

LEMBAR PENGESAHAN
LAPORAN HASIL PENELITIAN

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Limbah Daun Pandan (*Savonum kakuani Kruak*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella* Thypi Secara *In Vitro*
Nama : David Rizki Pentado
Npm : 20000003

Dosen Pembimbing I



Dr. Susi Saraning, Sp.An

Dosen Pembimbing II



Dr. Leo Siantipriatna, M.Si (Sug), Sp.B

Dosen Penguji



Dr. Maratus Silalahi, Sp.PD

Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran



Dr. Ayu Fyru Sumanegara, M.Si, M.Kom

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas HKBP Negeri Semarang



Dr. dr. Leo Siantipriatna, Sp.GG

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Demam tifoid adalah penyakit demam yang dikarenakan infeksi bakteri salmonella enterica. Penyakit ini salah satu penyakit yang menular.¹ Kasus demam tifoid dengan banyak kasus 20,6 juta dan kematian 223.000 kasus di global tahunan pada daerah yang memiliki tingkat kebersihan yang buruk. Banyaknya resistensi terhadap antimikroba merupakan faktor utama tingginya kasus demam tifoid.² Pada tahun 2013 Indonesia kasus demam tifoid bersifat endemik dengan kasus yang tercatat 81,7 per 100.000 penderita.³

Infeksi salmonella telah dilaporkan resisten terhadap antibiotik yang pada umumnya diresepkan.⁴ *Multi drug resistance* (MDR) dilaporkan pada tahun 1960 demam tifoid resisten terhadap antibiotik ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol dan kloramfenikol, Ciprofloxacin.⁵ Pengobatan konvensional tifoid adalah pemberian antibiotik dengan golongan fluoroquinolon.⁶ Maka perlu dilakukan inovasi untuk mengatasi permasalahan resisten bakteri yang lebih efektif dalam pengobatan dan aman untuk dikonsumsi.

Indonesia masih banyak kalangan masyarakat yang mengandalkan obat tradisional ataupun obat herbal untuk mengobati penyakit tertentu. Dari hasil riset WHO, pengobatan dasar di Negara Afrika, Asia, Amerika adalah menggunakan obat herbal. Salah satu obat herbal dari tumbuhan adalah daun pirdot (*Saurauia vulcani korth*).⁷

Saurauia vulcani korth atau lebih dikenal dengan nama pirdot ini merupakan jenis tumbuhan berkayu dari genus *saurauia* tersebar di Indonesia terutama di daerah tapanuli utara.⁸ Hasil skrining fitokimia ekstrak daun pirdot terdapat kandungan flavonoid, alkaloid, tanin sebagai antibakteri yang telah di uji sebelumnya pada bakteri *Staphylococcus aureus*.⁹

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Octora, dkk menunjukkan bahwa ada pengaruh ekstrak etanol 96% daun pirdot (

Saurauia vulcani korth) terhadap bakteri *Salmonella thypi* dengan diameter sebesar 14,45 mm dengan konsentrasi 50mg/ml.¹⁰ kemudian penelitian yang dilakukan oleh mayasari menunjukkan pengaruh ekstrak daun pirdot terhadap bakteri bacillus subtilis dengan konsentrasi 30% memiliki zona hambat berdiameter sebesar 11,6 mm.¹¹ menurut menurut CLSI (Clinical Laboratory Standarts Intitute) zona hambat bakteri ≥ 17 mm dan kategori intermediet apabila zona hambat 14-16 mm.¹²

Pelarut etanol adalah bahan tambahan yang banyak digunakan dalam pembuatan ekstraksi metabolit sekunder pada daun pirdot.¹³ Berdasarkan penelitian diatas, maka perlu di buktikan kembali tentang pemakain larutan ekstraksi yaitu larutan etanol 70% ekstrak daun pirdot pada daya hambat *Salmonella thypi*.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol daun pirdot (*saurauia vulcani korth*) memiliki daya hambat dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *salmonella thypi*.

1.3. Hipotesis

Ha : ekstrak etanol daun pirdot (*Saurauia vulcani korth*) memiliki daya hambat terhadap bakteri *salmonella thypi*.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan umum

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pirdot (*Saurauia vulcani korth*) terhadap pertumbuhan bakteri *salmonella thypi*.

Tujuan khusus

- a. Untuk melihat daya hambat yang terbentuk dari ekstrak daun pirdot (*saurauia vulcani korth*) sebagai antibakteri *Salmonella thypi* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%.
- b. Untuk mengetahui ekstrak etanol pirdot dengan daya hambat terbesar

- c. Untuk membandingkan daya hambat ekstrak etanol dengan kontrol positif

1.5. Manfaat penelitian

1.5.1. Bagi peneliti

Untuk menambah pengetahuan bagi peneliti tentang efektivitas antibakteri ekstrak etanol pirdot terhadap pertumbuhan bakteri *salmonella thyphi* sebagai pengobatan alternatif demam tifoid.

1.5.2. Bagi masyarakat

Semoga hasil penelitian ini dapat menambah wawasan masyarakat dalam penggunaan obat herbal terhadap demam tifoid sebagai obat alternatif yang dapat digunakan dan dikembangkan lagi khasiatnya.

1.5.3. Bagi institusi

Untuk menambah referensi bacaan, serta penelitian ini dapat menjadi bahan informasi yang dapat di kembangkan dalam penelitian dibidang eksperimen.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Obat

Tanaman obat menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia sesuai SK Menkes No. 149/SK/Menkes/IV/1978 tanaman atau Bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional seperti obat herbal dan dapat juga digunakan sebagai bahan baku obat-obatan dan bagian dari tumbuhan yang telah diekstraksi dan ekstraknya digunakan sebagai obat.¹⁴ tumbuhan obat, disebut juga biofarmasi adalah tumbuhan yang mempunyai fungsi , mujarab sebagai obat dan digunakan untuk penyembuhan ataupun mencegah berbagai penyakit. obat yang efektif itu sendiri berarti mengandung bahan aktif yang dapat mengobati penyakit tertentu atau tidak mengandung bahan aktif tertentu tetapi mempunyai efek yang dihasilkan sinergi, dari bermacam-macam zat yang memiliki efek penyembuhan. Menggunakan.

Tumbuhan obat sebagai obat dapat dilakukan dengan cara diminum, ditempel, dihirup sehingga dapat memenuhi konsep kerja reseptor sel dalam menerima senyawa kimia atau rangsangan tumbuhan obat (biofarmasi) yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, baik yang sengaja ditanam maupun tumbuhan liar.¹⁵ bagian tumbuhan obat yang dapat dimanfaatkan yaitu akar, batang, daun, rimpang, buah, bunga dan umbi dengan pemanfaatan dan prosedur pengolahan yang bervariasi.¹⁶

2.2. Pirdot (*Saurauia vulcani korth*)

Pirdot (*saurauia vulcani korth*) adalah salah satu tumbuhan berspesies saurauia yang tersebar di Indonesia yang terdapat di daerah Sumatra utara . banyaknya populasi tumbuhan ini sehingga di serbuh untuk dimanfaatkan pengobatan dari berbagai penyakit.⁸ nama pirdot sudah tidak asing lagi pada kalangan suku batak yang telah memanfaatkan tumbuhan ini sebagai pengobatan seperti diare, gangguan

saluran cerna dan luka.¹⁷ pirdot (*Saurauia vulcani korth*) dengan sinonim (*Saurauia bracteosa*DC) ini telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya bahwasanya banyak yang menggunakan tumbuhan ini sebagai pengobatan luka dan penyembuhan infeksi bakteri yang dimanfaatkan oleh masyarakat Sumatra utara. daun pirdot ini mempunyai kandungan antioksidan seperti senyawa-senyawanya steroid, flavonoid, saponin, tannin, alkaloid.^{11,18}



Gambar 2. 1 Pirdot (*Saurauia Vulcani Korth*)¹⁹

Manfaat pirdot (*Saurauia vulcani korth*) yang telah di uji sebelumnya menurut beberapa ahli :

a. Aktivitas Antioksidan

Cinta *et al.*2018 dari hasil yang dilaporkan uji nilai antioksidan ekstrak daun pirdot dengan nilai IC₅₀ yang mampu menangkap radikal bebas yang kuat untuk antioksidan dan di kategorikan kuat.¹⁹

b. Anti-kolesterol

Musa *et al.*2019 hasil uji senyawa yang di ekstrak daun pirdot menunjukkan anti kolestrol yang baik.¹⁹

c. Aktivitas Anti-diabetes

Menurut Sitorus dan satria 2018 penggunaan daun pirdot sebagai antidiabets yang diuji pada tikus jantan terjadinya penurunan yang berarti pada kadar glukosa tikus ($p < 0,001$).¹⁹

d. Penyembuhan Luka

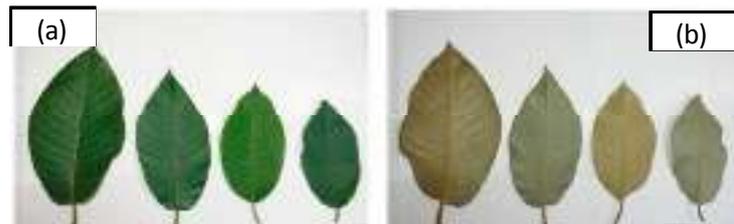
Anastasia *et al* 2018 pemberian ekstrak air pirdot secara oral sebagai penyembuhan luka menunjukkan hasil proses penyembuhan luka yang signifikan.¹⁹

2.2.1. Klasifikasi pirdot (*saurauia vulcani korth*)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Ericales
Suku	: Actinidiaceae
Marga	: Saurauia
Jenis	: <i>saurauia vulcani korth</i>

2.2.2. Morfologi daun pirdot (*saurauia vulcani korth*)

Karakteristik pemeriksaan makroskopik pada daun pirdot terdiri dari daun dan bentuk. daun berwarna hijau dan bentuk serta tulang daun menyirip dengan permukaan kasar.²⁰



Gambar 2. 2 (A) Daun Tampak Atas (B) Daun Tampak Bawah

2.3. Efek antibakteri daun pirdot (*saurauia vulcani korth*)

Daun pirdot atau *saurauia vulcani korth* memiliki senyawa antibakteri seperti saponin, steroid, flavonoid, tanin, alkaloid. saponin memiliki peran sebagai antibakteri yang dapat menaikkan permeabilitas atau kebocoran sel dan akan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar sehingga membrane sel bakteri terganggu. steroid memiliki peran penting juga sebagai antibakteri untuk merusak membrane plasma sel yang akan menyebabkan kebocoran sitoplasma keluar dan dapat menyebabkan kematian sel. flavonoid sebagai antibakteri akan membentuk senyawa kompleks protein ekstraseluler dan terlarut untuk dapat merusak membrane sel bakteri dan dapat keluarnya senyawa intraseluler. kerja alkaloid untuk antibakteri dengan menghambat sintesis protein dindingsel sehingga terjadi lisis pada sel yang akan mati. Senyawa tanin sebagai antibakteri menginaktifkan adhesi sel juga mengaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan sel. tanin menargetkan pada polipeptida dinding sel sehingga terbentuk dinding sel kurang sempurna. hal ini yang dapat menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik kemudian sel bakteri akan mati.²¹

2.4. *Salmonella typhi*

Salmonella typhi yang memiliki nama lengkap *salmonella enterica serotype typhi* adalah bakteri gram negatif penyebab demam tifoid.²² *salmonella typhi* dapat bertahan hidup yang dapat menyebabkan infeksi sistemik pada manusia. bakteri ini dapat hidup dan bertahan hidup di makrofag dalam usus manusia.²³

2.4.1. Klasifikasi Salmonella Typhi

Kingdm : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Clas : Proteobacteria

Ordo : enterobacteriales

Family : enterobacteriaceae

Genus : salmonella

Spesies : *salmonella typhi*.²⁴

2.4.2. Morfologi Salmonella Typhi

Salmonella adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang, bersifat motil dan patogen. *Salmonella typhi* bergerak dengan flagella, tidak memiliki simfoni, tidak ada fimbri, tidak ada sporulasi dan berkapsul. bakteri ini dapat hidup pada pH 6-8 dan suhu 15-41°C (temp optimal 37 °C). bakteri ini bisa mati dipanaskan sampai 54,40 °C selama satu jam dan suhunya 60°C selama 15-20 menit.²⁴

2.4.3. Patogenesis salmonella typhi

Bakteri *Salmonella typhi* bersama makanan atau minuman masuk ke dalam tubuh melalui mulut. pada saat melewati lambung dengan suasana asam banyak bakteri yang mati. Bakteri yang masih hidup akan mencapai usus halus, melekat pada sel mukosa kemudian menginvasi dan menembus dinding usus

tepatnya di ileum dan jejunum. sel M, sel epitel yang melapisi patch peyer merupakan tempat bertahan hidup dan multiplikasi salmonella typhi. bakteri mencapai folikel limfe usus halus menimbulkan tukak pada mukosa usus. kemudian mengikuti aliran ke kelenjar limfe mesenterika bahkan ada yang melewati sirkulasi sistemik sampai ke jaringan Reticulo Endothelial System (RES) di organ hati dan limpa. setelah masa inkubasi, salmonella typhi keluar dari habitatnya melalui duktus torasikus masuk ke sirkulasi sistemik mencapai hati, limpa, sumsum tulang, kandung empedu dan patch peyer dari terminal ileum. endotoksin di hati, limpa, pelepasan kelenjar getah bening usus dan mesenterika produk secara lokal, menyebabkan nekrosis enterosit dan hepatosit, dan secara sistemik, menyebabkan gejala klinis demam tifoid.⁶

2.4.4. Patofisiologi salmonella typhi

Salmonella enterica serotype typhi biasanya ditularkan dengan mengkonsumsi makanan atau air yang terkontaminasi feces orang yang membawa patogen tersebut dan harus melewati penghalang pH lambung di lambung sebelum dapat menetap di usus kecil. dosis infeksi *salmonella enterica serotype typhi* pada manusia sehat bervariasi dari 1000 hingga 1 juta organisme, tetapi mungkin terkait dengan mekanisme pertahanan inang.²⁵

Salmonella enterica serotype typhi menginvasi daerah submukosa usus kecil baik dengan invasi langsung ke jaringan epitel yang dimediasi oleh regulator konduktansi transmembran cystic fibrosis (CFTR) atau oleh sel M, sel epitel limfoid khusus. dibawah mukosa, bakteri menyebabkan hipertrofi patch peyer tumbuh terlalu cepat.²⁵

Organisme menyebar dari patch peyer melalui sistem limfatik dan aliran darah. replikasi sel dalam sistem retikuloendotelial merupakan ciri khas dari penyakit ini dan akhirnya menyebabkan gejala sistemik. Setelah reproduksi, organisme berada di makrofag di hati, limpa dan sumsum tulang.²⁵

2.4.5. Manifestasi klinis

Gejala dapat muncul setelah masa inkubasi 7-14 hari. manifestasi klinis bervariasi dari ringan sampai berat. pada minggu pertama gejala menyerupai demam infeksi akut, sakit kepala, pusing, dll. Nyeri otot, kehilangan nafsu makan, mual, muntah, konstipasi atau diare, sakit perut, batuk, dan mimisan. suhu panas tubuh perlahan naik terutama dari sore ke malam. gejala menjadi lebih jelas pada 2 minggu bradikardia relatif, lidah berselaput (kemerahan di ujung tengah dan tepi dan tremor), hepatomegali, splenomegali, meteorit Perubahan keadaan mental (somnia, tertidur, koma, delirium, psikosis). rose spot atau bintik-bintik mawar (ruam) ruam makulopapular, warna salmon, warna pucat) muncul terutama di dada akhir minggu pertama, menghilang setelah 2-5 Hari.²⁶

2.5. Uji Aktivitas Antibakteri

Senyawa antibakteri merupakan senyawa kimia atau biologi baik alami maupun sintetik yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. aktivitas antibakteri dapat diperiksa dengan berbagai metode, yaitu metode difusi, delusi.²³

2.5.1. Metode difusi

Metode yang umum digunakan untuk menganalisis efek antibakteri. metode difusi dapat diterapkan dalam tiga cara yang berbeda, yaitu sebagai metode sumur, sebagai metode cakram. prinsip operasional metode difusi terdiri dari difusi senyawa antibakteri ke dalam media padat, dimana mikroba uji diinokulasi.

pengamatan dilakukan terhadap ada atau tidaknya area bening di sekitar kertas plate, yang menunjukkan area yang pertumbuhan bakterinya terhambat.²⁷

a. Difusi metode sumur

Dalam metode sumuran membuat lubang secara tegak lurus terhadap agar padat yang diinokulasi dengan bakteri uji. jumlah dan posisi lubang diisi dengan sampel yang akan diperiksa. setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk mengetahui adanya zona hambat disekitar sumuran. keuntungan dari metode sumuran adalah luasan zona hambat yang terbentuk dapat diukur dengan lebih mudah, karena bakteri aktif tidak hanya pada bagian atas agar nutrient, tetapi juga sampai ke bawah. terdapat beberapa kesulitan dalam pembuatan sumuran, seperti adanya residu sisa pada media yang digunakan untuk membuat sumuran, dan kemungkinan besar media akan retak atau pecah menggantikan sumuran, sehingga menimbulkan masalah yang dapat mengganggu proses peresapan terhadap antibiotik yang mempengaruhi pembentukan diameter zona bening saat dilakukan uji kepekaan.²³

b. Difusi metode cakram

Metode difusi menggunakan cakram dilakukan dengan menggunakan kertas cakram sebagai media bahan menyerap antimikroba yang dijenuhkan dengan bahan uji. kertas cakram kemudian diletakan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 35°C selama 18 hingga 24 jam. area atau zona bening disekitar cakram diamatin untuk menunjukan ada tidaknya pertumbuhan mikroba. diameter daerah atau zona bebas sebanding dengan jumlah kuman uji yang ditambahkan pada kertas cakram. keuntungan dari metode cakram adalah dapat di uji lebih cepat dengan preparat cakram.²³

Tabel 2. 1 Diameter Zona Terang Dan Respon Hambat Pertumbuhan (Fatmawati Dan Wiyono ,2012).²⁸

Diameter zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10 – 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

2.5.2. Metode dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat. keuntungan metode dilusi ini adalah beberapa mikroorganisme uji dapat diuji dengan satu konsentrasi zat antimikroba yang di uji.²⁷

a. Dilusi cair

Dilusi cair digunakan untuk mengukur nilai hambatan minimum. metode yang digunakan dalam metode dilusi cair terdiri dari pembuatan serangkaian pengenceran zat antimikroba dalam media cair yang ditambahkan mikroorganisme uji.²³

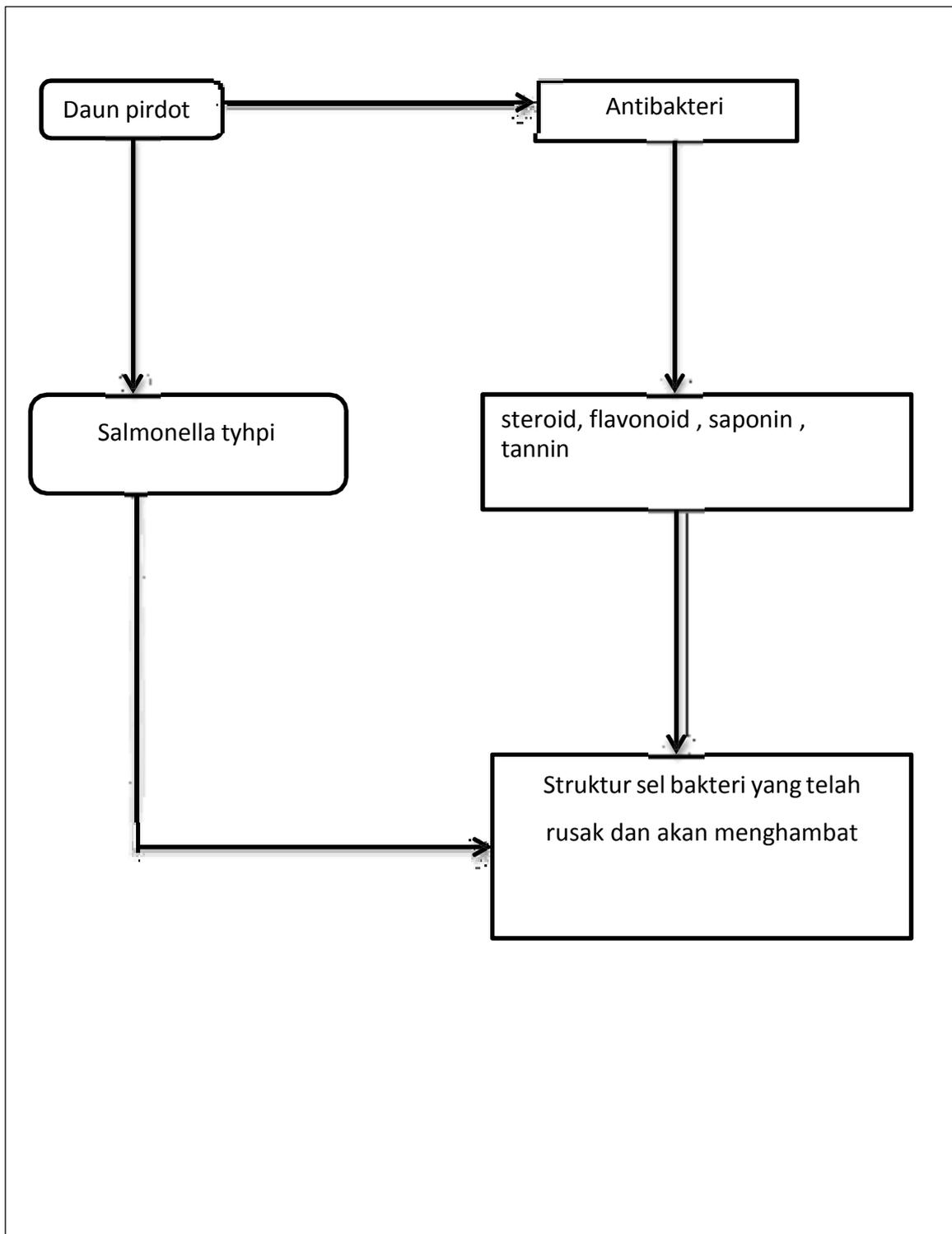
b. Dilusi padat

Dilusi padat digunakan untuk menentukan nilai bakterisidal minimum. metode pengenceran padat dilakukan dengan cara menginokulasikan mikroba uji pada media agar yang mengandung zat antimikroba uji pada media agar yang mengandung zat antimikroba.²³

2.5.3. Pelarut etanol

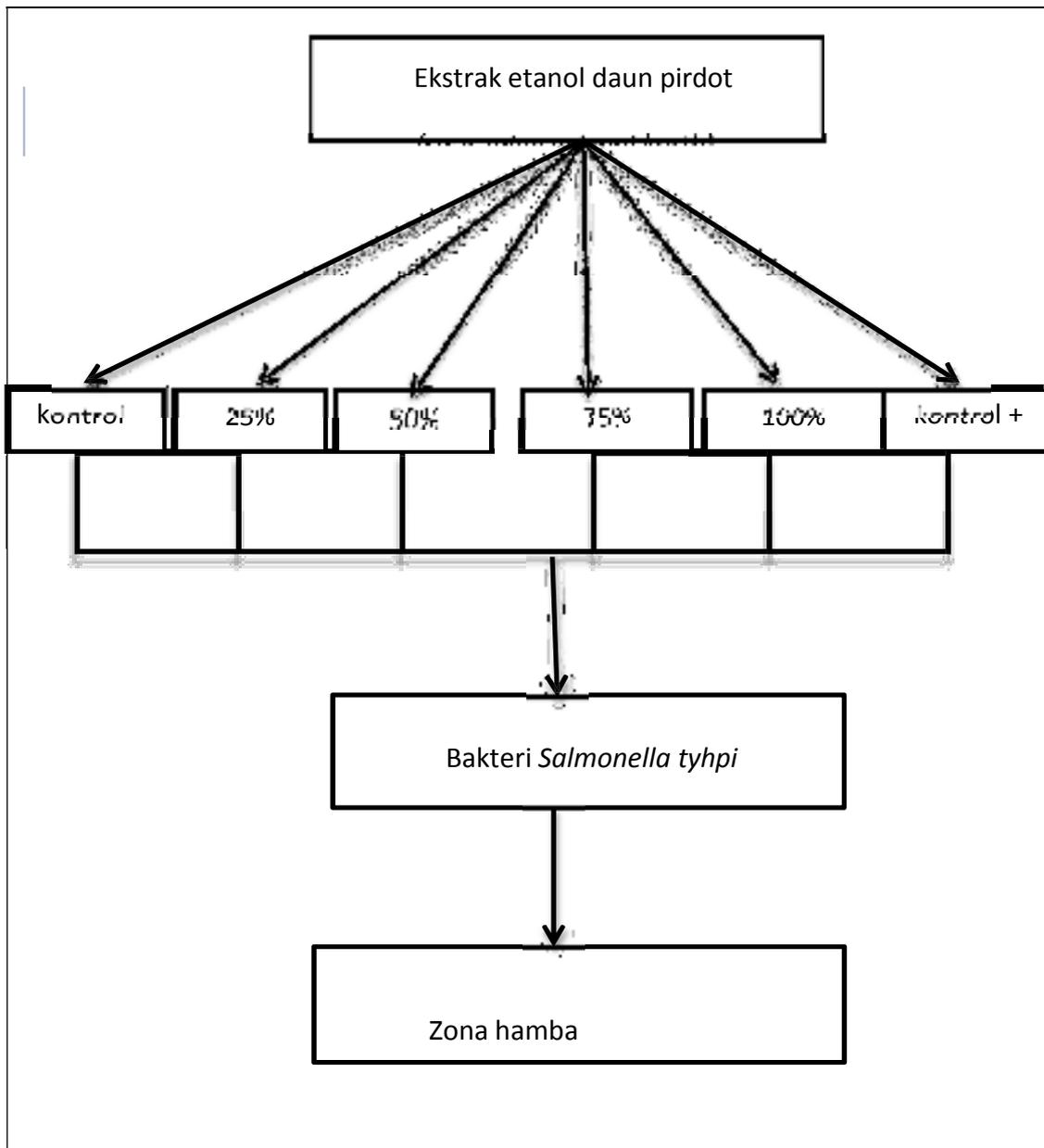
Etanol adalah senyawa yang banyak digunakan dalam pembuatan ekstraksi untuk mendapatkan metabolit sekunder. etanol yang merupakan pelarut yang memiliki kelebihan antara lain, kepolaran etanol yang sangat tinggi, tidak berbahaya dan tidak beracun jika pemakaian dalam batas normal, titik didih etanol rendah, dan etanol bisa meningkatkan efektivitas efisiensi dalam pembuatan ekstraksi herbal maupun dari buah-buahan. etanol baik digunakan dengan konsentrasi 70% dan 96% dalam pembuatan ekstraksi. penelitian yang dilakukan oleh surya RPA *et al*, 2021 menunjukkan perbandingan pemakaian larutan etanol 70% lebih baik dibandingkan etanol 96%.¹³

2.6. Kerangka teori



Tabel 2. 2 Kerangka Teori

2.7. Kerangka konsep penelitian



Tabel 2. 3 Kerangka Konsep Penelitian

BAB 3

METODOLOGI

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental (*true eksperimental*) dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Desain* yang dilakukan dilaboratorium dengan menguji aktifitas antibakteri ekstrak etanol daun pirdot (*Saurauia vulcani korth*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella Thypi*

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada dua tempat yaitu ellio sains laboratorium untuk melakukan ekstraksi daun pirdot (*saurauia vulcani korth*) dan laboratorium mikrobiologi fakultas kedokteran universitas HKBP nommensen untuk melakukan uji aktivitas antimikroba metode difusi cakram.

3.2.2. Waktu Penelitian

Ekstraksi daun pirdot (*saurauia vulcani korth*) dan uji efek antimikroba metode difusi cakram akan dilaksanakan pada September sampai oktober 2023.

3.3. Sampel, Estimasi Besar Sampel dan Bahan Uji

3.3.1. Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun Pirdot (*saurauia vulcani korth*) dari desa batunabolon kabupaten toba dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% daun Pirdot (*saurauia vulcani korth*) sebelumnya telah diidentifikasi pada ellio sains laboratorium kemudian dilakukan proses ekstraksi untuk menghasilkan ekstrak kental etanol daun Pirdot (*saurauia vulvani korth*).

3.3.2. Estimasi Besar Sampel

Penelitian ini membutuhkan estimasi besar sampel sebanyak 6 (enam) perlakuan sampel dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%,100%, Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan kontrol negatif aquades.

Penghitungan pengulangan yang valid dengan rumus Federer :

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(6 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$5 (r - 1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

dapat disimpulkan pengulangan yang dilakukan sebanyak 4 kali dalam pengambilan data.

Keterangan :

t = banyak perlakuan

r = banyak pengulangan

3.3.3. Bahan Uji

Penelitian ini menggunakan bakteri *salmonella thypi* yang diperoleh dari laboratorim mikrobiologi fakultas kedokteran universitas HKBP

Nommensesn

3.4. Alat dan Bahan

3.4.1. Alat

1. Erlenmeyer
2. Gelas ukur
3. Aluminium foil
4. Neraca analitik

5. Tabung reaksi
6. Cawan petri
7. Hot plate
8. Laminar air flow
9. Gelas piala
10. Lampu Bunsen
11. Jarum ose
12. Autoklaf
13. Lemari pendingin
14. Mortar dan stamper
15. Rak tabung
16. Korek api
17. Kapas steril
18. Kertas label
19. Gunting
20. Spatula
21. Pinset
22. Pisau
23. Rotary evaporator
24. Oven
25. Jangka sorong
26. Cakram kertas
27. Tisu steril
28. Incubator
29. Sarung tangan

30. Mikropipet

31. Masker dan penutup kepala

3.4.2. Bahan

a. Daun pirdot

b. Bakteri *salmonella thypi*

c. Medium Nutrient Agar

d. NaCl 0,9 %

e. etanol 70%

f. cakram sediaan Ciprofloxacin ukuran 6 mm

g. cakra sediaan kosong ukuran 6 mm

h. Aquadest

3.5. Prosedur Kerja

3.5.1. Identifikasi Tanaman Obat

Morfologi daun pirdot terdiri dari daun dan bentuk. daun berwarna hijau dan bentuk serta tulang daun menyirip dengan permukaan kasar. daun yang digunakan adalah daun yang tua.

3.5.2. Sterilisasi Alat dan Bahan Yang Digunakan

Alat yang akan digunakan harus dibersihkan terlebih dahulu menggunakan autoklaf dan daun pirdot dibersihkan dengan air yang mengalir.

3.5.3. Ekstraksi Daun Pirdot (*saurauia vulcani korth*)

Daun pirdot yang telah dibersihkan dari kotoran lalu dikeringkan. setelah daun yang sudah kering akan dibuat menjadi ekstrak etanol dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. sebanyak 1 kg daun pirdot yang telah dikeringkan kemudian di belender hingga menjadi serbuk halus kemudian direndam menggunakan etanol 70% sebanyak 10 liter lalu diamkan dalam toples selama 5 hari dan disimpan di tempat yang tidak langsung terpapar cahaya matahari. setelah 5 hari rendaman tersebut disaring, kemudian hasil saringan tersebut diuapkan dengan alat rotaryevaporator untuk mendapatkan ekstrak etanol daun pirdot kental.

**3.5.4. Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol Daun Pirdot
(*Saurauia vulcani korth*) terhadap pertumbuhan Bakteri
Salmonella Thypi dengan metode difusi cakram**

Medium nutrium agar dituangkan ke 8 cawan petri dengan ketebalan 4mm media agar disebarakan secara merata hingga media dapat digunakan. lalu bakteri *salmonella typhi* dipindahkan dengan jarum oce steril secara merata untuk dikembangbiakan di cawan petri. Selanjutnya mempersiapkan cakram kertas steril yang telah direndam di ekstrak etanol pirdot dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, kontrol positif dan kontrol negatif. kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik Ciprofloxacin dan kontrol negatif yaitu cakram yang direndam aquades. Selanjutnya akan dipindahkan secara aseptik dengan pinset steril ke dalam media nutriet agar yang telah berisi bakteri *salmonella thypi* , selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. setelah melewati masa inkubasi, tahap selanjutnya mengamati zona bening yang merupakan daya hambat yang berada di sekitar kertas cakram lalu diukur zona bening tersebut menggunakan jangka sorong.

Pembuatan ekstrak daun pirdot pada berbagai konsentrasi dilakukan dengan rumus konsentrasi larutan yaitu :

$$V1.N1 = V2.N2$$

N2	V1	V2	N1
25%	0,25 ml	0,75 ml	100%
50%	0,50 ml	0,50 ml	100%
75%	0,75 ml	0,25 ml	100%
100%	1ml	1ml	100%

Tabel 3. 1 . Konsentrasi Ekstrak Pirdot (*Saurauia Vulcani Korth*)

3.6. Identifikasi Variabel

- a. Variabel Bebas Ekstrak daun pirdot dengan metode maserasi
- b. Variabel Terikat Efek antibakteri pada bakteri *salmonella thypi*

3.7. Defenisi Operasional

Tabel 3.1 Defenisi Operasional

No	Variabel	Defenisi operasional	Alat ukur	Skala ukur	Hasil skala Ukur
		Ekstrak etanol Daun pirdot Adalah daun Pirdot yang Telah Direndam Dengan etanol Lalu disaring , Kemudian Hasil saringan Tersebut Diuapkan Menggunakan Rotary Evaporator Untuk Mendapatkan Ekstrak etanol Kental daun Pirdot.	Micropipette, Neraca Analitik	Konsentrasi Ekstrak Daun pirdot 25%, 50%, 75%, 100%	Rasio
	Efek	Efek	Jangka	<5 mm	Rasio lemah
	Antibakteri	Antibakteri	Sorong	5-10 mm	sedang

Pada	Adalah	10-20 mm kuat
Bakteri	Keadaan	>20 mm sangat kuat
Salmonella	Pertumbuhan	
Thypi	Bakteri salmonella thypi terganggu yang dapat dilihat dari zona hambat bakteri	

3.8. Analisis Data

Analisis data penelitian ini adalah pengolahan data dimulai dengan uji normalitas dan homogenitas varian bertujuan mengetahui apakah ada perbedaan data yang bermakna saphiro wilk ($p > 0,05$). kemudian dilakukan uji ANOVA untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pirdot (*saurauia vulcani korth*) terhadap pertumbuhan *salmonella thypi*. selanjutnya uji *least significant difference* (LSD) melihat perbedaan efek antibakteri tiap perlakuan. Pada penelitian ini didapati nilai saphiro wilk tidak terdistribusi normal maka akan dilakuakn uji alternatif yaitu uji kruskal wals

