EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

(Skripsi)

oleh:

Khairunissa Athira Nauli Siregar
1758011046

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS LAMPUNG

2021

EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Oleh:
KHAIRUNISSA ATHIRA NAULI SIREGAR

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS OF NEEM LEAVES *(Azadirachta indica* A. Juss) ETHANOL EXTRACT ON THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

By

KHAIRUNISSA ATHIRA NAULI SIREGAR

Background: Neem has been widely used as a traditional medicine to treat various diseases since a long time ago. One of the tree's parts such as the leaves, and the trunk's skin or both of the parts extract can be used as biopesticides, antifungals, and antibacterial. Compounds of flavonoids, tannins, saponins, terpenoids, alkaloids, fatty acids, steroids, and triterpenoids contained in the neem plant (Azahdirachta indica A. Juss) is known to work as antibacterial. This study aims to determine the effectiveness of neem leaf ethanol extract against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Methods: This research was conducted in May 2021 at the Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine, University of Lampung. Neem leaf extract was obtained from the Laboratory of Organic Chemistry, University of Lampung by maceration technique. The antibacterial activity of neem leaf extract was carried out using the disc diffusion method on *Mueller-Hinton Agar* media.

Results: The results of this research indicate the effectiveness of neem leaf extract against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The mean diameter of *Staphylococcus aureus* is larger than that of *Escherichia coli*, which is 10.77 mm and Escherichia coli is 8.06 mm.

Conclusion : There is the effectiveness of neem leaf extract against the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Keywords: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli,* Neem Leaves

ABSTRAK

EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MIMBA *(Azadirachta indica* A. Juss*)* TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Oleh

KHAIRUNISSA ATHIRA NAULI SIREGAR

Latar Belakang : Sedari dahulu tanaman mimba telah banyak digunakan pada pengobatan tradisional dan mengobati berbagai penyakit. Salah satunya pada bagian daun, ekstrak kulit batang dan juga ekstrak airnya yang berasal dari keduanya dapat digunakan sebagai biopestisida, antifungi, dan antibakteri Kandungan senyawa golongan flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, alkaloid, asam lemak, steroid dan triterpenoid. yang terdapat pada tumbuhan mimba *(Azahdirachta indica* A. Juss*)* diketahui dapat bekerja sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk melihar efektivitas ekstrak etanol daun mimba terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Metode : Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Ekstrak daun mimba didapatkan dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Lampung dengan teknik maserasi. Aktivitas antibakteri ekstrak daun mimba dilakukan menggunakan metode *disc diffusion* pada media *Mueller-Hinton Agar.*

Hasil : Hasil penelitian ini menunjukan adanya efektivitas ekstrak daun mimba terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan rerata diameter *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan *Escherichia coli* yaitu sebesar 10,77 mm dan *Escherichia coli* sebesar 8,06 mm.

Simpulan : Terdapat efektivitas ekstrak daun mimba terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Kata Kunci : *Staphylococcus aureus, Escherichia coli,* Daun mimba

Judul Skripsi	:	**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***
Nama Mahasiswa	:	Khairunissa Athira Nauli Siregar
Nomor Pokok Mahasiswa	:	1758011046
Program Studi	:	Pendidikan Dokter
Fakultas	:	Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes.	**dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed.**
NIP 19760903 200501 2 001	NIP 19830713 200812 1 003

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, SKM., M.Kes.
NIP 19720628 199702 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes.** .....

Sekretaris : **dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed.** .....

Penguji
Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes.** .....

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, SKM., M.Kes.
NIP 19720628 199702 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **26 Juli 2021**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **"EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MIMBA (*Azadirachta Indica* A. Juss) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*"** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 26 Juli 2021

Pembuat Pernyataan

Khairunissa Athira Nauli Siregar

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 31 Agustus 1999, sebagai anak pertama dari Bapak Endy Lazuardy SH, MH dan Ibu Atik Rusmiaty Ambarsari SH, MH. Penulis memilki satu orang adik perempuan bernama Khairani Aisya Amira Siregar.

Penulis menyelesaikan Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) di Sekolah Tunas Mekar Indonesia Bandar Lampung (TMI), Pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Palm Kids Bandar Lampung pada Tahun 2011, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP IT Ar Raihan Bandar Lampung pada tahun 2013, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA IT Ar Raihan Bandar Lampung pada tahun 2017.

Pada tahun 2017, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Perguruan Tinggi Nasional Barat (SMM-PTN Barat).

Selama menjadi mahasiswa kedokteran, penulis aktif di Lembaga Kemahasiswaan Forum Studi Islam Ibnu Sina Fakultas Kedokteran Universitas Lampung (FSI Ibnu Sina FK UNILA pada tahun 2017-2019. Penulis mengikuti lembaga

kemahasiswaan Forum Studi Islam Ibnu Sina Fakultas Kedokteran Universitas Lampung (FSI Ibnu Sina FK UNILA) pertama kali pada periode 2017-2018 sebagai anggota magang kardiak FSI Ibnu Sina FK UNILA , pada kabinet selanjutnya, yaitu kabinet estafet penulis bergabung menjadi staff departemen kaderisasi selama periode 2018-2019.

Karya ini dipersembahkan untuk Papa dan Mama tercinta, Dede, Keluarga Besarku serta orang-orang tersayang.

“وَكَفٰى بِاللّٰهِ وَلِيًّا وَّكَفٰى بِاللّٰهِ نَصِيْرًا”

“.. and Allah suffices as a Guardian, and Allah suffices as a Helper”
Q.S. An-nisa : 45

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, Tuhan Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas rahmat dan karunia-Nya yang telah memberikan segala kenikmatan, kemudahan, kekuatan dan kesabaran. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Rasulullah Muhammad SAW sehingga skripsi dengan judul "*Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mimba (Azadirachta indica A. juss) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli"* dapat terselesaikan oleh penulis.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Selama proses penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, saran, dorongan, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada para pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, antara lain kepada:

1. Prof. Dr. Karomani, M.Si selaku Rektor Universitas Lampung
2. Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar SRW, S.KM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
3. dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes selaku Pembimbing I skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran serta selalu memberi semangat dan dukungan untuk tidak pernah putus asa. Terimakasih atas

bimbingan, arahan, saran serta masukan yang sangat membantu dalam proses penyusunan skripsi ini.

4. dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed selaku Pembimbing II skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran serta selalu memberi semangat dan dukungan untuk tidak pernah putus asa. Terimakasih atas bimbingan, arahan, serta masukan yang sangat membantu dalam proses penyusunan skripsi ini.
5. Prof. Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes selaku Pembahas yang telah memberikan banyak saran, pembelajaran dan nasihat agar penulis menjadi pribadi yang lebih baik serta bersedia meluangkan waktu untuk membina dan memberikan masukan yang baik untuk penulis.
6. dr. Intanri Kurniati, S. Ked., Sp.PK selaku Pembimbing akademik yang telah bersedia meluangkan waktunya selama tujuh semester dalam membimbing, memberikan nasihat, evaluasi dan motivasi bagi penulis untuk menyelesaikan perkuliahan tepat waktu.
7. Seluruh Staf Dosen dan staf karyawan Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah berjasa selama ini.
8. Kepada Papa dan Mama tercinta, yang telah membesarkan penulis, yang selalu memberikan do'a, dukungan, kasih sayang dan pengorbanan tiada henti untuk penulis serta telah menjadi motivasi terbesar penulis untuk mencapai keberhasilan. Dede tercinta, yang telah menyemangati, mendoakan dan menemani penulis dikala suka maupun duka. Serta keluarga besar yang telah memberikan do'a, dukungan dan kasih sayang kepada penulis.

9. Mba romiani dan mbak Eka selaku laboran laboratorium mikrobiologi FK Unila, yang telah meluangkan waktu, mendampingi dan memberikan ilmu selama proses penelitian
10. Teman seperjuangan skripsi, Ardila Putri Maharani, Elmarossa Dinda S dan Rana Salsabila, yang telah berjuang bersama serta membantu banyak dalam proses penelitian dan penulisan skripsi ini. Terimakasih atas semua watu, ilmu, suka dan duka yang diberikan.
11. Teman-teman seperbimbingan, Naflah Nadila, Dwiki Wijaya, Rahmat Febriawan dan Wahyu Dewayanti yang telah membantu penulis melewati proses penelitian skripsi ini.
12. Teman-teman tersayang, Syifa Rahmi, Deva Juniar, Cindy Ayu Mareta, Ivytha, Natasya Mesensy, Jason Amper dan Taufik Hidayat yang selalu menemani penulis selama proses perkuliahan dan selama penyusunan skripsi. Teman-teman sederet, Attisya, Dini, Putri, Sella, Devi, Dhifa dan Rofi, terima kasih telah menemani penulis selama masa perkuliahan.
13. Teman-teman CEREBRO, Dirga Yudha, Hasta Hendarto, Made Michael, Yessi Aprilia, Ninike, dan Detty Novianty, Terima kasih untuk semua ilmu, canda dan tawa serta duka yang sudah dilewati.
14. Teman-teman seperjuangan VITREOUS yang telah berjuang bersama dari awal, untuk semua suka dan duka serta canda tawa yang telah diberikan. Terima kasih atas segala kenangan semasa *pre-clinic*.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu, memberikan pemikiran dan dukungan dalam pembuatan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Bandar Lampung, 26 Juli 2021

Penulis

Khairunissa Athira Nauli Siregar

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....**i**
DAFTAR TABEL.....**iv**
DAFTAR GAMBAR.....**iv**
BAB 1 PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang.....1
1.2 Rumusan Masalah.....5
1.3 Tujuan Penelitian.....6
1.4. Manfaat Penelitian.....6
1.4.1 Bagi Para Peneliti.....6
1.4.2 Bagi Instansi Terkait.....6
1.4.3 Bagi Masyarakat.....6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Daun Mimba *(Azadirachta Indica* A. Juss).....7
2.1.1 Morfologi dan Taksonomi Mimba.....9
2.1.2 Manfaat Mimba.....11
2.1.3 Kandungan Kimia pada Mimba.....11
2.1.4 Kandungan Mimba sebagai Antibiotik.....13
2.2 *Staphylococcus aureus*.....16
2.2.1 Definisi dan morfologi.....16
2.2.2 Patogenesis *Staphylococcus aureus*.....18
2.3 *Escherichia coli*.....20
2.3.1 Definisi dan Morfologi.....20
2.3.2 Patogenitas *Escherichia coli*.....22
2.4 Antibakteri.....23
2.5 Metode Pengujian Antibakteri.....23
2.6 Kerangka Teori.....26

2.7 Kerangka Konsep 27
2.8 Hipotesis 27
BAB 3 METODE PENELITIAN
3.1 Desain Penelitian 28
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....28
3.3 Alat, Bahan uji dan Mikroba Uji Penelitian 28
3.3.1 Mikroba 28
3.3.2 Bahan Uji Penelitian.....29
3.3.2 Media Kultur.....29
3.3.4 Alat yang digunakan.....29
3.4 Variabel Penelitian.....30
3.4.1 Variabel Dependen 30
3.4.2 Variabel Independen.....30
3.5 Definisi Operasional 31
3.6 Sampel Penelitian 32
3.7 Kelompok Perlakuan 33
3.8 Prosedur Penelitian 34
3.8.1 Uji Determinasi dan Pembuatan Ekstrak Daun Mimba.....34
3.8.2 Sterilisasi Alat.....35
3.8.3 Pembuatan Media *Mueller-Hinton Agar* 35
3.8.4 Uji Identifikasi Bakteri 35
3.8.5 Uji Aktivitas Antibakteri 38
3.9 Alur Penelitian.....41
3.10 Pengolahan dan Analisis Data 42
3.11 *Ethical Clearance* 44
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Hasil Penelitian.....44
4.1.1 Hasil Uji Determinasi 44
4.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri.....44
4.1.3 Hasil Diameter Zona Hambat.....45
4.1.4 Perbedaan Efektivitas Ekstrak Daun Mimba terhadap Diameter Zona Hambat *Staphylococcus aureus dan Escherichia coli* 54

4.2 Pembahasan 57
4.3 Keterbatasan Penelitian 57
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan 69
5.2 Saran 69
DAFTAR PUSTAKA 70
LAMPIRAN 76

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Definisi Operasional 31
2. Kelompok Perlakuan Bakteri *Staphylococcus aureus* 33
3. Kelompok Perlakuan Bakteri *Escherichia coli* 33
4. Hasil Uji Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* 45
5. Hasil Uji Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* 45
6. Hasil ukur diameter zona ekstrak etanol daun mimba terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococus aureus*..... 46
7. Hasil Uji normalitas Zona hambat ekstrak daun mimba bakteri *Staphylococcus aureus* 47
8. Hasil uji homogenitas *Levene* zona hambat ekstrak daun mimba bakteri *Staphylococcus aureus* 48
9. Hasil Uji *One Way ANOVA* kelompok perlakuan bakteri *Staphylococcus aureus* 48
10. Uji *Post hoc LSD* 49
11. Hasil ukur diameter zona ekstrak etanol daun mimba terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* 50
12. Hasil Uji normalitas Zona hambat ekstrak daun mimba bakteri *Escherichia coli*..... 51
13. Hasil uji homogenitas *Levene* zona hambat ekstrak daun mimba bakteri *Escherichia coli* 51
14. Hasil Uji *One Way ANOVA* kelompok perlakuan bakteri *Escherichia coli*..... 52
15. Uji *Post hoc Tamhane* pada *Escherichia coli* 53
16. Perbedaan rerata zona hambat 54
17. *Independent t test* 55
18. *Independent t test* 57
19. Kategori diameter zona hambat 60

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Daun Mimba 10
2. Struktur kimia Flavonoid 14
3. Struktur kimia Alkaloid 14
4. Struktur kimia Tanin 15
5. Struktur Kimia Saponin 15
6. Struktur kimia Steroid 15
7. *Staphylococcus aureus* 16
8. *Escherichia coli* 20
9. Diagram Kerangka teori 26
10. Diagram Kerangka konsep 27
11. Diagram Alur penelitian 41

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan kontributor morbiditas dan mortalitas yang cukup besar dan tidak hanya di negara berkembang, bahkan juga pada negara maju. Penyakit infeksi adalah penyebab terbanyak kedua pada kasus kematian manusia di seluruh dunia dan di Indonesia. Data *World Health Organization (WHO)* tahun 2012 menyatakan bahwa tingkat kematian anak dibawah 5 tahun di Indonesia disebabkan oleh penyakit infeksi dengan persentase 1-20% (WHO, 2015). Penyakit infeksi sampai saat ini masih menjadi masalah utama kesehatan masyarakat Indonesia. Infeksi merupakan proses masuknya mikroorganisme (bakteri, jamur, dan virus) ke dalam tubuh yang kemudian berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Mikroorganisme yang paling sering menyebabkan infeksi ialah bakteri (Radji, 2012). Penyakit infeksi terjadi ketika interaksi dengan mikroba menyebabkan kerusakan pada tubuh *host* dan kerusakan tersebut menimbulkan berbagai gejala dan tanda klinis. Mikroorganisme yang menyebabkan penyakit pada manusia disebut sebagai mikroorganisme patogen, salah satunya bakteri patogen (Carroll *et al.,* 2016).

Salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah infeksi nosokomial. Menurut Kementerian Kesehatan RI (2015), pada tahun 2014 angka kejadian penyakit infeksi nosokomial mencapai 148.703 kasus. Infeksi nosokomial atau yang sekarang disebut sebagai *Health Care Associated Infections (HAIs)* adalah infeksi yang didapat di rumah sakit terjadi pada pasien yang dirawat di rumah sakit paling tidak selama 72 jam dan pasien tersebut tidak menunjukkan gejala infeksi saat masuk rumah sakit. Beberapa mikroorganisme yang sering berpotensi terjadinya infeksi nosokomial adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Baharutan *et al.,* 2015). Penelitian yang dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudiro Husodo Makassar menemukan kuman penyebab utama infeksi nosokomial didalam ruang perawatan bedah terutama yaitu *Staphylococcus aureus* yang berasal dari saluran pernapasan bagian atas, hidung dan tenggorokan perawat yang dapat berperan sebagai sumber penularan. Penelitian lain menyatakan bahwa perbandingan bayi yang dirawat oleh petugas kesehatan yang tidak mencuci tangan dengan sabun lebih signifikan, lebih sering, dan lebih cepat terkena patogen *Staphylococcus aureus* dibandingan dengan bayi yang dirawat oleh petugas kesehatan yang mencuci tangan dengan sabun (Balitbankes, 2013). *Staphylococcus* berasal dari kata *staphylo* yang berarti kelompok buah anggur dan *coccus* yang berarti bulat dan tergolong bakteri gram positif. Bakteri jenis ini sering di ditemukan sebagai kuman flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang mudah ditemukan di berbagai tempat dan bersifat patogen oportunistik, berkoloni pada kulit dan permukaan mukosa manusia. Sumber infeksi bakteri ini berasal

dari lesi terbuka maupun barang-barang yang terkena lesi tersebut, selain itu ada beberapa tempat di rumah sakit yang beresiko tinggi dalam penyebaran bakteri ini, seperti unit perawatan intensif, perawatan neonatus, dan ruang operasi (WHO, 2012).

Escherichia coli merupakan famili *enterobacteriaceae* dan merupakan bakteri patogen oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi pada inang yang terganggu sistem imunnya (Farfan *et al.*, 2012). Penyakit yang diakibatkan infeksi bakteri *Escherichia coli* yaitu penyakit infeksi saluran kemih (ISK). ISK adalah infeksi yang terjadi di kandung kemih atau saluran kencing bagian luar (Utami, 2012). *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri penyebab penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Carroll *et al.*, 2016). Penyakit diare merupakan penyebab kedua kematian pada anak di bawah lima tahun, dan menjadi penyebab kematian sekitar 760.000 anak setiap tahun. Selain itu terdapat 1,7 miliar kasus diare tiap tahunnya (WHO, 2013).

Pengobatan terhadap penyakit infeksi biasanya menggunakan antibiotik (Gunawan, 2016). Namun penggunaan antibiotik ini dapat memberikan efek samping terhadap tubuh yang tidak diinginkan. Penyakit infeksi oleh bakteri yang dahulu telah dianggap dapat ditangani dengan baik, menjadi tantangan baru seiring maraknya galur resisten multi obat (MDR) (WHO, 2015).

Timbulnya resistensi bakteri patogen terhadap berbagai antibiotik menjadi ancaman serius bagi kesehatan masyarakat karena akan semakin sedikit atau bahkan tidak ada lagi antibiotik yang efektif untuk pengobatan infeksi yang

disebabkan oleh bakteri tersebut. Bakteri *multi drug resistant* merupakan penyebab utama kegagalan pengobatan penyakit infeksi dan berdampak pada peningkatan morbiditas, mortalitas, dan tingginya biaya kesehatan. *Multi drug resistant Escherichia coli* sering ditemukan di rumah sakit dan mulai banyak diisolasi di masyarakat sehingga perlu ditemukan antibiotik baru yang efektif (Aminah, 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Muttaqien dan Soleha tahun 2014 didapatkan hasil bahwa *Staphylococcus aureus* memiliki tingkat resistensi yang cenderung meningkat terhadap antibiotik penisilin dari tahun ke tahun (Muttaqien dan Soleha, 2014).

Penggunaan ekstrak dari bagian tanaman dan fitokimia dari sifat antimikroba yang diketahui sangat penting dalam perawatan terapi antibiotik. Dalam beberapa tahun terakhir, beberapa penelitian telah dilakukan di berbagai negara untuk membuktikan efisiensi dalam perawatan antibiotik. Sekitar 90% populasi dunia masih bergantung sepenuhnya pada tumbuhan herba sebagai obat-obatan. Penelitian ilmiah terhadap tanaman obat telah dimulai di banyak negara karena kontribusinya terhadap perawatan kesehatan. Manfaat utama penggunaan obat-obatan yang berasal dari tanaman relatif lebih aman daripada alternatif sintetis (Pamila dan Karpagam, 2017).

Sedari dahulu, tanaman mimba telah banyak digunakan pada pengobatan tradisional dan mengobati berbagai penyakit. Kandungan yang terdapat pada tumbuhan mimba *(Azahdirachta indica* A. Juss*)* memiliki banyak manfaat. Salah satunya pada bagian daun, ekstrak kulit batang dan juga ekstrak airnya yang berasal dari keduanya dapat digunakan sebagai biopestisida, antifungi,

dan antibakteri yang dibuktikan pada penelitian sebelumnya (Seriawansyah *et al.,* 2018).

Menurut Susmitha *et al.* (2013) daun mimba diketahui mengandung senyawa golongan flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, alkaloid, asam lemak, steroid dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* dan *Escherichia coli* (Supriyanto *et al.*, 2015).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Soraya e*t al.* (2019) , ditunjukkan bahwa ekstrak daun mimba dapat menghambat *E. faecalis* (*in vitro*), konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian tersebut adalah 10%, 20%, 40%,80% dan 100%, dan metode yang digunakan adalah *kirby bauer*. Tanaman mimba juga bisa memberikan efek antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Akpan *et al.*, 2016)

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui bagaimanakah efektivitas ekstrak etanol daun mimba *(Azahdirachta indica* A. Juss*)* sebagai tanaman herbal pengganti antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.*

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat efektivitas pada ekstrak etanol daun mimba *(Azahdirachta indica* A. Juss*)* sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli?.*

1.3 Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)* terhadap perhambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Para Peneliti

Menambah pengetahuan peneliti tentang manfaat ekstrak etanol daun Mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)* terhadap bakteri *Staphylococcus aureu*s dan bakteri *Escherichia coli* **.**

1.4.2 Bagi Instansi Terkait

Meningkatkan penelitian dibidang *Agromedicine* sehingga dapat menunjang pencapaian visi fakultas kedokteran Universitas Lampung sebagai fakultas kedokteran sepuluh terbaik di Indonesia pada tahun 2025 dengan kekhususan *Agromedicine.*

1.4.3 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat daun mimba. Dengan harapan meningkatkan kesadaran dan minat masyarakat untuk dapat memanfaatkan daun mimba sebagai tanaman obat yang memiliki banyak manfaat untuk kesehatan tubuh.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)*

Mimba atau biasa dikenal dengan nama lain *Azadirachta indica* A. juss memiliki berbagai nama lainnya seperti *nim* atau *neem* di Arab, *nimgach, nim* dalam Bahasa Bengal, *bowtamaka, thinboro, tamarkha, tamar,tamaka, tamabin* (Burma), *persian lilac, neem tree, Indian lilac, bead tree, margosa tree, cornucopia, Indian cedar* (Inggris), *margoiser, neem, nim, azadirac de I'Inde* (Prancis)*; Indischer zadrach (*Jerman), *margosa, nimbo* (Portugis), *neem, balnimb, nim, veppam, nind, ve mpu* (India), *sadu, baypay, mambu, veppam* (Malaysia), dan *sadao,* atau *cha-tang* (Thailand). Di Indonesia, tanaman mimba dikenal dengan beberapa sebutan, seperti mindi, intaran, membha, imba, mempheuh di Madura, dan mimba di Jawa (Utami *et al*., 2013).

Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) juga merupakan salah satu komoditas hasil hutan bukan kayu (HHBK) bernilai ekonomis sebagai penghasil bahan obat-obatan untuk kesehatan. Biji dan daun mimba digunakan sebagai bahan pestisida nabati, zat antiseptik dan pupuk. Beberapa produk mimba telah

beredar di pasaran seperti *neem leaves powder* (tepung daun mimba sebagai bahan obat dan insektisida), *neem oil* (minyak mimba diekstraksi dari biji, sebagai produk kesehatan, pertanian, kosmetik sampai produk sabun) dan *neem cake* (ampas biji mimba sebagai bahan pupuk organik) (Susila *et al.*, 2013)

Azadirachta indica secara umum dikenal sebagai mimba, telah menarik perhatian dunia beberapa tahun terakhir karena sifat medisnya yang luas. Lebih dari 140 komponen telah diidentifikasi dari bagian tanaman mimba. Daun mimba berperan sebagai immunomodulator, antiinflamasi, antihiperglikemik, antiulser, antifungal, antibakterial, antiviral, antioksidan, antimutagenik dan antikarsinogenik (Sayekti *et al.*, 2016).

Tanaman mimba dikenal sebagai "*wonder tree for centuries*" di subkontinen India. Mimba dianggap tidak berbahaya bagi manusia, hewan, burung dan serangga yang telah disetujui oleh agensi proteksi lingkungan Amerika Serikat untuk digunakan pada tanaman pangan. Sekarang ini, ekstrak mimba banyak digunakan sebagai obat-obatan herbal. Beberapa variasi daya antibakteri pada bagian tubuh tanaman mimba telah dilaporkan sebelumnya. Ekstrak daun mimba memiliki daya antibakteri yang lebih kuat dibandingkan dengan batang dan biji dari tumbuhan ini (Sayekti *et al.*, 2016).

2.1.1 Morfologi dan Taksonomi Mimba

Mimba merupakan tanaman yang selalu hijau, tinggi, cepat tumbuh, dapat mencapai ketinggian 25 m dengan lingkar batang 2,5 m. Pohon mimba memiliki tajuk menarik dari daun-daun berwarna hijau tua (yang dapat membentang sampai selebar 10 m) dan bunga bergerombol disertai dengan wangi madu. Mimba tumbuh subur bahkan di tanah tandus yang miskin hara. Mimba dapat bertahan hidup di daerah bersuhu tinggi hingga sangat tinggi, curah hujan rendah, kemarau panjang, dan kadar garam (salinitas) tinggi. Mimba diperbanyak melalui biji yaitu bibit yang sudah berumur 9 sampai 12 bulan dapat ditransplantasi dengan baik. Burung dan kelelawar juga menyebarkan benihnya. Pohon ini mulai berbuah saat menginjak umur 3 sampai 5 tahun (Saxena, 2015).

Panjang buahnya sekitar 2 cm, dan saat matang kulit buah berwarna kuning berdaging, cangkang keras berwarna putih, dan biji berwarna cokelat yang kaya akan minyak. Buah yang dihasilkan berkisar 30-100 kg per pohon, tergantung pada curah hujan, radiasi matahari, jenis tanah, dan ekotipe atau genotipe mimba tersebut (Saxena, 2015).

Sebanyak 50 kg tanaman mimba dapat menghasilkan biji mimba sebanyak 30 kg yang dapat menghasilkan 6 kg minyak mimba dan 24 kg daging buah mimba. Daya hidup biji mimba berkisar antara 6

sampai 8 minggu, tetapi jika dibersihkan, dikeringkan dan didinginkan dengan cara yang benar daya hidupnya bisa sampai 6 bulan. Perbanyakan juga dapat dilakukan melalui tunggul dan stek batang. Meskipun baru berhasil sebagian, perbanyakan juga dilakukan melalui kultur jaringan yang menghasilkan tanaman-tanaman kecil (Saxena, 2015).

Menurut (Saxena, 2015) taksonomi tanaman mimba sebagai berikut.

Gambar 1. Daun mimba (Saxena, 2015).

Divisi	: *Spermatophyta*
Sub divisi	: *Angiospermae*
Kelas	: *Dycotiledonae*
Ordo	: *Rutales*
Famili	: *Meliales*

Genus : *Azadirachta*

Spesies : *Azadirachta indica* A. Juss

2.1.2 Manfaat Mimba

Sedari dulu tanaman mimba telah banyak digunakan pada pengobatan tradisional dan mengobati berbagai penyakit. Kandungan yang terdapat pada tumbuhan mimba *(Azahdirachta indica* A. Juss*)* memiliki banyak manfaat. Menurut Hasmat *et al.* (2012) kegunaan daun mimba dapat digunakan untuk penyembuhan penyakit kulit, antiinflamasi, demam, antibakteri, antidiabetes, penyakit kardiovaskuler, dan insektisida. Daun mimba juga digunakan sebagai repelan, obat penyakit kulit, hipertensi, diabetes, anthelmintika, ulkus peptik, dan anti fungi. Selain itu, mimba bersifat antibakteri dan antiviral.

2.1.3 Kandungan kimia pada mimba

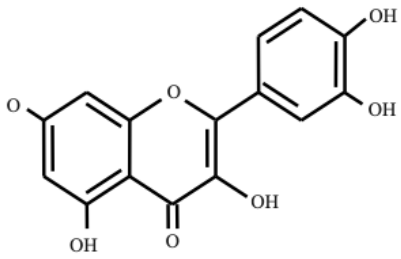
Daun mimba diketahui mengandung senyawa golongan flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, alkaloid, asam lemak, steroid dan triterpenoid (Raphael, 2012).. Daun mimba juga mengandung serat, β-sitosterol. Zat adiktif dalam flavonoid yang terkandung paling banyak pada daun mimba adalah *quercetin* dan *quercitrin*. Ekstrak daun mimba diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan yang berperan dalam menangkal radikal bebas terhadap kerusakan sel dan jaringan biasanya terdapat pada jenis flavonoid quercetin, kaempferol, rutin, serta apiegenin (Pandey *et al.*, 2018).

Antioksidan adalah senyawa yang bekerja dengan cara menghambat aktivitas senyawa oksidan termasuk protein-protein pengikat logam dan enzim-enzim, hal ini berguna untuk mengantisipasi kerusakan pada pembuluh darah (Susianti *et al*., 2014). Antioksidan juga merupakan zat yang menjaga sel dari kerusakan akibat paparan radikal bebas. Zat ini diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan enzimatik dan non-enzimatik. Sistem antioksidan enzimatis terdiri dari katalase, superoksida dismutase, dan glutathione peroksidase. Antioksidan nonenzimatik biasanya berasal dari makanan yang dimakan atau sebagai dari suplemen makanan. Keseimbangan antara jumlah antioksidan dan radikal bebas (ROS) di dalam sel harus selalu dijaga. Peningkatan jumlah ROS dapat menyebabkan stres oksidatif yang dapat merusak DNA inti sel dan DNA mitokondria (Mustofa dan Anisya, 2020). Antioksidan dapat menghambat oksidasi lipid melalaui pengikatan oksigen secara kompetitif, menghambat tahap inisiasi, memblokir tahap propagasi dengan cara merusak atau mengikat radikal bebas, menghambat Katalis atau menstabilkan hidrogenperoxide (Supriyanto *et al.*, 2015). Selain bersifat antioksidan daun mimba juga bersifat anti bakteri. Kandungan senyawa bioaktif alkaloid, steroid, flavonoid, saponin dan tannin pada daun mimba dapat menghambat pertumbuhan bakteri *salmonella* dan *Escherichia coli*. (Susmitha *et al.*, 2013 ; Supriyanto, 2015).

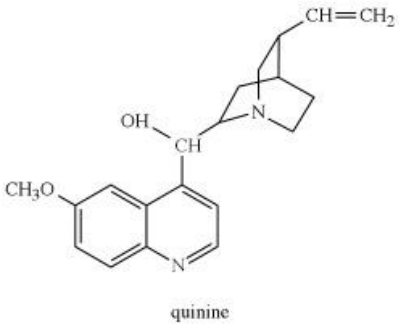
2.1.4 Kandungan Mimba Sebagai Antibiotik

Menurut Susmitha *et al.* (2013) mimba mengandung senyawa bioaktif alkaloid, steroid, flavonoid, saponin dan tannin. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *salmonella* dan *Escherichia coli* (Supriyanto *et al.*, 2015*)*. Senyawa flavonoid diketahui dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat metabolisme bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara menggangu sintesis asam nukleat dan menggangu fungsi membran sitoplasma. Kedua mekanisme tersebut dapat mengakibatkan gangguan produksi energi dalam bakteri akan mengakibatkan kerusakan pada dinding sel bakteri (Rijayanti, 2014).Berdasarkan penelitian Sukohar *et al.* (2015) senyawa flavonoid juga memiliki efek larvasida yang dapat menghambat sistem pernafasan dan bersifat toksik terhadap serangga. Sebagai antibakteri, mekanisme kerja flavonoid dapat dibagi menjadi 3 macam, yaitu dengan cara menghambat metabolisme energi, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat fungsi membran sel. Flavonoid dapat menghambat pergerakan bakteri serta mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma bakteri. Penghambatan metabolisme energi ini dilakukan dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri.

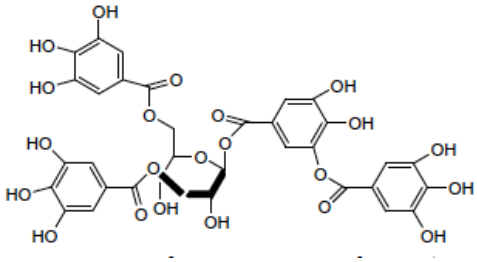
Sedangkan alkaloid memiliki mekanisme kerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran *lipid* dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada *liposom* (Rijayanti, 2014). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein. Karena zat aktif permukaan saponin mirip deterjen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak (Sani, 2013). Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran lipid, sehingga liposom mengalami kebocoran (Madduluri *et al*., 2013).



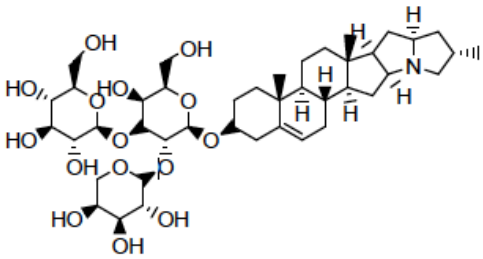
Gambar 2. Struktur Kimia Flavonoid (Shinta *et al.,* 2018)



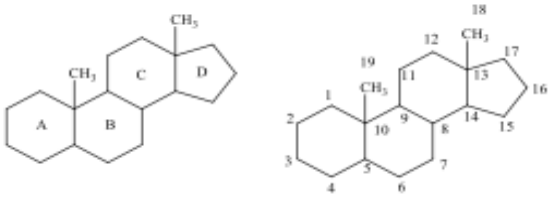
Gambar 3. Struktur Kimia Alkaloid quinine (Noer *et al.*, 2018)



Gambar 4. Struktur Kimia Tanin (Noer *et al.*, 2018)



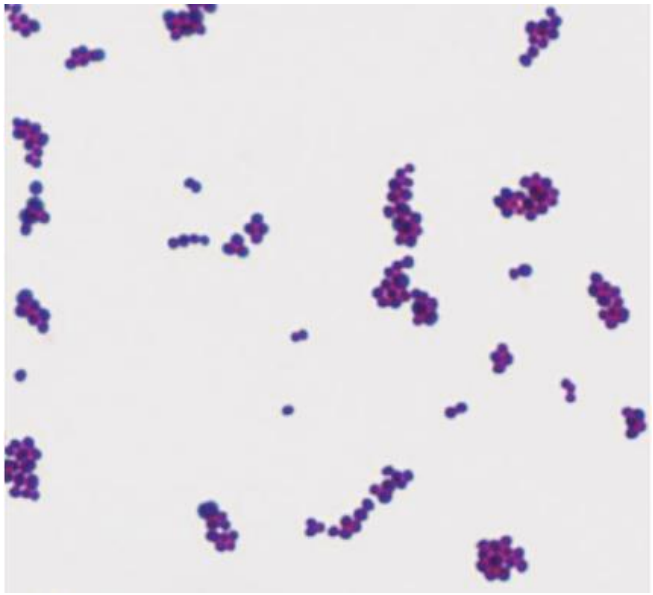
Gambar 5. Struktur Kimia Saponin (Noer *et al.*, 2018)



Gambar 6. Struktur Kimia Steroid (Heliawaty, 2018)

2.2 *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Definisi dan morfologi



Gambar 7 *Staphylococcus aureus* (Carroll *et al.*, 2016)

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk kokus tersusun bergerombol seperti buah anggur berdiameter 0,8-1 mikron, dan bersifat gram positif, tersebar luas dialam dan ada yang hidup sebagai flora normal pada manusia yang terdapat di aksila, daerah inguinal dan perineal, dan lubang hidung bagian anterior. Sekitar 25-30% manusia membawa *Staphylococus aureus* didalam rongga hidung dan kulitnya (Soedarto, 2014).

Staphylococcus aureus bersifat koagulase positif, yang membedakannya dari spesies lain. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan cepat di beberapa media dalam suasana aerob atau mikroaerofilik pada suhu 37°C, walaupun sebenarnya bisa tumbuh padasuhu 6°C - 48°C (Carroll *et al.,* 2016).

Staphylococcus aureus membentuk pigmen lipochrom yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. *Staphylococcus aureus* pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning (Dewi, 2013). Sebagian *Staphylococcus aureus* besar bersifat hemolitik, membentuk cincin hemolitik transparan di sekitar koloni pada plat agar darah (Sato *et al.,* 2019). Selain itu, *Staphylococcus aureus* tidak membentuk spora atau flagela, tetapi memiliki kapsul, dapat menghasilkan pigmen kuning keemasan, dan menguraikan mannitol (Tayeb-Fligelman *et al.,* 2017).

Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti secara lebih terinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* yang terbagi menjadi 32 genus diberikan oleh Ogston karena bakteri ini pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur , sedangkan nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan. Menurut

Rosenbach, *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi pada luka dan furunkel (Montville dan Matthews, 2017).

Menurut Vasanthakumari (2016) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut.

Divisi	: *Protophyta*
Kelas	: *Schizomycetes*
Ordo	: *Eubacteriales*
Famili	: *Micrococccceae*
Genus	: *Staphylococcus*
Spesies	: *Staphylococcus aureus*

2.2.2 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Sebanyak 30% kolonisasi *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan pada lubang hidung orang sehat dan dapat ditemukan pada permukaan kulit. *Staphylococcus aureus* menghasilkan peptidoglikan yang merupakan polimer pembentuk dinding sel bakteri, peptidoglikan berfungsi menghambat respon inflamasi dan memiliki *endotoxin-like-activity*. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki protein sel permukaan atau *Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules (MSCRAMMs),* seperti *clumping factors* yang berikatan dengan fibrinogen, *fibronectin-*

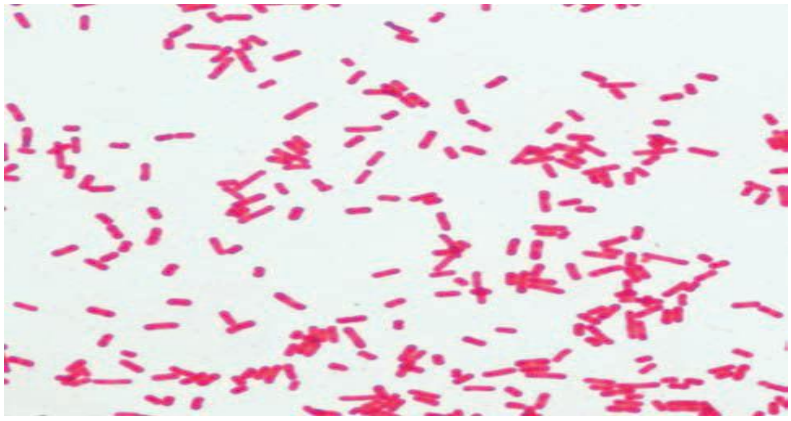
binding proteins yang berikatan dengan fibronektin, kolagen, dan *bone sialoprotein-binding proteins.* Protein permukaan tersebut bersama-sama memperantarai perlekatan bakteri ke jaringan inang. Keberadaan faktor tersebut dihubungkan dengan terjadinya endokarditis, osteomielitis, septik arthritis, dan infeksi akibat penggunaan alat prostetik serta kateter. Infeksi dari *Staphylococcus aureus* dapat terjadi apabila dijumpai sisi lemah dari penjamu, seperti kulit yang terluka misalnya infeksi pada luka operasi. *Staphylococcus aureus* juga dapat masuk melalui membran mukosa misalnya pada pneumonia akibat penggunaan ventilator. *Staphylococcus aureus* mampu bertahan hidup dan mengakibatkan berbagai manifestasi klinis karena memiliki banyak faktor virulensi (Utaminingsih *et al.*, 2015). Kolonisasi nasal dapat menyebabkan autoinfeksi dengan periode inkubasi bakteri biasanya memiliki onset gejala setelah mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi biasanya 30 menit hingga 8 jam. Koloni *Staphylococcus aureus* dapat terbawa pada waktu yang tak ditentukan; beberapa individu dapat menjadi pembawa secara kronik. Namun, beberapa individu menjadi pembawa secara akut (Desanto , 2011).

Staphylococcus aureus memiliki dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan, Peptidoglikan mempunyai aktifitas seperti endotoksin yang menstimulasi keluarnya sitokin dari makrofag yaitu interleukin-1 dan aktifasi komplemen, Kapsul yang

dimiliki bakteri akan mencegah fagositosis PMN dan adanya toksin dan enzim yang dihasilkan akan merusak sel inang. Selain itu, faktor dari yang menyebabkan sukarnya penanganan infeksi *Staphylococcus aureus* adalah adanya resistensi bakteri terhadap antibiotic (Carroll *et al.*, 2016) .

2.3 Bakteri *Escherichia coli*

2.3.1 Definisi dan Morfologi



Gambar 8 *Escherichia coli* (Carroll *et al.*, 2016)

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm, diameter 0.7 μm, lebar 0.4-0.7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. Bentuk sel dari bentuk seperti *coccal* hingga membentuk sepanjang ukuran filamentous. Tidak ditemukan spora, motil berbentuk flagel peritrik,.Selnya bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi

yang nyata (Carroll *et al.*, 2016). *Escherichia coli* dapat bertahan hidup dimedium sederhana menghasilkan gas dan asam dari glukosa dan memfermentasi laktosa. Pergerakan bakteri ini motil, tidak motil, dan peritrikus, ada yang bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif (Wahyuningsih, 2019).

Bakteri *Escherichia coli* tumbuh pada suhu 10 – 40^{O}C (suhu optimum 37^{O}C) dan pH optimum untuk pertumbuhannya berkisar 7,0 – 7,5. Bakteri *Escherichia coli* sangat sensitif terhadap panas dan dapat diinaktifkan pada suhu pasteurisasi, tetapi bakteri ini juga dapat tumbuh pada suhu 15-45^{O}C (Supriyatin dan Suparno, 2013). Pada tes pewarnaan *Escherichia coli* menghasilkan tes positif terhadap indole lisin dekarboksilase, dan menfermentasi manitol serta menghasilkan gas dari glukosa. Isolasi dari air seni dengan cepat diidentifikasi sebagai *Escherichia coli* dikarenakan terjadi hemolisis dalam agar darah, memiliki sifat morfologi yang khas pada media pembeda seperti media agar EMB akan menunjukkan warna kemilau *"metallic sheen*" dan tes indole positif. Selain itu juga *Escherichia coli* juga dapat diidentifikasi dengan tes MUG yang positif (Carroll *et al.*, 2016).

Klasifikasi *Eschericia coli* menurut Carroll *et al.* (2016) yaitu sebagai berikut

Kingdom : *Procaryotae*

Filum : *Proteobakteria*

Kelas : *Scotobacteria*

Ordo : *Enterobakteriae*

Famili : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

2.3.2 Patogenitas *Escherichia coli*

Escherichia coli menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. Bakteri ini diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensinya, dan setiap kelompok menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda. Manifestasi klinik infeksi oleh *Escherichia coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala. Namun, ada beberapa *Escherichia coli* yang memperoleh sifat virulensi spesifik sehingga mereka mampu bertahan dan beradaptasi dengan kondisi yang baru dengan baik, dan ini memungkinkan mereka sebagai penyebab spektrum penyakit yang luas. Atribut virulensi ini sering dikodekan pada unsur-unsur genetik yang dapat dimobilisasi ke dalam berbagai strain untuk menciptakan kombinasi baru dari faktor virulensi, atau pada elemen genetik yang mungkin pernah bergerak, tetapi sekarang telah berevolusi menjadi terkunci ke dalam genom. Hanya kombinasi faktor virulensi yang paling berhasil yang bertahan untuk menjadi spesifik *"pathotypes*" dari *Escherichia coli* yang mampu menyebabkan penyakit pada individu yang sehat, seperti penyakit enterik/diare, infeksi saluran kemih (ISK), sepsis dan

meningitis. *Urinary Tract Infections* (*UTI*) adalah infeksi ekstraintestinal *Escherichia coli* yang paling umum dan disebabkan oleh *Uropathogenic Escherichia coli (UPEC)*. Infeksi ekstraintestinal yang paling sering adalah meningitis dan sepsis, terutama *meningitis-associated Escherichia coli (MNEC)* (Carroll *et al.*, 2016)

2.4 Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Carroll *et al.*, 2016). Salah satu zat antibakteri yang banyak dipergunakan adalah antibiotik. Antibiotik adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup termasuk struktur analognya yang dibuat secara sintetik, yang dalam kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu spesies atau lebih mikroorganisme (Siswodihardjo dan Siswandono, 2016).

2.5 Metode Pengujian Antibakteri

Uji sensitifitas antibakteri merupakan suatu uji untuk menentukan tingkat kepekaan bakteri terhadap zat antibakteri dan mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri. Beberapa metode antibakteri sebagai berikut:

A. Metode Dilusi

Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu:

1) Pengenceran Serial Dalam Tabung

Metode ini menggunakan beberapa tabung reaksi yang di isi dengan inokulum kuman ditambah larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Mengencerkan zat yang akan diuji aktivitas antibakterinya ke dalam media cair sesuai serial, lalu diinokulasi dengan kuman dan di inkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Kemudian menentukan aktivitas zat sebagai kadar hambat minimal (KHM).

2) Lempeng Agar

Mengencerkan zat mantibakteri dalam media agar, lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Biarkan agar membeku, setelah membeku kuman diinokulasi pada media agar lalu diinkubasi pada waktu dan suhu sesuai dengan mikroba uji. Kadar hambat minimal (KHM) ditentukan dari kadar terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman.

B. Metode Difusi

Ada beberapa cara pada metode difusi ini, yaitu:

1) Cakram *(disc diffusion)*

Metode ini menggunakan kertas cakram sebagai wadah untuk menampung zat antimikroba. Biasanya carkam diletakkan diatas media uji yang telah di inokulasi mikroba uji, lalu dilakukan

inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37^{o}C. Setelah inkubasi, barulah hasil berupa terbentuk atau tidak zona jernih di sekitar cakram dapat diamati. Zona jernih tersebut menggambarkan zona hambat pertumbuhan mikroba uji. Efektivitas antibakteri didasarkan pada klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Prawira *et al.*, 2013).

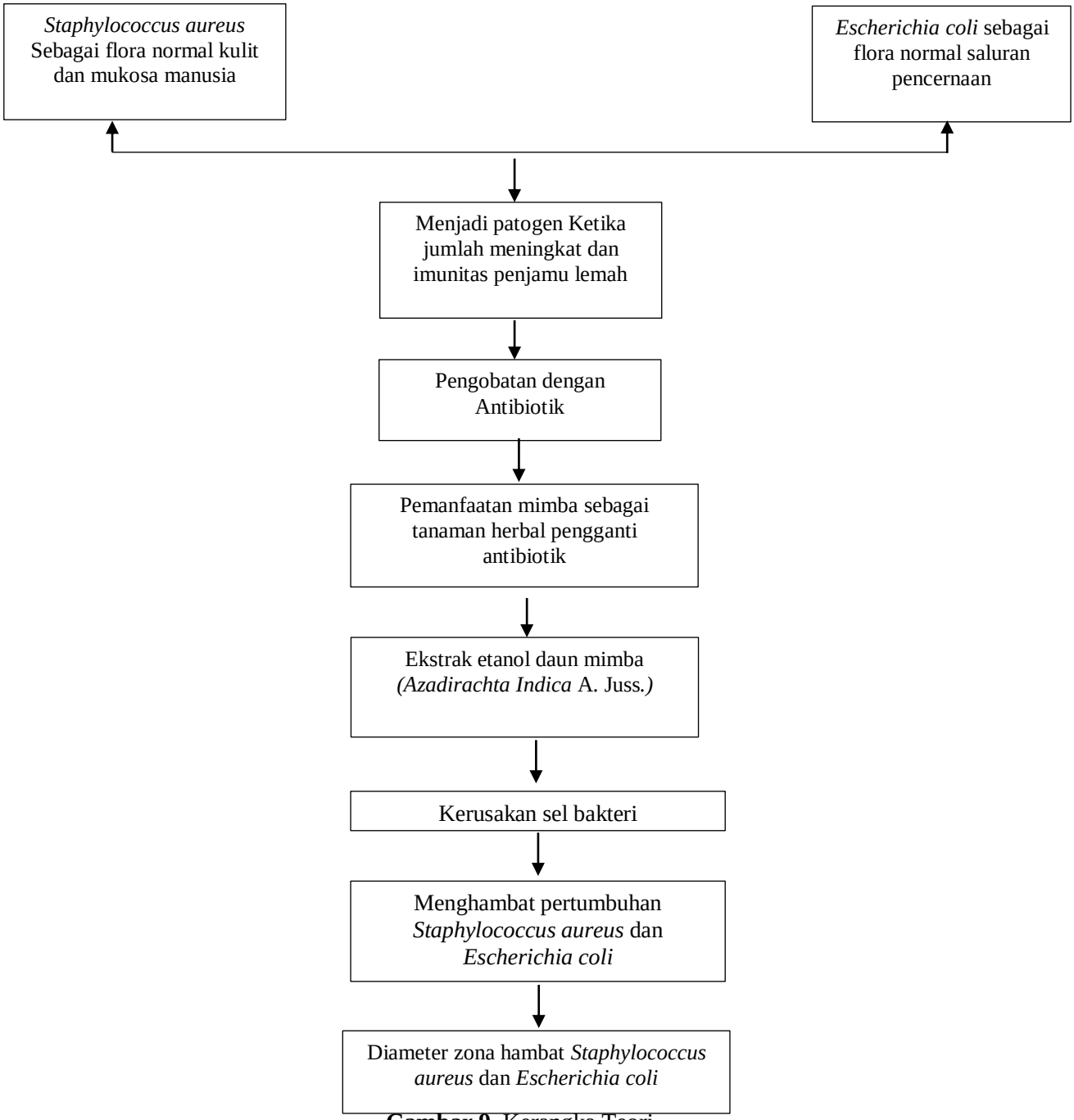
2) Cara Parit (*Ditch plate)*

Metode ini dilakukan dengan membuat parit pada media uji yang telah diinokulasi bakteri uji. Parit tersebut kemudian diisi dengan zat antibakteri, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan kondisi optimum setiap bakteri uji. Terbentuk atau tidak zona hambat di sekitar parit merupakan hasil yang diamati pada metode ini (Khusuma *et al.*, 2019.)

3) Cara Sumuran *(Cup/hole plate)*

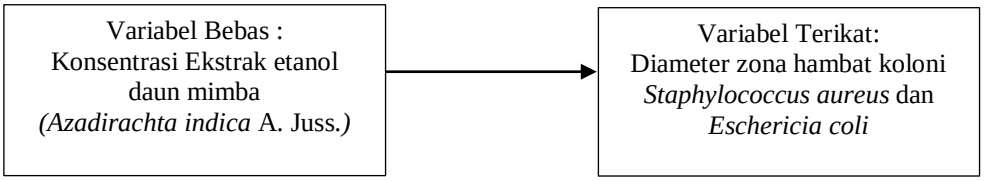
Cara sumuran dilakukan dengan membuat lubang pada media uji yang telah diinokulasi bakteri uji. Lubang tersebut diisi dengan zat antimikroba yang akan di uji. Kemudian lakukan inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan kondisi optimum bakteri yang di ujikan (Khusuma *et al.*, 2019). Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dalam mm dengan cara mengukur zona hambat vertikal dan zona hambat horizontal yang ditambahkan dan dibagi 2. Perhitungan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 cm (Soleha *et al.*, 2015) .

2. 6 Kerangka teori



Gambar 9. Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 10 Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Dasar teori diatas didapatkan hipotesis :

H1 : Terdapat pengaruh efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)* terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli.*

H0 : Tidak terdapat pengaruh efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. juss*)* terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli.*

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik untuk mengetahui perbedaan efektivitas dari ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)* pada diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* Metode yang digunakan adalah metode metode *disk diffusion* pada media *Muller-Hinton Agar (MHA).*

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung pada bulan Mei 2021.

3.3 Alat, Bahan uji dan Mikroba Uji Penelitian

3.3.1 Mikroba

Mikroba uji dalam penelitian ini adalah bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia*

coli yang merupakan biakan bakteri yang didapatkan dari Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Daerah Istimewa Yogyakarta.

3.3.2 Bahan Uji Penelitian

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mimba ***(****Azadirachta indica A. Juss****)*** yang sudah dipotong kecil-kecil menggunakan gunting dan dikeringkan dengan sinar matahari sedang selama 3 hari. Kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk sebanyak 500 gram. kemudian serbuk daun mimba ditimbang sebanyak 500 gram dengan timbangan digital dan di ekstrak etanol melalui Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.3.3 Media Kultur

Media kultur yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Muller-Hinton agar* (MHA) .

3.3.4 Alat yang digunakan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Autoclave*, inkubator, *rotatory evaporator*, mikroskop,tabung erlenmeyer, lampu bunsen, borer, cawan petri, mistar atau jangka sorong, pipet tetes, pipet mikro, rak dan tabung reaksi, *handschoen*, masker, ose, kapas steril, *object glass*, kertas label

3.4 Variabel Penelitian

Dalam penelitian digunakan beberapa variabel yang diai ke dalam dua bagian yaitu variabel dependen dan independen.

3.4.1 Variabel Dependen

Variabel dependen pada penelitian ini adalah diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus.*

3.4.2 Variabel Independen

Variabel independent adalah ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)* dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.

3.5 Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara ukur	Hasil ukur	Skala
1	Ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)* 100%,50%, 25%, 12,5 %, 6,25%	Suatu zat yang diperoleh dari ekstraksi daun mimba menggunakan etanol. Kemudian ekstrak etanol dengan volume tertentu diencerkan menggunakan akuades sehingga konsentrasi mencapai 100%, 50%, 25%, 12,5 %, 6,25%	Menggunakan persamaan: N1xV1=N2xV2 N1=Konsentrasi awal N2=Konsentrasi akhir V1=Volume awal V2=Volume akhir.	Ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. Juss*)* 100%, 50%,25%, 12,5%, dan 6,25%.	Ordinal
2	Daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus.*	Pertumbuhan bakteri yang terbentuk setelah variabel terikat dan kontrol positif serta negatif diberikan dengan menggunakan metode *disc diffusiion.*	Menggunakan jangka sorong untuk mengukur zona hambat	Zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)	Numerik
3.	Daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*	Pertumbuhan bakteri yang terbentuk setelah variabel terikat dan kontrol positif serta negatif diberikan dengan menggunakan metode *disc diffusiion.*	Menggunakan jangka sorong untuk mengukur zona hambat	Zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)	Numerik

3.6 Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini dilakukan pemberian kadar ekstrak daun mimba yang diuji, yaitu pada kadar 100 %, 50 % , 25 %, 12,5%, dan 6,25% , serta dilakukan uji kontrol positif dengan memberikan antibiotik ciprofloxacin 5 µg untuk bakteri *Escherichia coli* dan Amoxicillin 30 µg untuk *Staphylococcus aureus* sedangkan kontrol negatif dengan pemberian aquades. Pembuatan konsentrasi dihitung sebagai berikut Untuk menentukan banyaknya pengulangan yang dilakukan digunakan rumus Federer (Sudigdo *et al.*, 2014):

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

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

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$n \geq (15 + 6) / 6$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan :

n = banyaknya sampel (pengulangan)

k = banyaknya perlakuan

Dengan demikian, setiap kelompok perlakuan terdapat minimal 3,5 sampel. Peneliti memilih menggunakan 3,5 sampel untuk tiap kelompok perlakuan. Besar sampel dibulatkan menjadi 4 untuk menghindari kesalahan dengan jumlah kelompok perlakuan sebanyak 7 kelompok sehingga jumlah seluruh subjek penelitian sebanyak 28 sampel.

3.7 Kelompok Perlakuan

Tabel 2. Kelompok Perlakuan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Kelompok	Perlakuan
K(-)	Kelompok *Staphylococcus aureus* yang diberikan aquadest sebagai kontrol (-)
PS1	Kelompok *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 100%
PS2	Kelompok *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 50%
PS3	Kelompok *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 25%
PS4	Kelompok *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 12,5%
PS5	Kelompok *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 6,25%
K(+)	Kelompok *Staphylococcus aureus* yang diberikan Amoxicillin 30 μg sebagai kontrol (+)

Tabel 3. Kelompok Perlakuan Bakteri *Escherichia coli*

Kelompok	Perlakuan
K(-)	Kelompok *Escherichia coli* yang diberikan aquadest sebagai kontrol (-)
PE1	Kelompok *Escherichia coli* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 100%
PE2	Kelompok *Escherichia coli* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 50%
PE3	Kelompok *Escherichia coli* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 25%
PE4	Kelompok *Escherichia coli* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 12,5%
PE5	Kelompok *Escherichia coli* yang diberikan ekstrak daun mimba dengan konsentrasi 6,25%
K(+)	Kelompok *Escherichia coli* yang diberikan Ciprofloxacin 5 μg sebagai kontrol (+)

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Determinasi dan Pembuatan Ekstrak Daun Mimba

A. Uji Determinasi Daun Mimba

Uji determinasi daun mimba akan dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung

B. Ekstraksi Daun Mimba

Daun mimba sebanyak 3 kg dipotong kecil-kecil menggunakan gunting, selanjutnya dikeringkan dengan sinar matahari sedang selama 3 hari. Kemudian sampel dihaluskan dengan blander hingga menjadi serbuk. Serbuk daun mimba ditimbang sebanyak 500 gram menggunakan timbangan digital. Serbuk dimasukkan kedalam gelas baker dengan menambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml dengan dilakukan remaserasi pada daun mimba. Kemudian dilakukan pengadukan dalam dua kali sehari selama 10 menit. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam dalam suhu ruang, lalu antara filtrat dan residu disaring menggunakan corong dan kertas saring. Filtrat yang terkumpul dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 68ºC hingga ekstrak menjadi pekat. Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol daun mimba ada empat macam yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Kemudian dilakukan uji kontrol positif dengan memberikan antibiotik ciprofloxacin 5 µg untuk bakteri *Escherichia coli* dan Amoxicillin 30 µg untuk bakteri

Staphylococcus aureus. Sedangkan kontrol negatif dengan pemberian aquades.

3.8.2 Sterilisasi Alat

Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 120°C selama 15-20 menit agar terbebas dari pengaruh mikroorganisme lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Alat-alat ditunggu sampai mencapai suhu ruangan dan kering setelah itu baru bisa digunakan

3.8.3 Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media *Mueller Hinton Agar* 3,4 g dilarutkan dalam 100 ml aquades, lalu dipanaskan sampai larut. Media disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C

3.8.4 Uji Identifikasi Bakteri

A. Inokulasi Pada Media Selektif

Penanaman dilakukan dengan cara hasil kultur bakteri diinokulasikan pada media *Mannitol Salt Agar*, kemudian diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* ditandai dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning (Husniah, 2019). Isolasi *Escherichia coli* dilakukan dengan melakukan inokulasi kultur ke media diferensial *Mac Conkey Agar* (MCA) (Swetha *et al.,* 2014).

B. Pewarnaan Gram

Metode pewarnaan Gram digunakan untuk menentukan bakteri yang telah dikultur merupakan bakteri gram positif atau negatif dimana dilakukan prosedur sebagai berikut :

a. Buat apusan dari tiap bakteri
b. Teteskan pewarna dasar *crystal violet*, biarkan terendam selama 1 – 2 menit.
c. Cuci kelebihan pewarna dengan air mengalir secara hati hati.
d. Tetesi apusan dengan lugol atau garam iodin, biarkan selama 1-2 menit.
e. Buang kelebihan reagen, jangan dicuci dengan air.
f. Rendam apusan dalam alcohol 96% selama 30 detik.
g. Cuci apusan dengan air mengalir secara hati-hati.
h. Warnai dengan safranin selama 1 menit sebagai warna pembanding
i. Cuci kembali safranin yag berlebih di air mengalir lalu dikeringkan
j. Amati apusan di bawah mikroskop, gambar serta beri keterangan.

C. Uji *Katalase*

Uji *katalase* dilakukan untuk mendeteksi adanya enzim *sitokrom oksidase*. Uji ini dilakukan dengan meneteskan larutan *hidrogen peroksida* 3% ke kaca objek yang telah ditambahkan bakteri uji. Jika terbentuk gelembung, maka hal tersebut menunjukkan hasil tes

positif. Hal tersebut menandakan bahwa terdapat bakteri *Staphylococcus sp*.

D. Uji Biokimiawi

a. Uji Gula-gula

Uji gula-gula bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri untuk memfermentasi gula-gula. Larutan gula yang dipakai adalah glukosa, laktosa, mannitol, sukrosa. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna dari biru menjadi kuning (Molita, 2017).

b. Uji Indol

Uji Indol dilakukan dengan menyiapkan media agar miring SIM pada tabung reaksi. Inokulasikan bakteri sebanyak satu *ose* dalam tabung reaksi yang berisi media SIM tersebut. Inkubasikan biakan selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu ditetesi dengan pereaksi kovac sebanyak 10 tetes lalu dikocok secara perlahan dan diamati perubahan warna yang terjadi

c. Uji TSIA

Uji TSIA dilakukan dengan menginokulasikan biakan bakteri pada media TSIA Diambil 1 ose koloni bakeri ditanam dengan cara ditusuk ke dalam media kemudian diangkat dan digoreskan pada permukaan media TSIA, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil uji positif akan terjadi perubahan

warna pada media TSIA dibagian lereng dan dasar, terbentuknya H_2S, serta media akan terangkat atau pecah.

3.8.5 Uji Aktivitas Antibakteri

A. Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Mimba

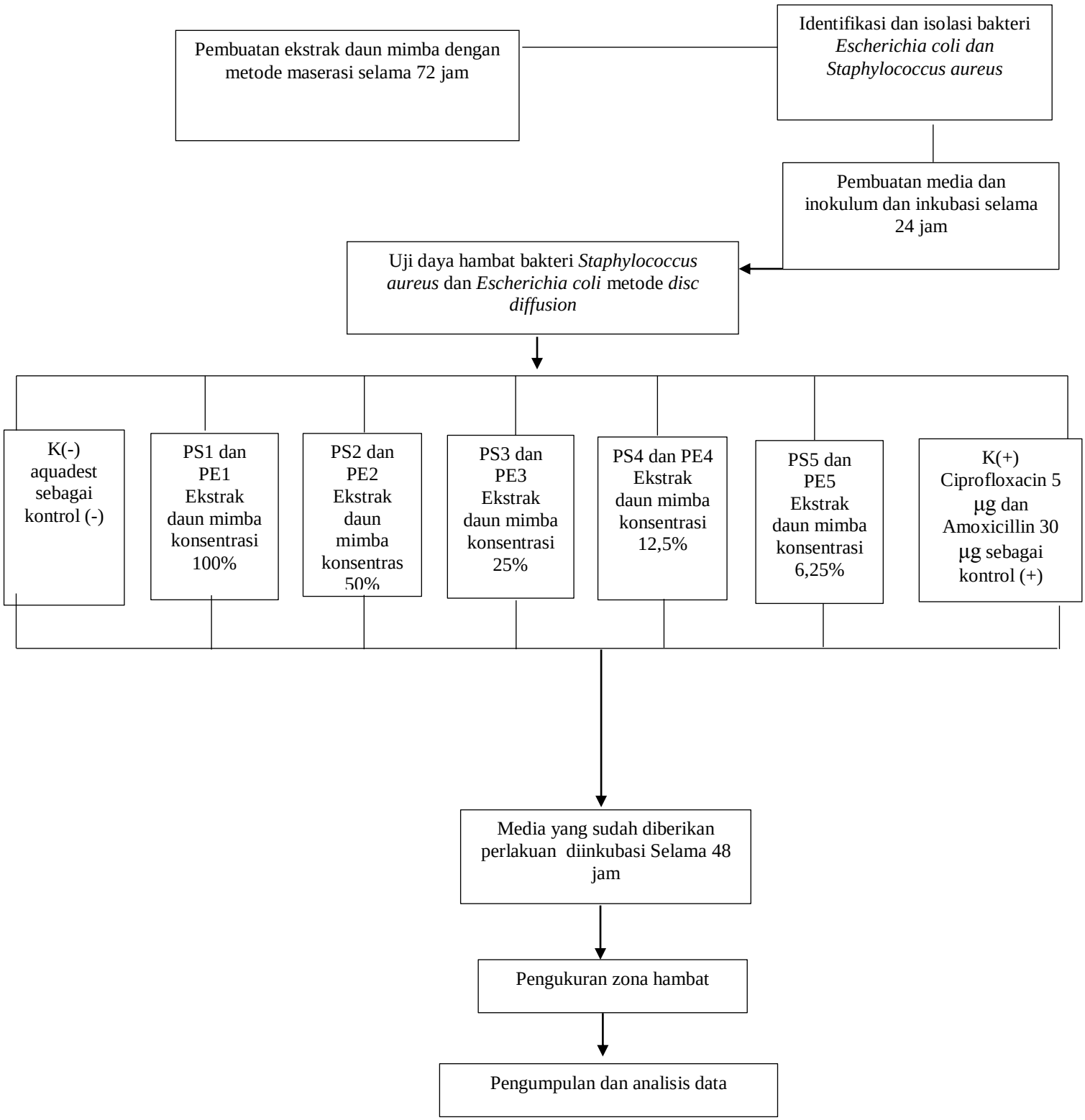
1. Pada pengenceran 100%, ekstrak etanol daun mimba tidak dilarutkan dengan akuades
2. Pada pengenceran 50%, larutkan 10 ml ekstrak etanol daun mimba ke dalam 10 ml akuades di dalam tabung reaksi.
3. Pada pengenceran 25%, larutkan 10 ml ekstrak etanol daun mimba konsentrasi 50% ke dalam 10 ml akuades di dalam tabung reaksi.
4. Pada pengenceran 12,5%, larutkan 10 ml ekstrak etanol daun mimba konsentrasi 25% ke dalam 10 ml akuades di dalam tabung reaksi.
5. Pada pengenceran 6,25%, larutkan 10 ml ekstrak etanol daun mimba konsentrasi 12,5% ke dalam 10 ml akuades di dalam tabung reaksi.
6. Kelima larutan tersebut kemudian dikocok hingga homogen.

B. Uji Diameter Zona Hambat dengan Metode *Disc Diffusion*

1. Teteskan masing-masing cakram uji kosong dengan 50 µl larutan stok konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% kemudian diamkan selama 15 menit.
2. Teteskan cakram uji kosong dengan 50 µl akuades sebagai kontrol negatif, kemudian diamkan selama 15 menit.
3. Tempelkan cakram antibiotik siproflosaksin 5µg dan Amoxicillin 30 µg sebagai kontrol positif, kemudian diamkan selama 15 menit.
4. Encerkan bakteri dengan mencampurkan 1 ose suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl
5. Homogenkan menggunakan *vortex* dan kekeruhannya distandarisasi dengan konsentrasi 0,5 Mc Farland sehingga jumlah bakteri sesuai standar untuk uji kepekaan, yaitu 105 - 108 /ml.
6. Oleskan larutan bakteri yang telah distandarisasi tadi pada media *Mueller-Hinton Agar.*
7. Letakkan cakram uji yang telah ditetesi larutan stok, akuades, dan amoxicillin o30 µg untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan ciprofloxacin 5 µg untuk bakteri *Escherichia coli aureus* di atas permukaan media *Mueller Hinton Agar* secara higienis di dalam *laminar air flow.*

8. Media yang telah dibuat tadi kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam.
9. Setelah 48 jam, ukur diameter zona terang (*clear zone*) dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong. Prosedur di atas dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali pada setiap variabel terikat.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 11. Diagram Alur penelitian

3.10 Pengolahan dan Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji statistik parametrik jika data terdistribusi normal dan varian antar kelompok sama. Untuk mengetahui normal atau tidaknya distribusi data, dilakukan analisis normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk,* sedangkan untuk mengetahui varian antar kelompok dilakukan uji homogenitas dengan uji lavene statistik. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk melihat signifikansi tiap kelompok. Apabila terdapat perbedaan bermakna antar kelompok yang ditandai dengan $p < 0,05$, maka diuji lebih lanjut dengan uji *post-hoc Least Significant Differences (LSD*). Selanjutnya digunakan uji statistik *Independent T-test*. Analisis ini digunakan untuk menganalisis variabel bebas dan terikat, yaitu untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Interpretasi uji statistik ini, yaitu :

1. Bila $p<\alpha$ (0,05) maka hasil bermakna, yang artinya Ha diterima dan Ho ditolak, terdapat perbedaan bermakna antara variabel independen dan dependen atau hipotesis penelitian diterima.
2. Bila $p>\alpha$ (0,05) maka hasil tidak bermakna, yang artinya Ha ditolak dan Ha, tidak mendukung adanya perbedaan yang bermakna dan tidak ada pengaruh variabel independen terhadap dependen atau hipotesis penelitian ditolak.

3.11 *Ethical Clearance*

Izin etik penelitian (*ethical clearance*) untuk penelitian ini dikeluarkan Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran dengan nomor *Ethical Clearance* adalah 1519/UN26.18/PP.05.02.00/2021.

.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian berikut didapatkan kesimpulan bahwa terdapat pengaruh efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. juss) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan terdapatnya zona hambat yang terbentuk pada media uji yang diberikan ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. juss) konsentrasi terendah yaitu pada konsentrasi 6,25% .

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. juss) sebagai kontrol positif pada penelitian selanjutnya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar hambat minimum dan kadar bunuh mininum ekstrak etanol daun mimba *(Azadirachta indica* A. juss) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
3. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan terkait aktivitas antibakteri ekstrak daun mimba *(Azadirachta indica* A. juss) terhadap petumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

Akpan IO, Ejele AE, Ogali RE, Achugasim O, Osuagwu CG. 2016. Bioassay-guided isolation of antimicrobial compound against (*Staphylococcus aureus*) from *Azadirachta indica* Plant. Journal of Current Chemical and Pharmaceutical Sciences, 6(2), 17–2

Aminah JM. 2015. *Multidrug Resistant Escherichia Coli* Pada Sumber Air Minum Di Kota Tangerang Jurnal Medikes,Volume 3, edisi1I pp. 31–41.

Amrie AGA, Ivan, Anam S, Ramadhanil. 2014. Uji Efektifitas Ekstrak Daun dan Akar Harrisonia perforata Merr terhadap Pertumbuhan Bakteri Vibrio cholerae. Online Jurnal of Natural Science.

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbankes). 2013. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Baharutan A, Rares FE, Soeliongan S. 2015.Pola bakteri penyebab infeksi nosokomial pada ruang perawatan intensif anak di BLU RSUP Prof. Dr. RD Kandou Manado. eBiomedik, 3(1).

Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda, SK. 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of pharmaceutical analysis, *6*(2), 71–79. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005

Carroll KC, Hobden JA, Miller S, Morse SA. 2016. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 27th ed. New York: Mcgraw-Hill Education. pp 227-229

Elliott T, Worthington T, Osman H, Gill M. 2013. Mikrobiologi Kedokteran & Infeksi. Ed. 4. Jakarta: EGC.

Farfan MJ, Torres AG. 2012. Molecular mechanisms that mediate colonization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. Infection and immunity, 80(3), 903-913.

Gunawan SG. 2016. Farmakologi Dan Terapi Edisi 6. 571–78.

Hashmat I, Azad H, Ahmed A. 2012. Neem (Azadirachta indica A. Juss) - A nature drugstore: An overview.International Research Journal of Biological Science 2012;1(6):76-79.

Heliawati, L.2018. Kimia Bahan Organik Alam. Pascasarjana UNPAK.

Indarto. 2015. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Golongan Senyawa Organik dariKulit dan Kayu Batang Tumbuhan Artocarpus dadah Miq. Jurnal Pendidikan Fisika Al- Biruni, Vol.4 No (1)

Julianto, TS. 2019. Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia, Journal of Chemical Information and Modeling. Available at: http:/library.uii.ac.id;e-mail: perpustakaan@uii.ac.id.

Irianto K. 2013. Mikrobiologi Medis. Bandung: Alfabeta.

Khusuma A, Safitri Y, Yuniarni A, Rizki K. 2019. Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji. Jurnal Kesehatan Prima, 13(2), 151-155.

Kuswiyanto. 2016. Bakteriologi 2 Buku Ajar Analisis Kesehatan. Jakarta.

Lantah PL, Montolalu LA, Reo AR. 2017. Kandungan Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut Kappaphycus Alvarezii Media Teknologi Hasil Perikanan, 5(3), P. 73.

LestarI Y, Ardiningsih P, Nurlina .2016. Aktivitas Antibakteri Gram Positif Dan Negatif Dari Ekstrak Dan Fraksi Daun Nipah (Nypa Fruticans Wurmb., Jkk, 5(4), Pp. 1–8.

Mardiah. 2017. Uji Resistensi Staphylococcus aureus Terhadap Antibiotik, Amoxillin, Tetracyclin dan Propolis. Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan, *8(16).* 1-6

Madduliri, Suresh, Rao, K. Babu. Sitaram, B. 2013. In vitro evaluation of five Indegenous plants extract Againts five bacterial Phatogens of Human. International Journal of Pharmacy and Phrmaceutical Science 5(4) : 679-684.

Mierza V. 2020 Aktivitas Antibakteri dan Mekanisme Kerja Komponen Kimia Umbi Rarugadong (Dioscorea pyrifolia Kunth.) Terhadap Kebocoran Sel Escherichia coli dan Staphylococcus aureus', pp. 20–21.[Disertasi] Universitas Sumatera Utara.

Montville TJ, Matthews K, Kniel EK. 2017. Food microbiology: An introduction. Washington DC: ASM Press.

Mustofa S, Anisya V. 2020 Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Rhizophora Apiculata Pada Tikus Yang Dipaparkan Asap Rokok Hepatoprotective effects of rhizophora apiculata extract in Rats exposed to cigarette smoke. 4, pp. 12–17.

Muttaqien E Z dan Soleha TU. 2014. Pola Kepekaan Staphylococcus Aureus Terhadap Antibiotik Penisilin Periode Tahun 2008-2012 Di Bandar Lampung. Jurnal Majority, 3(6), pp. 47–55. Available at: http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/288/286.

Noer S, Pratiwi RD, Gresinta E. 2018 .Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid) sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (Ruta angustifolia L.). Jurnal Eksakta, 18(1), pp. 19–29. doi: 10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3.

Pratiwi DS. 2013. Kajian Uji Resistensi Dan Sensitivitas Antibiotik Ceftriaxon dan Ciprofloxacin pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di RSUP Fatmawati. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

Prawira MY, Sarwiyono, Surjowardoyo P. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia Calbura L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Penyebab Penyakit Mastifis Pasa Sapi Perah. Fakultas Perternakan Universitas Brawijaya.

Pamila UA, Karpagam S. 2017. Effect of environmental pollution on the quality of an edible plant Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb. International Research Journal of Biochemistry and Biotechnology, 4(1), 061-067.

Pandey, Garima, Sayyada K, Pandey M, Rawat A. 2018. Altitudinal Variation Of Berberine, Total Phenolics And Flavonoid Content In *Thalictrum Foliolosum* And Their Correlation With Antimicrobial And Antioxidant Activities. Journal Of Ayurveda And Integrative Medicine, 9 (3), 169–176.

Radji M. 2012. Peranan Bioteknologi Dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. Pharmaceutical Sciences And Research (PSR). 2(3).

Rakhmawatie MD, Mustofa. 2012. Efek perbedaan dosis siprofloksasin pada resistensi uropatogen Escherichia coli: simulasi model kinetika in vitro. [Tesis]. Universitas Gajah Mada Tersedia dalam etd.ugm.ac.id.

Raphael E. 2012. Phytochemical Constituents Of Some Leaves Extract Of Aloe Vera And *Azadirachta Indica* Plant Species. Global Advanced Research Journal Of Environmental Science And Toxicology, 1(2), 14–17.

Romaniuk JAH, Cegelski. 2015. *Bacterial Cell Wall Composition and The Influence of Antibiotics by Cell-Wall and Whole-cell NMR*. Phil. Trans. R. Soc. B 370: 20150024.

Sani RN, Nisa FC , Andriani D , Madigan JM. 2013. Analisis reedmen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut (Tetraselmis chui). Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2 (2): 121-126

Sato A, Yamaguchi T, Hamada M, Ono D, Sonoda S, Oshiro T. 2019. Morphological and biological characteristics of *Staphylococcus aureus* biofilm formed in the presence of plasma. Microb Drug Resist. 25, 668–676.

Saxena RC. 2015. Mimba Untuk Pengendalian Hama Dan Konservasi Lingkungan Yang Berkelanjutan. ECHO Asa Notes, 24, 27p.

Sayekti SF, Subiwahyudi A, Prasetyo EA. 2016. Perbedaan Efektivitas Daya Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (Azadirachta Indica A. Juss) Dibanding NaOCl 2,5% Terhadap Enterococcus Faecalis (The Difference of Antibacterial Effectiveness of Neem Leaf Extract (Azadirachta Indica A.

Juss) Than NaOCl 2,5% Against Enterococcus Faecalis).Conservative Dentistry Journal, 6(2), p. 71. doi: 10.20473/cdj.v6i2.2016.71-76.

Septiani S, Dewi EN, Wijayanti I.2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (Cymodocea Rotundata) terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus dan Escherichia Coli (Antibacterial Activities Of Seagrass Extracts (Cymodocea Rotundata) Against Staphylococcus aureus and Escherichia coli). Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology, [Online] Volume 13(1), pp. 1-6.https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6 [Accessed 5 Jul. 2021].

Setiawansyah A, Hakim A, Wirasisya DG. 2018. Evaluation and Identification of Antibacterial Compound of Neem Leaves and Barks (Azadirachta indica A.Juss) Against Escherichia coli', Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia, 11(2), pp. 40–48.

Setiabudy, Rianto. 2016. Farmakologi dan Terapi Edisi VI. Jakarta: FKUI

Siswodihardjo, Siswandono. 2018. Kimia Medisinal 2, Edisi Kedua. Surabaya : Airlangga University Press

Soleha TU, Carolina N ,Kurniawan, SW. 2015. The Inhibition Test of Red Betel Leaves (Piper crocatum) Towards Staphylococcus aureus and Salmonella typhi. *Majority*, 4(5), pp. 117–122.

Soraya S, Wulandari F. 2019. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (Azadirachta Indica) Terhadap Pertumbuhan Enterococcus faecalis Secara In-Vitro. Cakradonya Dental Journal, 11(1), pp. 23–32. doi: 10.24815/cdj.v11i1.13624

Sudigdo S, Sofyan I. 2014. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. Ed 5. Jakarta: Sagung Seto.

Sukohar A, Kurniawan B, Rapina R, Nareswari S. 2015. Effectiveness of the Pepaya Leaf (Carica papaya Linn)Ethanol Extract As Larvacide For Aedes aegypti Instar III. J MAJORITY. 4(5): 76-84.

Suprihatin, Suparno O. 2013. Teknologi proses pengolahan air. Bogor: IPB Press.

Supriyanto, Simon BW, Rifa'i, Yunianta. 2015. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azaradiracta Indica Juss*). 523–29.

Susanto, Sudrajat D, Ruga R. 2012. Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. Mulawarmnan Scientific. 2012;11(2):181-90.

Susianti S, Asmariati YD, Busman H, Susantiningsih T. 2014. Protective effect of binahong leaf (*anredera cordifolia* (ten.) Steenis) extract against ethanol-induced proximal tubule renal histopatological features of sprague dawley strains white rats. J MAJORITY. 3(3): 168-77

Susmitha S, Vidyamol KK, Ranganayaki P, Vijayaragavan R. 2013. Phytochemical Extraction And Antimicrobial Properties Of *Azadirachta Indica* (Neem). Global Journal Of Pharmacology, 7(3), 316–20.

Swetha VV, Rao US, Prakash PM ,Subbarayudu S. 2014. Aerobic bacteriological profile of urinary tract infections in a tertiary care hospital. *International* Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(3), 120-125.

Tayeb-Fligelman E, Tabachnikov O, Moshe A, Goldshmidt-Tran O, Sawaya MR, Coquelle N. 2017. The cytotoxic *Staphylococcus aureus* PSMalpha3 reveals a cross-alpha amyloid-like fibril. Science 355, 831–833.

Utami, Prapti, Puspaningtyas DE. 2013. The Miracle Of Herbs. Agromedia.

Utaminingsih, Bernadetta VM, Dharmana E, dan Hadi P. 2015. Pengaruh Pemberian Minyak Nigella Sativa Dan Kombinasinya Dengan Seftriakson Terhadap Jumlah Kuman Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa) Pada Kultur Otak Mencit Babl/C. Faculty Of Medicine.

Vasanthakumari R. 2016. Textbook of Microbiology Third edition. Gurugram: Wolters Kluwer. hlm. 185

World Health Organization (WHO). 2012. Initiative for Vaccine Research (IVR): Bacterial Infections WHO 2012

World Health Organization (WHO). 2013. Diarrhoeal disease. [Online] Available at: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/

World Health Organization (WHO). 2015. World Health Statistics. Ekp. 13.