2.3 Kandungan Kimia

Brotowali mengandung senyawa kimia antara lain tanin, flavonoid dan alkaloid yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Kandungan senyawa kimia brotowali tersebut terdapat di seluruh bagian tanaman, dari akar, batang dan daun.(Dalimartha, 2008)

Berdasarkan berbagai literatur, tanaman brotowali secara umum mengandung berbagai senyawa kimia, antara lain alkaloid, damar lunak, pati, glikosida, pikroretosid, zat pahit pikroretin, berberin, palmatin kolumbin dan pikrotoksin. (Kresnadi,2003)



Gambar 1. Rumus Kimia Tinosporidin, Bergenin dan Palmatin

Zat aktif yang terkandung dalam batang brotowali, antara lain :

a. Tanin

Tanin memiliki efek antimikroba, cara kerja tanin antara lain dengan melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi materi genetik. (Azizah,2004)

b. Flavonoid

Mirisetin, kuersetin dan kaempferol merupakan senyawa flavonoid yang mampu menghambat perumbuhan *S.aureus* dan *E.coli*. Selain itu, isoflavon juga disebut-sebut memiliki daya antibakteri terhadap beberapa bakteri (Azizah,2004). Flavonoid menyebabkan kerusakan asam amino dalam protein dalam membran sel. (Jawetz,2001)

c. Alkaloid

Berberin merupakan golongan terbesar dari fenol. Fenol dan persenyawaannya merupakan unsur antikuman yang kuat pada konsentrasi larutan air 1-2%. Aktivitas berberin menyebabkan kerusakan membran sel,mengakibatkan bakteri tidak dapat melangsungkan hidupnya (Jawetz, 2001)

2.3 Mekanisme Kerja Brotowali

Tanin berfungsi dalam mengganggu replikasi DNA bakteri, dengan cara bereaksi dengan basa purin dan pirimidin dalam DNA dan bereaksi dengan enzim bakteri sehingga mengganggu replikasi DNA bakteri. Tanin bekerja menghambat aktivitas enzim,sehingga aktivitas enzim ini yang melibatkan telomere yaitu suatu urutan DNA khusus yang dibawa pada ujung kromosom eukariotik yang tadinya diperlukan agar replikasi berlangsung,akan mengalami disfungsi. (Azizah,2004)

Flavonoid merusak membran sitoplasma yang seharusnya 50 persen dalam keadaan cair sehingga mengakibatkan protein terputus dengan

fosfolipid dan flavonoid juga merusak enzim-enzim dan asam amino dalam protein dalam membran sel. (Kresnadi, 2003)

Berberin merusak membran sel yang mengakibatkan kematian bakteri, sehingga mengakibatkan bakteri tidak dapat melangsungkan hidupnya. (Kresnadi, 2003)

2.4 Mekanisme Kerja Zat Antimikroba

Menurut Goodman dan Gilman (2001), mekanisme kerja antimikroba dikelompokkan dalam 7 kelompok utama, yaitu:

2.4.1 Penghambatan sintesis dinding sel

Bakteri mempunyai lapisan luar yaitu dinding sel untuk mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri, yang mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi. Tekanan internal tersebut tiga hingga lima kali lebih besar pada bakteri gram positif daripada gram negatif. Trauma pada dinding sel atau penghambatan pembentukannya akan menimbulkan lisis pada sel.

2.4.2 Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Sitoplasma semua sel hidup akan dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai barier permeabilitas selektif, membawa fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian.

2.4.3 Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

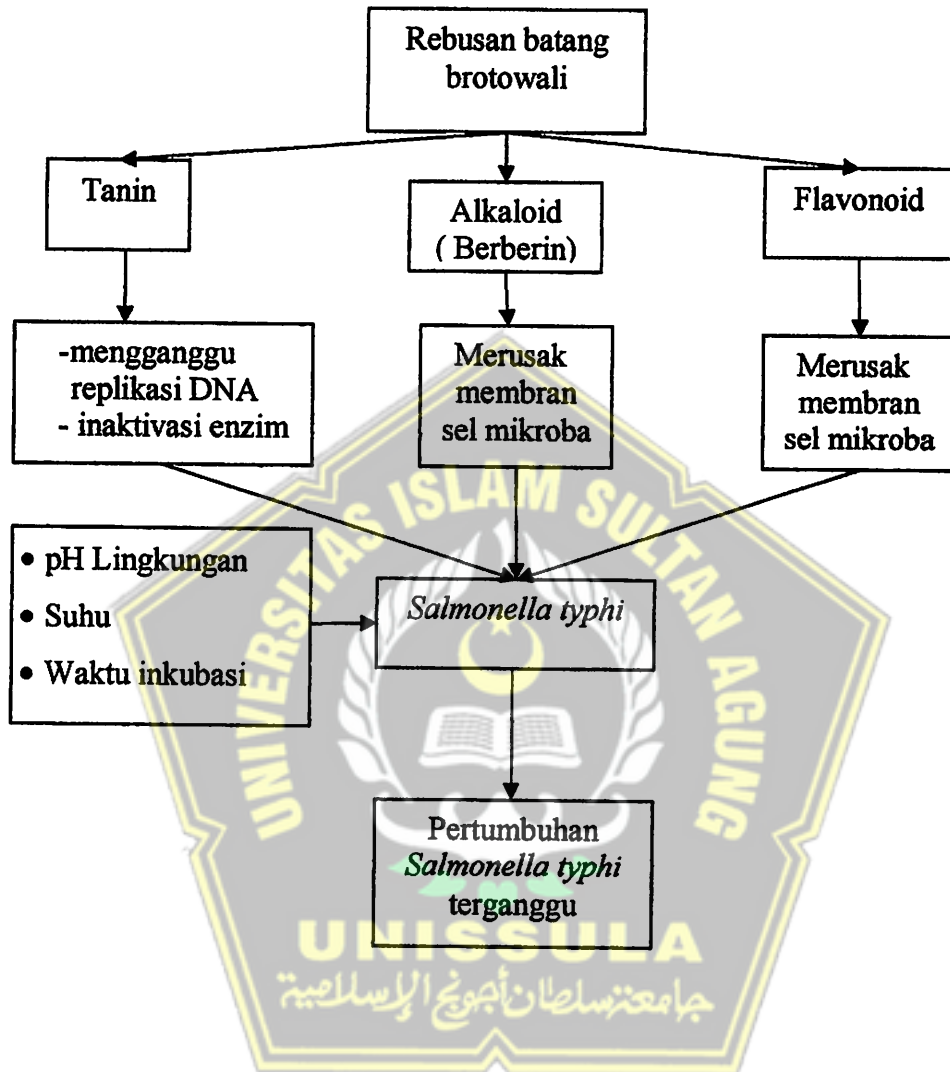
Sejumlah unsur antimikroba bekerja dengan bereaksi dengan DNA untuk mencegah replikasi atau transkripsinya dengan jelas akan menghambat pertumbuhan dan pembelahan sel.

2.4.4 Penghambatan terhadap sintesis protein

Suhu dan konsentrasi tinggi zat kimia dapat mendenaturasi protein yang merupakan komponen esensial bagi berlangsungnya hidup sel. Senyawa penghambat sintesis protein juga dapat menyebabkan kesalahan dalam pembacaan kode pada mRNA sehingga protein tidak terbentuk, dan sel akan mati.



2.5 Kerangka Teori



2.6 Kerangka Konsep



2.7 Hipotesis

Ada pengaruh rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro*.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *Post test only control group design*.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variable Penelitian :

3.2.1.1. Variabel Bebas (Independent variabel)

- Rebusan Batang Brotowali (*Tinospora crispa, L.Miers*)

3.2.1.2. Variabel terikat (Dependent variabel)

- Pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1 Rebusan Brotowali (*Tinospora crispa, L.Miers*)

Rebusan Brotowali adalah rebusan batang brotowali dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, dan 12,5%

Skala : Ordinal

3.2.2.2. Pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*

Pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* adalah koloni *Salmonella typhi* dalam *Salmonella Shigella Agar* yang berbentuk bulat dan berwarna hitam yang dihitung jumlah koloninya dengan metode tube dilution.

Skala : Rasio

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang digunakan adalah bakteri *Salmonella typhi* koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung Semarang bulan Desember. Sedangkan sampel penelitiannya adalah bakteri *Salmonella typhi* diambil dari suatu biakan dengan menggunakan ose sebanyak satu koloni. Kemudian dimasukkan 0,5 ml Heart Infosion Broth (HIB) cair dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian suspensi tadi diencerkan dengan aquadest steril sampai kekeruhan tertentu sesuai dengan standard Mc Farland I yaitu mengandung kuman 3×10^8 CFU/ml.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1 Instrumen yang digunakan meliputi :

3.4.1.1 Tabung reaksi dan rak tabung

3.4.1.2 Cawan petri

3.4.1.3 Autoklave

3.4.1.4 Incubator

3.4.1.5 Ose

3.4.1.6 Lampu Spiritus

3.4.1.7 Erlen meyer

3.4.1.8 Kapas

3.4.2 Bahan yang digunakan meliputi:

3.4.2.1. Isolat bakteri *Salmonella typhi* dengan kekeruhan setara dengan standart Mac Farland I yaitu sebanyak 3×10^8 bakteri /ml

- 3.4.2.2. Rebusan batang brotowali dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50% ,75% dan 100%
- 3.4.2.3. Salmonella Shigella Agar
- 3.4.2.4. Heart Infusion Broth (HIB)
- 3.4.2.5. Aquades steril
- 3.4.2.6. Nutrient agar plate

3.5. Cara Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

- 3.5.1.1 Mensterilkan alat dengan metode autoklave selama kurang lebih 30-45 menit.
- 3.5.1.2 Menguji sterilitas rebusan brotowali dengan menggunakan media Nutrient Agar Plate (masing-masing diulang sebanyak 2 kali). Dengan cara, masukkan 3 ml cairan rebusan brotowali ke dalam masing-masing media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dalam waktu 24 jam.
- 3.5.1.3 Penelitian ini menggunakan metode Tube Dilution. Bakteri *Salmonella typhi* diambil dari suatu biakan dengan menggunakan ose sebanyak satu koloni. Kemudian dimasukkan 0,5 ml Heart Infusion Broth (HIB) cair dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian suspensi tadi diencerkan dengan aquadest steril sampai kekeruhan tertentu sesuai dengan standard Mc Farland I yaitu 3×10^8 CFU/ml. Cara Pembuatan Standard Mc Farland I yaitu dengan

mencampurkan 0,3 ml Barium Chlorida dengan 9,7 ml asam belerang.

3.5.1.3 Pembuatan Rebusan Batang Brotowali Konsentrasi 100%

Batang brotowali yang masih segar dibersihkan, dikeringkan dan ditimbang sebanyak 50 gr, ditambah air sebanyak 500 ml (sampai semua batang brotowali terendam air). Bahan dimasukkan ke dalam becker glass dan direbus dengan suhu sekitar 100°C selama 60 menit. Kemudian hasilnya disaring dengan kertas saring. Akan didapat rebusan batang brotowali konsentrasi 100%

3.5.2 Cara Penelitian

Pembuatan konsentrasi rebusan batang brotowali.

Volume-volume tersebut ditentukan dengan persamaan rumus :

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

Keterangan :

V_1 : Volume awal

N_1 : Konsentrasi awal

V_2 : Volume akhir

N_2 : Konsentrasi akhir

3.5.2.1 Rebusan batang brotowali konsentrasi 12,5% sebanyak 20 ml diperoleh dengan dilakukan pengenceran sebagai berikut :

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 12,5\% \cdot 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

3.5.2.1.1 Masukkan 2,5 ml rebusan batang brotowali ke dalam gelas ukur

3.5.2.1.2 Tambahkan 17,5 ml aquadest ke dalam gelas ukur tersebut

3.5.2.2 Rebusan batang brotowali konsentrasi 25% sebanyak 20 ml diperoleh dengan pengenceran sebagai berikut :

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 25\% \cdot 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

3.5.2.2.1 Masukkan 5 ml rebusan batang brotowali ke dalam gelas ukur

3.5.2.2.2 Tambahkan 15 ml aquadest ke dalam gelas ukur

3.5.2.3 Rebusan batang brotowali konsentrasi 50% sebanyak 20 ml diperoleh dengan dilakukan pengenceran sebagai berikut :

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 50\% \cdot 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

3.5.2.3.1 Masukkan 10 ml rebusan batang brotowali ke dalam gelas ukur

3.5.2.3.2 Tambahkan 10 ml aquadest ke dalam gelas ukur tersebut

3.5.2.4 Rebusan batang brotowali konsentrasi 75% sebanyak 20 ml diperoleh dengan dilakukan pengenceran sebagai berikut :

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 75\% \cdot 20 \text{ ml}$$

$$V_1 = 15 \text{ ml}$$

3.5.2.4.1 Masukkan 15 ml rebusan batang brotowali ke dalam gelas ukur

3.5.2.4.2 Tambahkan 5 ml aquadest ke dalam gelas ukur tersebut.

3.5.3 Pelaksanaan Penelitian

3.5.3.1 Ambil 0,1 ml (2 tetes) bakteri *Salmonella typhi* dari biakan standart Mc Farland I 3×10^8 menggunakan ose, masukkan ke dalam tabung reaksi berisi batang brotowali konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100% dan juga tabung berisi aquadest untuk kontrol negatif. Aduk sampai merata.

3.5.3.2 Setelah itu, ambil 0,4 ml dengan mikro pipet dari masing-masing tabung reaksi, kemudian teteskan, kemudian ratakan pada media SSA dalam cawan petri dengan ose.

3.5.3.3 Inkubasi lagi semua cawan petri tersebut selama 24 jam dengan suhu 37°C

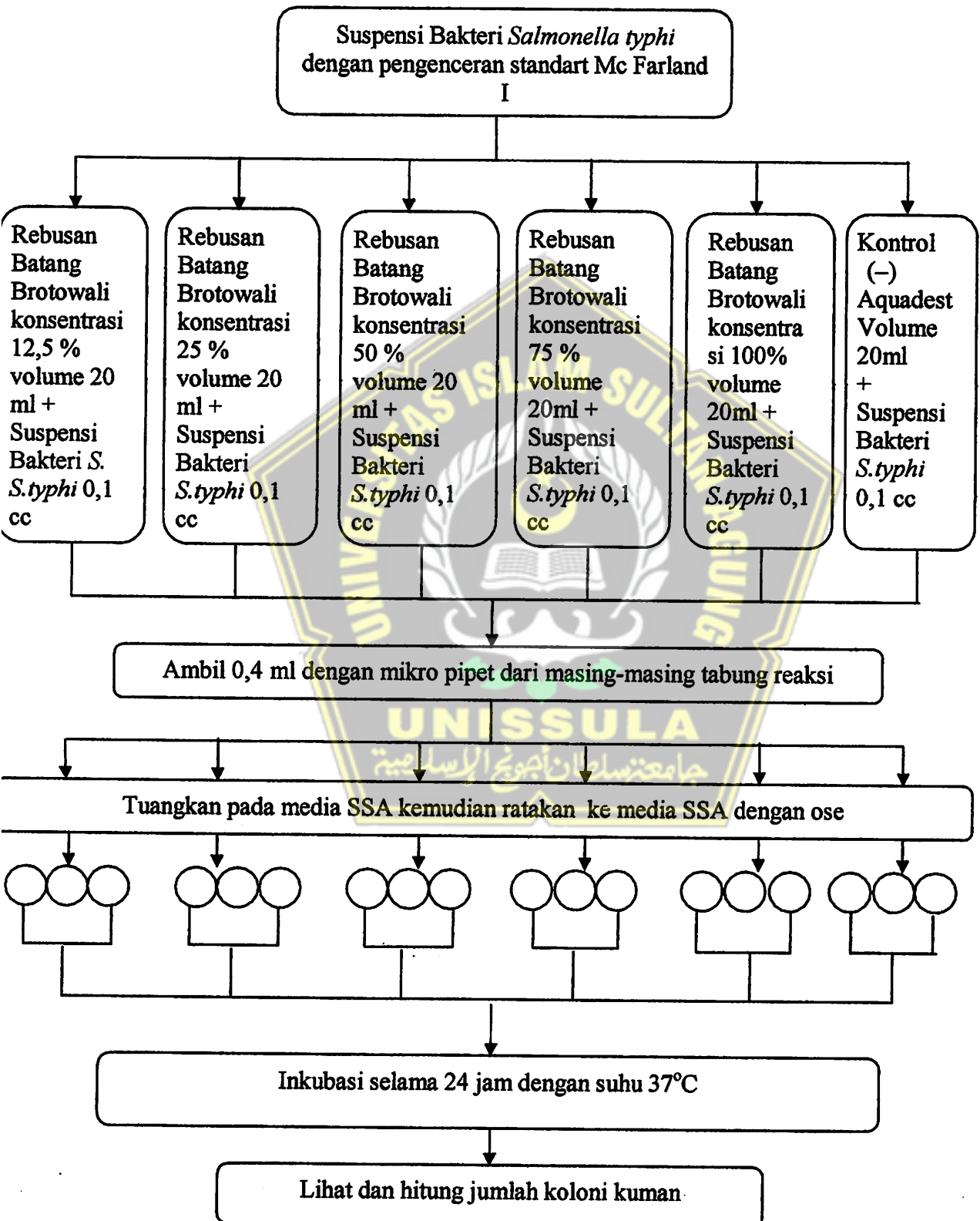
3.5.3.4 Lihat dan hitung jumlah koloni kuman *Salmonella typhi* pada masing-masing medium.

3.5.3.5 Dilakukan pengulangan untuk tiap konsentrasi dan kontrol (aquadest steril) sebanyak 3 kali.

3.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Waktu penelitian dilaksanakan bulan Desember 2010.

3.7. Kerangka Kerja



3.8. Analisis Hasil

Data yang terkumpul sebelumnya dilakukan Edit, Coding, Entry dan Cleaning (ECEC). Kemudian diuji deskriptif untuk melihat mean, median dan standar deviasi. Distribusi data diuji Shapiro-wilk untuk mengetahui data berdistribusi normal dan untuk homogenitas varian data diuji dengan Levene's Test. Data berdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji parametrik One-way Anova, dilanjutkan dilakukan uji Post Hoc.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 18 medium yang terdiri dari kelompok kontrol negatif sebanyak 3 medium dan 5 kelompok yang diberi perlakuan rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa L.Miers*) dalam berbagai konsentrasi (12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100%) masing-masing sebanyak 3 medium dengan menggunakan metode pengenceran (dilusi). Penelitian ini dilakukan pada tanggal 27 – 29 Desember 2010 di Laboratorium Universitas Islam Sultan Agung dan didapat hasil sebagai berikut :

Tabel 4.1 Jumlah Pertumbuhan Koloni Bakteri *Salmonella typhi* pada media *Salmonella Shigella Agar*

Percobaan	Pengenceran dan Jumlah Koloni					
	100%	75%	50%	25%	12,5%	Kontrol (-)
1	146	117	194	322	332	588
2	116	134	237	201	256	593
3	208	164	299	236	201	577
Mean	156	158	243	253	263	586

Suatu data dikatakan terdistribusi normal bila pada uji normalitas didapatkan nilai signifikasi (p) $> 0,05$ dan dikatakan homogen apabila pada uji homogenitas didapatkan nilai signifikasi (p) $> 0,05$. Uji data yang dipakai adalah *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel data kecil (< 50) (Dahlan,2006).

Tabel 4.2 Data Hasil Uji Normalitas

Kelompok	Shapiro-Wilk
100%	0.622
75%	0.571
50%	0.801
25%	0.498
12,5%	0.824
Kontrol (-)	0.593

Dari hasil uji normalitas di atas menunjukkan bahwa dengan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai signifikansi (p) $> 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa semua kelompok perlakuan dan kontrol negatif semua terdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk menentukan apakah data homogen atau tidak. Uji homogenitas dengan *Levene's test* didapatkan nilai $p = 0,215$ ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji parametric One-way Anova (Dahlan,2006)

Tabel 4.3 Data Hasil Uji One-way Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	377396.944	5	75479.4	31.301	0
Within Groups	28936.667	12	2411.39		
Total	406333.611	17			

Dengan Uji *One-way Anova* didapatkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa data memiliki perbedaan yang signifikan. Untuk

mengetahui perbedaan masing-masing kelompok dilanjutkan *Uji Post-Hoc* (Dahlan,2006)

Tabel 4.4 Data Hasil Uji Post-Hoc

Kelompok	P	Keterangan
Kontrol (-) dengan 100%	0,000	Signifikan
Kontrol (-) dengan 75%	0,000	Signifikan
Kontrol (-) dengan 50%	0,000	Signifikan
Kontrol (-) dengan 25%	0,000	Signifikan
Kontrol (-) dengan 12,5%	0,000	Signifikan
100% dengan 75%	0,968	Tidak signifikan
100% dengan 50%	0,052	Tidak signifikan
100% dengan 25%	0,029	Signifikan
100% dengan 12,5%	0,0219	Signifikan
75% dengan 50%	0,055	Tidak signifikan
75% dengan 25%	0,03	Signifikan
75% dengan 12,5%	0,023	Signifikan
50% dengan 25%	0,751	Tidak signifikan
50% dengan 12,5%	0,633	Tidak signifikan
25% dengan 12,5%	0,871	Tidak signifikan

Dari hasil *Uji Post-Hoc* data yang menunjukkan nilai $p = < 0,05$ artinya terdapat perbedaan yaitu antara kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan. Juga didapatkan beda signifikan antara kelompok 100% dengan 25% dan 12,5%, begitu juga pada kelompok 75% dengan 25% dan 12,5% juga terdapat beda secara signifikan yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$. Tidak terdapat beda secara signifikan antara kelompok 100% dengan kelompok 75% ($p = 0,968$). Pada kelompok 50% tidak terdapat beda secara signifikan dengan kelompok konsentrasi di atasnya (100% dan 75%) maupun dengan kelompok dibawahnya (25% dan 12,5%) yang ditunjukkan dengan nilai $p > 0,05$.

Hasil *Uji Post-Hoc* diatas diketahui bahwa mulai dari konsentrasi 12,5% sampai dengan konsentrasi 100% didapat hasil berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol (-). Hal ini menunjukkan bahwa mulai dari konsentrasi 12,5% sudah efektif menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*, tetapi dari semua kelompok tersebut yang paling efektif dalam menghambat *Salmonella typhi* adalah konsentrasi 100%.

4.2 Pembahasan

Dari hasil penelitian diketahui bahwa pemberian rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa L.Miers*) memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* mulai dari konsentrasi 12,5% hingga konsentrasi 100% dan pada konsentrasi 100% memiliki efek paling besar dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*.

Dari hasil rata-rata jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella typhi* terjadi penurunan jumlah koloni seiring dengan penambahan konsentrasi rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa L.Miers*). Hal ini mendukung teori dari Kresnadi (2003) yang menyatakan bahwa kandungan batang brotowali yaitu tanin, flavonoid dan berberin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

Tanin berfungsi dalam mengganggu replikasi DNA bakteri, dengan cara bereaksi dengan basa purin dan pirimidin dalam DNA dan bereaksi dengan enzim bakteri sehingga mengganggu replikasi DNA bakteri. Tanin bekerja menghambat aktivitas enzim, sehingga aktivitas enzim ini yang melibatkan telomere yaitu suatu urutan DNA khusus yang dibawa pada ujung

kromosom eukariotik yang tadinya diperlukan agar replikasi berlangsung, akan mengalami disfungsi. (Azizah, 2004)

Flavonoid merusak membran sitoplasma yang seharusnya 50 persen dalam keadaan cair sehingga mengakibatkan protein terputus dengan fosfolipid dan flavonoid juga merusak enzim-enzim dan asam amino dalam protein dalam membran sel. (Kresnadi, 2003)

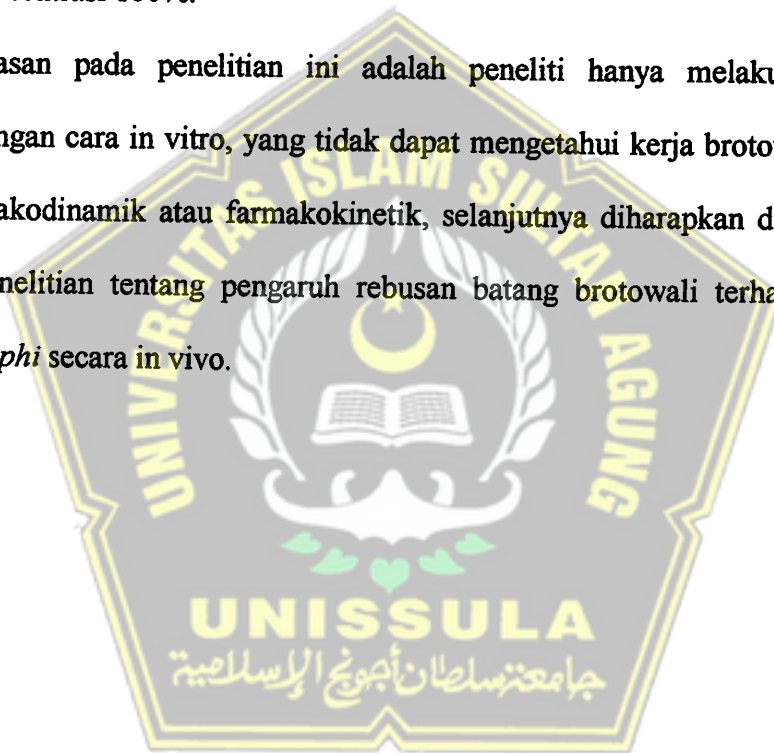
Berberin merusak membran sel yang mengakibatkan kematian bakteri, sehingga mengakibatkan bakteri tidak dapat melangsungkan hidupnya. (Kresnadi, 2003)

Penelitian lain yang sejenis yaitu penelitian yang dilakukan Sadiq (2009) dengan judul Rendaman Batang Brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare (Gastroenteritis) dengan mengukur zona hambat dengan metode difusi secara invitro didapat penurunan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* seiring dengan penambahan konsentrasi rendaman batang brotowali dan kadar rendaman batang brotowali yang paling efektif menghambat *Salmonella typhi* adalah kadar 100%. Beda dengan penelitian ini adalah bahwa pada penelitian ini peneliti menggunakan metode yang berbeda yaitu dengan hitung jumlah koloni dengan metode dilusi dan dengan konsentrasi yang berbeda pula yaitu 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100%.

Dari hasil penelitian ini didapatkan data bahwa konsentrasi rebusan batang brotowali yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan metode hitung jumlah koloni adalah konsentrasi

rebusan batang brotowali 100%, dan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Sadiq (2009) dengan judul Rendaman Batang Brotowali (*Tinospora crispa*, L.Miers) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare (Gastroenteritis) dengan mengukur zona hambat dengan metode difusi secara *in vitro*, didapat konsentrasi rendaman batang brotowali yang paling efektif sebagai penghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare juga pada konsentrasi 100%.

Keterbatasan pada penelitian ini adalah peneliti hanya melakukan penelitian dengan cara *in vitro*, yang tidak dapat mengetahui kerja brotowali sebagai farmakodinamik atau farmakokinetik, selanjutnya diharapkan dapat dilakukan penelitian tentang pengaruh rebusan batang brotowali terhadap *Salmonella typhi* secara *in vivo*.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

- 5.1.1 Ada pengaruh pemberian rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa L.Miers*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.
- 5.1.2 Ada perbedaan jumlah koloni *Salmonella typhi* yang diberi rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa L.Miers*) dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100%.
- 5.1.3 Rebusan batang brotowali (*Tinospora crispa L.Miers*) dengan konsentrasi 100% memiliki daya hambat paling besar dibanding konsentrasi yang lain dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro*.

5.2. Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri rebusan batang brotowali dengan menggunakan dosis yang lebih kecil.
- 5.2.2 Penelitian lanjutan tentang pengaruh rebusan batang brotowali sebagai anti bakteri secara *in vivo*.
- 5.2.3 Perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri rebusan batang brotowali dengan menggunakan sediaan lain yang belum pernah diteliti sebelumnya seperti ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

Ajizah, Aulia, 2004. *Sensitivitas Salmonella Thypirium Terhadap Ekstrak daun Psidium guajava*
http://www4.webng.com/bioscientiae/v1n1/v1n1_ajizah.pdf

Brooks, Geo.F, Butel, Janet. S, Morse, Stephen A, 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*, edisi 1, Salemba Medika, Jakarta, 1, 364-369

Dahlan, M. Sopiudin.2006, *Statistika Untuk Kedokteran Dan Kesehatan*, cetakan II, PT.Arkans, Jakarta, 1-13,85-97.

Dalimartha, 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Pustaka Bunda ; Jakarta

Djoko W. 2006. *Demam Tifoid*. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III Edisi IV. Departemen Ilmu penyakit Dalam FKUI. Jakarta. 1774-1779.

Goodman dan Gilman, 2001, *The Pharmacological Basic of Teraupetics*, The Mac Grawhill Companies Inc, USA, 1143-1170.

Hadinegoro, Sri.R, 22-7-2003. Masalah Multi Drug Resistance pada Demam Tifoid.
http://kalbe.co.id/files/cdk/files/cdk_124_penyakit_infeksi.pdf

Jawetz., et al. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Rajawali Press.

Joklik, Willet, Amos, Wilfert, 1992, *Zinsser Mikrobiologi*, Applleton & Lange, USA, 556-565.

Karsinah,H.M Suharto,1994. *Buku Ajar Mikrobiologi kedokteran*, Edisi revisi, FKUI, Jakarta, hal 168-173

Kresnadi, Budi. 2003. *Khasiat dan Manfaat Brotowali*. Jakarta: Agromedia

Rampengan TH, Laurentz IR, 1990, *Penyakit infeksi Trofik pada Anak*, EGC, Jakarta, 53-73.

Rasmillah 12-12-2001 Epidemiologi Demam Tifoid.
http://kalbe.co.id/files/cdk/files/06_EpidemiologiDemamTifoid.pdf/06_EpidemiologiDemamTifoid.html

Sadiq, Muhammad J, 2009 *Rendaman Batang Brotowali (Tinispora crispa L.Miers) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare (Gastroenteritis)*

Setiawan, B. 22-7-2003. Masalah Multi Drug Resistance pada Demam Tifoid.
http://kalbe.co.id/files/cdk/files/cdk_124_penyakit_infeksi.pdf

Sudarsono, dkk, 1996. *Tumbuhan Obat*. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Suharto, H.M, 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi kedokteran*, Edisi revisi, FKUI, Jakarta, hal 168-173

