

**PENGARUH EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA  
LUKA PENDERITA DIABETES MELLITUS SECARA INVITRO**

**KARYA TULIS ILMIAH**



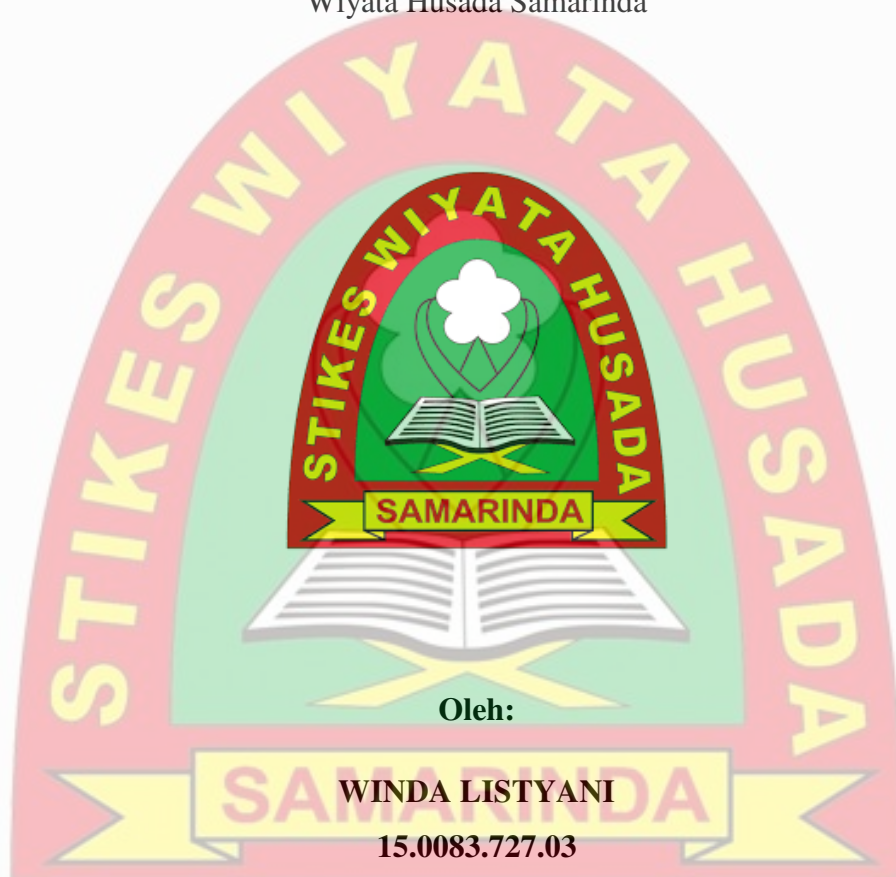
**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN WIYATA HUSADA  
SAMARINDA**

**2018**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA  
LUKA PENDERITA DIABETES MELLITUS SECARA INVITRO**

**KARYA TULIS ILMIAH**

Untuk Memenuhi Persyaratan Mencapai Derajat Diploma Analis Kesehatan  
Pada Program Studi DIII Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan  
Wiyata Husada Samarinda



**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN WIYATA HUSADA  
SAMARINDA**

**2018**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA  
LUKA PENDERITA DIABETES MELLITUS SECARA INVITRO**

**KARYA TULIS ILMIAH**

Oleh:

**WINDA LISTYANI  
15.0083.727.03**

Telah Dipertahankan didepan Dewan Penguji  
Pada Tanggal 28 Mei 2018

Penguji I,

Kamil, S.KM, M.Si  
NIK : 19750815.199403.1002

Penguji II,

Siti Raudah, S.Si, M.Si  
NIK : 1130728510012

Penguji III,

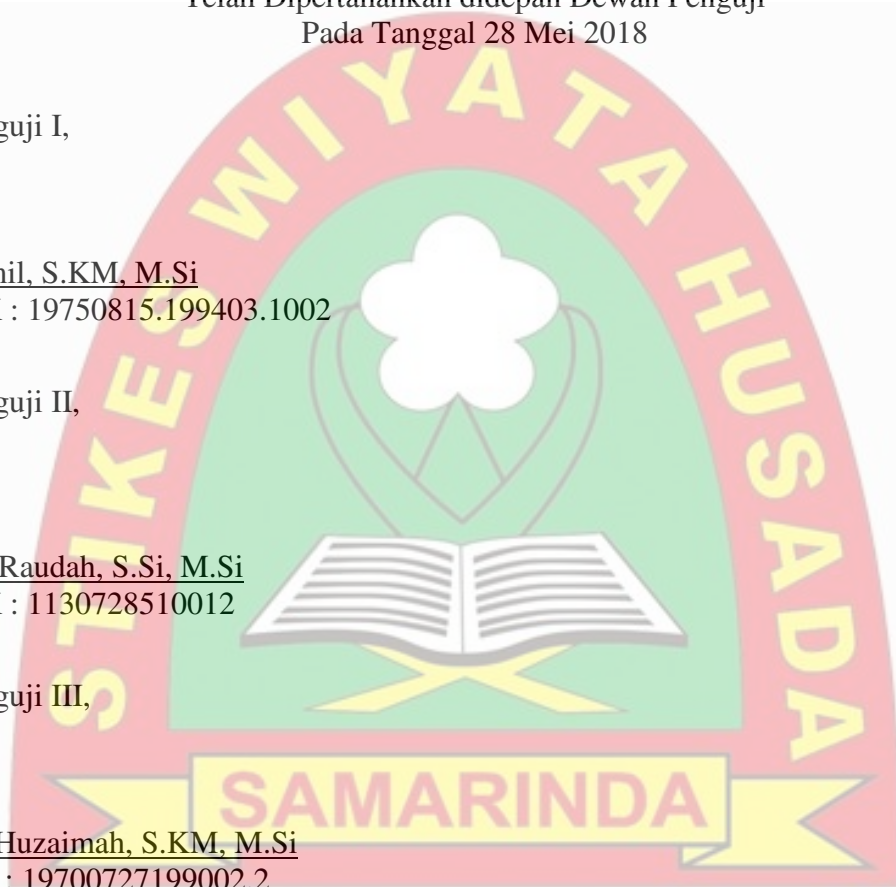
Hj. Huzaimah, S.KM, M.Si  
NIP : 19700727199002.2

Mengesahkan  
Ketua STIKES Wiyata Husada Samarinda

Mengetahui,  
Ketua Program Studi  
Analisis Kesehatan

Ns. Edy Mulyono, S.Pd, S.Kep, M.Kep  
NIK. 113072.7413045

Siti Raudah, S.Si, M.Si  
NIK : 1130728510012



## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Winda Listyani

NIM : 15.0083.727.03

Program Studi : Program Studi D III Analis Kesehatan STIKES  
Wiyata Husada Samarinda

Judul Laporan Tugas Akhir : Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Luka Penderita Diabetes Mellitus Secara Invitro.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri. Bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini adalah hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Samarinda, 28 Mei 2018  
Yang Membuat Pernyataan

Winda Listyani  
NIM: 15.0083.727.03

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, berkat Rahmat dan BimbinganNya saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Luka Penderita Diabetes Mellitus Secara Invitro”**. Karya Tulis Ilmiah ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Diploma Analis Kesehatan (Amd. AK) pada Program Studi DIII Analis Kesehatan STIKES Wiyata Husada Samarinda.

Bersama ini perkenankan saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya dengan hati yang tulus kepada :

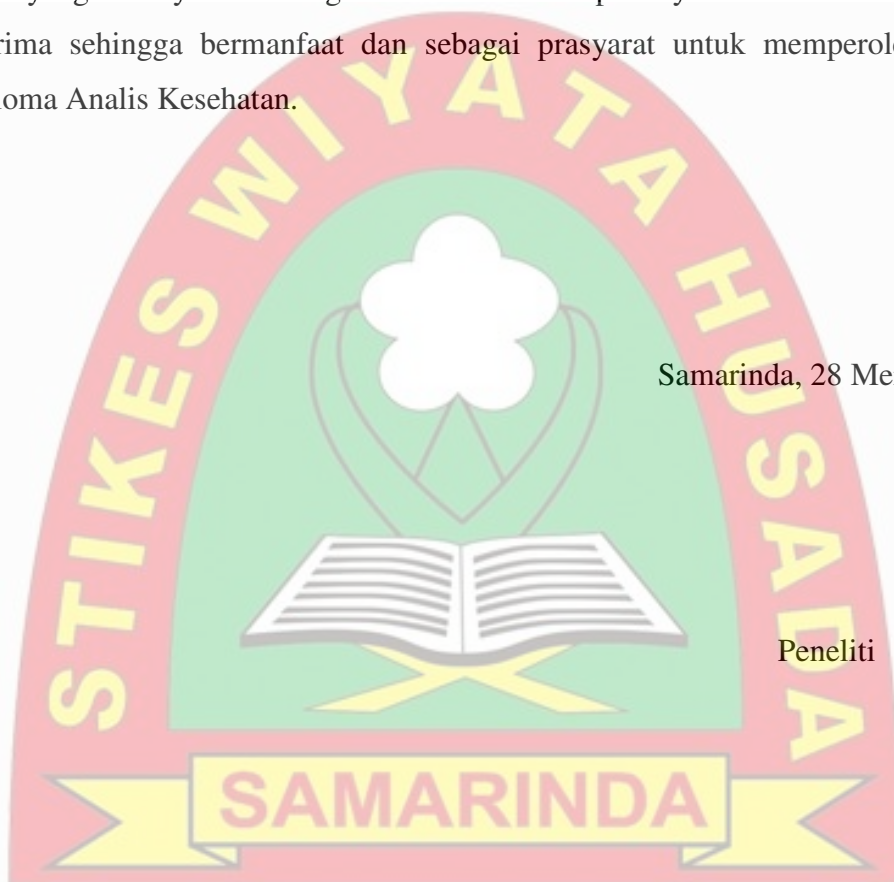
1. Bapak Mujito Hadi, MM, selaku Ketua Yayasan STIKES Wiyata Husada Samarinda.
2. Bapak Ns. Edy Mulyono, S.Kep., M.Kep., selaku Ketua STIKES Wiyata Husada Samarinda.
3. Ibu Siti Raudah, S.Si., M.Si, selaku Ketua Program Studi D-III Analis Kesehatan STIKES Wiyata Husada Samarinda.
4. Ibu Siti Raudah, S.Si., M.Si, selaku Pembimbing 1, terima kasih atas saran dan semua ilmu yang telah diberikan, sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Ibu Hj. Huzaimah, S.KM., M.Si, selaku Pembimbing 2, terima kasih atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan kepada saya, sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Bapak Kamil, S.KM., M.Si, selaku Penguji Utama.
7. Orang tua tercinta (Bapak Priyono dan Ibu Patmi) yang selalu mendoakan dan selalu memberi semangat serta memberikan motivasi selama menjalankan studi di STIKES Wiyata Husada Samarinda.
8. Sahabat-sahabat seperjuangan (Aulia, Dilla, Fithrah, Meilinda, Nita, Atin) terima kasih selalu menemani saat suka maupun duka. Tiada kata terindah selain hanya ucapan terima kasih ini yang dapat saya ucapkan.

9. Teman-teman seperjuangan Program Studi DIII Analis Kesehatan khususnya kelas 3 A yang selalu bersama-sama dalam suka maupun duka semenjak semester 1 hingga memasuki masa-masa akhir kuliah.

Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan serta rahmat-Nya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan sehingga memerlukan saran dan kritik yang sifatnya membangun. Penulis berharap Karya Tulis Ilmiah ini dapat diterima sehingga bermanfaat dan sebagai prasyarat untuk memperoleh gelar Diploma Analis Kesehatan.

Samarinda, 28 Mei 2018

Peneliti



## LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

---

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Winda Listyani

NIM : 15.0083.727.03

Program Studi : Analis Kesehatan

Dengan ini menyetujui dan memberikan hak kepada STIKES Wiyata Husada Samarinda atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Luka Penderita Diabetes Mellitus Secara Invitro.**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak ini, STIKES Wiyata Husada berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Samarinda, 28 Mei 2018

Yang menyatakan

(Winda Listyani)

## ABSTRAK

### **Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Luka Penderita Diabetes Mellitus Secara Invitro**

Winda Listyani<sup>1</sup>, Siti Raudah<sup>2</sup>, Huzaimah<sup>3</sup>

**Latar Belakang:** Tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) adalah tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai bahan pangan dan sediaan obat alami seperti sebagai obat luka, obat diare, dan lain-lain. Kandungan senyawa aktif sebagai antibakteri pada daun pegagan ialah flavonoid, saponin, fenol, tanin. **Tujuan:** Untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus. **Metode:** Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan dibuat konsentrasi bertingkat 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Uji sensitivitas menggunakan metode difusi menggunakan media *Mueller Hinton Agar*. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari luka penderita Diabetes Mellitus. Analisis data yang digunakan adalah uji *Oneway ANOVA*. **Hasil:** Hasil menunjukkan ada pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20% (7,3 mm), 40% (8 mm), 60% (9,7 mm), 80% (14 mm), 100% (18,6 mm). Hasil uji *Oneway ANOVA* menunjukkan nilai  $p = 0,000$ , dimana jika nilai  $p \leq \alpha$  ( $p \leq 0,05$ ), maka terdapat hubungan antara ekstrak daun pegagan dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. **Kesimpulan:** Ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus. Ekstrak daun pegagan dikategorikan kuat pada konsentrasi 80% dan 100%.

**Kata Kunci:** *Staphylococcus aureus*, Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban), Maserasi

<sup>1</sup>Mahasiswi Analis Kesehatan STIKES Wiyata Husada Samarinda

<sup>2</sup>Dosen Analis Kesehatan STIKES Wiyata Husada Samarinda

<sup>3</sup>Dosen Analis Kesehatan STIKES Wiyata Husada Samarinda

## ABSTRACT

### Effect of Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Leaves Extract on The Growth of *Staphylococcus aureus* Bacteria in Wounds of Diabetes Melitus Patient

Winda Listyani<sup>1</sup>, Siti Raudah<sup>2</sup>, Huzaimah<sup>3</sup>

**Background:** Pegagan leaves (*Centella asiatica* (L.) Urban) is a plant that is used as foodstuff and natural medicine preparations such as wound medicine, diarrhea medicine, and others. The content of active compounds as antibacterial in pegagan leaf is flavonoids, saponins, phenols, tannins. **Objective:** To know the effect of Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) leaves extract on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in wounds of Diabetes Mellitus patients. **Method:** Preparation of the extract using maceration method with 96% ethanol solvent and made concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% concentrations. Sensitivity test used diffusion method used *Mueller Hinton Agar* media. The bacteria used were *Staphylococcus aureus* bacteria isolated from the wounds of Diabetes Mellitus. Data analysis used Oneway ANOVA test. **Result:** The results showed that there was an effect of Pegagan leaves extract (*Centella asiatica* (L.) Urban) on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria at concentrations of 20% (7.3 mm), 40% (8 mm), 60% (9.7 mm) 80% (14 mm), 100% (18.6 mm). Oneway ANOVA test results showed p value = 0.000, where if the value of  $p \leq \alpha$  ( $p \leq 0.05$ ), then there is a relationship between pegagan leaves extract of on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. **Conclusion:** Pegagan leaves extract can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in wounds of Diabetes Mellitus patient. Pegagan leaves extract was categorized strongly at concentrations of 80% and 100%.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, Pegagan Leaves Extract (*Centella asiatica* (L.) Urban), Maseration

<sup>1</sup>Student of Health Analyst at STIKES Wiyata Husada Samarinda

<sup>2</sup>Lecturer of Health Analyst Study Program at STIKES Wiyata Husada Samarinda

<sup>3</sup>Lecturer of Health Analyst Study Program at STIKES Wiyata Husada Samarinda

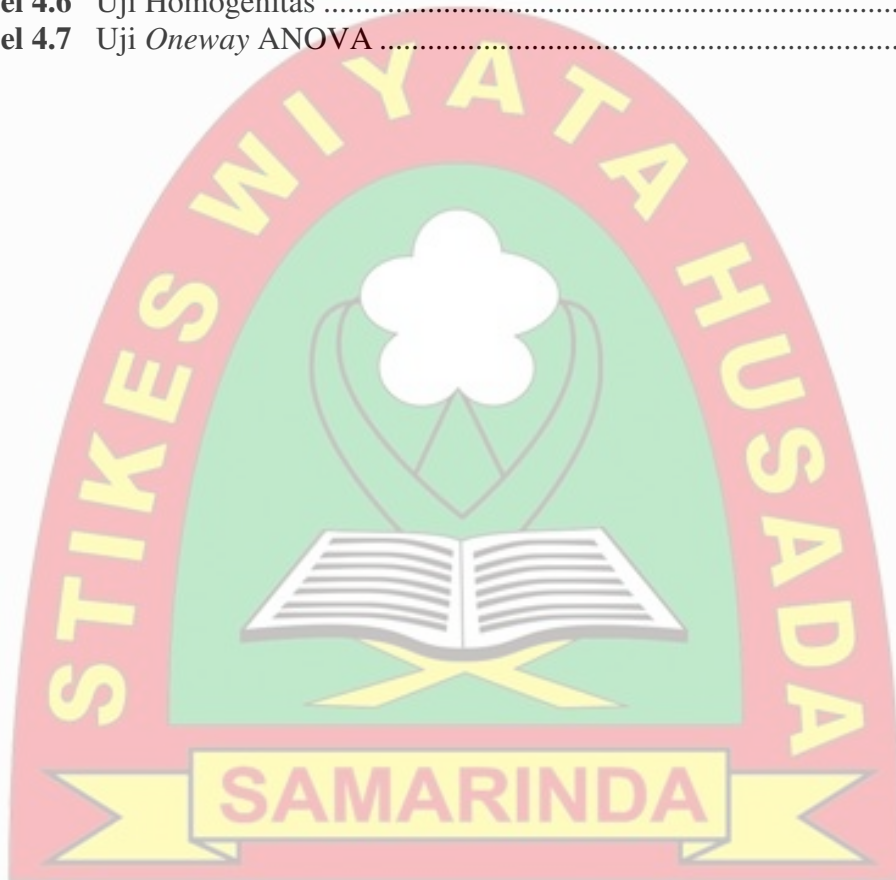
## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI.....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah Penelitian .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
1. Tujuan Umum Penelitian .....	4
2. Tujuan Khusus Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
1. Manfaat Bagi Masyarakat.....	4
2. Manfaat Bagi Akademik.....	4
3. Manfaat Bagi Peneliti .....	4
E. Penelitian Terkait.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
A. Tinjauan Umum Tanaman Pegagan .....	7
1. Klasifikasi Tanaman Pegagan.....	7
2. Deskripsi Tanaman Pegagan.....	7
3. Habitat Tanaman Pegagan .....	8
4. Kandungan Kimia Tanaman Pegagan.....	9
5. Manfaat Tanaman Pegagan.....	11
6. Nama Lain Tanaman Pegagan .....	11
7. Penggunaan Tanaman Pegagan Sebagai Obat Tradisional.....	12
B. Tinjauan Umum <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
1. Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
2. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
3. Media Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
4. Peran <i>Staphylococcus aureus</i> Pada Penyakit .....	16
5. Pencegahan Infeksi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
C. Tinjauan Umum Diabetes Mellitus.....	18
1. Definisi Diabetes Mellitus .....	18
2. Klasifikasi Diabetes Mellitus.....	19

3. Etiologi.....	19
4. Peran Bakteri.....	19
D. Antibiotik Kloramfenikol .....	20
E. Metode Ekstraksi .....	21
F. Uji Aktivitas Antibakteri .....	23
G. Kerangka Teori Penelitian .....	25
H. Kerangka Konsep Penelitian .....	26
I. Hipotesis Penelitian .....	26
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
A. Jenis Penelitian .....	27
B. Waktu dan Tempat Penelitian .....	27
1. Waktu Penelitian.....	27
2. Tempat Penelitian .....	27
C. Desain Penelitian .....	27
D. Sampel Penelitian .....	28
E. Variabel Penelitian .....	28
1. Variabel Bebas .....	28
2. Variabel Terikat .....	28
F. Definisi Operasional.....	28
G. Alat dan Bahan .....	29
1. Alat .....	29
2. Bahan .....	29
H. Prosedur Kerja .....	29
I. Alur Penelitian.....	34
J. Teknik Analisa Data.....	35
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>36</b>
A. Hasil.....	36
B. Pembahasan .....	41
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>47</b>
A. Kesimpulan.....	47
B. Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>52</b>

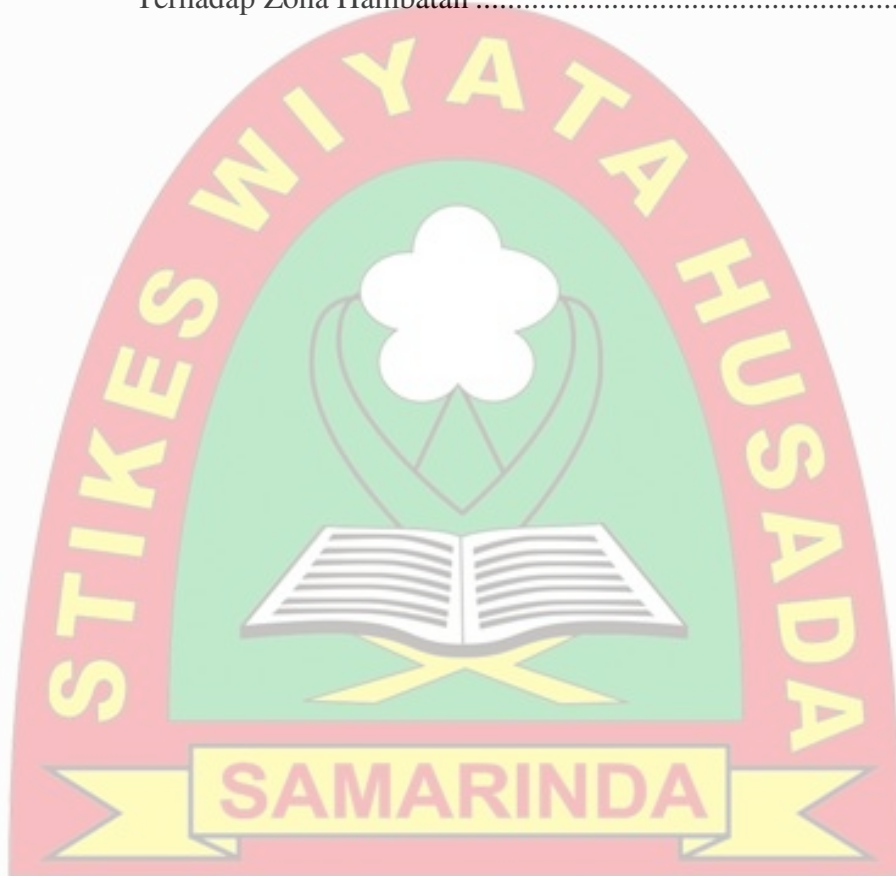
## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.1</b>	Penelitian Terkait .....	5
<b>Tabel 3.1</b>	Definisi Operasional.....	25
<b>Tabel 4.1</b>	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman .....	36
<b>Tabel 4.2</b>	Hasil Uji Pendahuluan.....	37
<b>Tabel 4.3</b>	Hasil Uji Sensitivitas .....	38
<b>Tabel 4.4</b>	Statistik Deskriptif.....	39
<b>Tabel 4.5</b>	Korelasi .....	39
<b>Tabel 4.6</b>	Uji Homogenitas .....	40
<b>Tabel 4.7</b>	Uji <i>Oneway</i> ANOVA .....	40



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b>	Daun Pegagan ( <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban).....	7
<b>Gambar 2.2</b>	Bentuk Mikroskopis Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
<b>Gambar 2.3</b>	Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada media Blood Agar .....	13
<b>Gambar 2.4</b>	Struktur Kimia Kloramfenikol .....	21
<b>Gambar 2.5</b>	Kerangka Teori Penelitian.....	25
<b>Gambar 2.6</b>	Kerangka Konsep Penelitian .....	26
<b>Gambar 3.1</b>	Bagan Alur Penelitian.....	34
<b>Gambar 4.1</b>	Grafik Konsentrasi Ekstrak Daun Pegagan Terhadap Zona Hambatan .....	38



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1</b>	Surat Hasil Analisa Uji Fitokimia .....	51
<b>Lampiran 2</b>	Hasil Analisa Uji Fitokimia.....	52
<b>Lampiran 3</b>	Hasil Uji Pendahuluan dan Uji Sensitivitas.....	53
<b>Lampiran 4</b>	Surat Izin Penelitian .....	54
<b>Lampiran 5</b>	Surat Balasan Penelitian .....	55
<b>Lampiran 6</b>	Perhitungan Konsentrasi .....	56
<b>Lampiran 7</b>	Alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian di Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman dan Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda.....	57
<b>Lampiran 8</b>	Dokumentasi kegiatan pembuatan ekstrak hingga uji sensitivitas .....	60



## DAFTAR SINGKATAN



The logo of STIKES Niyata Husada Samarinda is a large, semi-circular emblem. It features a central green field with a white flower-like symbol at the top and an open book at the bottom. The text 'STIKES NIYATA HUSADA' is written in yellow, bold, uppercase letters along the top and sides of the emblem. A yellow banner at the bottom contains the word 'SAMARINDA' in red, bold, uppercase letters.

BaCl <sub>2</sub>	: Barium Chloride Dehydrate
BAP	: Blood Agar Plate
BB	: Berat Badan
cm	: sentimeter
DM	: Diabetes Mellitus
FeCl	: Ferro klorida
g	: gram
HCl	: Hidrogen klorida
IDDM	: Insulin Dependent Diabetes Mellitus
KBM	: Kadar Bakterisidal Minimum
Kg	: Kilogram
KHM	: Kadar Hambat Minimum
Mdpl	: Meter di atas permukaan laut
Mg	: Magnesium
MHA	: Mueller Hinton Agar
ml	: mililiter
mm	: milimeter
MRSA	: Methicillin Resistent Staphylococcus Aureus
NA	: Nutrient Agar
NaCl	: Natrium Klorida
NIDDM	: Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus
PBP	: Penicillin Binding Protein
PEG	: Polietilena Glikol
pH	: Potensial Hidrogen
PMN	: Polimononuclear
ppm	: Part Per Million
SSSS	: Staph Scolded Skin Syndrome
SOP	: Standar Operasional Prosedur
Urb	: Urban

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara dengan sumber daya alam kedua terbesar setelah Brasil. Sumber daya alam tersebut tersebar dari Sabang sampai Merauke. Indonesia mempunyai sekitar 30.000 jenis tumbuhan dari 40.000 jenis tumbuhan di dunia. 940 jenis diantaranya dapat dimanfaatkan untuk obat (jumlah ini merupakan 90% dari jumlah tumbuhan obat di Asia). Banyaknya jenis tanaman obat, hanya sekitar 20%-22% yang dibudidayakan, sedangkan 78% lainnya diperoleh melalui pengambilan langsung dari hutan.

Pegagan merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat untuk obat dan sering digunakan untuk pengobatan tradisional, seperti untuk obat bisul dan antidiare. Tumbuhan yang memiliki nama latin (*Centella asiatica* (L.) Urban), sering dijumpai di tempat yang terbuka, pada tanah yang lembab dan subur seperti di pematang sawah, di padang rumput, dipinggir parit, dan di pinggir jalan. Pegagan mengandung zat kimia diantaranya adalah asiaticoside (termasuk bagian dari saponin), yang memiliki manfaat untuk penyembuhan luka dan juga antilepra.

Beberapa bahan aktif yang terkandung dalam pegagan antara lain triterpenoid saponin dengan unsur utamanya terdiri dari asiatikosida dan madekassosida, genin triterpen, minyak esensial, flavonoid, fitosterol, dan gula. Bahan aktif lainnya adalah tanin, asam amino, asam lemak, alkaloid, dan garam-garam mineral. Kandungan triterpenoid atau saponin pada pegagan dapat meningkatkan aktivasi makrofag. Meningkatnya aktivasi makrofag akan meningkatkan kemampuan fagositosis dan sekresi interleukin, sehingga memacu sel B untuk menghasilkan antibodi terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh (Sari, 2015).

Pegagan juga mempunyai efek antibakteri. Kandungan pegagan yang berfungsi sebagai antibakteri, antara lain saponin dan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri dengan cara

membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran dan dinding sel. Saponin mempunyai efek antibakteri dengan bekerja merusak membran sitoplasma, kemungkinan saponin mempunyai efek sinergis dengan tanin dalam merusak permeabilitas sel bakteri (Widiastuti, 2012).

Diabetes Mellitus merupakan sekelompok kelainan heterogen yang ditandai oleh kenaikan kadar glukosa darah atau hiperglikemia, disertai dengan kelainan metabolik akibat gangguan hormonal, dan menimbulkan berbagai komplikasi akut serta kronik. Penyakit ini menimbulkan beberapa komplikasi, komplikasi yang paling sering terjadi pada pasien Diabetes Mellitus adalah terjadinya perubahan patologis pada anggota gerak, yaitu timbulnya luka pada kaki. Luka yang bila tidak dirawat dengan baik akan berkembang menjadi ulkus gangren (Anshori, 2014).

Luka diabetik sangat mudah menimbulkan komplikasi berupa infeksi akibat invasi bakteri serta adanya hiperglikemia menjadi tempat yang optimal untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri yang dapat menimbulkan infeksi pada luka diabetik adalah bakteri yang menghasilkan biofilm. Biofilm ini dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Adanya biofilm pada dasar luka dapat menghambat aktivitas fagositosis neutrofil polimorfonuklear dalam proses penyembuhan luka (Anshori, 2014).

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah isolat dari luka infeksi penderita Diabetes Mellitus, swab yang terdapat pada kultur swab kemudian ditanam pada media *Blood Agar*, jika terdapat pertumbuhan dari kuman maka dilakukan pengecatan gram untuk identifikasi bakteri.

Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan dengan menggunakan antibiotik kloramphenikol sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif didapatkan hasil bahwa daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Antibiotik kloramphenikol digunakan sebagai kontrol positif karena antibiotik koramphenikol merupakan antibiotik berspektrum luas, dimana antibiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.

Berdasarkan penelitian Widiastuti (2012), Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb.) dari konsentrasi 60%, 80%, dan 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil uji anticandida konsentrasi ekstrak etanol daun pegagan yang memberikan zona hambat paling besar adalah konsentrasi 60%.

Berdasarkan penelitian Sutrisno (2014), Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak binahong, ekstrak pegagan, serta ekstrak kombinasinya pada masing-masing konsentrasi mempunyai aktivitas sebagai bakteristatik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakterisidal terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak pegagan pada konsentrasi 1000 (ppm) memberikan zona hambat paling besar yaitu 11,47 mm dan pada konsentrasi 200 (ppm) memberikan daya hambat paling kecil yaitu 7,51 mm.

Penelitian Luthfiana (2013), Hasil dari uji antibakteri yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak herba pegagan, basis salep, dan salep ekstrak etanol herba pegagan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang terbentuk di sekeliling sumuran. Konsentrasi tertinggi terdapat pada PEG 400 dengan diameter daya hambat tertinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 13,50 mm, dan diameter daya hambat terendah adalah 11,37 mm.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian pengaruh ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus karena pada daun pegagan terdapat kandungan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dibuat rumusan masalah bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus secara invitro?

### C. Tujuan

Peneliti memiliki dua tujuan yaitu, tujuan umum dan tujuan khusus :

#### 1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus secara invitro.

#### 2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus secara invitro.

### D. Manfaat Penelitian

#### 1. Manfaat Bagi Masyarakat

Dapat memberi pengetahuan bahwa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dapat dijadikan sebagai obat herbal terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### 2. Manfaat Bagi Akademik

Dapat memberi pengetahuan khususnya dibidang Bakteriologi pada perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wiyata Husada Samarinda dan dapat menjadi masukan bagi peneliti selanjutnya.

#### 3. Manfaat Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini bisa bermanfaat sebagai referensi bagi peneliti yang bertujuan melakukan penelitian lanjutan yang berhubungan dengan kasus diatas.

## E. Penelitian Terkait

Penelitian yang berkenaan dengan antibakteri daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) antara lain :

**Tabel 1.1** Penelitian Terkait

No	Judul Penelitian	Nama Peneliti	Hasil Penelitian
1.	Kajian Aktivitas Penyembuhan Luka dan Antibakteri Binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis), Pegagan ( <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Sutrisno, 2014	Hasil menunjukkan bahwa ekstrak pegagan pada konsentrasi 1000 (ppm) memberikan zona hambat paling besar yaitu 11,47 mm dan pada konsentrasi 200 (ppm) memberikan daya hambat paling kecil yaitu 7,51 mm.
2.	Potensi Antibakteri dan Anticandida Ekstrak Daun Pegagan ( <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban).	Widiastuti, 2012	Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan ( <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) dari konsentrasi 60%, 80%, dan 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Eschericia coli</i> .
3.	Formulasi Salep Ekstrak Herba Pegagan ( <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban) Dengan Basis Polietilenglikol Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .	Luthfiana, 2013	Konsentrasi tertinggi terdapat pada PEG 400 dengan diameter daya hambat tertinggi terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> adalah 13,50 mm, dan diameter daya hambat terendah adalah 11,37 mm

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian diatas adalah penggunaan metode penelitian, larutan yang digunakan, serta peran terhadap luka diabetes melitus. Penelitian diatas lebih menekankan pengaruh ekstrak daun pegagan terhadap berbagai macam bakteri yang di ujikan. Sedangkan penelitian ini meneliti tentang bagaimana efek dari pemberian ekstrak daun pegagan terhadap luka penderita diabetes melitus yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tinjauan Umum Tanaman Pegagan



**Gambar 2.1** Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)  
(Tony, 2014).

#### 1. Klasifikasi dari Tanaman Pegagan

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub-divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dikotyledonae
Ordo	: Umbellales
Family	: Umbelliferae
Genus	: Centella
Spesies	: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban (Amita, 2015).

#### 2. Deskripsi Tanaman Pegagan

Pegagan merupakan tanaman liar yang banyak tumbuh di perkebunan, tepi jalan, di daerah persawahan, di sela-sela rumput, di tanah yang agak lembab ataupun agak ternaungi, dan dapat ditemukan di dataran rendah sampai dataran tinggi (2500 mdpl). Pegagan termasuk salah satu tumbuhan yang paling banyak dipakai sebagai bahan ramuan obat tradisional. Pegagan

berasal dari daerah Asia tropik dan tumbuh besar di berbagai negara seperti Filipina, Cina, India, Sri Langka, Madagaskar, Afrika, dan Indonesia (Sari, 2015).

Daun-daun tanaman ini diperlukan sebagai bahan obat, daun-daun ini tidak berbau sedangkan rasanya agak pahit. Helai daun-daunnya berbentuk ginjal dan tepi daunnya bergerigi. Pangkal daun lebar, panjang daun sekitar 1 cm sampai 7 cm dan lebar 1,5 cm sampai 9 cm dengan tangkai yang panjang. Tangkai daun berbentuk seperti pelepah, agak panjang, berukuran 5-15 cm tergantung dari tingkat kesuburan tempat tumbuhnya. Sepanjang tangkai daun beralur dan di pangkalnya terdapat daun sisik yang sangat pendek, licin, tidak berbulu, dan berpadu dengan pangkal tangkai daun.

Tanaman pegagan memiliki bunga majemuk dan tersusun dalam karangan berupa payung warna putih atau putih kemerahan dan muncul dari ketiak daun. Bunga tersusun dalam karangan berupa payung, tunggal atau 3-5 bunga bersama-sama keluar dari ketiak daun, berwarna merah muda atau putih. Tangkai bunga pegagan sangat pendek, jumlah tangkai bunga antara 1-5. Bentuk bunga bundar lonjong, cekung dan runcing ke ujung dengan ukuran sangat kecil. Kelopak bunga tidak bercuping serta tajuk bunga berbentuk bulat telur dan meruncing ke bagian bawah. Buah pegagan berukuran kecil, menggantung, berbentuk lonjong, pipih, panjang 2-2,5 mm, baunya wangi, dan rasanya pahit. Sementara itu, akarnya rimpang dengan banyak stolon (akar membentuk rumpun, berkelompok, dan lama kelamaan meluas hingga menutupi tanah, merayap, dan berbuku-buku. Akar keluar dari buku-buku tersebut dan tumbuh menjurus ke bawah atau masuk ke dalam tanah. Akar berwarna agak kemerah-merahan. Perkembangbiakan pegagan bisa dari stolon atau bisa pula dengan biji (Amita, 2015).

### **3. Habitat Tanaman Pegagan**

Tumbuhan ini di daerah pedesaan biasa ditemukan di tempat-tempat yang berudara agak lembab dan memperoleh sinar matahari langsung. Tanaman ini merupakan tumbuhan jenis perdu liar yang cocok hidup di

dataran rendah sampai ketinggian lebih kurang 2500 meter di atas permukaan laut (Amita, 2015).

Pegagan merupakan tumbuhan kosmopolit atau memiliki daerah penyebaran yang sangat luas, terutama di daerah tropis dan sub tropis. Tumbuhan ini berasal dari Asia tropis dan sering ditemui tumbuh melimpah di tempat-tempat terbuka, seperti tegalan dan tempat yang agak terlindung. Pegagan biasa tumbuh liar di padang rumput, tepi selokan, sawah atau ditanam sebagai penutup tanah di perkebunan dan di pekarangan sebagai tanaman sayur (Amita, 2015).

#### **4. Kandungan Kimia Daun Pegagan**

Kandungan bahan aktif yang ditemukan dalam pegagan antara lain triterpenoid saponin, triterpenoid genin, minyak esensial, flavonoid, fitosterol, dan bahan aktif lainnya. Bahan-bahan aktif tersebut secara umum terdapat pada organ daun tepatnya pada jaringan palisade parenkim. Pegagan mengandung senyawa triterpenoid. Triterpenoid merupakan senyawa aktif yang paling penting dari tanaman pegagan (Adwiyah, 2013).

Kandungan triterpenoid pegagan dapat merevitalisasi pembuluh darah sehingga peredaran darah ke otak menjadi lancar, memberikan efek menenangkan dan meningkatkan fungsi mental menjadi lebih baik. Kandungan triterpenoid saponin dalam pegagan berkisar 1-8%. Unsur utama dalam triterpenoid saponin adalah asiatikosida dan madekassosida. Asiatikosida mampu bekerja sebagai detoksifikasi pada hati dan merupakan marker dalam penentuan standar bahan baku pada pegagan. Madekassosida memiliki peran penting karena mampu memperbaiki kerusakan sel dengan merangsang sintesis kolagen. Kolagen sangat penting sebagai bahan dasar pembentuk serat fibroblas, diketahui bahwa korteks ovarium (tempat perkembangan folikel) tersusun atas serat-serat fibroblas (Adwiyah, 2013).

Triterpenoid saponin selain mengandung asiatikosida dan madekassosida juga mengandung beberapa unsur lain, yaitu centellosida, brahmosida, brahminosida serta B, C, dan D centellasaonin yang saling bekerjasama dalam proses sintesa kolagen. Triterpenoid genin terdiri atas

beberapa unsur asam. Unsur yang paling dominan adalah asam asiatik. Asam asiatik berperan penting dalam proses apoptosis sel kanker. Pegagan selain mengandung golongan senyawa triterpenoid juga mengandung minyak esensial sebesar 0,1% dari seluruh kandungan bahan aktif di dalamnya. Minyak esensial ini terbagi menjadi 2 jenis yaitu monoterpen dan sesquiterpen. Monoterpen dan sesquiterpen banyak terdapat pada jaringan parenkim daun pegagan. Minyak esensial memberikan wangi yang khas pada tumbuhan pegagan (Amita, 2015).

Flavonoid merupakan salah satu kandungan gizi yang terdapat dalam pegagan. Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbanyak terdapat di alam. Senyawa ini bertanggung jawab terhadap zat warna merah, ungu, biru, dan zat warna kuning dalam tumbuhan. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan. Selain flavonoid, kandungan lain dalam pegagan adalah fitosterol. Fitosterol merupakan turunan senyawa sterol, yang dahulu hanya ditemukan pada hewan dalam bentuk kolesterol sebagai bahan baku pembentuk hormon seks. Senyawa-senyawa fitosterol yang terdapat 11 pada tumbuhan antara lain sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol. Ketiga senyawa fitosterol tersebut terbukti mampu bekerja baik untuk mengurangi kolesterol total dan LDL kolesterol dalam darah (Amita, 2015).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut dengan dinding mikroba. Kemungkinan lain adalah flavonoid berperan secara langsung dengan mengganggu fungsi sel mikroorganisme dan penghambatan siklus sel mikroba (Fitriany, 2017).

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain: (1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel, (2) peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel, (3) menginaktivasi enzim, dan (4) destruksi atau kerusakan fungsi material genetik. Kemampuan senyawa antimikroba untuk menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba dalam sistem pangan dapat dipengaruhi oleh

beberapa faktor diantaranya temperatur, pH (keasaman), ketersediaan oksigen, dan interaksi/sinergi antara beberapa faktor tersebut (Fitriany, 2017).

## 5. Manfaat Tanaman Pegagan Bagi Manusia

Pegagan memiliki rasa manis, bersifat mendinginkan, berfungsi membersihkan darah, melancarkan peredaran darah, peluruh kencing, penurun panas, menghentikan pendarahan, meningkatkan syaraf memori, antibakteri, tonik, antiplasma, antiinflamasi, hipotensif, insektisida, antialergi, dan simultan (Tony, 2014).

Penggunaan pegagan dapat meningkatkan fungsi kognitif. Tanaman ini banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat, sayuran segar, lalapan atau dibuat jus. Penelitian ilmiah menunjukkan tentang khasiat pegagan diantaranya efek antineoplastik, efek pelindung tukak lambung, menurunkan tekanan dinding pembuluh, mempercepat penyembuhan luka, bisul, penambah nafsu makan, demam, gigitan ular, menyegarkan badan, menurunkan panas, batuk kering, mimisan, peningkatan kecerdasan, dan anti trombosis, serta mengobati lepra, gangguan perut dan rematik (Tony, 2014).

Pegagan di Cina, telah ribuan tahun digunakan sebagai tonikum, sedangkan di Malaysia, pegagan telah lama digunakan untuk mengobati bronkitis, asma, pengeluaran getah lambung yang berlebihan (*maag*), keputihan, gangguan ginjal serta radang saluran kencing. Pegagan di timur jauh Eropa digunakan untuk menyembuhkan penyakit Lepra dan TB. Pegagan mampu menyembuhkan penyakit Lepra dan TB dengan cara mengikis zat semacam lilin yang melindungi bakteri sehingga bersamaan dengan obat akan lebih mudah untuk membasmi penyakit tersebut (Adwiyah, 2013).

## 6. Nama Lain Tanaman Pegagan

Pegagan juga disebut sebagai tapak kuda karena daunnya mirip tapal kaki kuda. Tanaman yang bernama latin (*Centella asiatica* (L.) Urban) itu

berlubang lunak, ramping dengan tunas-tunas panjang berakar. Memiliki rimpang pendek dan stolon-stolon merayap sepanjang 10-80 cm, akar keluar dari setiap bonggol, dan banyak bercabang (Tony, 2014).

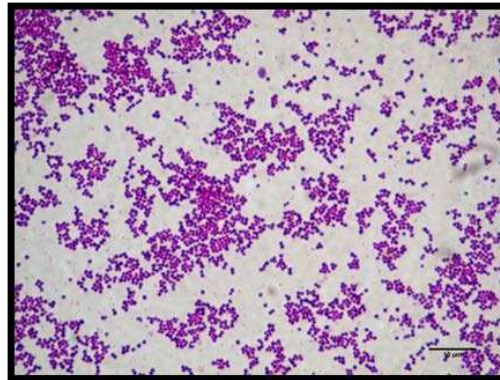
Banyak orang mengenal tanaman asal Asia tropik itu sebagai pegagan. Ada juga yang menyebutnya antanan (Sunda), pacul goang (Jawa Tengah), regedeg (Yogya), gan-ganan (Madura), taidaah (Bali), wisu-wisu (Makasar), cipu balawo (Bugis), Dogauke (Papua), dan sarowati (Halmahera). Di pasar-pasar Jakarta dan sekitarnya ia sering dijual dengan nama daun antanan (Tony, 2014).

## 7. Penggunaan Tanaman Pegagan Sebagai Obat Tradisional

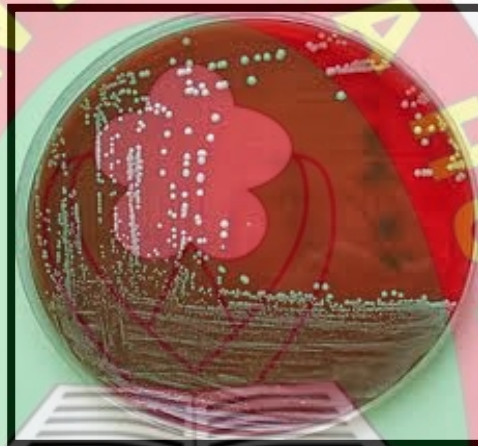
Penggunaan ekstrak herba didasarkan pada penelitian Kumar dan Gupta (2003), yang menyatakan bahwa *Centella asiatica* (L.) Urban dapat meningkatkan fungsi kognitif otak dan oksidatif stres yang diinduksi dengan streptozotocin secara intracerebroventricular pada tikus Alzheimer. Tumbuhan pegagan yang dikonsumsi dalam bentuk segar mempunyai khasiat untuk membersihkan darah dan memperbaiki pencernaan. Pengkonsumsian daun pegagan segar berdasarkan jumlah konsumsi lalapan segar daun pegagan oleh masyarakat Jawa yaitu dalam sehari kira-kira 70 g daun pegagan manusia dewasa dengan berat badan 70 kg mengkonsumsi 70 g per hari sehingga diasumsikan dosis per kg BB adalah 1 g, tikus dengan berat 200 g mengkonsumsi sebanyak 0,2 g daun pegagan segar (Luqmanul, 2006).

Pembuatan air rebusan berdasarkan kebiasaan yang dilakukan masyarakat Jawa yaitu: segenggam penuh daun pegagan (kira-kira 20 lembar) direbus dengan 1 gelas air sampai menjadi  $\frac{1}{4}$  -  $\frac{1}{2}$  gelas (50-100 ml) diminum 3 kali sehari, manusia dewasa dengan berat badan 70 kg mengkonsumsi 150-300 ml per hari atau rata-rata 225 ml sehingga diasumsikan dosis per kg BB adalah 3,2 ml, tikus dengan berat 200 g mengkonsumsi sebanyak 0,64 ml (Luqmanul, 2006).

## B. Tinjauan Umum *Staphylococcus aureus*



**Gambar 2.2** Bentuk Mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* Kusuma (2009) dalam Fitriany (2017).



**Gambar 2.3** *Staphylococcus aureus* pada media Blood Agar Kusuma (2009) dalam Fitriany (2017).

### 1. Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Abdullatif, 2016).

## 2. Morfologi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* berasal dari kata Yunani yaitu *Staphyle* yang berarti anggur dan *coccus* yang berarti bulat atau bola, sedangkan *aureus* berarti emas seperti matahari. Jadi *Staphylococcus aureus* berarti bakteri yang berbentuk bulat atau bola yang tersusun bergerombol atau tidak teratur sehingga menyerupai buah anggur dan menghasilkan pigmen yang berwarna kuning emas. *Staphylococcus aureus* ini tergolong ke dalam bakteri Gram positif yang berdiameter sekitar 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak dapat bergerak. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi pada suhu kamar (20-25°C) proses pembentukan pigmen bakteri tersebut akan lebih maksimal. Koloni yang terbentuk dari sebuah perbenihan dalam suatu media padat akan berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, bertekstur halus, menonjol, dan berkilau (Jawetz, 2007).

*Staphylococcus aureus* memiliki dinding sel yang terdiri atas peptidoglikan, asam teikoat, *fibronectin binding protein*, *clumping factors* dan *collagen binding protein*. Komponen utama penyusun dinding sel bakteri ini adalah peptidoglikan yang menyusun hampir 50% dari berat dinding sel. Peptidoglikan tersusun dari polimer polisakarida (asam N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramik), polipeptida (L-Ala, D-Glu, L-Lys, D-Ala, D-ala) dan sebuah jembatan pentaglisin. Melalui proses katalisis transpeptidase oleh Penicillin-Binding Protein (PBP), setiap peptidoglikan akan saling berikatan dengan peptidoglikan lainnya dengan cara merubah rantai alanin agar berikatan dengan jembatan pentaglisin dari peptidoglikan lainnya sehingga menghasilkan struktur dinding sel yang padat. Dinding selnya bakteri ini juga mengandung asam teikoat sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat yaitu beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus* yang mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin (Jawetz, 2007).

### 3. Media Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada media cair dan padat seperti *Nutrien Agar* (NA) dan *Blood Agar Plate* (BAP) dan melakukan metabolisme secara aktif, mampu memfermentasikan karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari putih hingga kuning. Koloni yang masih sangat muda tidak berwarna. Pembentukan pigmen akan sangat baik jika koloni *Staphylococcus aureus* tersebut ditumbuhkan dalam media *Nutrien Agar* miring (Rahayu, 2017).

*Staphylococcus aureus* dapat memanfaatkan berbagai komponen organik sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Asam-asam amino juga dibutuhkan sebagai sumber nitrogen, sedangkan tiamin dan asam nikotinat sangat dibutuhkan *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan vitamin lainnya. Apabila *Staphylococcus aureus* ditumbuhkan pada kondisi yang cenderung anaerob, maka urasil sangat dibutuhkan. Sedangkan untuk kondisi aerob, monosodium glutamatlah yang akan berperan sebagai sumber C, N dan energi (Rahayu, 2017).

*Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ini yaitu 35° - 37° C dengan suhu minimum 6,7° C dan suhu maksimum 45,4° C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0 - 9,8 dengan pH optimum 7,0 - 7,5. Pertumbuhan pada pH mendekati 9,8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komposisi yang baik untuk pertumbuhannya. Untuk pertumbuhan optimum bakteri ini maka diperlukan sebelas jenis asam amino, yaitu valin, leusin, threonin, phenilalanin, tirosin, sistein, metionin, lisin, prolin, histidin dan arginin sehingga *Staphylococcus aureus* tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein. Ukuran bakteri *S. aureus* dapat berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *S. aureus* akan memiliki ukuran diameter antara 0,5-1,0 mm dengan koloni yang berwarna kuning (Abdullatif, 2016).

*Staphylococcus aureus* ini memiliki toleransi yang tinggi terhadap konsentrasi garam dan gula serta komponen-komponen seperti telurit,

merkuri klorida, neomycin, polymixin dan sodium azida, yang semuanya dapat digunakan sebagai media selektif. Bakteri ini juga masih dapat bertahan hidup pada konsentrasi natrium klorida lebih dari 15% (Abdullatif, 2016).

#### 4. Peran *Staphylococcus aureus* Pada Penyakit Manusia

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen penyebab infeksi. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit mulai dari yang ringan sampai yang berat bahkan sampai sepsis. *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan akne dan frunkulosis pada kulit, infeksi *Staphylococcus aureus* pada tulang juga sering menyebabkan osteomielitis, infeksi *Staphylococcus aureus* pada organ dalam dapat menyebabkan endokarditis, pneumonia dan infeksi berat lainnya. Pada luka terbuka *Staphylococcus aureus* juga sering menyebabkan infeksi (Hastari, 2012).

Hal ini dikarenakan *Staphylococcus aureus* mempunyai bagian-bagian dan produk yang mendukungnya sebagai salah satu bakteri patogen diantaranya adalah dinding sel *Staphylococcus sp* sebagian besar terdiri dari peptidoglikan, peptidoglikan mempunyai aktifitas seperti endotoksin, menstimulasi keluarnya sitokin dari makrofag yaitu interleukin-1 dan aktifasi komplemen, kapsul akan mencegah fagositosis PMN, adanya toxin dan enzim yang dihasilkan untuk merusak sel inang. Selain itu, faktor dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan sukarnya penanganan infeksi adalah adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Hastari, 2012).

Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan adanya kerusakan jaringan dan diikuti dengan abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang juga disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* antara lain adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi lebih berat dapat disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* seperti pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Azmi, 2016).

*Staphylococcus aureus* ini juga mengandung *lysostaphin* yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dibentuk oleh *Staphylococcus aureus* yaitu haemolysin alfa, beta, gamma delta dan epsilon. Toksin lainnya yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yaitu leukosidin, enterotoksin dan eksfoliatin. *Enterotoksin* dan *eksoenzim* dapat menyebabkan keracunan makanan terutama yang mempengaruhi saluran pencernaan, leukosidin dapat menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun sedangkan eksfoliatin adalah toksin yang dapat menyerang kulit dengan tanda-tanda kulit terkena luka bakar (Azmi, 2016).

*Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan infeksi pada luka biasanya berupa abses yaitu kumpulan nanah atau cairan dalam jaringan yang disebabkan oleh infeksi. Jenis-jenis abses antara lain adalah bengkak (*boil*), selulit, impetigo, radang akar rambut (*folliculitis*) atau menyebabkan sindroma kulit *Staph Scolded Skin Syndrome* (SSSS). Infeksi *Staphylococcus aureus* dibagi menjadi 2 jenis yaitu: Infeksi pada kulit dan jaringan lunak yang termasuk kedalam infeksi ringan karena hanya terjadi pada kulit luar sedangkan infeksi invasif terjadi ketika bakteri masuk ke dalam aliran darah, tulang, paru-paru dan jantung sehingga membahayakan keselamatan. Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ini dapat menular selama ada nanah yang keluar dari lesi atau hidung. Selain itu jari jemari juga dapat membawa Infeksi *Staphylococcus aureus* dari satu bagian tubuh yang luka atau robek (Azmi, 2016).

#### **5. Pencegahan Infeksi *Staphylococcus aureus***

Untuk mengurangi resiko infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ini yaitu dengan cara mengembalikan fungsi dari bagian tubuh yang terluka, mengurangi resiko terjadinya infeksi dan meminimalkan terbentuknya bekas luka dengan cara melakukan beberapa tindakan dasar seperti mencuci tangan, membersihkan luka, membersihkan kulit disekitar luka, menutup luka, mengganti perban sesering mungkin dan pemakaian gel yang mengandung antibiotik (Rahayu, 2017).

Pengobatan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* dapat dilakukan melalui pemberian antibiotik, yang disertai dengan tindakan bedah, baik berupa pengeringan abses maupun nekrotomi. Pemberian antiseptik lokal juga sangat dibutuhkan untuk menangani furunkulosis (bisul) yang berulang. Pada infeksi yang cukup berat, diperlukan pemberian antibiotik secara oral atau intravena, seperti penisilin, metisillin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rifampisin. Akan tetapi saat ini penggunaan antibiotik telah menyebabkan terjadinya resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap zat antibiotik seperti *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) sehingga dapat diberi antibiotik lainnya, seperti vankomisin, teicoplanin, dan linezolid. Namun, meningkatnya penggunaan antibiotik vankomisin telah membuat mekanisme resistensi dan berkurangnya sensitifitas pada *Staphylococcus aureus* terhadap vankomisin. Hal ini diduga karena adanya perubahan dan pengaturan ulang dinding sel sehingga perlu diberikan antibiotik berspektrum lebih luas seperti kloramfenikol, amoksilin, dan tetrasiklin (Jawetz, 2005).

### **C. Tinjauan Umum Diabetes Mellitus**

#### **1. Definisi Diabetes Mellitus**

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit yang disebabkan oleh penurunan kadar hormon insulin yang diproduksi oleh kelenjar pankreas sehingga menimbulkan peningkatan kadar gula darah. Diabetes Mellitus (DM) adalah suatu penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemi yang terjadi karena kelainan sekresi insulin (Diana, 2013). Diabetes Mellitus merupakan kelompok penyakit tidak menular yang prevalensinya cukup tinggi di dunia (Aqsha, 2013).

Diabetes Mellitus merupakan suatu penyakit kronis yang ditandai dengan ketidakmampuan tubuh untuk melakukan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein sehingga meningkatkan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia) (Sulistria, 2013). Diabetes Mellitus ini sangat mempengaruhi kehidupan penderita, dan mengancam jiwa jika tidak

ditangani secara baik. Diabetes Mellitus merupakan suatu kumpulan gejala yang timbul yang diakibatkan oleh adanya peningkatan kadar gula darah karena kekurangan insulin baik absolute maupun relatif (Fauzi, 2013).

## 2. Klasifikasi Diabetes Mellitus

Tipe Diabetes Mellitus (DM) dibagi menjadi dua, yaitu:

### a. DM tipe I (IDDM: Insulin Dependent Diabetes Mellitus)

DM tipe I ini disebabkan oleh defisiensi insulin, kondisi dimana tubuh tidak mampu memproduksi insulin, sedangkan insulin sangat penting untuk membantu mengatur kadar gula darah (Ifa, 2016).

### b. DM tipe II (NIDDM: Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus)

Berbeda dengan DM tipe I, DM tipe II ini tidak ada masalah dengan insulin melainkan dengan reseptor insulin, kondisi dimana pankreas mampu memproduksi insulin namun sel-sel tubuh tidak mampu merespon keberadaan insulin dengan normal (Ifa, 2016).

## 3. Etiologi

### a. DM tipe I:

Faktor genetik, faktor imunologi, faktor lingkungan (Ifa, 2016).

### b. DM Tipe II:

Faktor obesitas, umur, jenis kelamin, kebiasaan merokok, riwayat keluarga, pola makan, gaya hidup. Mekanisme yang tepat yang menyebabkan resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin pada diabetes tipe II masih belum diketahui (Ifa, 2016).

## 4. Peran Bakteri Terhadap Luka Penderita Diabetes Mellitus

Pada suatu keadaan infeksi gangren biasanya disebabkan oleh suatu organisme dari sekitar kulit yang pada umumnya adalah *Staphylococcus aureus* ataupun *Streptococcus*. Jika drainase tidak adekuat maka perkembangan sellulitis yang dapat menyebabkan sepsis untuk menginfeksi tendon, tulang dan sendi dibawahnya. Kadang kadang *Staphylococcus* dan

*streptococcus* dijumpai bersamaan dan ini dapat bergabung mengakibatkan sellulitis yang meluas dan cepat (Nanang, 2008).

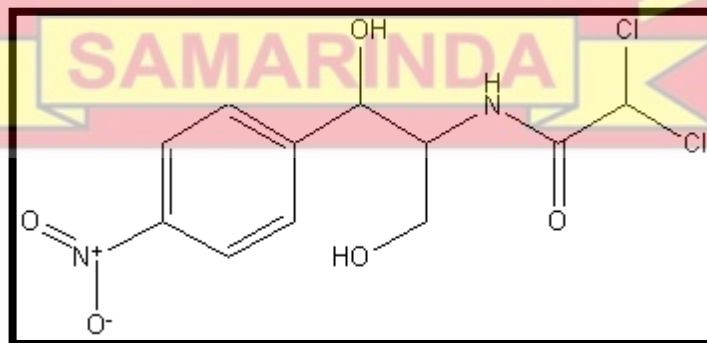
*Streptococcus* mensekresi *hialuronidase* yang dapat mempercepat penyebaran distribusi *necrotizing toxin* dari *Staphylococcus*. Enzim dari bakteri ini juga *angiotoxic* dan dapat menyebabkan terjadinya insitu trombosis dari pembuluh darah. Jika pembuluh darah mengalami trombosis yang kemudian akan menjadi *necrotic* dan gangren, keadaan ini mungkin akan menjadi dasar yang disebut dengan gangren diabetik (Nanang, 2008).

#### D. Antibiotik Kloramfenikol

Antibiotika adalah zat-zat kimia oleh yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Turunan zat-zat ini, yang dibuat secara semi sintesis, juga termasuk kelompok ini, begitu pula senyawa sintesis dengan khasiat antibakteri (Jawetz, 2007).

Antibiotik adalah zat biokimia yang diproduksi oleh mikroorganisme, yang dalam jumlah kecil dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme lain (Jawetz, 2007).

Kloramfenikol adalah antibiotik berspektrum luas yang mempunyai aktifitas bakteriostatik, dan pada dosis tinggi bersifat bakterisid. Kloramfenikol memiliki nama kimia 1-(p-nitrofenil)-dikloroasetamido-1,3-propandiol, rumus molekul  $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$  (Bobone, 2013).



**Gambar 2.4** Struktur Kimia Kloramfenikol  
Depkes RI (1995) dalam Fitriany (2017).

Kloramfenikol merupakan senyawa fenil propan tersubstitusi yang mempunyai dua unsur struktur tidak lazim untuk bahan alam yaitu suatu gugus nitro aromatik dan residu diklor asetil. Gugus R pada turunan kloramfenikol berpengaruh pada aktivitasnya sebagai anti bakteri *Staphylococcus aureus*. Kloramfenikol (R=NO<sub>2</sub>) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang optimal (Bobone, 2013).

Kloramfenikol adalah suatu inhibitor sintesis protein yang poten terhadap mikroorganisme. Obat tersebut menghambat pelekatan asam amino ke rantai peptida yang baru timbul pada unit 50S ribosom dengan mengganggu kerja peptidil transferase. Resistensi kloramfenikol disebabkan oleh destruksi obat oleh enzim (*kloramfenikol asetiltransferase*) yang dikendalikan oleh plasmid (Jawetz, 2005).

Untuk mendapatkan senyawa turunan kloramfenikol baru dengan aktivitas optimal, harus diperhatikan agar gugus R bersifat penarik elektron kuat dan mempunyai sifat lipofilik lemah (Bobone, 2013).

## E. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Beberapa metode yang banyak digunakan untuk ekstraksi bahan alam antara lain:

### 1. Maserasi

*Maserasi* adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C). Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang

tidak tahan panas. *Maserasi* merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Mukhriani, 2014).

## 2. *Perkolasi*

*Perkolasi* merupakan proses mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. *Perkolasi* cukup sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar. Pada metode *perkolasi*, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah (Mukhriani, 2014).

## 3. *Soxhlet*

Metode ekstraksi *soxhlet* adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping *soxhlet* maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Sumiyati, 2017).

## 4. *Refluks*

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan

kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Sumiyati, 2017).

#### 5. *Digesti*

*Digesti* adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Sumiyati, 2017).

#### 6. *Infusa*

*Infusa* adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Sumiyati, 2017).

### F. Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri. Macam-macam metode uji aktivitas antimikroba antara lain:

#### a. Metode pengenceran agar

Metode pengenceran agar sangat cocok untuk pemeriksaan sekelompok besar isolat versus rentang konsentrasi antimikroba yang sama. Kelemahan metode ini yaitu hanya dapat digunakan untuk isolasi tipe organisme yang dominan dalam populasi campuran (Jawetz, 2005).

#### b. Metode Difusi

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Azmi, 2016).

c. Metode Dilusi

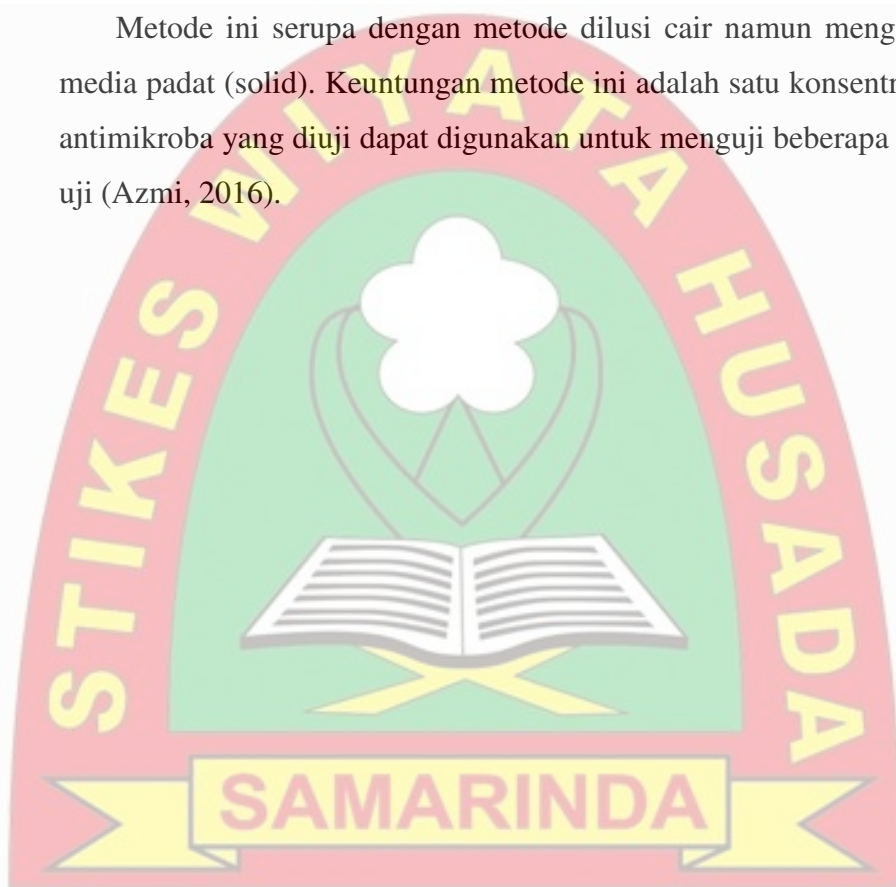
Metode dilusi dibedakan menjadi dua, yaitu dilusi cair dan dilusi padat.

1) Metode dilusi cair

Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Azmi, 2016).

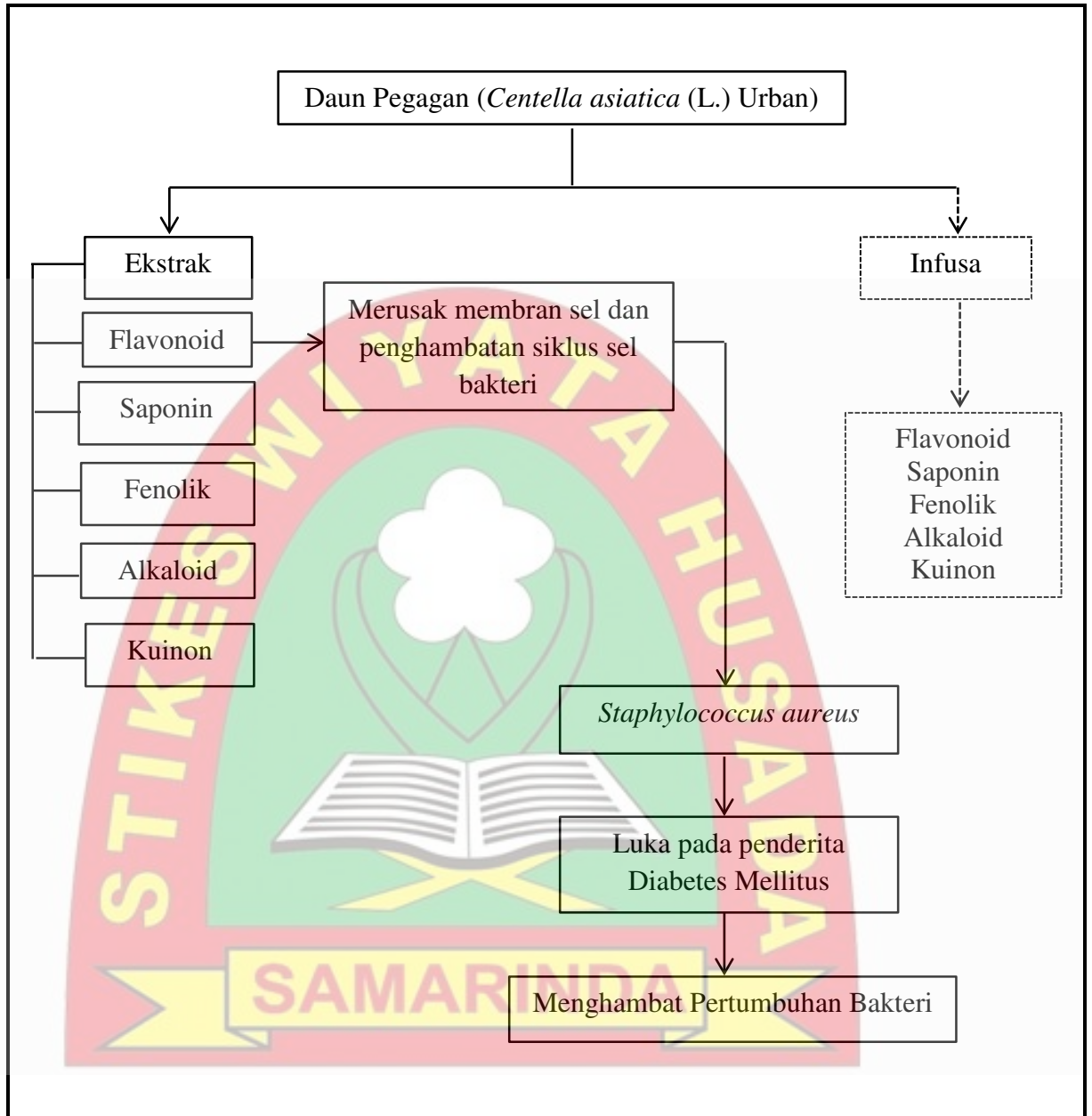
2) Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Azmi, 2016).



## G. Kerangka Teori Penelitian

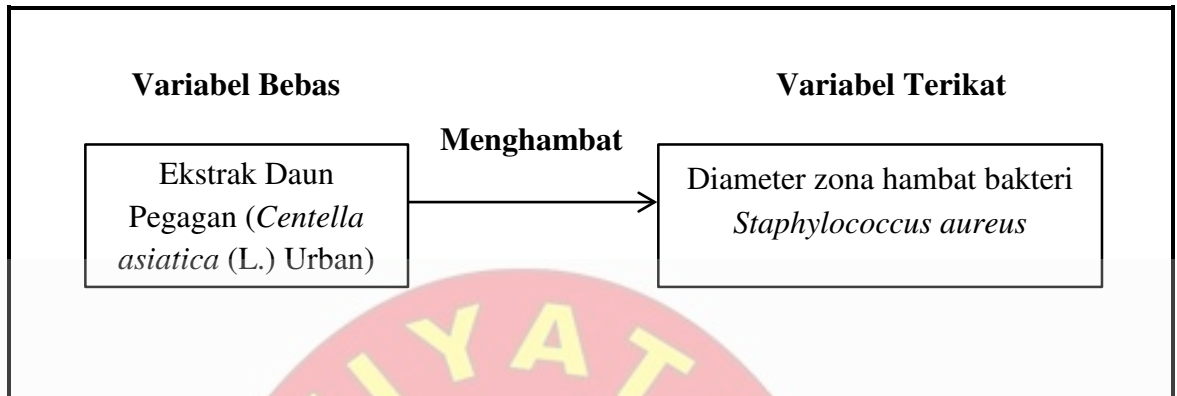
Berdasarkan tinjauan dan masalah penelitian yang telah dirumuskan dapat dikembangkan teori sebagai berikut:



Gambar 2.5 Kerangka Teori Penelitian

## H. Kerangka Konsep Penelitian

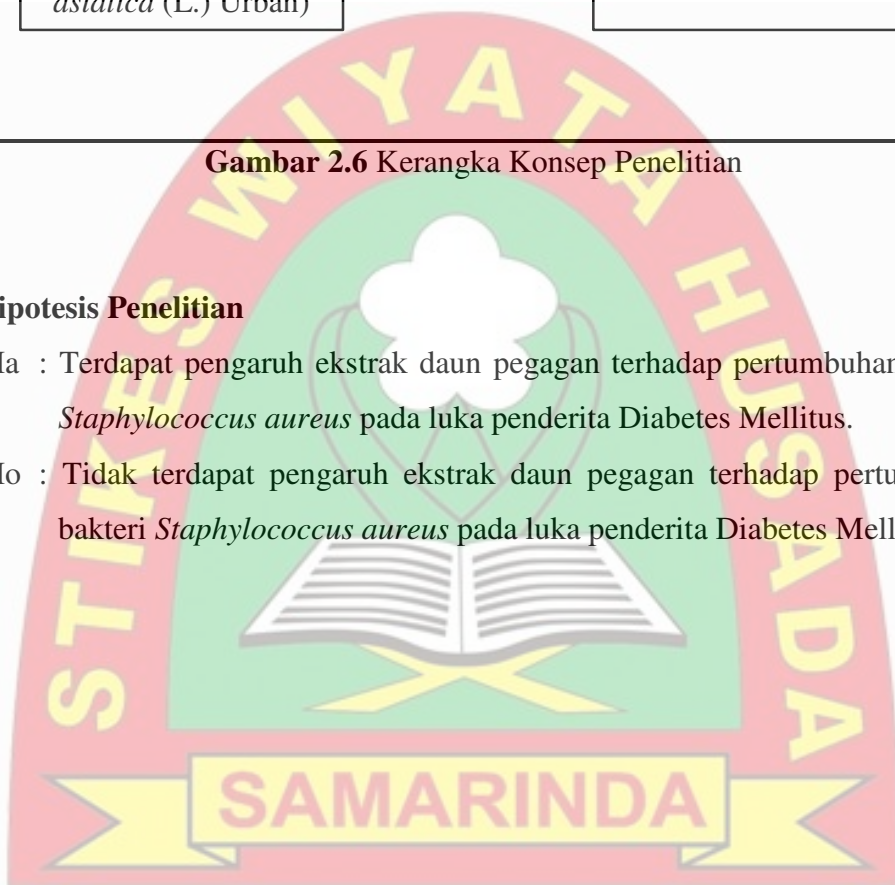
Berdasarkan tinjauan pustaka dan kerangka teori serta masalah penelitian yang telah dirumuskan maka dapat dikembangkan dengan kerangka konsep sebagai berikut:



**Gambar 2.6** Kerangka Konsep Penelitian

## I. Hipotesis Penelitian

- Ha : Terdapat pengaruh ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus.
- Ho : Tidak terdapat pengaruh ekstrak daun pegagan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode percobaan (*experiment*) dengan rancangan *post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu yang dilakukan oleh peneliti terhadap variabel bebas kemudian mengukur akibat atau pengaruh percobaan tersebut pada variabel terikat.

#### **B. Waktu dan Tempat Penelitian**

##### **1. Waktu Penelitian**

Waktu penelitian dilaksanakan pada 16 April 2018.

##### **2. Tempat Penelitian**

Tempat penelitian pembuatan ekstrak daun pegagan dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Mulawarman dan pengujian antibakteri akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahrane Samarinda.

#### **C. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian yang merupakan eksperimen sesungguhnya (*true experiment*) dengan menggunakan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) sebagai antibakteri. Percobaan uji antibakteri dilakukan dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dan masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, serta menggunakan antibiotik *Cloramphenicol* untuk bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai kontrol positif, aquadest steril sebagai kontrol negatif.

## D. Sampel Penelitian

Hampir seluruh bagian pada tanaman pegagan dapat digunakan sebagai ramuan obat alami. Untuk pembuatan ekstrak pada penelitian kali ini digunakan daun pegagan dan batang sebagai sampel. Daun dan batang tersebut dianggap memiliki zat aktif sebagai antibakteri yang paling baik (Tony, 2014). Sedangkan untuk pembuatan isolat, diambil pus atau nanah pada luka penderita Diabetes Mellitus dengan cara swab (Nanang, 2008).

## E. Variabel Penelitian

### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban).

### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

## F. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Satuan	Skala
1.	Variabel Bebas	Daun pegagan ( <i>Centella asiatica</i> ) diekstrak dengan menggunakan etanol 96% kemudian dilakukan perlakuan 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% sebagai antibakteri.	Labu ukur dan Erlenmeyer	Persen (%)	Rasio
2.	Variabel Terikat	Daerah bening yang menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap zat antibakteri.	Penggaris	mm	Interval

## G. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat pelindung diri (APD), *autoclave*, lidi kapas steril, *rotari evaporator*, lampu bunsen, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, inkubator, labu ukur, *erlenmeyer*, batang pengaduk, penggaris, kertas saring, disc obat, pinset, korek api, *beaker glass*, oven, kapas steril serta neraca analitik, densi cek.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban), etanol 96%, HCl pekat, serbuk Mg, standar Mc. Farland, antibiotik (*Cloramphenicol*), biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, media *Mueller Hinton Agar*, larutan NaCl 0,9% serta aquadest steril.

## H. Prosedur Kerja

### 1. Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan

Daun pegagan dipisahkan dari bagian tanaman lainnya, dan dicuci dengan air mengalir kemudian ditiriskan. Daun pegagan kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung atau menggunakan oven. Daun kering pegagan kemudian diserbuk sebanyak 500 gram yang selanjutnya dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 3 hari. Ekstrak disaring untuk memisahkan antara ekstrak dan ampas, kemudian ekstrak yang sudah disaring dimasukkan kedalam rotari evaporator untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Ekstrak yang tersisa di uapkan dengan cara di kering anginkan hingga ekstrak menjadi pasta (SOP Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman).

### 2. Uji Fitokimia

#### a. Flavonoid

Uji reaksi warna flavonoid dengan cara dimasukkan sedikit ekstrak daun pegagan kemudian ditambahkan serbuk Mg serta 10 tetes HCl pekat

lalu diamati. Apabila timbul warna hijau menunjukkan positif flavonoid (SOP Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman).

#### **b. Saponin**

Ekstrak daun pegagan dalam tabung reaksi ditambahkan aquadest, dikocok kuat selama 30 detik, kemudian dibiarkan dalam posisi tegak selama 30 menit. Ditambahkan 1-4 tetes HCL. Apabila timbul buih yang konstan di permukaan yang tidak hilang setelah ditetesi HCL encer, menunjukkan adanya saponin (SOP Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman).

#### **c. Tanin**

Sebanyak 10 ml larutan ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan asam asetat. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan kuning (SOP Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman).

#### **d. Fenolik**

Dipotong kecil sampel dan dimasukkan ke dalam beaker glass. Ditambahkan aquadest sampai sampel terendam lalu dipanaskan. Diambil 1 pipet air rebusan dan ditambahkan 3 tetes  $\text{FeCl}_2$  1%, kemudian diamati. Hasil positif jika terbentuk warna hijau atau biru (SOP Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman).

### **3. Teknik Sampling**

Dibersihkan luka dengan kain kasa yang telah dibasahi dengan NaCl fisiologis sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kotoran dan lapisan eksudat yang mengering, kemudian buka kultur swab dari pembungkusnya kemudian usapkan bagian kapasnya pada luka atau ulkus tanpa menyentuh bagian tepi luka atau ulkus, kemudian masukkan kapas tersebut kedalam media pembawa, tutup tabung dengan erat dan diberi label nama (Nanang, 2008).

#### **4. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar***

##### **a. Komposisi Media *Mueller Hinton Agar***

Beef Extract	: 2 gram
Acid Hydrolysate of Casein	: 17,5 gram
Starch	: 1,5 gram
Agar	: 17 gram
Aquadest	: 1 liter

Purwarini (2001) dalam Fitriany (2017).

##### **b. Cara Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar***

Sebanyak 38 gram media disuspensikan dalam 1000 mL aquadest steril, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan semuanya larut. Disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit. Ketebalan agar dibuat dengan ketebalan  $\pm$  4 mm pada petri disk. Disimpan di lemari pendingin. Jika akan digunakan maka harus didiamkan dahulu pada suhu 37°C selama 30 menit (Soemarno, 2009).

#### **5. Pembuatan Isolat Pada Media *Blood Agar***

Hapusan atau swab yang terdapat pada kultur swab ditanam pada media *Blood Agar* yang kemudian dieramkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam, jika terdapat pertumbuhan dari kuman maka dilakukan pengecatan gram untuk identifikasi bakteri (SOP Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie).

#### **6. Pembuatan Standar Mac. Farland**

Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan, kemudian dibuat dari 0,5 ml 1,175% *Barium chloride dehydrate* (BaCl<sub>2</sub>) H<sub>2</sub>O sebanyak 5 ul dan ditambah 99,5% asam sulfat sebanyak 1000 ul, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan (Soemarno, 2009).

#### **7. Pembuatan Suspensi Bakteri**

Diambil satu ose koloni bakteri dari media kulturnya disuspensikan ke dalam NaCl 0,9% steril hingga kekeruhannya sama dengan standard yaitu

0,5-0,63 *Mac Farland* (SOP Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie).

## 8. Pembuatan Larutan Uji

Ditimbang ekstrak sejumlah tertentu dengan berbagai konsentrasi antara lain :

100% = ekstrak murni

80% = ditimbang 0,8 gram dari konsentrasi 100% ditambah pelarut 0,2 ml.

60% = ditimbang 0,6 gram dari konsentrasi 100% ditambah pelarut 0,4 ml.

40% = ditimbang 0,4 gram dari konsentrasi 100% ditambah pelarut 0,6 ml.

20% = ditimbang 0,2 gram dari konsentrasi 100% ditambah pelarut 0,8 ml.

0% = aquadest steril (kontrol negatif).

Kontrol Negatif menggunakan aquadest dan kontrol positif menggunakan antibiotik *Cloramphenicol* (Widiastuti, 2012).

## 9. Penanaman Pada Media *Mueller Hinton Agar*

Suspensi bakteri yang berisi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah terstandarisasi kekeruhannya dengan ose steril dilakukan goresan penuh pada media *Mueller Hinton Agar*. Lempengan agar dibiarkan mengering selama 5 menit (Nanang, 2008).

Kemudian diletakkan kertas cakram yang telah direndam dengan ekstrak daun pegagan selama 30 menit dengan menggunakan pinset secara manual. Diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Diamati dengan kontrol positif yang dibuat menggunakan antibiotik kloramfenikol untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, kontrol negatif menggunakan aquadest steril dan daya hambatan diukur menggunakan penggaris. Percobaan tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan masing-masing konsentrasi (Nanang, 2008).

## 10. Interpretasi Hasil Diameter Zona Hambat Antibakteri

Suatu zat aktif dikatakan memiliki potensi yang tinggi sebagai antibakteri jika pada konsentrasi rendah mempunyai daya hambat yang besar. Davis dan Stout (1971) dalam Sumiyati (2017) menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar yaitu :

Kategori sangat kuat : 20 mm atau lebih

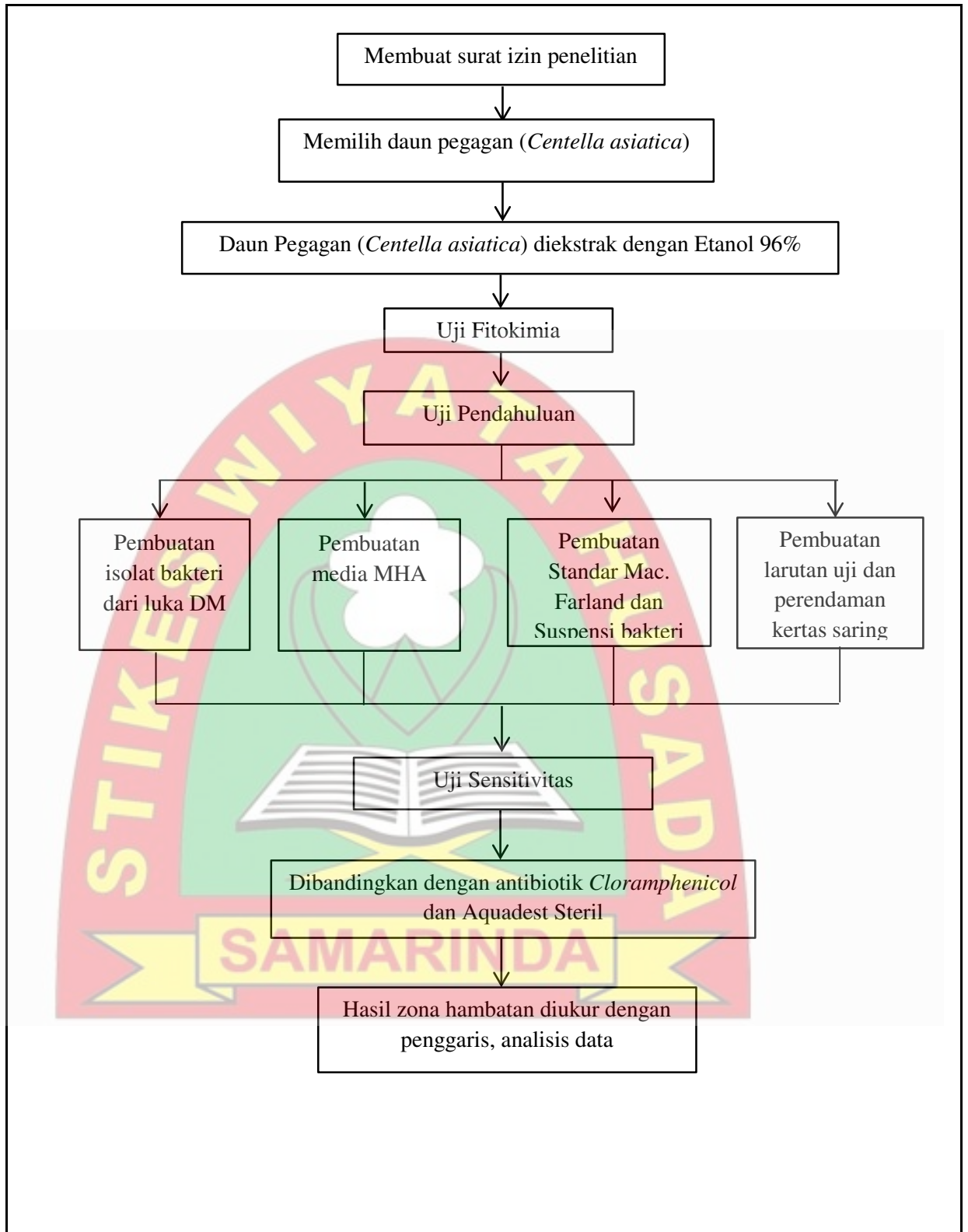
Kategori kuat : 10 mm – 19 mm

Kategori sedang : 5 mm – 10 mm

Kategori lemah : 5 mm



## I. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian

## J. Teknik Analisa Data

Pengolahan data adalah suatu proses dalam memperoleh data ringkasan dengan menggunakan cara dan rumus tertentu, data akan diolah menggunakan program software pengolahan data statistik. Analisis dapat dilakukan secara bertahap meliputi analisis univariat dan bivariat sebagai berikut :

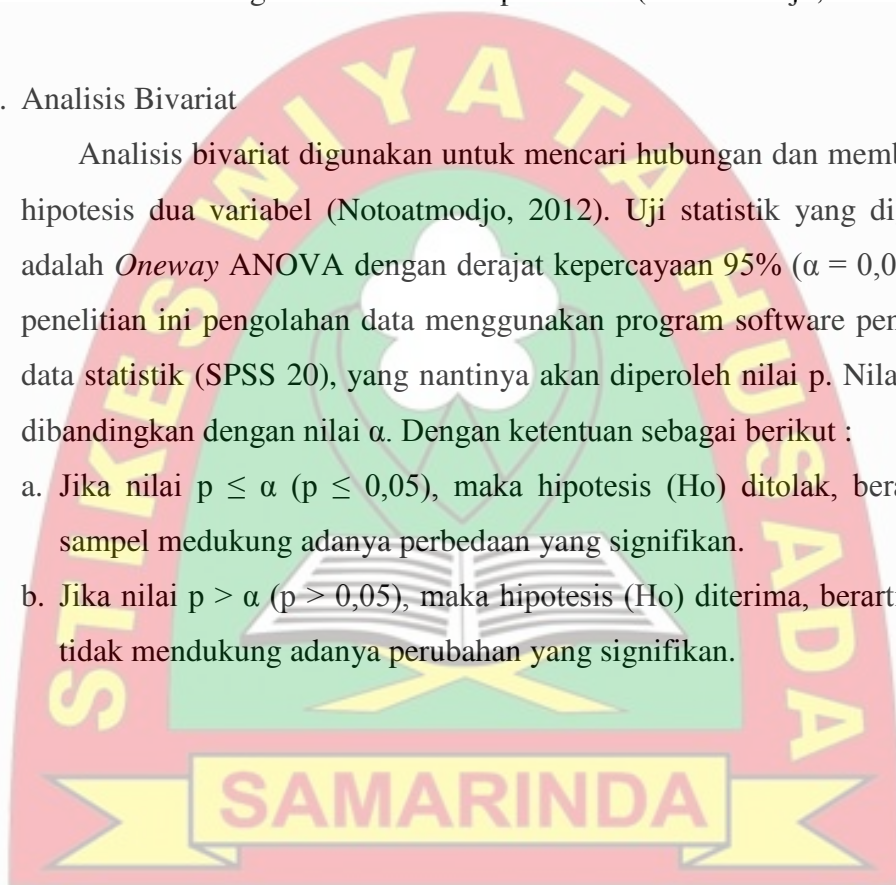
### a. Analisis Univariat

Analisis univariat digunakan presentasi, hasil dari setiap variabel ditampilkan dalam bentuk distribusi frekuensi, sehingga dapat mengetahui karakteristik atau gambaran dari setiap variabel (Notoatmodjo, 2012).

### b. Analisis Bivariat

Analisis bivariat digunakan untuk mencari hubungan dan membuktikan hipotesis dua variabel (Notoatmodjo, 2012). Uji statistik yang digunakan adalah *Oneway* ANOVA dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Pada penelitian ini pengolahan data menggunakan program software pengolahan data statistik (SPSS 20), yang nantinya akan diperoleh nilai p. Nilai p akan dibandingkan dengan nilai  $\alpha$ . Dengan ketentuan sebagai berikut :

- a. Jika nilai  $p \leq \alpha$  ( $p \leq 0,05$ ), maka hipotesis ( $H_0$ ) ditolak, berarti data sampel mendukung adanya perbedaan yang signifikan.
- b. Jika nilai  $p > \alpha$  ( $p > 0,05$ ), maka hipotesis ( $H_0$ ) diterima, berarti sampel tidak mendukung adanya perubahan yang signifikan.



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Mulawarman dan Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. Penelitian dilakukan pada tanggal 16 April 2018 menggunakan strain bakteri *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari swab luka penderita Diabetes Mellitus pada media *Blood Agar*, jika terdapat pertumbuhan dari bakteri maka dilakukan pengecatan gram untuk identifikasi bakteri. Pada pengecatan gram bakteri akan berwarna ungu dan berbentuk bulat. Setelah itu suspensi bakteri ditanam pada media *Mueller Hinton Agar*, kemudian diletakkan kertas saring yang telah direndam ke dalam ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan berbagai konsentrasi mulai dari konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dan dilakukan 3 kali pengulangan dengan kontrol positif kloramphenikol dan kontrol negatif aquadest. Penelitian ini diawali dengan uji fitokimia sebelum melakukan uji pendahuluan dan uji sensitifitas yang sesungguhnya.

**Tabel 4.1** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman.

No	Metabolit Sekunder	Hasil Analisa	Keterangan
1.	Flavonoid	Positif (+)	Larutan hijau kehitaman
2.	Kuinon	Positif (+)	Larutan hijau
3.	Alkaloid	Positif (+)	Endapan orange
4.	Fenolik	Positif (+)	Larutan hijau tua
5.	Steroid	Positif (+)	Terbentuk cincin hijau
6.	Triterpenoid	Negatif (-)	Terbentuk cincin hijau
7.	Saponin	Negatif (-)	Tidak terdapat buih/busa

(Sumber: Data Primer 2018)

**Tabel 4.2** Hasil Uji Pendahuluan pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus.

Bakteri	Diameter Zona Hambat (mm)					
	20%	40%	60%	80%	100%	Kloramphenikol
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9	10	10	11	30

(Sumber: Data Primer 2018)

Hasil uji pendahuluan didapatkan konsentrasi yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dari konsentrasi 20% maka uji sensitifitas dilakukan menggunakan konsentrasi yang sama, yaitu dimulai dari konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

**Tabel 4.3** Hasil Uji sensitifitas pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus.

Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)	Kategori (Davis & Stout)	Kategori Kontrol (+)
	Pengulangan					
	I	II	III			
20%	7	8	7	7,3	Sedang	Resisten
40%	8	8	8	8	Sedang	Resisten
60%	9	10	10	9,7	Sedang	Resisten
80%	14	15	13	14	Kuat	Intermediet
100%	20	19	17	18,6	Kuat	Sensitif
Kloramphenikol	19	20	18	19	Kuat	Sensitif

(Sumber: Data Primer 2018)

Davis dan Stout (1971) menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar yaitu :

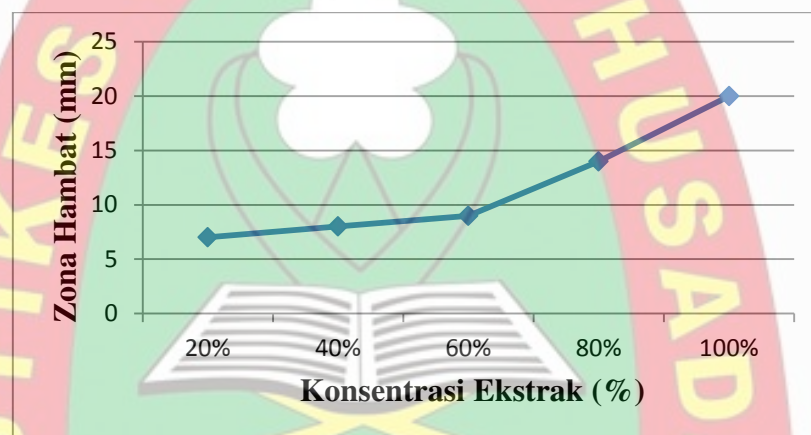
- Kategori sangat kuat : 20 mm atau lebih
- Kategori kuat : 10 mm – 19 mm
- Kategori sedang : 5 mm – 10 mm
- Kategori lemah : <5 mm

Keterangan :

Sensitif : >18 mm  
Intermediate : 13 mm – 17 mm  
Resisten : <14 mm

(Soemarno, 2000).

Dapat dilihat dari data primer diatas pada hasil zona hambat yang didapat, ekstrak daun pegagan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Namun hanya konsentrasi 100% yang sensitif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* jika kategori yang digunakan adalah kategori kontrol Kloramphenikol.



**Gambar 4.1** Grafik konsentrasi ekstrak daun pegagan terhadap zona hambatan

Berdasarkan grafik diatas didapatkan zona yang meningkat pada setiap konsentrasi yang dilakukan pengujian ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi zona yang dihasilkan atau semakin baik ekstrak daun pegagan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Dari data yang diperoleh, selanjutnya akan dilakukan uji statistik dengan metode *Oneway* ANOVA, sebagai dependen digunakan hasil zona hambat dan sebagai prediktor (variabel bebas) digunakan konsentrasi ekstrak. Dapat dilihat dari uji statistik pada tabel-tabel dibawah ini :

**Tabel 4.4** Statistik Deskriptif

Descriptive Statistics			
	N	Mean	Std. Deviation
KonsentrasiEkstrakDaunPegagan	5	60,0000	31,62278
HasilZonaHambat	5	11,6000	5,41295
Valid N (listwise)	5		

(Sumber: Data Primer 2018)

Berdasarkan tabel 4.4 Descriptive Statistics menunjukkan bahwa data yang dianalisis memiliki dua variabel, yaitu konsentrasi ekstrak daun pegagan dan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan jumlah N=5, yang berarti jumlah data yang diperoleh berjumlah 5 data.

**Tabel 4.5** Korelasi

Correlations			
		KonsentrasiEkstrak DaunPegagan	HasilZonaHambat
KonsentrasiEkstrakDaun Pegagan	Pearson Correlation	1	,935*
	Sig. (2-tailed)		,020
	N	5	5
HasilZonaHambat	Pearson Correlation	,935*	1
	Sig. (2-tailed)	,020	
	N	5	5

\*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

(Sumber: Data Primer 2018)

Berdasarkan tabel 4.5 korelasi menunjukkan tingkat hubungan. Nilai korelasi konsentrasi ekstrak daun pegagan dengan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 0,935, nilai tersebut termasuk korelasi yang tinggi atau signifikan. Karena pada signifikan 2 arah (sig. 2 tailed) korelasi dikatakan signifikan jika nilai lebih dari 0,05.

**Tabel 4.6 Uji Homogenitas**

**Test of Homogeneity of Variances**

HasilZonaHambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7,950 <sup>a</sup>	1	12	,015

(Sumber: Data Primer 2018)

Uji homogenitas merupakan salah satu uji persepsi yang harus dipenuhi sebelum menggunakan statistik parametrik. Uji homegenitas bertujuan untuk mengetahui apakah data berasal dari populasi yang homogen atau tidak, dimana jika nilai signifikan  $> 0,05$  maka artinya data berasal dari kelompok yang memiliki varians homogen. Berdasarkan tabel 4.6 uji homogenitas didapatkan nilai signifikan yaitu 0,015 dan lebih besar dari 0,05 maka data di atas homogen.

**Tabel 4.7 Uji Oneway ANOVA**

**ANOVA**

HasilZonaHambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	208,876	2	104,438	17,687	,000
Within Groups	70,857	12	5,905		
Total	279,733	14			

(Sumber: Data Primer 2018)

Berdasarkan tabel 4.7 Hasil uji Oneway ANOVA menunjukkan nilai  $p = 0,000$ , dimana jika nilai  $p \leq \alpha$  ( $p \leq 0,05$ ), maka hipotesis ( $H_0$ ) ditolak, berarti data sampel mendukung adanya perbedaan yang signifikan. Sehingga menunjukkan terdapat pengaruh antara ekstrak daun pegagan terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

## B. Pembahasan

Masyarakat pada umumnya telah banyak mengenal berbagai macam obat luka atau infeksi. Seiring berkembangnya pengetahuan, masyarakat juga semakin jeli memilih produk obat yang akan mereka konsumsi. Masyarakat menyadari bahwa obat-obatan yang mengandung bahan kimia lebih beresiko karena memiliki efek samping yang dapat merugikan kesehatan.

Berbagai obat tradisional untuk menyembuhkan luka atau infeksi dan juga diaplikasikan untuk pengobatan penyakit kulit banyak diproduksi oleh masyarakat salah satunya terbuat dari daun pegagan. Secara umum daun pegagan mengandung senyawa yang dapat menghambat bakteri antar lain flavonoid, kuinon, alkaloid, fenolik, dan steroid.

Diabetes Mellitus merupakan sekelompok kelainan heterogen yang ditandai oleh kenaikan kadar glukosa darah atau hiperglikemia, disertai dengan kelainan metabolik akibat gangguan hormonal, dan menimbulkan berbagai komplikasi akut serta kronik. Penyakit ini menimbulkan beberapa komplikasi, komplikasi yang paling sering terjadi pada pasien Diabetes Mellitus adalah terjadinya perubahan patologis pada anggota gerak, yaitu timbulnya luka pada kaki. Luka yang bila tidak dirawat dengan baik akan berkembang menjadi ulkus gangren (Anshori, 2014).

Diabetes tipe II terjadi jika insulin hasil produksi pankreas tidak cukup atau sel lemak dan otot tubuh menjadi kebal terhadap insulin, sehingga terjadilah gangguan pengiriman gula ke sel tubuh. Pada Diabetes Mellitus tipe II, pankreas masih dapat membuat insulin, tetapi kualitas insulin yang dihasilkan buruk dan tidak dapat berfungsi dengan baik sebagai kunci untuk memasukkan glukosa ke dalam sel. Akibatnya, glukosa dalam darah meningkat (Wahyuni, 2010).

Luka diabetik sangat mudah menimbulkan komplikasi berupa infeksi akibat invasi bakteri serta adanya hiperglikemia menjadi tempat yang optimal untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri yang dapat menimbulkan infeksi pada luka diabetik adalah bakteri yang menghasilkan biofilm. Biofilm ini dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Adanya biofilm pada dasar luka dapat menghambat aktivitas fagositosis neutrofil polimorfonuklear dalam proses

penyembuhan luka (Anshori, 2014). Untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat digunakan senyawa antibakteri yang berasal dari tumbuhan daun pegagan.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan metode maserasi yaitu ekstrak yang dibuat dengan cara merendam bahan bakunya dengan etanol 96%. Dilanjutkan disaring dengan kertas saring steril, hasil saringan di *rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Kemudian dilakukan perendaman kertas saring ke dalam ekstrak daun pegagan selama 30 menit dan ditanam pada media *Muller Hinton Agar*. Menunjukkan bahwa terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil zona hambat yang berbeda-beda dari berbagai konsentrasi. Hasil zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi menunjukkan perbedaan yang tidak terlalu jauh dari konsentrasi sebelumnya. Pada konsentrasi 20% terbentuk zona hambat berturut-turut 7 mm, 8 mm, 7 mm. Pada konsentrasi 40% terbentuk zona hambat berturut-turut 8 mm, 8 mm, 8 mm. Pada konsentrasi 60% terbentuk zona hambat berturut-turut 9 mm, 10 mm, 10 mm. Pada konsentrasi 80% terbentuk zona hambat berturut-turut 14 mm, 15 mm, 13 mm. Pada konsentrasi 100% terbentuk zona hambat berturut-turut 20 mm, 19 mm, 17 mm. Namun pada konsentrasi 100%, zona hambat yang terbentuk pada pengulangan ketiga mempunyai selisih nilai yang tinggi dengan zona hambat pada pengulangan pertama, hal ini dapat disebabkan oleh karena jarak antar disc obat pada setiap konsentrasi terlalu dekat sehingga menyebabkan terjadinya zona hambat yang tumpang tindih.

Hasil ini sesuai dengan penelitian Widiastuti (2012), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) mempunyai aktivitas antibakteri dan antifungi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100% dengan rata-rata diameter zona hambat berturut-turut 7,1 mm, 8,6 mm, 9,4 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan dengan rata-rata zona hambat berturut-turut 7,1 mm, 7,5 mm, 8,4 mm untuk bakteri *Eschericia coli*.

Semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) urban) maka kandungan senyawa yang bersifat antibakteri semakin banyak sehingga daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* akan semakin besar. Sedangkan jika tidak terbentuk zona hambat dikarenakan kurangnya kandungan dari senyawa-senyawa antibakteri ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban), maka senyawa-senyawa tersebut tidak mampu merusak membran sitoplasma yang merupakan tempat transport bahan makanan bagi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Diameter zona hambat kloramphenikol terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dikategorikan menurut Davis dan Stout (1971) termasuk kategori yang kuat yaitu sebesar 19 mm. Kloramphenikol dipilih karena bersifat bakteriostatik. Kloramphenikol bekerja pada spektrum luas efektif baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerja kloramphenikol sebagai antibakteri yaitu melalui penghambatan terhadap pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino, dengan cara mengikat subunit ribosom 50-S sel mikroba target (Sumiyati, 2017).

Adanya pengaruh antibakteri ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* diduga karena peran zat aktif yang terkandung dalam daun pegagan yaitu flavonoid. Daun pegagan mengandung senyawa jenis flavonoid seperti fenolik (Amita, 2015). Dalam penelitian Widiastuti (2012) menyatakan flavonoid merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran dan dinding sel. Flavonoid juga bersifat desinfektan dan bakteriostatik yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktivasi metabolisme sel bakteri berhenti, selain itu, senyawa flavonoid mempunyai kerja menghambat enzim *topoisomerase II* pada bakteri yang dapat merusak struktur DNA bakteri dan menyebabkan kematian.

Pada tahap pra analitik proses pembuatan ekstrak, daun pegagan ditimbang, setelah ditimbang daun diblender dan dimasukkan ke dalam botol,

diberi label nama agar tidak tertukar, kemudian botol tersebut diisi dengan larutan etanol 96% untuk maserasi, proses maserasi selama 3 hari. Setelah proses maserasi selesai dilakukan penyaringan, untuk memisahkan antara ampas dan ekstrak, setelah selesai dipisahkan kemudian ekstrak dimasukkan ke dalam tabung evaporator, untuk memisahkan antara etanol dengan ekstrak tersebut, proses evaporator yaitu selama 3 jam. Setelah proses evaporator selesai diambil sisa ekstrak, dan dimasukkan ke dalam mangkok kaca kecil yang sudah steril, kemudian ditutup dengan aluminium foil, pada kertas aluminium foil diberi bolongan kecil.

Pada tahap pra analitik yang perlu diperhatikan sebelum melakukan penanaman yaitu persiapan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian. Alat-alat yang digunakan sebaiknya disterilisasi terlebih dahulu. Sterilisasi yang digunakan yaitu sterilisasi dengan alat UV-VIS selama 30 menit dengan suhu 60°C.

Pada tahap analitik, hal yang perlu diperhatikan adalah pada saat pengenceran ekstrak dan pada saat pembenihan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengenceran harus dilakukan dengan baik, karena jika terjadi kesalahan pada saat pipet atau perhitungan maka hasil yang diperoleh tidak sesuai yang diharapkan. Dari konsentrasi 100% menjadi 80%, 60%, 40%, 20% masing-masing volume ekstrak yaitu 1 ml. Perendaman kertas cakram pada hasil pengenceran ekstrak dilakukan selama 30 menit, agar senyawa-senyawa antimikroba bisa terserap dengan baik pada kertas cakram. Sedangkan pada saat pembenihan atau uji sensitivitas harus dilakukan dengan baik karena dapat terkontaminasi oleh mikroorganisme lain. Jika terkontaminasi bukan bakteri yang diinginkan yang tumbuh tetapi mikroorganisme lain yang tidak diinginkan. Pada saat membuat suspensi bakteri pada media MHA sebaiknya jangan terlalu tebal karena dapat mempengaruhi hasil. Dalam melakukan uji sensitivitas dimulai dengan melakukan swab suspensi bakteri pada media MHA dengan cara memutar sebesar 90° cawan petri dan seluruh permukaan media MHA harus ditumbuhi bakteri. Setelah itu diletakkan kertas cakram atau disk ekstrak pada media. Banyaknya disk ekstrak pada media tergantung besarnya cawan petri.

Setelah itu media diinkubasi selama 24 jam, jika waktu inkubasi kurang dari 24 jam maka besarnya zona hambat akan sempit dan tidak berkembang seperti sebenarnya. Hal ini dikarenakan bakteri yang telah tumbuh kekurangan nutrisi sehingga tidak tumbuh dengan baik.

Tahap pasca analitik dalam penelitian ini adalah pencatatan dan pelaporan hasil. Untuk mengetahui zona hambat itu resisten, intermediet, dan sensitif yaitu dapat dilihat berdasarkan Davis dan Stout (1971), menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, dan apabila zona hambat berukuran 10-19 mm dikategorikan kuat, serta zona hambat berukuran 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran diameter zona hambatan adalah:

1. Kekeruhan suspensi bakteri

Jika inokulum terlalu sedikit, maka zona hambat akan menjadi besar meskipun kepekaan organisme tidak berubah. Maka secara relatif bakteri yang resisten mungkin dapat dilaporkan sebagai peka. Sebaliknya, jika inokulumnya terlalu padat, maka ukuran zona hambat akan turun dan bakteri yang peka mungkin dilaporkan sebagai resisten.

2. Waktu inkubasi

Hampir semua cara menggunakan waktu inkubasi 16-18 jam. Kurang dari 16 jam pertumbuhan bakteri belum sempurna sehingga sukar dibaca atau diameter zona hambat lebih lebar. Lebih dari 18 jam pertumbuhan lebih sempurna sehingga diameter zona hambat makin sempit.

3. Tebalnya agar-agar

Ketebalan agar-agar sekitar 4 cm. Kurang dari itu difusi obat lebih cepat, lebih dari itu difusi obat lambat.

4. Jarak antar disc obat

Jarak yang dianjurkan yaitu 15 mm, untuk menghindari terjadinya zona hambatan yang tumpang tindih. Cawan petri dengan diameter 9-10 cm, paling banyak untuk 7 disc obat.

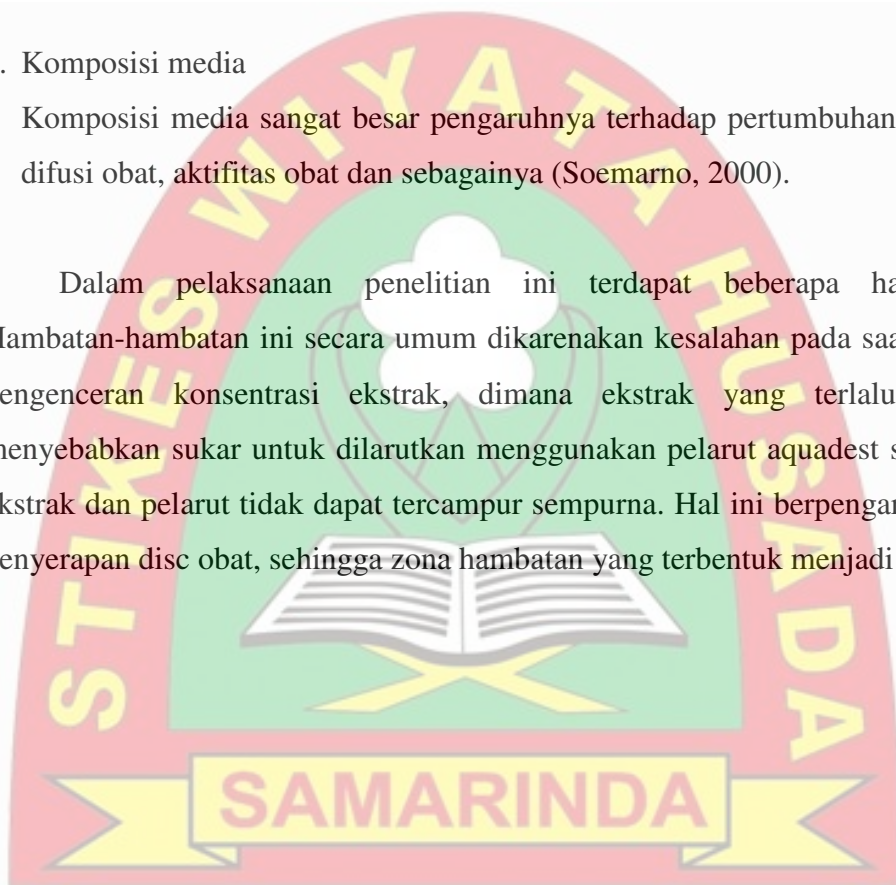
5. Potensi disc obat

Setiap jenis obat mempunyai diameter disc yang sama, tetapi potensinya berbeda. Yang harus diperhatikan yaitu cara penyimpanan, ED nya, dan setiap disc obat yang baru diterima harus di cek dengan kontrol strain.

6. Komposisi media

Komposisi media sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri, difusi obat, aktifitas obat dan sebagainya (Soemarno, 2000).

Dalam pelaksanaan penelitian ini terdapat beberapa hambatan. Hambatan-hambatan ini secara umum dikarenakan kesalahan pada saat proses pengenceran konsentrasi ekstrak, dimana ekstrak yang terlalu kental menyebabkan sukar untuk dilarutkan menggunakan pelarut aquadest sehingga ekstrak dan pelarut tidak dapat tercampur sempurna. Hal ini berpengaruh pada penyerapan disc obat, sehingga zona hambatan yang terbentuk menjadi kecil.



## BAB V PENUTUP

### A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20% (7,3 mm) dengan kategori sedang, konsentrasi 40% (8 mm) dengan kategori sedang, konsentrasi 60% (9,7 mm) dengan kategori sedang, konsentrasi 80% (14 mm) dengan kategori kuat, dan konsentrasi 100% (18,6 mm) dengan kategori kuat.
2. Tidak didapatkan konsentrasi optimum dari ekstrak daun pegagan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka penderita Diabetes Mellitus.

### B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka adapun saran penulis antara lain:

1. Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara invitro sehingga dapat dijadikan sebagai bahan alternatif dalam pengobatan luka Diabetes Mellitus.
2. Perlu penelitian lebih lanjut pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap bakteri lain, dikarenakan metabolit sekunder yang terkandung pada daun pegagan terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.
3. Perlu penelitian lebih lanjut untuk penggunaan kertas disc dengan merk yang berbeda untuk mengetahui perbedaan hasil zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang terbentuk.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullatif. 2016. *Daya Hambat Ekstrak Rimpang Kunyit (Curcuma domestica Val.) Terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah: Semarang.
- Adwiyah, Rabiatul. 2013. *Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) Terhadap Kadar SOD dan GSH Pada Ovarium Mencit (Mus musculus)*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN: Malang.
- Amita, Hesty. 2015. *Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) dan Daun Beluntas (Pluchea asiatica (L.) Urban) Terhadap Gambaran Histologi Uterus dan Oviduk Tikus Putih Betina*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN: Malang.
- Anshori. 2014. *Pengaruh Perawatan Luka Menggunakan Madu Terhadap Kolonisasi Bakteri Staphylococcus aureus Pada Luka Diabetik*. Program Studi Ilmu Keperawatan Universitas Jember.
- Aqsha, Ramadhanisa. 2013. *Hubungan Aktivitas Fisik Dengan Kadar HBA1C Pasien DM Tipe 2 Di Laboratorium Patologi Klinik RSUD DR. H Abdul Moeloek Bandar Lampung*. Medical Journal of Lampung University.
- Azmi, Astry Lenny. 2016. *Daya Hambat Ekstrak Buah Alpukat (Persea americana mill) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus epidermis*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Bobone. 2013. *Antibiotik*. Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes RI Pangkal Pinang.
- Davis, W.W and Stout, T.R. 1971. *Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotik Assay*. Microbiology.
- Diana, Laila RA. 2013. *Penatalaksanaan Penyakit Diabetes Melitus Tipe 2 Pada Pasien Rawat Inap Di RSUD Koja*. Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.
- Endah, Maria. 2015. *Uji Kativitas Antibakteri Ekstrak Herba Meniran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Bacillus cereus dan Escherichia coli*. FKIP Universitas Sanata Dharma: Yogyakarta.
- Fauzi, Lukman. 2013. *Intensitas Jalan Kaki Terhadap Penurunan Kadar Glukosa*. Jurnal Kesehatan Masyarakat.

- Fitriany, Riana. 2017. *Pengaruh Ekstrak Daun Ceremai (Phyllanthus acidus (L.) Skeels) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wiyata Husada Samarinda
- Hastari, Rizka. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepeh dan Batang Tanaman Pisang Ambon Terhadap Staphylococcus aureus*. FK Universitas Diponegoro.
- Ifa, Nur Rosikhoh. 2016. *Gambaran Penderita Gangren dan Identifikasi Faktor Pemicu Kejadian Gangren Pada Penderita Diabetes Mellitus*. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Jawetz, dkk. 2005. *Edisi Pertama. Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, dkk. 2007. *Edisi 23. Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Luqmanul, Arif Hakim. 2006. *Potensi Beberapa Bentuk Sediaan Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) terhadap Gambaran Histologis dan Kadar Antioksidan Pankreas Tikus Putih*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Luthfiana, Dewi Anggit.. 2013. *Formulasi Salep Ekstrak Daun Pegagan Dengan Basis Polietilenglekol dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Mukhriani. 2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif*. Fakultas Ilmu Kesehatan. UIN Alauddin Makassar.
- Nanang, Fitra A. 2008. *Pola Kuman Aerob dan Sensitivitas Pada Gangren Diabetik*. FK Universitas Sumatera Utara.
- Rahayu, Lailiya Sarah. 2017. *Pengendalian Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Dengan Variasi Jarak Sinar Ultra Violet*. Univeristas Muhammadiyah Semarang.
- Sari, Nelvita Ramadhan. 2015. *Daya Hambat Ekstrak Daun Pegagan Yang Di ambil di Batusangkar Terhadap Pertumbuhan Kuman Vibrio cholerae Secara In Vitro*. FK Universitas Andalas.
- Soemarno. 2009. *Analisis Kesehatan Bakteriologi*. Yogyakarta.
- SOP Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman Samarinda.
- Sulistria, YM. 2013. *Tingkat Self Care Pasien Rawat Jalan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Puskesmas Kalirungkut Surabaya*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya.

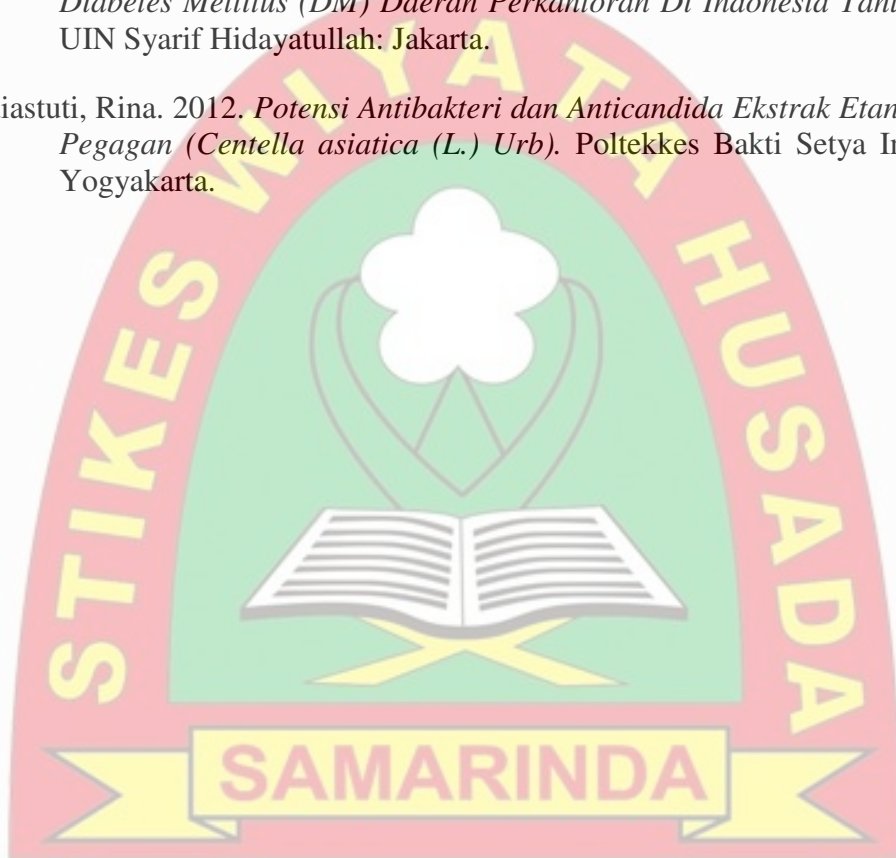
Sumiyati. 2017. *Pengaruh Infusa Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi Linn) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus ATCC 25923*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wiyata Husada Samarinda.

Sutrino, E. 2014. *Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis), pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa Dari Pasien Luka Kaki Diabetes*. Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Tony, S Pranata. 2014. *Herbal Toga*. Yogyakarta : Aksara Sukses.

Wahyuni, Sri. 2010. *Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Penyakit Diabetes Mellitus (DM) Daerah Perkantoran Di Indonesia Tahun 2007*. UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.

Widiastuti, Rina. 2012. *Potensi Antibakteri dan Anticandida Ekstrak Etanol Daun Pegagan (Centella asiatica (L.) Urb)*. Poltekkes Bakti Setya Indonesia Yogyakarta.



## RIWAYAT HIDUP



Winda Listyani, lahir pada tanggal 19 Mei 1996 di Bandung Jawa Barat. Merupakan anak pertama dari dua bersaudara, putri dari Bapak Priyono dan Ibu Patmi. Agama Islam, Tempat tinggal di Jl. Progo Desa Bangun Jaya Kaliorang Kutai Timur.

Riwayat pendidikan pada tahun 2001 memulai jenjang pendidikan di TK Bhineka Bakti 2 Kabupaten Bandung menyelesaikan pada tahun 2002. Pada tahun 2002 melanjutkan pendidikan pada Sekolah Dasar Negeri Rahayu 6 Kabupaten Bandung dan menyelesaikan pendidikan pada tahun 2008. Pada tahun 2008 melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama Negeri 3 Margahayu Kabupaten Bandung dan menyelesaikan pendidikan pada tahun 2011. Pada tahun 2011 melanjutkan jenjang pendidikan Sekolah Menengah Kejuruan Keperawatan Bandung Selatan 2 Kota Bandung dan menyelesaikannya pada tahun 2014. Pada tahun 2015 melanjutkan pendidikan jenjang perguruan tinggi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wiyata Husada Samarinda dengan mengambil jurusan DIII Analis Kesehatan.

Selama melakukan perkuliahan telah mengikuti kegiatan Praktek Kerja Lapangan di Laboratorium Rumah Sakit Tentara Dr. R. Hardjanto Balikpapan pada bulan Januari 2018 sampai Februari 2018 dan di Laboratorium RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda pada bulan Maret 2018 sampai April 2018 dan mengikuti Praktek Klinik Masyarakat Desa (PKMD) di Puskesmas Wonorejo pada bulan April sampai dengan Mei 2018.

## Lampiran 1 Surat Hasil Analisa Uji Fitokimia



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS MULAWARMAN  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
JURUSAN KIMIA  
**LABORATORIUM KIMIA ORGANIK**

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda - Kalimantan Timur 75123 Indonesia  
telp./Fax: +62541 747874, Email: kimia.organik@fmipa.unmul.ac.id, https://www.fmipa.unmul.ac.id

Samarinda, 15 Desember 2017

Nomor : 191/UN.17.8.035.13/LL/2017  
Lampiran : 1 Lembar  
Perihal : Hasil Analisa Uji Fitokimia

Kepada Yth.  
Ibu/Sdr(i). Winda Listyani  
NIM. 15.0085.729.03  
STIKES WHS. Analis Kesehatan  
di-  
Tempat

Dengan hormat,  
Bersamaan ini kami sampaikan hasil analisa uji fitokimia ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) yang saudara kirimkan kepada kami, yang telah diuji oleh Muhammad Fadliannur, S.Si adalah:

No.	Metabolit Sekunder	Hasil Analisa	Keterangan	Metode Uji
1.	Flavonoid	Positif (+)	Larutan hijau kehitaman	Metode Willstater
2.	Kuinon	Positif (+)	Larutan hijau	Pereaksi NaOH dan HCl
3.	Alkaloid	Positif (+)	Endapan orange	Metode Dragendroff
4.	Fenolik	Positif (+)	Larutan hijau tua	Pereaksi FeCl <sub>3</sub>
5.	Steroid	Positif (+)	Terbentuk cincin hijau	Metode Lieberman-Burchard
6.	Triterpenoid	Negatif (-)	Terbentuk cincin hijau	Metode Lieberman-Burchard
7.	Saponin	Negatif (-)	Tidak terdapat buih/busa.	Metode Forth

Demikian hasil analisa untuk dapat diketahui, semoga dapat berguna bagi saudara dan dapat dipergunakan sebagai mana mestinya.

Mengetahui,  
Kepala Lab. Kimia Organik  
FMIPA UNMUL



**Dr. Saibun Sitorus, M.Si**  
NIP. 19661010 199102 1 004

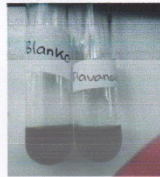
## Lampiran 2 Hasil Analisa Uji Fitokimia



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS MULAWARMAN  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
JURUSAN KIMIA  
**LABORATORIUM KIMIA ORGANIK**  
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda - Kalimantan Timur 75123 Indonesia  
telp./Fax: +62541747974, Email: kimia.organik@fmipa.unmul.ac.id, <https://www.fmipa.unmul.ac.id>

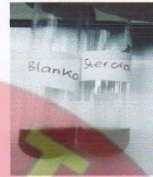
### Lampiran. Hasil Analisa Fitokimia

#### a. Flavonoid



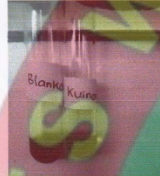
Positif (+)

#### e. Streoid



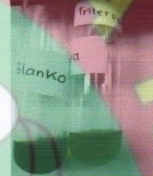
Positif (+)

#### b. Kuinon



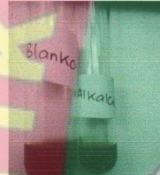
Positif (+)

#### f. Triterpenoid



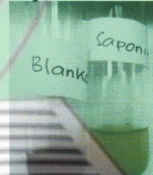
Negatif (-)

#### c. Alkaloid



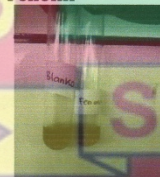
Positif (+)

#### g. Saponin



Negatif (-)

#### d. Fenolik



Positif (+)



Lampiran 3 Hasil Uji Pendahuluan dan Uji Sensitivitas



PEMERINTAH PROVINSI KALIMANTAN TIMUR  
RSUD ABDUL WAHAB SJAHRANIE SAMARINDA  
INSTALASI LABORATORIUM PATOLOGI KLINIK  
Jl. Palang Merah Indonesia Telp. (0541) 738118, Fax. (0541) 741793  
Email : labmikroaws@gmail.com

HASIL PENGUKURAN ZONA HAMBAT EKSTRAK DAUN PEGAGAN  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*  
PADA LUKA PENDERITA DIABETES MELLITUS

1. Hasil Uji Pendahuluan

Bakteri	Diameter Zona Hambat (mm)					
	20%	40%	60%	80%	100%	Kloramphenikol
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9	10	10	11	30

2. Hasil Uji Sensitivitas

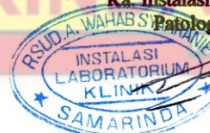
Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)	Kategori (Davis & Stout)	Kategori Kontrol (+)
	Pengulangan					
	I	II	III			
20%	7	8	7	7,3	Sedang	Resisten
40%	8	8	8	8	Sedang	Resisten
60%	9	10	10	9,7	Sedang	Resisten
80%	14	15	13	14	Kuat	Intermediet
100%	20	19	17	18,6	Kuat	Sensitif
Kloramphenikol	19	20	18	19	Kuat	Sensitif

Samarinda, 04 Mei 2018

Koordinator Mikrobiologi

Huzaimah, SKM, M. Si  
NIP.19700727 199002 2 002

Ka. Instalasi Laboratorium  
Patologi Klinik



Dr. dr. Lily Pertiwi Kalalo, SpPK  
NIP.19681028 200001 2 001

## Lampiran 4 Surat Izin Penelitian



### SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN WIYATA HUSADA SAMARINDA

IZIN DIKTI NO: 129/D/O/2008

TERAKREDITASI BAN-PT NO: 640/SK/BAN-PT/Akred/PT/V/2015

PERINGKAT B



Jl. Kadrie Oening No. 77 Samarinda Kalimantan Timur Telp/ Fax. (0541) 7272431  
[www.stikeswhs.ac.id](http://www.stikeswhs.ac.id) | [info@stikeswhs.ac.id](mailto:info@stikeswhs.ac.id)

Nomor : 0447/STIKES-WHS/III/2018  
Hal : Permohonan Ijin Penelitian

12 Maret 2018


Yth. Direktur RSUD. Abdul Wahab Sjahrane Samarinda  
Cq. Diklat RSUD. Abdul Wahab Sjahrane Samarinda  
Di Tempat

Sehubungan dengan penyelesaian tugas akhir mahasiswa berupa penyusunan karya tulis ilmiah/skripsi, maka kami mohon kepada Bapak/ibu agar dapat memberikan ijin kepada mahasiswa kami untuk melakukan penelitian di wilayah kerja yang Bapak/Ibu pimpin. Adapun mahasiswa yang melakukan kegiatan tersebut adalah :

Nama : Winda Listyani  
NIM : 15.0085.729.03  
Semester : VI  
Program Studi : Analis Kesehatan  
Judul : Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (Centella Asiatica) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphilococcus Aureus pada Luka DM

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya kami mengucapkan terima kasih.

Wakil Ketua I,

  
Ns. Sumati Sinaga., M.Kep  
NIK 113072.82.09.006

**SAMARINDA**

## Lampiran 5 Surat Persetujuan Penelitian



### PEMERINTAH PROVINSI KALIMANTAN TIMUR RSUD A. WAHAB SJAHRANIE

Jalan Dr. Soetomo No. 1 Telp. (0541) 738118 (Hunting System) Fax. (0541) 741793  
S A M A R I N D A 75123

E-mail : rsudaws@gmail.com

Samarinda, 11 April 2018

Nomor : 070. 937 /Diklit-Mutu/IV/2018  
Lamp : --  
Perihal : Persetujuan Penelitian

Kepada Yth,  
Wakil Ketua I  
Program Studi Analis Kesehatan  
STIKES Wiyata Husada  
Di - Samarinda

Sehubungan dengan surat dari Wakil Ketua I Program Studi Analis Kesehatan STIKES Wiyata Husada Samarinda No : 0447/STIKES-WHS/III/2018 tanggal 12 Maret 2018, perihal Permohonan Ijin Penelitian, bersama ini kami sampaikan bahwa :

1. Pada prinsipnya kami dapat menerima mahasiswa Program Studi Analis Kesehatan STIKES Wiyata Husada Samarinda a.n :

No	Nama	Judul
1.	Winda Listyani Nim : 15.0085.729.03	Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (Centella Asiatica) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphilococcus Aureus pada Luka DM

Untuk melaksanakan Penelitian di RSUD A. Wahab Sjahranie Samarinda;

2. Selama melaksanakan kegiatan tersebut, supaya mematuhi **ketentuan, tata tertib dan wajib memakai Almamater dan Kartu Pengenal** yang berlaku di RSUD. A. Wahab Sjahranie Samarinda;
3. Sesuai ketentuan yang berlaku di RSUD. A. Wahab Sjahranie Samarinda untuk pelaksanaan kegiatan tersebut dikenakan biaya kontribusi sesuai **PERGUB Nomor 58 Tahun 2013** sebesar **Rp. 300.000,- (Tiga Ratus Ribu Rupiah)** per orang ;
4. Sebelum melaksanakan kegiatan supaya menghubungi Ka. Bidang Diklit & Mutu RSUD A. Wahab Sjahranie Samarinda.

Demikian kami sampaikan, atas kerja sama yang baik diucapkan terima kasih.

Pjh. Pimpinan BLUD  
RSUD A. Wahab Sjahranie Samarinda



Dra. Hj. Herty Sabran, M.Si  
Nip. 19581010 198303 2 019

## Lampiran 6 Perhitungan Konsentrasi

### Perhitungan Konsentrasi

$$\text{Rumus : } V1 = (V2 \times M2)/M1$$

Keterangan :

V1 : Volume awal larutan

V2 : Volume akhir larutan

M1 : Konsentrasi awal larutan

M2 : Konsentrasi akhir larutan

1. Konsentrasi 100% = ekstrak murni

2. Konsentrasi 80% =  $\frac{80 \times 1}{100} = 0,8$  gram ekstrak + pelarut sampai 1 ml

3. Konsentrasi 60% =  $\frac{60 \times 1}{100} = 0,6$  gram ekstrak + pelarut sampai 1 ml

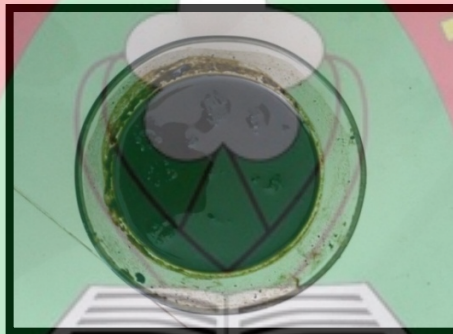
4. Konsentrasi 40% =  $\frac{40 \times 1}{100} = 0,4$  gram ekstrak + pelarut sampai 1 ml

5. Konsentrasi 20% =  $\frac{20 \times 1}{100} = 0,2$  gram ekstrak + pelarut sampai 1 ml

**Lampiran 7** Alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian di Laboratorium Kimia Organik Universitas Mulawarman dan Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdul Wahab Syahrani Samarinda



**Gambar 1.** Rotari Evaporator



**Gambar 2.** Ekstrak Daun Pegagan



**Gambar 3.** Neraca Analitik



**Gambar 4.** Kertas Saring Steril



**Gambar 5.** Suspensi Bakteri



**Gambar 6.** Antibiotik Kloramphenikol



Gambar 7. NaCl 0,9%



Gambar 8. Aquadest Steril



**Lampiran 8** Dokumentasi kegiatan pembuatan ekstrak hingga uji sensitivitas



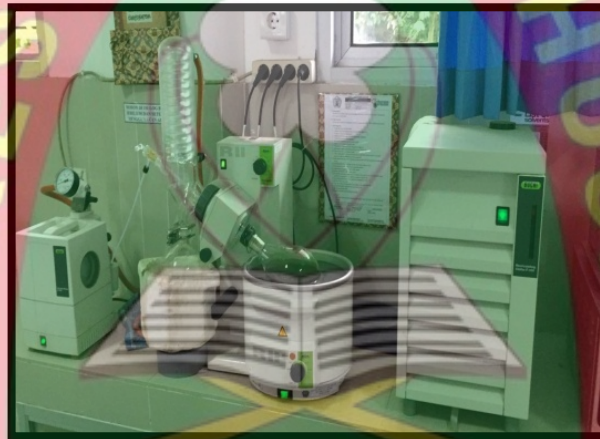
**Gambar 1.** Daun Pegagan dihaluskan menggunakan blender



**Gambar 2.** Daun Pegagan yang sudah halus ditimbang



**Gambar 3.** Penyaringan ekstrak yang telah dimaserasi



**Gambar 4.** Hasil maserasi dipisahkan dari pelarutnya dengan alat rotary Evaporator



**Gambar 5.** Penimbangan Ekstrak



**Gambar 6.** Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji



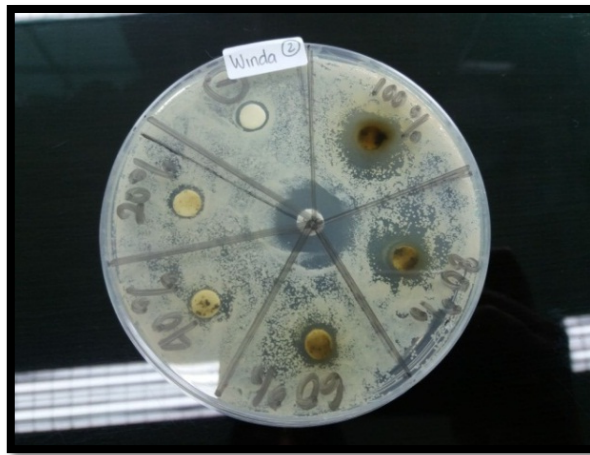
**Gambar 7.** Pembuatan Larutan Uji



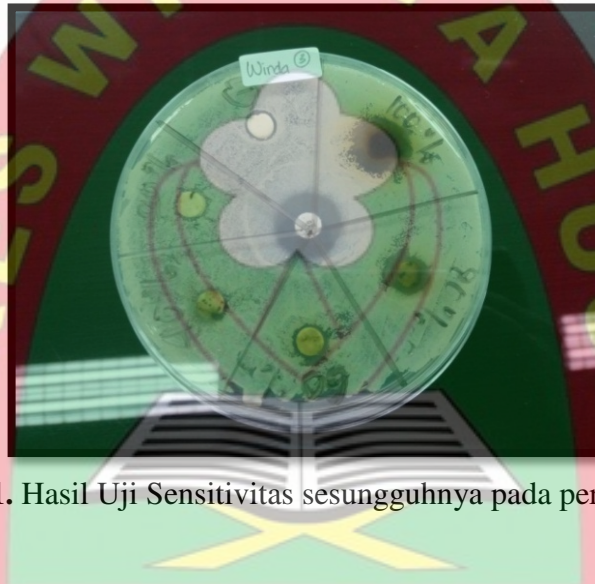
**Gambar 8.** Hasil Uji Pendahuluan



**Gambar 9.** Hasil Uji Sensitivitas sesungguhnya pada percobaan pertama



**Gambar 10.** Hasil Uji Sensitivitas sesungguhnya pada percobaan kedua



**Gambar 11.** Hasil Uji Sensitivitas sesungguhnya pada percobaan ketiga