

LAPORAN PENELITIAN

**“PERBEDAAN PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae* PADA
BERBAGAI KONSENTRASI PERASAN KULIT APEL MANALAGI
(*Malus sylvestris* Mill) SECARA *IN VITRO*”**



**Oleh:
Dita Artanti**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA**

2018

LAPORAN PENELITIAN

**“PERBEDAAN PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae* PADA
BERBAGAI KONSENTRASI PERASAN KULIT APEL MANALAGI
(*Malus sylvestris* Mill) SECARA *IN VITRO*”**

Oleh:

Dita Artanti

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA**

2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Perbedaan Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Pada Berbagai Konsentrasi Perasan Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Secara In Vitro
Nama Lengkap : Dita Artanti, S.Si., M.Si.
NIDN : 0730098902
Jabatan Fungsional : Tenaga Pengajar
Perguruan Tinggi Asal : Universitas Muhammadiyah Surabaya
Alamat Institusi : Jl. Sutorejo No.59, Surabaya
Telepon/Fax/Email : 081357056954

Anggota Peneliti (1)
Nama Lengkap : -
NIDN :
Jabatan Fungsional :
Perguruan Tinggi Asal :
Alamat Institusi :
Total Biaya : Rp. 5.000.000,00

Surabaya,

Mengetahui
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Dr. Mundakir S.Kep.,Ns., M.Kep
NIP. 1975.0323.2005.01.1.002

Peneliti

Dita Artanti, S.Si., M.Si.
NIP. 012.05.1.1989.16.220

Menyetujui
Ketua LPPM UMSurabaya

Dr. Sujinah, M.Pd.
NIP. 012.02.1.1965.90.004

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
ABSTRAK	x
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.4.1. Manfaat Teoritis	4
1.4.2. Manfaat Praktik.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Apel Manalagi	6
2.1.1. Sejarah Penyebaran Apel	6
2.1.2. Morfologi Apel Manalagi	6
2.1.3. Taksonomi Apel Manalagi.....	7
2.1.4. Kandungan Kimia Kulit Apel Manalagi	7
2.1.5. Khasiat Apel Manalagi.....	10
2.2. <i>Shigella dysenteriae</i>	11
2.2.1. Sejarah <i>Shigella dysenteriae</i>	11
2.2.2. Klasifikasi <i>Shigella dysenteriae</i>	11
2.2.3. Sifat dan Morfologi <i>Shigella dysenteriae</i>	12
2.2.4. Toksin <i>Shigella dysenteriae</i>	12
2.2.5. Patogenesis <i>Shigella dysenteriae</i>	13

2.2.6. Penyebab dan Penularan <i>Shigella dysentriae</i>	13
2.2.7. Pengobatan	14
2.2.8. Pencegahan	14
2.2.9. Pemeriksaan Laboratorium	14
2.2.10. Fase Pertumbuhan Bakteri	15
2.2.11. Aksi Obat Antimikroba	16
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	19
3.1. Tujuan Penelitian	19
3.1.1. Tujuan Umum	19
3.1.2. Tujuan Khusus	19
3.2. Manfaat Penelitian	19
3.2.1. Manfaat Teoritis	19
3.2.2. Manfaat Praktis	19
BAB IV METODE PENELITIAN	20
4.1. Jenis Penelitian	20
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian	21
4.3. Populasi dan Sampel Penelitian	21
4.3.1. Populasi	21
4.3.2. Sampel	21
4.4. Variabel	22
4.4.1. Variabel Terikat	22
4.4.2. Variabel Bebas	22
4.4.3. Variabel Kontrol.....	22
4.5. Definisi Operasional Variabel	22
4.6. Metode Pengumpulan Data	23
4.7. Teknik Analisis Data	23
4.8. Tabulasi Data	23
4.9. Alat dan Bahan Penelitian	24
4.10. Prosedur Penelitian	24
4.10.1. Cara Sterilisasi Alat dan Bahan	24
4.10.2. Pembuatan Perasaan Kulit Apel Manalagi	25
4.10.3. Prosedur Pembuatan Konsentrasi Perasan Apel Manalagi	25

4.10.4. Uji Sterilisasi Konsentrasi Perasan Apel Manalagi	26
4.10.5. Pembuatan Standar <i>Mc Furland I</i>	26
4.10.6. Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Shigella dysentriae</i>	27
4.10.7. Pembuatan Media	29
1. Prosedur Pembuatan Media Nutrient Agar	29
2. Prosedur Pembuatan Media Mac Conkey.....	30
3. Prosedur Pembuatan Media TSIA	31
4.10.8. Prosedur Pemeriksaan Sampel	32
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	34
5.1. Hasil Penelitian	39
5.2. Pembahasan	36
5.3. Luaran yang ingin dicapai	20
BAB VI RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	21
6.1. Rencana Jangka Pendek	21
6.2. Rencana Jangka Panjang	21
BAB VII PENUTUP.....	22
7.1. Penutup	22
7.2. Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.1 Apel Manalagi	7
Gambar 2.1.2 Struktur Flavonoid	9
Gambar 2.2.3 <i>Shigella dysenteriae</i>	11
Gambar 4.1.4 Rancangan Penelitian	20
Gambar 5.1.2 Grafik batang rata – rata pertumbuhan bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> pada media Mac Conkey Agar (MCA) dengan pemberian berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill).	35

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.1 Klasifikasi Apel Manalagi	7
Tabel 2.2.2 Klasifikasi <i>Shigella dysenteriae</i>	11
Tabel 3.1 Tabulasi data hasil penelitian Pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill) terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	23
Tabel 5.1.1 Data hasil penelitian pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (<i>Malus sylvestris</i> Mill) terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Anggaran Biaya Pengeluaran	44
Lampiran 2. Jadwal Penelitian	45

**PERBEDAAN PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae* PADA
BERBAGAI KONSENTRASI PERASAN KULIT APEL MANALAGI
(*Malus sylvestris* Mill) SECARA *IN VITRO***

Oleh : Dita Artanti

Universitas Muhammadiyah Surabaya

ABSTRAK

Apel manalagi merupakan salah satu jenis apel malang yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia, karena rasanya yang manis, enak, mudah didapat dan harganya cukup terjangkau. Kulit apel manalagi mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol yang mempunyai efek antibakteri. *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri basil yang menyebabkan diare akut (disentri) pada sebagian besar masyarakat yang kurang menjaga kebersihan. Salah satu alternatif untuk mencegah penyakit tersebut adalah dengan menggunakan bahan alami sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* pada berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro*. Jenis penelitian ini adalah eksperimental terdiri dari 7 perlakuan dengan 4 kali pengulangan. Sampel terdiri dari 7 konsentrasi perasan kulit apel manalagi (100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0% (kontrol). Analisis data menggunakan uji ANOVA dengan tingkat kesalahan 5% (0,05). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *S.dysenteriae* hanya pada konsentrasi 0%; 3,125%; 6,25%; 12,5%; dan 25%. Sedangkan pada konsentrasi 50% dan 100% tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *S.dysenteriae*. Kesimpulan dari penelitian ini membuktikan bahwa perasan kulit apel manalagi mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *S.dysenteriae*.

Kata Kunci : *Shigella dysenteriae*, kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kondisi cuaca yang sering mengalami perubahan dan meningkatnya aktifitas manusia, secara tidak langsung berpengaruh terhadap kesehatan manusia. Imbas yang paling dapat dirasakan adalah meningkatnya intensitas penyakit berbasis ekosistem, seperti diare, demam berdarah, penyakit kulit dan penyakit lainnya. Ketika cuaca ekstrim saat musim hujan yang bisa mengakibatkan banjir, biasanya terjadi peningkatan pasien diare. Air banjir tercemar bakteri yang berasal dari kotoran, baik kotoran hewan dan manusia. Bakteri itu dapat menular jika dikonsumsi manusia. Hal tersebut menyebabkan peran lingkungan sebagai penopang kehidupan makhluk hidup menurun seiring berjalannya waktu dan ini ternyata berimbas terhadap perkembangan penyakit berbasis ekosistem di lingkungan masyarakat (Anonim, 2011).

Penyakit diare masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di Negara berkembang seperti di Indonesia, karena morbiditas dan mortalitasnya yang masih tinggi. Diare adalah penyebab kematian yang kedua pada anak balita setelah pneumonia. Diperkirakan 4 milyar kasus diare terjadi setiap tahun pada anak balita di seluruh dunia. Setiap tahun 1,5 juta anak balita meninggal karena diare. Diare membawa kematian lebih cepat pada anak-anak dibanding orang dewasa karena terjadinya dehidrasi dan malnutrisi (Depkes, 2010). Angka kejadian diare semua umur pada tahun 2012 adalah 214 per 1.000 penduduk dan angka kejadian diare balita pada tahun 2012 adalah 900 per 1000 balita (Kementerian Kesehatan RI, 2013).DINKES JATIM (2011) menyebutkan bahwa kasus diare masih terbilang cukup tinggi yaitu mencapai 411 per 1000 penduduk. Pada tahun 2010 jumlah penderita diare di Jawa Timur mencapai 1.063.949 kasus dengan 403.611 kasus (37.94%) yang menyerang balita (Kumalasari, 2012).

Diare adalah buang air besar dengan konsistensi lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dengan frekuensi lebih sering dari biasanya (tiga kali atau lebih) dalam satu hari (Depkes RI, 2011). Jika diare mengandung darah dan lendir, ini dikenal sebagai disentri. Biasanya diare merupakan gejala infeksi

penyakit gastrointestinal yang dapat disebabkan oleh berbagai macam bakteri, virus, dan organisme parasit. Penyebaran penyakit ini melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi atau dari manusia ke manusia yang kondisi sanitasinya buruk, ketersediaan sumber air bersih yang kurang, kemiskinan, dan pendidikan yang rendah (Anonim, 2008).

Secara klinis penyebab diare dapat dikelompokkan dalam 6 golongan besar yaitu infeksi (disebabkan oleh bakteri, virus atau infestasi parasit), malabsorpsi, alergi, keracunan, imunodefisiensi dan sebab-sebab lainnya. Penyebab yang sering ditemukan di lapangan ataupun secara klinis adalah diare yang disebabkan infeksi dan keracunan (Depkes RI, 2011). Sedangkan disentri biasanya disebabkan oleh dua hal yakni disentri basiler yang disebabkan oleh basil dan juga disentri amoeba yang disebabkan oleh parasit *Entamoeba histolytica*, akan tetapi *Shigella* sp merupakan penyebab terbanyak terjadinya disentri (Haryadi, 2012).

Shigella merupakan penyebab diare berdarah akut (disentri). *Shigella dysenteriae* berbeda dari serogrup *Shigella* lainnya karena menyebabkan epidemi besar dan disentri berkepanjangan, lebih sering mengalami resistensi antimikroba dan menyebabkan penyakit yang sering berakibat fatal dari pada infeksi serogrup *Shigella* lainnya. Dalam beberapa tahun terakhir, disentri akibat *Shigella dysenteriae* telah menyebabkan epidemi di Amerika Tengah, Asia Selatan, Asia Tengah dan Afrika Selatan. Dari bulan Juni 1998 hingga November 1999, *Shigella* sp telah diisolasi sebanyak 5% dari 3.848 anak-anak dan orang dewasa dengan diare berat di rumah sakit seluruh Indonesia. *Shigella dysenteriae* muncul kembali di Bali, Kalimantan dan Batam dan telah dideteksi di Jakarta setelah 15 tahun tidak terdeteksi. Pada tahun 2010, 1.811 kasus diare karena *Shigella* sp terjadi di Makassar (Abdullah dkk., 2012).

World Health Organization (WHO) menganjurkan pemberian trimetoprim sulfametoksazol pada diare berdarah tanpa mengetahui penyebabnya. Diperkenalkannya kombinasi trimetropim sulfametoksazol merupakan kemajuan penting dalam perkembangan senyawa antimikroba yang efektif secara klinis dan merupakan penerapan praktis dari suatu pertimbangan teoritis, yaitu jika dua obat bekerja pada tahapan yang berurutan dalam jalur reaksi enzimatik sebagai obligat bakteri (Asromedika, 2011).

Trimetoprim sulfametoksazol merupakan obat pilihan utama yang digunakan pada shigellosis, bekerja dengan menghambat sintesis asam folat. Koenzim asam folat merupakan suatu senyawa yang diperlukan untuk sintesis purin dan pirimidin (prekursor DNA dan RNA) dan senyawa- senyawa ini diperlukan untuk pertumbuhan selular dan replikasi sel bakteri. Jika asam folat ini tidak ada maka sel dalam bakteri tidak dapat tumbuh atau membelah.

Pada penggunaan trimetoprim – sulfametoksazol dapat menyebabkan atau mempercepat timbulnya megaloblastosis, leucopenia, atau trombositopenia. Pada penggunaan rutin, kombinasi ini tampaknya menunjukkan sedikit toksisitas. Sekitar 75% efek merugikan ini melibatkan kulit. Trimetopim – sulfametoksazol dilaporkan menyebabkan reaksi kulit hingga tiga kali sulfasoksazol yang diberikan tunggal. Kerusakan permanen fungsi ginjal dapat terjadi setelah penggunaan trimetoprim – sulfametoksazol pada pasien yang menderita penyakit ginjal, dan penurunan bersihan kreatinin secara reversible pernah teramati pada pasien yang fungsi ginjalnya normal (Asromedika, 2011).

Dengan adanya berbagai macam efek samping tersebut, maka diperlukan adanya alternative pengobatan dengan pemakaian tanaman berkhasiat obat maupun diolah telah mengalami kemajuan pesat, karena didukung oleh adanya sifat bakteriostatik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu. Selain harganya yang relatif murah, tidak memiliki efek samping jika penggunaannya sesuai dengan anjuran (Khalifah, 2010). WHO juga telah mengakui pengobatan tradisional dapat mengobati berbagai jenis penyakit infeksi, penyakit akut, dan penyakit kronis (Yuningsih, 2012).

Indonesia sebagai daerah tropis memiliki berbagai macam tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternative alami, salah satunya adalah apel. Apel selain populer dikonsumsi juga memiliki nilai gizi tinggi yang sangat bermanfaat bagi kesehatan, salah satu jenis buah apel di Indonesia adalah apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill). Apel manalagi dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia karena rasanya manis, mudah didapat, dan harganya terjangkau.

Nutrisi penting dari apel sebagian besar berada dilapisan bawah kulit buahnya (Setiawan dkk, 2013). Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol antara lain catechin, quercetin, phloridzin, dan asam klorogenik

(Jannata dkk 2014). Senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak membran sel, menghancurkan substrat, dan mengganggu fungsi enzim bakteri.

Apel memiliki khasiat sebagai antiradang, laksatif, astringen, antidiare, dan antioksidan (Setiawan dkk, 2013). Rasa apel yang enak dan manis ini sehingga banyak disukai oleh anak – anak.

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin melakukan penelitian tentang pengaruh kulit apel manalagi terhadap *Shigella dysenteriae*, bakteri penyebab penyakit disentri yang berjudul “Pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*”.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka masalah dalam penelitian ini adalah “Apakah ada pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ?”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

1.3.2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui konsentrasi optimum perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) yang dapat menghambat bakteri *Shigella dysenteriae*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Diharapkan dapat menjadi referensi atau masukan bagi perkembangan kesehatan dibidang pengobatan herbal, akan khasiat perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dan dapat digunakan untuk menyembuhkan disentri.

1.4.2. Manfaat Praktis

Diharapkan dapat menambah wawasan dan ilmu pengetahuan tentang pengaruh pemberian konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Apel Manalagi

2.1.1. Sejarah Penyebaran Apel

Genus *Malus* merupakan tumbuhan asli dari zona iklim belahan bumi utara, Eropa, Asia dan Amerika Utara, dan terdiri atas 30-35 spesies dari pohon kecil dan berdaun gugur atau tumbuhan semak dalam keluarga *rosaceae* (Giomaro dkk, 2014). Penemuan fosil awal di sebuah danau di Swiss sering dijadikan patokan bahwa apel sudah dikenal sejak berabad-abad yang lalu. Namun, para arkeolog memperkirakan manusia sudah menikmati apel sejak 6500 tahun yang lalu. Penyebarannya dilakukan oleh tentara – tentara Romawi yang selalu mengadakan invasi dan penjelajahan ke berbagai penjuru dunia (Sufrida dkk, 2007).

Apel adalah buah yang dibudidayakan diberbagai iklim belahan dunia, dan saat ini tumbuh di berbagai negara dengan total produksi lebih dari 71 juta ton. Dalam dunia ekonomi apel adalah buah keempat yang paling penting setelah jeruk, anggur, dan pisang. Apel dikonsumsi segar atau secara langsung setelah dipanen atau setelah periode penyimpanan hingga enam bulan atau bahkan lebih lama. Apel juga dapat diolah misalnya menjadi jus, saus, cuka, dan sari buah apel. Sebagian besar apel dibudidayakan berasal dari spesies *Malus domestica* dalam keluarga *rosaceae*. Lebih dari 7500 varietas apel telah dideskripsikan diberbagai Negara (Afzadi, 2012).

Dalam catatan lain dituliskan, apel merupakan tanaman buah tahunan yang berasal dari pegunungan Caucasus di Asia Barat, dan kemudian menyebar ke seluruh pelosok Asia. Varietas apel yang dikembangkan di Indonesia, umumnya didatangkan dari Eropa dan Australia. Buah ini masuk ke Indonesia sejak tahun 1934 melalui proses yang panjang (Sufrida dkk, 2007).

2.1.2. Morfologi Apel Manalagi

Jenis apel dari Malang antara lain apel manalagi, Rome Beauty dan Princes Noble. Apel Malang banyak mengandung vitamin, contohnya

seperti vitamin A, B, dan C serta mineral seperti kalsium, fosfor, zat besi, klor, magnesium, natrium, potasium dan silikon. Buah apel manalagi merupakan salah satu jenis apel yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia, karena rasanya yang manis, enak, mudah didapat dan harganya cukup terjangkau (Wulandari, 2012).



Gambar 2.1 Apel Manalagi (Dokumentasi Peneliti, 2018)

2.1.3. Taksonomi Apel Manalagi

Tanaman Apel menurut Sufrida dkk, 2007 termasuk dalam :

Kingdom	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Subdivisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledoae
Ordo	Rosales
Familli	Rosaceae
Genus	Malus
Spesies	<i>Malus sylvestris</i> Mill

Tabel 2.1.1 Klasifikasi Apel Manalagi

2.1.4. Kandungan Kimia Kulit Apel Manalagi

Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol antara lain katekin, kuersetin, phloridzin, dan asam klorogenik. Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan flavonoid. Kuersetin juga salah satu zat aktif golongan flavonoid.

Phloridzin termasuk dalam kelompok dihydrochalcones, sejenis flavonoid (Jannata dkk, 2014).

Buah apel segar yang dimakan berikut kulitnya mengandung ellagic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, tannic acid, flavonoid, quercetin (golongan flafonol), catechin, epicatechin (golongan proantocyanidin), tannin, vitamin C, serat larut (terutama pectin), kalium, dan zink. Nutrisi penting dari apel tersebut sebagian besar berada dilapisan bawah kulit buahnya (Setiawan dkk, 2013).

1. Pektin

Pektin adalah serat larut yang akan membentuk gel di usus dan bermanfaat untuk menghambat penyerapan kolesterol sehingga kadarnya didalam darah menurun. Kandungan serat tidak larut banyak ditemukan dibagian kulit yang akan meningkatkan kontraksi usus sehingga mempermudah buang air besar dan mengatasi sembelit (Setiawan dkk, 2013).

2. Quercetin

Quercetin berkhasiat antiradang dan antioksidan kuat yang akan menetralkan radikal bebas sebelum merusak *Deoxyribonucleid Acid* (DNA) dan komponen penting di dalam tubuh termasuk dikulit untuk mencegah keriput (Setiawan dkk, 2013)

3. Flavonoid

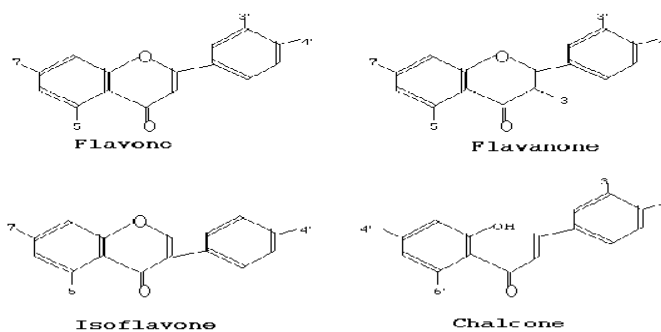
Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman, termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Redha, 2010).

Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran, dan buah-buahan, telah banyak dipublikasikan.

Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

Flavonol merupakan senyawa fitokimia yang ditemukan dalam konsentrasi tinggi dalam berbagai makanan dan minuman nabati. Berdasarkan struktur mereka, flavonol diklasifikasikan sebagai flavonoid dan termasuk senyawa berikut: quercetin, kaempferol, dan myricetin. Jumlah spesifik flavonol dalam makanan dipengaruhi oleh berbagai faktor termasuk jenis tanaman dan pertumbuhan, musim, tingkat kematangan, pencahayaan, dan pengolahannya. Konsentrasi tinggi dapat ditemukan dalam apel, aprikot, kacang-kacangan, brokoli, tomat, daun bawang, kangkung, pir, bawang, anggur merah, ceri, dan kismis putih (Heneman dkk, 2008).

Istilah genetik flavonoid yang digunakan untuk senyawa aromatik heterosiklik oksigen yang berasal dari 2-fenilbenzopiran atau 2,3-dehidro. Senyawa flavonoid dalam bentuk aglikon dalam usus diserap bersama dengan sekresi empedu melalui epitel ke dalam sistem vaskular. Melalui porta vena, sebagian besar flavonoid menuju ke hati sebagai organ utama untuk metabolisme. Proses metabolisme juga dapat terjadi pada usus besar maupun di organ ginjal. Beberapa fungsi biologis akan meningkat bila flavonoid diserap. Fungsi- fungsi termasuk proses sintesis protein, diferensiasi sel, proliferasi dan angiogenesis. Studi in vivo dan In vitro menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas biologis dan farmakologis, termasuk aktivitas antimikroba (Sumono dkk, 2008).



Gambar 2.1.2 Struktur Flavonoid (Sumono dkk, 2008)

4. Tannin

Apel mengandung tannin yang berkonsentrasi tinggi. Tannin ini mengandung zat yang dapat mencegah kerusakan gigi dan penyakit gusi yang disebabkan oleh tumpukan plak. Tidak hanya itu, tannin juga berfungsi mencegah infeksi saluran kencing dan menurunkan resiko penyakit jantung (Yuliati, 2007).

5. Chlorogenic Acid

Chlorogenic acid memiliki aktivitas scavenging *alkyl peroxyradical* (ROD) yang sangat tinggi dan dapat menghambat pertumbuhan tumor dan karsinogenesis (Sufrida, 2007).

2.1.5. Khasiat Apel Manalagi

Apel mempunyai beberapa khasiat yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif. Beberapa khasiat apel antara lain :

1. Mencegah berbagai macam penyakit, mulai dari flu, diare, kanker, serangan jantung sampai stroke.
2. Menurunkan kadar gula, kolesterol darah, kencing manis, jantung koroner, dan melindungi bayi dari asma.
3. Menjaga denyut jantung tetap teratur.
4. Mengaktifkan kontraksi otot.
5. Melancarkan peredaran zat gizi ke sel – sel tubuh.
6. Mengendalikan cairan dalam jaringan sel.
7. Mengatur tekanan darah.
8. Kulit apel mempercepat perjalanan sisa makanan melintasi saluran pencernaan.
9. Daging apel membuat perut kenyang lebih lama sehingga cocok untuk sumber energi bagi yang berdiet.
10. Apel malang (manalagi) bisa dipakai untuk obat batuk, penghancur batu ginjal, melancarkan pencernaan, detoksifikasi, dan mengatasi peradangan.
11. Mampu menyembuhkan influenza, infeksi, dan melindungi mata.
12. Meningkatkan imunitas tubuh (Aini, 2015).

2.2. *Shigella dysenteriae*

2.2.1. Sejarah *Shigella dysenteriae*

Disentri berasal dari bahasa Yunani, yaitu dys (gangguan) dan enteron (usus), yang berarti radang usus yang menimbulkan gejala meluas, tinja lendir bercampur darah. Genus *Shigella* ini dinamakan sesuai dengan nama ahli bakteriologi berkebangsaan Jepang yaitu Kiyoshi shiga, yang menemukan basilus disentri pada tahun 1987.

Shigella adalah binatang tidak bergerak, gram negatif, bersifat fakultatif anaerobik yang tidak meragi laktosa tetapi meragi karbohirat yang lainnya, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Habitat alamiah *Shigella* terbatas pada saluran pencernaan manusia dan primata lainnya dimana sejumlah spesies menimbulkan disentri basiler (Nathania, 2008).

2.2.2. Klasifikasi *Shigella dysenteriae*

Shigella merupakan kuman patogen pada manusia dan genus *Shigella* termasuk dalam tipe *Escherichiae* bersama genus *Eschericia* (Djajaningrat, 2014). *Shigella dysenteriae* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	Bacteria
Pylum	Proteobacteria
Kelas	Gamma Proteobacteria
Ordo	Enterobacteriales
Familli	Enterobacteriaceae
Genus	<i>Shigella</i>
Spesies	<i>Shigella dysenteriae</i>

Tabel 2.2.2 Klasifikasi *Shigella dysenteriae*



Gambar 2.2.3 *Shigella dysenteriae* (Chairunnisa, 2008)

2.2.3. Sifat dan Morfologi *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae memiliki sifat yaitu berbentuk cocobasil, mempunyai susunan tunggal, berwarna merah, bersifat gram negatif, bersifat aerob, dan fakultatif aerob, suhu optimum 37°C dan pH 6,4 – 7,8. Pertumbuhan dihambat oleh KCN, glukosa dalam hidrat arang diragikan dengan menghasilkan asam tanpa gas, dan memfermentasi glukosa dan tidak meragi manitol, tidak tumbuh di media *Simon citrat*, *indol* (-/+), tidak membentuk asetil metal karbinel atau *Voges Proskauer* (-) dan *Methyl Red* (+), di media TSIA atau KIA tumbuh dengan Lereng (L) : alkalis, dasar (D) : acid, Gas (-), dan H₂S (-), penyebab penyakit disentri pada manusia (Djajaningrat dkk, 2014).

Shigella dysenteriae merupakan bakteri gram negatif yang berukuran 0,5 – 0,7 µm x 2 – 3 µm. Bentuknya batang pendek, tidak berspora, tidak berflagel sehingga tidak bergerak, dapat memiliki kapsul. Koloni *Shigella* cembung, bundar, transparan dengan diameter sampai kira – kira 2 mm dalam 24 jam (Jawetz, 2008). Koloni ini tumbuh di media padat dengan koloni bulat, konvek, dan tidak berwarna. Tepi dan permukaannya rata, tetapi kadang – kadang terdapat benjolan. Koloni pada isolasi primer atau subkultur tampak penampaknya lebih besar, lebih transparan, dan tepinya bergerigi. Koloni pada media *Eosin Methylen Blue* (EMB), *Salmonella Shigella Agar* (SSA) atau *Mac Conkey Agar* (MCA) tidak berwarna.

2.2.4. Toksin *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae memproduksi endotoksin dan enterotoksin :

1. Endotoksin

Semua *Shigella* mengeluarkan toksin liposakarida yang toksis pada autolisis. Endotoksin ini menimbulkan iritasi pada dinding usus (Jawetz, 2008).

2. Eksotoksin

Eksotoksin merupakan sebuah protein yang antigenik (merangsang produksi antitoksin) dan mematikan pada binatang percobaan. Eksotoksin

yang dihasilkan oleh *Shigella dysenteriae* tidak tahan panas yang dapat mengenai usus dan sistem syaraf pusat. Sebagai enterotoksin, zat ini dapat menimbulkan diare. Pada manusia enterotoksin juga menghambat penyerapan gula dan asam amino pada usus kecil. Berlaku seperti neurotoksin, toksin ini menyebabkan rasa sakit yang hebat dan infeksi *Shigella dysenteriae* yang fatal dan pada reaksi susunan saraf pusat misalnya meningismus dan koma (Jawetz, 2008).

2.2.5. Patogenesis *Shigella dysenteriae*

Gejala klinis disebabkan oleh eksotoksin yang dihasilkan oleh spesies *Shigella dysenteriae* dan endotoksin yang dihasilkan oleh spesies *Shigella* lainnya. Masa inkubasi berlangsung antara 1 hari – 1 minggu. Penderita mengalami demam tinggi mendadak disertai gangguan perut berupa nyeri perut, mual, dan muntah. Beberapa jam kemudian terjadi diare yang dapat mencapai 20 – 24 kali dalam waktu 24 jam. Mula – mula tinja mengandung sedikit darah dan lendir, kemudian hanya berbentuk darah dan lendir (Soedarto, 2009).

Infeksi hampir selalu terbatas disaluran cerna, jarang terjadi invasi ke aliran darah. *Shigella* sangat menular, dosis infektifnya adalah 10^3 organisme sedangkan pada salmonella dan vibrio $10^5 - 10^8$ (Jawetz, 2008).

Pada infeksi berat penderita mengalami kolaps diikuti demam tinggi, menggigil, muntah – muntah, suhu tubuh menurun, toksemia berat, dan akhirnya meninggal. Penderita disentri basiler anak dan orang lanjut usia yang mengalami dehidrasi dan asidosis juga dapat meninggal dunia. Pada infeksi ringan bentuk tinja lunak atau normal, tidak cair, berdarah dan berlendir, mirip gejala amubiasis (Soedarto, 2009).

2.2.6. Penyebab dan Penularan *Shigella dysenteriae*

Shigella dysenteriae tersebar luas diseluruh dunia dan bersifat epidemic. Kuman ini disebarkan oleh serangga terutama lalat yang hinggap pada feses penderita disentri dan disebarkan pada makanan dan minuman. Infeksi melalui peroral yang terjadi karena faktor kebersihan dan hygiene

yang buruk. Penularan terjadi dari manusia penderita ke orang lain dan jarang terjadi penularan infeksi dari primata yang sakit ke manusia (Djajaningrat dkk, 2014).

2.2.7. Pengobatan

Pada infeksi ringan umumnya dapat sembuh sendiri, penyakit akan sembuh pada 4 – 7 hari. Minum lebih banyak cairan untuk menghindarkan kehabisan cairan, jika pasien sudah pada tahap dehidrasi maka dapat diatasi dengan rehidrasi oral. Pada pasien dengan diare berat dehidrasi dan pasien yang muntah berlebihan sehingga tidak dapat dilakukan rehidrasi oral , maka harus dilakukan rehidrasi intravena, umumnya pada anak kecil terutama bayi lebih rentan kehabisan cairan jika diare. Untuk infeksi berat *Shigella* dapat diobati dengan menggunakan antibiotika termasuk ampicilin, trimetropim-sulfamethoxazole, dan ciprofloxacin. Namun beberapa *Shigella* telah menjadi kebal terhadap antibiotika, ini terjadi karena penggunaan antibiotika yang sedikit - sedikit untuk melawan shigellosis ringan (Jawetz, 2008).

2.2.8. Pencegahan

Penyakit disentri basiler ini dapat dicegah dengan cara selalu menjaga kebersihan dengan cara mencuci tangan dengan sabun secara teratur dan teliti, mencuci bersih sayur dan buah yang dimakan mentah, orang yang sakit disentri basiler sebaiknya tidak menyiapkan makanan, memasak makanan sampai matang, selalu menjaga sanitasi air, makanan, maupun udar, mengatur pembuangan sampah dengan baik, mengendalikan vector dan binatang pengerat (Nathania, 2008)

2.2.9. Pemeriksaan Laboratorium

1. Spesimen

Feses segar, lendir, dan usapan rektum, dapat digunakan untuk bentuk biakan. Ditemukan banyak leukosit pada feses dan kadang – kadang juga

ditemukan beberapa sel darah merah pada pemeriksaan mikroskopik (Jawetz, 2008).

2. Biakan

Biakan tinja penderita (dari hapusan rektum) kemedial pemupuk selenite atau air garam gliserin, kemudian pada media biakan selektif misalnya *Mac Conkey* (MC), media EMB, dan *Thiosulfate Citrat Bile Agar*, di ikuti uji fermentasi (biokimia) dan pemeriksaan mikroskopis untuk menentukan diagnosa (Soedarto, 2009).

3. Serologi

Orang normal sering memiliki aglutinin terhadap beberapa spesies *Shigella*. Tapi beberapa penentuan antibodi titer memperlihatkan sebuah reaksi dalam spesifik antibodi. Serologi tidak digunakan untuk mendiagnosis infeksi *Shigella* (Jawetz, 2008).

2.2.10. Fase Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan adalah peningkatan jumlah semua komponen organisme secara teratur (Jawetz, 2008). Ada 4 fase pertumbuhan bakteri yaitu :

1. Fase Penyesuaian

Pada fase penyesuaian ini, menggambarkan sel – sel yang kekurangan metabolit dan enzim akibat adanya keadaan yang tidak menguntungkan dalam pembiakan terdahulu, menyesuaikan dengan lingkungan barunya. Apabila sel diambil dari suatu medium yang berbeda, sel tersebut sering kali tidak dapat tumbuh dalam medium yang baru. Sehingga periode yang diperlukan bagi sel yang mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi (mutan) untuk memperbanyak diri butuh penyesuaian yang lama.

2. Fase Eksponensial

Dalam fase ini, sel baru disintesis dengan kecepatan konstan dan masa meningkat secara eksponensial. Keadaan ini terus berlangsung sampai terjadinya kehabisan satu atau lebih zat gizi didalam medium, atau produk metabolik toksin menghambat pertumbuhan. Pada organisme aerob, nutrisi yang terbatas biasanya oksigen. Akibatnya kecepatan pertumbuhan akan

menurun kecuali jika oksigen dipaksa masuk ke dalam medium dengan cara mengaduk atau memasukkan gelembung udara.

3. Fase Keseimbangan Maksimum

Pada fase keseimbangan ini, terjadi kehabisan zat makanan atau penumpukan produk toksik. Akibatnya pertumbuhan berhenti secara menyeluruh. Tapi pada sebagian besar kasus, terjadi pergantian sel pada fase ini, yaitu kehilangan sel yang lambat akibat kematian. Apabila keadaan ini terjadi, jumlah seluruh sel akan meningkat secara lambat meskipun jumlah sel yang dapat hidup tetap konstan.

4. Fase Penurunan

Sel – sel yang berada dalam fase keseimbangan akan mati. Kecepatan kematian menurun secara drastis, sehingga sedikit sel yang hidup dapat bertahan selama beberapa bulan atau bahkan beberapa tahun. Beberapa sel dapat tumbuh dengan zat makanan yang dilepaskan dari sel yang mati dan mengalami lisis.

2.2.11. Aksi Obat Antimikroba

Zat antimikroba bermanfaat untuk mengetahui cara kerja zat tersebut dalam menghambat atau mematikan mikroorganisme. Cara kerja antibakteri dalam menghambat pertumbuhan atau dalam membunuh bakteri terdiri dari:

1. Kerusakan pada dinding sel.

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya. Sehingga dengan tidak terbentuknya dinding sel bakteri, maka bakteri tidak dapat hidup.

2. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma.

Perubahan permeabilitas sel dapat mengakibatkan kerusakan pada membran ini, sehingga mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

3. Perubahan molekul protein dan asam nukleat.

Perubahan molekul protein dan asam nukleat terjadi karena denaturasi irreversibel protein dan asam nukleat sehingga dapat merusak sel tanpa

diperbaiki kembali. Denaturasi irreversibel tersebut terjadi karena suhu tinggi dan konsentrasi pekat zat kimia yang dapat menyebabkan koagulasi.

4. Penghambat kerja enzim.

Penghambat kerja enzim ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

5. Menghambat sintesis asam nukleat.

Dalam kehidupan normal sel, *Deoxyribonucleid acid* (DNA), *Ribonucleic acid* (RNA), dan protein memegang peran yang sangat penting. Sehingga gangguan yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

2.3. Mekanisme Kerja Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

Nutrisi penting dari apel sebagian besar berada dilapisan bawah kulit buahnya (Setiawan dkk, 2013). Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol antara lain *catechin*, *quercetin*, *phloridzin*, dan *asam klorogenik* (E-Jurnal Pustaka Kesehatan, 2014). Senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak membran sel, menghancurkan substrat, dan mengganggu fungsi enzim bakteri.

Senyawa *catechin*, *procyanidin*, *phloridzin*, *phloretin glycoside*, *caffeic acid*, *chlorogenic acid*, *quercetin glycosides*, dan *cyanidin glycoside* yang terdapat dalam kulit apel manalagi merupakan golongan dari flavonoid, sedangkan flavonoid merupakan senyawa fenol yang paling penting. Golongan fenol mampu merusak membran sel, menginaktifkan enzim, dan mendenaturasi protein pada bakteri sehingga dinding sel bakteri akan mengalami kerusakan. Hal ini akan mengakibatkan pertumbuhan sel terhambat dan sel akan mengalami kematian. Mekanisme kerja dari senyawa ini adalah mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga lapisan dari dinding sel bakteri tidak dapat terbentuk sempurna sehingga akan mengakibatkan kematian sel (Puspitasari, 2012).

2.4. Metode Pengukuran Aktivitas Antimikroba

2.4.1. Metode Difusi

Metode yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah obat tertentu ditempatkan dipermukaan medium padat yang telah di inokulasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah inkubasi, diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram yang mengandung sejumlah obat antimikroba tertentu tidak menunjukkan kerentanan terhadap konsentrasi obat yang sama per milimeter medium, darah, atau urine. Sehingga hasil hanya dalam nilai kualitatif.

2.4.2. Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Biasanya digunakan pengenceran 2x lipat zat antimikroba. Medium akhirnya di inokulasi dengan bakteri yang diuji dan di inkubasi. Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Uji kerentanan dilusi membutuhkan waktu yang banyak, dan kegunaannya terbatas pada keadaan – keadaan tertentu.

Uji dilusi kaldu tidak praktis dan kegunaannya sedikit apabila dilusi harus dibuat dalam tabung pengujian, namun adanya serangkaian preparat dilusi kaldu untuk berbagai obat yang berbeda dalam lempeng mikrodilusi. Keuntungan uji dilusi kaldu mikrodilusi adalah bahwa uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji.

2.5. Hipotesis

Ada pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

3.1.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

3.1.2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui konsentrasi optimum perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) yang dapat menghambat bakteri *Shigella dysenteriae*.

3.2. Manfaat Penelitian

3.2.1. Manfaat Teoritis

Diharapkan dapat menjadi referensi atau masukan bagi perkembangan kesehatan dibidang pengobatan herbal, akan khasiat perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dan dapat digunakan untuk menyembuhkan disentri.

3.2.2. Manfaat Praktis

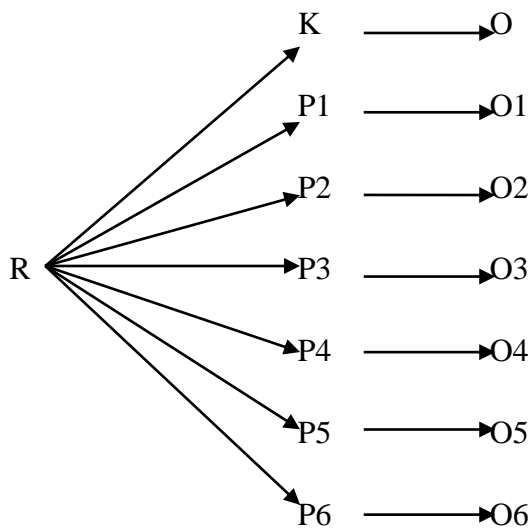
Diharapkan dapat menambah wawasan dan ilmu pengetahuan tentang pengaruh pemberian konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysentriae*.

Dengan rancangan penelitian sebagai berikut :



Gambar 4.1 : Rancangan Penelitian (Hidayat, 2010)

Keterangan :

R : Random

K : Perlakuan yang tidak diberi perasan kulit apel manalagi (kontrol)

P1 : Perlakuan konsentrasi perasan kulit apel manalagi 100%

P2 : Perlakuan konsentrasi perasan kulit apel manalagi 50%

P3 : Perlakuan konsentrasi perasan kulit apel manalagi 25%

P4 : Perlakuan konsentrasi perasan kulit apel manalagi 12,5%

P5 : Perlakuan konsentrasi perasan kulit apel manalagi 6,25%

P6 : Perlakuan konsentrasi perasan kulit apel manalagi 3,125%

O : Observasi setelah perlakuan kontrol

O1 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi 100%

O2 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi 50%

- O3 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi 25%
- O4 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi 12,5%
- O5 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi 6,25%
- O6 : Observasi setelah perlakuan konsentrasi 3,125%

4.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Desember - Juni 2018. Dan Tempat pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Surabaya.

4.3. Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1. Populasi

Bakteri *Shigella dysentriae* yang ditumbuhkan berasal dari biakan murni yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Kampus A Unair Surabaya.

4.3.2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah Bakteri *Shigella dysentriae* yang dipindah dari biakan murni dan tumbuh di media *Mac Conkey Agar* (MCA). Bakteri *Shigella dysentriae* diambil secara random (acak).

Dalam penelitian ini terdapat 6 perlakuan konsentrasi dari perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dan 1 perlakuan sebagai kontrol. Setiap perlakuan dilakukan masing – masing minimal 4 kali pengulangan dengan rumus replikasi sebagai berikut :

$$\begin{aligned} (t - 1) (r - 1) &\geq 15 \\ (t - 1) (7 - 1) &\geq 15 \\ (t - 1) (6) &\geq 15 \\ 6t - 6 &\geq 15 \\ 6t &\geq 21 \\ t &\geq 3,5 \end{aligned}$$

$$t \sim 4 \quad (\text{Hidayat, 2010})$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok perlakuan r : Replikasi

Jadi jumlah pengulangan sebanyak 4 kali.

Sehingga seluruhnya terdapat 4 pengulangan x 7 perlakuan = 28 unit percobaan. Setiap 1 unit percobaan membutuhkan sampel sebanyak 1 ml suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* setara dengan standart neflometer *Mac Farland 1* yang mengandung bakteri 3×10^8 CFU/ml.

4.4. Variabel

4.4.1. Variabel Terikat

Variabel Terikat Pada Penelitian ini adalah Pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

4.4.2. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah Perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill).

4.4.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah Lama inkubasi, inokulasi, jumlah koloni, volume perasan, sterilisasi, dan suhu

4.5. Definisi Operasional Variabel

1. Konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dikategorikan menjadi berbagai macam konsentrasi, yaitu 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0% (kontrol).
2. Pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang tumbuh pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) pada masing – masing konsentrasi dalam bentuk perhitungan jumlah koloni yang tetap tumbuh setelah 24 jam dan diberi perlakuan pada setiap media pertumbuhan, variabel pertumbuhan bakteri dalam skala rasio.
3. Pada perlakuan sampel lama inkubasi 24 jam, inokulasi menggunakan ose yang sudah ditera, umlah koloni kuman yang akan diperiksa sesuai dengan standart *Mac Farland I*, tiap konsentrasi volume perasan kulit apel manalagi harus sama, dan suhu inkubasi 37°C.

4.6. Metode Pengumpulan data

Data yang menunjukkan daya hambat perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* diperoleh dari hasil praktikum laboratorium.

4.7. Teknik Analisis Data

Untuk mengetahui apakah perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) berpengaruh terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, maka data diuji menggunakan uji ANOVA dengan tingkat kesalahan 5% (0,05).

4.8. Tabulasi Data

Data yang diperoleh ditabulasikan sebagai berikut :

Tabel 3.1 Tabulasi data hasil penelitian Pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

No	Kode sampel / pengulangan	Jumlah Koloni Bakteri yang Tumbuh di Media <i>Mac Conkey Agar</i> (MCA) per 1 mata ose (CFU/ml)						
		0%	3,125%	6,25%	12,5%	25%	50%	100%
1	A1							
2	A2							
3	A3							
4	A4							
Jumlah								
Rata – rata								
SD								

Keterangan :

A1 : Pengulangan ke 1

A2 : Pengulangan ke 2

A3 : Pengulangan ke 3

4.9. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan atau neraca analitik, tabung reaksi, pengaduk, pipet pasteur, mortar, alu, erlenmeyer, autoclave, gelas arloji, beaker glass, rak tabung reaksi, pembakar spirtus, kaki tiga, kasa asbes, filler, ose bulat, ose jarum, plate atau cawan petri, tabung reaksi, kertas saring, kasa steril, pipet volume, pipet ukur, dan corong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit apel manalagi, suspensi bakteri *Shigella dysentriae*, aquadest steril dan aquadest biasa, media *Nutrient Agar Plate* (NAP), media *Mac Conkey Agar* (MCA), Barium Chlorida (BaCl_2), Asam Sulfat (H_2SO_4), Pz steril, NaOH, dan HCl.

4.10. Prosedur Penelitian

4.10.1. Cara Sterilisasi Alat dan Bahan

Menggunakan Autoklaf (Sterilisasi basah)

1. Membungkus semua alat dan bahan yang dibutuhkan dengan kertas bekas, bila perlu diikat dengan karet gelang.
2. Mengisi bagian dasar autoklaf dengan aquadest hingga batas tertentu.
3. Menutup sekat yang berlubang – lubang antara bagian dasar dan bagian atas autoklaf.
4. Memasukkan alat dan bahan yang akan disterilkan.
5. Menutup autoklaf dengan rapat.
6. Membuka katup udara agar uap air dapat keluar
7. Apabila suhu telah mencapai 10°C tutuplah katup udara untuk meningkatkan tekanan uap di dalam autoklaf.
8. Perhatikan kenaikan suhu atau tekanan uap apabila telah mencapai 121°C atau tekanan $1,1\text{kg/cm}^2$. Sterilisasi dipertahankan 15 menit setelah suhu atau tekanan uap mencapai batas tertentu.
9. Membuka katup autoklaf dengan cara buka tutup katup hingga tekanan uap turun.
10. Membuka tutup autoklaf dengan hati – hati.
11. Mengeluarkan alat dan bahan yang telah disterilisasi.

Menggunakan Oven (Sterilisasi kering)

Sterilisasi kering digunakan untuk alat – alat yang tidak bisa masuk dalam autoklaf seperti pipet volum dan pipet ukur.

1. Membungkus semua alat dan bahan yang dibutuhkan dengan kertas bekas
2. Masukkan kedalam oven dengan rapi
3. Hidupkan oven, atur suhu yang digunakan 160°C dan waktu 60 menit.
4. Tunggu hingga waktu yang telah ditentukan.

4.10.2. Pembuatan Perasan Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill)

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, blender, mortar dan alu, batang pengaduk, kasa steril, kertas saring, beaker glass, erlenmeyer, pipet volume (10ml dan 5 ml), dan pipet ukur (10ml dan 1ml).

Bahan yang digunakan adalah kulit apel manalagi dan aquadest steril.

Prosedur Kerja :

1. Menimbang kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) \pm sebanyak 500 gram, lalu bersihkan atau cuci kulitnya sampai bersih.
2. Kemudian diblender selanjutnya memeras dan menyaring dengan kain kasa steril.
3. Mensentrifuge kembali perasan tadi ditabung sentrifuge yang steril sehingga didapatkan perasan yang benar – benar jernih.
4. Apabila masih keruh, sentrifus kembali cairan hingga jernih sehingga didapatkan konsentrasi 100%.

4.10.3. Prosedur pembuatan konsentrasi Perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill)

Dibuat konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; dan 3,125%, yaitu :

1. Konsentrasi 100% : tabung 1 diisi 2 ml perasan murni kulit apel manalagi tanpa pengenceran, itu sebagai konsentrasi 100%
2. Konsentrasi 50% : tabung 2 diisi 1 ml perasan awal dan ditambahkan 1ml Pz steril kemudian homogenkan.

3. Konsentrasi 25% : tabung 3 diisi 1 ml yang berasal dari konsentrasi 50%, lalu tambahkan 1 ml Pz steril kemudian homogenkan.
4. Konsentrasi 12,5% : tabung 4 diisi 1 ml yang berasal dari konsentrasi 25%, lalu tambahkan 1 ml Pz steril kemudian homogenkan.
5. Konsentrasi 6,25% : tabung 5 diisi 1 ml yang berasal dari konsentrasi 12,5%, lalu tambahkan 1 ml Pz steril kemudian homogenkan.
6. Konsentrasi 3,125%: tabung 6 diisi 1 ml yang berasal dari konsentrasi 6,25%, lalu tambahkan 1 ml Pz steril kemudian homogenkan.

4.10.4. Uji sterilitas konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill)

1. Mengambil 1 mata ose perasan yang sudah jernih secara steril, kemudian menanamnya ke dalam media *Nutrient Agar Plate* (NAP), dengan cara menggoreskannya di atas permukaan media.
2. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C
3. Mengamati hasilnya, jika tidak terjadi pertumbuhan bakteri berarti perasan tersebut sudah benar – benar steril. Namun jika pada media *Nutrient Agar Plate* (NAP) terdapat pertumbuhan bakteri berarti perlu dilakukan proses tinalisasi, yaitu :
 - A. Memanaskan perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dengan waterbath pada suhu 90° C selama 15 menit.
 - B. Kemudian meletakkannya di inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.
 - C. Mengulangi perlakuan tersebut sampai 3 kali
 - D. Lalu menanam kembali perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) kedalam media NAP dan menginkubasinya selama 24 jam pada suhu 37°C.

4.10.5. Pembuatan Standart Neflometer *Mac Farland I*

Alat yang digunakan adalah pipet ukur 1 ml, pipet ukur 10 ml, tabung reaksi, dan filler. Bahan yang digunakan adalah reagen BaCl₂ 1%, dan H₂SO₄ 1%.

Prosedur Kerja :

1. Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan.
2. Memipet 0,1 ml reagen BaCl₂ 1% dan memasukkan kedalam tabung reaksi.
3. Memipet 9,9 ml reagen H₂SO₄ 1% dan memasukkan kedalam tabung reaksi yang sebelumnya.
4. Mencampurkan kedua larutan dalam tabung hingga homogen.
5. Didapatkan standart *Mac Farland I* dan setara dengan jumlah bakteri 3x10⁸ CFU/ml.

4.10.6. Pembuatan Suspensi bakteri *Shigella dysenteriae*

Alat yang digunakan adalah pipet pasteur, pipet ukur, pipet volum, ose bulat, tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan kertas garis standart *Mac Farland*. Bahan yang digunakan adalah Pz steril dan biakan murni bakteri *Shigella dysenteriae*.

Prosedur kerja :

1. Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan
2. Memipet Pz steril ± sebanyak 2 ml dan memasukkan kedalam tabung reaksi
3. Mengambil 1 mata ose biakan murni bakteri *Shigella dysenteriae* dengan ose bulat kemudian memasukkannya ke dalam tabung reaksi yang berisi Pz steril.
4. Menghomogenkan tabung reaksi tersebut dan membandingkan kekeruhan dengan standart *Mac Farland I* yang sudah dibuat
5. Apabila didapat kekeruhan suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* yang melebihi standart *Mac Farland I* maka perlu ditambahkan Pz steril. Tapi jika kekeruhan kurang dari standart *Mac Farland I* maka perlu ditambahkan dengan biakan bakteri *Shigella dysenteriae*. Dilakukan terus menerus sampai sesuai dengan standart *Mac Farland I*.
6. Setelah kekeruhan suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* sama dengan standart *Mac Farland I* dimana setara dengan jumlah bakteri 3x10⁸ CFU/ml kemudian dibuat jumlah bakteri 10³ CFU/ml yang akan

digunakan dalam pemeriksaan sampel dengan pengenceran menggunakan Pz steril sebagai berikut :

- A. Memipet 9 ml Pz steril lalu memasukkan kedalam tabung reaksi 1 dan menambahkan dengan 1 ml suspensi bakteri yang sama dengan standart *Mac Farland* 1, lalu menghomogenkan. (Jumlah bakteri 3×10^7 CFU/ml).
 - B. Memipet 9 ml Pz steril lalu memasukkan kedalam tabung reaksi 2 dan menambahkan dengan 1 ml suspensi bakteri dari tabung reaksi 1, lalu menghomogenkan. (Jumlah bakteri 3×10^6 CFU/ml).
 - C. Memipet 9 ml Pz steril lalu memasukkan kedalam tabung reaksi 3 dan menambahkan dengan 1 ml suspensi bakteri dari tabung reaksi 2, lalu menghomogenkan. (Jumlah bakteri 3×10^5 CFU/ml).
 - D. Memipet 9 ml Pz steril lalu memasukkan kedalam tabung reaksi 4 dan menambahkan dengan 1 ml suspensi bakteri dari tabung reaksi 3, lalu menghomogenkan. (Jumlah bakteri 3×10^4 CFU/ml).
 - E. Memipet 9 ml Pz steril lalu memasukkan kedalam tabung reaksi 5 dan menambahkan dengan 1 ml suspensi bakteri dari tabung reaksi 4, lalu menghomogenkan. (Jumlah bakteri 3×10^3 CFU/ml)
7. Menstandartkan ose yang akan dipakai dalam penelitian :
- A. Menyiapkan pipet 0,1 ml dan filler serta tabung.
 - B. Memipet aquadest 0,1 ml kemudian tuang dalam tabung.
 - C. Menyalakan pembakar spirtus.
 - D. Mengambi 1 mata ose air yang sudah dituang kedalam tabung dan kemudian memanaskan ose tersebut diatas pembakar spirtus. Lakukan berulang – ulang sampai air dalam tabung reaksi habis.
 - E. Mencatat berapa kali mata ose mengambil air sampai habis

4.10.7. Pembuatan Media

1. Prosedur pembuatan media *Nutrient Agar Plate* (NAP).

- A. Melakukan perhitungan media *Nutrient Agar* (NA)
 - a. Membuat NAP dalam 5 plate, @ plate ± 17 ml
 - b. Komposisi NA 20 gram \rightarrow 1 liter $\frac{20 \text{ gram}}{1000} \times 85 \text{ ml}$

= 1,7 gram
- B. Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan
- C. Menimbang bahan media *Nutrient Agar* (NA) sesuai dengan perhitungan menggunakan timbangan.
- D. Mengukur volume aquadest sebanyak 85 ml dengan menggunakan gelas ukur.
- E. Melarutkan bahan yang sudah ditimbang dengan aquadest yang sudah di ukur volumenya dalam erlenmeyer dan aduk sampai larut
- F. Memanaskan di atas pembakar spirtus sampai larut sempurna, jangan sampai mendidih
- G. Setelah homogen lalu diangkat
- H. Dinginkan dengan air yang sudah disiapkan sampai suam – suam kukuh
- I. Mengukur pHnya sampai 7,4 ,jika terlalu asam menambahkannya dengan NaOH 0,1 N, sedangkan jika terlalu basa maka tambahkan dengan HCl 0,1 N sampai pHnya 7,1
- J. Menutup erlenmeyer dengan kapas berlemak dan menyeterilkannya dengan autoclave pada suhu 121 atm selama 15 menit.
- K. Setelah disterilkan dengan autoclave, lalu menuangkannya ke dalam plate yang steril sampai rata
- L. Mendinginkan sampai terlihat padat, setelah padat media siapkan digunakan dan jika tidak digunakan simpan atau masukkan ke dalam lemari es.

2. Prosedur Pembuatan Media *Mac Conkey Agar* (MCA)

Peralatan yang digunakan adalah gelas arloji, batang pengaduk, pipet Pasteur, neraca, petridisk, erlenmeyer, kassa asbes, kaki tiga, pembakar spirtus, autoklaf, gelas ukur, dan kertas pH. Bahan yang digunakan adalah media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan aquadest.

Prosedur pembuatan media *Mac Conkey Agar* (MCA) yang dilakukan dalam penelitian ini adalah :

- A. Siapkan alat dan bahan yang diperlukan. Dan melakukan perhitungan untuk media *Mac Conkey Agar* yang dibutuhkan:
 - a. Membuat media *Mac Conkey Agar* sebanyak 30 plate @17 ml
 - b. Komposisi *Mac Conkey Agar* 50 gram per 1 liter →
$$\frac{50 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 510 \text{ ml} = 25,5 \text{ gram}$$
- B. Melakukan penimbangan bahan sesuai dengan perhitungan yang diperlukan dengan menggunakan neraca.
- C. Mengukur volume aquadest yang di butuhkan yaitu sebanyak 600 ml dengan gelas ukur.
- D. Melarutkan bahan yang sudah ditimbang tadi dengan aquadest yang sudah diukur volumenya ke dalam erlenmeyer.
- E. Memanaskan diatas pembakar spirtus sampai larut sempurna, jangan sampai mendidih.
- F. Mengangkat media yang sudah larut sempurna dan dinginkan dengan air yang sudah disiapkan di wadah sampai suam – suam kuku.
- G. Mengukur pH nya sampai dengan 6,9 – 7,3 , jika terlalu asam maka tambahkan larutan NaOH 0,1 N tapi jika terlalu basa maka tambahkan larutan HCl 0,1 N.
- H. Menutup media yang ada di erlenmeyer dengan kapas berlemak dan koran serta mengikatnya. Kemudian media tersebut disterilisasi bersama dengan plate yang di butuhkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- I. Setelah menyeterilisasi lalu ambil plate dan media yang sudah steril dari autoklaf. Lalu menuangkan media ke dalam plate yang sudah steril masing – masing plate berisi ± 20 ml secara steril dekat dengan api.

3. Prosedur Pembuatan Media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Peralatan yang digunakan adalah gelas arloji, batang pengaduk, pipet pasteur, neraca, tabung reaksi kecil, erlenmeyer, kassa asbes, kaki tiga, pembakar spirtus, autoklaf, gelas ukur, dan kertas pH. Bahan yang digunakan adalah media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Prosedur pembuatan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) yang dilakukan dalam penelitian ini adalah :

- A. Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan
- B. Melakukan perhitungan untuk media TSIA yang dibutuhkan
 - a. membuat media TSIA sebanyak 20 tabung @5ml
 - b. Komposisi TSIA 65 gram per 1 liter →
$$\frac{65 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 6,5 \text{ gram}$$
- C. Melakukan penimbangan bahan sesuai dengan perhitungan yang diperlukan dengan menggunakan neraca. Dan Mengukur volume aquadest yang di butuhkan yaitu sebanyak 210 ml dengan gelas ukur.
- D. Melarutkan bahan yang sudah ditimbang tadi dengan aquadest yang sudah diukur diukur volumenya ke dalam erlenmeyer.
- E. Memanaskan diatas pembakar spirtus sampai larut sempurna, jangan sampai mendidih.
- F. Mengangkat media yang sudah larut sempurna dan dinginkan dengan air yang sudah disiapkan diwadah sampai suam – suam kuku.
- G. Mengukur pH nya sampai dengan 6,9 – 7,3. Jika terlalu asam maka tambahkan larutan NaOH 0,1 N tapi jika terlalu basa maka tambahkan larutan HCl 0,1 N.
- H. Menutup media yang ada di erlenmeyer dengan kapas berlemak dan koran serta mengikatnya. Kemudian media tersebut disterilisasi bersama dengan plate yang dibutuhkan di autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.
- I. Setelah menyeterilisasi lalu ambil tabung reaksi dan media yang sudah steril dari autoklaf. Lalu menuangkan media ke dalam tabung reaksi kecil yang sudah steril masing – masing tabung ± 7 ml secara steril dekat dengan api.

4.10.8. Prosedur Pemeriksaan Sampel

1. Hari Pertama

Peralatan yang digunakan adalah pipet ukur 1 ml, pembakar spirtus, korek api, dan inkubator. Bahan yang digunakan adalah suspensi bakteri *Shigella dysentriae* dan perasan kulit apel manalagi.

Prosedur pemeriksaan sampel :

- A. Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan
- B. Menyalakan pembakar spirtus dengan korek api.
- C. Melabeli masing – masing tabung sesuai dengan konsentrasinya, yaitu 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25; 3,125%; dan 0% atau kontrol.
- D. Memanaskan mulut pipet ukur diatas nyala api pembakar spirtus, memipet 1 ml suspensi bakteri dengan steril dan memasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 1 ml perasan kulit apel manalagi konsentrasi 100%. Homogenkan agar suspensi tercampur sempurna. Melakukan hal yang sama pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, 6,25%; 3,125%; dan 0% atau kontrol. Tujuan hal ini dilakukan agar perbandingan suspensi bakteri dan perasan sama, yaitu 1 : 1.
- E. Menutup kembali tabung dengan kapas berlemak
- F. Lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

2. Hari Kedua

Alat yang digunakan adalah pembakar spirtus dan ose bulat yang sudah ditera. Bahan yang digunakan adalah media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan berbagai macam konsentrasi perasan kulit apel manalagi yang berisi bakteri.

Prosedur kerja :

- A. Mengamati masing – masing tabung, apakah terjadi kekeruhan atau tidak.
- B. Mengambil masing – masing konsentrasi perasan kulit apel manalagi dan menguji kembali ke media padat *Mac Conkey Agar* (MCA) dengan tujuan memastikan apakah bakteri tersebut adalah *Shigella dysentriae*.

- C. Memanaskan ose bulat (yang sudah ditera) di atas nyala pembakar spiritus, mengambil 1 mata ose bakteri pada konsentrasi 100% lalu ditanam ke media *Mac Conkey Agar* (MCA) dengan cara menggoreskannya dipermukaan media. Lakukan kembali pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, 6,25%; 3,125%; dan 0% atau kontrol dan tanam pada masing – masing media *Mac Conkey Agar* (MCA).
- D. Lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

3. Hari Ketiga

Penghitugan jumlah koloni : Alat yang digunakan lampu penerangan, coloni counter, tabel tabulasi, dan alat tulis. Bahan yang digunakan media *Mac Conkey Agar* (MCA) yang terdapat pertumbuhan bakteri.

Prosedur kerja :

- A. Mengkondisikan lokasi pencahayaan baik untuk melihat koloni.
- B. Mengamati hasilnya pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) apakah terbentuk koloni (abu – abu transparan) yang mengidentifikasi bakteri tersebut adalah *Shigella dysenteriae*.
- C. Menghitung jumlah bakteri yang tumbuh.
- D. Mencatat dalam tabel tabulasi.
- E. Memastikan bahwa koloni yang tumbuh adalah bakteri *Shigella dysenteriae* dengan cara menanam di media TSIA.

4. Hari Keempat

Mengamati hasil penanaman dari media TSIA apakah pada lereng berwarna merah (alkali), dasar berwarna kuning (acid), gas (-), dan H₂S (-) yang mengidentifikasi bakteri tersebut adalah *Shigella dysenteriae*.

BAB V
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysentriae* di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 5.1.1 Data hasil penelitian pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysentriae*

No.	Kode sampel / pengulangan	Jumlah Koloni Bakteri yang Tumbuh di Media <i>Mac Conkey Agar</i> (MCA) per 1 mata ose (CFU/1 mata ose)						
		0%	3,125%	6,25%	12,5%	25%	50%	100%
1	A1	29	28	25	20	0	0	0
2	A2	18	16	17	15	0	0	0
3	A3	9	7	8	9	4	0	0
4	A4	19	13	18	17	4	0	0
Jumlah		75	64	68	61	8	0	0
Rata – rata		18,75	16	17	15,25	2	0	0
SD		8,18	8,83	6,97	4,64	2,3	0	0

Keterangan :

A1 : Pengulangan 1

A2 : Pengulangan 2

A3 : Pengulangan 3

A4 : Pengulangan 4

SD : Standar Deviasi

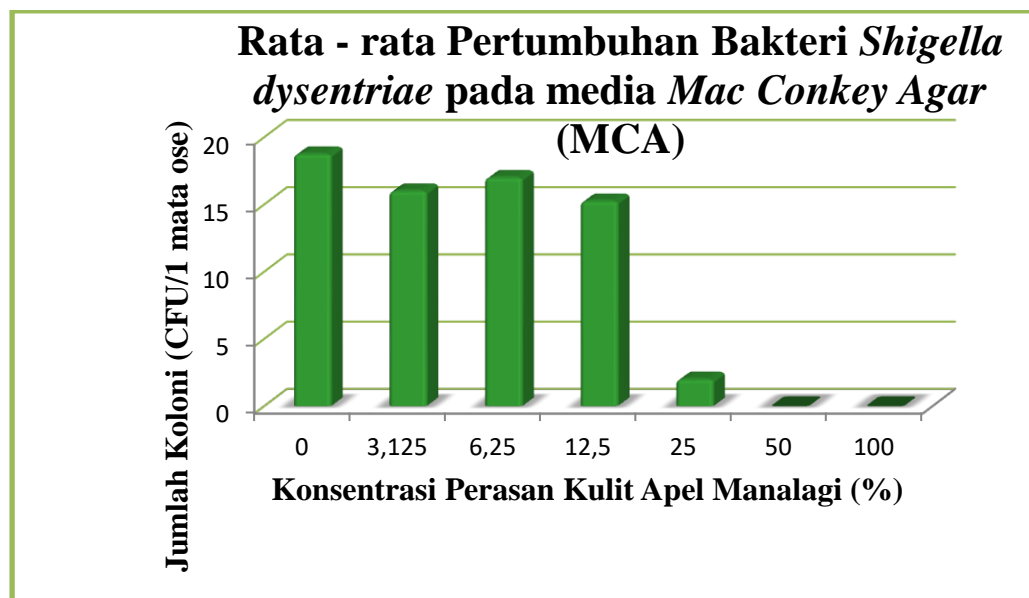
Berdasarkan Tabel 1 di atas menunjukkan bahwa nilai rata-rata pertumbuhan koloni paling tinggi pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 18,75 CFU/1 mata ose. Kemudian perlakuan konsentrasi terendah 6,25% yaitu sebesar 17 CFU/1 mata ose. Lalu perlakuan pada konsentrasi 3,125% yaitu sebesar 17

CFU/1 mata ose. Selanjutnya perlakuan konsentrasi 12,5% yaitu sebesar 15,25 CFU/1 mata ose. Perlakuan konsentrasi 25% yaitu sebesar 2 CFU/1 mata ose. Sedangkan pada konsentrasi 50% dan 100% tidak ada pertumbuhan sama sekali yaitu sebesar 0 CFU/1 mata ose.

Hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi perasan kulit apel manalagi maka pertumbuhan *S. dysenteriae* tidak terjadi. Sehingga pada konsentrasi 50% dan 100% dikatakan sebagai daya bunuh yang paling efektif untuk *S. dysenteriae*.

Berdasarkan hasil pertumbuhan koloni tersebut di atas kemudian diuji menggunakan uji ANOVA dengan taraf ketelitian 5%. Dari hasil uji didapatkan taraf signifikan anova (p) 0,000 dan hasil uji homogenitas didapatkan taraf signifikan 0,138 dimana lebih besar dari 0,05, maka data tersebut memiliki varian sama atau homogen dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD untuk melihat ada tidaknya perbedaan.

Berdasarkan hasil uji anova pada tabel 4,2 menunjukkan signifikansi (p) sebesar 0,000, yang berarti p lebih kecil dari $\alpha = 0,05$, maka hipotesis diterima, jadi ada perbedaan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) secara *in vitro*.



Gambar 5.1.2 Grafik batang rata – rata pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) dengan pemberian berbagai konsentrasi perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill).

Dari hasil tersebut, untuk menguji sejauh mana perbedaan antar perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*, dilakukan dengan uji Tukey HSD. Adapun dari hasil uji Tukey HSD dilihat pada Grafik 1 (gambar 5.1.1).

Berdasarkan Grafik 1 di atas didapatkan perbedaan yang nyata pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* antar perlakuan, yaitu konsentrasi 100%, 50%, dan 25% dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%.

Pada konsentrasi 100%, 50%, dan 25% ditandai dengan huruf a, sedangkan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0% ditandai dengan huruf b. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100% berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 50% dan 25%. Konsentrasi 50% berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 100% dan 25%. Konsentrasi 25% berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 100% dan 50%.

Pada konsentrasi 12,5% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 100%; 50% dan 25%. Pada konsentrasi 6,25% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 3,125%; dan 0%. Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 100%; 50% dan 25%. Pada konsentrasi 3,125% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0%. Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 100%; 50% dan 25%. Pada konsentrasi 0% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 6,25%; 3,125%; dan 12,5%. Namun berbeda nyata dengan konsentrasi 100%; 50% dan 25%.

5.2. Pembahasan

Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* menunjukkan bahwa perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara optimum pada konsentrasi 25%. Konsentrasi 100% dan 50% tidak dapat dikatakan menghambat tetapi dapat dikatakan sebagai kriteria efektif untuk membunuh, dikarenakan tidak ada pertumbuhan bakteri sedikitpun.

Konsentrasi 100% dan 50% memberikan efek yang optimum untuk membunuh pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Dan untuk efektifitas

terkecil kemampuan perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 25%. Hal ini karena pada konsentrasi 25% memiliki senyawa aktif yang cukup banyak dibandingkan dengan konsentrasi dibawahnya. Kandungan senyawa dalam kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) meliputi *ellagic acid*, *chlorogenic acid*, *caffeic acid*, *tannic acid*, *flavonoid*, *quercetin* (golongan *flafonol*), *catechin*, *epicatechin* (golongan *proanthocyanidin*), *tannin*, vitamin C, serat larut (terutama *pectin*), kalium, dan zink (Setiawan dkk, 2013).

Pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dapat terganggu disebabkan adanya suatu senyawa fenol yang terkandung dalam kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill). Kondisi asam oleh adanya fenol yang terkandung dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Kandungan dalam kulit apel manalagi yang menjadi zat antibakteri adalah polifenol. Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol, antara lain katekin, kuersetin, *phloridzin*, dan asam klorogenik (Charde dan Chakole, 2011).

Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan flavonoid. Sifat antibakteri pada katekin disebabkan oleh adanya gugus pyrigallol dan gugus galloil. Katekin menghambat bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri. Kerusakan tersebut dapat mencegah masuknya nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi akibatnya bakteri akan terhambat pertumbuhannya dan mengalami kematian (Rustanti, 2009).

Kuersetin juga salah satu zat aktif golongan flavonoid. Aktivitas antibakteri kuersetin mengikat sub unit GyrB DNA girase dan menghambat aktivitas enzim ATPase. Dalam penelitian Mirzoeva *dalam* Jannata (2014) menunjukkan bahwa kuersetin menyebabkan peningkatan permeabilitas membran bakteri. Kuersetin juga secara signifikan menghambat motilitas bakteri (Chusnie dan Lamb, 2005).

Phloridzin termasuk dalam kelompok *dihydrochalcones*, sejenis flavonoid. Flavonoid merusak dinding sel bakteri melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid, sehingga

dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri (Gunawan, 2009).

Asam klorogenik juga mempunyai sifat antibakteri. Asam klorogenik menghambat enzim tertentu yang terlibat dalam sintesis asam lemak bakteri. Asam klorogenik juga secara signifikan meningkatkan permeabilitas membran plasma bakteri yang mengakibatkan kebocoran isi sitoplasma termasuk nukleotida (Karunanindhi *et.al.*, 2012).

Chlorhexidine mengandung fenol yang memberikan efek bakteristatik pada kadar 0,2-1%, bersifat bakterisida pada kadar 0,4-1,6%, dan bersifat fungisidal pada kadar diatas 1,3%. Kandungan bahan dasar *chlorine* merupakan desinfektan tingkat tinggi karena sangat aktif pada semua bakteri, virus, fungi, parasit, dan beberapa spora (Agusmawanti, 2007).

Kulit apel banyak mengandung senyawa flavonoid yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar pada dinding sel bakteri (Dewi, 2010). Senyawa antibakteri yang masuk tersebut akan mengakibatkan tekanan osmotik di dalam sel lebih besar, sehingga menyebabkan lisis (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

5.3. Luaran Yang Dicapai

Publikasi ilmiah pada jurnal Nasional ber-ISSN dan ESSN.

BAB VI
RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

6.1. Rencana Jangka Pendek

1. Publikasi ilmiah pada jurnal nasional ber-ISSN dan ESSN.

6.2. Rencana Jangka Panjang

1. Dapat dijadikan informasi dan pengetahuan dalam bidang kesehatan tentang Perbedaan Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Pada Berbagai Konsentrasi Perasan Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Secara In Vitro

BAB VII

PENUTUP

7.1. Kesimpulan

Hasil penelitian pengaruh pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dapat disimpulkan :

1. Pemberian perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) berpengaruh terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.
2. Pada perasan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dengan konsentrasi perasan 25% merupakan konsentrasi optimum yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan pertumbuhan bakteri terkecil rata – rata sebesar 2 koloni/1 mata ose.

7.2. Saran

Untuk pengembangan lebih lanjut maka peneliti memberikan saran bermanfaat dan dapat membantu penelitian selanjutnya, yaitu :

1. Bagi Peneliti Selanjutnya
 - A. Dapat meneliti lebih lanjut pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan menggunakan kulit buah apel dengan jenis apel yang lainnya.
 - B. Dapat meneliti lebih lanjut tentang bakteri *Shigella dysenteriae* dengan menggunakan tanaman yang lain atau dengan jenis buah yang lainnya.
2. Bagi Masyarakat
 - A. Dapat mengetahui informasi ilmiah yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang kesehatan, khususnya tentang manfaat kulit apel manalagi sebagai antibakteri, serta di bidang farmakologi sebagai obat alternatif penyakit disentri. Sehingga dapat dimanfaatkan oleh segala jenis kalangan masyarakat.
 - B. Apabila mengkonsumsi buah apel disarankan untuk tidak mengupas kulitnya tetapi harus dicuci dengan bersih terlebih dahulu.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzadi MA. Genetic and biochemical properties of apples that affect storability and nutritional value. Introductory Paper at the Faculty of Landscape Planning, Horticulture and Agricultural Science. Swedish: SLU; 2012. p. 3
- Agusmawanti, P. “Perbandingan Daya Antibakteri Kumur Rebusan Gambir (*Uncasia gambir*) dengan *Chlorhexidine* 0,2% Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Saliva”. *J. Maj. Ilmiah Sultan Agung*. Vol. 49 (2007) 1-9.
- Aini MN. 2015, *Aneka Buah Berkhasiat Obat*. Yogyakarta : Real Books
- Asromedika, 2011. *Trimetoprim-Sulfametoksazol (Cotrimoxazole)*.
<http://asromedika.blogspot.co.id/2011/08/Trimetoprim-Sulfametoksazol.html?m=1>
- Charde, M. S., Ahmed A., & Chakole, R. D. “Apple Phytochemicals for Human Benefits”. *Int. J. Pharm. Res.* Vol. 1 (2) (2011) 1-8.
- Chusnie, T. P. T. & Lamb, A. J. “Antimicrobial Activity of Flavonoid”. *Int. J. Antimicrob. Agent.* Vol. 26 (2005) 343-356
- Depkes, 2010, *Pedoman Pemberantasan Penyakit Diare. Menteri Kesehatan Republik Indonesia*. Diakses 28 April 2016 Available from :
<http://www.depkes.go.id/downloads/SK1216-01.pdf>
- Depkes, 2011, *Profil Kesehatan*. Diakses 28 April 2016,
<http://www.depkes.go.id/folder/view/01/structure-publikasi-pusdatim-profil-kesehatan.html>
- Dewi, F. K. “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Molinda citrifolia*, *Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar”. Skripsi. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret (2010)
- Djajaningrat H & Misnadiarly. 2014. Mikrobiologi untuk klinik dan Laboratorium. Jakarta : PT Rineka Cipta
- Giomaro G, Karioti A, Bilia AR, et al. Polyphenols profile and antioxidant activity of skin and pulp of a rare apple from marche region (italy). *Chemistry Central Journal*; 2014;8:1

Gunawan, I.W.A. “Potensi Buah Pare (*Momordica Charantia L*) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*”. Skripsi. Denpasar: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mahasaraswati (2009).

Haryadi, 2012, *Disentri basiler*. Diakses 25 April 2016, <http://digilib.ump.ac.id/files/disk1/2/jhptump-a-E.har-76-1-babi.pdf>

Heneman K, Zidenberg-Cherr S. Some facts about flavonols. Nutrition and Health Info-Sheet for Health Professionals: 2008: 1

Hidayat, A.Aziz Alimul. 2010. *Metode Penelitian Kesehatan*. Health Books Publishing, Surabaya

Jannata RH, Gunadi A, Ermawati T. Daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. E-Jurnal Pustaka Kesehatan; 2014;2: 24,6

Jawetz, E, Melnick, L.L, Adelburg, E. A.2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC

Karunanindhi, A., Thomas, R., Belkum, A., & Neela, V. “*In vitro* antibacterial and antibiofilm activities of chlorogenic acid against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* including the trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX) resistant strain”. *BioMed Research Int*. Vol. 2013 (2012) 1-24.

Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. Color atlas of medical microbiology. New York: Thieme; 2005. p. 363

Kementerian Kesehatan, 2013. *Profil Kesehatan Tahun 2012*. Diakses 30 April 2016, http://www.depkes.go.id/resources/doemnload/profil/PROFIL_KES_PROVINSI_2012/15_Profil_Kes.Prov.JawaTimur_2012.pdf

Kusmiyati dan Agustini, N. “Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*”. *Biodiversitas* Vol. 8 (1) (2007) 48 53.

Nathania, Devi . 2008. *Shigella dysenteriae*. Hal 1-2, diakses 30 april 2016, <http://mikrobia.files.wordpress.com//>

Puspitasari, 2012. Muthuswamy, S., dan Rupasinghe, H. P. V. “Fruit phenolics as natural antimicrobial agents: Selective antimicrobial activity of

- catechin, chlorogenic acid and phloridzin”. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. Vol.5 (3&4) (2007) 81-85
- Redha. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian*: 2010;9: 197
- Rustanti, E. “Uji Efektivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Katekin Hasil Isolasi dari Daun Teh (*Camellia sinensis L. var. Assamica*”. Skripsi. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Malang (2009).
- Setiawan D & Felix A. 2013, *Fakta Ilmiah Buah dan Sayur*, Jakarta : Penebar Swadaya Grup
- Soedarto. 2009. *Penyakit Menular Indonesia*. Jakarta : CV Sagung Seto
- Sufrida Y, Irlansyah, Edi J, Mufatis W. *Khasiat dan manfaat apel*. Jakarta: Agro Media; 2007, pp. 22-3
- Sumono A, Wulan A. The use of bay leaf (*Eugenia polyantha Wight*) in dentistry. *Dental Journal*: 2008;41: 148-9
- Swastika A, 2014. *Khasiat Buah dan Sayur Tumpas Segala Penyakit*. Yogyakarta : Shira Media
- Wulandari A. Daya antibakteri ekstrak buah apel manalagi terhadap bakteri *Salmonella thyposa*. *Jurnal Healthy Science AAKMAL*: 2012;2: 1-3

LAMPIRAN

Lampiran 1. Anggaran Biaya

1. Jenis Perlengkapan	Volume	Harga Satuan (Rp)	Nilai (Rp)
Tabung Reaksi	35 pcs	Rp. 10.000,00	Rp. 350.000,00
Plate	35pcs	Rp. 42.000,00	Rp. 1.470.000,00
Pipet Pastuer	5 pcs	Rp. 2.000,00	Rp. 10.000,00
Erlenmayer	5 pcs	Rp. 40.000,00	Rp. 200.000,00
Pipet Ukur	5 pcs	Rp. 40.000,00	Rp. 200.000,00
Gleas Arloji	3 pcs	Rp. 10.000,00	Rp. 30.000,00
Gelas Ukur	1 pcs	Rp. 40.000,00	Rp. 40.000,00
Filler	1 pcs	Rp. 55.000,00	Rp. 55.000,00
Ose bulat dan Ose Jarum	3 pcs	Rp. 5000,00	Rp. 15.000,00
Pipet Volume	1 pcs	Rp. 70.000,00	Rp. 70.000,00
SUB TOTAL			Rp. 2.440.000,00
2. Bahan Habis	Volume	Harga Satuan (Rp)	Nilai (Rp)
Biakan murni Bakteri <i>Shigella dysentriae</i>	1 biakan	Rp. 500.000,00	Rp. 500.000,00
Handscoon	2 pack	Rp. 60.000,00	Rp. 120.000,00
Masker	2 pack	Rp. 30.000,00	Rp. 60.000,00
Label (kertas identitas)	2 Pcs	Rp. 10.000,00	Rp. 20.000,00
SUB TOTAL			Rp. 700.000,00
3. Biaya Lain – lain	Volume	Harga Satuan (Rp)	Nilai (Rp)
Biaya sewa laboratorium	7 hari	Rp. 700.000,00/ 7 hari	Rp.700.000,00
Biaya Pembantu Peneliti	4 hari, sebanyak 3 orang	Rp. 300.000,00/ orang/4 hari	Rp. 900.000,00
Pengadaan Proposal dan Laporan, literatur	5 kali	Rp. 10.000,00	Rp. 50.000,00
Biaya Internet	6 bulan	Rp. 35.000,00	Rp. 210.000,00
SUB TOTAL			Rp. 1.860.000,00
TOTAL 1+2+3			Rp. 5.000.000,00
Terbilang : Lima Juta Rupiah			

Lampiran 2. Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	Bulan						
		Desember	Januari	Februari	Maret	April	Mei	Juni
1	Menetapkan desain penelitian dan Menentukan instrument penelitian							
2	Menyusun proposal dan Mengurus perijinan penelitian							
3	Mempersiapkan, menyediakan bahan dan peralatan penelitian							
4	Melakukan Penelitian							
5	Melakukan pemantauan atas pengumpulan data, Menyusun dan mengisi format tabulasi, Melakukan analisis data, Menyimpulkan hasil analisis, Membuat tafsiran dan kesimpulan hasil serta membahasnya							
6	Menyusun laporan penelitian							