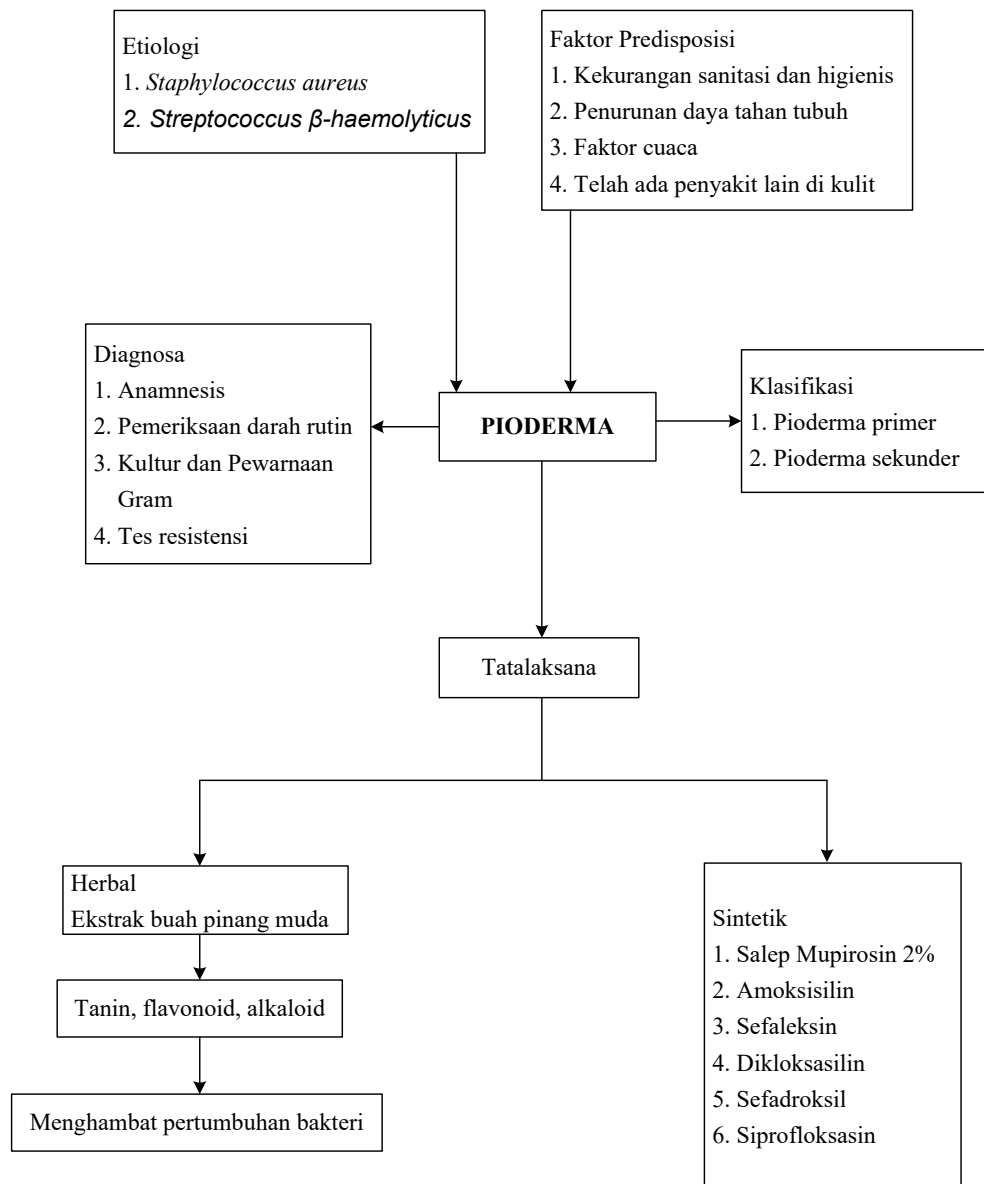


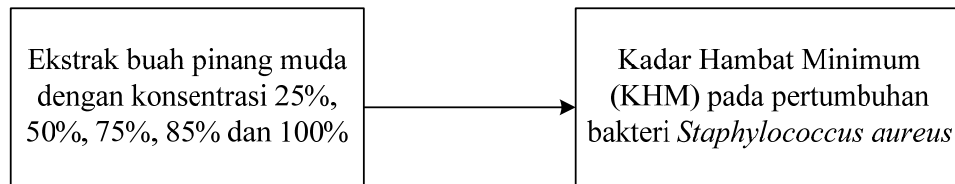
BAB 3
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN
HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori



Gambar 3.1. Kerangka teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka konsep penelitian

3.3. Hipotesis

Hipotesis untuk penelitian ini adalah ekstrak buah pinang muda dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan ini merupakan studi eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *posttest only with control group design*.

4.2. Tempat Dan Waktu Penelitian

4.2.1. Tempat Penelitian

Ekstrak buah pinang muda didapat dari Laboratorium Obat Tradisional, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan dan uji daya hambat ekstrak dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan.

4.2.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung dari bulan September 2016 sampai bulan Oktober 2016. Penelitian ini dimulai dengan mendapatkan ekstrak buah pinang muda dari Laboratorium Obat Tradisional, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara dan dilanjutkan dengan melakukan uji daya hambat ekstrak buah pinang muda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara.

4.3. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang disediakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan.

4.3.1. Besar Sampel Penelitian

Pada penelitian ini jumlah sampel minimal telah diestimasi dengan menggunakan rumus Frederer sebagai berikut:

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

Keterangan:

t = banyak kelompok diperlakukan

r = jumlah sampel tiap kelompok diperlakukan

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

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

$$r \geq 4$$

Penelitian ini telah dilakukan dengan menggunakan 6 sampel dan diberikan perlakuan pengulangan sebanyak 4 kali. Jadi jumlah sampel yang telah digunakan adalah 24 sampel.

Tabel 4.1. Penelitian

Perlakuan (P)	Ulangan			
	I	II	III	IV
P ₁	P _{1I}	P _{1II}	P _{1III}	P _{1IV}
P ₂	P _{2I}	P _{2II}	P _{2III}	P _{2IV}
P ₃	P _{3I}	P _{3II}	P _{3III}	P _{3IV}
P ₄	P _{4I}	P _{4II}	P _{4III}	P _{4IV}
P ₅	P _{5I}	P _{5II}	P _{5III}	P _{5IV}
P ₆	P _{6I}	P _{6II}	P _{6III}	P _{6IV}

Keterangan:

P₁ : Kontrol negatif (blanko)

P₂ : Ekstrak buah pinang muda 25%

P₃ : Ekstrak buah pinang muda 50%

P₄ : Ekstrak buah pinang muda 75%

P₅ : Ekstrak buah pinang muda 85%

P₆ : Ekstrak buah pinang muda 100%

4.4. Teknik Pengumpulan Data

Jenis data yang dikumpul dari penelitian ini berupa data primer, dimana peneliti mengukur diameter zona hambat yang timbul pada pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* setelah diberi intervensi dengan ekstrak buah pinang muda dengan konsentrasi yang berbeda di Laboratorium Mikrobiologi, FK, USU, Medan.

4.5. Bahan dan Cara Kerja

4.5.1. Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah:

Peralatan yang digunakan adalah inkubator, *paper disc*, jangka sorong, pinset, cawan petri, ose, autoclave, bunsen, pipet tetes dan tabung uji.

4.5.2. Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah:

Bahan yang digunakan adalah ekstrak buah pinang muda, biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, aquabides steril, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), kertas label, kapas lidi steril dan *Mueller-Hinton Agar* (MHA).

4.5.3. Prosedur Penelitian

4.5.3.1. Ekstrak buah pinang muda

Ekstrak buah pinang muda didapatkan dari Laboratorium Obat Tradisional, Fakultas Farmasi, USU, Medan.

4.5.3.2. Pengenceran

Pengenceran dilakukan untuk menghasilkan beberapa konsentrasi dari ekstrak buah pinang muda yang digunakan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengenceran yang dibuat adalah 25%, 50%, 75%, 85% dan 100%.

4.5.3.3. Pemurnian

1. Biakan *Staphylococcus aureus* murni diinokulasi dalam aquabides steril.
2. Lalu dieramkan dalam suhu 37°C selama 2 – 5 jam.

3. Biakan murni *Staphylococcus aureus* diinokulasi dengan kapas lidi steril pada permukaan lempeng agar sehingga tersebar merata.

4.5.3.4. Pengujian daya hambat ekstrak buah pinang muda terhadap *Staphylococcus aureus*

1. Menyiapkan empat buah cawan petri berisi MHA yang telah dioleskan dengan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Menyiapkan 5 *paper disc* untuk menguji masing-masing konsentrasi ekstrak buah pinang muda dan 1 *paper disc* sebagai kontrol negatif.
3. Merendamkan 5 *paper disc* kedalam larutan ekstrak buah pinang muda masing-masing konsentrasi 25%, 50%, 75%, 85% dan 100% selama 15 menit sedangkan 1 *paper disc* sebagai kontrol negatif.
4. Memasukkan 5 *paper disc* yang telah direndam dalam ekstrak buah pinang muda dengan konsentrasi yang berbeda dan 1 *paper disc* sebagai kontrol negatif dengan bantuan pinset steril ke dalam cawan petri.
5. Mengulang langkah 2, 3 dan 4 sebanyak tiga kali lagi.
6. Semua cawan petri diinkubasi selama 18 - 24 jam dengan suhu 37°C.

4.5.3.5. Zona hambat

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong untuk mengukur besar zona daya hambat yang terbentuk disekitar *paper disc*. Jaraknya diukur mulai dari ujung *disc* sampai ke batas bening daya hambat ekstrak buah pinang muda. Pengukuran dengan jangka sorong dinyatakan dalam ukuran millimeter.

4.6. Definisi Operasional

4.6.1. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat-zat aktif dari tanaman segar dengan menggunakan pelarut etanol 70%.

Cara ukur : Cara maserasi

Alat ukur : Alat maserasi

Hasil ukur : Sediaan kental yang mengandung zat-zat aktif

Skala ukur : Nominal

4.6.2. Buah pinang muda

Buah pinang muda adalah buah yang berwarna hijau dalam ukuran 2 – 3 cm yang didapatkan dari tanaman pinang.

Cara ukur : Observasi

Alat ukur : Penggaris

Hasil ukur : Buah pinang yang berwarna hijau dengan ukuran 2 - 3 cm

Skala ukur : Nominal

4.6.3. Konsentrasi

Konsentrasi adalah pengenceran yang dilakukan pada ekstrak buah pinang muda untuk menentukan jumlah zat terlarut yang harus ada dalam suatu larutan.

Cara ukur : Menggunakan rumus pengenceran; $V_1C_1 = V_2C_2$

V_1 – volume ekstrak yang digunakan (ml)

C_1 – konsentrasi ekstrak yang digunakan (mg/ml)

V_2 – volume larutan yang akan dibuat (ml)

C_2 – konsentrasi ekstrak yang akan dibuat (mg/ml)

$$\begin{aligned}
 25\% \quad & V_1C_1 = V_2C_2 \\
 & V_1(1000 \text{ mg/ml}) = (10 \text{ ml})(250 \text{ mg/ml}) \\
 & V_1 = 2,5 \text{ ml (DMSO 7,5 ml)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 50\% \quad & V_1C_1 = V_2C_2 \\
 & V_1(1000 \text{ mg/ml}) = (10 \text{ ml})(500 \text{ mg/ml}) \\
 & V_1 = 5 \text{ ml (DMSO 5 ml)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 75\% \quad & V_1C_1 = V_2C_2 \\
 & V_1(1000 \text{ mg/ml}) = (10 \text{ ml})(750 \text{ mg/ml}) \\
 & V_1 = 7,5 \text{ ml (DMSO 2,5 ml)}
 \end{aligned}$$

$$85\% \quad V_1C_1 = V_2C_2$$

$$V_1(1000 \text{ mg/ml}) = (10 \text{ ml})(850 \text{ mg/ml})$$

$$V_1 = 8,5 \text{ ml (DMSO 1,5 ml)}$$

$$100\% \quad V_1C_1 = V_2C_2$$

$$V_1(1000 \text{ mg/ml}) = (10 \text{ ml})(1000 \text{ mg/ml})$$

$$V_1 = 10 \text{ ml}$$

Alat ukur : DMSO, ekstrak buah pinang muda
 Hasil ukur : Larutan ekstrak dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 85% dan 100%
 Skala ukur : Rasio

4.6.4. Kadar Hambat Minimum (KHM)

Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah kadar konsentrasi ekstrak buah pinang muda minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Cara ukur : Observasi
 Alat ukur : Jangka sorong
 Hasil ukur : Diameter zona bening yang timbul pada koloni bakteri
 Skala ukur : Rasio

4.6.5. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang bertumbuh setelah dibiakkan dalam MHA.

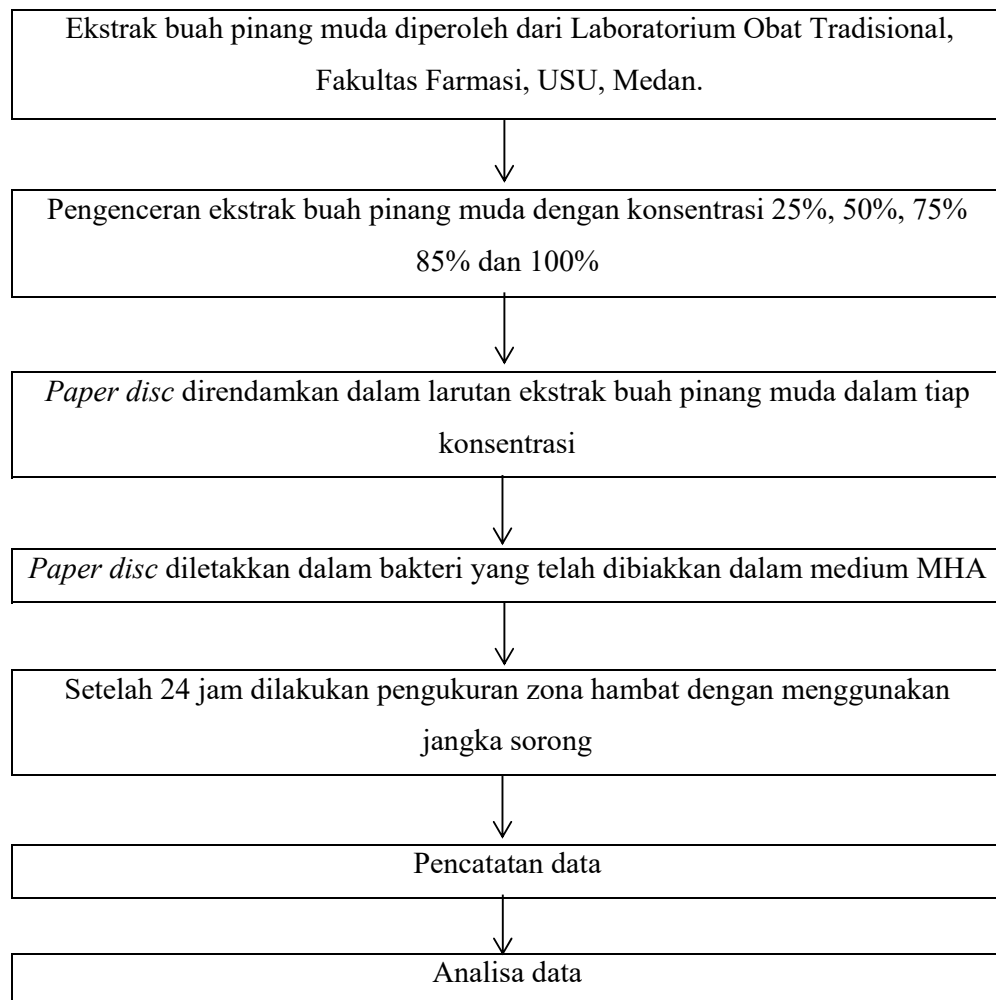
Cara ukur : Observasi
 Alat ukur : Cawan petri, MHA, Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*
 Hasil ukur : Koloni bakteri yang berwarna putih kekuningan
 Skala ukur : Nominal

4.7. Metode Analisa Data

Hasil penelitian ini telah ditentukan dengan cara mengamati KHM dan dengan mengukur diameter zona hambat yang timbul pada koloni bakteri *Staphylococcus*

aureus. Selanjutnya data disajikan dalam bentuk tabel dan dilakukan tes normalitas. Hasil tes normalitas menunjukkan data tidak berdistribusi normal. Selanjutnya telah dilakukan uji non-parametrik, Kruskal-Wallis. Uji ini telah dilakukan dengan menggunakan program komputer SPSS.

4.8. Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak buah pinang muda dilakukan di Laboratorium Obat Tradisional, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan. Setelah pembuatan ekstrak selesai, ekstrak yang diperoleh langsung dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan untuk dilakukan uji daya hambat ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.



Gambar 5.1. Ekstrak Buah Pinang Muda

5.1.2. Hasil Uji Daya Hambat

Hasil uji daya hambat ekstrak buah pinang muda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, USU menunjukkan ekstrak buah pinang muda dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini telah dihitung dengan menggunakan rumus Frederer.

Rumus Frederer:

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

Tabel 5.1. Diameter Zona Hambat (mm) Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Pinang Muda

Intervensi	I	II	III	IV	Mean \pm SD	Kruskal-Wallis (p value)
Konsentrasi						
25%	0	0	0	0	0 \pm 0	
50%	7	7	7	7	7 \pm 0	
75%	10	11	10	11	10,5 \pm 0,5	0,0001
85%	12	13	12	13	12,5 \pm 0,5	
100%	15	16	16	16	15,75 \pm 0,43	
Kontrol	0	0	0	0	0 \pm 0	

Penelitian ini telah dilakukan dengan menggunakan 24 sampel. Jumlah sampel ini merupakan jumlah sampel minimal yang diperlukan untuk melakukan penelitian ini berdasarkan hitungan dari rumus Frederer. Dalam penelitian ini telah dilakukan pengulangan sebanyak empat kali untuk setiap kelompok sampel mulai dari ekstrak buah pinang muda konsentrasi 25%, ekstrak buah pinang muda konsentrasi 50%, ekstrak buah pinang muda konsentrasi 75%, ekstrak buah pinang muda konsentrasi 85%, ekstrak buah pinang muda konsentrasi 100% and pada sampel kelompok kontrol.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata luas zona hambat yang timbul untuk kelompok sampel ekstrak buah pinang muda konsentrasi 50% adalah 7 mm, untuk ekstrak buah pinang muda konsentrasi 75% adalah 10,5 mm, untuk ekstrak buah pinang muda konsentrasi 85% adalah 12,5 mm dan untuk ekstrak buah pinang muda konsentrasi 100% adalah 15,75 mm. Sedangkan tidak ada zona hambat yang timbul untuk kelompok sampel ekstrak buah pinang muda konsentrasi 25% dan pada kelompok sampel kontrol.

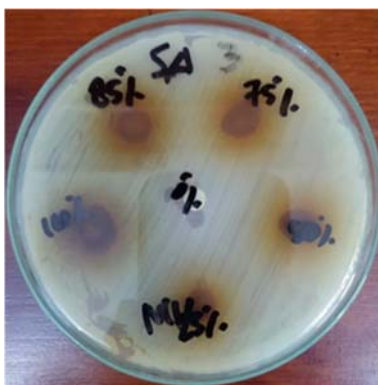
Luas zona hambat yang terkecil dapat ditemukan pada kelompok sampel ekstrak buah pinang muda dengan konsentrasi 50% dengan rata-rata luas zona hambat sebesar 7 mm. Kadar konsentrasi ini merupakan kadar konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kadar ini dapat disebut sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak buah pinang muda untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Luas zona hambat yang terbesar dapat ditemukan pada kelompok sampel ekstrak buah pinang muda konsentrasi 100% dengan rata-rata luas zona hambat sebesar 15,75 mm.



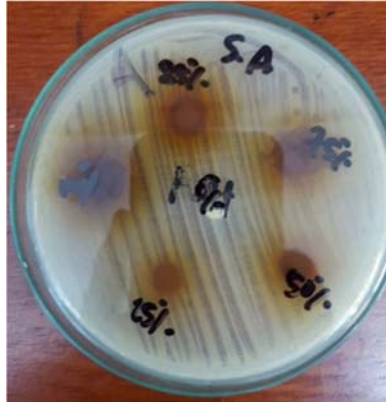
Gambar 5.2. Hasil Uji Daya Hambat ulangan pertama



Gambar 5.3. Hasil Uji Daya Hambat ulangan kedua



Gambar 5.4. Hasil Uji Daya Hambat ulangan ketiga



Gambar 5.5. Hasil Uji Daya Hambat ulangan keempat

Setelah diperoleh data-data diatas, telah dilakukan uji normalitas. Daripada hasil uji normalitas yang dilakukan, Shapiro-Wilk, diperoleh nilai $p:0,003$ ($p<0,05$), pada data seluruh kelompok perlakuan dan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal. Dengan demikian, uji non parametrik, Kruskal-Wallis, dapat digunakan dalam penelitian ini. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p<0,0001$ ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan luas zona hambat yang signifikan antara kelompok ekstrak buah pinang muda konsentrasi 25%, ekstrak buah pinang muda konsentrasi 50%, ekstrak buah pinang muda konsentrasi 75%, ekstrak buah pinang muda konsentrasi 85%, ekstrak buah pinang muda konsentrasi 100% dan blanko yang digunakan sebagai kelompok kontrol.

5.2. Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian studi eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *posttest only with control group design* yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah pinang muda terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

5.2.1. Uji Daya Hambat

Pada penelitian ini, ekstrak buah pinang muda yang didapatkan dari Laboratorium Obat Tradisional, Fakultas Farmasi, USU, diencerkan ke lima

konsentrasi yang berbeda yaitu 25%, 50%, 75%, 85% dan 100%. Pada penelitian ini ditemukan bahwa ekstrak buah pinang muda dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi 50%, 75%, 85% dan 100%. Ekstrak buah pinang muda dengan konsentrasi 50% menunjukkan luas zona hambat yang terkecil, yaitu dengan rata-rata 7 mm sedangkan luas zona hambat yang terbesar dapat ditemukan pada ekstrak buah pinang muda dengan konsentrasi 100%, yaitu dengan rata-rata 15,75 mm.

Senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan boleh berperan sebagai obat lokal untuk penyembuhan penyakit. Selain itu, senyawa kimia pada tumbuhan juga memiliki beberapa peran yang amat penting untuk memastikan tumbuhan tersebut dapat bertahan hidup dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan seperti suhu, iklim, gangguan hama dan penyakit tumbuhan.²⁶ Antara senyawa kimia yang terdapat dalam buah pinang muda adalah tanin, flavonoid dan alkaloid.²⁷

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yang WQ pada tahun 2012, buah pinang muda mengandung senyawa kimia flavonoid.²⁸ Senyawa kimia ini dapat bekerja sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein pada sel bakteri dan merusakkan sitoplasma. Apabila sitoplasma bakteri dirusak, metabolit penting yang ada pada bakteri akan keluar dan sistem enzim pada bakteri akan terhambat. Keadaan ini dapat menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terganggu.²⁷ Hal yang sama terjadi pada penelitian ini di mana ekstrak buah pinang muda yang mempunyai senyawa kimia flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wang CK pada tahun 1997, buah pinang muda juga mengandung senyawa kimia tanin dan alkaloid.⁹ Senyawa-senyawa kimia ini dapat bekerja sebagai antibakteri. Senyawa kimia tanin ini dapat merusak dinding sel bakteri sementara senyawa kimia alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Hal ini dapat menyebabkan dinding sel bakteri mudah mengalami kerusakan. Kerusakan ini akan mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel bakteri berkurang sehingga transport zat ke dalam dan

ke luar sel akan terganggu. Apabila sel bakteri mengalami gangguan hantaran zat seperti air dan nutrisi ke dalam dan ke luar sel, metabolisme sel akan terhambat sehingga kadar pembentukan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri akan menurun. Keadaan ini dapat menyebabkan pertumbuhan sel bakteri terhambat dan boleh menyebabkan kematian pada sel bakteri.²⁷ Hal yang sama terjadi pada penelitian ini di mana ekstrak buah pinang muda yang mengandung senyawa kimia tanin dan alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Puspawati N. tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bahwa ekstrak etanolik biji pinang dapat mematikan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kadar konsentrasi yang paling baik untuk mematikan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 1,57% dan untuk *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 25%.¹² Sedangkan penelitian tentang ekstrak buah pinang muda ini menunjukkan ekstrak buah pinang muda dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak 50%.

Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak buah pinang muda dengan kadar konsentrasi 25% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini karena senyawa kimia yang bersifat antibakteri di ekstrak buah pinang muda yaitu flavonoid, tanin dan alkaloid berada pada kadar yang rendah sehingga ekstrak buah pinang muda tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penelitian tentang pengaruh ekstrak buah pinang muda sebagai antibakteri belum pernah dilakukan sebelum ini. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah pinang muda sebagai antibakteri, khususnya untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian yang diperoleh ini menunjukkan buah pinang muda mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, khususnya pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan tujuan dan hasil penelitian, maka dapat ditarik kesimpulan-kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak buah pinang muda dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Ekstrak buah pinang muda dengan konsentrasi 50%, 75%, 85% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sedangkan ekstrak buah pinang muda dengan konsentrasi 25% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Kadar konsentrasi ekstrak buah pinang muda yang minimum diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 50%.
4. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah pinang muda, semakin luas zona hambat yang timbul pada koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat dibuat saran-saran sebagai berikut:

1. Kepada pelayanan kesehatan, menggunakan informasi penelitian ini untuk mengobati pasien dengan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Kepada masyarakat, menggunakan pengobatan yang berasal dari alami supaya dapat mengelakan efek samping dari penggunaan antibiotik sintetik.
3. Kepada peneliti lain, menggunakan data penelitian ini untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak buah pinang muda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
4. Kepada peneliti lain, melakukan penelitian tentang ekstrak buah pinang muda dengan menggunakan bakteri lain untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah pinang muda terhadap bakteri lain.