

**EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*
Ness) DENGAN KLORAMFENIKOL TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



Oleh:

FAJAR MUHAMMAD NST

1408260016

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

MEDAN

2018

**EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*
Ness) DENGAN KLORAMFENIKOL TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh kelulusan
Sarjana Kedokteran**

oleh :

FAJAR MUHAMMAD NST

1408260016



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2018**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber, baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : FAJAR MUHAMMAD NST
NPM : 1408260016
Judul : EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Ness) DENGAN KLORAMFENIKOL TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi* SECARA IN VITRO

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 11 Januari 2018


Fajar Muhammad Nst)

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : FAJAR MUHAMMAD NST
NPM : 1408260016
Judul : EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Ness) DENGAN KLORAMFENIKOL TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella typhi* SECARA IN VITRO

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

DEWAN PENGUJI

Pembimbing,

(dr. M. Jalaluddin Assuyuthi Chalil, M.Ked(An), Sp.An)

Penguji 1

(dr. Anisa MKT)

Penguji 2

(dr. Melviana Lubis M.Biomed)

Mengetahui,



(Prof. Dr. A. Gusbani Chalil, M.Sc., PKK., AIFM)
NIP: 195702111990311002

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter
FK LMSU

(dr. Hendra Sutysna M.Biomed)
NIDN: 0169048203

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 18 Januari 2018

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala karena berkat rahmatNya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu yang sangat saya sayangi Nenni Eries Sinaga dan Ayah yang sangat saya banggakan M. Yusuf M.Si, karena telah memberikan dukungan penuh terhadap pendidikan penulis baik secara moril dan materi.
2. Adik-adik yang kusayangi Ichlasul Amin Nasution, Taufik Hidayah Nasution, dan Nurhalizah Amini Nasution yang pastinya dengan doanya ingin agar penulis segera dapat menyelesaikan pendidikannya untuk menjai Dokter yang sebaik-baiknya.
3. Prof. dr. H. Gusbakti Rusip, M.Sc., PKK, AIFM selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. dr. M. Jalaluddin Assuyuthi Chalil, M.Ked(An), Sp.An beliau selaku dosen pembimbing terbaik, yang telah mengarahkan dan memberikan bimbingan terbaiknya yang sangat bermanfaat bagi penulis, terutama selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
5. dr. Annisa MKT yang telah bersedia menjadi dosen penguji satu dan memberi banyak masukan yang sangat bermanfaat sebagai penambah wawasan bagi penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
6. dr. Melviana Lubis M.Biomed yang telah bersedia menjadi dosen penguji dua dan memberi banyak masukan yang sangat bermanfaat sebagai penambah wawasan bagi penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

7. dr. Siti Masliana Sp.THT-KL beliau merupakan dosen Pendamping Akademik saya yang tak tergantikan karena selalu memberikan semangat dan memberikan kemudahan kepada kami dari awal memasuki perkuliahan sampai saat ini.
8. dr. Robitah Asfur M. Biomed beliau selaku dosen pembimbing saya saat mengikuti PKMP-E sehingga pengalaman dalam bersaing di dunia pendidikan yang dulunya belum pernah penulis rasakan sensasinya.
9. Bu Emni Purwoningsih S.Pd, M.Kes yang telah bersedia memberikan banyak masukan untuk kiat-kiat dalam menyelesaikan skripsi ini sekaligus beliau merupakan DPL saya yang sangat disiplin dan semoga itu menular ke penulis.
10. dr. Hendra Sutysna M. Biomed selaku dosen pembimbing penulis saat mengikuti PKMP-E sehingga bertambah pengalaman penulis.
11. dr. Nurfadly, MKT yang telah meluangkan waktu memberikan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. dr. Irfan Darfika Lubis, PAK untuk wawasan yang beliau berikan di departement Anatomi.
13. Teman-teman saya yang bersama-sama telah niat dari awal ikut PKM Alhamdulillah doa kita dikabulkan Allah lulus pendanaan. Rina Sari Mardia, Ayu Azri, Tania Mulia Utami, Isnaini Ulfa, Muhammad Farouq Hilmi, dan Zulfikar Karim Chan (Holiday).
14. Syaidatul Akmal dan Laila Juninda teman satu bimbingan saya yang selalu saling tolong menolong dalam penyelesaian skripsi ini.
15. Intan Afzuanti, Marsela, dan Arif B. teman satu PA saya yang selalu menjadi teman tertawa disaat ingin menemui PA.
16. Lestari Safitri yang telah membantu saya dalam pengerjaan skripsi ini.
17. Teman-teman Padepokan tempat kami untuk berkumpul untuk belajar bersama Ghazkhan Shah Ghanar, Ihsan Kurnia Hardi, Muhammad Ichsan, Tekto Yudo, Dandi Pratama Nst, Muhammad Solih Nst, Firman Setiawan, Mohammad Toha.

18. Teman-teman yang telah menemani saya selama perkuliahan yang sangat banyak kontribusinya dalam segala hal bagi penulis.
19. Kepada Pimpinan Umum IMM, pimpinan dalam perjuangan kami pada masa nya Anwarul Mizan selaku Ketua Umum, Aulia Rahman selaku Sekretaris Umum, dan Huddy Artica selaku Bendahara Umum Abadi perjuangan kami.
20. Kepada Teman-teman seperjuangan saya di IMM Melany Nurjannah, Haiban Utama, Rega Nadella, Nahda Ismi Karunia, Gunawan Sadewo, ilham kurniawan, Dina Fitri, Lisa Nabila, Fauzan Azim, Bagus Panji, Igef indramca, Rizka, Annisa Irfaningsih. dan adik-adik saya di IMM “Semoga Berkat Ilahi Melimpahi Perjuangan Kami Ikatan Mahasiswa Muhammadiyah Iklash beramal dalam bakti Abadi perjuangan kami”
21. Adik-adik saya Fadhillah Al Izza, Rido Rais Hutabarat di Tim PKMP-E insyaallah ilmu nya pasti ada manfaat nya terima kasih atas kepercayaannya menjadikan penulis sebagai ketua.
22. Laboran-laboran yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian. Bang Rizky, Kakak Devi, Kakak Putri, Kakak Nabila, Kakak Zulfa, Kakak Nova, dan Kakak Intan.
23. Seluruh Staf pengajar di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah membagi ilmunya kepada penulis, semoga ilmu yang diberikan menjadi ilmu yang bermanfaat bagi penulis.
24. dr. Ade Taufiq Sp.OG, dr. Makmur Hussaini DTM&H Sp.Par, dan dr. Delyuzar M.Ked(PA), Sp.PA(K) selaku pimpinan Dekanat kami yang pernah memimpin sebelumnya.
25. Mas Hery, Kak Ta'ing, dan Kak Wardah di Biro Administrasi yang selalu membantu dalam memberikan dan menyampaikan informasi.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 11 Januari 2018


Fajar Muhammad Nst

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, saya yang bertandatangan di bawah ini,

Nama : Fajar Muhammad Nst
NPM : 1408260016
Fakultas : Kedokteran

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi saya yang berjudul: **Efektifitas Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Dengan Kloramfenikol Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi* Secara In Vitro** beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada tanggal : 11 Januari 2018

Yang menyatakan


Fajar Muhammad Nst

ABSTRAK

Latar Belakang : *S. typhi* merupakan bakteri batang, dan gram negatif penyebab penyakit demam tifoid yang sampai saat ini menjadi masalah kesehatan. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai obat karena memiliki efek antibiotik terhadap bakteri. **Tujuan :** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibiotik ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro. **Metodologi :** Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Teknik yang digunakan dalam mengukur aktivitas antibiotik adalah metode difusi cakram. **Hasil penelitian :** Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dengan konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10% menghasilkan rata-rata diameter zona bening masing-masing yaitu 9,93 mm, 9,61 mm, 8,74 mm, dan 7,49 mm. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tiap-tiap konsentrasi memiliki perbedaan daya hambat antara yang satu dengan yang lainnya dimana didapatkan nilai ($p < 0,05$) tetapi pada perbandingan konsentrasi 40% dengan 80% didapatkan nilai ($p > 0,05$). **Kesimpulan :** Ekstrak daun sambiloto memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan hal tersebut dapat dilihat pada hasil penelitian. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sambiloto yang diberikan maka semakin tinggi zona hambat yang dibentuk pada media agar.

Kata kunci : *Salmonella typhi*, ekstrak daun sambiloto, *Andrographis paniculata*

ABSTRACT

Background: *S. typhi* is a stem bacteria, and gram-negative bacteria causes of typhid fever that until now became a health problem . Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) is a potentially medicinal plants because it has antibiotic effect on bacteria. **Objective:** This study aims to determine the effectiveness of sambiloto's leaf extract on *Salmonella typhi* growth in vitro. **Method:** this research use experimental method. The technique used in measuring antibiotic activity is the method of disk diffusion. **Result:** The result showed that the sambiloto's leaf extract (*Andrographis paniculata* Ness) with concentration of 80%, 40%, 20% and 10% yielded the mean of clear zone diameter ie 9.93 mm, 9.61 mm, 8.74 mm, and 7.49 mm. in this study showed that each concentration has different inhibitory power between the one with the other which obtained the value ($p < 0.05$) but in the concentration ratio of 40% with 80% obtained value ($p > 0.05$). **Conclusion:** Sambiloto's leaf extract has an inhibitory power to the growth of *Salmonella typhi* bacteria and it can be seen in the result of the study. The higher the concentration of sambiloto's leaf extract given, more higher the clear zone forme on the agar medium.

Keywords: *Salmonella typhi*, sambiloto's leaf extract, *Andrographis paniculata*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	ix
ABSTRAK	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Umum	5
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4. Hipotesis	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.5.1. Bagi Peneliti	6
1.5.2. Bagi Institusi Pendidikan	6
1.5.3. Bagi Masyarakat	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Sambiloto	7
2.1.1. Ekologi Sambiloto	7
2.1.2. Nama Lain Sambiloto.....	8
2.1.3. Morfologi Sambioto	9
2.1.4. Manfaat Sambiloto	10
2.1.5. Kandungan Sambiloto	11
2.2. <i>Salmonella thypi</i>	13
2.2.1. Taksonomi <i>Salmonella thypi</i>	13
2.2.2. Morfologi <i>Salmonella thypi</i>	13
2.2.3. Patogenesis <i>Salmonella thypi</i>	14
2.3. Demam Tifoid.....	16

2.4. Antibiotik	17
2.4.1. Kloramfenikol.....	17
2.4.1. Mekanisme Kerja Kloramfenikol	17
2.5. Metode Ekstraksi.....	18
2.5.1. Metode Maserasi.....	18
2.5.2. Perkolasi	19
2.5.3. Soxhlet.....	19
2.5.4. Reflux dan Destilasi Uap.....	20
2.6. Pengukuran Efektivitas Antibiotik.....	20
2.6.1. Metode Difusi	20
2.6.2. Metode Dilusi	22
2.7. Daya Hambat Bakteri.....	23
2.8. Kerangka Teori.....	25
2.9. Kerangka Konsep Penelitian	26
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	27
3.1. Definisi Operasional	27
3.2. Jenis Penelitian	28
3.3. Waktu dan Tempat Penelitian	29
3.4. Jumlah Pengulangan	29
3.5. Teknik Pengumpulan Data	30
3.5.1. Alat dan Bahan.....	30
3.5.2. Cara Kerja	31
3.6. Pengolahan dan Analisis Data	36
3.6.1. Pengolahan Data	36
3.6.1. Analisis Data	37
3.7. Alur Penelitian	38
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1. Hasil Penelitian	39
4.2. Pembahasan.....	46
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Ness)	8
Gambar 2.2	<i>Salmonella thypi</i>	13
Gambar 2.3	Standart Kepekaan Antibiotik Menurut NCCLS	24
Gambar 2.4	Kerangka Teori.....	24
Gambar 2.5	Kerangka Konsep	26
Gambar 3.1	Alur Penelitian.....	38
Gambar 4.1	Grafik rata-rata Zona Bening Semua Kelompok.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komposisi Sambiloto	11
Tabel 2.2	Klasifikasi Menurut David dan Stout	24
Tabel 3.1	Variable Operasional	27
Tabel 3.2	Volume Ekstrak Daun Sambiloto yang Dibutuhkan.....	34
Tabel 3.3	Volume Kontrol yang Dibutuhkan	34
Tabel 4.1	Hasil Pengukuran Daya Hambat Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	39
Tabel 4.2	Hasil Analisis Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> dan Uji Homogenitas.....	40
Tabel 4.3	Hasil Analisis <i>Kruskall-Wallis</i> disertai dengan Nilai rata-rata dan Standar Deviasi.....	41
Tabel 4.4	Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> antara Ekstrak Daun Sambiloto 80% Dengan Ekstrak Daun Sambiloto 40%.....	47
Tabel 4.5	Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> antara Ekstrak Daun Sambiloto 80% Dengan Ekstrak Daun Sambiloto 20%.....	48
Tabel 4.6	Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> antara Ekstrak Daun Sambiloto 80% Dengan Ekstrak Daun Sambiloto 10%.....	48
Tabel 4.7	Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> antara Ekstrak Daun Sambiloto 40% Dengan Ekstrak Daun Sambiloto 20%.....	49
Tabel 4.8	Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> antara Ekstrak Daun Sambiloto 40% Dengan Ekstrak Daun Sambiloto 10%.....	49
Tabel 4.9	Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> antara Ekstrak Daun Sambiloto 20% Dengan Ekstrak Daun Sambiloto 10%.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Normalitas dan Homogenitas
- Lampiran 2 Hasil Uji *Kruskal-Wallis*
- Lampiran 3 Hasil Uji *Mann-Whitney*
- Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian
- Lampiran 5 Etichal Clearance
- Lampiran 6 Berita Acara Kerja Sama Penelitian dengan Laboratorium
- Lampiran 7 Identifikasi Bahan
- Lampiran 8 Skrining Fitokimia
- Lampiran 9 Daftar Riwayat Hidup
- Lampiran 10 Artikel Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu infeksi yang tersebar di seluruh dunia, dan sampai sekarang menjadi masalah kesehatan salah satunya adalah infeksi yang disebabkan *Salmonella typhi* yaitu demam tifoid. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif yang sangat mudah beradaptasi dan bakteri ini mampu hidup sampai setahun jika sudah melekat di dalam tinja, mentega, susu, keju bahkan air beku. Manusia sebagai sumber infeksi kepada mereka sendiri dan orang lain karena tidak adanya sanitasi yang baik ditambah dengan kebersihan yang buruk, dan hal tersebut dapat mengakibatkan terjadinya infeksi dengan berbagai tingkat keparahan. Infeksi bakteri ini biasanya dapat menimbulkan gejala berupa demam naik secara bertangga pada minggu pertama lalu menetap. Organ yang paling sering rusak akibatnya adalah usus dan organ-organ hati.¹ Di Indonesia demam tifoid harus menjadi perhatian serius karena dilaporkan angka kesakitan di Indonesia pada tahun 2008 sebesar 81,7 per 100.000 penduduk, dengan sebaran menurut kelompok umur 0,0/100.000 penduduk (0–1 tahun), 148,7/100.000 penduduk (2–4 tahun), 180,3/100.000 (5-15 tahun), dan 51,2/100.000 (16 tahun). Angka ini menunjukkan bahwa penderita terbanyak adalah pada kelompok usia 2-15 tahun. Dan hasil telahan di rumah sakit besar di Indonesia menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan jumlah kasus tifoid dari tahun ke tahun dengan rata-rata kesakitan 500/100.000 penduduk dan kematian diperkirakan sekitar 0,6–5%.²

Di Indonesia Kloramfenikol masih digunakan sebagai *First Line Therapy* tetapi ada di beberapa negara yang sudah tidak menggunakan Kloramfenikol sebagai *First Line Therapy* seperti India. India tidak menggunakan kloramfenikol sebagai terapi tetapi mereka menggunakan *Cefixime* untuk pasien rawat jalan dan *Ceftriaxone* untuk pasien rawat inap.^{3,4} Berdasarkan data dari jurnal sebelumnya Indonesia masih menggunakan Kloramfenikol sebagai *First Line Therapy* sebagai terapi demam tifoid, yang ditakutkan adalah pasien sering sekali mengobati diri sendiri dengan antibiotik yang tidak rasional bahkan tanpa menggunakan resep ditambah dengan diperjual-belikannya antibiotik secara bebas.⁵

Kemunculan bakteri patogen yang resisten terhadap satu atau beberapa jenis antibiotik tertentu (*multi drug resistance*) merupakan hal yang sangat ditakutkan terutama untuk bakteri *Salmonella typhi* karena akan sangat menyulitkan dalam proses pengobatan pasien dan hal ini merupakan masalah yang sangat serius.⁶ Pemakaian antibiotik lini pertama (*First line*) seperti kloramfenikol yang sudah tidak memberikan efek terapi harus diganti dengan obat-obatan lini kedua atau lini ketiga bahkan seterusnya. Hal ini jelas sangat merugikan pasien, karena antibiotik lini kedua dan lini ketiga memiliki harga yang mahal bahkan efek samping yang besar.^{7,8} Namun tidak menutup kemungkinan juga terjadi kekebalan kuman terhadap antibiotik lini kedua dan ketiga. Ditambah dengan meluasnya penggunaan antibiotik yang diperjual-belikan secara bebas yang pastinya memiliki efek negatif terhadap kesehatan bahkan menyebabkan meningkatnya resistensi terhadap antibiotik.⁵

Bahkan, banyak penyakit-penyakit infeksi yang terjadi secara luas karena komunitas itu sendiri, baik yang berupa epidemik yang berdiri sendiri di masyarakat (*Independent epidemic*), maupun yang berupa dari penularan di rumah sakit (*Nosocomial Infection*). Apabila resistensi terhadap antibiotik terus berlanjut dan tersebar luas, tidaklah berguna dunia yang terus maju dan berkembang jika pada akhirnya ada pada saatnya kita seakan berada di masa sebelum ditemukannya antibiotik. Oleh sebab itu, sangat diperlukan untuk mencari alternatif lain seperti sumber daya alam yang berada di masyarakat itu sendiri.⁹

Banyak penelitian telah membuktikan tanaman memiliki efek terapi yang sangat menguntungkan dimulai dari efek anti-inflamasi, anti-oksidan, anti-kanker, anti-mikroba, anti-plasmodial, anti-viral dan efek imunomodulator.¹⁰ Diantara banyaknya tanaman yang berpotensi sebagai obat, Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) telah digunakan oleh beberapa negara sebagai obat herbal tradisional dan telah dibuktikan secara medis oleh para peneliti dari beberapa negara memiliki banyak manfaat di bidang medis. Nakanishi *et al*, melaporkan bahwa hasil penelitian survei fitokimia dari 151 jenis tanaman herbal dimulai dari *screening* awal dan uji farmakologi didapatkan salah satunya yaitu sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*.¹¹ Berdasarkan penelitian, sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) bermanfaat sebagai hepatoprotektor, potensi imunologi, anti-inflamasi, anti diare, anti-malaria, dan anti bakterial.¹² Adapun Kandungan umum dari sambiloto adalah *14-Deoxyandrographolide, andrographolide, echiodinin, saponin, tannin, flavonoid,*

steroid, dan *terpenoid*. Adapun dari kandungan tersebut yang memiliki sifat antimikroba dan sudah jelas mekanismenya adalah *saponin*, *flavonoid*, dan *tannin*. Ada juga yang memiliki sifat antibakteri tetapi belum jelas bagaimana mekanismenya adalah *14-Deoxyandrographolide*, *andrographolide*, dan *echiodinin*.^{11,13}

Al-Qur'an banyak menjelaskan tentang air, tanaman, udara, buah dan hewan yang diciptakan oleh Allah SWT. Dari semua ini banyak juga terdapat bahwa Al-Qur'an banyak menyinggung tentang tanaman obat. Ingat juga bahwa Allah SWT berkata "Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir" (Al-Qur'an, 13:4).¹⁴ Rasulullah juga dulunya menggunakan tanaman obat untuk mengobati berbagai penyakit.¹⁵

Oleh karena hal tersebut, pada penelitian ini peneliti akan menilai daya hambat ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro*. Dan peneliti akan membandingkan efektivitas ekstrak daun sambiloto dengan kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro* karena kloramfenikol merupakan obat lini pertama dalam penanganan infeksi akibat bakteri *Salmonella typhi*.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

- a. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*?
- b. Berapakah konsentrasi ekstrak daun sambiloto yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui perbedaan efektifitas ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 80% secara in vitro.
2. Untuk membandingkan perbedaan efektifitas ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 80% secara in vitro.
3. Untuk membandingkan efektifitas ekstak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dengan kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro.

1.4 Hipotesa

Adanya daya hambat ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara *in vitro*.

1.5 Manfaat penelitian

1.5.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan khususnya mengenai efektivitas ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* yang dibandingkan dengan kloramfenikol sehingga menjadi obat alternatif, serta diharapkan menambah pengalaman dalam menyusun karya tulis ilmiah sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut.

1.5.2 Bagi Institusi Pendidikan

Penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber informasi untuk penelitian berikutnya dan sebagai referensi bagi kepastakaan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi informasi bagi masyarakat, bahwa daun sambiloto bermanfaat sebagai tanaman herbal yang murah dan mudah dijangkau.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sambiloto

2.1.1. Ekologi Sambiloto

Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) berdasarkan taksonominya diklasifikasikan sebagai berikut:^{11,16}

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Scrophulariales
Famili	: Acanthaceae
Subfamili	: Acanthoidae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Spesies	: <i>Andrographis Paniculata</i> (Burm.F.) Wall. Ex Ness



Gambar 2.1. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness)¹⁷

2.1.2. Nama Lain Sambiloto

Adapun beberapa nama lain dari *Andrographis paniculata* Nees adalah:^{11,18}

Arab	: Quasabhuva
China	: Chuan Xin Lian
English	: King of Bitter
Perancis	: Roi des amer
India	: Kirayat
Indonesia	: Sambiloto
Jepang	: Senshinren
Kanada	: Nelaberu
Malaysia	: Hempedu Bumi
Persia	: Nain-e Havandi
Filipina	: Aluy, Lekha dan Sinta
Russia	: Andrografis
Sanskerta	: Kalmegha

Spanyol	: Andrografis
Thailand	: Fah-talai-jon (Jone)
Turki	: Acılar Kralı, Acı Pas,a, Acı Bey
Vietnam	: Xuy ^{en} T ^{am} Li ^{en}

2.1.3. Morfologi Sambiloto

Sambiloto merupakan sebuah tanaman tahunan, beranting, tanaman berumput yang tegak dengan tinggi kurang lebih 30-110 cm di tempat yang sejuk. Memiliki bunga, berbunga dari bulan desember ke april.¹¹

A. Daun

Daun Sambiloto berwarna gelap, bentuknya sederhana (*Simple*), berlawanan (*Opposite*), berbentuk lancet (*Lanceolate*), permukaannya tidak berbulu (*Glabrous*), menyirip (*Pinnate*), dengan panjang 2-12 cm, lebarnya 1-3 cm, dan daunnya meruncing dari ujung ke seluruh pinggir daun sampai ke ujung daun.^{19,20}

B. Bunga

Tanaman sambiloto memiliki bunga yang kecil yang menyebar di bagian aksila dan terminal atau *pannicle*, memiliki kelopak yang terdiri dari 5 partikel linier, seperti tabung sempit, berukuran 6 mm, berwarna putih daun mahkota (*corolla*) panjang dengan tanda ungu. Memiliki 2 benang sari yang di sisipkan di bagian leher dan dua sel induk yang superior. Dengan panjang 1-2 cm, lebar 2-5 mm, lonjong-lurus, dikompers, dan kapsul terpasang.^{18,19}

2.1.4. Manfaat Sambiloto

Andrographis paniculata Nees adalah tanaman yang dikenal memiliki rasa yang sangat pahit sehingga ada sebutan “*King of Bitter*” yang diberikan kepada *Andrographis paniculata* Nees.⁷ Tanaman ini banyak dibudidayakan di beberapa negara karena sudah menjadi budaya mereka bahwa *Andrographis paniculata* Nees memiliki khasiat sebagai tanaman obat. Orang-orang banyak menggunakan tanaman ini sebagai tanaman yang dikonsumsi untuk meningkatkan daya tahan tubuh serta pengobatan berbagai penyakit.¹⁰

Berdasarkan penelitian, sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) bermanfaat sebagai antioksidan, antibiotik, antiparasit, antidiare, antikanker, dan sebagainya.^{21,22} Banyak penelitian baru-baru ini yang menyatakan bahwa sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) tidak hanya bekerja sebagai antimikroba. Tetapi sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) memiliki manfaat sebagai obat untuk mengobati penyakit *Active Ulcerative Colitis* dalam mengobati mukosa usus pasien.^{23,24} Mengobati infeksi saluran pernapasan atas termasuk hidung, tenggorokan dan sinus. Untuk sistem kardiovaskular dapat menghambat *platelet-activating factor (PAF)-induced human blood platelet aggregation* yang merupakan bagian terpenting sebagai mediator inflamasi. Dan juga dapat dijadikan tanaman obat yang baik untuk sistem reproduksi pria sebagai anti-infertilitas.^{22,23}

Ditambah lagi sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terbukti efektif menjadi antimikroba sebagai spectrum yang luas karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negative seperti *Salmonella*, *Shigella* dan menghambat

pertumbuhan bakteri gram positif seperti *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*.²⁵ Dan sudah sudah banyak digunakan menjadi tanaman obat tradisional di beberapa negara.¹¹

2.1.5. Kandungan Sambiloto

Komponen sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terdiri atas *andrographolide* (AND), *14-deoxyandrographolide* (DAND), *14-deoxy-11,12-didehydro-andrographolide* (DDAND), *apigenin-7-O-d-glucuronopyranoside* (AODG) and *chlorogenic acid* (CLA), *neoandrographolide* (NAND) dan masih ada banyak lagi. Tetapi *Andrographolide* merupakan zat aktif utama dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees).^{11,26} Penelitian sebelumnya telah terbukti komposisi dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) ada sebagai berikut:

Tabel 2.1 Komposisi sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)

Nama Kandungan	Fungsi
<i>14-Deoxyandrographolide</i>	secara farmakologi bersifat antibakteri, antifungal, hepatoprotektif, immunomodulator, <i>PAF Antagonist</i> , relaksan otot halus uterus, vasorelaksan, dan antihipertensi. ¹¹
<i>3-O-β-D-glucosyl-14-deoxyandrographolide</i>	Secara farmakologi bersifat antibakteri. ¹¹
<i>Neoandrographolide</i>	Secara farmakologi bersifat antiherpes-simpleks virus, anti inflamasi, antioksidan, antiparasit,

hepatoprotektif.¹¹

Echioidinin

Secara Farmakologi bersifat antioksidan, dan antibakteri.¹¹

Flavonoid

Antibakteri *flavonoid* memiliki beberapa target seluler, bukan hanya satu lokasi tindakan tertentu. Salah satu tindakan molekulernya adalah membentuk kompleks dengan protein melalui tekanan nonspesifik seperti pengikatan hidrogen dan efek hidrofobik, serta pembentukan ikatan kovalen. Dengan demikian, cara kerja antibakteri *flavonoid* terkait dengan kemampuannya terhadap inaktivasi adhesi mikroba, enzim, dan lipofilik flavonoid juga dapat mengganggu membran mikroba.²⁶

Tannin

Senyawa *tannin* diduga dapat mengkerutkan dinding sel, dengan rusaknya dinding sel akan menghambat pertumbuhan sel dan pada akhirnya bakteri akan mati.¹³

Alkaloid

Senyawa *alkaloid* menunjukkan sifat antibakteri dengan menghambat transport *ATP-dependent* pada senyawa di membran sel.²⁷

Saponin

Senyawa *saponin* bersifat antibakteri, ada kemungkinan bahwa saponin dapat merusak membran sitoplasma, rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan keluar sel menjadi tak terkontrol. Zat yang

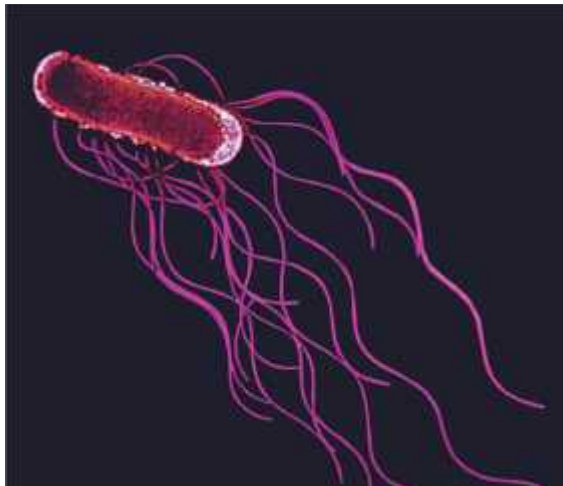
keluar merupakan enzim dan nutrisi dari sel tersebut jika itu semua keluar maka terhambatlah proses metabolisme sel dan terjadi penurunan ATP yang menyebabkan kematian sel.¹³

2.2. *Salmonella typhi*

2.2.1. Taksonomi *Salmonella typhi*

Salmonella typhi berdasarkan taksonominya diklasifikasikan sebagai berikut:²⁸

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>



Gambar 2.2 *Salmonella typhi*²⁸

2.2.2. Morfologi *Salmonella typhi*

Salmonella typhi merupakan salah satu spesies yang termasuk ke dalam *Salmonella sp.* Yang merupakan bakteri fakultatif yang mempunyai sifat gram negatif, berbentuk batang dan mempunyai flagel peritrik untuk bergerak. Biasanya untuk bakteri yang tergolong bakteri *Salmonella sp.* Mudah tumbuh pada media yang sederhana dan hampir tidak pernah memfermentasikan laktosa atau sukrosa serta membentuk asam dan terkadang menghasilkan gas dari glukosa dan manosa. *Salmonella typhi* biasanya hidup atau tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob pada suhu 15-41⁰C dengan suhu pertumbuhan optimum 37,5⁰C.²⁹

Salmonella typhi memiliki tiga struktur antigen yaitu O, H, dan Vi. Antigen O merupakan antigen somatic yang tahan terhadap pemanasan 100⁰C, asam dan alcohol. Antigen H merupakan antigen flagel yang rusak pada pemanasan lebih dari 60⁰C, asam dan alcohol. Dan antigen Vi adalah polimer dari polisakarida yang bersifat asam dan terdapat pada bagian terluar dari badan kuman dimana antigen ini dapat rusak pada pemanasan 60⁰C selama 1 jam pada penambahan asam dan fenol jika kuman memiliki antigen Vi pastinya lebih virulen ke manusia maupun ke hewan.²⁹

Salmonella typhi merupakan bakteri yang patogen terhadap manusia dan tidak ditemukan ada hewan. Habitatnya berada di saluran pencernaan terutama mukosa

ileum. *Salmonella typhi* juga merupakan bakteri penyebab demam tifoid yang sering terjadi di daerah-daerah endemik.^{29,30}

2.2.3. Patogenesis *Salmonella typhi*

Bakteri *Salmonella typhi* infeksi pada manusia. Transmisi dari bakteri ini biasanya melalui fecal-oral, biasanya ditularkan kepada manusia saat manusia mengonsumsi makanan tercemar oleh *Salmonella typhi*. Selain dari makanan bisa juga melalui kotoran baik itu dari kotoran hewan yang mengkontaminasi makanan maupun air lalu makanan dan air tersebut dikonsumsi oleh manusia.³¹

Salmonella typhi menyebabkan Demam tifoid dengan transmisi fecal-oral melalui makanan dan air yang terkontaminasi serta sanitasi dan higienitas yang buruk.³² Mekanisme terjadinya demam tifoid yaitu bakteri menginvasi ke dalam saluran pencernaan manusia kemudian menembus mukosa usus namun menimbulkan lesi dan kemudian berhenti di *nodus limfe mesenterica*. Di *nodus limfe mesenterica* bakteri menetap dan melakukan pembelahan diri, lalu bakteri mengeluarkan LPS (*Lipopolysaccharides*) yang merupakan endotoksin ke aliran darah. Endotoksin yang ada di aliran darah difagositosis oleh makrofag, hal tersebut menyebabkan pelepasan sitokin meningkat (*IL-1, IL-6 dan TNF*) yang akan mempengaruhi set point pada hypothalamus yang akan menimbulkan demam.³³ Setelah bakteri berkembang biak pada nodus limfe, bakteri juga berkembang biak di organ lain seperti hati. Bakteri masuk ke dalam kantung empedu kemudian berkembang biak dan bersama cairan empedu di ekskresikan secara *intermitten* ke dalam usus. Pada *plaque peyer* terjadi hiperplasia yang diakibatkan oleh hiperaktifnya makrofag.³⁴ Masa inkubasinya

adalah selama 10-14 hari, setelah masa inkubasi akan muncul gejala demam yang berkisar 39-41⁰C yang khas terjadi demam tinggi pada sore hingga malam hari, *bradikardi*, mialgia, sakit kepala, dan *malaise*. Pada minggu ketiga juga terdapat tanda-tanda lain seperti *leukopenia*, *stupor*, *splenomegali*, *abdominal roseola*, diare, *bradikardia*, dan terkadang hingga perdarahan intestinal dikarenakan terjadi ulserasi pada *Peyer's patch*.^{28,35}

2.3. Demam Tifoid

Demam tifoid adalah penyakit demam akut yang disebabkan oleh *salmonella typhi*, *port d'entre salmonella typhi* adalah usus. Organisme yang tertelan akan masuk ke dalam lambung untuk mencapai usus halus, organisme secara cepat masuk ke usus halus bagian *proksimal* melakukan penetrasi ke dalam lapisan epitel mukosa apabila telah sampai ke kelenjar getah bening mesenterium hal ini yang dapat menyebabkan bacteremia dan kuman sampai dihati, limpa, juga sumsum tulang dan ginjal. *salmonella typhi* segera difagosit oleh sel-sel fagosit mononukleus yang ada di organ tersebut. Disini bakteri memperbanyak diri.³⁶

Setelah multiplikasi intraseluler, organisme akan dilepaskan lagi ke dalam aliran darah, terjadi bacteremia kedua, penderita akan mengalami panas tinggi. Bacteremia ini menyebabkan dua kejadian kritis yaitu masuknya kuman ke dalam kantung empedu dan *plaque peyer*. Bila dengan masuknya bakteri tadi menyebabkan radang yang hebat sekali maka akan terjadi nekrosis jaringan secara klinik ditandai dengan *kolesistisis nekrotikan*, dan perdarahan *perforasi* usus. Masuknya bakteri ke kantung empedu dan *plaque peyer* dapat menyebabkan penderita menjadi *karier* kronik.³⁶

Gejala klasik penyakit ini adalah demam tinggi pada minggu kedua dan ketiga, pada minggu keempat demam hilang. Komplikasi yang terjadi antara lain komplikasi pada system saraf dan juga komplikasi pada organ usus berupa perdarahan dan perforasi, *relapse* merupakan komplikasi yang umum terjadi setelah satu sampai tiga minggu setelah pengobatan dihentikan.³⁶

2.4. Antibiotik

Penggunaan antibiotik yang efektif dapat mengurangi angka kematian dalam pengobatan demam tifoid antibiotik kloramfenikol masih dipakai sebagai obat standar, dimana efektifitas obat-obat lain masih dibandingkan terhadapnya. Untuk *strain* bakteri yang sensitif terhadap kloramfenikol, antibiotik ini memberikan efek klinis yang baik dibandingkan obat lain dan kloramfenikol dapat diberikan pada anak-anak karena tidak seperti golongan *fluoroquinolone* karena memiliki efek samping gangguan pertumbuhan dan gangguan sendi jika diberikan pada anak-anak.³⁷

2.4.1. Kloramfenikol

Antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* adalah kloramfenikol. Kloramfenikol adalah suatu senyawa netral stabil. Obat ini larut didalam alcohol tetapi kurang larut di dalam air tetapi kloramfenikol suksinat, yang digunakan untuk pemberian parenteral sangat larut air. Obat ini dapat dihidrolisis secara *in vivo*.³⁸

2.4.2. Mekanisme Kerja Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan inhibitor kuat sintesis protein mikroba. Obat ini berikatan secara reversible dengan subunit 50S ribosom bakteri dan menghambat ikatan peptide. Kloramfenikol adalah spektrum luas yang bersifat bakteriostatik dan aktif terhadap organisme gram-positif dan negatif aerob dan anaerob. Sebagian besar bakteri gram-negatif dihambat pada konsentrasi 0.2-5 mcg/mL, dan pada bakteri gram-positif dihambat pada konsentrasi 1-10 mcg/mL. Bagi bakteri galur bakteroides kloramfenikol bersifat bakterisidal.³⁶

Resistensi tingkat-rendah terhadap kloramfenikol mungkin muncul dari populasi besar bakteri rentan-kloramfenikol melalui seleksi mutan yang kurang *permeable* terhadap obat ini. Resistensi yang secara klinis signifikan ditimbulkan oleh pembentukan *kloramfenikol-asiltransferase*, suatu enzim yang disandi plasmid dan menginaktifkan obat ini.³⁶

2.5. Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman.³⁹

2.5.1. Metode Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang

tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.³⁷

2.5.2. Perkolasi

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. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.³⁷

2.5.3. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil

kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.³⁷

2.5.4. Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel di masukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu.³⁷

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi.³⁷

2.6. Pengukuran Efektivitas Antibiotik

Kegunaan uji efektivitas ini adalah mengetahui suatu hasil untuk menghambat pertumbuhan bakteri terhadap agen bakteri. Metode uji efektivitas antibiotik Ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* sebagai berikut:

2.6.1. Metode Difusi

a. Metode *disc diffusion* (tes Kirby dan Bauer)

Metode yang berguna untuk menentukan aktivitas mikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.^{40,41}

b. *E-tes* Metode

Metode yang digunakan untuk mengestimasi MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbukannya yang menunjukkan agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.^{38,39}

c. *Ditch-plate technique*

Metode sampel uji beberapa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan ke arah petri yang berisi agen mikroba.⁴²

d. *Cupp-plate technique*

Metode yang serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang telah diuji.⁴³

e. *Gradient-plate technique*

Metode yang konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji tambahkan campuran kemudian dituang kedalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang diatasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah.⁴⁴

Hasil dihitung sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

Keterangan:

X : panjang total pertumbuhan mikroorganisme yang mungkin

Y : panjang pertumbuhan aktual

C : konsentrasi final agen antimikroba pada total volume media mg/mL

Maka konsentrasi hambatan adalah: (X,Y):C mg/dl.

Yang perlu diperhatikan adalah hasil perbandingan yang didapat dari lingkungan padat dan cair, faktor difusi agen antimikroba dapat mempengaruhi keseluruhan hasil pada media padat.

2.6.2. Metode Dilusi

Metode dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (*broth dilution*) dan padat (*solid dilution*).⁴⁵

a. Metode Cair

Metode yang mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai MIC. Larutan yang ditetapkan sebagai MIC tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang terlihat jernih setelah inkubasi maka ditetapkan sebagai MBC.

b. Metode Padat

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

2.7. Daya Hambat Bakteri

Daya hambat bakteri adalah kemampuan suatu zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri Berdasarkan kategori respon zona hambatan menurut klasifikasi David dan Stout adalah sebagai berikut:⁴⁶

Tabel 2.2 Klasifikasi Menurut David dan Stout

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
0 mm	Tidak Ada
5-10 mm	Lemah
11-20 mm	Kuat
>22 mm	Sangat Kuat

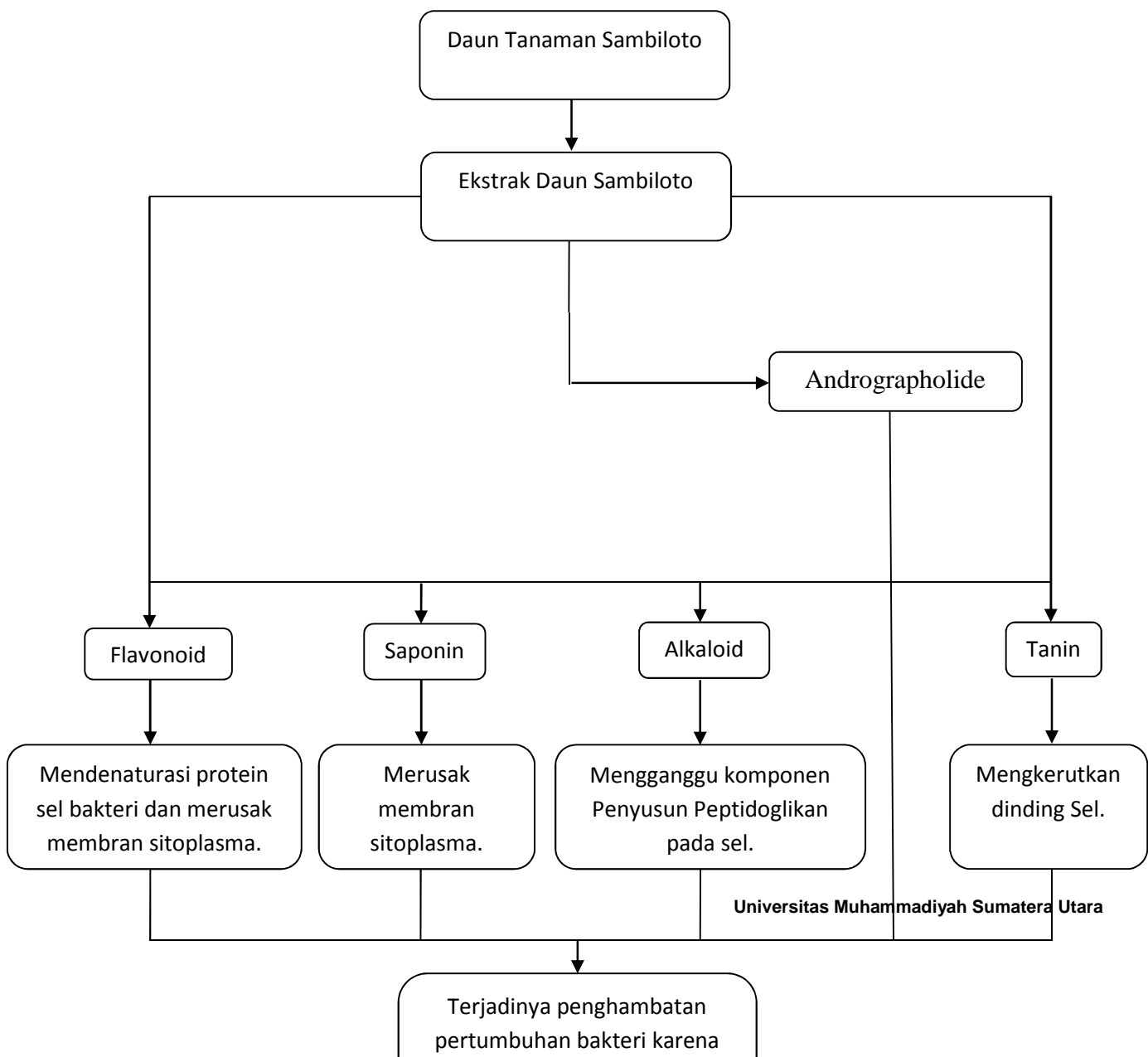
Berdasarkan interpretasi standart diameter zona hambatan untuk *Enterobacteriaceae* menurut NCCLS (*National Committee for Clinical and Laboratory Standards*) sebagai berikut:⁴⁷

Antimicrobial agent	Disk potency	Diameter of zone of inhibition (mm) and equivalent MIC breakpoint (µg/ml)			NCCLS QC strain <i>E. coli</i> ATCC 25922
		Susceptible	Intermediate	Resistant	
Ampicillin	10 µg	≥ 17 mm (≤ 8 µg/ml)	14 – 16 mm (16 µg/ml)	≤ 13 mm (≥ 32 µg/ml)	16 – 22 mm (2–8 µg/ml)
Chloramphenicol	30 µg	≥ 18 mm (≤ 8 µg/ml)	13 – 17 mm (16 µg/ml)	≤ 12 mm (≥ 32 µg/ml)	21 – 27 mm (2–8 µg/ml)
Trimethoprim-sulfamethoxazole (cotrimoxazole)	1.25 / 23.75 µg	≥ 16 mm (≤ 2/38 µg/ml)	11 – 15 mm (4/76 µg/ml)	≤ 10 mm (≥ 8/152 µg/ml)	23 – 29 mm (≤ 0.5/9.5 µg/ml)
Nalidixic acid	30 µg	≥ 19 mm (≤ 8 µg/ml)	14 – 18 mm (16 µg/ml)	≤ 13 mm (≥ 32 µg/ml)	22 – 28 mm (1–4 µg/ml)
Ciprofloxacin	5 µg	≥ 21 mm (≤ 1 µg/ml)	16 – 20 mm (2 µg/ml)	≤ 15 mm (≥ 4 mg/ml)	30 – 40 mm (0.004–0.016 µg/ml)

Source: NCCLS (2002) *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth Informational Supplement*. NCCLS document M100-S12 (ISBN 1-56238-454-6). NCCLS 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087 USA.

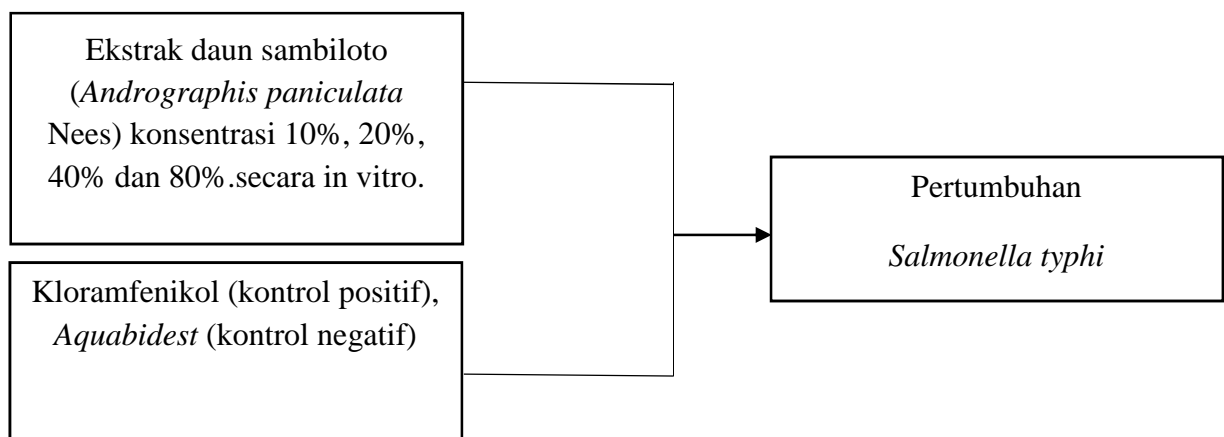
Gambar 2.3 Standart Kepekaan Antibiotik Menurut NCCLS⁴⁵

2.8. Kerangka Teori



Gambar 2.4 Kerangka Teori

2.9. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Definisi Operasional

Untuk mempermudah pelaksanaan penelitian dan agar penelitian tidak menjadi terlalu luas maka definit operasional sebagai berikut:

Tabel 3.1 Variable Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Independen : Konsentrasi ekstrak daun sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees)	Ekstrak daun sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees) didapatkan dengan proses maserasi dengan Etanol 96% serta dinyatakan dalam persen (%).	Membuat ekstrak daun sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees) dengan cara maserasi dilakukan perhitungan untuk mengatur konsentrasi yang dibutuhkan dengan rumus: $V_1M_1:V_2M_2$	Didapatkan ekstrak daun sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees) dengan konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 80%.	Ratio

Variabel	Daya hambat	Menghitung	Diameter	Ordinal
Dependen:	pertumbuhan	diameter	jernih pada	
Daya hambat	dari bakteri	zona jernih di	media	
pertumbuhan	<i>Salmonella typhi</i>	sekitar pada	pertumbuhan	
bakteri	adalah diameter	media	bakteriyang	
<i>Salmonella</i>	zona jernih yang	pertumbuhan	diukur	
<i>typhi</i>	terlihat di sekitar	bakteri	dengan mm	
	pada media	dengan		
	pertumbuhan	menggunaka		
	bakteri	n jangka		
		sorong		

3.2. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental *post test only control group design*. Penelitian ini menggunakan metode perbandingan kelompok statis (*Static Group Comparison*) yaitu dengan pengukuran (observasi) yang dilakukan setelah kelompok perlakuan menerima intervensi. Dimana hasil pengukuran (observasi) tersebut kemudian dibandingkan dengan hasil observasi pada kelompok kontrol yang tidak menerima perlakuan (kontrol negatif) dan kelompok kontrol yang dilakukan pemberian kloramfenikol (kontrol positif).

3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan 1 minggu setelah proposal diterima untuk dilaksanakan dan lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas

Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dan pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

3.4. Jumlah Pengulangan

Rumus Federer:⁴⁸

$$(n-1)(t-1) \quad 15$$

$$(n-1)(6-1) \quad 15$$

$$(n-1)(5) \quad 15$$

$$5n-5 \quad 15$$

$$5n \quad 15+5$$

$$n \quad 20/5$$

$$n \quad 4$$

Keterangan:

n : Besar Sampel

t : Jumlah Kelompok

Dalam Penetapan Jumlah sampel penelitian sebanyak 24 *plate* yang terdiri dari 6 kelompok perlakuan yang dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Untuk menetapkan pengulangan sampel rumus peneliti menggunakan rumus Federer.

Jadi pengulangan dilakukan 4 kali setiap kelompok perlakuan.

Kelompok 1: Ekstrak daun sambiloto konsentrasi 10% = 4 sampel

Kelompok 2: Ekstrak daun sambiloto konsentrasi 20% = 4 sampel

Kelompok 3: Ekstrak daun sambiloto konsentrasi 40% = 4 sampel

Kelompok 4: Ekstrak daun sambiloto konsentrasi 80% = 4 sampel

Kelompok 5: Kloramfenikol sebagai kontrol positif = 4 sampel

Kelompok 6: *Aquabidest* sebagai kontrol negatif = 4 sampel

Maka, total sampel pada penelitian adalah 24 sampel.

3.5. Teknik Pengumpulan Data

Teknik Pengumpulan data dilakukan dengan memberikan perlakuan pada *Salmonella typhi* yaitu mengukur diameter zona hambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan menggunakan jangka sorong. Data yang diambil adalah data primer.

3.5.1. Alat dan Bahan

Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan :

- a) Timbangan analitik
- b) Cawan petri
- c) Ose/lidi pengaduk
- d) Kertas cakram
- e) Pipet tetes mikro
- f) Inkubator
- g) Jangka sorong
- h) Gelas ukur
- i) Spiritus
- j) Autoklaf
- k) Tabung reaksi

l) API-20E (*Analytical Profile Index*)

m) Penjepit tabung reaksi

Bahan yang digunakan dalam penelitian:

a) Spesimen *Salmonella typhi*.

b) Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) (10%, 20%, 40% dan 80%).

c) *Muller Hinton* Agar (MHA).

d) NaCl 0.9%.

e) Larutan Etanol 96%.

f) *dimethyl sulfoxide* (DMSO).

g) *Aquadest*.

h) Kloramfenikol

3.5.2. Cara Kerja

A. Identifikasi *Salmonella typhi*.

) Secara Mikroskopis

Mengambil biakan bakteri *Salmonella typhi* letakkan diatas *object glass* dengan menggunakan ose. Kemudian diamkan hingga kering dan fiksasi di atas api Bunsen. Tuangkan larutan gentian violet di atas *object glass*, biarkan selama 5 menit. Zat warna dibuang dan di bubuhi dengan larutan lugol selama 3 menit. Lugol dibuang dan diberi alkohol 96%. Kemudian diberi larutan safranin 30 detik. Selanjutnya bilas dengan *aquadest* dan lihat dibawah mikroskop

) Secara Biokimia

a. API (*Analytical Profil Index*)

Sistem API 20-E menggunakan suatu strip palstik yang terdiri atas 20 mikrotabung, yang masing-masing berisi media terhidrasi di bagian dasar dan kupula di bagian atas. Media akan terhidrasi selama proses inokulasi suatu suspense organisme uji, kemudian strip diinkubasi di dalam suatu wadah tertutup plastik untuk menegah evaporasi. Dalam teknik ini, 22 uji biokimia dilakukan. Setelah inkubasi, identifikasi organisme dilakukan dengan menggunakan diagram-diagram diferensial yang telah disediakan oleh pabrik pembuat atau dengan sistem terkomputerisasi yang disebut PRS (*Profile recognition system* atau sistem pengenalan profil). PRS meliputi pengkode API, register profil, dan selektor.⁴⁹

b. Pemiakan Bakteri *Salmonella thyphi*.

Satu koloni bakteri *Salmonella thyphi* diambil dengan menggunakan ose steril yang dibakar dengan api Bunsen, lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi *Muller-Hinton* Agar (MHA). Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37⁰C.

c. Identifikasi Sambiloto

Dengan mengirim daun sambiloto ke Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Setelah itu peneliti mendapatkan bukti kebenaran bahwa bahan tersebut adalah daun sambiloto dalam bentuk data.

d. Cara pembuatan ekstrak daun sambiloto

Metode yang digunakan dalam mengekstrak daun sambiloto adalah metode maserasi. Di dalam metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 1 kg daun sambiloto terlebih dahulu dicuci bersih, kemudian di keringkan pada udara terbuka (kering udara) tanpa terkena cahaya matahari langsung. Pengeringan dilakukan sampai daun dapat diblender dan diayak untuk mendapatkan serbuk daun sambiloto. Serbuk daun sambiloto direndam dalam 3 liter pelarut etanol 96% selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian di diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan arah sentrifugasi, dekantasi atau filtrasi. Ulangi proses penyaringan sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada pencairan pertama.

Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dilakukan pemeriksaan karakteristik ekstrak meliputi organoleptik, rendemen dan susut pengeringan. Ekstrak yang di peroleh diuji aktivitas antibakterinya pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 80% yang dilarutkan menggunakan pelarut DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*). DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar dan non polar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya

hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri.

Pembuatan berbagai konsentrasi ekstrak daun sambiloto dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V_1M_1=V_2M_2$$

Keterangan:

V_1 : Volume larutan ekstrak etanol yang diambil (mL)

M_1 : Konsentrasi ekstrak Etanol yang diambil (mg/mL)

V_2 : Volume larutan yang akan dibuat (mL)

M_2 : Konsentrasi larutan yang akan dibuat (mg/mL)

Tabel 3.2 Volume Ekstrak Daun Sambiloto yang dibutuhkan pada penelitian:

M_1	V_2	M_2	V_1	$V_1 \times 4$
100%	1 ml	10%	100 μ l	400 μ l
100%	1 ml	20%	200 μ l	800 μ l
100%	1 ml	40%	400 μ l	1600 μ l
100%	1 ml	80%	800 μ l	3200 μ l
Total				6000 μ l

Tabel 3.3 Volume Kontrol yang Dibutuhkan pada penelitian:

Kelompok	Volume sekali uji	Total Volume = $V \times 4$

Kontrol Negatif (Aquabidest)	1 ml	4 ml
Kontrol Positif (Kloramfenikol)	1 ml	4 ml

e. Uji Kepekaan Antimikroba (Difusi)

Menyiapkan lempeng agar dan cawan petri yang mengandung koloni bakteri yang telah diidentifikasi sebagai *Salmonella typhi*. Kemudian menyiapkan kertas cakram berdiameter 6,28 mm yang dibuat dari kertas *Whatmann*. Tiap-tip cakram sebelumnya dipanaskan dalam oven pada suhu 70⁰C selama 15 menit agar steril. Selanjutnya kertas cakram kosong yang steril dimasukkan ke dalam masing-masing bahan uji dengan volume 1 ml selama 15 menit agar larutan dapat terserap ke dalam cakram dengan baik. Kemudian persiapkan lempeng agar dalam cawan petri yang mengandung koloni *Salmonella typhi*. Koloni bakteri dimasukkan ke dalam medium cair dalam tabung reaksi, kemudian didiamkan selama 2-5 jam pada suhu 35⁰-37⁰C dan sesuaikan kekeruhan bakteri pada tabung reaksi dengan 0.5 McFarland.^{50,51} Ambil kapas lidi steril kemudian dicelupkan ke dalam media cair berisi bakteri tersebut, kemudian diusapkan ke permukaan *Muller Hinton Agar*. Sebarkan secara merata pada permukaan agar dengan menggunakan pinset steril dan ditekan sedikit agar melekat dengan baik, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi 18-24 jam selanjutnya ukur diameter zona hambat dalam millimeter disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

3.6. Pengolahan dan Analisis Data

3.6.1. Pengelolaan Data

a. Pemeriksaan Data (Editing)

Pemeriksaan data (Editing) dilakukan untuk memeriksa ketepatan dan kelengkapan data yang telah dikumpulkan, apabila data belum lengkap ataupun ada kesalahan data.

b. Pemberian Kode (Coding)

Pemberian kode (Coding) data dilakukan apabila data sudah terkumpul kemudian dikoreksi ketepatan dan kelengkapannya. Selanjutnya data diberikan kode oleh peneliti secara manual sebelum diolah ke dalam computer.

c. Memasukkan Data (Entry)

Data yang telah di bersihkan kemudian dimasukkan ke dalam program.

d. Pembersihan Data (Cleaning)

Pemeriksaan semua data yang telah dimasukkan ke dalam program guna menghindari terjadinya kesalahan dalam pemasukan data.

e. Menyimpan data (Saving)

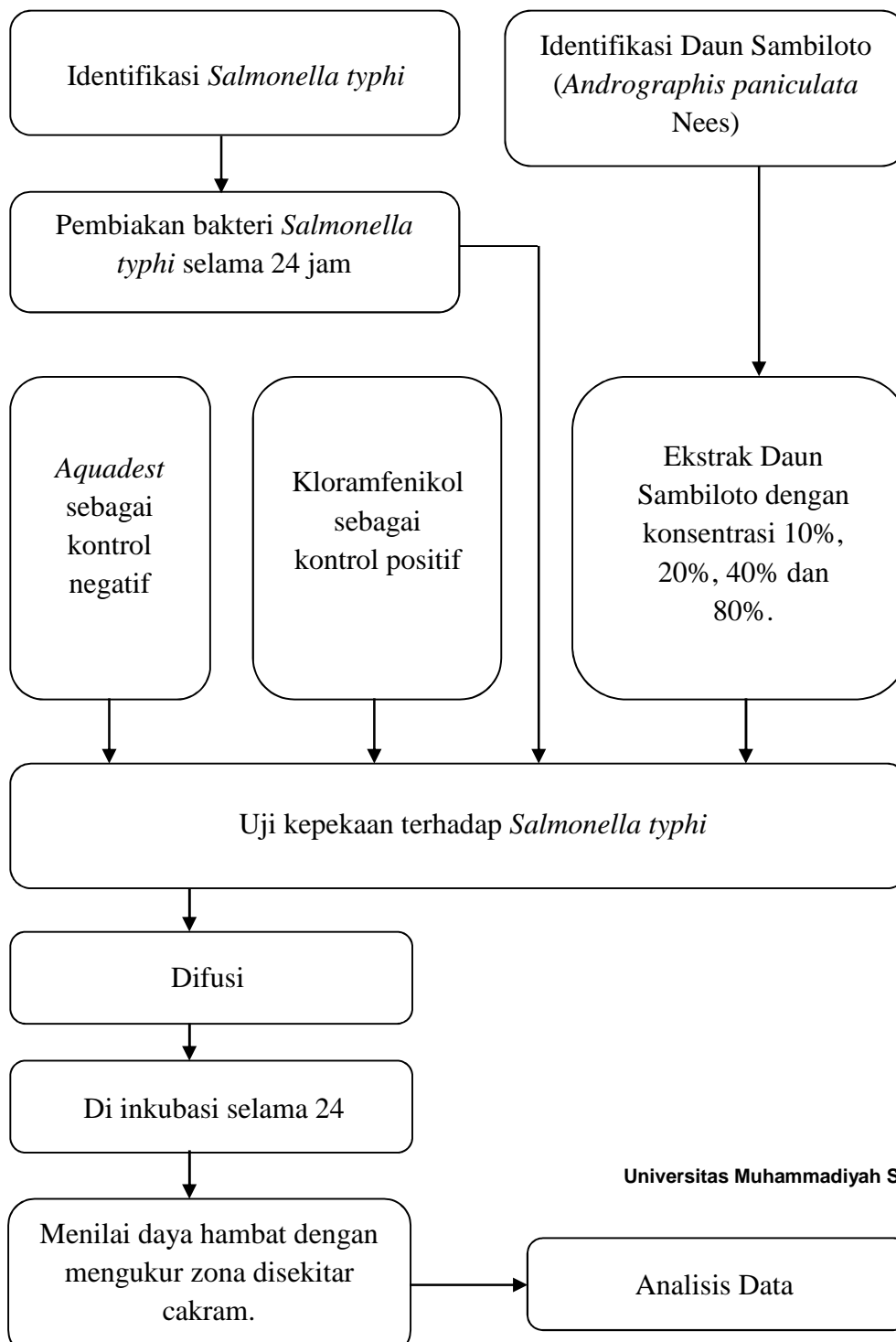
Menyimpan data untuk siap dianalisis.

3.6.2. Analisis Data

Data hasil peneliti pengaruh ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dianalisis dengan menggunakan program statistik komputer, untuk melihat efektivitas yang bermakna dari masing-masing cakram uji yaitu cakram yaitu cakram kloramfenikol (kontrol positif), cakram *aquadest* (kontrol negatif), dan cakram yang mengandung ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 80%.

Data pada penelitian ini merupakan variable numerik-kategorik tidak berpasangan yaitu variable yang terdiri dari dua kelompok yang tidak berpasangan. Pertama-tama data akan di uji dengan uji normalitas *Shapiro Wilk* dan didapatkan data terdistribusi tidak normal dan varians data tidak homogen, maka data dianalisis dengan menggunakan uji statistik non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis Test*. Kemudian untuk menentukan konsentrasi mana yang memiliki kebermaknaan maka dilakukan analisis *Post Hoc* menggunakan *Uji Mann-Whitney*.

3.7. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara pada bulan Oktober 2017. Hasil ukur aktivitas antibiotik ekstrak daun sambiloto terhadap bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil pengukuran daya hambat bakteri *Salmonella typhi*

Pengulangan	Diameter daya hambat pertumbuhan bakteri <i>Salmonella typhi</i> (dalam satuan mm)					
	Ekstrak Daun Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Ness) dengan konsentrasi				Kontrol +	Kontrol -
	80%	40%	20%	10%		
Pengulangan 1	10,01	10,00	8,85	8,18	21,81	0
Pengulangan 2	10,07	9,98	8,81	8,09	21,62	0
Pengulangan 3	9,61	9,23	8,86	5,52	21,69	0
Pengulangan 4	9,40	9,23	8,47	8,20	21,90	0

Pada tabel 4.1 didapatkan hasil bahwa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun sambiloto menunjukkan zona bening. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80% pengulangan ke-2 diperoleh zona bening tertinggi dari kelompok perlakuan yaitu 10,07 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% pengulangan ke-1 diperoleh zona bening tertinggi yaitu sekitar 10,00 mm. pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 20% pengulangan ke-3 diperoleh zona tertinggi yaitu 8,86.

sedangkan pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 10% pengulangan ke-4 diperoleh zona bening tertinggi yaitu 8,20. pada kelompok kontrol positif yaitu kloramfenikol didapatkan hasil zona hambat tertinggi pada pengulangan ke-4 yaitu 21.90, sedangkan pada kelompok kontrol negatif yaitu *aquadest* tidak ditemukan zona bening.

Tabel 4.2. Hasil analisis uji Normalitas Shapiro-Wilk dan uji Homogenitas

Kelompok	Uji Normalitas Shapiro Wilk	Uji Homogenitas
Ekstrak daun sambiloto 10%	0,004	
Ekstrak daun sambiloto 20%	0,022	
Ekstrak daun sambiloto 40%	0,031	0,002
Ekstrak daun sambiloto 80%	0,634	
Kloramfenikol	0,842	

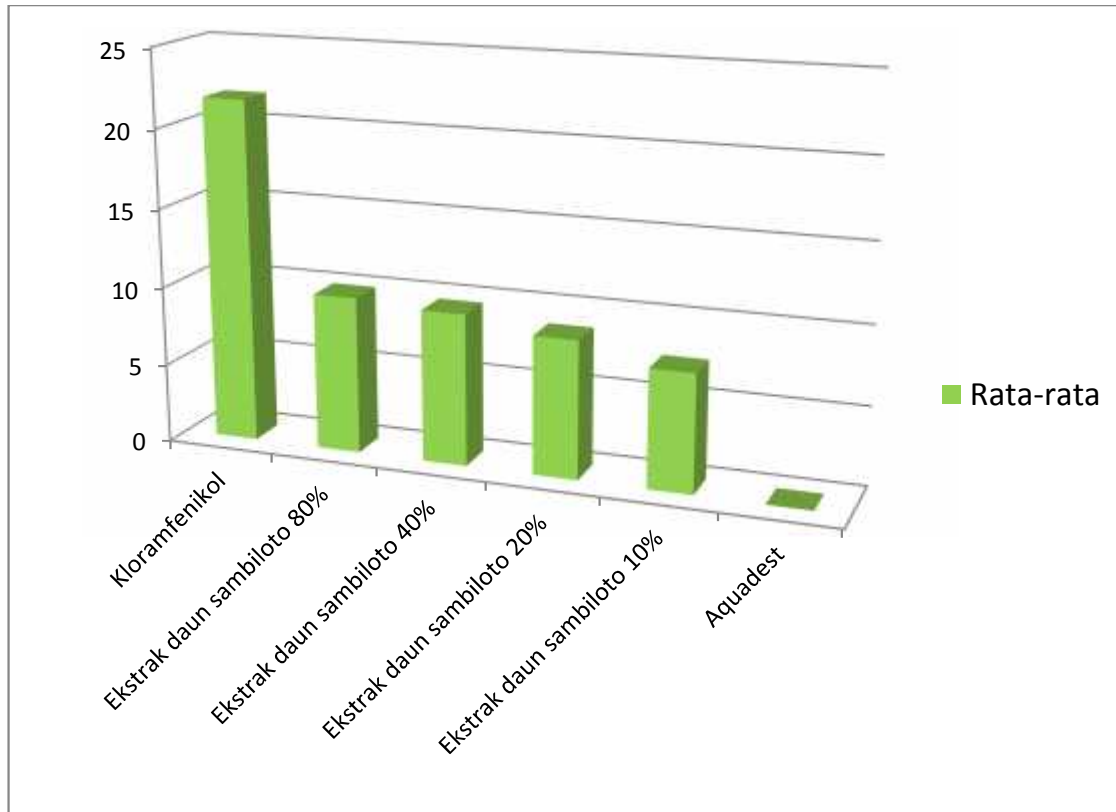
Pada hasil analisis diperoleh nilai normalitas untuk ekstrak daun sambiloto 10% adalah 0,004 ($p < 0.05$), pada ekstrak daun sambiloto 20% adalah 0.022 ($p < 0.05$), pada ekstrak daun sambiloto 40% adalah 0,031 ($p < 0.05$), pada ekstrak daun sambiloto 80% adalah 0,634 ($p > 0.05$), dan pada kloramfenikol adalah 0,842 ($p > 0.05$) yang berarti data tersebut tidak berdistribusi normal. Sedangkan pada uji homogenitas data tersebut diperoleh 0,002 ($p < 0.05$) yang berarti data tersebut tidak homogen.

Tabel 4.3. Hasil analisis Kruskal-Wallis disertai dengan nilai rata-rata dan standar deviasi

Kelompok	n	Rata-rata±s.deviasi	P
Kloramfeniko	4	21,75±0,06	
Akuades	4	0,00±0,00	
Ekstrak daun sambiloto 80%	4	9,93±0,28	0,001
Ekstrak daun sambiloto 40%	4	9,61±0,21	
Ekstrak daun sambiloto 20%	4	8,74±0,09	
Ekstrak daun sambiloto 10%	4	7,49±0,65	

Pada hasil analisis diperoleh rata-rata kloramfenikol adalah 21,75 mm sedangkan standar deviasinya diperoleh 0,06 mm. Pada *aquades* diperoleh rata-rata 0 dan standar deviasinya 0. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80% diperoleh nilai rata-rata 9,93 mm dengan standar deviasinya 0,28 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% diperoleh nilai rata-rata 9,61 mm dengan standar deviasinya 0,21 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 20% diperoleh nilai rata-rata 8,74 mm dengan standar deviasinya 0,09 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 10% diperoleh nilai rata-rata 7,49 mm dengan standar deviasinya 0,65 mm. Hasil uji *kruskal-wallis* diperoleh $p < 0,05$ yang membuktikan bahwa tiap perbedaan yang diujikan memiliki perbedaan zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80%, 40%, 20%, dan 10%. Serta kelompok kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (*aquades*).

Gambar 4.1 Grafik rata-rata zona bening semua kelompok



Pada gambar 4.1 grafik zona rata-rata bening menunjukkan kloramfenikol memiliki zona bening tertinggi dengan rata-rata 21,75 mm. Sedangkan pada kelompok perlakuan ekstrak daun sambiloto yang memiliki zona bening tertinggi yaitu konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80% dengan rata-rata zona bening 9,93 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% diperoleh hasil rata-rata zona bening 9,61 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 20% diperoleh hasil rata-rata zona bening 8,74 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 10% diperoleh hasil rata-rata zona bening 8,49 mm. Sedangkan konsentrasi zona bening pada *aquadest* tidak diperoleh zona bening atau 0 mm.

Tabel 4.4. Hasil uji *Mann-Whitney* antara Ekstrak Daun Sambiloto 80% dengan Ekstrak Daun Sambiloto 40%

	n	P	Keterangan
Ekstrak Daun Sambiloto 80%	4	0,245	Tidak Signifikan
Ekstrak Daun Sambiloto 40%	4		

Pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto 80% dibandingkan dengan ekstrak daun sambiloto 40% diperoleh $p > 0,05$ yaitu didapatkan tidak adanya perbedaan daya hambat yang signifikan antara ekstrak daun sambiloto 80% dengan ekstrak daun sambiloto 40%.

Tabel 4.5. Hasil uji *Mann-Whitney* antara Ekstrak Daun Sambiloto 80% dengan Ekstrak Daun Sambiloto 20%

	n	P	Keterangan
Ekstrak Daun Sambiloto 80%	4	0,021	Signifikan
Ekstrak Daun Sambiloto 20%	4		

Pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto 80% dibandingkan dengan ekstrak daun sambiloto 20% diperoleh $p < 0,05$ yaitu didapatkan adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun sambiloto 80% dengan ekstrak daun sambiloto 20%.

Tabel 4.6. Hasil uji *Mann-Whitney* antara Ekstrak Daun Sambiloto 80% dengan Ekstrak Daun Sambiloto 10%

	n	P	Keterangan
Ekstrak Daun Sambiloto 80%	4	0,021	Signifikan
Ekstrak Daun Sambiloto 10%	4		

Pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto 80% dibandingkan dengan ekstrak daun sambiloto 10% diperoleh $p < 0,05$ yaitu didapatkan adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun sambiloto 80% dengan ekstrak daun sambiloto 10%.

Tabel 4.7. Hasil uji *Mann-Whitney* antara Ekstrak Daun Sambiloto 40% dengan Ekstrak Daun Sambiloto 20%

	n	P	Keterangan
Ekstrak Daun Sambiloto 40%	4	0,020	Signifikan
Ekstrak Daun Sambiloto 20%	4		

Pada tabel 4.7 menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto 40% dibandingkan dengan ekstrak daun sambiloto 20% diperoleh $p < 0,05$ yaitu didapatkan adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun sambiloto 40% dengan ekstrak daun sambiloto 20%.

Tabel 4.8. Hasil uji Mann-Whitney antara Ekstrak Daun Sambiloto 40% dengan Ekstrak Daun Sambiloto 10%

	n	P	Keterangan
Ekstrak Daun Sambiloto 40%	4	0,020	Signifikan
Ekstrak Daun Sambiloto 10%	4		

Pada tabel 4.8 menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto 40% dibandingkan dengan ekstrak daun sambiloto 10% diperoleh $p < 0,05$ yaitu didapatkan adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun sambiloto 40% dengan ekstrak daun sambiloto 10%.

Tabel 4.9. Hasil uji Mann-Whitney antara Ekstrak Daun Sambiloto 20% dengan Ekstrak Daun Sambiloto 10%

	n	P	Keterangan
Ekstrak Daun Sambiloto 20%	4	0,021	Signifikan
Ekstrak Daun Sambiloto 10%	4		

Pada tabel 4.9 menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto 20% dibandingkan dengan ekstrak daun sambiloto 10% diperoleh $p < 0,05$ yaitu didapatkan adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun sambiloto 20% dengan ekstrak daun sambiloto 10%.

4.2 Pembahasan

Dari hasil pengolahan data dan analisa data yang menunjukkan bahwa ada perbedaan daya hambat yang nyata antara kloramfenikol dengan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80%, 40%, 20%, dan 10%. Sedangkan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80% dengan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% tidak memiliki daya hambat yang signifikan berbeda. Sedangkan pada konsentrasi 10% dan 20% memiliki daya hambat yang signifikan dengan konsentrasi 40% dan 80%, dengan daya hambat tertinggi didapatkan pada ekstrak daun sambiloto konsentrasi 80%.

Pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa ekstrak daun sambiloto dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* pada konsentrasi yang paling besar 80%. Pada hasil uji fitokimia membuktikan bahwa sambiloto memiliki kandungan *flavonoid*, *tannin*, *alkaloid*, dan *saponin* bahkan memiliki kandungan *steroid*.

Zona hambat yang terbentuk disebabkan oleh kandungan aktif dari sambiloto yaitu *flavonoid*, *tannin*, *alkaloid*, dan *saponin*. *Flavonoid* memiliki beberapa target seluler yang salah satu tindakan molekulernya adalah membentuk kompleks dengan protein melalui tekanan nonspesifik seperti pengikatan hydrogen dan efek hidrofobik, serta pembentukan ikatan kovalen dengan demikian, cara kerjanya menginaktivasi adhesi mikroba, enzim, dan lipofilik *flavonoid* juga dapat mengganggu membran mikroba.²⁶ *Tannin* diduga dapat mengerutkan dinding sel, dengan menghambat pertumbuhan sel dan pada akhirnya bakteri akan mati.¹³ kemudian *alkaloid* menunjukkan sifat antibakteri dengan menghambat transport *ATP-dependent* pada

senyawa di membran sel.²⁷ dan *saponin* bersifat antibakteri ada kemungkinan bahwa *saponin* dapat merusak membran sitoplasma, rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan keluar menjadi tak terkontrol, zat yang keluar dari sel merupakan enzim dan nutrisi dari sel tersebut jika itu semua keluar maka terhambatlah proses metabolisme sel dan terjadi penurunan ATP.¹³

Pada penggunaan metode Kirby-Bauer banyak faktor yang mempengaruhi efektivitas dari difusinya yaitu komposisi medium pertumbuhan karena ada bahan yang dapat mengurangi atau mempertinggi aktifitas dari antibiotik, pemilihan medium pertumbuhan, pengaruh pH karena berpengaruh pada pertumbuhan bakteri dan jumlah zat yang berdifusi, ukuran inokulum (campuran antara suspensi dan media) karena luas daerah hambatan akan semakin kecil jika inokulum semakin besar kandungan mikroorganismenya, stabilitas mikroba uji, waktu inkubasi yang optimal agar keseimbangan antara aktifitas antibiotik dengan daya tumbuh mikroba dapat menghasilkan daerah hambatan yang baik, dan aktivitas antibiotik.⁵²

Dalam menggunakan metode *Kirby-Bauer* tidak bisa mengukur derajat antimikroba suatu zat sehingga metode ini tidak menjamin diidentifikasinya bahan pembunuh antimikroba yang efektif sebagai terapi, dikarenakan adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antimikroba yang dipengaruhi berat molekulnya. Tetapi untuk uji yang memungkinkan untuk menilai dari keseluruhan kandungan antimikroba dapat dilakukan dengan metode teknik *Cup-Plate* walaupun metode ini serupa dengan metode *Kirby-Bauer* pada metode ini tidak memerlukan pemindahan

ekstrak ke dalam blank disk melainkan membuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba.⁵³

Berdasarkan data penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto belum dapat menggantikan posisi dari kloramfenikol sebagai pengobatan utama dalam pengobatan demam tifoid tetapi sambiloto bisa dijadikan sebagai terapi komplementer dan supportif dalam mengobati demam tifoid.⁵⁴ Pada penelitian ini, daya hambat ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 80% memiliki zona hambat bening tertinggi yaitu 10,07 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% memiliki zona bening tertinggi yaitu 10,00 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 20% memiliki zona bening tertinggi yaitu 8,86 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 10% memiliki zona bening tertinggi yaitu 8,20 mm.

Berdasarkan hasil tersebut terlihat bahwa efek antibiotik ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10% terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* lebih kecil dibandingkan dengan efek antibiotik kloramfenikol. Maka dinyatakan bahwa hipotesa penelitian diterima, karena terdapat daya hambat ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10% dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sambiloto, maka daya hambat ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* akan semakin baik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil pembahasan dapat diambil kesimpulan yaitu:

1. Ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10% memiliki efek antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sambiloto yang diberikan semakin tinggi zona hambat yang didapatkan pada penelitian dengan zona hambat pertumbuhan bakteri rata-rata tertinggi terdapat pada ekstrak daun sambiloto konsentrasi 80%.
3. Perbedaan efek antibiotik antara kloramfenikol dengan ekstrak daun sambiloto konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10% terdapat perbedaan daya hambat yang signifikan antara kloramfenikol dengan ke empat konsentrasi ekstrak sambiloto, yang mana sambiloto belum dapat menggantikan kedudukan dari kloramfenikol sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

5.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian tentang uji efektivitas ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara *in vitro*, maka peneliti memberikan saran sebagai berikut:

1. Bagi mahasiswa kedokteran dapat melakukan penelitian lebih lanjut tentang efek antimikroba ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) secara *in vitro* dengan tidak menggunakan metode Kirby-Bauer dengan menggunakan ekstrak yang menggabungkan keseluruhan dari kandungan ekstrak daun sambiloto jika di uji sebagai antimikroba terhadap bakteri gram negatif.
2. Dilakukan penelitian lanjutan yang lebih dalam dengan menguji kandungan tertentu dari ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) untuk menilai kandungan yang paling efektif sebagai penghambat pertumbuhan bakteri secara *in vivo*.
3. Memperluas penelitian ini dengan menguji ke mikroorganisme seperti jamur dan parasit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cita YP. Bakteri *Salmonella thypi* dan Demam Tifoid. Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas. 2011 Sep;26(2):42-6.
2. Purba IE, Wandra T. Program Pengendalian Demam Tifoid di Indonesia:Tantangan dan Peluang. Media Litbangkes. 2016 Sep 1;6(1):99-108.
3. Venkatesh S, *et al.* National Treatment Guidelines for Antimicrobial Use in Infection Diseases. National Centre for Disease Control. 2016. p 10.
4. Rachmah EA, Rochmanti M, Puspitasari D. Impact of an Antimicrobial Resistance Control Program: Pre-and Post-Training Antibiotic Use in Children with typhoid fever. Paediatrica Indonesiana. 2016;56(4): 205-10.
5. Salman MT, Khan RA, Shukla I. Antibacterial Activity of Nigella Sativa Linn. Seeds Against Multiple Antibiotics Resistant Clinical Strains of Staphylococcus aureus.International Archives of Biomedical and Clinical Research. 2016;2(3):96-99.
6. CDC; Centers for Disease Control and Prevention, Department of Health and Human Services. Antibiotic Resistance Threats. 2013. CDC (United State); 2013.
7. Thuille N, Fille M, and Nagl M. Bactericidal Activity of Herbal Extract. Int. J. Hyg. Environ Health. 2003; 20(6): 217-21.
8. Hadjzadi D, Larbi K, Reffaz FZI, Benine ML, Abbouni B, Antibacterial Activity of the Essential Oils of Nigella sativa L. against Pathogens Bacteria. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry. 2015;10 (2):100-105.
9. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 8 Tahun 2015 Tentang Program Pengendalian resistensi antimikroba di Rumah Sakit. Menteri Kesehatan Republik Indonesia; Jakarta.
10. Elumalai S, Banupriya R, Sangeetha T, Madhumathi S. Review on Phytopharmacological Activities of *Andrographis paniculata* (Burm. F) Ness. Int J Pharm Bio Sci 2016;7(4):183-200.
11. Hossain S, Urbi Z, Sule A, and Rahman KMH, “*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: A Review of Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacology,” The Scientific World Journal, 2014.
12. Kanokwan J, Nobuo N. Pharmacological aspect of *Andrographis paniculata* on health and its major diterpenoid constitute andrographolide. J of Health Sci. 2008; 54: 370-381.

13. Retnowati Y, Bialangi N, Posangi NW. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*, 2011; 6(2).
14. Urbi Z, Hossain S, Rahman KMF, Zayed TM. Grape: a Medicinal Fruit Species in the Holy Qur'an and its Ethnomedicinal Importance. *World Applied Journal*, 2014;30(3):253.
15. Wani BA, Wani FM, Khan A, Mohiddin FA, Hamid A. Some Herbs Mentioned in the Holy Quran and Ahadith and Their Medicinal Importance in Contemporary Times. *J of Pharm Res*. 2011;4(11): 3888-3891.
16. Prapanza I, dan Marianto LM. *Khasiat & Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka. 2003. p 3-9.
17. Rothkranz M, *Edible Plant Guide*. Rothkranz Publishing. 2014.
18. Jayakumar T, Hsieh CY, Lee JJ, Sheu JR, *Experimental and Clinical Pharmacology of Andrographis paniculata and Its Major Bioactive Phytoconstituent Andrographolide*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013.
19. Boopathi CA. *Andrographis spp: a source of Bitter Compounds for medical Use*. *Ancient Science of Life*. 2000; 19(3-4):164-168.
20. Anju D, Jugnu G, Kavitha S, and Sandeep D. A review on medicinal prospective of *Andrographis paniculata* Ness. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*. 2012; 1(1): 1-4.
21. Okhuarobo A, Falodun JE, Erhayuri O, Imieje V, Falodun A, Langer P. *Harnessing the Medicinal Properties of Andrographis paniculata for diseases and beyond: a Review of its Phytochemistry and Pharmacology*. *Asian Pac J Trop Dis* 2014; 4(3):213-222.
22. Akbar S. *Andrographis paniculata: A Review of Pharmacological Activities and Clinical Effects*. *Alternative Medicine Review*. 2011; 16(1): 66-77.
23. Joselin J, Jeeva S. *Andrographis paniculata: A Review of Its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology*. *Med Aromat Plants* 2013;3:169.
24. Sandborn WJ, *et al*. *Andrographis paniculata* Extract (HMPL-004) for Active Ulcerative Colitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:90-98.
25. Ahmed QU, Samah OA, Sule A. *Andrographis paniculata* (Burm.F) Wall. Ex Ness: A Potent Antibacterial Plant. *Antimicrobial Agent* 2012. InTech.
26. Wang J, Yang W, Wang G, Tang P, Sai Y. Determination of six components of *Andrographolide paniculata* extract and one major metabolite of *andrograpoxide* in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2014; 951-952:78-88.

27. Mabhiza D, Chitemerere T, Mukanganyama S. Antibacterial Properties of Alkaloid Extracts from *Callistemon* Antibacterial Properties of Alkaloid Extracts from *Callistemon* Antibacterial Properties of Alkaloid Extracts from *Callistemon*. Hindawi Publishing Corporation International Journal of Medicinal Chemistry. 2016.
28. Brands DA. *Salmonella: Deadly Diseases and Epidemics*. Chelsea House Publisher: Philadelphia. 2006.
29. Panja SC. Textbook of Microbiology and Immunology. Edisi 2. Elsevier. India. 2012. p296-275.
30. Zaki SA, Karande S. Multidrug-resistant typhoid fever: a review. *J Infect Dev Ctries* 2011; 5(5): 324-337.
31. The Center for Food Security and Public Health. *Salmonellosis*. Iowa State University. 2013
32. Rhen M, Maskell D, Mastroeni P, Threllfall J. *Salmonella: Molecular Biology and Pathogenesis*. Horizon Bioscience: UK. 2007. p 1-3.
33. Stefan S, Lang F. *Color Atlas of Pathophysiology*. Thieme: Stuttgart – New York. 2000.
34. Widodo D. Demam Tifoid. *Buku Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1 Edisi 4*. Interna Publishing: Jakarta. p 549-558.
35. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. *Medical Microbiology*. Tieme: Stuttgart – New York. 2005. p 282-287.
36. Staf Pengajar Departement Mikrobiologi FKUI, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Binarupa Aksara: Jakarta.
37. Nelwan RHH. *Tata Laksana Terkini Demam Tifoid*. *Continuing Med Edu*. 2012 Oct 4;39(4):247-50
38. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Farmakologi Dasar & Klinik Edisi 12 Volume 2*. EGC: Jakarta. p 923-927.
39. Tetti M. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 2014;7(2).
40. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Method for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016;6:71-79.
41. Hendriken RS. Suceptibility testing of *Salmonella* using disk diffusion. *A Global Salmonella surveillance and laboratory support project of the World Health Organization*. 2002. p 3-8.
42. Agbor VO, Ma'ori L, Opajobi L. Bacterial Resistance to Cephalosporins in Clinical Isolates in Jos University Teaching Hospital (JUTH). *New York Science Journal*. 2011;4(9).

43. Panda SK. Screening Methods in the Study of Antimicrobial Properties of Medicinal Plants. *International Journal of Biotechnology and Research*. 2012;2(1):1-35.
44. Final D. how to prepare and use gradient plate. David Perkins Background.
45. Hendriken RS. MIC determination by broth dilution using sensititre. A Global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization. 2010. p 2-8.
46. Kaawoan PT, Abidjulu J, Siagian KV. Uji daya hambat ekstrak buah pala (*myristica fragrans* Houtt) terhadap bakteri penyebab periodontitis *porphyromonas gingivalis* secara in vitro. *e-GIGI*. 2016;4(2).
47. Perilla MJ *et al.* Manual for the Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in the Developing World. CDC: National Center for Infectious Diseases and WHO: Department of Communicable Disease Surveillance and Response. 2003.
48. Charan J, Khantaria ND, How to Calculate Sample Size in Animal Studies?. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2013; 4(4): 303.
49. Microbeonline.com. API 20E Test System: Introduction, Procedure Results and Interpretations. [updated 2015 May 6;cited 2017 August 21]. Available from: <https://www.microbeonline.com/api-20e-test-system-introduction-procedure-results-interpretations/>
50. Mijovic G, Antibiotic susceptibility of *Salmonella* spp.: a comparison of two surveys with a 5 years interval. *Journal of IMAB-Annual Proceeding Scientific Paper*. 2012;18(1):216-9
51. Cockerill FR, *et al.* Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard – Ninth Edition. 2012.
52. Bagul US, Sivakumar SM, Antibiotic Suceptibility Testing: A Review on Current Practices. *Int J Pharm* 2016; 6(3): 11-17.
53. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *Am J Clin Pathol*. 1966;45(4):493-6.
54. Sudoyo AW, *et al.* Halo Internis Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Edisi 18. 2011;4(2):3.

Lampiran 1. Pelaksanaan Penelitian

No.	Kegiatan	Bulan						
		Juli	Agustus	September	Oktober	November	Desember	Januari
1	Persiapan Proposal							
2	Maju Proposal, Pembuatan media MHA, dan kultur bakteri							
3	Strerilisasi alat penelitian, pembuatan kultur							
4	Pembuatan ekstrak daun sambiloto, uji antibiotik dengan metode difusi							
5	Pengukuran hasil uji antibiotik.							
6	Persiapan Seminar Hasil							

Lampiran 2 : Uji Normalitas

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
zona_hambat	80%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	40%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	20%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	10%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	kontrol +	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	kontrol -	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%

Descriptives^a

		Statistic	Std. Error
zona_hambat	80%	Mean	9.9325
		95% Confidence Interval for Lower Bound	9.0147
		Mean Upper Bound	10.8503
		5% Trimmed Mean	9.9189
		Median	9.8100
		Variance	.333
		Std. Deviation	.57679
		Minimum	9.40
		Maximum	10.71
		Range	1.31
		Interquartile Range	1.08
		Skewness	.993
		Kurtosis	.253
	40%	Mean	9.6100
		95% Confidence Interval for Lower Bound	8.9117
		Mean Upper Bound	10.3083
		5% Trimmed Mean	9.6094

	Median		9.6050	
	Variance		.193	
	Std. Deviation		.43886	
	Minimum		9.23	
	Maximum		10.00	
	Range		.77	
	Interquartile Range		.77	
	Skewness		.002	1.014
	Kurtosis		-5.990	2.619
20%	Mean		8.7475	.09313
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8.4511	
		Upper Bound	9.0439	
	5% Trimmed Mean		8.7567	
	Median		8.8300	
	Variance		.035	
	Std. Deviation		.18626	
	Minimum		8.47	
	Maximum		8.86	
	Range		.39	
	Interquartile Range		.30	
	Skewness		-1.922	1.014
	Kurtosis		3.716	2.619
10%	Mean		7.4975	.65960
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5.3984	
		Upper Bound	9.5966	
	5% Trimmed Mean		7.5683	
	Median		8.1350	
	Variance		1.740	
	Std. Deviation		1.31920	
	Minimum		5.52	
	Maximum		8.20	
	Range		2.68	

	Interquartile Range	2.03	
	Skewness	-1.992	1.014
	Kurtosis	3.973	2.619
kontrol +	Mean	21.7550	.06225
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	21.5569 21.9531
	5% Trimmed Mean	21.7544	
	Median	21.7500	
	Variance	.015	
	Std. Deviation	.12450	
	Minimum	21.62	
	Maximum	21.90	
	Range	.28	
	Interquartile Range	.24	
	Skewness	.166	1.014
	Kurtosis	-2.384	2.619

a. zona_hambat is constant when perlakuan = kontrol -. It has been omitted.

Tests of Normality^b

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona_hambat	80%	.212	4	.	.937	4	.634
	40%	.307	4	.	.740	4	.031
	20%	.381	4	.	.725	4	.022
	10%	.423	4	.	.660	4	.004
	kontrol +	.199	4	.	.970	4	.842

a. Lilliefors Significance Correction

b. zona_hambat is constant when perlakuan = kontrol -. It has been omitted.

Lampiran 3 : Uji *Kruskal-Wallis*

Ranks			
	perlakuan	N	Mean Rank
zona_hambat	80%	4	17.50
	40%	4	15.50
	20%	4	10.50
	10%	4	6.50
	kontrol +	4	22.50
	kontrol -	4	2.50
	Total		24

Test Statistics ^{a,b}	
	zona_hambat
Chi-Square	22.025
df	5
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

Lampiran 4: Uji *Mann-Whitney*

Ranks				
	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol +	4	6.50	26.00
	kontrol -	4	2.50	10.00
	Total	8		

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	80%	4	2.50	10.00
	kontrol +	4	6.50	26.00
	Total	8		

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	40%	4	2.50	10.00
	kontrol +	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	20%	4	2.50	10.00
	kontrol +	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	10%	4	2.50	10.00
	kontrol +	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	80%	4	6.50	26.00
	kontrol -	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	40%	4	6.50	26.00
	kontrol -	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	20%	4	6.50	26.00
	kontrol -	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	10%	4	6.50	26.00
	kontrol -	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	80%	4	5.50	22.00
	40%	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	80%	4	6.50	26.00
	20%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	80%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	40%	4	6.50	26.00
	20%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	40%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	20%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Lampiran 5: Dokumentasi Penelitian
Pembuatan Ekstrak Daun Sambiloto



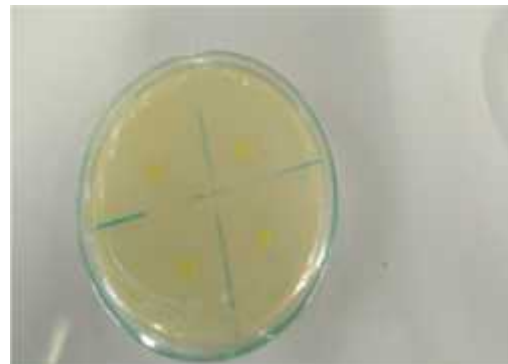


Pengujian Ekstrak Daun Sambiloto dengan Bakteri *Salmonella typhi*





Hasil Uji Setelah 24 jam



Lampiran 6: Ethical Clearance



**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**

Jalan Gedung Arca no. 53 Medan, 20217
Telp. 061-7350163, 7333162 Fax. 061-7363488
Website : <http://www.umsu.ac.id> Email: kepchkumsu@gmail.com

No: 19/KEPK/FKUMSU/2017.

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

Komisi Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dalam upaya melindungi hak azazi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran telah mengkaji dengan teliti protokol yang berjudul:

Efektivitas Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dengan Kloramfenikol Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*.

Peneliti utama : Fajar Muhammad Nasution

Nama institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Dan telah menyetujui protokol penelitian diatas.

Medan, 03 Oktober 2017

Ketua

Dr. Nurfadly, M.K.T

Lampiran 7: Berita Acara Kerja Sama Penelitian dengan Laboratorium

Lembar Utama

LABORATORIUM TERPADU FK UMSU
 Jl. Gedung Anca No.53 Medan Sumatera Utara
BERITA ACARA KERJASAMA PENELITIAN
 (SI DATA DI KOMPUTER)

Grup/Tanggal	Tanggal
Nomor Penelitian	43/LAB/TERPADU/TKUMSU/2017
Tanggal Pembuatan	24 Oktober 2017
Nama Peneliti	FAJAL MUHAMMAD RIST
Alamat	Jl. Posat I No. 32
No Telepon	-
No HP	812615088
Email	ajayal@umma171@gmail.com
Awal Institusi/Instansi Peneliti	FK UMSU
Pendidikan Terakhir (S1, S2, S3)	SMA
Pendidikan Saling Didikan (S1, S2, S3)	S1
No Etik Penelitian	17/ABPE/TKUMSU/2017
Judul Penelitian	EFEKTIVITAS KRISTAL DAN SAMPLOD (Antibiogram sensitivitas) NERI DENGAN KLORAMFENIKOL TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI <i>Salmonella typhi</i> SECARA IN VITRO
Sampel Penelitian	Ekstrak Daun Sambalito & Bakteri <i>Salmonella typhi</i>
Jumlah Sampel	1 jenis Ekstrak Daun Sambalito & 1 Tabung Bakteri <i>Salmonella typhi</i>
Waktu penelitian	24-26, 30-31 Oktober 2017
Lama Penelitian Dalam Lab	5 Hari
Varian Diukur	PERTUMBUHAN BAKTERI <i>Salmonella typhi</i>

Dengan ini saya yang bertanda tangan di bawah ini, sebagai peneliti menyatakan bahwa saya sebagaimana data tercantum dalam lembar Berita Acara Kerjasama Penelitian ini, telah setuju untuk melakukan kerjasama pada penelitian saya dengan Laboratorium Terpadu FK UMSU, dan saya telah memahami segala hak dan kewajiban serta segala konsekuensi yang akan terjadi sebagaimana tercantum dalam lembar utama berikut ke tahap lampiran. Kesepakatan ini saya buat dengan keakaluan sadar penuh dan tanpa tekanan dari pihak manapun.

Mahasiswa Lab Terpadu

 dr. Wani Haraj M. Masad

Peneliti

 Fajal Muhammad Rist

* Harga dapat berubah sewaktu-waktu tanpa pemberitahuan & Peneliti wajib mengganti alat laboratorium yang rusak akibat kecerobohan pemakaian

Lampiran 8: Identifikasi Bahan



HERBARIUM MEDANENSE
(MEDA)
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA

Jl. Bioteknologi No 1 Kampus USU, Medan – 20155
 Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 3 Oktober 2017

No. : 1666/MEDA/2017
 Lamp. : -
 Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH,
 Sdr/i : Fajar Muhammad Nst
 NPM : 1408260016
 Instansi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan hormat,
 Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Kelas : Dicotyledoneae
 Ordo : Lamiales
 Famili : Acanthaceae
 Genus : *Andrographis*
 Spesies : *Andrographis paniculata* (Burm.f.)
 Nama Lokal : Sambiloto

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Kepala Herbarium Medanense.

Dr. Nursahara Pasaribu, M.Sc
 NIP. 1963 01 23 1990 03 2001

Lampiran 9: Skrinning Fitokimia



KEMENTRIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
 FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
 DEPARTEMEN KIMIA
 LABORATORIUM KIMIA BAHAN ALAM
 Jl. Bioteknologi No. 1 Kampus USU, Medan 2015
 Telp.061-8211050 Fax.061-821490

Medan, 22 November 2017

SURAT KETERANGAN

Dengan ini Kepala Laboratorium Kimia Bahan Alam FMIPA USU menerangkan bahwa sampel yang diserahkan kepada :

FAJAR MUHAMMAD NST

Dengan hasil uji Skrinning sebagai berikut :

SAMPEL : DAUN SAMBILOTO	
Flavonoida	Positif
Alkaloida	Positif
Steroida/ Terpenoida	Positif
Tanin	Positif
Saponin	Positif

Demikianlah surat ini diperbuat untuk dipergunakan seperlunya.

Kepala Laboratorium

Dr. Helmina Br. Sembiring S.Si, M.Si
 NIP. 195503251986012002

Lampiran 10: Daftar Riwayat Hidup

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Nama : FAJAR MUHAMMAD NST
 Tempat/Tanggal Lahir : Medan, 23 Oktober 1996
 Agama : Islam
 Alamat : Jl. Pukat I No. 32, Bantan Timur, Medan Tembung,
 Kota Medan, Sumatera Utara
 No. Hp : 08126150888
 Email : azaymuhammad77@gmail.com
 Kebangsaan : Indonesia
 Orang tua :
 Ayah : Drs. M. Yusuf M.Si
 Ibu : Nenni Eries Sinaga
 Riwayat Pendidikan :
 - SDN 8 Panyabungan : 2002-2008
 - SMP Negeri 2 Panyabungan : 2008-2011
 - SMA Negeri 1 Matauli Pandan : 2011-2014
 - Fakultas Kedokteran UMSU : 2014-Sekarang

**EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Ness)
DENGAN KLORAMFENIKOL TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Salmonella typhi SECARA IN VITRO**

**Fajar Muhammad Nasution¹, Muhammad Jalaluddin Assuyuthi Chalil²,
Annisa³, Melviana Lubis⁴**

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

²Departemen Anestesiologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

³Departemen Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

⁴Departemen Farmakologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Email: Azaymuhammad77@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang : *S. typhi* merupakan bakteri batang, dan gram negatif penyebab penyakit demam tifoid yang sampai saat ini menjadi masalah kesehatan. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai obat karena memiliki efek antibiotik terhadap bakteri. **Tujuan :** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibiotik ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro. **Metodologi :** Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Teknik yang digunakan dalam mengukur aktivitas antibiotik adalah metode difusi cakram. **Hasil penelitian :** Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dengan konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10% menghasilkan rata-rata diameter zona bening masing-masing yaitu 9,93 mm, 9,61 mm, 8,74 mm, dan 7,49 mm. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tiap-tiap konsentrasi memiliki perbedaan daya hambat antara yang satu dengan yang lainnya dimana didapatkan nilai ($p < 0,05$) tetapi pada perbandingan konsentrasi 40% dengan 80% didapatkan nilai ($p > 0,05$). **Kesimpulan :** Ekstrak daun sambiloto memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan hal tersebut dapat dilihat pada hasil penelitian. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sambiloto yang diberikan maka semakin tinggi zona hambat yang dibentuk pada media agar.

Kata kunci : *Salmonella typhi*, ekstrak daun sambiloto, *Andrographis paniculata*

ABSTRACT

Background: *S. typhi* is a stem bacteria, and gram-negative bacteria causes of typhid fever that until now became a health problem . Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) is a potentially medicinal plants because it has antibiotic effect on bacteria. **Objective:** This study aims to determine the effectiveness of sambiloto's leaf extract on *Salmonella typhi* growth in vitro. **Method:** this research use experimental method. The technique used in measuring antibiotic activity is the method of disk diffusion. **Result:** The result showed that the sambiloto's leaf extract (*Andrographis paniculata* Ness) with concentration of 80%, 40%, 20% and 10% yielded the mean of clear zone diameter ie 9.93 mm, 9.61 mm, 8.74 mm, and 7.49 mm. in this study showed that each concentration has different inhibitory power between the one with the other which obtained the value ($p < 0.05$) but in the concentration ratio of 40% with 80% obtained value ($p > 0.05$). **Conclusion:** Sambiloto's leaf extract has an inhibitory power to the growth of *Salmonella typhi* bacteria and it can be seen in the result of the study. The higher the concentration of sambiloto's leaf extract given, more higher the clear zone forme on the agar medium.

Keywords: *Salmonella typhi*, sambiloto's leaf extract, *Andrographis paniculata*

PENDAHULUAN

Salah satu infeksi yang tersebar di seluruh dunia, dan sampai sekarang menjadi masalah kesehatan salah satunya adalah infeksi yang disebabkan *Salmonella typhi* yaitu demam tifoid¹

Di Indonesia demam tifoid harus menjadi perhatian serius karena dilaporkan angka kesakitan di Indonesia pada tahun 2008 sebesar 81,7 per 100.000 penduduk, dengan sebaran menurut kelompok umur 0,0/100.000 penduduk (0–1 tahun), 148,7/100.000 penduduk (2–4 tahun), 180,3/100.000 (5-15 tahun), dan 51,2/100.000 (16 tahun). Angka ini

menunjukkan bahwa penderita terbanyak adalah pada kelompok usia 2-15 tahun. Dan hasil telahan di rumah sakit besar di Indonesia menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan jumlah kasus tifoid dari tahun ke tahun dengan rata-rata kesakitan 500/100.000 penduduk dan kematian diperkirakan sekitar 0,6–5%.²

Berdasarkan data dari jurnal sebelumnya Indonesia masih menggunakan kloramfenikol sebagai *First Line Therapy* sebagai terapi demam tifoid, yang ditakutkan adalah pasien sering sekali mengobati diri sendiri dengan antibiotik yang tidak rasional bahkan tanpa

menggunakan resep ditambah dengan diperjual-belikannya antibiotik secara bebas.³

Pemakaian antibiotik lini pertama (*First line*) yang sudah tidak memberikan efek terapi harus diganti dengan obat-obatan lini kedua atau lini ketiga bahkan seterusnya. Hal ini jelas sangat merugikan pasien, karena antibiotik lini kedua dan lini ketiga memiliki harga yang mahal bahkan efek samping yang besar.⁴

sangat diperlukan untuk mencari alternatif lain seperti sumber daya alam yang berada di masyarakat itu sendiri.⁵ Banyak penelitian telah membuktikan tanaman memiliki efek terapi yang sangat menguntungkan dimulai dari efek anti-inflamasi, anti-oksidan, anti-kanker, anti-mikroba, anti-plasmodial, anti-viral dan efek imunomodulator.⁶

Diantara banyaknya tanaman yang berpotensi sebagai obat, Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) telah digunakan oleh beberapa negara sebagai obat herbal tradisional dan telah dibuktikan secara medis oleh para peneliti dari beberapa negara memiliki banyak manfaat di bidang medis. Nakanishi *et al*, melaporkan bahwa hasil penelitian survei fitokimia dari 151 jenis tanaman herbal dimulai dari *screening* awal dan uji farmakologi didapatkan salah satunya yaitu sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*.⁷ Berdasarkan penelitian, sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) bermanfaat sebagai hepatoprotektor, potensi imunologi, anti-inflamasi, anti

diare, anti-malaria, dan anti bakterial.⁸ Adapun Kandungan umum dari sambiloto adalah *14-Deoxyandrographolide, andrographolide, echiodinin, saponin, tannin, flavonoid, steroid, dan terpenoid*. Adapun dari kandungan tersebut yang memiliki sifat antimikroba dan sudah jelas mekanismenya adalah *saponin, flavonoid, dan tannin*. Ada juga yang memiliki sifat antibakteri tetapi belum jelas bagaimana mekanismenya adalah *14-Deoxyandrographolide, andrographolide, dan echiodinin*.⁹

Oleh karena itu peneliti mencoba melakukan penelitian uji efektivitas antibiotik ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro.

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *eksperimental post test only control group design*. Dalam penelitian ini digunakan metode penelitian perbandingan kelompok statis (*static group comparison*) yaitu dengan pengukuran (observasi) yang dilakukan setelah kelompok perlakuan menerima program atau intervensi.

Jumlah Pengulangan

Dalam penetapan jumlah sampel penelitian sebanyak 6 plate yang terdiri 6 kelompok perlakuan yang dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Kelompok

perlakuan terdiri dari 4 konsentrasi ekstrak daun kayu manis, konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10%, 1 kelompok kontrol positif (kloramfenikol) dan 1 kelompok control negatif (*Aquadest*). Untuk pengulangan sampel rumus yang digunakan adalah rumus Federer, yaitu $(t-1)(n-1) = 15$, dimana (t) adalah jumlah kelompok perlakuan dan (n) adalah jumlah sampel perkelompok perlakuan.¹⁰

Analisis Data

Data pada penelitian ini merupakan variable numerik yaitu variable yang terdiri lebih dari dua kelompok tidak berpasangan. Data yang didapatkan distribusi data tidak normal, maka peneliti menggunakan uji non-parametrik yaitu *Kruskal-wallis*. Kemudian dilakukan Uji *Mann-Whitney* untuk melihat kemaknaannya signifikan atau tidak signifikan.

HASIL PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara pada bulan Oktober 2017. Pengukuran dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan mm (millimeter). Hasil ukur efek antibiotik ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* dapat dilihat pada tabel 4.1.

Pada tabel 4.1. didapatkan hasil bahwa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun sambiloto menunjukkan perbedaan antara zona hambat bening yang dihasilkan.

Pada tabel 1 diperoleh rata-rata kloramfenikol adalah 21,75 mm sedangkan standar deviasinya diperoleh 0,06 mm. Pada *aquadest* diperoleh rata-rata 0 dan standar deviasinya 0. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80% diperoleh nilai rata-rata 9,93 mm dengan standar deviasinya 0,28 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% diperoleh nilai rata-rata 9,61 mm dengan standar deviasinya 0,21 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 20% diperoleh nilai rata-rata 8,74 mm dengan standar deviasinya 0,09 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 10% diperoleh nilai rata-rata 7,49 mm dengan standar deviasinya 0,65 mm. Hasil uji *kruskal-wallis* diperoleh $p < 0,05$ yang membuktikan bahwa tiap perbedaan yang diujikan memiliki perbedaan zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80%, 40%, 20%, dan 10%. Serta kelompok kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (*aquadest*).

Hasil uji *kruskal-wallis* diperoleh $p < 0,05$ yang membuktikan bahwa tiap perbedaan yang diujikan memiliki perbedaan zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80%, 40%, 20%, dan 10%. Serta kelompok kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (*aquadest*).

Tabel 1. Hasil pengukuran rata-rata daya hambat bakteri *Salmonella typhi*

Kelompok	n	Rata-rata±s.deviasi	P
Kloramfeniko	4	21,75±0,06	
Akuades	4	0,00±0,00	
Ekstrak daun sambiloto 80%	4	9,93±0,28	0,001
Ekstrak daun sambiloto 40%	4	9,61±0,21	
Ekstrak daun sambiloto 20%	4	8,74±0,09	
Ekstrak daun sambiloto 10%	4	7,49±0,65	

Pembahasan

Dari hasil pengolahan data dan analisa data yang menunjukkan bahwa ada perbedaan daya hambat yang nyata antara kloramfenikol dengan *aquadest*, kloramfenikol dengan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80%, 40%, 20%, dan 10%. Kemudian *aquadest* dengan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80%, 40%, 20%, dan 10%. Sedangkan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 80% dengan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% tidak memiliki daya hambat yang signifikan berbeda. Konsentrasi ekstrak daun sambiloto 10% dengan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 20%, 40%, dan 80%. Dan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 20% dengan konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% dan 80% diperoleh perbedaan daya hambat yang nyata.

Pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa ekstrak daun sambiloto dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* pada konsentrasi yang paling besar 80%. Pada hasil uji fitokimia membuktikan bahwa sambiloto memiliki kandungan *flavonoid*, *tannin*, *alkaloid*, dan *saponin* bahkan memiliki kandungan

steroid.

Zona hambat yang terbentuk disebabkan oleh kandungan aktif dari sambiloto yaitu *flavonoid*, *tannin*, *alkaloid*, dan *saponin*. *Flavonoid* memiliki beberapa target seluler yang salah satu tindakan molekulernya adalah membentuk kompleks dengan protein melalui tekanan nonspesifik seperti pengikatan hydrogen dan efek hidrofobik, serta pembentukan ikatan kovalen dengan demikian, cara kerjanya menginaktivasi adhesi mikroba, enzim, dan lifofilik *flavonoid* juga dapat mengganggu membran mikroba.¹¹ *Tannin* diduga dapat mengkerutkan dinding sel, dengan menghambat pertumbuhan sel dan pada akhirnya bakteri akan mati.⁹ kemudian *alkaloid* menunjukkan sifat antibakteri dengan menghambat transport *ATP-dependent* pada senyawa di membran sel.¹² dan *saponin* bersifat antibakteri ada kemungkinan bahwa *saponin* dapat merusak membran sitoplasma, rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabelitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan keluar menjadi tak terkontrol, zat yang keluar dari sel merupakan enzim dan

nutrisi dari sel tersebut jika itu semua keluar maka terhambatlah proses metabolisme sel dan terjadi penurunan ATP.⁹

Pada penggunaan metode Kirby-Bauer banyak faktor yang mempengaruhi efektivitas dari difusinya yaitu komposisi medium pertumbuhan karena ada bahan yang dapat mengurangi atau mempertinggi aktifitas dari antibiotik, pemilihan medium pertumbuhan, pengaruh pH karena berpengaruh pada pertumbuhan bakteri dan jumlah zat yang berdifusi, ukuran inokulum (campuran antara suspensi dan media) karena luas daerah hambatan akan semakin kecil jika inokulum semakin besar kandungan mikroorganismenya, stabilitas mikroba uji, waktu inkubasi yang optimal agar keseimbangan antara aktifitas antibiotik dengan daya tumbuh mikroba dapat menghasilkan daerah hambatan yang baik, dan aktivitas antibiotik.¹³

Dalam menggunakan metode *Kirby-Bauer* tidak bisa mengukur derajat antimikroba suatu zat sehingga metode ini tidak menjamin diidentifikasinya bahan pembunuh antimikroba yang efektif sebagai terapi, dikarenakan adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antimikroba yang dipengaruhi berat molekulnya. Tetapi untuk uji yang memungkinkan untuk menilai dari keseluruhan kandungan antimikroba dapat dilakukan dengan metode teknik *Cup-Plate* walaupun metode ini serupa dengan metode *Kirby-Bauer* pada metode ini tidak memerlukan pemindahan ekstrak ke dalam blank disk melainkan membuat sumur pada media agar yang telah ditanami

dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba.¹⁴

Berdasarkan data penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto belum dapat menggantikan posisi dari kloramfenikol sebagai pengobatan utama dalam pengobatan demam tifoid tetapi sambiloto bisa dijadikan sebagai terapi komplementer dan supportif dalam mengobati demam tifoid.¹⁵ Pada penelitian ini, daya hambat ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 80% memiliki zona hambat bening tertinggi yaitu 10,07 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 40% memiliki zona bening tertinggi yaitu 10,00 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 20% memiliki zona bening tertinggi yaitu 8,86 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun sambiloto 10% memiliki zona bening tertinggi yaitu 8,20 mm.

.Berdasarkan hasil tersebut terlihat bahwa efek antibiotik ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10% terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* lebih kecil dibandingkan dengan efek antibiotik kloramfenikol. Maka dinyatakan bahwa hipotesa penelitian diterima, karena terdapat daya hambat ekstrak daun sambiloto dengan konsentrasi 80%, 40%, 20%, dan 10% dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sambiloto, maka daya hambat ekstrak daun sambiloto terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* akan semakin baik.

KESIMPULAN

Dari hasil pembahasan dapat diambil kesimpulan yaitu:

Ekstrak daun sambiloto memiliki efek antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sambiloto yang diberikan semakin tinggi zona hambat yang didapatkan pada penelitian. Ekstrak daun sambiloto belum dapat menggantikan kedudukan dari kloramfenikol sebagai obat utama dalam pengobatan demam tifoid tetapi ekstrak daun sambiloto bisa dijadikan sebagai pebobatan komplementer dan supportif sebagai pengobatan dalam mengobati demam tifoid.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Cita YP.** Bakteri *Salmonella thypi* dan Demam Tifoid. Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas. 2011 Sep;26(2):42-6.
2. **Purba IE, Wandra T.** Program Pengendalian Demam Tifoid di Indonesia: Tantangan dan Peluang. Media Litbangkes. 2016 Sep 1;6(1):99-108.
3. **Rachmah EA, Rochmanti M, Puspitasari D.** Impact of an Antimicrobial Resistance Control Program: Pre-and Post-Training Antibiotic Use in Children with typhoid fever. Paediatrica Indonesiana. 2016;56(4): 205-10.
4. **Hadjzadi D, Larbi K, Reffaz FZI, Benine ML, Abbouni B.** Antibacterial Activity of the Essential Oils of *Nigella sativa* L. against Pathogens Bacteria. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry. 2015;10 (2):100-105.
5. **Kemenkes RI Permenkes RI No. 8 Tahun 2015.** Tentang Program Pengendalian resistensi antimikroba di Rumah Sakit. Menteri Kesehatan Republik Indonesia; Jakarta.
6. **Elumalai S, Banupriya R, Sangeetha T, Madhumathi S.** Review on Phytopharmacological Activities of *Andrographis paniculata* (Burm. F) Ness. Int J Pharm Bio Sci 2016;7(4):183-200.
7. **Hossain S, Urbi Z, Sule A, and Rahman KMH.** *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: A Review of Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacology,” The Scientific World Journal, 2014.
8. **Kanokwan J, Nobuo N.** Pharmacological aspect of *Andrographis paniculata* on health and its major diterpenoid constitute andrographolide. J of Health Sci. 2008; 54: 370-381.
9. **Retnowati Y, Bialangi N, Posangi NW.** Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). Saintek, 2011; 6(2).
10. **Charan J, Khantaria ND.** How to Calculate Sample Size in Animal Studies?. Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics. 2013; 4(4): 303.
11. **Wang J, Yang W, Wang G, Tang P, Sai Y.** Determination of six components of *Andrographolide paniculata* extract and one major metabolite of andrographolide in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of

- Chromatography B. 2014; 951-952:78-88.
- 12. Mabhiza D, Chitemerere T, Mukanganyama S.** Antibacterial Properties of Alkaloid Extracts from *Callistemon* Antibacterial Properties of Alkaloid Extracts from *Callistemon* Antibacterial Properties of Alkaloid Extracts from *Callistemon*. Hindawi Publishing Corporation International Journal of Medicinal
- 13. Bagul US, Sivakumar SM.** Antibiotic Suceptibility Testing: A Review on Current Practices. Int J Pharm 2016; 6(3): 11-17.
- 14. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M.** Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. Am J Clin Pathol. 1966; 45(4): 493-6.
- 15. Sudoyo AW, et al.** Halo Internis Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Edisi 18. 2011;4(2):3.







