

**LEMBAR PENGESAHAN**

**Judul :** Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*)  
dengan Metode Soxhletasi terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*  
secara *In Vitro*

**Nama :** Putri Andriani Simanullang

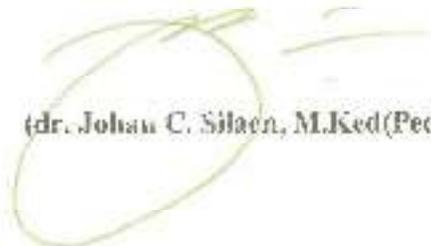
**NPM :** 20010033

---

**Dosen Pembimbing I**

  
(dr. Hendra, MKT)

**Dosen Pembimbing II**

  
(dr. Johan C. Silaen, MKed(Ped), SpA)

**Dosen Penguji**

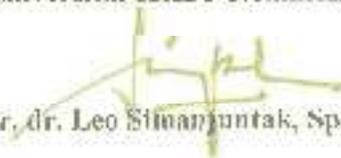
  
(dr. Joice Sonya Panjaitan, Sp.KK)

**Ketua PSK Sarjana Kedokteran**

  
(dr. Ade Pryta R. Simaremare, M. Biomed)

**Dekan Fakultas Kedokteran**

**Universitas HKBP Nommensen**

  
(Dr. dr. Leo Situmorang, Sp. OG)

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi menjadi salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan. Penularan penyakit infeksi yang tergolong cepat menjadikan penyakit infeksi ini dapat berkembang dengan cepat dan susah untuk diatasi secara tuntas. Penularan dapat terjadi dari orang yang terinfeksi ke orang lain. Beberapa mikroorganisme penyebabnya adalah bakteri, virus, jamur dan juga parasit. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi adalah *Salmonella typhi* (*S. typhi*).

*Salmonella typhi* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang milik keluarga *Enterobacteriaceae*. *S. typhi* adalah bakteri yang dapat menyebabkan demam tifoid dan merupakan penyakit infeksi menular yang sering terjadi di negara berkembang khususnya daerah tropis<sup>1</sup>. Bakteri biasanya ditularkan melalui makanan atau air yang terkontaminasi oleh bakteri *S. typhi* dan dapat menyebabkan berbagai gejala termasuk demam, sakit kepala, sakit perut, sembelit atau diare, dan nyeri otot serta adanya mual muntah<sup>2</sup>. *S. typhi* lebih umum di daerah dengan sanitasi dan kebersihan yang buruk, dan dapat dicegah melalui langkah-langkah seperti mencuci tangan dengan benar, praktik penanganan makanan yang aman, dan vaksinasi.

Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2019, diperkirakan ada 9 juta orang terjangkit demam tifoid dengan angka kematian sebesar 110.000 jiwa setiap tahunnya<sup>3</sup>. Demam tifoid juga berkembang pada negara maju, dimana kejadian demam tifoid pada negara maju dapat mencapai angka 5.700 kasus yang berlangsung setiap tahun. Pada negara berkembang kejadian demam tifoid ini lebih banyak dibandingkan dengan negara maju dengan kejadian pada angka 21,5 juta jiwa tiap tahunnya<sup>4</sup>.

Demam tifoid di Indonesia sendiri bersifat endemik atau dengan kata lain kasus demam tifoid masih sering dijumpai. Menurut WHO (2018) di Indonesia sendiri angka kejadian demam tifoid mencapai 81.000 kasus. Penyakit infeksi demam tifoid harus diberi perhatian serius karena dapat menjadi ancaman kesehatan bagi masyarakat dan karena masih banyaknya masyarakat yang kurang memperhatikan kesehatan serta kebersihan diri dan lingkungan disekitarnya menjadikan sebagai salah satu cara penyebaran demam tifoid di Indonesia.

Seiring berjalannya waktu, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan dapat menimbulkan resiko yang membahayakan, seperti resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik adalah suatu fenomena dimana bakteri menjadi kebal terhadap antibiotik sehingga tidak dapat lagi menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Bakteri yang sudah kebal terhadap antibiotik dapat menular dari satu orang ke orang lain serta juga kekebalan yang ada pada bakteri tersebut dapat ditularkan ke bakteri lain.

Hal tersebut menjadi salah satu penyebab berkembangnya kasus resistensi antibiotik dengan cepat. Kecepatan perkembangan resistensi antibiotik tersebut jauh melebihi kecepatan penemuan antibiotik yang baru sehingga membuat masyarakat resah dengan masalah resistensi antibiotik. Hal tersebut menjadi salah satu pemicu bagi masyarakat untuk kembali ke alam, termasuk dalam bidang obat-obatan yang dipercaya lebih baik karena tidak menimbulkan resiko seperti penggunaan antibiotik<sup>5</sup>.

Pengobatan alternatif untuk demam tifoid ini terus berkembang hingga ada beberapa jenis buah yang dipercaya sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. typhi*, salah satunya adalah buah kiwi. Penelitian sebelumnya dilakukan pada tahun 2021 oleh Siddique dkk yang mengatakan bahwa bagian daging, kulit dan biji dari buah kiwi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. typhi*<sup>6</sup>. Bukan hanya itu, penelitian yang dilakukan oleh Puput dan Kharismawati pada tahun 2021 menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kiwi memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap bakteri *S. typhi* dengan konsentrasi 30%<sup>7</sup>.

Meski sudah pernah dilakukan penelitian sebelumnya dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi dan difusi cakram sebagai uji antibakteri, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode dan uji bakteri yang berbeda untuk dapat mengetahui bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak buah kiwi terhadap bakteri *S. typhi*. Dengan demikian, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini dengan menggunakan metode soxhletasi sebagai metode ekstraksi dan metode difusi sumuran untuk uji efek antibakteri terhadap bakteri *S. typhi*.

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang dilakukan adalah metode soxletasi yang merupakan metode ekstraksi panas yang menggunakan alat soxhlet dimana pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Pada proses pengerjaan metode soxhletasi menggunakan pemanasan. Metode soxhletasi dapat digunakan pada sampel uji yang bertekstur lunak serta pelarut yang digunakan relatif sedikit<sup>8</sup>.

Sedangkan untuk pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. typhi* menggunakan salah satu metode difusi agar yaitu metode difusi sumuran, dimana pengerjaan metode difusi sumuran adalah dengan cara membuat lubang terlebih dahulu pada media agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri kemudian sampel akan diteteskan pada lubang sehingga pengukuran aktivitas bakteri dapat dilakukan dengan mudah karena bakteri beraktivitas di permukaan hingga bagian bawah media agar<sup>9</sup>.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk mengetahui bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) dengan menggunakan metode soxhletasi terhadap bakteri *S. typhi* secara *In Vitro* serta untuk mengetahui konsentrasi efektif dari ekstrak buah kiwi yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi*.

### **1.1. Rumusan Masalah**

Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi* secara *In Vitro*?

### **1.2. Hipotesis Penelitian**

#### **1.2.1. Hipotesis Nol (H<sub>0</sub>)**

Tidak terdapat aktivitas antibakteri ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) terhadap bakteri *S. typhi* dengan metode soxhletasi.

#### **1.2.2. Hipotesis Alternatif (H<sub>a</sub>)**

Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) terhadap bakteri *S. typhi* dengan metode soxhletasi.

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi* dengan metode soxhletasi secara *In Vitro*.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

Tujuan khusus pada penelitian ini adalah:

- Untuk mengetahui aktivitas antibakteri oleh ekstrak buah kiwi dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap bakteri *S. typhi*.
- Untuk mengetahui konsentrasi efektif dari ekstrak buah kiwi yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi*.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1. Bagi Peneliti**

Meningkatkan dan mengembangkan pengetahuan serta pengalaman peneliti mempelajari efek antibakteri dari ekstrak buah kiwi sebagai antibiotik demam tifoid.

##### **1.4.2. Bagi Institusi**

Sebagai bahan referensi bacaan dan sebagai bahan pengetahuan serta informasi yang dimana dapat dikembangkan lebih lanjut oleh peneliti lain yang berhubungan dengan penelitian ini.

##### **1.4.3. Bagi Masyarakat**

Dapat menjadi bahan bacaan dan informasi tentang buah kiwi yang dapat bermanfaat sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. typhi* dan dapat digunakan sebagai antibiotik alternatif alamiah.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Demam Tifoid**

##### **2.1.1. Definisi**

Demam tifoid adalah penyakit infeksi akut yang terjadi di usus halus yang menyebabkan terjadinya gangguan pencernaan. Demam tifoid disebabkan oleh bakteri *S. typhi* dan menjadi salah satu penyakit infeksi yang sering ditemukan di negara-negara berkembang dan sudah menjadi penyakit infeksi global. Penyebaran penyakit demam tifoid ini ditularkan melalui makanan serta minuman yang sudah terkontaminasi dengan bakteri *S. typhi*, bukan hanya itu penularan juga dapat terjadi karena kontak langsung dengan urin dan feses daripada penderita demam tifoid.<sup>10</sup>

##### **2.1.2. Etiologi**

Penyebab penyakit demam tifoid adalah bakteri *S. typhi* yang merupakan bakteri gram negatif berbentuk basil yang tidak mempunyai spora tetapi dapat bergerak dengan flagel peritrik<sup>1</sup>. Demam tifoid sangat erat hubungannya dengan kebersihan lingkungan terutama pada lingkungan dengan sanitasi yang buruk karena dapat menjadi salah satu jalan untuk penyebaran demam tifoid.

##### **2.1.3. Gejala klinis**

Setelah tubuh terpajan oleh bakteri *S. typhi* dan sudah menjalani masa inkubasi 7 sampai 14 hari akan timbul gejala seperti demam, sakit kepala dan lain sebagainya.

##### **a) Demam**

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi sistemik dimana gejala utamanya adalah demam. Gejala klinis terpenting yang timbul pada semua

pasien penderita demam tifoid adalah demam. Demam dapat terjadi lebih dari satu minggu dan timbul secara tiba-tiba. Demam yang sifatnya intermitten dimana pada pagi hari suhunya rendah atau normal dan malam hari suhunya akan meningkat<sup>11</sup>.

**b) Gangguan saluran pencernaan**

Tidak hanya itu, tapi adanya gangguan saluran pencernaan seperti adanya nyeri perut, mual, muntah, munculnya diare, atau pada anak yang lebih besar terkadang menjadi susah buang air besar atau mengalami sembelit<sup>12</sup>.

**c) *Hepatomegaly dan splenomegaly***

*Hepatomegaly* dan *splenomegaly* terjadi karena adanya bakteri di usus halus yang menyebabkan inflamasi sehingga bakteri tersebut akan masuk ke dalam peredaran darah atau bakterimia primer dan juga masuk ke dalam pembuluh limpa. Kemudian bakteri tersebut akan masuk ke dalam retikulo endothelial atau RES yang ada di hati dan limfa. Hal tersebut menyebabkan peradangan yang selanjutnya akan terjadi pembesaran hati dan pembesaran limpa. Setelah limpa membesar maka terjadilah *splenomegaly*<sup>13</sup>.

**2.1.4. Tatalaksana**

Tatalaksana demam tifoid dapat diberikan antibiotik sebagai pengobatan kausal. Pemilihan obat antibiotik lini pertama pada anak di negara berkembang dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah ketersediaan obat, biaya dan faktor efikasi. Berdasarkan tiga faktor tersebut, kloramfenikol masih menjadi obat pilihan pertama untuk pengobatan demam tifoid.

Menurut Pedoman Ikatan Dokter Anak Indonesia pada tahun 2008, selain kloramfenikol antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga yaitu sefiksime dan seftriakson dapat diberikan untuk penanganan demam tifoid pada

anak. Sedangkan untuk lini pertama untuk pengobatan demam tifoid untuk orang dewasa adalah antibiotik golongan fluorokuinolon, seperti siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin atau gatifloksasin<sup>14</sup>.

## 2.2. **Salmonella typhi**

*S. typhi* adalah bakteri penyebab demam tifoid yang merupakan anggota genus Salmonella. *S. typhi* merupakan bakteri gram negatif yang bergerak dengan flagel peritrik yang bersifat intraseluler fakultatif dan anaerob fakultatif. *S. typhi* tidak memiliki kapsul dan tidak membentuk spora melainkan memiliki fimbria. Bakteri *S. typhi* termasuk kedalam anggota dari famili enterobacteriaceae dan dapat dikelompokkan berdasarkan perbedaan formula antigennya, yaitu seperti antigen O (somatic), antigen Vi (kapsul) serta antigen H (flagel)<sup>1</sup>. *S. typhi* dapat tumbuh hingga suhu optimumnya adalah 37<sup>0</sup>C dan pH 6-8 dengan ukuran antara 2-4 x 0,6µm. Bakteri *S. typhi* dapat mempertahankan hidupnya hingga beberapa minggu di dalam es, air, sampah serta debu. Dan dapat bertahan hidup selama beberapa bulan hingga setahun jikalau bakteri tersebut sudah berada di dalam feses, mentega, keju dan susu. Itulah sebabnya mengapa demam tifoid masih erat hubungannya dan masih sering dijumpai di masyarakat umum<sup>1</sup>.



**Gambar 2.1 Salmonella typhi<sup>1</sup>**

### 2.2.1. Taksonomi

- a) Kingdom : *Bacteria*
- b) Filum : *Proteobacteria*
- c) Kelas : *Gammaproteobacteria*
- d) Ordo : *Enterobacteriales*
- e) Famili : *Enterobacteriaceae*
- f) Genus : *Salmonella*
- g) Spesies : *Salmonella typhi*<sup>1</sup>.

### 2.3. Buah Kiwi

#### 2.3.1. Taksonomi

- a) Kingdom : *Plantae*
- b) Divisi : *Magnoliophyta*
- c) Kelas : *Magnoliopsida*
- d) Bangsa : *Ericales*
- e) Suku : *Actinidiaceae*
- f) Marga : *Actinidia*
- g) Jenis : *Actinidia deliciosa*<sup>15</sup>.

#### 2.3.2. Karakteristik

Tanaman buah kiwi adalah tanaman merambat dengan panjang dapat mencapai hingga 9 meter. Buah kiwi memiliki daun bertangkai panjang dengan bentuk yang menyerupai hati dengan ukuran 8-13 cm. dimana daun yang masih muda memiliki rambut-rambut berwarna merah dan daun yang sudah dewasa akan berwarna hijau tua dengan bulu-bulu halus yang menyelimuti permukaan kulit buah kiwi. Bentuk buah kiwi yang lonjong dapat mencapai hingga 7-8 cm

dengan daging buahnya yang berwarna hijau cerah dan rasa yang terkadang asam dan tidak asam serta berair yang mirip dengan rasa stroberi atau gooseberry<sup>16</sup>. Spesies buah kiwi budidaya yang diutamakan dan sudah dibudidayakan di seluruh dunia diantaranya adalah *Actinidia deliciosa* (buah kiwi yang berdaging hijau) dan *Actinidia chinensis* (buah kiwi yang berdaging kuning)<sup>17</sup>.



**Gambar 2.2 Ranting, daun dan buah kiwi<sup>18</sup>**



**Gambar 2.3 Daging buah kiwi<sup>19</sup>**

### 2.3.3. Kandungan

*Actinidia deliciosa* atau yang sering disebut dengan buah kiwi hijau merupakan buah yang mengandung banyak senyawa fitokimia, diantaranya adalah Kuinon, Flavonoid, Saponin, Triterpenoid serta juga mengandung Mineral. Tidak hanya itu, buah kiwi hijau juga mengandung senyawa Fenolik, Klorofil dan aktivitas antioksidan sebesar 7,2 ppm<sup>20</sup>.

Buah kiwi ini merupakan salah satu buah yang kaya akan vitamin C dan mengandung antioksidan yang kuat karena di dalamnya terdapat senyawa seperti karoten, lutein dan juga xanthophyll<sup>21</sup>. Tidak hanya daging buah kiwi yang mengandung banyak senyawa antioksidan, melainkan pada biji dan kulitnya juga. Senyawa antioksidan lebih besar pada biji dan kulit buah kiwi dimana dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan antisitotoksi<sup>6</sup>.

Kuinon merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang merupakan turunan dari senyawa fenol. Kuinon memiliki aktivitas biologis yang dapat berfungsi sebagai antijamur, antibakteri, antioksidan, antimalarial dan juga dapat berfungsi sebagai antikanker<sup>22</sup>.

Flavonoid atau yang sering disebut sebagai Citrin atau vitamin P merupakan senyawa fenol yang paling besar yang ditemukan di alam. Flavonoid ini mudah dijumpai pada tanaman seperti buah dan sayuran. Senyawa-senyawa flavonoid merupakan zat berwarna ungu, merah dan biru. Di dalam tumbuh-tumbuhan ditemukan sebagai zat berwarna kuning. Flavonoid ini disebut bioflavonoid karena dapat sebagai antioksidan didalam tubuh. Sifat antioksidan yang dimiliki oleh flavonoid beberapa tahun ini sudah menjadi fokus dari banyak penelitian karena kemampuan flavonoid membentuk kompleks ion-ion logam prooksidan yang dapat menambah efek antioksidan. Flavonoid juga dapat menghambat aterogenesis dan dapat berkontribusi terhadap efek antiinflamasi dan antiplatelet<sup>23</sup>.

Saponin merupakan salah satu senyawa fitokimia yang ditemukan di kulit buah kiwi. Saponin juga banyak ditemukan pada kacang-kacangan sertadaunan yang dapat digunakan sebagai antikanker, antimikroba, dapat meningkatkan imunitas serta juga dapat menurunkan kolesterol<sup>24</sup>.

Triterpenoid merupakan turunan dari terpenoid yang dapat berfungsi sebagai bahan wewangian, sebagai bahan baku dari perawatan kulit dan sebagai pengusir serangga, sedangkan dari segi medis dapat berguna sebagai antibakteri, antiinflamasi dan antijamur<sup>25</sup>.

#### **2.4. Jenis-jenis Metode Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu bahan dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai<sup>26</sup>. Ekstraksi berfungsi untuk memisahkan senyawa dari simplisia<sup>27</sup>. Faktor penting untuk menghasilkan ekstrak yang memiliki senyawa bioaktif yang tinggi adalah dengan memperhatikan metode dan juga pelarut yang digunakan<sup>28</sup>.

Proses ekstraksi merupakan langkah awal setelah terjadinya proses preparasi sampel yang menjadi penuntun pada proses isolasi senyawa metabolit sekunder tanaman. Ekstraksi metabolit tanaman terbagi atas dua yaitu ekstraksi dingin seperti metode maserasi dan metode perkolasi, serta juga ekstraksi panas yaitu metode soxhletasi dan metode refluks<sup>29</sup>.

- **Metode Maserasi**

Metode ekstraksi yang paling sederhana dan kuno adalah metode maserasi. Metode maserasi masih banyak digunakan karena memiliki kelebihan seperti peralatan yang sederhana, tidak memerlukan biaya yang besar serta juga menjadi pilihan yang tepat untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan panas. Cara pengerjaan metode maserasi adalah dengan dilakukannya perendaman bahan baku yang sebelumnya sudah dikeringkan dan digiling ke dalam pelarut yang sesuai dan ditunggu hingga beberapa waktu pada tempat dengan suhu ruang<sup>30</sup>. Namun

metode maserasi memiliki kelemahan jikalau dalam penggunaannya didiamkan menggunakan suhu ruang karena dapat menyebabkan senyawa menjadi kurang terlarut. Oleh karena itu diperlukan suhu yang tepat untuk mengoptimalkan proses ekstraksi<sup>31</sup>.

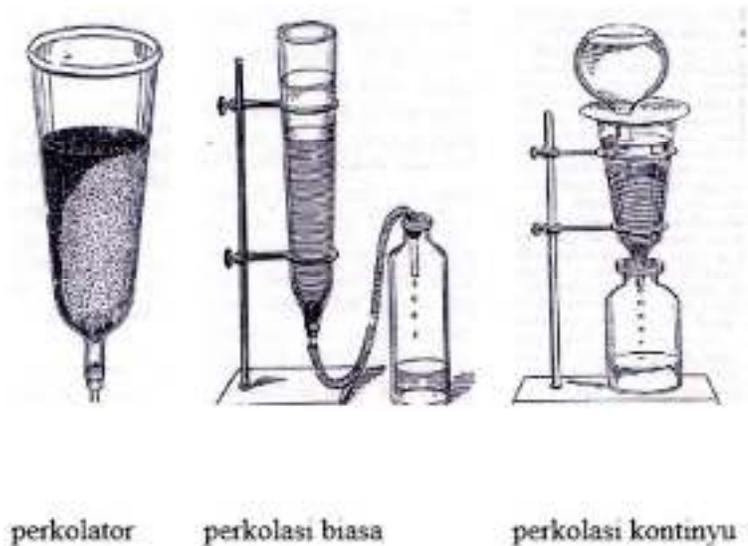


**Gambar 2.4 Metode Perendaman**<sup>32</sup>

- **Metode Perkolasi**

Metode perkolasi sama halnya dengan metode maserasi karena dalam proses pengerjaannya tidak memerlukan panas. Pada proses pengerjaan metode perkolasi memerlukan alat perkolator yaitu sebuah bejana yang berbentuk silindris yang sudah dilengkapi dengan lobang pada bagian ujung bawah. Proses pengerjaan perkolasi ini dilakukan dengan cara dilarutkannya senyawa metabolit pada bahan yang akan diekstrak dan mengalirkan pelarut yang sesuai pada sampel sehingga senyawa metabolit tersebut terikat dengan pelarut dan akan keluar dari bejana dan ditampung. Metode perkolasi memiliki kelebihan dan juga kekurangan, seperti kelebihan pada metode perkolasi ini adalah tidak dibutuhkannya langkah tambahan seperti sampel padat telah terpisah dari ekstrak dengan kekurangan yang dimiliki adalah tidak merata atau terbatasnya kontak dengan sampel padat serta

juga selama proses perkolasi ini pelarut menjadi dingin akibatnya komponen tidak terlarut secara efisien<sup>33</sup>.



**Gambar 2.5 Alat Perkolasi<sup>34</sup>**

- **Metode Soxhletasi**

Metode ekstraksi Soxhletasi menjadi salah satu metode yang paling baik digunakan untuk memisahkan senyawa bioaktif dari alam dengan menggunakan proses pemanasan<sup>35</sup>. Prinsip metode Soxhletasi adalah dilakukannya penyaringan secara berulang hingga hasil yang diperoleh sempurna dan pelarut yang dipakai relatif lebih sedikit, sedangkan untuk proses metode ekstraksi dengan Soxhlet adalah disaat cairan penyari dipanaskan dan terjadi penguapan, uap cairan penyari tersebut akan naik melewati pipa samping kondensor (pendingin balik). Kondensor tersebut mengembunkan uap sehingga uap akan turun kembali melewati *thimble* yang sudah berisi serbuk dan *thimble* tersebut lambat laun akan terisi dengan cairan penyari. Selanjutnya cairan penyari yang berada didalam *thimble* akan

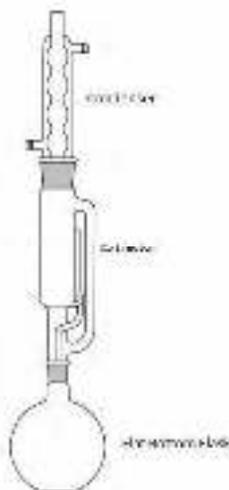
membasahi serbuk dan melarutkan zat aktif yang terkandung pada serbuk. Disaat cairan mencapai sifon maka cairan tersebut akan turun kembali kedalam labu alas bulat dan cairan penyari akan membawa senyawa yang diekstraksi<sup>36</sup>.

Metode Soxhletasi memiliki kelebihan seperti:

- ❖ Pelarut yang digunakan lebih sedikit
- ❖ Berguna untuk sampel yang teksturnya lunak dan tidak tahan dengan pemanasan secara langsung
- ❖ Pemanasannya bisa diatur.

Tidak hanya kelebihan, metode Soxhletasi memiliki kekurangan seperti:

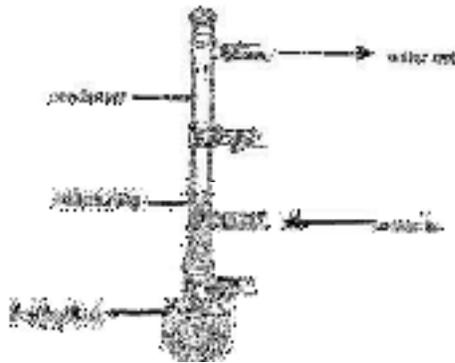
- ❖ Dapat menyebabkan reaksi peruraian oleh panas karena ekstrak yang berada di sebelah bawah terus-menerus dipanaskan
- ❖ Tidak cocok menggunakan pelarut yang titik didih nya terlalu tinggi jikalau dilakukan dalam skala yang besar<sup>37</sup>.



**Gambar 2.6 Alat Soxhletasi<sup>38</sup>**

- **Metode Refluks**

Metode Refluks adalah proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan pemanasan sesuai dengan titik didih pelarut itu sendiri selama waktu tertentu. Kelebihan pada metode ekstraksi ini adalah dapat digunakan untuk mengekstraksi sampel dengan tekstur yang kasar. Kekurangan dari metode ini adalah dibutuhkan volume pelarut yang banyak<sup>39</sup>.



**Gambar 2.7 Metode Refluks<sup>40</sup>**

## 2.5. Uji Efek Antibakteri

Aktivitas antimikroba dapat diuji dengan menggunakan beberapa metode yaitu metode dilusi dan metode difusi. Pada penelitian ini digunakan metode difusi sumuran untuk melihat perbandingan diameter zona hambat terhadap bakteri uji.

### A. Metode Difusi

Untuk melakukan analisis tentang aktivitas antibakteri metode yang sering dipakai adalah metode difusi. Pada metode difusi ada tiga cara yang bisa dilakukan yaitu dengan metode cakram dan metode sumuran. Terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat yang sebelumnya mikroba uji telah diinokulasikan merupakan prinsip kerja dari metode difusi dengan melakukan pengamatan ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk pada kertas cakram<sup>41</sup>.

## 1. Metode Difusi Sumuran

Metode sumuran merupakan salah satu metode difusi dimana metode sumuran ini dilakukan dengan cara membentuk lubang pada media agar yang padat dengan bakteri uji yang telah diinokulasi. Lubang yang sebelumnya sudah dibentuk akan diisi dengan sampel yang akan diuji yang selanjutnya akan dilakukan inkubasi, selanjutnya akan dilakukan pengamatan dari pertumbuhan bakteri untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang tersebut. Kelebihan dari metode sumuran ini adalah kemudahan dalam mengukur luas dari zona hambat yang terbentuk dikarenakan bakteri yang diuji beraktivitas di permukaan agar hingga ke bawah. Sedangkan kekurangan dari metode sumuran ini adalah besarnya peluang untuk media agarnya pecah atau retak pada area sekitar sumuran yang dibentuk<sup>41</sup>.



**Gambar 2. 8 Metode difusi sumuran**<sup>42</sup>

## 2. Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram adalah sebuah metode uji efek antimikroba untuk mengetahui aktivitas antimikroba yang diukur dari terbentuknya daerah zona bening pada permukaan media agar menggunakan kertas cakram. Dimana metode

pengerjaannya adalah terlebih dahulu melakukan perendaman kertas cakram dalam larutan ekstrak yang bertujuan untuk penyerapan ekstrak kedalam kertas cakram dan kemudian diletakkan pada media yang sudah diisi dengan bakteri uji. Kelebihan metode difusi cakram ini adalah proses pengujian yang cepat dan tidak membutuhkan keahlian khusus serta biaya yang murah, sementara kekurangannya adalah metode ini susah digunakan pada mikroorganisme yang perkembangannya lambat serta terbentuknya zona bening dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kondisi inkubasi, inokulum dan ketebalan mediumnya<sup>43</sup>.

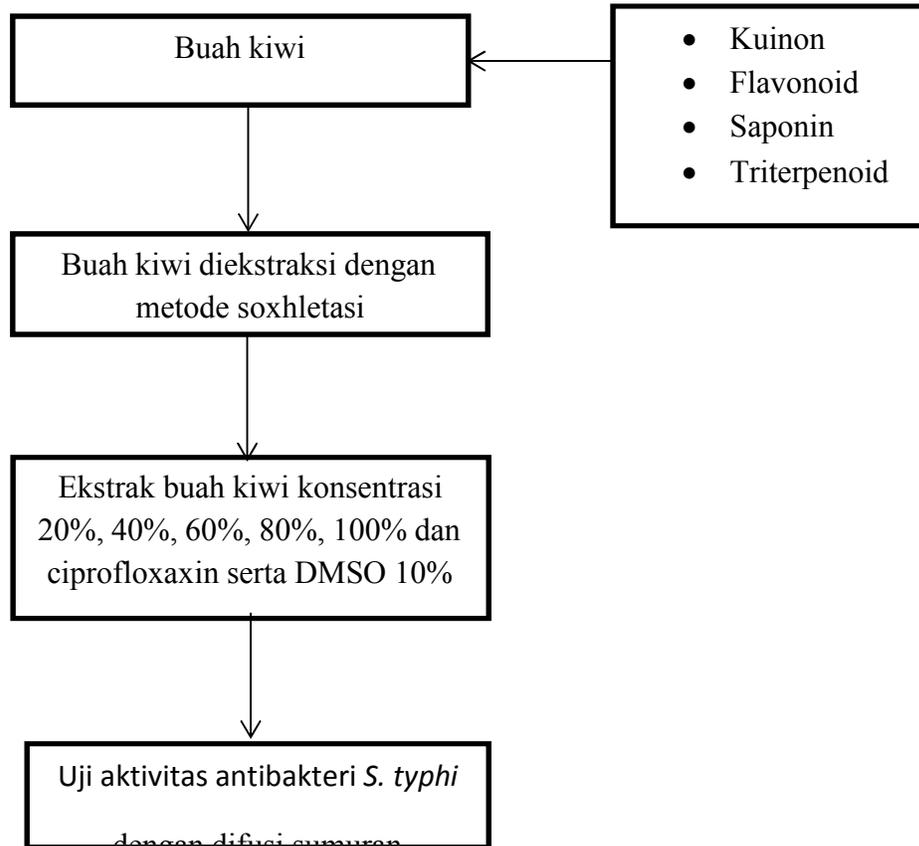


**Gambar 2.9 Metode difusi cakram**<sup>41</sup>

#### **A. Metode Dilusi**

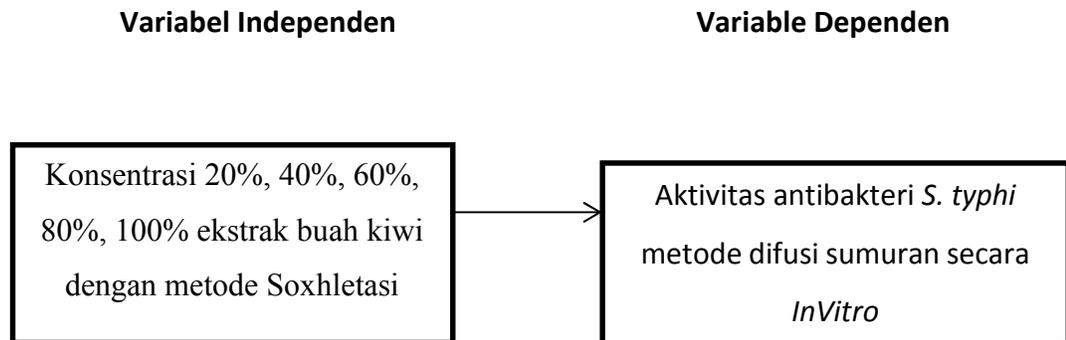
Metode dilusi terbagi 2 yaitu dilusi padat dan cair. Pada metode dilusi padat dapat digunakan dengan cara menginokulasi mikroba uji pada media agar dimana media agar tersebut sudah mengandung agen antimikroba, sementara pada metode dilusi cair dilakukan dengan cara membuat pengencer agen antimikroba terlebih dahulu pada medium cair dan selanjutnya ditambahkan dengan mikroba ujinya. Kelebihan dari metode dilusi ini adalah dapat menggunakan satu konsentrasi agen antimikroba untuk pengujian terhadap beberapa mikroba uji<sup>44</sup>.

## 2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.10 Kerangka Teori

**2.6. Kerangka konsep**



**Gambar 2.11 Kerangka Konsep**

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental dengan menguji aktivitas antibakteri ekstrak buah kiwi terhadap bakteri *S. typhi* dengan menggunakan metode difusi sumuran.

#### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1. Tempat Penelitian**

Ekstraksi buah kiwi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Sumatera Utara (USU) dan untuk pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi USU yang keduanya berada di Jalan Tri Dharma, Padang Bulan, Kec. Medan Baru, Kota Medan, Sumatera Utara 20155.

##### **3.2.2. Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan September sampai dengan November 2023.

#### **3.3. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel**

##### **3.3.1. Sampel Penelitian**

Sampel dalam penelitian ini menggunakan bakteri murni *S. typhi* yang dibiakkan pada media agar.

##### **3.3.2. Estimasi Besar Sampel**

Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer. Dimana kelompok perlakuan terdiri dari 7 kelompok yaitu ekstrak buah kiwi dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dan untuk kontrol positif menggunakan Ciprofloxacin 10 mg serta kontrol negatif menggunakan DMSO 10%, dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali perkelompok uji.

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

$$(7-1)(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

n = Banyaknya sampel

t = Jumlah kelompok uji

### **3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

#### **3.4.1. Kriteria Inklusi**

Kultur *S. typhi* dilakukan dengan cara uji standar McFarland 0,5 yang terdiri dari  $1,5 \times 10^8$  colony/mL media agar serta bahan uji berupa buah kiwi (*Actinidia deliciosa*).

#### **3.4.2. Kriteria Eksklusi**

Bakteri *S. typhi* yang sudah terkontaminasi dan jikalau pada saat penelitian media agar yang pecah.

### **3.5. Alat dan Bahan penelitian**

#### **3.5.1. Alat Penelitian**

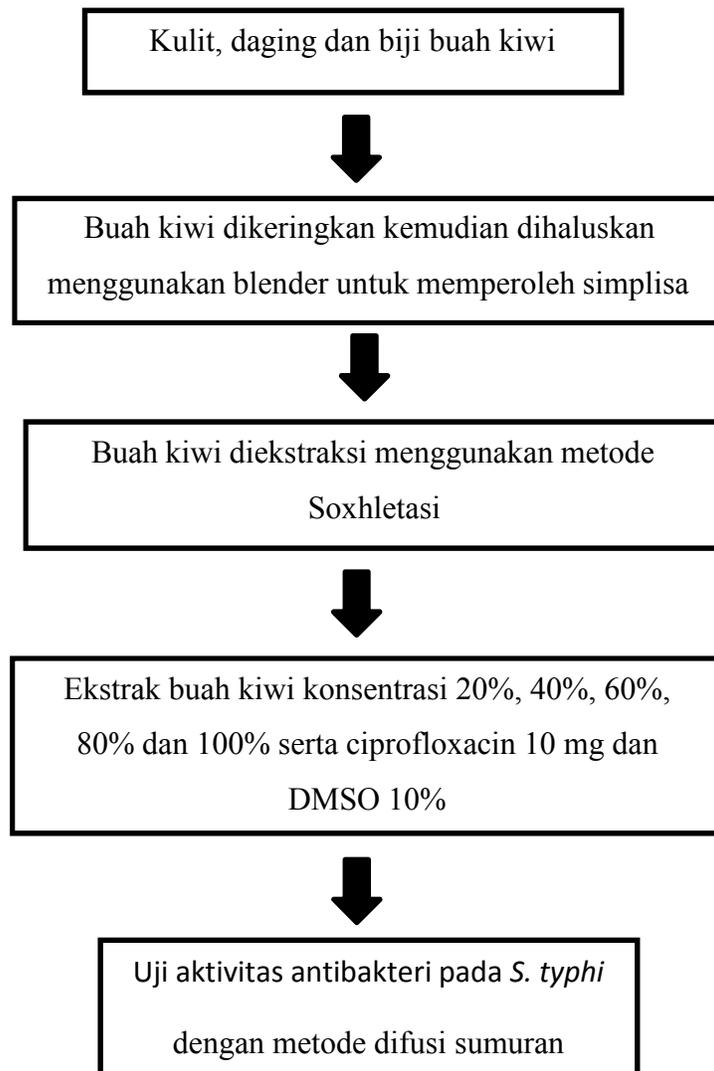
- a. *Inkubator*
- b. *Oven*
- c. Cawan petri
- d. Ose steril
- e. Jangka sorong
- f. Mikropipet
- g. Api bunsen
- h. *Aluminium foil*
- i. Alat soxhlet
- j. *Cork borer*

#### **3.5.2. Bahan Penelitian**

- a. Ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*)
- b. Bakteri *S. typhi*
- c. Media NA (*Nutrient Agar*)
- d. Etanol 96%
- e. NaCl 0,9%
- f. Ciprofloxacin 10 mg
- g. DMSO 10%

**3.6.        Prosedur kerja**

**3.6.1.     Alur Penelitian**



**Gambar 3.1 Alur Penelitian**

### 3.6.2. Sterilisasi Alat yang Digunakan

Semua alat dicuci terlebih dahulu kemudian dibungkus menggunakan *Aluminium foil* dan disterilkan menggunakan oven dengan suhu 121°C.

### 3.6.3. Pembuatan Ekstraksi Buah Kiwi

Untuk pembuatan simplisia dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% diperlukan 5 kg buah kiwi yang kemudian dibersihkan dan dipotong hingga membentuk bagian yang lebih kecil, lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C. Setelah pengeringan selesai, dilakukan penghalusan menggunakan blender dan di ayak dengan ayakan. Hingga pada akhirnya diperoleh serbuk halus simplisia sebesar 252 gr. Serbuk halus simplisia kemudian dibungkus dan diletakkan pada alat soklet untuk proses ekstraksi.

Proses ekstraksi dilakukan hingga cairan dari simplisia tidak berwarna atau bening dan untuk proses ekstraksi ini menggunakan pelarut Etanol 96% yang dipanaskan pada suhu 78°C. Setelah proses ekstraksi selesai dilanjutkan dengan proses pengentalan menggunakan alat *Rotary evaporator*. Pada proses pengentalan didapatkan cairan kental etanol sebanyak 80 gr yang selanjutnya akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri *S. typhi*.

Rumus pengenceran volume ekstrak buah kiwi:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan:

V1 : Volume sebelum pengenceran

V2 : Volume sesudah pengenceran

M1 : Konsentrasi sebelum pengenceran

M2 : Konsentrasi sesudah pengenceran

#### **3.6.4. Pembuatan Suspensi Bakteri Salmonella typhi**

Bakteri *S. typhi* hasil dari peremajaan selanjutnya akan di suspensi menggunakan larutan NaCl 0,9% sebanyak 10 ml selanjutnya dilakukan perbandingan dengan larutan McFarland hingga kekeruhannya sama.

#### **3.7. Uji Aktivitas Antibakteri**

Pada uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan menggunakan 5 konsentrasi ekstrak buah kiwi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% serta juga menggunakan Ciprofloxacin 10 mg sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif.

Pada penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak buah kiwi terhadap *S. typhi* digunakan *Nutrient Agar* (NA) sebagai media untuk pertumbuhan bakterinya, dimana media tersebut dimasak terlebih dahulu dengan suhu 27°C. Kemudian media tersebut dituang kedalam cawan petri sebanyak 12 buah. Untuk proses selanjutnya adalah menginokulasi suspensi bakteri pada media NA menggunakan ose steril, dimana pada proses ini dan seterusnya harus dilakukan dengan steril dan bersampingan dengan api bunsen.

Kemudian dilakukan pelubangan pada media NA dengan menggunakan *cork borer*. Pada setiap lubang akan diteteskan ekstrak buah kiwi serta kontrol positif dan negatif sebanyak 25 µl menggunakan mikropipet. Setelah itu, media tersebut akan diinkubasi didalam inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi selesai, selanjutnya akan dilakukan pengamatan untuk melihat ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk pada media agar kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan pada setiap kelompok perlakuan.

Rumus perhitungan diameter zona hambat yaitu:

$$d = \frac{A + B}{2}$$

Keterangan:

$d$  = Diameter zona hambat

$A$  = Diameter vertikal

$B$  = Diameter horizontal<sup>45</sup>.

### **3.8. Identifikasi Variabel**

#### **3.8.1. Variabel Bebas**

Ekstrak buah kiwi konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%.

#### **3.8.2. Variabel Terikat**

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. thypi*.

### 3.9. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No.	Variable	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Ekstrak buah kiwi	Adalah buah kiwi yang diekstraksi menggunakan metode Soxhletasi dan didapatkan cairan kental etanol.	Mikropipet	Konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%	Rasio
2.	Efek antibakteri pada bakteri <i>S. typhi</i>	Untuk melihat zona hambat pertumbuhan bakteri pada medium NA.	Jangka sorong	Aktivitas lemah <5 mm. Aktivitas sedang 5-10 mm. Aktivitas kuat 11-20 mm. Sangat kuat >20 mm.	Kategorik
3.	Kontrol positif	Adalah kelompok perlakuan yang memberikan	Jangka sorong	Aktivitas lemah <5 mm. Aktivitas	Kategorik

---

efek perubahan	sedang 5-10
pada	mm.
pertumbuhan	Aktivitas
bakteri yang	kuat 11-20
berfungsi	mm.
sebagai sudah	Sangat kuat
tepatnya	>20 mm.
eksperimen	
dilakukan dan	
menghasilkan	
efek positif pada	
pertumbuhan	
bakteri. Kontrol	
positif yang	
digunakan	
adalah	
Ciprofloxacin	
10 mg.	

---

4.	Kontrol negatif	Adalah kelompok perlakuan yang tidak memberikan efek pada pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%.	Jangka sorong	Aktivitas lemah <5 mm. Aktivitas sedang 5-10 mm. Aktivitas kuat 11-20 mm. Sangat kuat >20 mm.	Kategorik
----	-----------------	--	---------------	--	-----------

### 3.10. Analisis Data

Analisa data dilakukan menggunakan perangkat lunak yaitu *statistical product and service solutions* (SPSS) yaitu pengelolaan data univariat dan bivariat. Pada pengelolaan data bivariat diawali dengan uji normalitas yang berfungsi untuk melihat apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak dan dilanjutkan dengan uji homogenitas yang berguna untuk menilai apakah varian data yang diperoleh homogen atau tidak.