

**UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.)  
*C. Presl*) TERHADAP KONJUNGTIVA TIKUS WISTAR  
YANG TERINFEKSI *Staphylococcus aureus***

**Skripsi**

**Oleh:  
RETNO MAREINTIKA  
1818011095**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

**UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.)  
*C. Presl*) TERHADAP KONJUNGTIVA TIKUS WISTAR  
YANG TERINFEKSI *Staphylococcus aureus***

**Oleh**

**Retno Mareintika**

**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  
2022**

**Judul Skripsi** : **UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) TERHADAP KONJUNGTIVA TIKUS WISTAR YANG TERINFEKSI *Staphylococcus aureus***

**Nama Mahasiswa** : Retno Mareintika

**No. Pokok Mahasiswa** : 18180110010

**Program Studi** : Pendidikan Dokter

**Fakultas** : Kedokteran



**1. Komisi Pembimbing**

**Pembimbing I**

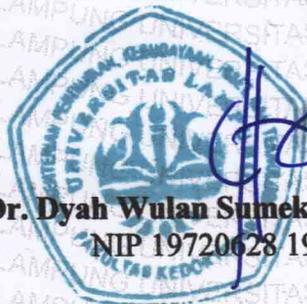
**Pembimbing II**

**dr. Rani Himayani, Sp. M**  
NIP 19831225 200912 2 004

**dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M. Farm**  
NIP 19841020 200912 2 005

**2. Dekan Fakultas Kedokteran**

**Prof. Dr. Dyah Wulan Sumeekar R.W., S.K.M., M.Kes.**  
NIP 19720628 199702 2 001

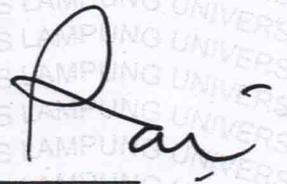


**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua**

**: dr. Rani Himayani, Sp. M**



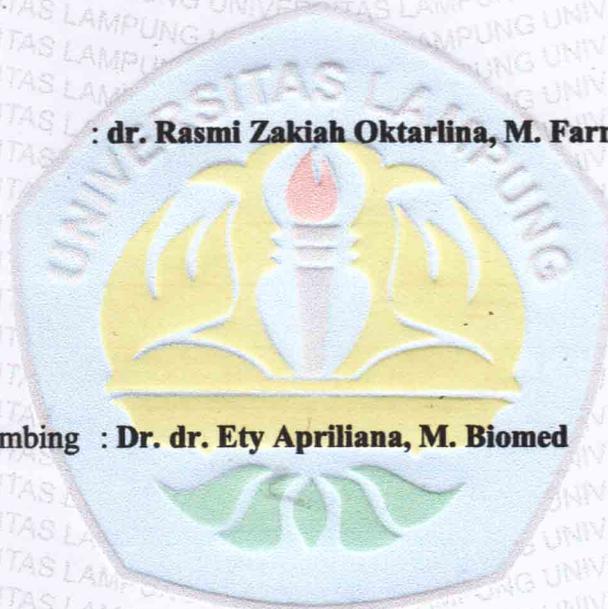
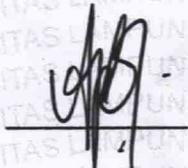
**Sekretaris**

**: dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M. Farm**

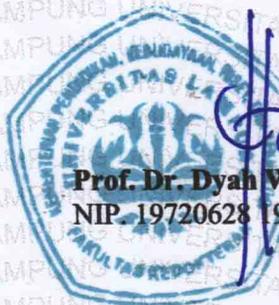


**Penguji**

**Bukan Pembimbing : Dr. dr. Ety Apriliana, M. Biomed**



**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar R.W., S.K.M., M.Kes.**

**NIP. 19720628 199702 2 001**



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 13 Juni 2022**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa :

1. Skripsi dengan judul “**UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma Longiflora (L.) C. Presl*) TERHADAP KONJUNGTIVA TIKUS WISTAR YANG TERINFEKSI *Staphylococcus aureus***” adalah benar hasil karya penulis, bukan hasil menjiplak atau mengutip atas hasil karya penulis lain.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 13 Juni 2022

Pembuat Pernyataan



Retno Mareintika

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung tanggal 20 Maret 1999, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Alm Bapak Maksi, M.M. dan Ibu Tuti, S.pd.

Pendidikan Taman Kanak Kanak (TK) diselesaikan di TK Al-Azhar 2 Bandar Lampung pada tahun 2004. Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Al-Azhar 2 Bandar Lampung pada tahun 2011. Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 19 Bandar Lampung pada tahun 2014, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 5 Bandar Lampung pada tahun 2017.

Pada tahun 2018, penulis diterima sebagai mahasiswa di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa penulis aktif pada organisasi BEM Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai anggota staff Bisnis dan Kemitraan (BIMSIT) pada periode 2019-2021.

*Sebuah persembahan sederhana untuk  
Ayah, Ibu, Kakak, dan Adik  
tersayang.*

## SANWACANA

Assalamualaikum Wr. Wb

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Skripsi dengan judul “Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) Terhadap Konjungtiva Tikus Wistar Yang Terinfeksi *Staphylococcus aureus*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapatkan masukan, bantuan, dorongan, saran, bimbingan, kritik, dan do'a dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Karomani, M.Si selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;

3. dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M. selaku Pembimbing Satu yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, membantu, memberi kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi ini;
4. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm selaku Pembimbing Dua yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, membantu, memberi kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi ini;
5. Dr. dr. Ety Aprilliana, S.Ked., M. Biomed selaku Pembahas yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, membantu, memberi kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi ini;
6. Selvi Rahmawati, S.Si, M. Sc selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing, mengayomi, memotivasi, dan memberikan arahan selama penulis berkuliah di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
7. Seluruh staff Dosen FK Universitas Lampung atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita;
8. Bu romiani selaku Lab. Mikrobiologi FK Unila yang telah meluangkan waktu, mendampingi dalam melakukan penelitian
9. Seluruh Staff TU, Akademik, dan Karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang turut membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini mulai dari pengurusan surat izin hingga pengajuan *ethical clearance*;

10. Ibu dan Ayah tersayang, Tuti, S.Pd dan Alm Maksy, M.M. terima kasih atas segala kasih sayang, didikan, dukungan, serta keringat dan air mata yang selalu tercurah untuk kesuksesan penulis. Karena kalian berdua, hidup terasa begitu mudah dan penuh kebahagiaan. Terima kasih karena selalu menjaga dalam doa dan selalu ada bagi penulis;
11. Kakak dan Adikku tersayang, Monica Indriyani dan Amanda Puspita sebagai salah satu orang yang memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi, yang menjadi salah satu tempat bercerita dikala sedih maupun senang, terima kasih untuk do'anya;
12. Sahabat-sahabat dekat (Amanda Panca Nabila, Devi Puspitasari, Ulfah Febriani, Rossalia Divanil, Zulfa Nisrina Dewi, dan Vivi) terimakasih atas keceriaan, hari-hari yang penuh tawa, selalu ada untuk mendengarkan, memberikan motivasi, semangat, doa dan selalu saling mengingatkan dalam hal kebaikan;
13. Sahabat seperjuangan di FK Syinthia Wulan, Erliana Liwanti, Bella Pratiwi, Nabila Salwa, M. Syahrafi, Wulan Yuniarti, Syifa Tiani, dan Ayu Assyifa. Terima kasih atas keceriaan, doa dan dukungan yang diberikan selama ini;
14. DPA 6 (Koloni), Adin Carlos, Yunda Zulia, Gita, Tisa, Dery, Agnes, Haickal, Ghoni, dan Nata sedari awal membantu

- penulis menjalani hari di Fakultas Kedokteran, menjadi teman bercerita dan belajar bersama;
15. Teman sepenelitian Alfina Indah Nabila yang telah membantu dalam mengerjakan penelitian bersama.
  16. Teman-teman Satu Angkatan 2018 (F18brinogen) yang menjadi teman seperjuangan dan melangkah bersama dalam mengapai cita-cita;
  17. Seluruh rekan Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Periode 2019-2021, Dinas Bisnis dan kemitraan, terima kasih atas pembelajaran, pengalaman yang sangat berharga dalam berorganisasi;
  18. Adik-adik Angkatan 2019, 2020, dan 2021 terima kasih atas dukungan dan kerja sama di FK Unila;

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi perbaikan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 13 Juni 2022  
Penulis

Retno Mareintika

## ABSTRACT

### ANTIBACTERIAL TEST OF KITOLOD LEAF EXTRACTS (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) ON THE CONJUNCTIVA OF WISTAR WHITE RATS INFECTED WITH *Staphylococcus aureus*

By

Retno Mareintika

**Background:** Conjunctivitis is an inflammatory process caused by infection and non-infection characterized by vascular dilatation, cellular infiltration, and exudation that can affect anyone and is highly contagious. Kitolod leaf ethanol extract contains secondary metabolite compounds namely antibacterial. This study aims to determine the antibacterial test of kitolod leaf extract (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) against the conjunctiva of *wistar* infected with *Staphylococcus aureus*.

**Methods:** The research design used *true experimental* with *pretest-posttest control group design* using experimental animals as research objects. In this design, two groups were chosen randomly. The number of samples was 30 rats.

**Results:** The mean score of the number of *Staphylococcus aureus* in the *pretest* K(-) = 14.30; K(+)=14.62 ; P1=12, 84; P2=14.08; P3=14.92 and the mean score of the number of *Staphylococcus aureus* in the *pretest* K(-)= 12.04 K(+)=4.08; P1=8,3; P2=7.58; P3=7,88. The results of improving conjunctivitis symptoms by administering *Staphylococcus aureus* on day 8 and kitolod leaf extract on day 12 to day 19 resulted in improvement in conjunctivitis symptoms with the disappearance of red eyes, inflammation, and edema of the eyelids.

**Conclusion:** Kitolod leaf extract (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) ha ve antibacterial against *Staphylococcus aureus*

**Keywords:** Conjunctivitis, Kitolod leaf, *Staphylococcus aureus*, White rat

## ABSTRAK

### UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) TERHADAP KONJUNGTTIVA TIKUS PUTIH WISTAR YANG TERINFEKSI *Staphylococcus aureus*

Oleh

Retno Mareintika

**Latar Belakang:** Penyakit konjungtivitis merupakan suatu proses peradangan yang disebabkan oleh infeksi dan non infeksi ditandai dilatasi vaskular, infiltrasi seluler, dan eksudasi dapat menyerang siapa saja dan sangat menular. Ekstrak etanol daun kitolod mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengetahui uji antibakteri ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus *wistar* yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

**Metode:** Desain penelitian menggunakan *true eksperimental* dengan *pretest-posttest control group design* yang menggunakan binatang percobaan sebagai objek penelitian. Dalam desain ini terdapat dua kelompok yang dipilih secara random. Jumlah sampel sebanyak 30 tikus.

**Hasil:** Rerata skor jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada *pretest* K(-)= 14,30; K(+)=14,62 ; P1=12, 84; P2=14,08; P3=14,92 dan rerata skor jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada *pretest* K(-)= 12,04 K(+)=4,08; P1=8,3; P2=7,58; P3=7,88 Hasil perbaikan gejala konjungtivitis yang dilakukan pemberian *Staphylococcus aureus* pada hari ke-8 dan ekstrak daun kitolod pada hari ke-12 sampai hari ke-19 menghasilkan perbaikan gejala konjungtivitis dengan menghilangnya mata merah, radang dan edem pada kelopak mata.

**Simpulan:** Ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) memiliki antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Kata Kunci:** Daun kitolod, Konjungtivitis, *Staphylococcus aureus*, Tikus putih

## DAFTAR ISI

|   | Halaman  |
|---|----------|
| DAFTAR ISI.....   | I        |
| DAFTAR TABEL.....   | IV       |
| DAFTAR GAMBAR.....  | V        |
| DAFTAR LAMPIRAN.....  | VI       |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                                 | <b>1</b> |
| 1.1 Latar Belakang.....                                       | 1        |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                                      | 4        |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....                                    | 4        |
| 1.3.1 Tujuan Penelitian Umum.....                             | 4        |
| 1.3.2 Tujuan Penelitian Khusus.....                           | 5        |
| 1.4 Manfaat Penelitian.....                                   | 5        |
| 1.4.1 Bagi Peneliti.....                                      | 5        |
| 1.4.2 Bagi Masyarakat.....                                    | 5        |
| 1.4.3 Bagi Peneliti Selanjutnya.....                          | 6        |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                           | <b>6</b> |
| 2.1 Konjungtiva.....  | 7        |
| 2.1.1 Anatomi Konjungtiva.....                                | 8        |
| 2.1.2 Histologi Konjungtiva.....                              | 9        |
| 2.2 Konjungtivitis.....                                       | 10       |
| 2.2.1 Definisi Konjungtivitis.....                            | 10       |
| 2.2.2 Faktor penyebab Konjungtivitis.....                     | 11       |
| 2.2.3 Patofisiologi Konjungtivitis.....                       | 11       |
| 2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....                        | 12       |
| 2.3.1 Definisi.....   | 12       |
| 2.3.2 Klasifikasi.....  | 13       |
| 2.3.3 Patogenesis.....  | 13       |
| 2.3.4 Media Kultur Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 14       |
| 2.3.5 Metode TPC ( <i>Total Plate Count</i> ).....            | 15       |
| 2.4 Daun Kitolod.....   | 16       |
| 2.4.1 Definisi.....   | 16       |
| 2.4.2 Klasifikasi.....  | 16       |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.4.3 Kandungan daun kitolod.....                              | 17        |
| 2.4.3.1 Flavonoid.....   | 18        |
| 2.4.3.2 Alkaloid.....  | 18        |
| 2.4.3.3 Saponin.....   | 19        |
| 2.4.3.4 Polifenol.....   | 19        |
| 2.5 Tikus Wistar.....  | 20        |
| 2.5.1 Sifat dan Morfologi.....                                 | 20        |
| 2.6 Farmakokinetika obat tetes mata.....                       | 21        |
| 2.7 Kerangka Teori.....  | 23        |
| 2.8 Kerangka Konsep.....                                       | 24        |
| 2.9 Hipotesis.....   | 24        |
| <b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>                          | <b>25</b> |
| 3.1 Jenis dan Desain Penelitian.....                           | 25        |
| 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....                           | 25        |
| 3.2.1 Tempat Penelitian.....                                   | 25        |
| 3.2.2 Waktu Penelitian.....                                    | 25        |
| 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....                        | 25        |
| 3.3.1 Populasi.....  | 25        |
| 3.3.2 Sampel.....  | 26        |
| 3.3.2.1 Kriteria Sampel.....                                   | 26        |
| 3.3.2.2 Besar Sampel.....                                      | 26        |
| 3.4 Identifikasi Variabel.....                                 | 29        |
| 3.4.1 Variabel Bebas.....                                      | 29        |
| 3.4.2 Variabel Terikat.....                                    | 29        |
| 3.5 Definisi Operasional.....                                  | 30        |
| 3.6 Alat dan Bahan.....  | 31        |
| 3.6.1 Alat.....  | 31        |
| 3.6.2 Bahan.....   | 31        |
| 3.7 Prosedur Penelitian.....                                   | 32        |
| 3.7.1 Prosedur Alkimitisasi Hewan Uji coba.....                | 32        |
| 3.7.2 Prosedur Ekstrak Daun Kitolod.....                       | 32        |
| 3.7.3 Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....  | 33        |
| 3.7.3.1 Pewarnaan gram <i>Staphylococcus aureus</i> .....      | 33        |
| 3.7.3.2 Uji Katalase.....                                      | 33        |
| 3.7.3.3 Uji <i>Mannitol Salt Agar</i> (MSA).....               | 33        |
| 3.7.3.4 Pembuatan <i>Staphylococcus aureus</i> .....           | 33        |
| 3.7.4 Prosedur Pengamatan Perbaikan Gejala Konjungtivitis..... | 35        |
| 3.7.5 Prosedur Pengumpulan Data.....                           | 38        |
| 3.8 Diagram Alur Penelitian.....                               | 40        |
| 3.9 Analisis Data.....   | 41        |
| 3.10 Etika Penelitian.....                                     | 41        |
| <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>                        | <b>43</b> |
| 4.1 Hasil Penelitian.....                                      | 43        |
| 4.1.1 Hasil Uji Determinasi.....                               | 43        |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.1.2 Hasil Ekstrak Daun Kitolod.....                          | 43        |
| 4.1.3 Hasil Identifikasi Bakteri.....                          | 43        |
| 4.1.4 Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 44        |
| 4.1.5 Hasil Perbaikan Gejala Konjungtivitis.....               | 49        |
| 4.2 Pembahasan.....  | 51        |
| 4.2.1 Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 52        |
| 4.2.2 Perbaikan Gejala Konjungtivitis.....                     | 56        |
| 4.3 Hambatan Penelitian.....                                   | 58        |
| <b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>                           | <b>60</b> |
| 5.1 Simpulan.....  | 60        |
| 5.2 Saran.....   | 61        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                    | <b>62</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>  | <b>69</b> |

## DAFTAR TABEL

| <b>Tabel</b>  | <b>Halaman</b> |
|---|----------------|
| 1. Kelompok Perlakuan.....  | 29             |
| 2. Definisi Operasional.....  | 30             |
| 3. Kelompok Perlakuan.....  | 38             |
| 4. Hasil Uji Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....              | 44             |
| 5. Hasil <i>Pretest</i> Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....  | 44             |
| 6. Hasil <i>Posttest</i> Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 45             |
| 7. Hasil <i>Pretest</i> Uji Normalitas .....                                      | 46             |
| 8. Hasil <i>Posttest</i> Uji Normalitas .....                                     | 46             |
| 9. Hasil <i>Pretest</i> Homogenitas <i>Levene test</i> .....                      | 46             |
| 10. Hasil <i>Posttest</i> Homogenitas <i>Levene tes</i> .....                     | 46             |
| 11 Hasil <i>Pretest</i> Uji <i>One Way Anova</i> .....                            | 47             |
| 12. Hasil <i>Posttest</i> Uji <i>One Way Anova</i> .....                          | 47             |
| 13. Hasil Uji <i>Post Hoc</i> .....   | 47             |
| 14. Hasil Uji <i>Paired Simple Statistics</i> .....                               | 48             |
| 15. Hasil Uji <i>Paired Simple Correlations</i> .....                             | 48             |
| 16. Hasil Uji Paired simple T-test .....  | 49             |
| 17. Hasil Pengamatan Gejala Konjungtivitis Sebelum Perlakuan.....                 | 50             |
| 18. Hasil Pengamatan Gejala Konjungtivitis Setelah Perlakuan.....                 | 50             |

**DAFTAR GAMBAR**

| <b>Gambar</b>   | <b>Halaman</b> |
|---|----------------|
| 1. Anatomi Konjungtiva.....   | 8              |
| 2. Histologi Konjungtiva.....                                       | 10             |
| 3. <i>Gram Stain Staphylococcus aureus</i> .....                    | 13             |
| 4. Tanaman Kitolod ( <i>Isotoma longiflora (L.) C. Presl</i> )..... | 17             |
| 5. Tikus Putih <i>Galur Wistar</i> .....                            | 21             |
| 6. Kerangka Teori Uji .....   | 23             |
| 7. Kerangka Konsep.....   | 24             |
| 8. Alur Penelitian.....   | 40             |

**DAFTAR LAMPIRAN**

| <b>Lampiran</b>   | <b>Halaman</b> |
|---|----------------|
| 1. <i>Ethical Clereance</i> .....                                 | 70             |
| 2. Surat Izin Penelitian.....                                     | 71             |
| 3. Surat Keterangan dan Uji determinasi.....                      | 72             |
| 4. Surat Keterangan Sehat Hewan Laboratorium.....                 | 74             |
| 5. Sertifikat Hasil Uji Bakteri <i>Staphylocccus aureus</i> ..... | 75             |
| 6. Uji Normalitas Data .....                                      | 76             |
| 7. Alur Penelitian.....   | 79             |
| 8. Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....       | 83             |
| 9. Perbaikan Gejala Konjungtivitis.....                           | 85             |

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Konjungtiva merupakan bagian mata yaitu membran mukosa yang tipis dan transparan sehingga membungkus bagian permukaan posterior pada kelopak mata (palpebralis) dan permukaan mata pada bagian anterior sklera (bulbaris). Lokasi konjungtiva yang rentan terpapar oleh banyak mikroorganisme seperti bakteri dan substansi dari bagian lingkungan luar tubuh. Konjungtiva penuh dengan saluran limfatik menghubungkan ke *node parotid* dan submandibular (Alena *et al.*, 2014). Terdapat beberapa penyakit yang menyerang konjungtiva yaitu konjungtivitis. Konjungtivitis adalah peradangan pada jaringan konjungtiva, yang diperoleh dari invasi pada suatu mikroba, perubahan degeneratif, atau reaksi hipersensitivitas pada konjungtiva mata. Gejala ini disebabkan oleh vasodilatasi, infiltrasi sel, dan eksudasi (Sitompul, 2017).

Menurut data dari Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit AS (2014) peningkatan jumlah pasien konjungtivitis bahkan lebih besar lagi, yakni 135 pada 10.000 pasien pada usia anak-anak, dewasa, atau lanjut usia (Zurimi, 2019). Pada tahun 2014 di Indonesia sebanyak 185.863 masyarakat mengunjungi klinik mata. Tahun 2015, konjungtivitis juga tercatat sebagai salah satu dari 10 besar penyakit rawat jalan (Kemenkes RI, 2015). Menurut penelitian dari Shakira (2012) dari jumlah kasus yaitu 74 kasus konjungtivitis, pada 38 pasien perempuan 51,4 %, dengan di pria hanya 36 pasien yaitu 48,6%. Pasien pada penyakit konjungtivitis berdasarkan usia sebanyak 40,5% dengan usia 11 - 18 tahun.

Konjungtivitis bakteri pada anak-anak jauh lebih umum daripada pada orang dewasa, dan patogen yang menyebabkan konjungtivitis bakteri bervariasi sesuai usia. Konjungtivitis disebabkan tersering pada orang dewasa adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, diikuti oleh *Streptococcus pneumoniae*, dan *Haemophilus influenzae*. Pada anak-anak, penyebab bakteri lebih sering terjadi pada *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, dan *Catarrh moraxella* (Lolowang, 2014). Pada *Neisseria gonorrhoeae* adalah penyebab tersering dari konjungtivitis bakterial pada neonatus (Ryder, 2020).

Klasifikasi dari penyakit konjungtivitis terbagi menjadi dua yaitu konjungtivitis akut (termasuk hiperakut dan subakut) dan konjungtivitis kronik. Konjungtivitis bakteri akut memiliki ciri jinak dan dapat sembuh sendiri, dan dia berlangsung <14 hari. *Neisseria gonorrhoeae* atau *Nesseria meningitidis* menyebabkan konjungtivitis hiperakut dapat menimbulkan komplikasi mata berat jika tidak dilakukan pengobatan. Konjungtivitis kronik biasanya sekunder terhadap penyakit palpebra atau obstruksi ductus nasolacrimalis (Vaughan, 2019).

Penyakit konjungtivitis merupakan suatu proses peradangan yang disebabkan oleh infeksi dan non infeksi ditandai dilatasi vaskular, infiltrasi seluler, dan eksudasi. Mata merah muda atau konjungtivitis yang disebabkan bakteri dapat menyerang siapa saja dan sangat menular. Penularan biasanya terjadi ketika orang sehat menyentuh tangan mereka (misalnya, berjabat tangan dengan pasien konjungtivitis atau benda yang baru saja mereka sentuh), dan kemudian orang sehat menggosok mata mereka, yang dapat menyebabkan penularan cepat dan meningkatkan jumlah pasien yang terkena penyakit konjungtivitis (Ilyas, 2014).

Kasus resistensi antibiotik yang tinggi sebagai pilihan terapi konjungtivitis mengakibatkan pengobatan yang tidak adekuat sehingga pentingnya penelitian untuk senyawa yang baru dapat sebagai hambatan

pertumbuhan bakteri. Terdapat kasus resistensi antibiotik pada pasien yang terpapar bakteri *Staphylococcus aureus*. Antibiotik yang mengalami resisten yaitu methicillin dan vankomisin (CDC, 2016). Indonesia terdiri dari banyak menghasilkan sumber daya alam dimana terjadinya secara generasi ke generasi, sudah mengetahui khasiat obat secara tradisional, yang dihasilkan dari tanaman, hewan dan mineral (Nur, 2016). Wasawasan tentang tanaman asli Indonesia yang ada semenjak lama dipakai untuk pengobatan di wilayah atau suku tertentu inilah yang kemudian dikenal sebagai tumbuhan obat tradisional Indonesia. Hal ini diawali sebagai adanya perkembangan ilmu wawasan tentang pertumbuhan tanaman obat di Indonesia. Salah satu tanaman di Indonesia yang memiliki manfaat dan dijadikan obat tradisional merupakan daun kitolod (Arifin *et al.*, 2018).

Tanaman obat sudah dikenal bisa menyembuhkan aneka macam penyakit semenjak zaman dahulu. Hal ini dikarenakan potensi senyawa kimia yg masih ada dalam flora tadi yg bisa dipakai buat mensintesis obat konvensional baru, salah satunya merupakan flora kitolod. Ekstrak etanol daun kitolod mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, polifenol, monoterpenoid, seskuiterpenoid, kina, dan saponin. (Gloriana, 2021).

Sejumlah tanaman obat yang memiliki senyawa flavonoid telah memiliki aktivitas antibakteri, antivirus, antiradang, antioksidan, antialergi, dan juga antikanker (Musyirna & Bella, 2019). Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung C<sub>15</sub> yang terdiri dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Flavonoid terdapat pada bagian tanaman seperti pada daun, bunga, buah, biji-bijian, kacang-kacangan, bulir padi, rempah, dan tumbuhan berkhasiat obat (Arifin, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Malik dan Melani (2014) dengan menghasilkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*

*aureus* terhadap perasan daun kitolod. Penelitian juga dilakukan oleh Handayani dan Ardy (2021) yang berjudul uji daya hambat rebusan daun kitolod terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro menjelaskan bahwa rebusan daun kitolod mampu menghasilkan bentuk zona radikal pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dimana ada daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan konjungtivitis. Selain itu juga bahwa pada penelitian yang dilakukan Nisa (2019) ini menunjukkan daya hambat pada bakteri *staphylococcus aureus* dikarenakan penghambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, karena ekstrak pada daun kitolod mengandung zat kimia yaitu alkaloid, flavonoid, dan saponin yang mampu menurunkan jumlah pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan latar belakang di atas, terdapat tingginya jumlah pasien konjungtivitis di Indonesia. Pada penelitian sebelumnya yaitu penelitian secara invitro menghasilkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap daun kitolod dan penelitian secara in vivo yaitu uji antibakteri ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtivitis pada tikus *wistar* belum pernah diteliti. Maka dari itu peneliti ingin mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus *wistar* yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah uji antibakteri ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus *wistar* yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui uji antibakteri ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- a. Mengetahui antibakteri ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) pada penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Mengetahui ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) dapat memperbaiki gejala konjungtivitis terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Bagi Peneliti**

- a. Dapat mengembangkan kemampuan di bidang penelitian serta mengasah kemampuan analisis peneliti.
- b. Dapat meningkatkan pengetahuan uji antibakteri ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

#### **1.4.2 Bagi Masyarakat**

Memperluas wawasan dan informasi di bidang kesehatan mengenai uji antibakteri ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) pada perbaikan gejala konjungtivitis terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

### **1.4.3 Bagi Peneliti Selanjutnya**

Sebagai acuan peneliti lain untuk memperoleh informasi hal-hal yang berkaitan tentang ekstrak daun kitolod terhadap konjungtiva tikus *wistar* yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Konjungtiva**

##### **2.1.1 Anatomi Konjungtiva**

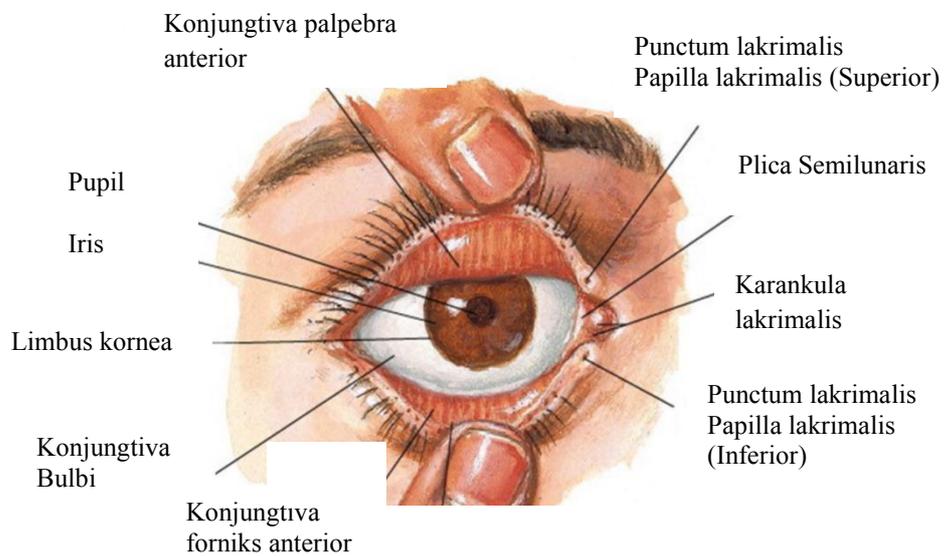
Konjungtiva adalah selaput yang menutupi sklera dan palpebra posterior. Konjungtiva memiliki kelenjar musin yang diperoleh dari sel goblet yang memiliki fungsi untuk membasahi mata seperti bola mata terutama kornea. Konjungtiva terbagi atas tiga bagian, yaitu :

1. Konjungtiva tarsal yang menutupi tarsus, konjungtiva tarsal sulit dilepaskan dari tarsus.
2. Konjungtiva bulbi menutupi sklera dan mudah digerakkan dari sklera di bawahnya.
3. Konjungtiva fornises adalah konjungtiva tempat peralihan konjungtiva tarsal dan konjungtiva bulbi. Konjungtiva bulbi dan forniks ini berhubungan dengan sangat mudah dengan jaringan di bawahnya sehingga bola mata mudah digerakkan (Akbar, 2019).

Vaskularisasi dan nervus arteri konjungtiva berawal dari arteri siliaris anterior dan arteri palpebralis. Kedua arteri secara bebas dianastomosis dengan kumpulan vena konjungtiva, yang biasanya mengikuti pola arteri mereka untuk menghasilkan sejumlah besar jaringan vaskular konjungtiva (Alena *et al.*, 2014). Pembuluh getah bening konjungtiva tersusun di lapisan dangkal dan dalam, dan dihubungkan oleh pembuluh getah bening meibom untuk membentuk

pleksus limfatik. Konjungtiva dipersarafi dari cabang pertama (oftalmologi) saraf kelima. Neuron ini memiliki serat nyeri yang relatif lebih sedikit (Vaughan, 2019).

Suplai pada saraf ke konjungtiva berawal dari bagian saraf trigeminal yang pertama. Saraf tersusun dari cabang saraf infratroklear yaitu saraf nasosiliaris, saraf lakrimal, supratroklear, cabang saraf frontal supraorbital, saraf infraorbital, saraf trigeminal, dan saraf maksilaris (Sobotta, 2019). Pada limbus dipersarafi oleh cabang saraf siliaris. Sebagian besar ujung saraf di konjungtiva tidak bermielin, membentuk sembilan pleksus saraf subepitel di bagian superfisial lamina propria. Beberapa dari serat ini berhenti di pembuluh darah, sementara serat lainnya membentuk pleksus intraepitel di sekitar bagian bawah sel epitel dan ujung saraf bebas di antara sel (Alena *et al.*, 2014).

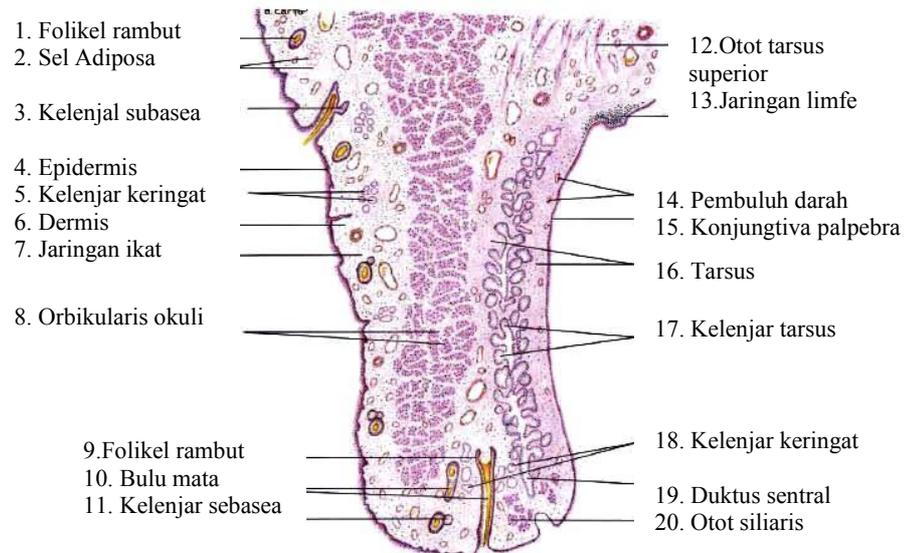


**Gambar 1.** Anatomi Konjungtiva (Sobotta, 2019).

### 2.1.2 Histologi Konjungtiva

Konjungtiva pada mata terdiri dari beberapa lapisan epitel yang terdiri dari epitel skuamosa berlapis dan epitel kolumnar berlapis. Pada lapisan epitel didalamnya terdapat pembuluh darah, jaringan fibrosa, saluran limfatik, melanosit, limfosit sel T dan B, sel Langerhans, dan kelenjar lakrimal aksesori (Junqueira, 2011). Lapisan lebih dalam, substansia propria atau submukosa konjungtiva, terdiri dari limfoid superfisial dan jaringan fibrosa. Substantia propria adalah lapisan jaringan yang hanya ada di konjungtiva, tetapi tidak di jaringan mata lainnya. Banyak limfosit, sel mast, sel plasma, dan neutrofil terdapat di dalam lapisan jaringan ikat ini. Lapisan fibrosa terdalam mengandung saraf dan pembuluh yang menyediakan persarafan dan suplai darah ke konjungtiva (Takahashi *et al.*, 2013).

Epitel konjungtiva memiliki ketebalan 3 sampai 5 lapisan sel tebal. Sel basal epitel berbentuk kuboid dan menjadi lebih pipih saat mendekati permukaan. Pada daerah yang paling dekat dengan forniks, konjungtiva memiliki jumlah sel goblet paling banyak. Kelenjar mukus uniseluler ini terutama terdapat pada konjungtiva inferior dan medial dan dekat kantung medial. Jauh dari forniks, jumlah sel goblet berkurang (Soedbagjo *et al.*, 2019). Selain itu, forniks memiliki lebih banyak bercak limfosit, yang sebagian besar merupakan bagian dari sel T penekan. Ada bercak sel imun seperti limfosit T dan B yang membentuk jaringan limfoid terkait konjungtiva (Shumway *et al.*, 2021).



**Gambar 2.** Histologi Konjungtiva (Difiore, 2012).

## 2.2 Konjungtivitis

### 2.2.1 Definisi Konjungtivitis

Penyakit radang konjungtiva atau konjungtivitis adalah penyakit pada bagian mata yang paling umum di dunia, gejala dari mata berair dengan hiperemia ringan hingga konjungtivitis berat dengan sekret bernanah. Konjungtivitis dapat menyerang semua usia, baik akut maupun kronis (Zurimi, 2019). Konjungtivitis ditandai dengan peradangan dan pembengkakan jaringan konjungtiva, disertai dengan pembengkakan pembuluh darah, drainase bola mata, dan nyeri (Azari, 2020). Gejala pada konjungtivitis tidak spesifik seperti lakrimasi, adanya nyeri dan rasa panas. Pada infeksi bakteri akut dan klamidia memiliki ciri khas yaitu didapatkan sekret mukopurulen, dan pada infeksi gonokokus didapatkan tanda khas berupa sekret purulen (Sitompul, 2017).

Tanda dan gejala konjungtivitis bakteri, selain injeksi dan edematous (radang) konjungtiva, meliputi terlihat pada konjungtivitis viral dan alergi okular seperti *discharge*, lebih purulen daripada konjungtivitis virus, dengan lebih banyak masalah (umumnya putih, hijau, atau

kuning lendir) dari margin kelopak mata dan kesulitan yang lebih besar untuk membungkam kelopak mata terbuka setelah tidur (Budiono *et al.*, 2012).

### **2.2.2 Faktor penyebab Konjungtivitis**

Konjungtivitis dapat menyerang semua usia, baik akut maupun kronis, dan disebabkan oleh berbagai faktor eksogen dan endogen. Faktor eksogen termasuk bakteri, virus, jamur, dan bahan kimia yang mengiritasi, seperti asam, alkali, asap, angin, sinar ultraviolet, dan iatrogenik. Faktor endogen penyebab konjungtivitis adalah reaksi hipersensitivitas humoral dan seluler, serta reaksi autoimun. Faktor penyebab adanya penyakit konjungtivitis bakteri akut adalah kontak dengan pasien yang terkena penyakit konjungtivitis (Insani, 2017).

Penyakit pada bagian mata, seperti obstruksi saluran nasolakrimal, posisi kelopak mata yang abnormal, dan produksi air mata yang tidak mencukupi, dapat menyebabkan peningkatan risiko konjungtivitis bakteri, yang mengurangi proses perlindungan mata normal. Penyakit immunosupresif dan trauma dapat menurunkan sistem kekebalan tubuh, membuat infeksi lebih mungkin terjadi. Transmisi konjungtivitis bakteri akut dapat menurun dengan kebersihan yang baik, seperti kewajiban mencuci tangan dan membatasi kontak langsung dengan pasien yang telah terjangkit (Hutagalung *et al.*, 2013).

### **2.2.3 Patofisiologi Konjungtivitis**

Mikroorganisme (virus, bakteri, jamur), alergen, dan iritan menyebabkan kelopak mata terinfeksi sehingga kelopak mata tidak dapat menutup dan membuka sepenuhnya. Menyebabkan kering pada bagian mata sehingga terjadi iritasi yang menyebabkan penyakit konjungtivitis. Pembesaran pada pembuluh darah

disebabkan oleh adanya inflamasi dengan gejala konjungtiva dan sklera yang merah, edema, rasa nyeri dan adanya sekret mukopurulen. (Silverman, 2010).

Penyebab konjungtivitis utama adalah adanya infeksi pada konjungtiva mata. Penyebab infeksi ini bisa diperoleh dari patogen infeksius atau iritan non infeksius. Iritasi atau infeksi ini menghasilkan adanya injeksi atau pembesaran pembuluh darah pada konjungtiva hal ini menyebabkan kemerahan atau hiperemi dan edema konjungtiva (Ryder, 2020). Transmisi langsung patogen ke konjungtiva menyebabkan konjungtivitis menular. Konjungtivitis dapat terjadi ketika lapisan epitel mata terganggu, atau terdapat gangguan pada proses mekanisme pada pertahanan secara keseluruhan. Keadaan *immunocompromised* juga dapat mempengaruhi konjungtivitis bakteri (Pippin, 2020).

## 2.3 *Staphylococcus aureus*

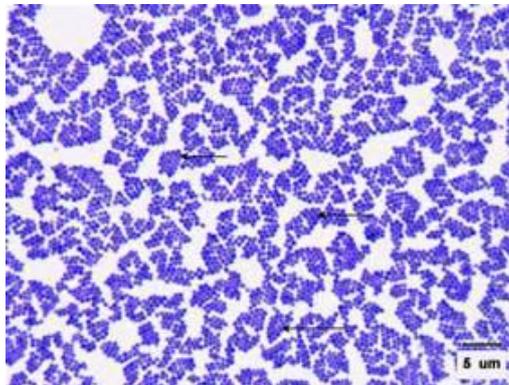
### 2.3.1 Definisi

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah patogen utama manusia yang menyebabkan berbagai macam infeksi klinis. *Staphylococcus aureus* adalah patogen manusia menyebabkan infeksi pada tubuh dan jaringan lunak. Kelompok penting penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah infeksi mata, penyebab paling sering dari konjungtivitis (Malik, 2014). Meskipun sebagian infeksi *Staphylococcus aureus* tidak demikian dapat mengancam penglihatan, kornea menyebabkan gangguan penglihatan yang parah karena tindakan racun bakteri menyebabkan kerusakan jaringan yang signifikan dan jaringan parut (Wei, 2019).

### 2.3.2 Klasifikasi

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram-positif, berbentuk kokus, berwarna ungu saat pewarnaan gram dan bergerombol yang sering digambarkan seperti ‘anggur’, anaerob fakultatif, dapat tumbuh pada suhu antara 18°C dan 40°C (Taylor dan Unakal, 2020). Klasifikasi menurut Vasanthakumari (2016) menjadi divisi, kelas, ordo, famili, genus, dan spesies.

Divisi : Protophyta  
Kelas : Bacilli  
Ordo : Bacillales  
Famili : Staphylococcaceae  
Genus : Staphylococcus  
Spesies : *Staphylococcus aureus*



**Gambar 3.** Gram Stain of *Staphylococcus aureus* (Taylor, 2020).

### 2.3.3 Patogenesis

*Staphylococcus aureus* adalah bagian dari flora bakteri yang umum, biasanya ditemukan pada selaput lendir dan kulit manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi alat ataupun jaringan tubuh dan mengakibatkan timbul penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses (Warsa, 2011).

Saat dilakukan pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan warna ungu yang diperoleh karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu kristal violet. Perbedaan sifat gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri gram positif karena dia memiliki kandungan peptidoglikan lebih tinggi jika dibanding dengan bakteri gram negatif (Dewi, 2016). *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan enzim katalase yang memiliki peran dalam proses pengubahan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi hidrogen ( $H_2$ ) dan oksigen ( $O_2$ ), oleh karena itu *Staphylococcus aureus* tergolong bersifat katalase positif yaitu dapat dibedakan dengan genus *Streptococcus* (Pandia, 2015).

Inflamasi pada NLRP3 (pyrin domain containing protein-3) diaktivasi di sel goblet (sistem pertahanan tubuh konjungtiva), ketika berhadapan dengan toksin *Staphylococcus aureus*, dan akan merespon dengan mengaktivasi caspase 1 pathway, mengakibatkan menginduksi sekresi IL-1 $\beta$  yang aktif secara biologis, inisiator utama dan promotor peradangan (Mcgiligan *et al.*, 2013). Adanya sel goblet inilah yang akan membuat konjungtiva sulit mengalami inflamasi, setidaknya harus diberikan  $>10^5$  Colony Forming Unit (CFU) dari *Staphylococcus aureus* untuk dapat menyebabkan infeksi pada konjungtiva sehingga menghasilkan konjungtivitis (O' Callaghan, 2018).

#### **2.3.4 Media Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus***

Mannitol salt agar (MSA) adalah media pertumbuhan selektif dan diferensial yang umum digunakan dalam mikrobiologi. Media ini mengandung garam (NaCl) dalam konsentrasi tinggi yakni sekitar 7,5% - 10%, sehingga mudah ditumbuhkan oleh bakteri yang ditolerir kadar garam yang tinggi dan selektif terhadap bakteri Gram positif (Novitasari, 2019). Penanaman dengan cara satu usap biakan diambil dari media pepton, dan diusapkan pada media MSA,

kemudian dilakukan inkubasi pada 37°C selama 24 jam. Uji *mannitol salt agar* (MSA), merupakan uji untuk mengetahui kemampuan memfermentasi mannitol dimana hasil positif akan muncul dengan perubahan warna pada medium dari warna merah menjadi kuning karena adanya *fenol acid* dan hasil negatif tidak adanya perubahan warna (Toelle dan Lenda, 2014). Selain itu mengandung indikator *phenol red*, karena *Staphylococcus aureus* memfermentasi mannitol sehingga menghasilkan asam organik, asam tersebut mengubah pH dari indikator *phenol red* menjadi kuning yang sebelumnya berwarna merah (Wulandari dan Ariyani, 2020).

### 2.3.5 Metode TPC (*Total Plate Count*)

Metode *Total Plate Count* (TPC) adalah metode hitung cawan yang dipakai untuk menghitung jumlah mikroorganisme yang ada pada satu sample atau sediaan, cara ini kebanyakan disebut dengan metode ALT (Angka Lempeng Total). TPC (*Total Plate Count*) memperoleh hasil tentang kualitas dan hygiene suatu bahan secara menyeluruh. Namun, metode ini memiliki keterbatasan pada hasil untuk menjelaskan penyebab pada kontaminasi bakteri (Sundari, 2019).

$$\text{Koloni/gr} = \Sigma \text{koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Beberapa hal yang perlu diperhatikan ketika menghitung jumlah koloni bakteri dari sampel yaitu :

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 CFU/g. Jika jumlah koloni per melebihi 300 CFU/g maka diklasifikasikan sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD)

2. Beberapa koloni yang terhubung menjadi satu atau satu serangkaian rantai koloni, terhubung menjadi satu garis dihitung sebagai satu koloni
3. Bakteri muncul lebih dari setengah permukaan cawan petri, tidak disebut sebagai koloni melainkan spreader. Jika dibandingkan jumlah bakteri dari maka pengenceran berurutan antara pengenceran yang lebih tinggi dengan pengenceran sebelumnya adalah  $< 2$  diambil nilai rata-rata. Namun jika hasilnya  $\geq 2$ , maka memakai jumlah mikroorganisme dari hasil pengenceran sebelumnya (pengenceran minimum) yang digunakan (Sukmawati, 2018).

## 2.4 Daun Kitolod

### 2.4.1 Definisi

Daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat sebagai obat tradisional. Tanaman ini diperoleh dari Hindia Barat, adalah gulma yang bisa tumbuh dibalik bebatuan yang lembab, bahkan dibagian tanaman hias, sehingga dikenal juga dengan tanaman liar. Berdasarkan pengalaman empiris yang terdapat di masyarakat, tanaman kitolod memang terbukti dapat berfungsi sebagai obat tradisional, seperti untuk mengobati beberapa penyakit asma, bronkhitis, radang tenggorokan, luka, obat anti kanker, obat mata, antineoplastik, anti-inflamasi, dan analgetik (Arifin *et al.*, 2018).

### 2.4.2 Klasifikasi

Tanaman daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) menurut Safitri (2017) diklasifikasikan secara taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledoneae

Sub Kelas : Sympetale  
Bangsa : Campanulatae (Asterales, Synandreae)  
Family : Campanulaceae  
Genus : Isotoma  
Spesies : (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl)



**Gambar 4.** Tanaman Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) (Safitri, 2017).

#### 2.4.3 Kandungan pada daun kitolod

Tanaman kitolod memiliki zat bioaktif yaitu adanya senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol dan saponin. Zat bioaktif adalah zat yang termasuk metabolit sekunder yang bersifat aktif secara biologis. Aktivasinya meliputi aktivitas antimikroba, zat yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri, khamir, dan kapang yang dapat digunakan dalam industri pangan dan obat-obatan (Malik, 2014).

Uji fitokimia memiliki hasil yaitu pada rebusan daun kitolod yang diteliti oleh Handayani (2021) didapatkan hasil positif dengan munculnya berwarna merah pada flavonoid, uji saponin membentuk buih yang stabil dalam 10 menit, dan uji alkaloid membentuk

endapan putih. Warna merah yang didapatkan menunjukkan terdapat flavonoid dihasilkan dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium. Alasan terjadinya buih pada uji saponin adalah saponin mempunyai gugus gula yang berperan sebagai gugus polar dan gugus steroid dan triterpenoid sebagai gugus nonpolar, dan zat dengan gugus polar dan nonpolar bersifat aktif pada dasar, sehingga bila dihomogen dengan air saponin dapat terbentuk jadi misel, pada struktur misel gugus polar mengarah ke luar sedangkan gugus nonpolarnya mengarah ke arah dalam, proses hal ini yang muncul mirip buih. Penimbunan pada uji alkaloid terjadi karena adanya pergantian ligan. Atom nitrogen yang terdapat pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi (Sangi *et al.*, 2008).

#### **2.4.3.1 Flavonoid**

Senyawa polifenol memiliki 15 atom karbon yang terdiri dalam beberapa konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, sehingga kerangka karbonnya diperoleh atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disatukan oleh rantai alifatik tiga karbon. (Tiang-Yang *et al.*, 2018). Flavonoid juga berperan penting dalam biokimia dan fisiologi tumbuhan, bagian lainnya berperan sebagai pengatur pertumbuhan, juga sebagai antioksidan dan antibakteri. Hal ini dihasilkan karena flavonoid memiliki tindakan antibakteri yang berspektrum luas dengan cara menurunkan imnitas pada organisme target (Fazil *et al.*, 2017).

#### **2.4.3.2 Alkaloid**

Alkaloid adalah zat yang memiliki beberapa fungsi seperti menghambat terjadinya pertumbuhan bakteri, mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan zat aktif dari tanaman yang mempunyai efek obat

(Sudarmin, 2021). Senyawa alkaloid selaku selektif dapat menghambat angiogenesis. Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri yang didapati dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel, mengubah permeabilitas membran melalui transport aktif, dan menghambat sintesis protein, serta memiliki kemampuan untuk menghasilkan efek antibakteri pada lapisan dinding sel dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terwujud secara kompleks (Aprianti *et al.*, 2014).

#### **2.4.3.3 Saponin**

Saponin merupakan senyawa kimia yang banyak terdapat pada tanaman. Strukturnya terdiri dari aglycone (triterpen dan steroid) dan gugus glukosa. Saponin memiliki banyak fungsi biologi dan farmakologi diantaranya sebagai hemolisa, kardiotonik, hipoglikemik, hipokolesteromik, modulator imun, hepatoproteksis, antioksidan dan antikardiogenik (Candra, 2012). Saponin dan flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mendenaturasi protein sel dan merusak membran sitoplasma (Hastuti, 2021).

#### **2.4.3.4 Polifenol**

Polifenol ditandai dengan adanya banyak gugus hidroksil dalam molekulnya. Zat ini, juga terkenal dengan nama *soluble* tanin, adalah metabolit sekunder yang ditemukan dalam daun, biji dan buah dari tumbuhan tinggi yang ada antioksidan kuat. Polifenol secara alamiah dapat ditemukan dalam sayuran, buah, kacang, minyak zaitun dan minuman (Sekar, 2019). Proses dimana polifenol bertindak menjadi agen antibakteri yaitu sebagai toksin di protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan

protein sel bakteri. Bahkan pada konsentrasi rendah, zat fenolik bermolekul besar mampu menonaktifkan enzim esensial dalam sel bakteri. Polifenol dapat menyebabkan kehancuran pada sel bakteri, mendenaturasi protein, menonaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel (Rosidah, 2014).

## 2.5 Tikus Wistar

Selain dikenal sebagai hewan pengerat dan hama terhadap tanaman petani, tikus juga bermanfaat sebagai hewan uji coba dalam penelitian di laboratorium. Jenis tikus tikus yang banyak digunakan adalah tikus putih (albino). Terdapat tiga macam galur tikus putih yang digunakan sebagai hewan uji coba, yaitu *Sprague Dawley*, *Long Evans*, dan *Wistar* (Akbar, 2010).

### 2.5.1 Sifat dan Morfologi

Sebagai hewan uji penelitian, tikus putih memperoleh banyak sifat yang menguntungkan, seperti perkembangbiakan cepat, ukuran lebih besar dari mencit, dan mudah dipelihara dalam jumlah tidak sedikit. Ciri morfologis yang dimilikinya adalah albino, kepala kecil, ekor yang lebih panjang dibanding badannya, pertumbuhannya cepat, tempramennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Akbar, 2010).

Menurut Nevers (2013) tikus putih (*Rattus Norvegicus*) diklasifikasikan sebagai berikut:

|            |              |
|------------|--------------|
| Kingdom    | : Animalia   |
| Phylum     | : Chordata   |
| Sub Phylum | : Vertebrata |
| Class      | : Mamalia    |
| Ordo       | : Rodentia   |
| Family     | : Muridae    |

Genus : *Rattus*  
Spesies : *Rattus Norvegicus*  
Galur/Strain : *Wistar*



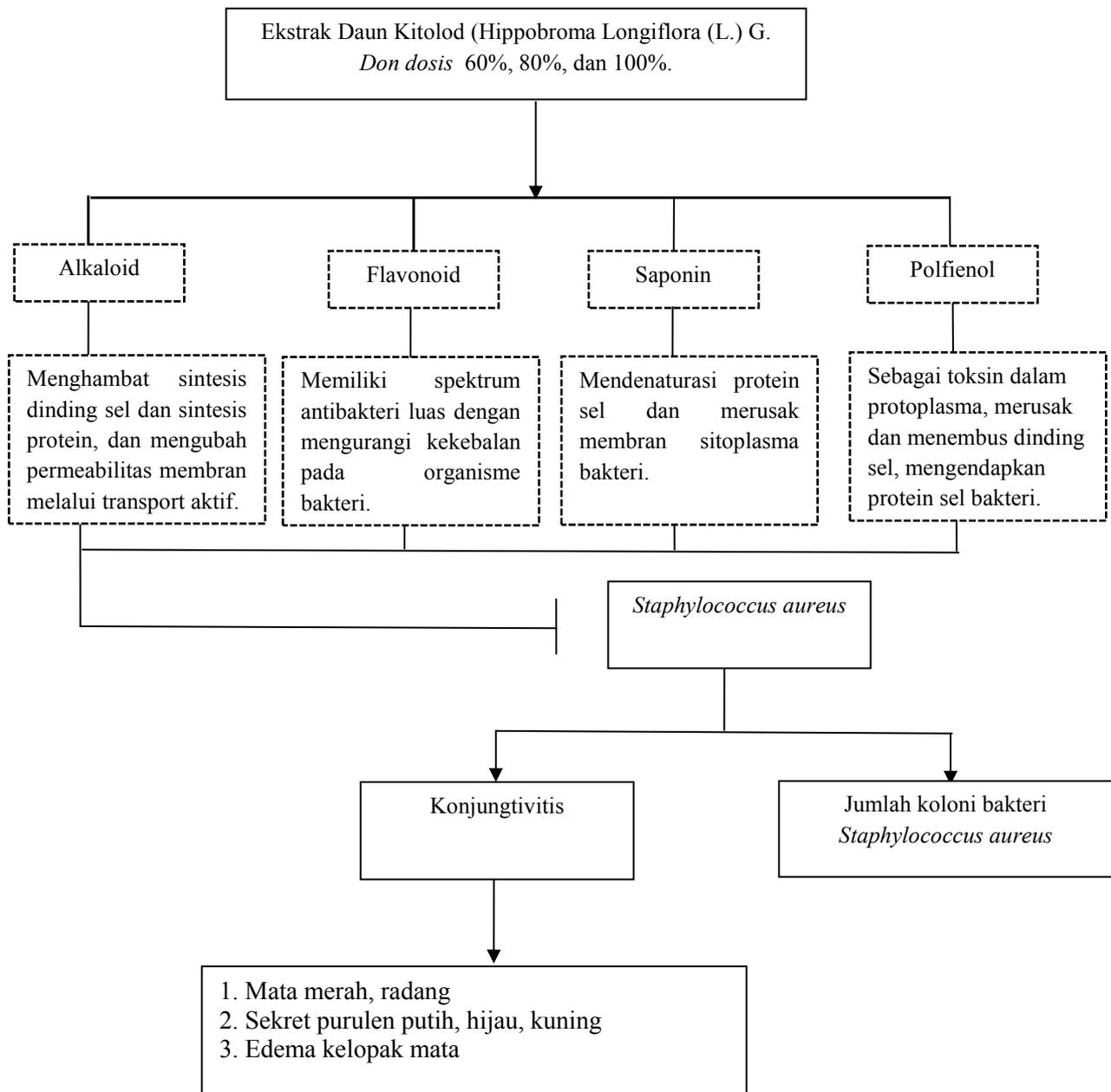
**Gambar 5.** Tikus Putih Galur *Wistar* (Al-hajj *et al.*, 2016).

## 2.6 Farmakokinetika Obat tetes mata

Penelitian ini menggunakan bentuk sediaan obat tetes mata (obat topikal). Obat topikal adalah memiliki kelebihan yaitu adekuatnya konsentrasi obat yang dapat dicapai di segmen depan mata dengan tanpa terjadi efek. yang tidak diharapkan (Sujati, 2016). Obat adalah agen primer bakteriostatik, yaitu pada dosis biasa efek utamanya menghambat pertumbuhan dan reproduksi pada bakteri, misalnya sulfonamid, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin (konsentrasi rendah), linkomisin, klindamisin dan asam fusidat (Silvester, 2016). Antibiotik yang ideal adalah tidak terpengaruh dari efek pada sistem atau organ pasien. Efek farmakodinamik pada bakteri dapat dengan mengganggu sintesis dinding luar (gugus  $\beta$  laktam) atau dengan mengganggu sintesis komponen sitoplasma (kloramfenikol, tetrasiklin, aminoglikosida dan eritromisin) atau dengan mengganggu pada sintesis asam nukleat (kuinolon dan rifampisin).

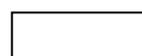
Pada penelitian ini menggunakan obat kloramfenikol 0,5% dikarenakan sebagai adalah jenis antibiotik spektrum luas yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri dan kuman anaerob terutama *Staphylococcus aureus*. Antibiotik ini berikatan dengan subunit 50S dari ribosom dan mempengaruhi pengikatan asam amino yang baru pada rantai peptida karena kloramfenikol menghambat *peptidil transferase* (Epling, 2012). Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan ketika antibiotik ini dikurangi, pertumbuhan mikroba akan dilanjutkan lagi apabila antibiotik ini mengalami penurunan. Resistensi bakteri terhadap kloramfenikol disebabkan bakteri menghasilkan enzim kloramfenikol asetiltransferase, suatu enzim yang mengganggu aktivitas obat. Pembentukan enzim ini dikendalikan oleh plasmid (Dian *et al.*, 2015).

## 2.7 Kerangka Teori

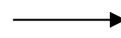


**Gambar 6.** Kerangka teori uji antibakteriekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* (Sanjaya *et al.*, 2021).

**Keterangan :**



: Diteliti



: Berpengaruh

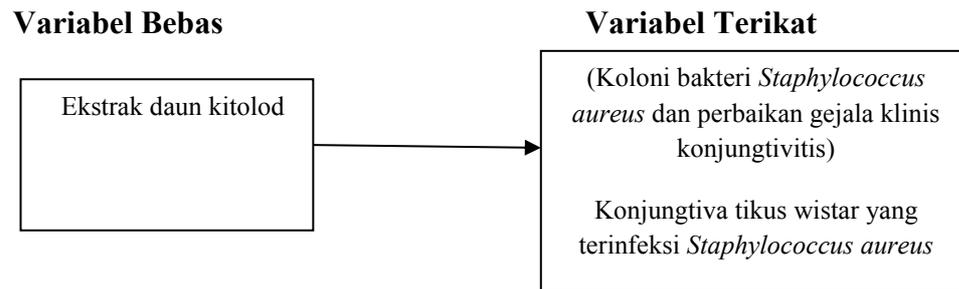


: Tidak diteliti



: Menghambat

## 2.8 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka konsep

## 2.9 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran diatas, maka dapat diturunkan hipotesis sebagai berikut:

1. Ha: Terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus wistar.
- H0: Tidak terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus wistar.
2. Ha: Terdapat perbaikan gejala konjungtivitis pada ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.
- H0: Tidak terdapat perbaikan gejala konjungtivitis pada ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Desain Penelitian**

Desain penelitian menggunakan *true eksperimental* dengan *pretest-posttest control group design* yang menggunakan binatang percobaan sebagai objek penelitian. Dalam desain ini terdapat dua kelompok yang dipilih secara random, lalu akan diberi kelompok *pretest* dan *posttest* untuk mengetahui keadaan awal yaitu belum diberikan obat dan sesudah yang diberikan obat, apakah ada perbedaan antara kelompok eksperimen yang diberikan perlakuan dan kelompok kontrol dan dengan yang tidak diberi perlakuan (Sugiyono, 2012).

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

#### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

#### **3.2.2 Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Januari- Maret 2022.

### **3.3 Populasi dan Sampel**

#### **3.3.1 Populasi**

Populasi yang digunakan adalah Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) *Galur Wistar* engan ukuran 200-250 gram usia 2-3 bulan didapatkan dari *iRATco Laboratory* di Bogor. Penelitian ini menggunakan tikus

karena mudah ditemukan, jumlah banyak, absorpsi yang cepat, struktur mirip manusia, dan harga relatif murah (Maulina, 2015).

### 3.3.2 Sampel

#### 3.3.2.1 Kriteria Sampel

##### a. Kriteria Inklusi

Objek penelitian adalah tikus putih (*Rattus Novergicus galur wistar*, berat badan 200-250 gram, sehat, tidak ada cacat secara anatomi, mata yang sehat.

##### b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi untuk hewan uji coba pada penelitian ini adalah:

- a. Tikus mati di sela perlakuan (sakit)
- b. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.

#### 3.3.2.2 Besar Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah organ jantung tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang akan diberi perlakuan selama 19 hari. Besar sampel dihitung dengan metode rancangan acak lengkap, menggunakan rumus *Frederer*, yaitu

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

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

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

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \text{ ekor tikus}$$

$$N = 5$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok perlakuan

n : jumlah sampel untuk 1 kelompok perlakuan

Besar sampel (N) yang diperlukan pada penelitian ini adalah:

$$N = t \times n$$

$$N = 5 \times 5$$

$$N = 25 \text{ ekor tikus}$$

Koreksi subjek penelitian dilakukan untukantisipasi terjadinya *drop out* eksperimen dengan menggunakan rumus di bawah dan didapatkan hasil sebagai berikut:

$$N = \frac{n}{(1-f)}$$

Keterangan:

N: Besar sample koreksi

n: Besar sample awal

f: perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

Jadi, pada penelitian ini dibutuhkan 25 tikus jantan putih *galur wistar* yang dibagi menjadi 5 kelompok, dengan masing- masing kelompok akan diberikan masing-masing 1 tikus sehingga besar sampel yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah terdiri dari 30 ekor tikus.

Menurut Sanjaya (2021) terdapat enam kelompok perlakuan pada penelitian ini, yaitu:

#### 1. Kelompok kontrol positif (K+)

Tetes mata kontrol positif menggunakan antibiotik klorampenikol 0,5%. Indikasinya adalah untuk pengobatan topikal infeksi mata eksternal seperti

konjungtivitis karena bakteri *Staphylococcus aureus*. Dosisnya 1 tetes. Tetes mata yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol 0,5% tetes mata 5 ml (Sanjaya, 2021).

## 2. Kelompok kontrol negatif (K-)

Merupakan kelompok tikus yang diberikan *Staphylococcus aureus* sebanyak 1 tetes dan tidak diberikan ekstrak

## 3. Kelompok perlakuan 1 (P1)

Merupakan kelompok tikus yang diberikan *Staphylococcus aureus* sebanyak 1 tetes dan diberikan ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) 60% selama 7 hari.

## 4. Kelompok perlakuan 2 (P2)

Merupakan kelompok tikus yang diberikan *Staphylococcus aureus* sebanyak 1 tetes dan diberikan ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) 80% selama 7 hari.

## 5. Kelompok perlakuan 3 (P3)

Merupakan kelompok tikus yang diberikan *Staphylococcus aureus* dan diberikan ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) 100% selama 7 hari.

**Tabel 1.** Kelompok Perlakuan

| Kelompok | Perlakuan  |
|----------|--|
| K (+)    | Tikus diberikan obat tetes mata kloramfenikol 0,5%.                      |
| K (-)    | Tikus diberikan <i>Staphylococcus aureus</i> dan tidak diberikan ekstrak |
| P1       | Tikus yang diberikan ekstrak daun kitolod 60%.                           |
| P2       | Tikus yang diberikan ekstrak daun kitolod 80%.                           |
| P3       | Tikus yang diberikan ekstrak daun kitolod 100%.                          |

### 3.4 Identifikasi Variabel

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas adalah ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) 60%, 80%, dan 100%

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel terikat adalah jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan perbaikan gejala klinis konjungtivitis.

### 3.5 Definisi Operasional

**Tabel 2.** Definisi Operasional Variabel

| Variabel   | Pengertian  | Alat ukur                           | Cara Ukur   | Hasil ukur  | Skala      |
|--|---|-------------------------------------|---|---|------------|
| Variabel bebas : Ekstrak Daun Kitolod                                | Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai (Zulharmita <i>et al.</i> , 2012). | Timbangan digital                   | Hasil dari maserasi etanol 70%, lalu disaring dan menghasilkan fitrat. Filtrat diuapkan dengan <i>rotatory evapaotor</i> sehingga menghasilkan kitolod dengan konsentrasi 60%, 80%, dan 100% (Handayani, 2021). | Ekstrak yang digunakan adalah 60%, 80%, dan 100%, ml (mililiter)  | Ordinal    |
| Variabel Terikat:<br>1. Jumlah koloni <i>Staphylococcus aureus</i> . | Sekelompok sel bakteri yang dapat dilihat secara langsung dengan mata dan berbentuk bulat, tak beraturan.   | 1. <i>Colony Counter</i>            | 1. Metode TPC secara <i>pour plate</i> menggunakan <i>colony counter</i> (Soestyaningsi, 2020).   | 1. Penghitungan jumlah koloni yang dilakukan setiap 48 jam selama 1 minggu  | 1. Rasio   |
| 2. Perbaikan Gejala klinis konjungtivitis                            | Perbaikan peradangan pada selaput yang melapisi permukaan bola mata dan kelopak mata bagian dalam (konjungtiva)   | 2. Kamera digital dan kaca pembesar | 2. <i>Swab</i> pada konjungtiva tikus dengan <i>cotton buds</i> pada sekret konjungtivitis (Sanjaya, 2021).   | 2. Konjungtiva:<br>+ = Normal;<br>++ = Sedikit merah;<br>+++ = Sangat merah;<br><br>Sekret:<br>+ = Normal;<br>++ = Sedikit;<br>+++ = Banyak<br>++++ = Sangat banyak;<br><br>Kelopak mata:<br>+ = Normal;<br>++ = Sedikit bengkak; | 2. Ordinal |

---

+++=  
Bengkak;  
++++= Sangat  
bengkak;

Aparatus  
lakrimal:  
+= Normal/  
merah;  
++= Sedikit  
keruh;  
+++ = Sangat  
keruh;  
++++ = Hitam

---

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rak dan tabung reaksi, jarum ose, pipet, gelas beker, autoklaf, cawan petri, alat pengaduk, *cotton buds*, mikropipet, aluminium oil, rak tabung reaksi, jangka sorong, blue tip, timbangan digital, *yellow tip*, erlenmyer 500 ml, dan 1 liter, pembakar spirtus dan korek api, plastic warp, gelas ukur, corong kaca, spuit volume 1 ml dan 5 ml, dan *cool box*.

#### 3.6.2 Bahan

Bahan uji berupa ekstrak uji antibakteri ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora (L.) C. Presl*) yang diperoleh dari ekstraksi daun kitolod . Bakteri uji yg digunakan adalah *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Kedokteran Universitas Indonesia. Untuk media uji yg diganakan yaitu di MSA (*Mannitol Salt Agar*).  
Bahan selama perlakuan :

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan *galur wistar*
2. Pakan tikus
3. Air minum tikus
4. Sekam untuk kandang tikus

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Prosedur Alkimatisasi Hewan Uji Coba

Hewan uji coba yang digunakan adalah tikus putih yang diaklimatisasi di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Alkimatisasi dilakukan selama seminggu. Hewan uji coba berjumlah 30 ekor dan ditempatkan ke 5 kandang secara acak, masing-masing kandang berisi 6 ekor. Sebelumnya tikus ditimbang dan diberi tanda sesuai perlakuan.

Kandang yang untuk tikus berukuran 40x30x20 cm yang terbuat dari bahan plastik dan tutup kawat besi. Tikus diberi makan sesuai 10% berat badan, yaitu sekitar 15-20 gram/ekor/hari. Pakan diberikan setiap hari pada pukul 07.00 dan 16.00 secara *ad libitum*. Kebersihan kandang dilakukan dengan cara pembersihan sekam setiap 3 hari.

#### 3.7.2 Prosedur Ekstrak Daun Kitolod

Pembuatan ekstrak daun kitolod dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dengan metode maserasi yaitu menggunakan bahan pelarut etanol 70% sebanyak 1.875 ml. Daun kitolod yang didapatkan lalu dikeringkan selama 3 hari. Setelah kering, daun kitolod diblender menjadi serbuk simplisia. Serbuk simplisia menghasilkan 300 gram diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi ke dalam wadah dengan cara dibasahi sedikit demi sedikit terlebih dahulu menggunakan larutan etanol 70%. Sesudah basah dengan baik dicukupkan dengan sisa penyari etanol lalu wadah di tutup. Cairan yang dihasilkan di tiriskan untuk mendapatkan hasil filtratnya, sedangkan sisa ampas diremaserasi kembali menggunakan penyari etanol 70%.

Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak pekat kemudian di uapkan hingga membentuk ekstrak etanol kental. Hasil filtrasi ekstrak etanol daun kitolod diperoleh 35 mg. Konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 60%, 80%, dan 100%. Pengenceran ekstrak daun kitolod, konsentrasi 100% tidak dilarutkan dengan akuades, konsentrasi 80% larutkan 1 gr ekstrak daun kitolod ke dalam 1,25 ml akuades, konsentrasi 60% larutkan 1 gr ekstrak daun kitolod ke dalam 1,67 ml akuades.

Penelitian ini dilakukan tes sterilisasi ekstrak daun kitolod yaitu dengan menambahkan ekstrak daun kitolod pada medium *Nutrient Agar* (NA) untuk membuktikan bahwa ekstrak sudah steril dan tidak terkontaminasi bakteri

### **3.7.3 Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus***

#### **3.7.3.1 Pewarnaan gram *Staphylococcus aureus***

Pembiakan alami akteri diambil 1 ose secara aseptis dan diletakkan pada masing-masing kaca objek kemudian sampel dipanaskan diatas api bunsen hingga selanjutnya terfiksasi. Selanjutnya teteskan satu tetes kristal violet di atas kaca pada objek lalu didiamkan selama 30 detik.

Hasilnya kemudian, kaca preparat dibilas dengan aquades, lalu diberikan tetes larutan lugol di atas kaca preparat, didiamkan selama 1 menit. Kaca preparat dibilas dengan aquades. Berikan etanol 95% di atas pada kaca objek kemudian didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades mengalir hingga warnanya memudar berikan tetes safranin di atas kaca objek kemudian didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, kaca objek dibilas dengan aquades mengalir. Pada pembilasan terakhir, kaca preparat dikeringkan dan diamati di mikroskop. Pada sel

bakteri *Staphylococcus* akan muncul hasil berbentuk kokus berwarna ungu (gram positif), bergerombol seperti anggur atau terlihat hanya satu bakteri (Puspa, 2017).

### 3.7.3.2 Uji katalase

Uji katalase dilakukan untuk membandingkan bakteri genus *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sp* dengan mengambil satu ose koloni dari kultur dan koloni diletakkan pada gelas objek yang sudah ditetesi satu tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Jika timbul gelembung-gelembung hasilnya positif dan hasil negatif apabila tidak adanya gelembung udara (Hamidah, 2019).

### 3.7.3.3 Uji *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Uji *Mannitol Salt Agar* (MSA) yaitu dengan melakukan inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam media MSA (*Mannitol Salt Agar*) dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Jika koloni yang tumbuh berwarna kuning berarti hasil positif bakteri *Staphylococcus aureus* (Darmawi *et al*, 2019).

### 3.7.3.4 Pembuatan *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* diinfeksi pada mata tikus putih jantan galur Wistar dengan cara ditetesi sebanyak 1 tetes dengan konsentrasi bakteri  $\pm 1,5 \times 10^8$  CFU/ml (Sutton, 2011; Aviany & Pujiyanto, 2020).

#### a. Pembuatan Larutan Standar ½ Mc Farland I

Larutan Mc Farland I, mengandung larutan BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 1% b/v 0,1 ml dan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% v/v 9,9 ml. Larutan ½ Mc Farland I dibuat dengan mengencerkan larutan Mc Farland I menjadi dua kalinya (Mac Faddin, 1980; Ariami, 2017).

b. Pembuatan suspensi bakteri

Kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan pada media NA (*Nutrient agar*) dan diremajakan selama 24 jam pada suhu 37 °C. Satu ose biakan bakteri yang telah diremajakan pada media NA (*Nutrient agar*) disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB (*Nutrient broth*) dan disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar  $\frac{1}{2}$  McFarland I secara visual. Kekeruhan tersebut menunjukkan adanya populasi bakteri  $\pm 1,5 \times 10^8$  CFU/ml (Aviany & Pujiyanto, 2020).

**3.7.4 Prosedur Pengamatan Perbaikan Gejala Konjungtivitis Tikus dan Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus***

- a. Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang berisi 6 tikus pada tiap kelompok.
- b. *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- b. Pada hari ke-8, tikus mulai diinduksi konjungtivitis dengan diinfeksi *Staphylococcus aureus*  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Menurut standar *Mcfarland*, standar yang paling umum digunakan di laboratorium mikrobiologi adalah standar *Mcfarland* 0,5 yang setara dengan perkiraan jumlah suspensi bakteri yaitu  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml dimana standar tersebut adalah penelitian hasil biakan bakteri. Bakteri diberikan sebanyak 1 tetes tiap 10 menit selama 1 jam pada kedua mata dengan tetes mata (Aviany & Pujiyanto, 2020).
- c. Tikus didiamkan selama 3 hari (hari ke-9, 10, dan 11) untuk dilakukan pengamatan reaksi konjungtivitis dan dilakukan juga pengamatan perubahan gejala klinis pada tikus.

- d. Pemberian ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora (L.) C. Presl*) yang dilarutkan pada akuades dengan konsentrasi 60%, 80%, dan 100%, kontrol negatif dengan menggunakan aquades serta kontrol positif dengan kloramfenikol 0,5% baru diberikan pada hari ke-12 sampai hari ke-19 setelah mata tikus mengalami konjungtivitis dengan dosis pemakaian 2 tetes (0,10 ml) pada kedua mata dan dilakukan setiap hari selama 1 minggu (sampai gejala konjungtivitis hilang).

Menghitung Jumlah Bakteri Metode TPC dalam *Pour plate* dari *swab* sekret konjungtiva tikus. Menurut Asri *et al* (2016) prosedur untuk menghitung bakteri dengan metode *pour plate* dari *swab* sekret konjungtiva mata adalah

- a. Sampel uji berupa sekret dari *swab* (dengan *cotton bud* steril) pada konjungtiva mata tikus putih yang mengalami konjungtivitis
- b. Sekret dari *swab* dilarutkan pada akuades sebanyak 1 ml kemudian dilakukan pengenceran secara “*dilution*” yaitu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril. Suspensi tersebut merupakan pengenceran  $10^{-1}$  dari suspensi. Setiap langkah tersebut dilakukan secara aseptis.
- b. Suspensi dari pengenceran  $10^{-1}$  diambil 1 ml (sebelum pengambilan terlebih dahulu dilakukan homogenasi) dan dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril. Suspensi tersebut merupakan pengenceran  $10^{-2}$  hasilnya, langkah tersebut diulangi sampai mendapatkan suspensi dengan faktor pengenceran yang memenuhi syarat. Banyaknya pengenceran tergantung tingkat kepekatan mikroba sampel.
- d. Secara aseptis, di ambil 0,1 ml dari pengenceran  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan  $10^{-4}$ , dimasukkan ke dalam cawan petri steril terpisah.

- e. Media MSA (*Mannitol Salt Agar*) dituang yang telah dicairkan terlebih dahulu dan suhu media kurang lebih 45° C ke setiap cawan petri yang telah berisi sampel.
- f. Campuran sampel dan media dihomogenkan dengan cara diputar beberapa kali.
- g. Biakan tersebut di inkubasi dengan posisi cawan petri terbalik, pada suhu antara 37° C selama 24-48 jam.
- h. Jumlah koloni yang muncul (koloni dikelilingi oleh zona bening berwarna kekuningan) dihitung dengan menggunakan colony counter untuk mendapatkan *Total Plate Count* (TPC) *Staphylococcus aureus*. Jumlah koloni bakteri yang dapat digunakan untuk TPC adalah 30 -300.
- i. Penghitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ke-1, dan ke-2, dilakukan pada waktu H+3 setelah tikus ditetesi *Staphylococcus aureus* (hari ke-11), dan H+5 setelah pemberian ekstrak daun kitolod (hari ke-17). Perbaikan gejala konjungtivitis tikus yang terkena konjungtivitis bakteri dilakukan secara deskriptif (menggunakan skala) dan didokumentasikan dengan menggunakan kamera digital. Perbaikan gejala konjungtivitis tikus dilakukan selama 3 hari (hari ke-9, 10, dan 11) setelah tikus diinfeksi *Staphylococcus aureus*  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml sebanyak 1 tetes tiap 10 menit selama 1 jam pada kedua mata yaitu pada kelopak mata terdapat hiperemi (merah), konjungtiva ada hiperemi (merah) dari pinggir bola menuju ke sentral bola mata, adanya sekret dan apparatus lakrimal tampak keruh dan adanga pembengkakan berwarna merah di bawah kelopak mata (Ilyas, 2014).

Mengamati gejala konjungtivitis yaitu mata merah, radang, sekret purulen berwarna putih, hijau atau kuning lendir pada konjungtiva dan edema kelopak mata. Mengamati tanda konjungtivitis ini bisa dihentikan setelah konjungtiva kembali normal ( $\pm$  7 hari). Perbaikan gejala konjungtivitis pada tikus, meliputi kelopak mata, konjungtiva, sekret, aparatus lakrimal. (Yeung, 2017).

**Tabel 3.** Perbaikan Gejala Klinis.

| Bagian            | Gejala klinis | Penilaian             |
|-------------------|---------------|-----------------------|
| Konjungtiva       | Merah         | + = Normal            |
|                   |               | ++ = Sedikit merah    |
|                   |               | +++ = Merah           |
|                   |               | ++++ = Sangat merah   |
| Aparatus lakrimal | Keruh         | + = Normal/Merah      |
|                   |               | ++ = Sedikit keruh    |
|                   |               | +++ = Bengkak         |
|                   |               | ++++ = Sangat banyak  |
| Kelopak Mata      | Bengkak       | + = Normal            |
|                   |               | ++ = Tidak bengkak    |
|                   |               | +++ = Sedikit bengkak |
|                   |               | ++++ = Sangat bengkak |
| Sekret            | Ada           | + = Normal            |
|                   |               | ++ = Sedikit keruh    |
|                   |               | +++ = Keruh           |
|                   |               | ++++ = Sangat keruh   |

(Sanjaya et al., 2021).

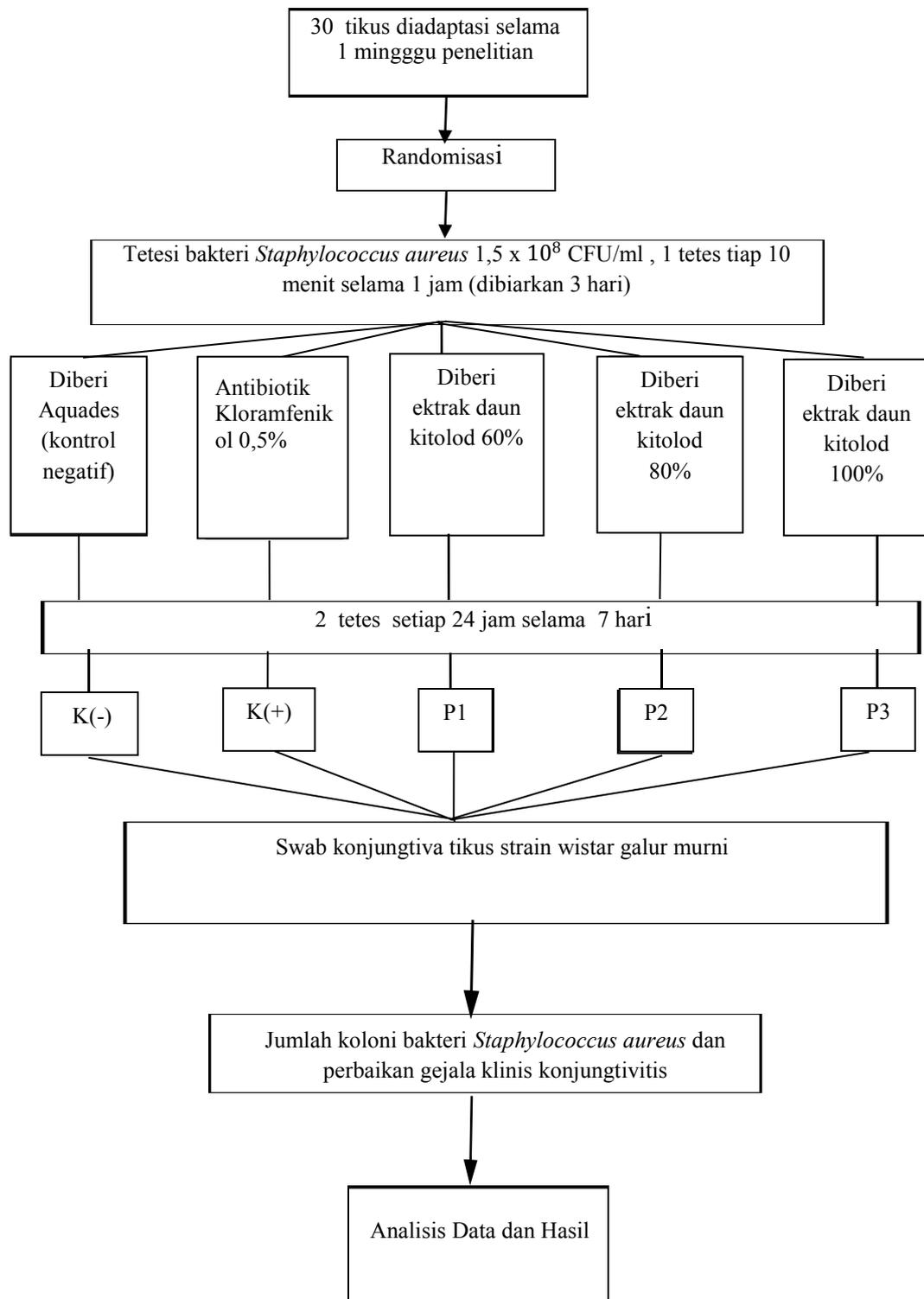
### 3.7.5 Prosedur Pengumpulan Data

Pengumpulan data pada penelitian ini diambil dari hasil penghitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* setiap 48 jam *pretest* dan *posttest* pemberian ekstrak daun kitolod dari swab konjungtiva tikus strain *wistar* galur murni dengan metode *Total Plate Count* (TPC) secara *pour plate* menggunakan *Colony counter*

pada agar cawan yang berjumlah 30 hingga 300 koloni *Staphylococcus aureus*. Jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada kelompok *pretest* dan *posttest*, dihitung pada waktu H+3 setelah tikus diinfeksi *Staphylococcus aureus* (hari ke- 11), dan H+5 setelah pemberian ekstrak daun kitolod (hari ke-17).

Data kuantitatif yang menghasilkan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* (*Total Plate Count/TPC*) pada media *manitol salt agar* dari *swab* konjungtiva tikus wistar pada hari ke-11 dan hari ke-17 setelah aklimatisasi tikus. Data kualitatif yaitu pengamatan perbaikan gejala konjungtivitis bakteri dilakukan setiap 24 jam sebelum dan setelah pemberian ekstrak pada tikus yaitu tidak adanya mata merah, radang, sekret purulen berwarna putih, dan hilangnya edema kelopak mata (Yeung, 2017). Kelopak mata terdapat hiperemi (merah), konjungtiva terdapat hiperemi (merah) dari pinggir bola menuju ke sentral bola mata, adanya sekret dan apparatus lakrimal tampak keruh ada bengkak berwarna merah di bawah kelopak mata dilakukan secara deskriptif (skala) dan didokumentasikan (Ilyas, 2014).

### 3.8 Diagram Alur Penelitian



**Gambar 8.** Diagram alur

### 3.9 Analisis Data

Pada analisis data kuantitatif pada jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan statistik parametrik. Hasil penelitian akan dianalisis apakah memiliki distribusi normal ( $p > 0,05$ ) dengan uji normalitas *Shapiro–Wilk* karena jumlah sampel  $\leq 50$  dan uji homogenitas menggunakan uji Lavene ( $p > 0,05$ ). Jika berdistribusi normal dan homogen maka akan dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*. Hipotesis dianggap bermakna apabila diperoleh hasil ( $p < 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test LSD* ( $p < 0,05$ ) untuk menilai perbedaan yang terdapat antara setiap kelompok perlakuan. Uji *paired t-test* ( $p < 0,05$ ) untuk membandingkan hasil dari 2 kelompok *pretest* dan kelompok *posttest*. Tetapi jika hasil uji normalitas *Shapiro–Wilk* ( $p < 0,05$ ) tidak normal dan tidak homogen maka akan dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* ( $p > 0,05$ ). Apabila tidak memenuhi syarat uji parametrik maka akan dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dengan menggunakan *Post Hoc Mann Whitney* (Dahlan, 2014). Untuk data kualitatif yaitu perbaikan gejala pada konjungtivitis yang dilakukan analisis secara deskriptif kuantitatif (Sanjaya *et al.*, 2021).

### 3.10 Etika Penelitian

Peneliti akan mengajukan penerapan prinsip etik 3R pada komite etika penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Yaitu Replacement, Reduction, Refinement.

1. *Replacement* adalah kebutuhan menggunakan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama baik dari penelitian terlebih dahulu maupun teori untuk memperoleh jawaban dan pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan. Jika pada pemakaian sel dan jaringan manusia harus didahulukan daripada yang diisolasi dari hewan laboratorium. Tetapi harus dipahami adanya masalah etik, keamanan, dan logistik yang dapat menahan penggunaan jaringan manusia secara besar. Apabila

disetujui untuk memakai hewan percobaan, hewan yang dipilih adalah hewan yang paling rendah pada skala filogenetik dan yang paling tidak perasa.

2. *Reduction* adalah penggunaan hewan dalam penelitian sedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang maksimal. Dalam penelitian ini sampel dihitung berdasar rumus *Frederer*
3. *Refinement* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi bermutu baik sesuai karakteristik biologik dan perilaku dengan prinsip dasar, mengurangi atau menghilangkan rasa sakit sehingga meningkatkan kesejahteraan hewan coba, membiarkan hewan coba dari beberapa kondisi, yaitu: bebas rasa lapar, bebas dari ketidaknyamanan, dan bebas dari nyeri serta penyakit.

Apabila tikus dalam keadaan tetap hidup sebelum 14 hari masa terminasi, tikus tetap diberi pakan dan minum yang cukup, berada pada ruangan dengan suhu, kelembapan, dan pencahayaan yang sesuai dan cukup juga kebersihan lingkungan kandang dan sekitarnya dijaga. Apabila telah memasuki hari ke 14 dan tikus masih hidup, dilakukan terminasi dengan prinsip *freedom from pain, injury, and disease*. Dilakukan terminasi menggunakan ketamin kemudian dilakukan dislokasi servikal yang sebelumnya telah dipelajari terlebih dahulu agar dislokasinya dilakukan dengan tepat tidak menimbulkan rasa sakit saat diterminasi. Setelah dilakukan terminasi dan pembedahan, maka tikus dikuburkan dengan baik.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Adapun kesimpulan dari penelitian ini antara lain:

1. Ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) memiliki antibakteri terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.
2. Ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) memiliki antibakteri terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) dapat memperbaiki gejala konjungtivitis terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*.

#### **5.2 Saran**

Berikut adalah saran dari penelitian ini:

##### **1. Bagi Mahasiswa**

Mahasiswa dapat mengetahui pengetahuan tentang manfaat dan kandungan antibakteri pada ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap konjungtiva tikus wistar yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*. Selain itu, penelitian ini disarankan agar dapat digunakan sebagai salah satu bahan kepustakaan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk penelitian selanjutnya.

## **2. Bagi Masyarakat**

Menambah wawasan dan pengetahuan pada masyarakat bahwa terdapat penelitian pada tanaman herbal ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora (L.) C. Presl*) dan memiliki manfaat antibakteri pada penyakit konjungtivitis.

## **3. Bagi Peneliti Selanjutnya**

1. Perlu dilakukannya uji fitokimia terlebih dahulu sebelum melakukan penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa antibakteri yang terdapat dari ekstrak yang akan di uji.
2. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan terkait aktivitas antibakteri daun kitolod terhadap pertumbuhan bakteri lainnya baik gram positif maupun negatif lainnya.
3. Perlu dilakukan pengamatan indikator adanya inflamasi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* seperti jumlah leukosit jenis neutrophil dan limfosit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar B. 2010. Tumbuhan dengan kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai bahan antifertilitas. Jakarta: Adabia Press.
- Akbar M, Neneng H, Muhammad AM, Asrawati S. 2019. Conjunctival laceration of the tarsalis palpebra inerior et causing by a fishing hook. *Jurnal Medical Profession (MedPro)*.1(2): 151-166.
- Alena F, Jamel AA, Ivana K, Krisrina H, Adriana F.2014. Pigmented epibulbar lesion: Overview. *Journal of Pigmentary Disorders*. 1(3): 2-8.
- Al-hajj NQ, Alyousef HA, Sharif HR, & Thabit R. 2016. In vitro of antidiabetic activity of leaf essential oil of in vitro and in vivo evaluation of antidiabetic activity of leaf essential oil of pulicaria inuloides asteraceae. *Journal of Food and Nutrition Research*. 4(7):461-470.
- Aprianti, Yasir, Rijanti. 2014. Faktor-Faktor yang berhubungan dengan tingkat kehadiran ibu menimbang anak balita di Posyandu Wilayah Kerja Puskesmas Alalak Tengah dan Puskesmas S. Parman Kota Banjarmasin. *Jurnal Skala Kesehatan*. 5(1): 1-7.
- Ariami P, Igan D, Ryan A. 2017. Efektifitas teh kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri methicillin resistan staphylococcus aureus (MRSA). *Jurnal Teknologi Laboratorium*. 3(1) : 1-6.
- Arifin B & Ibrahim S. 2018. Struktur bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1):21–29.
- Arifin H, Tesa UA , Octy A, Dian AJ. 2018. Kajian efek analgetik dan toksisitas subakut dari ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma Longiflora L.*) pada mencit putih jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 5(2):112-118.
- Arsyad HM. 2020. Efek estrak daun kitolod (*Isotoma longiflora*) terhadap neovaskularisasi kornea Tikus Wistar model trauma kimia. *Journal of Agromedicine and Medical Science*. 6(2):92-97.
- Asri MT, Trimulyono G, dan Lisdiana L. 2016. Petunjuk praktikum mikrobiologi dasar. Surabaya: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya.

- Aviany HB, Pujiyanto. 2020. Analisis efektivitas probiotik di dalam produk kecantikan sebagai antibakteri terhadap staphylococcus epidermis. *Jurnal Bioteknologi*. 3(2): 24-30.
- Azari AA, Amir A. 2020. Conjunctivitis. *J ophthalmic Vis Res*. 15(3): 372-395.
- Budiono S, Trisnowati TS, Moestidjaj, Eddyanto. 2012. Buku ajar ilmu kesehatan mata. Surabaya: Airlangga University Press.
- Candra S. 2012. Pengaruh pemberian ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa Blimbi L.*) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus wistar yang dibebani aloksan. Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro: Semarang.
- CDC. 2016. Conjunctivitis (Pink Eye).
- Dahlan MS. 2014. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Darmawi, Zahra AF, Salim MN, Dewi M, Abrar M, Syarifuddin, Adam M. 2019. Isolation, Identification and sensitivity Test of *Staphylococcus aureus* on post surgery wound of local dogs (*Canis familiaris*). *Jurnal Medika Veterinaria*, 13(1) : 37-46.
- Dewi AK. 2016. Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari sampel susu kambing Peranakan Ettawa (PE) penderita mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. 31(2) : 138-150.
- Dian R, Fatimawali, Fona B. 2015. Uji resistensi bakteri escherichia coli yang diisolasi dari plak gigi terhadap merkuri dan antibiotik kloramfenikol. *Jurnal E-Biomedik*, 3(1):59-63.
- Epling J. 2012. Konjungtivitis bakteri. *Bukti klinis BMJ*. 7(4):1-4.
- Eroschenko, VP. 2012. Atlas histologi difiore. Jakarta: EGC.
- Fazil M, Rempaka NS, Faizatul A, Desi NA, Gita A, Boima S. 2017. Analisis senyawa alkaloid dan lavonoid dari ekstrak kitolod (*Isotoma longiflora*) dan uji aktivitasnya terhadap bakteri penyebab karies gigi. *Jurnal ITEKIMA*. 2(1): 73-83.
- Gloriana EM, Loraine S, Siswanto. 2021. Karakterisasi flavonoid daun kitolod dengan metode maserasi dan enkapsulasi. *Jurnal ChemPro*. 2(2): 44-51.
- Hamidah MN, Laras R, Romadhon. 2019. Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap E.coli ean S.aureus. 1(2) : 11-17.

- Handayani PH & Ardy PN. 2021. Uji daya hambat rebusan daun kitolod (*Hippobroma longiflora*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Jurnal farmasi. 10(1): 31-37.
- Haryati DS, Sri D, dan Wildiani W. 2017. Perbandingan ekstrak buah alpukat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode disk dan sumuran. Prosiding seminar nasional publikasi hasil-hasil penelitian dan pengabdian masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang. 348-52.
- Hastuti HP, Ardy PN. 2021. Uji daya hambat rebusan kitolod (*Hippobroma longiflora*) terhadap pertumbuhan *staphylococcus aureus*. Jurnal of pharmacy. 10(1) : 31-37.
- Hutagalung PY, Hiswani, Jemadi. 2013. Karakteristik penderita konjungtivitis rawat jalan di RSUD DR Pirngadi Medan tahun 2011. Jurnal Gizi, kesehatan reproduksi dan epidemiologi. 2(1): 1-10.
- Ilyas S, Yulianti SR. 2014. Ilmu penyakit mata. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Indijah SW. 2016. Farmakologi. Jakarta: Kementerian kesehatan republik Indonesia.
- Insani ML, I gede MA, Iga A, Agung NM. 2017. Karakteristik dan manajemen konjungtivitis pasien rawat jalan di rumah sakit indera denpasar periode januari-april 2014. E-jurnal medika. 6(7) : 1-6.
- Junqueira LC. 2011. Histologi dasar teks dan atlas. Jakarta: EGC.
- Kemendes RI. 2015. Rencana Strategis Kementerian Kesehatan Tahun 2015-2019. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Lolowang M, John P, Fredine R. 2014. Pola bakteri aerob penyebab konjungtivitis pada penderita rawat jalan di balai kesehatan mata masyarakat Kota Manado. Jurnal E-Biomedik. 2(1).
- Mac Faddin, JF. 1980. Biochemical tests for Identification of medical bacteria. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Malik E. 2014. Pengaruh perasan daun kitolod (*Isotoma longiflora*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Jurnal Farmasetis 3 (2): 37-41.

- Maulina N. 2015. Pemberian kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap peningkatan kadar hemoglobin tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Wistar. *Jurnal Pendidikan Kimia*. 7(2): 57-60.
- McGilligan VE, Gregory KMS, Li D, Moore JE, Hodges RR, Gilmore MS, Moore TC, Dartt DA. 2013. *Staphylococcus aureus* activates the NLRP3 inflammasome in human and rat conjunctival goblet cells. *PloS one*, 8(9): 1-3.
- Musyirna RN, Bella A. 2019. Total fenolik dan flavonoid serta aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun tenggek burung. *Prosiding SainsTeKEs*. vol. 1: 58-65.
- Nevers G, Edelman DS, Merenlender AM. 2013. *The california naturalist handbook*. London: University of California Press, 33-34.
- Nisa CN. 2019. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma longiflora(L.)* prest terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dengan kontrol antibiotik ofloxacin. *FARMASINDO*. 3(1): 8-10.
- Novitasari TM, Rohmi, dan Nurul I. 2019. Potensi ikan teri jengki (*Stolephorus indicus*) sebagai bahan media alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Analisis Medika Bio Sains*. 6(1): 1-15.
- Nur HA. 2016. Semua orang bisa jadi detektif bahan kimia obat dalam jamu dengan strip test. *Majalah Farmsetika*. 1(1): 1-2.
- O'Callaghan R. J. 2018. *The pathogenesis of Staphylococcus aureus eye infections pathogens*. Basel Switzerland. 7(1): 9.
- Pandia SA. 2015. Faktor yang berpengaruh terhadap kejadian methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pada bayi baru lahir [skripsi]. Universitas Diponegoro.
- Puspitasari AD, Prayogo LS. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura*). 7(2): 147-158.
- Sobotta. 2019. *Atlas anatomi sobotta*. Ed 24. Singapore: Elseiver.
- Pawar RS, Dimri M, Maithani A, & Luv, K. (2020). Asian of pharmaceutical research and Development. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 8(6): 77–80.
- Pippin MM, Le JK. 2020. Bacterial conjungtivitis. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

- Puspadewi R, Puttianti A, Afif A. 2017. Deteksi *staphylococcus aureus* dan salmonella pada jajanan sirup. 3(1): 26-33.
- Ramadhanisa. 2014. Conjunctivitis bacterial treatment in kota karang village. Jurnal J Medula Unila. 3 (2) : 1-7.
- Rosidah AN, Pujiana EL, Pudji A. 2014. Daya antibakteri ekstrak daun kendali (*hippobtoma longiflora*) terhadap pertumbuhan streptococcus mutans. Jurnal pustaka kesehatan. 1(2): 1-7.
- Rifai, MR, Hening Widowati, Agus Sutanto. 2020. Uji sinergis konsorsia bakteri indigen lcn berkonsorsia bakteri tanah di kebun percobaan Universitas Muhammadiyah Metro untuk penyusunan panduan praktikum mikrobiologi. Biolova 1(2). 87-95.
- Ryder EC, Scarlet B. 2020. Conjunctivitis. Statpearls publishing. Treasure Island (FL).
- Safitri I, Inayah I. 2017. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun sapu jagad (*Isotoma Longiflora* (L) Presl.) pada mencit Galur Mus Musculus. JIK. 4(1): 41-47.
- Sanjaya GW, Cici K, Dini A .2021. Efek ekstrak etanol daun murbei (*Morus alba L.*) terhadap konjungtiva tikus wistar model konjungtivitis oleh *Staphylococcus aureus*. Jurnal of agromedicine ad medical science. 7(1):1-7.
- Sangi M, Runtuwene MRJ, Simbala HEI, Makang VMA. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten Minahasa Utara. Chem. Prog. 1(1):47-53.
- Sekar SSA, Wahyu W. 2019. Aktivitas antibakteri air perasan daun kitolod (*Isotoma Longiflora*) dengan variasi jumlah daun terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophillus*. Jurnal Farmasi. 1-8.
- Shakira IG, Azhar MB, Zainul S. 2012 Karakteristik Klinis dan Demografi Pasien yang berobat. [Skripsi]. Jambi: Universitas Jambi.
- Shumway CL, Motlagh M, Wade M.2021. Anatomy, head and neck, eye conjunctiva. StatPearls publishing [Internet]. Treasure Island (FL).
- Silverman. 2010. Conjunctivitis. Departement of Emergency Medicine: Harbor Hospital.
- Silvester A, Neal T, Czanner G, Briggs M, Harding S, Kaye S. (2016). Adult bacterial conjunctivitis: Resistance patterns over 12 years in patients attending a large primary eye care centre in the UK. In BMJ Open Ophthalmology. 1(1):1-4.

- Sitompul, R. 2017. Konjungtivitis viral: Diagnosis dan terapi di pelayanan kesehatan primer. eJKI. 5(1) : 64-71.
- Soebagjo HD. 2019. Penyakit sistem lakrimal. Surabaya: Airlangga University Press.
- Soesetyaningsih E, Azizah. 2020. Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan. Berkala Sainstek. 8 (3): 75-79.
- Sudarmin. 2021. Berkreasi mendasari pembelajaran berbasis etnosains untuk mendukung pembangunan berkelanjutan. Magelang: Pustaka rumah science.
- Sugiyono. 2012. Metode enelitian kuantitatif kualitatif dan R&B. Bandung: Alfabeta.
- Sujati W. 2016. Bahan Ajar Cetak Farmasi Farmakologi. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia: Indonesia.
- Sukmawati dan Hardianti F. 2018. Analisis Total Plate Count (TPC) mikroba pada ikan asin kakap di kota sorong Papua Barat, Jurnal Biodjati Vol. 3(1): 72- 78.
- Sundari S, Fadhliani. 2019. Uji Angka Lempeng Total (ALT) pada sediaan kosmetik lotion x di BBPOM medan. Jurnal biologica samudra. 1(1): 25-33.
- Sutton S. 2011. Determination of inoculum for microbiological testing. Journal of GXP Compliance. 15(3): 49-53.
- Takahashi Y, Watanabe A, Matsuda H, Nakamura Y, Nakano T, Asamoto K, Ikeda H, & Kakizaki H. 2013. Anatomy of secretory glands in the eyelid and conjunctiva: a photographic review. Ophthalmic plastic and reconstructive surgery, 29(3): 215–219.
- Taylor TA, Unakal CG. 2020. *Staphylococcus aureus*. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Tian-yang, Wang, Qing Li, and Kai-shun Bi. 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants: structure, activity and biological fateasian. Journal Of Pharmaceutical Sciences. (13) : 12–23.
- Tifani WK. 2013. Uji efektivitas ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma longiflora*) sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Jurnal Medical Science. 1(7) : 56-67.

- Toelle NN, Lenda V. 2014. Identifikasi dan karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari infeksi ovarium pada ayam petelur komersial. *Jurnal Ilmu Ternak.* 1(7): 32-37.
- Vasanthakumari R. 2016. Textbook of microbiology third edition. Gurugram: Wolters Kluwer.
- Vaughan, Asbury. 2019. Oftalmogi umum. edisi 19. Jakarta: EGC.
- Vaughan, Asbury. 2015. Oftalmologi umum. anatomi & embriologi mata: Glaukoma. Edisi ke-17. Jakarta: EGC.
- Warsa, U. C. 2011. Buku ajar mikrobiologi kedokteran, kokus positif gram *staphylococcus*. Tangerang : Binarupa Aksara Publisher.
- Wei L, Ai Qin N, Qiang L, Ning X. 2019. Establishment of rapid diagnostic method for the identification of *Staphylococcus aureus* in bacterial conjunctivitis. *Material Express.* 9(5) : 484-491.
- Widianingsih M, Dian CS. 2019. Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada abon sapi di pasar pahing Kota Kediri. 5(2): 99-105.
- Wulandari, Ariyani LW. 2020. Nanogel minyak biji bunga matahari (*Helianthus Annuus*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta.* 63-66.
- Yeung KK. 2017. Bacterial conjunctivitis. *Emedicine medscape.*
- Zurimi S. 2019. Pengaruh pemberian irigasi mata dalam mengatasi kebutuhan rasa nyeri pada pasien konjungtivitis. *Jurnal Jurnal Tunas-Tunas Riset Kesehatan.* 9(4) : 394-398.
- Zulharmita, Ummil K, Harizzul R. 2012. Pembuatan dan karakteristik ekstrak kering daun jambu biji (*Psidium guajava*). *Jurnal farmasi higea.* 4 (2) : 147-157.