

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*
Ruiz & PAV) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus pneumoniae* dan
*Salmonella typhi***

(Skripsi)

**Oleh
HERINA AZZAHRA
1958011022**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*
Ruiz & PAV) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus pneumoniae* dan
*Salmonella typhi***

Oleh

HERINA AZZAHRA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum Ruiz and PAV*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus pneumoniae* DAN *Salmonella typhi***

Nama Mahasiswa : **Herina Agzahra**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1958011022

Program Studi : **PENDIDIKAN DOKTER**

Fakultas : **KEDOKTERAN**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr, Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

Dr. dr TA Larasati, M.Kes., FISCM, FISPH
NIP. 197706182005012012

MENGETAHUI

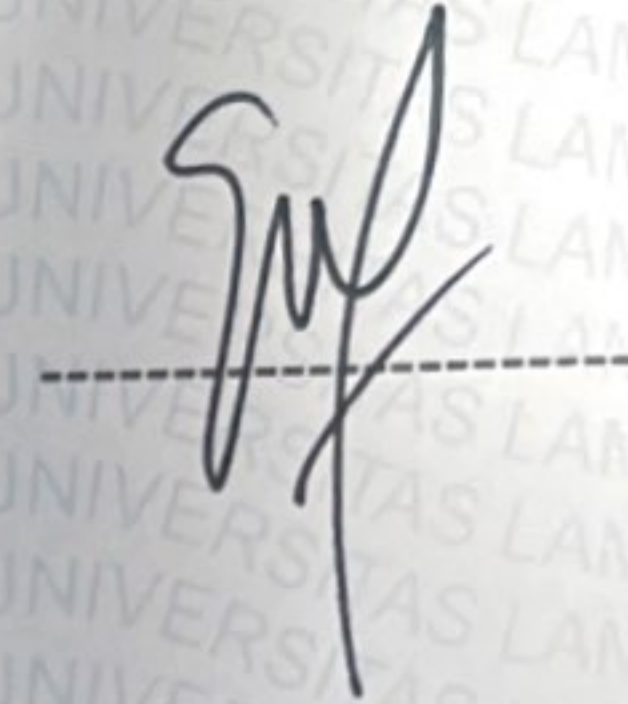
2. Dekan Fakultas Kedokteran

Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, SKM, M.Kes.
NIP. 197206281997022001

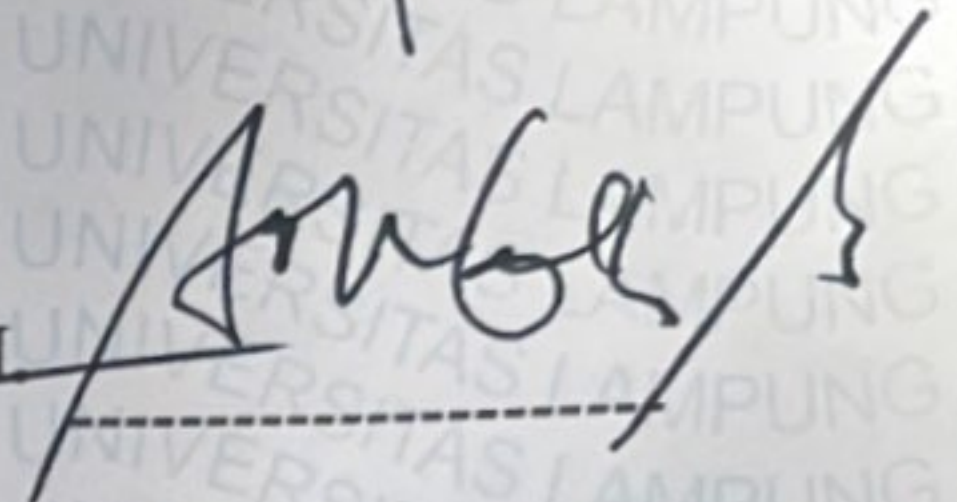
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.**



Sekretaris : **Dr. dr. TA Larasati, M.Kes., FISCM, FISPH**



Penguji : **Dr. dr. Ety Apriliana, S.Ked., M.Biomed.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran

Prof. Dr Dyah Wulan SRW, S.KM., M.Kes.

NIP. 19720628 199702 2 001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **10 Februari 2023**

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Herina Azzahra
Nomor Pokok Mahasiswa : 1958011022
Tempat, Tanggal Lahir : Jakarta, 25 Agustus 2002
Alamat : Jl. Kelapa No. 36 Sepang Jaya, Labuhan Ratu
Bandar Lampung

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul “UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & PAV) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam akademik atau yang dimaksud dengan plagiarisme.
2. Hak intelektual 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, 30 Januari 2023
Pembuat pernyataan,



Herina Azzahra

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jakarta pada tanggal 25 Agustus 2002 sebagai putri bungsu dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Suheru, SIK., MH dan Ibu Rini Novita. Penulis pernah bersekolah di SD Al-Azhar Bandar Lampung, SMPN 2 Bandar Lampung, serta SMAN 2 Bandar Lampung. Penulis melanjutkan pendidikan sarjana di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Selama pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, penulis aktif dalam organisasi Lampung University Medical Research (LUNAR) FK Unila. Penulis aktif sebagai Sekretaris Divisi Bussiness and Manajement (BnM) Lunar FK Unila sepanjang kepengurusan 2020-2021.

SANWACANA

Puji syukur penulis sampaikan atas kehadiran Allah SWT, atas rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum Ruiz & PAV*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*”.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, dorongan, kritik dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, S.K.M., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc selaku Pembimbing Utama yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran dan tenaganya untuk membimbing penulis serta memberikan masukan pada penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. TA Larasati, M.Kes., FISCM, FISPH selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta memberikan masukan dalam proses penyusunan skripsi ini disela-sela kesibukan beliau sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. dr. Ety Apriliana, S.Ked., M.Biomed. selaku Pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, serta memberikan masukan, kritik dan saran dalam proses penyusunan skripsi ini.
5. dr. Intanri Kurniati, Sp.PK., selaku Pembimbing Akademik atas kesediaan beliau memberikan arahan, masukan, dan motivasi kepada penulis selama proses pembelajaran di kampus.
6. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan.

7. Seluruh staf dan *civitas* akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi dan membantu penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
8. Seluruh staf laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah bersedia membantu penulis dalam melakukan penelitian demi kepentingan penyusunan skripsi ini.
9. Kepada keluargaku tercinta Papa Heru, Mama Rini, Bang Daffa, Kak Nafisa, dan Kak Annisa yang selalu hadir dan memberi dukungan agar Herina selalu merasa cukup.
10. Terima kasih kepada Papa dan Mama yang selalu mengusahakan segala sesuatu demi tercapainya impian dan kehidupan yang lebih baik untuk putra-putrinya. Terima kasih telah membantu, menemani, dan mendo'akan Herina hingga bisa menyelesaikan studi di FK Unila.
11. Terima kasih kepada sahabat-sahabat kikum; Ona, Hany, Fadila, Tasya Aldiesa, Dika, Aldi, Zhalif, Farhan, Ali, dan Machmud yang selalu hadir dan membantu dalam kesulitan yang dihadapi oleh penulis, serta teman belajar, pendengar keluh-kesah, dan saling menguatkan hingga saat ini.
12. Terima kasih kepada kerabat terdekat saya Iqbal Wahyu Prama Ichsan yang selalu hadir menjadi tempat saya berkeluh kesah dan selalu menemani sekaligus membantu saya dalam mengerjakan skripsi serta memberikan motivasi penuh untuk saya dalam mengejar impian saya.
13. Terima kasih kepada sahabat-sahabat SMA: Ratna, Eci, Tiara, Aya, dan Sapira yang selalu mendukung penulis untuk mengejar impian, memberikan motivasi, dan menjadi pendengar keluh-kesah penulis.
14. Terima kasih untuk teman-teman sejawat L19AMENTUM Fakultas Kedokteran Universitas Lampung angkatan 2019 atas dukungan, bantuan, dan kerja sama yang telah diberikan serta telah menjadi teman seperjuangan selama ini.
15. Terima kasih kepada semua yang turut serta dalam membantu dan terlibat dalam pelaksanaan penyusunan skripsi yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi yang ditulis masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik serta saran yang bersifat membangun demi penulisan skripsi yang lebih baik. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa menjadi manfaat bagi pembaca dan mendapat ilmu yang bermanfaat dari skripsi ini.

Bandar Lampung, 30 Januari 2023

Penulis,

Herina Azzahra

ABSTRACT

THE INHIBITION TEST OF RED BETEL LEAVES (*Piper crocatum* Ruiz & PAV) EXTRACT AGAINST THE GROWTH OF *Streptococcus pneumoniae* AND *Salmonella typhi*

By

Herina Azzahra

Background: Infectious diseases are still a health problem in the world, both in developed and developing countries. Infectious disease is a disease caused by pathogenic microbes (viruses, bacteria, fungi) and is the main cause of high morbidity and mortality rates. Respiratory tract infections and typhoid fever caused by bacteria are still the most common health problems. Pneumonia is an infection or acute inflammation of the lung tissue caused by various *Streptococcus pneumoniae* bacterial microorganisms, exposure to chemicals or physical damage to the lungs. Meanwhile, typhoid fever is a type of infection caused by the bacterium *Salmonella Enterica*, especially the *Salmonella Typhi* derivative. The high level of resistance to antimicrobials, which currently still causes chronic infections in humans, has led to the idea that medical personnel must be more careful in using and finding the right antibiotics. One of the potential medicinal plants that is known empirically to have properties for curing various diseases is Red Betel Leaf (*Piper crocatum* ruiz and PAV).

Purpose: This study aims to prove that red betel leaves has an inhibitory effect against *Streptococcus pneumoniae* and *Salmonella typhi*.

Methods : This study used an experimental method. The technique used to measure antibiotic activity is the method of well diffusion and continued by Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney test.

Results: The results showed that extract of red betel leaf can inhibit the growth of *Salmonella typhi* at concentrations 20%, 30%, 40%, and 50% and the most effective is 50% concentration. But, there is no result on *Streptococcus pneumoniae*

Conclusions: Red betel leaves (*Piper crocatum* Ruiz & PAV) have an inhibitory power against *Salmonella typhi* but does not have an inhibitory effect on *Streptococcus pneumoniae* bacteria

Keyword: *Piper crocatum* Ruiz and Pav, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella typhi*

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Klinis	5
1.4.3 Manfaat Masyarakat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Daun Sirih Merah (<i>Piper crocatum ruiz & PAV</i>)	6
2.1.1. Pengertian dan Klasifikasi	6
2.1.2. Faktor Mutu Kimia Tanaman Daun Sirih Merah	8
2.1.3. Kandungan dan Manfaat	8
2.1.4 Penelitian Terdahulu Manfaat Daun Sirih Merah	11
2.2. <i>Streptococcus</i>	13
2.2.1. Pengertian.....	13
2.2.2. Struktur Antigen.....	14
2.2.3. Daya Tahan	16
2.3. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	17

2.3.1. Pengertian dan klasifikasi	17
2.3.2. Identifikasi	20
2.3.3. Morfologi	22
2.3.4. Pembiakan	22
2.3.5. Struktur Antigen	23
2.3.6. Infeksi Oleh <i>Streptococcus pneumoniae</i>	23
2.3.7. Patogenesis	24
2.3.8. Diagnosis	24
2.3.9 Pencegahan dan Pengobatan	25
2.4 <i>Salmonella typhi</i>	25
2.4.1 Pengertian dan klasifikasi	25
2.4.2 Identifikasi	27
2.4.3 Morfologi	32
2.4.4 Patogenesis <i>Salmonella typhi</i>	32
2.4.5. Diagnosis	33
2.4.6 Penatalaksanaan Demam Tifoid	35
2.5. Kerangka Teori.....	37
2.5. Kerangka Konsep	37
2.6. Hipotesis.....	38
BAB III METODE	39
3.1. Rancangan Penelitian	39
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	39
3.2.1. Tempat Penelitian.....	39
3.2.2. Waktu Penelitian	39
3.3. Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian	40
3.3.1. Mikroba Uji Penelitian	40
3.3.2. Bahan Uji Penelitian.....	40
3.3.3. Media Kultur	40
3.4. Identifikasi Variabel	41
3.4.1. Variabel Independen	41
3.4.2. Variabel Dependen.....	41
3.5. Definisi Operasional.....	41

3.6. Besar sampel	42
3.6.1. Kelompok Perlakuan	43
3.6.2. Diagram Alur Penelitian.....	44
3.7. Prosedur Penelitian.....	44
3.7.1 Persiapan	44
3.7.1.1 Alat Penelitian	44
3.7.1.2 Bahan Penelitian.....	45
3.7.2. Sterilisasi Alat	45
3.7.3 Uji Determinasi	45
3.7.4. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah	45
3.7.6 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Merah	46
3.7.7 Pembuatan media MHA (<i>Mueller Hinton Agar</i>)	47
3.7.8 Pembuatan Suspensi Bakteri	47
3.7.9. Uji Diameter Zona Hambat <i>Streptococcus penumoniae</i> dan <i>Salmonella thypi</i> dengan Metode <i>Well Diffusion</i> (Metode Sumuran)	47
3.8. Analisis Data	48
3.9 Ethical clearance	48
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	49
4.1 Hasil Penelitian	49
4.1.1 Identifikasi Daun Srih Merah (<i>Piper crocatum Ruiz and Pav</i>)	49
4.1.2 Hasil Uji Fitokimia Daun Sirih Merah (<i>Piper crocatum Ruiz and</i> <i>Pav</i>	49
4.1.3 Uji Zona Hambat Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	50
4.1.4 Uji Zona Hambat Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	51
4.2 Pembahasan	54
4.3 Keterbatasan Penelitian	59
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1 Kandungan dan Senyawa Daun Sirih Merah	9
Tabel 2 Uji Klinis.....	12
Tabel 3 Definisi Operasional	41
Tabel 4 Rumusan Masalah	43
Tabel 5 Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun sirih merah <i>Piper crocatum ruiz and Pav</i> terhadap <i>Streptococcus pneumoniae</i> .	50
Tabel 6 Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun sirih merah <i>(Piper crocatum Ruiz & PAV)</i> terhadap bakteri <i>Salmonella typhi</i>	51
Tabel 7 Hasil uji normalitas zona hambat ekstrak daun sirih merah <i>(Piper crocatum Ruiz & PAV)</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	52
Tabel 8 Hasil uji homogenitas <i>Levene</i> zona hambat ekstrak daun sirih merah <i>(Piper crocatum Ruiz & PAV)</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	53
Tabel 9 Hasil uji Kruskal-Wallis zona hambat ekstrak daun sirih merah <i>(Piper crocatum Ruiz & PAV)</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	53
Tabel 10 Uji <i>Post hoc</i> Mann-Whitney ekstrak daun sirih merah <i>(Piper crocatum Ruiz & PAV)</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i>	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Daun Sirih Merah	6
Gambar 2. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	17
Gambar 3. Identifikasi <i>Streptococcus pneumoniae</i>	20
Gambar 4. Morfologi <i>Streptococcus pneumoniae</i>	22
Gambar 5. Morfologi <i>Salmonella typhi</i>	32
Gambar 6. Kerangka Teori	37
Gambar 7. Kerangka Konsep	37
Gambar 8. Alur Penelitian	44
Gambar 9. Uji Fitokimia Daun Sirih Merah	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. DOKUMENTASI HASIL UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>) TERHADAP <i>Streptococcus pneumoniae</i>	68
Lampiran 2. DOKUMENTASI HASIL UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>) TERHADAP <i>Salmonella typhi</i>	70
Lampiran 3. Surat Izin Penelitian	72
Lampiran 4. Surat Peretujuan Etik	73
Lampiran 5. Hasil Uji Fitokimia	74
Lampiran 6. Hasil Uji Determinasi Daun Sirih Merah	75
Lampiran 7. Surat Keterangan Bakteri	76
Lampiran 8. Hasil Analisis Data	78
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian	82

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini masih terus saja terjadi peningkatan penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan di dunia, baik negara maju maupun negara berkembang. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen (virus, bakteri, jamur) dan merupakan penyebab utama tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*). Penyakit infeksi saluran pernapasan dan demam tifoid yang disebabkan oleh bakteri masih menjadi masalah utama kesehatan yang paling sering terjadi. (Syahidi HM, 2013).

Pneumonia adalah infeksi atau peradangan akut di jaringan paru yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme bakteri *Streptococcus pneumoniae*, paparan bahan kimia atau kerusakan fisik paru. Pneumonia dapat menyerang siapa aja, seperti anak-anak, remaja, dewasa muda dan lanjut usia, namun lebih banyak pada balita dan lanjut usia. Pneumonia dibagi menjadi tiga yaitu *community acquired pneumonia* (CAP) atau pneumonia komunitas, *hospital acquired pneumonia* (HAP) dan *ventilator associated pneumonia* (VAP), dibedakan berdasarkan darimana sumber infeksi dari pneumonia. Pneumonia yang sering terjadi dan dapat bersifat serius bahkan kematian yaitu pneumonia komunitas (Sulistyawati S *et al*, 2020)

Angka kejadian pneumonia sering terjadi pada negara berkembang. Pneumonia diketahui menyerang sekitar 450 juta orang setiap tahunnya. Pada tahun 2018 prevalensi Pneumonia berdasarkan diagnosis tenaga Kesehatan yaitu sekitar 2%

sedangkan pada tahun 2013 yaitu 1,8% yang menandakan terdapat peningkatan (Riskesdas, 2018). Jumlah penderita pneumonia di Indonesia pada tahun 2013 berkisar antara 23%-27% dan kematian akibat pneumonia sebesar 1,19%. Tahun 2010 di Indonesia pneumonia termasuk dalam 10 besar penyakit rawat inap di rumah sakit dengan *crude fatality rate* (CFR) atau angka kematian penyakit tertentu pada periode waktu tertentu dibagi jumlah kasus adalah 7,6%. Menurut Profil Kesehatan Indonesia, pneumonia menyebabkan 15% kematian balita yaitu sekitar 922.000 balita tahun 2015. Dari tahun 2015- 2018 kasus pneumonia yang terkonfirmasi pada anak-anak dibawah 5 tahun meningkat sekitar 500.000 per tahun, tercatat mencapai 505.331 pasien dengan 425 pasien meninggal. Dinas Kesehatan DKI Jakarta memperkirakan 43.309 kasus pneumonia atau radang paru pada balita selama tahun 2019 (Kemenkes, 2019).

Demam tifoid merupakan jenis infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella* Enterica khususnya turunan *Salmonella* Typhi (Alba *et al.*, 2016). *Salmonella* Typhi akan berinvansi dan melakukan multiplikasi kedalam sel fagosit mononuklear dari hati, limpa, kelenjar limfe usus, dan peyer patch. kasus yang memberat bisa menimbulkan komplikasi yang serius bahkan hingga menyebabkan kematian. Satu-satunya yang menjadi reservoir dari *Salmonella* Typhi adalah manusia, dimana jalur penularannya melalui feses – oral (WHO, 2018).

Menurut data dari WHO wilayah dengan kasus terbanyak demam tifoid adalah Afrika, Asia Tenggara dan daerah Pasifik Barat. Hal ini bisa disebabkan oleh masih kurangnya ketersediaan air bersih, masih kurang memadainya sanitasi lingkungan atau bahkan karena masih rendahnya kebersihan dari individu itu sendiri (WHO, 2018). Di Indonesia sendiri, surveilans didasarkan pada (Kepmenkes) tentang Penyelenggaraan Sistem Surveilans Epidemiologi Kesehatan, sistem pelaporan, monitoring dan evaluasi kegiatan pengendalian demam tifoid (Elisabeth Purba *et al.*, 2016). Dari data yang tersedia, didapatkan angka kejadian tertinggi demam tifoid ditemukan pada anak-anak khususnya di negara endemik. Jika melihat data pada profil kesehatan Indonesia tahun 2011

dan 2012, demam tifoid masuk dalam 10 besar penyakit dengan pasien rawat inap terbanyak di rumah sakit yakni menempati posisi ke-3. Pada tahun 2011 didapatkan 80.850 kasus dengan 1.747 kematian. Tahun 2012 jumlah kasus berkurang menjadi 41.081 kasus dengan kematian 274 orang (Kementerian Kesehatan RI, 2013)

Tingginya tingkat resistensi terhadap antimikroba yang saat ini masih menyebabkan infeksi kronis terhadap manusia, membuat pemikiran bahwa tenaga medis harus lebih teliti dalam menggunakan maupun menemukan antibiotik yang benar. Hal ini juga memacu para masyarakat baik tenaga medis maupun non medis untuk menggunakan tanaman obat sebagai alternatif penyembuhan.

Salah satu tanaman obat potensial yang diketahui secara empiris memiliki khasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit yaitu Daun Sirih Merah (*Piper crocatum ruiz and PAV*). Sirih merah ini dalam masyarakat terkenal dalam khasiatnya untuk mengobati penyakit seperti diabetes militus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolestrol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi, jantung koroner, kanker rahim, kanker payudara, ambeien, TBC, obat sakit gigi, sariawan, bau badan, penyakit kelamin, radang liver, radang prostat, radang mata, keputihan, maag, kelelahan, nyeri sendi, memperhalus kulit, radang pada telinga, obat batuk, radang pada paru, radang pada tenggorok, radang pada gusi, radang pada payudara, hidung berdarah, dan batuk darah. Selain itu, sudah banyak penelitian mengenai tanaman antimikroba yang dapat melawan infeksi yang salah satunya sendiri adalah Daun Sirih Merah (*Piper crocatum ruiz and PAV*) dan daun sirih hijau (*Piper betle Linn*) (Julintiana, et al. 2018).

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian pada latar belakang penelitian, adapun rumusan masalahnya yaitu sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak daun sirih merah memiliki efek terhadap daya hambat *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi* ?
2. Berapakah kadar ekstrak daun sirih merah yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini yaitu untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui daya hambat berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.
- b. Untuk mengetahui berapa konsentrasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) yang bisa menghambat *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat untuk Akademis

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperluas wawasan mengenai manfaat ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*).
- c. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dapat dijadikan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2. Manfaat Klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadikan ekstrak daun sirih merah sebagai pengobatan alternatif dalam mengobati penyakit akibat bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

1.4.3. Manfaat bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan baru kepada masyarakat bahwa ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan dari penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Sirih Merah (*Piper crocatum ruiz & PAV*)



Gambar 1. Daun Sirih Merah (Julintiana, *et al.* 2018)

2.1.1 Pengertian dan Klasifikasi

Sirih merah merupakan tanaman asli Peru, ia termasuk tanaman semak, batang bersulur dan beruas, dengan jarak buku antara 5-10 cm, dan pada setiap buku tumbuh bakal akar. Daun bertangkai, berbentuk ellips, acuminatus, subacut pada basalnya dengan bagian atas meruncing, tepi rata, mengkilap atau tidak berbulu. Panjangnya 9-12 cm dan lebarnya 4-5 cm. Urat daun pin- natus dari separuh bagian bawah, urat daunnya 4-5 x 2, *bullulatus-lacunosa*. Petiolus, panjang 10 mm, spike panjang 90-110 mm, tebal 5 mm. Daun bagian atas berwarna hijau tua, dengan daerah sekitar

tulang daun keperakan, dan bagian bawah berwarna ungu. Daun berlendir, berasa pahit dengan bau kurang spesifik (Parfati & Windonp, 2016).

Sirih merah termasuk dalam famili Piperaceae dengan permukaan daun yang tampak mengkilap dan keperakan. Klasifikasi sirih merah yaitu sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)
Sub Kingdom : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)
Super divisi : *Spermatophyta* (menghasilkan biji)
Divisio : *Magnoliophyta* (tumbuhan berbunga)
Class : *Magnoliopsida* (berkeping dua/dikotil)
Order : *Piperales*
Family : *Piperaceae* (suku sirih-sirihan)
Genus : *Piper*
Species : *Piper crocatum Ruiz & Pav*

(Septiana, 2011)

Tanaman sirih merah menyukai tempat teduh, berhawa sejuk dengan sinar matahari 60-75%, dapat tumbuh subur dan bagus di daerah pegunungan. Bila tumbuh pada daerah panas, sinar matahari langsung, batangnya cepat mengering. Selain itu, warna merah daunnya akan pudar (Ma'rifah A, 2012).

Selain memiliki kemampuan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, daun sirih merah juga terkenal dalam mengatasi biang keringat (*mastocytosis*) yang terjadi akibat adanya histamin yang terkumpul di dalam kulit. Lalu daun sirih merah ini juga sering kali digunakan dalam pemakaian obat luar sebagai penyembuhan untuk dermatitis, batuk, sinusitis, dan mimisan. Daun sirih merah bersama dengan kunyit dan sambilito bisa direbus dan air rebusan tersebut bisa digunakan untuk mengompreskan ke kulit yang mengalami inflamasi, selain itu jika daun sirih ditambah lidah

buaya direbus dapat digunakan sebagai pengobatan dari pruritus ani. (Ma'rifah A, 2012).

2.1.2 Faktor Mutu Kimia Tanaman Daun Sirih Merah

Faktor yang mempengaruhi antara lain umur, waktu, lingkungan, dan bagian tanaman yang dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang terbesar. Waktu panen sebaiknya dilakukan pada pagi hari untuk menghindari proses penguapan pada siang hari (Maulidya *et al*, 2016).

Faktor ekofisiologi harus optimal agar menghasilkan kandungan kimia tanaman yang berkualitas. Ketinggian tempat tumbuh yang berbeda menyebabkan terdapat perbedaan ketersediaan unsur hara, kelembapan, intensitas cahaya matahari dan suhu. Intensitas cahaya berkaitan erat dengan proses fotosintesis tumbuhan. Radiasi energi dari matahari adalah sumber energi untuk metabolisme tumbuhan. Hasil fotosintesis akan digunakan untuk pembentukan organ tumbuhan. Nutrisi dari tanah dapat diabsorpsi akar apabila dalam bentuk senyawa yang sesuai. pH tanah yang terlalu asam atau terlalu basa akan menyebabkan beberapa nutrisi yang dibutuhkan tidak tersedia dalam bentuk senyawa yang bisa diabsorpsi. Kondisi pH tanah yang terlalu asam akan menyebabkan tanaman kekurangan magnesium, kalsium, dan kalium, sedangkan kondisi pH yang terlalu basa tidak terlalu memberikan stres pada tumbuhan dikarenakan adanya kandungan kalsium dalam tanah. (Hamsa A, 2021)

2.1.3 Kandungan dan Manfaat

Tanaman memproduksi berbagai macam senyawa yang memiliki tujuan sebagai “Metabolit sekunder” yaitu bahan yang tidak esensial untuk kepentingan hidup tanaman tersebut namun dapat berkompetensi dengan makhluk hidup lainnya (Marifah, 2012). Berikut merupakan kandungan

metabolit sekunder pada daun sirih merah yang sudah dilaksanakan pada penelitian terdahulu.

Tabel. 1 Kandungan dan Senyawa Daun Sirih Merah

PENELITI	SENYAWA	METODE	MANFAAT
Agustina S. Beon Karol Geovani Batista Leki (2016)	Alkaloid	Analisis Fitokimia (Uji Alkaloid) Sebanyak 3 tetes NH ₄ OH ditambahkan ke dalam 0,1 gram ekstrak daun sirih merah yang telah dilarutkan dalam 5 ml kloroform. Fraksi kloroform kemudian disiapkan, dan dua tetes H ₂ SO ₄ 2 M digunakan untuk mengasamkannya. Lapisan atas (asam) dihilangkan, dan lapisan ini kemudian ditetesi dengan tiga tetes dari masing-masing tiga reagen—Dragendorf, Mayer, dan Wagner—yang masing-masing akan menghasilkan endapan dengan warna yang berbeda, yaitu merah, jingga (oranye), putih, atau coklat.	Alkaloid merupakan senyawa yang memiliki kandungan ≥ 1 atom nitrogen yang tercipta dan umumnya ada yang dalam bentuk campuran sebagai bagian dari sistem siklik (Harborne 1987). Zat alkaloid bisa mencegah pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif dengan memicu terjadinya lisis sel serta perubahan struktur bakteri
Agustina S. Beon Karol Geovani Batista Leki (2016)	Flavonoid	Uji Flavonoid. ekstrak daun sirih merah sebanyak 0.1 gr ditambahkan dengan metanol 30% sebanyak 5 ml, kemudian dipanaskan selama 5 menit. Selanjutnya, filtrat ditambahkan dengan H ₂ SO ₄ . Warna merah yang disebabkan dengan menambahkan H ₂ SO ₄ menandakan adanya kandungan flavonoid. Buah pinang digunakan sebagai pembanding	Flavonoid telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan, kapasitas penangkal radikal bebas, mencegah penyakit jantung koroner, aktivitas hepatoprotektif, antiinflamator, antikanker, serta antivirus yang potensial. Dalam sistem tanaman, flavonoid bermanfaat dalam membantu memerangi stres oksidatif dan berperan

			<p>sebagai pengatur pertumbuhan. Produksi masal untuk keperluan farmasi yang hemat biaya dari berbagai jenis flavonoid menjadi memungkinkan dengan bantuan bioteknologi mikroba. (Kumar S, 2013)</p>
<p>Agustina S. Beon Karol Geovani Batista Leki (2016)</p>	Tanin	<p>Uji Tanin. Sebanyak 5 ml akuades ditambah dengan Ekstrak dari daun sirih merah sebanyak 0.1 gr, lalu dibuat mendidih selama 5 menit. Lalu, penyaringan dilakukan dan hasil penyaringan (filtrat) yang diperoleh ditetesi dengan FeCl₃ 1% sebanyak 5 tetes. Jika diperoleh warna biru tua atau hijau kehitaman, hal ini menandakan adanya kandungan tanin.</p>	<p>Tanin juga memiliki potensi sebagai senyawa antimikroba. Tanin merupakan zat polifenol yang bisa larut dalam air, gliserol, metanol, hidroalkohol, propilen glikol. Tanin tidak dapat larut oleh eter, kloroform, karbon disulfida, benzena, serta petroleum eter (Harborne 1987). Mekanisme senyawa tanin sebagai agen antimikroba dapat menghambat yaitu dengan menginaktivasi adehin di permukaan sel mikroba (Noorhamdani, Endang, Irwanto, 2013)</p>
<p>Agustina S. Beon Karol Geovani Batista Leki (2016)</p>	Saponin	<p>Uji Saponin. 5 ml akuades ditambah dengan ekstrak daun sirih merah sebanyak 0.1 gr. Kemudian laurtan dipanaskan dalam temperatur 100°C selama 5 menit. Selanjutnya, kocok larutan selama 5 menit. Jika terdapat busa, busa yang terbentuk minimal memiliki tinggi 1 cm dan tetap stabil setelah didiamkan selama 15 menit menandakan adanya kandungan saponin.</p>	<p>Saponin adalah glikosida yang bersifat basa dalam air yang jika dilakukan hidrolisis dengan sama akan menciptakan zat gula dan spongenin yang sesuai. Saponin memiliki manfaat sebagai agen antibakteri yang mencegah stabilitas dari membran sel bakteri sehingga akan membuat sel bakteri tersebut menjadi lisis. Ia akan meningkatkan tonus pada permukaan membran sel bakteri. (Darsana <i>et al.</i>, 2012)</p>

Agustina S. Beon Karol Geovani Batista Leki (2016)	Triterpenoid dan Steroid.	Uji Triterpenoid dan Steroid. Pada 5 ml etanol 30% ditambahkan 0,1 gram ekstrak daun sirih merah. Campuran tersebut kemudian direbus dan disaring. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan. Lapisan eter kemudian direaksikan dengan pereaksi Lieberman-Buchard yang terdiri dari 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Jika hasilnya berwarna hijau atau biru berarti terdapat senyawa steroid, dan jika berwarna merah atau ungu berarti terdapat senyawa triterpenoid.	Triterpenoid menandakan adanya kegiatan antiviral, antibakteri, antiinflamasi sebagai inhibisi terhadap kanker dan kolestrol (Nassar <i>et al</i> , 2010) Steroid juga sudah dilakukan penelitian sebelumnya dapat menghambat bakteri pada konsentrasi 1000 ppm (Hidayah WW <i>et al</i> , 2016)
Sujaya TA., Palupi S., Krisnawan HA (2019)	Minyak Atsiri	Destilasi uap dan air sebanyak 750 gr simplisia dan didestilasi selama 6 jam	Minyak atsiri memiliki efek antibakteri karena dapat menghalangi cara membran sel terbentuk sehingga pada akhirnya membran sel tidak jadi terbentuk atau terbentuk dengan tidak sempurna. Minyak atsiri dapat dengan lancar untuk larut dalam etanol absolut, kloroform eter, dan minyak tanah eter. Namun, minyak atsiri sangat sedikit dalam air. Minyak atsiri gampang menguap di bawah pengaruh udara cahaya, dan panas.

Sumber: (Puspita *et al*, 2018); (Liste, 2020)

2.1.4 Penelitian Terdahulu Manfaat Daun Sirih Merah

Pengobatan menggunakan daun sirih merah juga sudah dilewati berbagai uji klinis yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel. 2 Uji Klinis Terdahulu Daun Sirih Merah

No.	Uji Klinis	Hasil Uji Klinisi
1.	Sebagai antibakteri <ul style="list-style-type: none"> • Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> • Bakteri penyebab Ulkus Diabetik • Bakteri <i>Enterococcus Faecalis</i> • Bakteri <i>Bacillus cereus</i>, <i>Eschericia coli</i>, dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 	<p>Diameter zona hambat ekstrak metanol daun sirih merah pada 100, 50, dan 25 mg/ml berturut-turut adalah 25,66 1,527 mm, 14,66 1,154 mm, dan 8,66 1,154 mm. Ekstrak daun sirih merah dalam metanol menunjukkan nilai KHM sebesar 3,13 mg/ml dan KBM 6,25 mg/ml. (Moha RD, 2018)</p> <p>Aktivitas hambatan yg paling besar ditunjukkan oleh fraksi heksan yang merikan hambatan pada bakteri <i>P. auresinosa</i> pada konsentrasi 20% dan 10%, lalu aktivitas hambatannya juga signifikan terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>S. epidermidis</i> yaitu pada konsentrasi 20%. Selain itu, fraksi heksan juga memberikan hambatan terhadap bakteri <i>K. pneumonia</i> pada konsentrasi 20%. Fraksi etil asetat juga memberikan hambatan yang baik pada semua bakteri uji terutama pada bakteri <i>S. aureus</i> pada konsentrasi 20%. (Elviana & Anggia, 2018)</p> <p>Dalam konsentrasi 20% ekstrak metanol daun sirih merah bisa mencegah pertumbuhan dari bakteri <i>Enterococcus faecalis</i> dan dalam konsentrasi 25% bisa membunuh bakteri <i>Enterococcus faecalis</i> (Pasril & Yuliasanti, 2014)</p> <p>Aktivitas anti bakteri minyak atsiri daun sirih merah pada bakteri <i>B. cereus</i> memiliki nilai KHM 1%, <i>s. aureus</i> memiliki nilai KHM 0.25%, serta <i>E.coli</i> dan <i>P. aeruginosa</i> memiliki nilai KHM 0.75% (Ngaisah, 2010)</p>
2.	Perbandingan penurunan kadar glukosa darah menggunakan tikus putih jantan dengan glibenkamid	Pada tikus putih jantan (<i>Rattus novergicus</i>), <i>Piper crocatum ruiz and PAV 2%</i> dengan dosis 50 mg/kg dan 100 mg/kg mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga setara dengan glibenkamid 0,02% (1 ml/kg). (Dewi <i>et al</i> , 2014)
3.	Rebusan daun sirih merah terharap perubahan kadar gula darah puasa pada pasien Diabetes Melitus di Kleurahan Tarok Dipo Bukit Tinggi	Sebelum menerima rebusan daun sirih merah, rata-rata kadar gula darah puasa peserta adalah 195,73 mg/dl. Namun setelah pemberian air rebusan daun sirih merah (post-test), rata-rata kadar gula

	darah puasa responden meningkat menjadi 176,07 mg/dl. (Maryani, 2014)
4. Penghambatan pada kanker payudara	Daun sirih merah memiliki aktivitas antimigrasi dalam sel pada konsentrasi 30 g/l (1/4 IC50) dan memiliki efek sitotoksik pada sel kanker payudara metastatik 4T1 dengan skor IC50 120 g/ml. Hal ini disebabkan bahan kimia flavonoid dalam ekstrak daun sirih merah memiliki kemampuan menghambat migrasi sel kanker payudara 4T1 melalui berbagai jalur pensinyalan. (Zulharini <i>et al</i> , 2018).
5. Antiinflamasi	Diamati dari berbagai penanda peradangan seperti IL- 1 β , TNF- α , IL-6, dan uji aktivitas penghambatan NO dengan induksi <i>cell line</i> makrofag lipopolisakarida bakteri (<i>Bacteria lipopolysaccharide</i> (LPS) <i>cell line macrofag</i>) (RAW 264.7). Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa ekstrak pada konsentrasi 50 μ g/ml menunjukkan <i>cell line</i> yang menghasilkan penurunan TNF- α yang bermakna yaitu dengan nilai 242.5 pg/ml akibatnya dapat dikatakan bahwa daun sirih merah mempunyai efek antiinflamasi yang baik (Laksmitawati <i>et al</i> , 2017).

Sumber: (Purnama, 2022); (Dewi *et al.*, 2014); (Liste, 2020)

2.2 Streptococcus

2.2.1 Pengertian

Streptococcus sp adalah bakteri gram positif. Beberapa spesies Streptococcus merupakan flora normal manusia dan beberapa spesies lainnya dapat menyebabkan penyakit menular. Infeksi ini dapat menyebar melalui luka terbuka. Streptococcus sp berbentuk batang cochineal tunggal atau tersusun dalam rantai cochineal yang membagi dua rantai dalam bidang tegak lurus sumbu panjang. Anggota rantai ini biasanya membentuk penampakan diplococcal tetapi terkadang dapat dilihat dalam bentuk seperti batang. Panjang rantai bervariasi dan dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Membran sel Streptococcus mengandung protein (antigen M, T, R), karbohidrat dan peptidoglikan. Streptococcus pili mirip dengan rambut yang menonjol melalui kapsul Streptococcus grup A, yang dibuat di

bagian protein M yang juga dilapisi dengan asam lipoteichoic. Asam lipoteikoat ini berperan penting dalam perlekatan bakteri *Streptococcus* pada sel epitel (Jawetz et al., 2014).

Klasifikasi ilmiah dari bakteri *Streptococcus* yaitu sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Firmicutes*
Class : *Bacilli*
Ordo : *Lactobaciales*
Family : *Streptococcaceae*
Genus : *Streptococcus*
Spesies : *Streptococcus pyogenes*
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus viridans
Streptococcus agalactia

(Soedarto, 2015)

Selain itu ada juga klasifikasi dari beberapa hal, diantaranya sebagai berikut:

1. Klasifikasi berdasarkan jenis hemolisis pada lempeng agar darah
 - a) *Streptococcus hemolitik – alfa*
 - b) *Streptococcus hemolitik – beta*
 - c) *Streptococcus hemolitik – gama*

2. Klasifikasi berdasarkan sifat khas biologis (menurut Bergey's Manual)
 - a) *Grup piogenes*
 - b) *Grup viridans*
 - c) *Grup enterokokus*
 - d) *Latrip streptococcus*

3. Klasifikasi berdasarkan pada struktur antigen
 - a) Rebecca Lancifield membagi *Streptococcus* secara serologis menjadi grup A sampai V.

b) Griffith membagi *Streptococcus* grup A berdasarkan protein M menjadi tipe 1 sampai 30.

4. Klasifikasi berdasarkan kebutuhan oksigen

a) Anaerob fakultatif, seperti *Streptococcus pyogenes* dan *Streptococcus faecalis*.

b) Anaerob mutlak, seperti *peptostreptococcus*

(Dzen SM *et al*, 2003).

2.2.2 Struktur antigen

a. Antigen dinding sel grup-spesifik

Dinding sel *Streptococcus* mengandung banyak karbohidrat, yang menjadi dasar klasifikasi berdasarkan serologi. Dengan melisiskan sel *Streptococcus* secara enzimatis (misalnya, dengan pepsin atau tripsin) atau dengan memasukkan substansi sel ke dalam autoklaf bertekanan 15, ekstrak dari kultur yang telah disentrifugasi dengan asam hidroklorat panas, asam nitrat, atau formaldehida dapat dibuat dari gugus antigenik yang spesifik untuk pengelompokan *Streptococcus* selama 15 menit. Gula amino berperan dalam spesifisitas serologis karbohidrat spesifik kelompok. Gula amino pada *Streptococcus* grup A adalah *rhamnose-N-acetylgalactosamine*, sedangkan polisakarida grup B adalah *rhamnose-glucosamine*, grup C adalah *rhamnose-N-acetylgalactosamine*, grup D adalah gliserol asam terikat, yang mengandung D-alanin dan glukosa, dan grup F adalah glukopiranosil-N-asetilgalaktosamin (Su *et al*, 2019).

b. Protein M

Zat ini adalah faktor virulensi utama dari bakteri *Streptococcus pyogenes* group A. Protein ini menyerupai seperti tonjolan yang menyerupai rambut pada membran sel bakteri. *Streptococcus* bersifat virulen bila mengandung protein M. Tanpa adanya antibodi spesifik tipe M, bakteri ini bisa bertahan dari proses fagositosis yang dilakukan leukosit polimornuklear. *Streptococcus* group A tidak bersifat virul

jika tidak mempunyai protein M. Kekebalan terhadap infeksi bakteri ini dihubungkan dengan adanya antibodi spesifik terhadap protein M. Molekul protein M mempunyai struktur seperti batang yang berbentuk melingkar dan memisahkan bagian-bagian yang fungsional. Struktur ini memungkinkan berbagai perubahan besar dengan tetap mempertahankan fungsinya sehingga imunodeterminan protein M dapat dengan mudah berubah (Su *et al*, 2019).

c. Zat T

Substansi T tidak berkaitan dengan faktor virulensi bakteri *Streptococcus*. Berbeda dengan protein M, substansi T tidak bersifat tahan asam atau panas. Zat T didapatkan dari *Streptococcus* melalui digesti proteolitik yang dengan cepat mendegradasi protein M. Substansi T dapat membedakan spesies tertentu dari bakteri *Streptococcus* melalui proses aglutinasi menggunakan antiserum spesifik, sedangkan jenis zat T lainnya adalah sama. Antigen permukaan lain disebut protein R (Su *et al*, 2019).

d. Nukleoprotein

Basa lemah yang digunakan untuk ekstraksi protein memperoleh hasil berupa campuran protein dan zat lainnya dengan spesifitas serologi yang rendah serta disebut zat P. Sebagian besar badan sel *Streptococcus* mungkin dapat tersusun dari zat ini (Su *et al*, 2019).

2.2.3 Daya Tahan

- a. Terhadap panas: beberapa bakteri *Streptococcus* akan mati pada suhu 55°C dalam waktu 10 menit. Semua spesies *Streptococcus* akan mati pada suhu 60°C dalam waktu 30-60 menit.
- b. Terhadap bahan kimia: Bakteri *Streptococcus* akan mati dalam yodium, 1/200 fenol, 1/75 kresol, 2% mercurochrome, dan 1/1000 hexylresorcinol dalam waktu 15 menit bila terkena bahan kimia tersebut.

- c. Terhadap obat-obatan: kecuali *Streptococcus faecalis* dan keluarga *Enterococcus*, bakteri *Streptococcus* rentan terhadap sulfonamid. Efektivitas peningkatannya jauh melebihi kloramfenikol, tetrasiklin, dan streptomisin, yang semuanya dapat dengan segera menyebabkan resistensi.

2.3 *Streptococcus pneumoniae*



Gambar 2. Penampilan koloni *Streptococcus pneumoniae* & alfa-hemolisis pada agar darah (Maulidyana, 2018)

2.3.1 Pengertian dan klasifikasi

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri flora normal dan bersifat gram positif yang biasanya ada pada nasofaring manusia tetapi dapat juga menjadi patogen penyebab infeksi pneumonia bila sistem imun dalam tubuh lemah. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai penyakit non-invasif, seperti otitis media atau penyakit invasif lainnya seperti meningitis, bakteremia, dan pneumonia. Kemudian bisa juga menjadi IPS (*Invasive Pneumococcal Disease*), yaitu ketika bakteri *Streptococcus pneumoniae* berada di dalam darah, cairan serebrospinal, atau tempat steril lainnya di dalam tubuh. Bakteri ini menyebabkan penyakit menular dengan morbiditas dan mortalitas yang signifikan di

seluruh dunia baik pada anak-anak maupun orang dewasa (Wigundwipayana *et al*, 2019).

Untuk membuatnya lebih mudah untuk mengidentifikasi jenisnya dengan antiserum tertentu, bakteri ini sering berbentuk bulat hingga lanset, sedangkan beberapa menyerupai rantai dengan lingkaran polisakarida. Panjang rantai bervariasi tergantung pada lingkungan, dan jika ditanam dalam media yang mengandung sedikit magnesium, rantai panjang akan muncul dengan sendirinya. *Streptococcus pneumoniae* secara umum sedikit berbeda dengan *Streptococcus* lainnya. *Streptococcus* berkembang dalam biakan padat sebagai koloni diskoid berdiameter 1-2 mm. Kecuali ketika darah atau cairan jaringan masuk, bakteri *Streptococcus pneumoniae* sendiri kurang subur ketika dibiakkan dalam media padat atau kaldu. Pada kondisi aerob dan anaerob fakultatif, bakteri *Streptococcus pneumoniae* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37,5°C pada media dengan pH sekitar 7,6-7,8. Dalam biakan lempeng agar darah, bakteri dapat membentuk koloni bulat kecil yang dikelilingi oleh zona kehijauan. Bakteri *Streptococcus pneumoniae* dapat berkembang selama beberapa bulan pada dahak kering yang tidak terkena sinar matahari langsung. Padahal bakteri ini hanya bisa hidup sebentar di benih yang terkena sinar matahari langsung. (Radji, 2011).

Komponen *Streptococcus pneumoniae* memiliki peran spesifik untuk bertahan hidup di saluran pernapasan. Membran sel *Streptococcus pneumoniae* mengandung peptidoglikan dan asam teichoic. Membran sel ini dapat merangsang masuknya sel inflamasi dan mengaktifkan kaskade komplemen dan produksi sitokin. Selain itu, ada sekitar 27 kapsul heterogenitas di mana kapsul ini dapat menjelaskan perbedaan lebih dari 100 jenis polisakarida *Streptococcal* yang secara kovalen melekat pada permukaan luar peptidoglikan. Kapsul polisakarida ini

merupakan faktor penting karena dapat memberikan perlindungan terhadap fagositosis (Jawetz *et al*, 2014).

Berikut merupakan klasifikasi bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Kingdom : *Bacteriae*

Phylum : *Firmicutes*

Class : *Diplococcic*

Ordo : *Lactobacillales*

Family : *Streptococceae*

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus pneumoniae*

(Jawetz *et al*, 2014)

2.3.2 Identifikasi



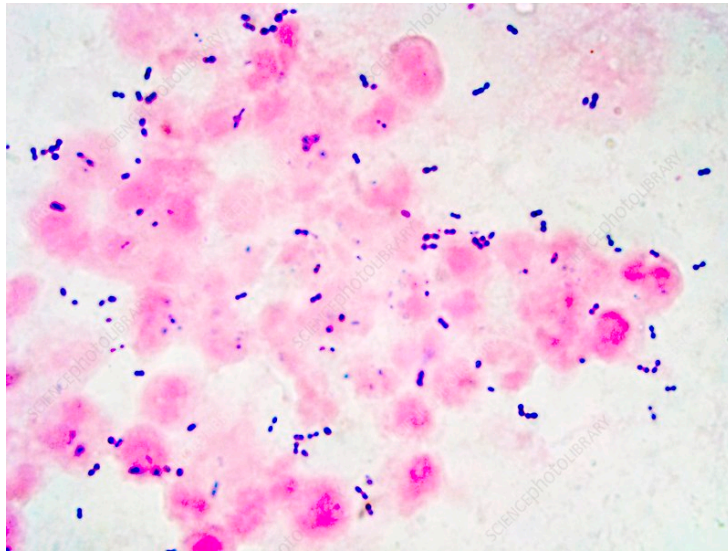
Gambar 3. Identifikasi *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae bisa diidentifikasi dengan kultur media agar darah dan juga diidentifikasi dengan koloni hemolitik alfa diantaranya ada pengecatan fram, tes katalase, serta tes optokin. Pada media agar darah, koloninya akan berwarna abu-abu, mucoid, dan didkelilingi area alfa hemolitik berwarna hijau. Pada pemeriksaan ini didapatkan karakteritik *Streptococcus pneumoniae* yang serupa dengan bakteri *Streptococcus* lainnya, termasuk juga pada kategori alfa hemolitik, seperti *Streptococcus viridans*. Pada pewarnaan gram, cat yang digunakan antara lain ada crystal violet,

iodine, dan safranin. Pemeriksaan ini akan memperlihatkan di bawah mikroskop *Streptococcus pneumoniae* dengan bentuk kokus berantai warna ungu. Hal ini disebabkan dinding sel bakteri yang 50-90% nya terdiri dari peptidoglikan, sehingga memerangkap zat warna crystal violet dan tidak terbilas dalam proses selanjutnya.

Proses yang terjadi dalam pemeriksaan metode tes katalase yaitu berupa hasil dari pemecahan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Hasil yang positif akan menunjukkan adanya gelembung yang merupakan hasil dari terbentuknya oksigen. Semua bakteri *Streptococcus* tidak memiliki aktivitas tersebut, sehingga pada tes katalase hasilnya negatif. Akan tetapi, tes ini hanya membuktikan *Streptococcus* sp., begitu juga dengan pengecatan gram. Lalu yang terakhir ada Tes optokin yang menggunakan Optovhin (P) disks (6 mm, 5). Optochin disk mempunyai aktivitas inhibisi pertumbuhan *S. pneumoniae*. Pada zona inhibisi 14 mm atau lebih, mengindikasikan hasil presumtif *S. pneumoniae*. Akan tetapi, terdapat pula *S. pneumoniae* yang resisten Optochin. Oleh karena itu, zona inhibisi <14 mm membutuhkan tes kelarutan empedu.

2.3.3 Morfologi



Gambar 4. Penampilan *Streptococcus pneumoniae* menggunakan pewarnaan gram (Todar, 2011)

Streptococcus pneumoniae tergolong bakteri gram positif, anaerob fakultatif, dan merupakan coccus (pisau bedah) berbentuk lancet. Bakteri ini umumnya terlihat sebagai sepasang cocci (diplococci), tetapi juga dapat dilihat secara individu atau sebagai rantai pendek. Bakteri ini memiliki diameter sekitar $1\mu\text{m}$. Pada pewarnaan, bakteri ini bersifat gram positif, tidak bergerak (non motil), memiliki kapsul, dan tidak membentuk spora. (Soedarto, 2015)

2.3.4 Pembiakan

Streptococcus pneumoniae adalah bakteri yang membutuhkan perlakuan khusus, tumbuh optimal pada lingkungan dengan karbon dioksida 5%. Bakteri hidup dalam suasana anaerob fakultatif dapat ditingkatkan pertumbuhannya dengan meningkatkan konsentrasi CO_2 menjadi sebesar 15%. Pertumbuhan bakteri ini membutuhkan sumber katalase, misalnya darah, untuk menetralkan sejumlah besar peroksida hidrogen yang dihasilkan oleh bakteri ini. Pada medium yang mengandung darah, pada suhu 37%, bakteri mempunyai doubling time sebesar 20-30 menit. Pada biakan agar, *pneumococci* membentuk koloni yang mengkilat. Biakan pada medium agar darah, *Pneumococcus* bersifat hemolitik-alfa. Seperti halnya dengan

streptokoki lainnya, mereka tidak mempunyai katalase dan memfermentasi glukosa menjadi asam laktat (Soedarto, 2015). Sebagian besar energi diperoleh dari fermentasi glukosa; hal tersebut disertai dengan produksi cepat asam laktat yang membatasi pertumbuhan. Penetralkan biakan kaldu dengan basa pada interval tertentu menyebabkan pertumbuhan masif (Jawetz, 2014)

2.3.5. Struktur Antigen

Dinding sel pneumokokus mengandung peptidoglikan dan asam teikoat seperti streptokokus lainnya. Polisakarida kapsul terikat secara kovalen ke peptidoglikan dan ke polisakarida dinding sel. Polisakarida kapsul tersebut berbeda secara imunologi untuk masing-masing 91 tipe yang ada. Polisakarida C yang ditemukan di dinding semua *Streptococcus pneumoniae* dapat dideteksi dalam urine dan cairan serebrospinal (CSS) sebagai tes diagnostic penting untuk infeksi pneumokokus (Jawetz, 2016) Apabila pneumokokus tipe tertentu dicampur dengan serum antipolisakarida spesifik untuk tipe yang sama atau dengan antiserum polivalen pada pemeriksaan mikroskopik, kapsul akan membengkak, dan organisme beraglutinasi melalui pengikatan silang antibodi. Reaksi tersebut berguna untuk identifikasi cepat dan penentuan tipe organisme, baik dalam sputum maupun biakan (Jawetz *et al*, 2014)

2.3.6 Infeksi oleh *Streptococcus pneumoniae*

Bakteri *Staphylococcus* akan menginvasi sitokin paru dan sel endotelial dengan berikatan dengan rPAF lalu ia akan diinternalisasi dan bermigrasi menuju vakuola untuk mencapai akses ke paru-paru. Bakteri ini akan mengalami variasi fase spontan yang ditandai dengan berubahnya morfologi koloni dari opak menjadi transparan sehingga perubahan bentuk ini mempunyai banyak kapsul yang menyebabkannya lebih antifagositik dan cocok masuk ke dalam peredaran darah. Ketika berhasil masuk ke dalam

peredaran darah, Bakteri memiliki potensi untuk menyebabkan meningitis pneumokokal dengan septikemia. Invasi ke ruang subarachnoid berhubungan dengan kemampuan pneumokokus dalam berikatan dengan rPAF sel endotel di vaskuler serebral oleh CbpA. Toksin pneumokokal seperti pneumolysin (Leonard A., Lalk M, 2018)

2.3.7. Patogenesis

Streptococcus pneumonia (pneumokokus) memiliki kapsul polisakarida. Kapsul ini melindungi pneumokokus dari fagosit. Terdapat lebih dari 90 serotip kapsular yang berbeda. Polisakarida kapsular sangat bersifat antigenik dan antibodi terhadap jenis yang spesifik bersifat memberikan perlindungan.

Antigenitas bersifat spesifik terhadap jenisnya, tetapi terdapat beberapa reaksi silang antartipe. Komponen dinding sel bersifat pro-inflamasi. Pneumokokus juga memiliki variasi adhesi yang memerantarai kolonisasi dengan menempel pada karbohidrat di permukaan sel. (Irianto, 2013) Koloni bakteri ini dapat ditemukan pada nasofaring 40% populasi manusia. Pneumokokus melekat erat pada epitel nasofaring melalui berbagai mekanisme respon imun. Penyebaran dapat terjadi ke paru dan telinga tengah dipengaruhi oleh neuraminidase, sedangkan peradangan yang terjadi disebabkan oleh komponen dinding sel pneumokokus dan pneumolisin menyebabkan terjadinya sitotoksitas pada sel bersilia dari cochlea. Sekitar 100.000 bakteri/ml dibutuhkan untuk merangsang terjadinya respon imun inflamasi pada jaringan sehat (Soedarto, 2015).

2.3.8. Diagnosis

Sistem pernapasan bagian atas manusia adalah habitat khas bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Pada agar darah, koloni *Streptococcus pneumoniae* menunjukkan zona *alfa-hemolitik* yang

membedakannya dari *Streptococcus grup A (beta-hemolitik)* tetapi tidak dari *S. viridans* karena kedua jenis bakteri tersebut bersifat *alfa-hemolitik*. Untuk membedakan *S. pneumococcus* dari *S. viridans*, dilakukan uji fermentasi inulin, kelarutan empedu, dan sensitivitas antibiotik. (Soedarto, 2015).

2.3.9. Pencegahan dan pengobatan

Sekitar 60% bakteri *Streptococcus pneumoniae* menyebabkan pneumonia bakterial. Pada awal penyakit, faktor predisposisi lebih penting daripada paparan agen infeksi, dan individu sehat lebih penting untuk penyebaran pneumokokus daripada yang sakit. Untuk mencegah infeksi, penderita dapat diimunisasi dengan polisakarida jenis tertentu. Vaksin tersebut dapat memberikan perlindungan 90% terhadap bakteri pneumonia (Jawetz *et al*, 2016).

2.4 *Salmonella typhi*

2.4.1 Pengertian dan Klasifikasi

Salmonella adalah bakteri mesofilik, berbentuk batang, gram negatif, anaerobik fakultatif, motil, dan tidak bersporulasi. Keluarga *Enterobacteriaceae*, yang termasuk bakteri ini, dapat dibagi menjadi spesies, subspecies, dan serotipe. Dua spesies *Salmonella* dalam genus ini adalah *Salmonella enterica* dan *Salmonella bongori*. Enam subspecies dari spesies *Salmonella enterica* telah diidentifikasi, termasuk subspecies *Enterica* (juga dikenal sebagai Subspesies I), subspecies *Salami* (juga dikenal sebagai Subspesies II), *Arizonae* atau IIIa, *Diarizonae* atau IIIb, *houtenae* atau IV, dan *Indikatif* atau VI. Ada tiga antigen *Salmonella*: kapsul Vi, flagela H, dan antigen eksternal O. (virulensi). Lebih dari 2.500 serotipe *Salmonella* yang berbeda dapat menginfeksi manusia. Namun, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella paratyphi C*, *Salmonella*

cholerae, dan *Salmonella typhi* merupakan serotipe utama yang sering menginfeksi manusia. (Kuswyanto, 2017).

Bakteri *Salmonella* bersifat parasit dan patogenik terhadap hewan maupun manusia. Dengan pH minimal 4, *salmonella* dapat berkembang biak antara 4° dan 47°C (optimal pada suhu 37°C). Bakteri berbentuk batang ini memiliki panjang 2 hingga 5 mikrometer dan diameter 0,7 hingga 1,5 mikrometer. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob yang berarti bakteri ini dapat bertahan hidup walaupun tanpa oksigen. Pergerakannya tergantung pada *peritrichous flagella* (Hammack, 2012).

Dinding sel *Salmonella* terdiri dari beberapa lapisan, termasuk lipoprotein, protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida (LPS). Ukuran panjangnya bervariasi, dan sebagian besar bakteri memiliki flagela peritrik yang motil.

Klasifikasi *Salmoella Thypii*

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Class	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Salmonella</i>
Species	: <i>Salmonella enteric</i>
Subspesies	: <i>enteric I</i>
Serotipe	: <i>typhi</i>

(Jawetz *et al*, 2014)

Salmonella typhi dapat ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi. Beberapa bakteri yang masuk langsung dihancurkan oleh asam lambung, namun ada juga yang masuk lebih

dalam ke saluran pencernaan dan berkembang biak. Jika respon imun IgA humoral mukosa usus tidak baik, bakteri mencapai usus halus. Pertama akan menembus sel-sel epitel terutama sel M lalu ke lamina propia. Di lamina propia bakteri berkembang biak dan difagosit oleh sel fagosit terutama makrofag (Nelwan,RHH.,2007). Bakteri *Salmonella thypii* ini berkembang biak di dalam makrofag yang selanjutnya dibawa ke Plaque peyeri ileum distal menuju kelenjar getah bening mesenterika. Melalui duktus torasikus bakteri masuk ke dalam sistem peredaran darah sehingga menyebabkan bakterimia (asimtomatik) dan demam tifoid. Bakterimia dikatakan asimtomatik karena baru pertama terjadi kurang lebih 24-72 jam setelah bakteri tertelan dan biasanya tanpa gejala sebab bakteri langsung ditangkap oleh sel-sel sistem retikuloendotelial tubuh yang utama yaitu hati, limpa dan sumsum tulang. Pada organ ini, bakteri akan meninggalkan makrofag dan kemudian berkembang biak diluar sel (ruang sinusoid) selanjutnya menuju kedalam sirkulasi darah lagi yang menyebabkan bakterimia kedua kalinya dengan tanda dan gejala infeksi sistemik.

2.4.2 Identifikasi

Salmonella typhi dapat dikenali di bawah mikroskop (menggunakan pewarnaan gram), dengan kultur bakteri, analisis biokimia, analisis serologis, dan analisis biomolekuler.

1. Pewarnaan gram

Dengan melakukan prosedur pewarnaan didapatkan bahwa *Salmonella thypi* merupakan bakteri gram batang negatif

2. Kultur bakteri

Merupakan suatu teknik kultur bakteri yang memanfaatkan media. Media kultur yang paling banyak digunakan adalah agar Mac Conkey. Selain itu, media kultur tambahan yang sering digunakan seperti Mac Conkey, Eosine Methylene Blue, atau media deoxycholat dapat digunakan untuk dengan mudah

mengidentifikasi keberadaan laktosa non-fermentor seperti bakteri *Salmonella typhi*.

Lebih tepatnya, media selektif yang mendukung pertumbuhan *Salmonella* dan *Shigella*, seperti agar *Salmonella-shigella* (agar SS) atau agar enterik Hectoen dapat digunakan untuk isolasi. Empedu sapi adalah media kultur yang disarankan untuk *S. typhi*. Hal ini dikarenakan hanya *S. typhi* dan *S. paratyphi* yang dapat tumbuh pada media ini, maka media tersebut dapat meningkatkan hasil yang baik. *S. typhi* akan membentuk koloni *black jet* pada media SSA (*Salmonella Shigella Agar*) karena bakteri tersebut menghasilkan H₂S (Sucipta A, 2015).

Prinsip biakan bakteri ini adalah: membekukan darah pasien + 1% media Empedu atau Empedu dalam Pepton Water (1:1) diinkubasi selama 24 jam dalam suasana aerobik, kemudian diberi media diferensial seperti media MacConkey, jika hasilnya diketahui bakteri mampu memfermentasi laktosa (laktosa positif) maka pemeriksaan tidak dilanjutkan, sedangkan jika bakteri tidak memfermentasi laktosa (laktosa negatif) maka pemeriksaan dilanjutkan untuk mencari bakteri *Salmonella* (Qushai, 2014). Uji Serologis

1. Tes Widal

Tujuan dari tes Widal adalah untuk mendeteksi antibodi (dari darah) terhadap antigen dari bakteri *Samonella thypi/parathypi*. Bahan yang digunakan dalam pengujian ini adalah antibodi aglutinin dalam serum pasien yang terinfeksi bakteri *Salmonella* pada sel flagellar (H) dan badan bakteri (O). Karena menggunakan reaksi aglutinasi, tidak ada artinya bila dilakukan dalam suatu pengujian. Akan lebih masuk akal jika pemeriksaan komprehensif dilakukan dua kali, yakni pada fase akut dan 7-10 hari kemudian. Karena

aglutinin O dan H meningkat secara signifikan sekitar 8 hari setelah timbulnya demam hari pertama. Jika judulnya empat kali lipat, hasilnya positif signifikan (Meta S, 2013).

2. Uji Tubex

Tes Tubex adalah salah satu tes serologis yang menguji aglutinasi kompetitif semi kuantitatif untuk mendeteksi antibodi IgM terhadap antigen lipopolisakarida (LPS) terhadap O-9 *S. typhi* tanpa mendeteksi IgG. Tes Tubex memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih baik daripada tes Widal (Keddy et al., 2011). Sensitivitasnya dapat ditingkatkan dengan menggunakan partikel berwarna dan sedangkan spesifisitasnya dapat ditingkatkan dengan menggunakan antigen O-9. Antigen tersebut dapat dengan spesifik dan khas pada *Salmonella* serogrup D yaitu *Salmonella typhi*.

Uji tubex menggunakan pemisahan partikel-partikel untuk mendeteksi antibodi IgM dari seluruh serum pada antigen serotipe typhi O-9 lipopolisakarida. Namun, antibodi pasien menghambat pengikatan antara partikel indikator yang dilapisi dengan antibodi monoklonal anti-O9 dan lipopolisakarida yang dilapisi partikel magnetik (Kawano, R. et al., 2007). Spesimen yang digunakan adalah sampel serum atau plasma heparin (Marleni M et al, 2014).

3. Uji Thypidot

Tes ini mempergunakan membrane nitroselulosa yang berisi 50kDa spesifik protein dan antigen control. Tahap awal infeksi bakteri *Salmonella* ditunjukkan dengan ditemukannya antibody IgM, sedangkan infeksi lebih lanjut ditandai dengan peningkatan IgG. Kultur bakteri memang gold standar untuk identifikasi bakteri *Salmonella*, namun

kepekaan atau sensitivitas thypidot lebih besar kurang lebih 93% daripada kultur. Oleh karena itu, uji thypidot dapat digunakan sebagai diagnosis cepat di daerah endemis demam tifoid (WHO, 2003; Marleni, 2012).Dibandingkan dengan pemeriksaan widal, uji thypidot memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang lebih baik. Hal ini karena dalam uji thypidot tidak perlu adanya reaksi silang dengan salmonellosis nontifoid (Meta S, 2013).

4. IgM Dispstik

Tes ini dilakukan berdasar atas ikatan antara IgM spesifik *Salmonella typhi* dengan LPS tanpa membutuhkan peralatan dan keterampilan khusus serta dapat diterapkan di daerah perifer. Uji didasarkan atas ikatan antibodi IgM spesifik *S. typhi* terhadap antigen *S. typhi*. Ikatan antibodi IgM secara spesifik dideteksi dengan konjugat IgM antihuman (WHO, 2003).

5. Uji ELISA

Pemeriksaan uji imunologik yang lebih baru yang dianggap lebih sensitif dan spesifik disbanding dengan uji widal untuk mendeteksi Demam Tifoid.

6. Uji Biokimia

1. Hasil Uji Urease TP 36 menunjukkan bahwa spesies *salmonella* tidak memproduksi urease.
2. Hasil Uji Okidase TP 26 menunjukkan hasil bahwa spesies *salmonella* bersifat negatif untuk oksidase.
3. Uji Indol TP19 menunjukkan spesies *salmonella* negatif indol.

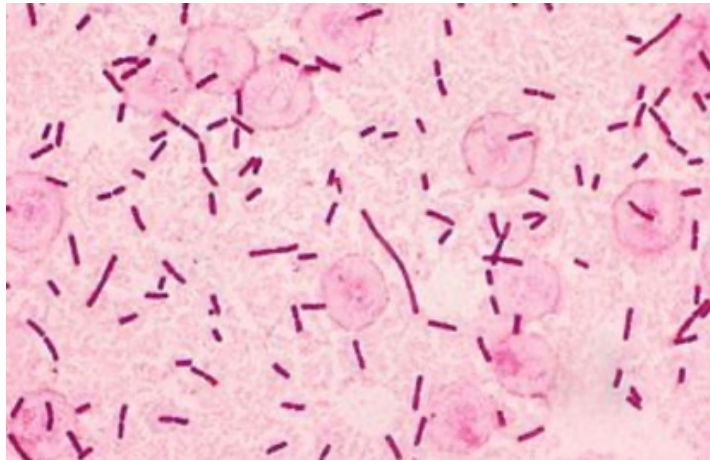
7. Biomolekuler

1. PCR

Amplifikasi (reproduksi) primer oligonukleotida yang ditargetkan enzim pada sekuens DNA tertentu dilakukan melalui pemeriksaan PCR. Primer H1-d digunakan dalam percobaan PCR untuk mengamplifikasi gen *S. typhi* tertentu. Dalam beberapa jam, tes ini dapat mendeteksi kuman sehingga cukup cepat (Sucipta, 2015). Dibandingkan dengan tes Widal, Tubex, dan kultur bakteri, tes ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih baik. Bahaya kontaminasi yang mengakibatkan hasil positif palsu, adanya komponen dalam sampel yang dapat mengganggu proses PCR (hemoglobin dan heparin dalam sampel darah; bilirubin dan garam empedu dalam sampel feses), dan kompleksitas pemeriksaan yang relatif tinggi. tes adalah kelemahannya. (Marleni et al., 2014).

2. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS)
Dengan pemeriksaan ini, komposisi protein sel bakteri dapat dianalisis. Keuntungan dari pemeriksaan ini adalah sangat cepat dan akurat saat melakukan analisis sensitivitas. MALDI-TOF juga berbeda dengan teknik deteksi lainnya karena data analisis dapat diakses dalam hitungan jam. (2008) (Barbuddhe SB, Maier T). Uji ini dapat digunakan untuk membedakan *S. enterica* serovar *typhi* dari serovar *Salmonella* lainnya dan telah digunakan untuk mengidentifikasi *Salmonella*. Bakteri *Salmonella* dapat diidentifikasi menggunakan MALDI-TOF MS, namun penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami seberapa akurat identifikasi ini. (Clark AE et al, 2013; Kuhns M et al, 2012).

2.4.3 Morfologi



Gambar 5. Penampilan Bakteri *Salmonella typhi* dengan Pewarnaan Gram Secara Mikroskopis (Dept. Medical Microbiology and Infectious diseases at University of Medical Center Rotterdam)

Salmonella typhi adalah bakteri berbentuk batang, tidak membentuk spora dengan *flagela peritrichous* yang berukuran 103,5 mm kali 0,5 hingga 0,8 mm dan ukuran koloni rata-rata 2-4 mm. Pada media SSA (*Salmonella and Shigella agar*) pada suhu 37 °C, isolat *Salmonella typhi* memperlihatkan koloni yang khas berbentuk cembung, tembus cahaya dengan titik hitam di tengahnya (Nugraha, 2012). Bakteri *Salmonella typhi* dapat dimusnahkan dengan cara pasteurisasi, perebusan, dan klorinasi pada suhu 60°C dalam waktu 15–20 menit.

2.4.4 Patogenesis *Salmonella typhi*

Salmonella typhi menyebabkan infeksi pada manusia dan menjadi pathogen pada hewan. Ia masuk melalui mulut bersamaan dengan makanan ataupun minuman yang sudah terkontaminasi. Semua makanan dapat saja tercemari oleh Bakteri *Salmonella typhi* ini terutama makanan berupa daging, telur, unggar dan produk oalahan ketiganya. Menurut Sandefur dan Paterson (1976), *Salmonella* menghasilkan neutotoksik (toksik yang menyerang syaraf), sedangkan sisanya mengahsilkan toksin berupa enterotoksin yang aktifitasnya mempengaruhi usus halus sehingga umumnya

menyebabkan sekresi cairan secara berlebihan ke dalam rongga usus, menyebabkan diare, muntah0muntah, serta menghasilkan endotoksin yang menyerang sistem pertahanan tubuh seperti demam, penurunan kadar zat besi, peradangan, dan hipotensi yang larut dalam air dan labil dalam pemanasan serta oksigen.

Selain itu Salmonella ini juga dapat masuk ke dalam tubuh melalui makanan yang terkontaminasi misalnya sayuran mentah yang ditanam dengan feses sebagai pupuk. Penyakit ini juga berkaitan dengan hygiene lingkungan dan orang tersebut sendiri.

Salmonella typhi yang telah masuk bersama makanan dan air akan mencapai usus halus untuk selanjutnya masuk kedalam sistem limfatik usus. Kemudian bakteri ini akan berpindah dari duktus thorakikus ke dalam aliran darah dan menyebar ke berbagai organ termasuk usus, dimana Salmonella typhi bermultiplikasi di dalam limfe dan diekskresikan melalui feses (Braundwald KTI 2018). Jumlah bakteri pada minuman dan makanan yang termakan penting untuk menentukan infection rate dari bacil dan tifoid.masa inkubasi demam tifoid 10 – 14 hari.

2.4.5. Diagnosis Infeksi Bakteri *Salmonella typhi*

a. Anamnesis

Pasien mengalami demam, yang merupakan gejala utama infeksi bakteri dan merupakan tanda klinis yang penting pada semua individu yang terkena. Gejala demam yang dikenali biasanya meningkat secara bertahap selama minggu pertama, kemudian demam berlanjut (berlanjut) atau semakin parah selama minggu kedua. Sakit atau demam malam biasanya disertai dengan sakit kepala, anoreksia, mual, muntah dan diare. Gejala lain termasuk menggigil yang tidak biasa mirip dengan malaria pada pasien di daerah endemik. Namun, individu yang terinfeksi juga dapat terkena malaria bersamaan dengan demam tifoid akibat infeksi bakteri

Salmonella. Demam tinggi dan sakit kepala yang menyiksa dapat menyerupai gejala meningitis, tetapi *S. typhi* juga dapat menembus sawar darah otak dan menyebabkan meningitis. Kadang-kadang, indikator klinis gangguan kejiwaan, seperti bingung, pingsan, psikosis, atau koma, mendominasi gambaran klinis. Terkadang, sakit perut tidak bisa dibedakan dengan radang usus buntu. (Parama YC, 2011).

b. Gejala Klinis

Waktu inkubasi tipikal adalah 10 hingga 20 hari. Gejala prodromal seperti malaise, lelah, sakit kepala, pusing, dan tidak bersemangat akan muncul setelah masa inkubasi. Tanda-tanda klinis yang sering diamati kemudian menyusul, antara lain:

1. Demam

Demam dapat bertahan tiga minggu dalam beberapa kasus umum. Suhu dan demamnya relatif rendah. Suhu tubuh biasanya turun di pagi hari dan kemudian meningkat lagi di sore dan malam hari sepanjang minggu pertama. Pasien terus mengalami demam selama minggu kedua. Suhu tubuh terus turun selama minggu ketiga, dan menjelang akhir minggu ketiga, mulai naik ke normal.

2. Gangguan saluran pencernaan

gejala gangguan pencernaan seperti bau mulut, bibir pecah-pecah, dan kekeringan (ruam). Selain itu, lidah memiliki lapisan keputihan (*coated tongue*), ujung dan ujungnya kemerahan, dan jarang terjadi tremor. Selain nyeri saat meraba perut, mungkin ada edema (perut kembung), pembesaran hati, dan pembesaran limpa. Konstipasi merupakan keluhan yang paling sering dialami pasien, namun bisa juga normal atau bahkan diare.

3. Gangguan kesadaran

Meskipun biasanya tidak sampai mengantuk, tingkat kesadaran pasien bisa turun, dan sopor, koma, atau kegelisahan adalah kejadian yang tidak biasa.

c. Pemeriksaan Penunjang

Tes laboratorium diperlukan. Umumnya pasien datang dengan keluhan leukopenia, leukositosis atau leukosit normal, aneosinofilia, limfopenia, peningkatan laju endap darah, anemia ringan, trombositopenia, gagal hati seperti hepatitis tifoid, hepatomegali, ikterus, peningkatan SGOT/SGPT/SGPT, penurunan SGPT. dan histopatologi. Kultur darah memberikan hasil positif. Dalam kondisi normal, darah steril dan tidak diketahui adanya flora normal di dalam darah. Deteksi bakteri dalam darah disebut bakteremia. Pasien dengan tanda klinis demam selama tiga hari atau lebih dan hasil positif S. Typhi paratyphi juga dapat dijadikan diagnosis yang dapat diandalkan infeksi bakteri Salmonella, dalam hal ini tifus.

Selain itu, tes serologis seperti tes Widal dapat dilakukan. Uji Widal merupakan reaksi aglutinasi antara antigen dan antibodi (aglutinin). Jika kultur darah negatif, ini tidak berarti diagnosis bukan infeksi bakteri. Karena ada pasien yang merupakan pembawa penyakit tifoid, dimana Salmonella typhi ditemukan pada feses atau kultur urin seseorang yang tidak memiliki tanda-tanda klinis infeksi atau yang telah menderita tifus setelah setahun (Parama, 2011)

2.4.6 Penatalaksanaan Demam Tifoid

Pasien demam tifoid yang memiliki gambaran klinis jelas lebih baik dirawat di Rumah Sakit atau perawatan di rumah dengan intensif.

a. Tirah Baring

Pasien yang dirawat harus diposisikan sepenuhnya terlentang untuk menghindari komplikasi, terutama jika terjadi perdarahan dan

perforasi. Saat pasien membaik, mobilisasi dapat dilakukan secara perlahan.

b. Nutrisi

1. Cairan

Pasien harus diberikan cairan yang cukup baik secara oral atau parenteral. Dosis cairan parenteral disesuaikan sesuai kebutuhan. Cairan yang diberikan adalah yang mengandung elektrolit dan kalori yang optimal.

2. Diet

Diet yang baik harus mengandung cukup protein dan rendah serat guna mencegah perdarahan. Umumnya, pasien diberi makanan yang bertekstur lunak, seperti bubur, nasi tim, dan nasi biasa yang lembut. Pasien mengalami penurunan kesadaran dapat diberikan nutrisi secara enteral melalui pipa lambung.

3. Terapi Medikamentosa

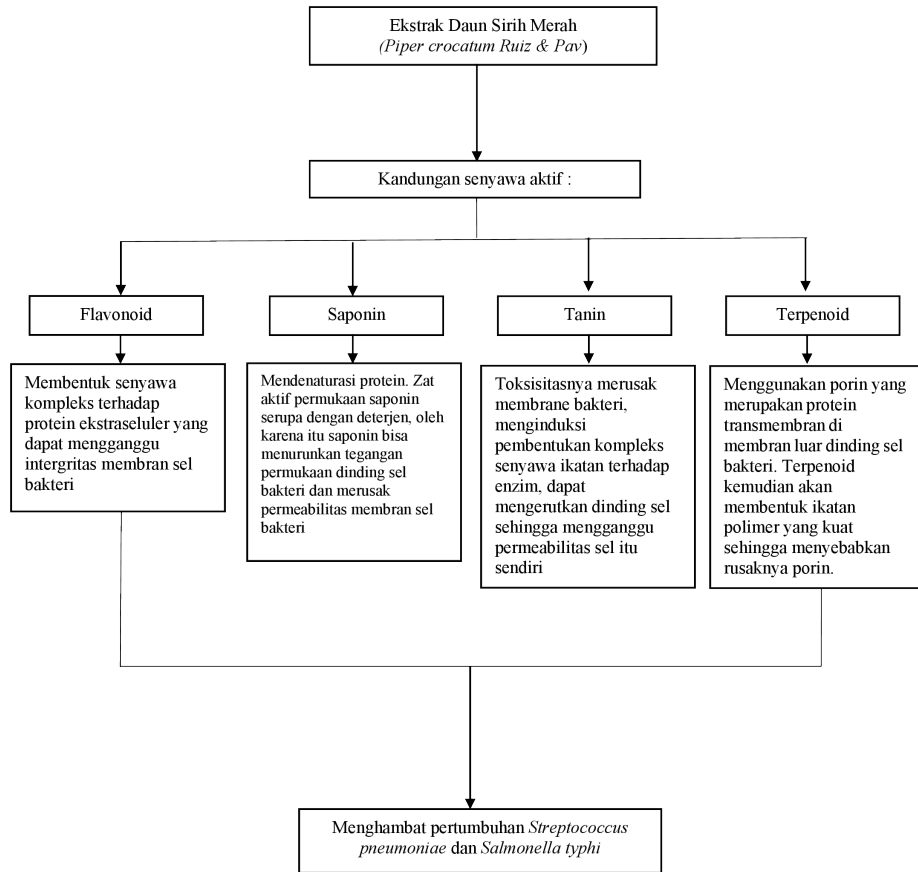
Terapi ini dapat diberikan untuk memperbaiki kondisi umum pasien. Terapi yang bisa diberikan yaitu antibiotik seperti Ciprofloxasin dengan dosis 2x500 mg dan dikonsumsi selama 7 hari. Selain itu, dapat diberikan juga obat golongan antipiretik seperti paracetamol dengan dosis 3x500 mg yang dikonsumsi saat pasien mengalami gejala demam saja, serta dapat diberikan juga vitamin B kompleks dengan dosis 1x1 tablet sehari (Putri MK., Sibuea S, 2020).

Pencegahan dapat dilakukan dengan melakukan vaksin Vi Kapsul polisakarida yang dapat diberikan pada umur >2 tahun. Dosis yang diberikan dapat diberikan secara IM maupun subkutan sebesar 0,5 mL. Imunisasi dapat diulang setiap 3 tahun. Selain itu dalam

pencegahannyapun kita dianjurkan untuk mengonsumsi makanan dan minuman yang higienis. (Hartanto D. 2021)

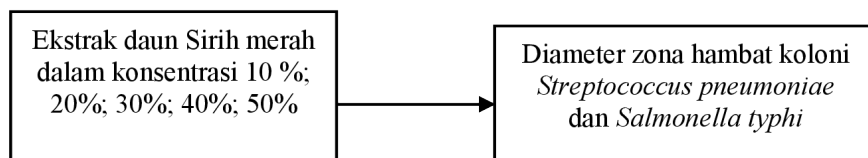
2.5. Kerangka Teori

Adapun kerangka teori penelitian ini yaitu sebagai berikut:



Gambar 6. Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

Variabel Independen: Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz &PAV*)

Variabel Dependen: Diameter zona hambat koloni *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*

2.7 Hipotesis

Adapun hipotesis dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. H1: Pemberian ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz &PAV*) dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

H0: Pemberian ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz &PAV*) tidak dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

2. H1: Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz &PAV*) dengan konsentrasi 50 mg/mL efektif dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

H0: Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz &PAV*) dengan konsentrasi 50 mg/mL belum efektif dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *true experimental*, yaitu rancangan yang paling ideal untuk mempelajari hubungan sebab akibat, rancangan ini juga menyelidiki kemungkinan sebab akibat dimana sebenarnya terdapat kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dan membandingkan hasil perlakuan dengan kontrol secara ketat. Penelitian *true experimental* ini menggunakan rancangan *posttest only c control*. Pada penelitian ini kelompok eksperimen diberikan perlakuan. Setelah perlakuan telah diberikan dalam jangka waktu tertentu, maka setelah itu dilakukan pengukuran variabel terikat pada kedua kelompok tersebut, dan hasilnya dibandingkan perbedaannya.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran serta Laboratorium Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023

3.3 Mikroba Uji dan Bahan Uji Penelitian

3.3.1 Mikroba Uji Penelitian

Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri gram positif (+), *Streptococcus pneumoniae* dan bakteri gram negatif (-), *Salmonella typhi*. Bakteri ini didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah (LABKESDA) Bandar Lampung.

3.3.2 Bahan Uji Penelitian

Daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & PAV*) yang diperoleh dari petani tanaman obat di Tanjung Bahagia, Bandar Lampung digunakan dalam penelitian ini. Dalam pembuatan ekstrak, dengan air bersih daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & PAV*) dicuci kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 105°C. Kemudian daun sirih merah dihaluskan. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Ekstraksi dilaksanakan dengan metode soxhlesi dengan etanol 96% pada suhu 70°C. Kemudian ekstrak daun sirih merah diencerkan dengan garam, sehingga diperoleh variasi konsentrasi.

3.3.3 Media Kultur

Media biakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah agar darah dalam cawan petri dengan diameter 10 cm. Media ini digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*. Setelah dikultur, media agar Mueller Hinton (MHA) digunakan sebagai media uji diameter zona hambat bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

Populasi penelitian ini adalah murni bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Daerah Bandar Lampung.

3.4 Identifikasi Variabel

Adapun variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

3.4.1 Variabel Independen

Variabel independen (bebas) pada penelitian ini yaitu ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) dengan berbagai tingkat konsentrasi (10%; 20%; 30%; 40%; 50%).

3.4.2 Variabel Dependen

Variabel dependen (terikat) pada penelitian ini yaitu diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*.

3.4 Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Ekstrak Daun Sirih Merah	Zat yang diperoleh dari ekstraksi daun sirih merah yang mengandung saponin, flavonoid, terpenoid, dan tanin, yang diduga berpotensi sebagai daya antimikroba (Candrasari etc, 2012)	Menggunakan persamaan: $N1 \times V1 = N2 \times V2$ Keterangan: N1=konsentrasi awal V1=volume awal N2=konsentrasi akhir V2=Volumeakhir.	Ekstrak daun sirih merah dengan berbagai tingkat konsentrasi 10%; 20%; 30%; 40%; dan 50%.	Ordinal
2	Daya hambat pertumbuhan <i>Streptococcus pneumoniae</i> dan <i>Salmonella typhi</i>	Pertumbuhan bakteri terbentuk setelah pemberian variabel bebas dan kontrol positif dan negatif menggunakan metode difusi sumuran.	Dengan jangka sorong	Zona hambat pertumbuhan bakteri (mm).	Numerik

3.6 Besar Sampel

Pada penelitian ini diberikan berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah yaitu sebesar 10%; 20%; 30%; 40%; dan 50%, serta dengan Eritromisin sebagai kontrol positif terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*, Ciprofloxacin sebagai kontrol positif terhadap bakteri *Salmonella typhi*, dan akuades sebagai kontrol negatif. Dalam menentukan jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini digunakan rumus Federer sebagai berikut:

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

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

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan :

n = banyaknya sampel (pengulangan)

k = banyaknya perlakuan

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan besar sampel yang digunakan yaitu sebanyak 7 kelompok. Besar sampel ini digunakan sebagai pembanding untuk perlakuan berulang. Setiap pengulangan dilakukan pada setiap kelompok. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan sebanyak 28 kali perlakuan.

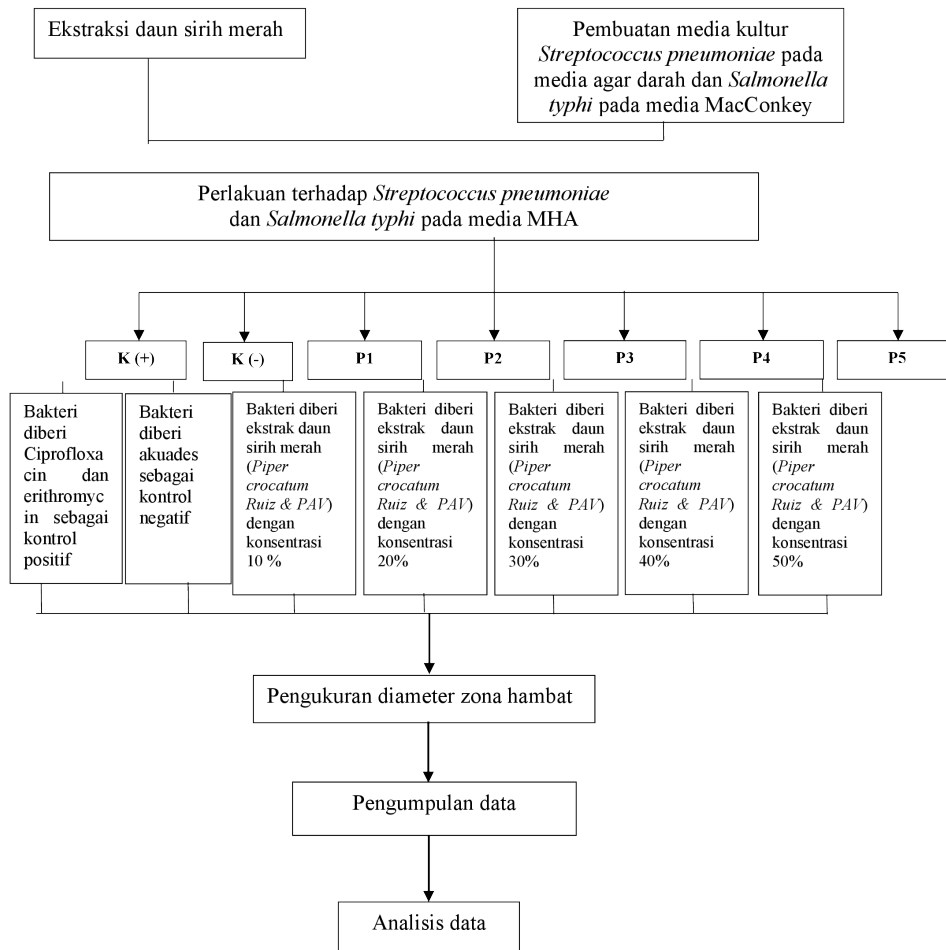
3.6.1 Kelompok Perlakuan

Tabel 4. Kelompok perlakuan

No	Kelompok	Perlakuan
1	K (+)	Kelompok <i>Streptococcus pneumoniae</i> yang diberikan erithromycin 500 mg sebagai kontrol positif.
2	K (-)	Kelompok <i>Streptococcus pneumoniae</i> yang diberikan akuades untuk kontrol negatif.
3	P1	Kelompok <i>Streptococcus pneumoniae</i> yang diberikan 10% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).
4	P2	Kelompok <i>Streptococcus pneumoniae</i> yang diberikan 20% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).
5	P3	Kelompok <i>Streptococcus pneumoniae</i> yang diberikan 30% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).
6	P4	Kelompok <i>Streptococcus pneumoniae</i> yang diberikan 40% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).
7	P5	Kelompok <i>Streptococcus pneumoniae</i> yang diberikan 50% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).

No	Kelompok	Perlakuan
1	K (+)	Kelompok <i>Salmonella typhi</i> yang diberikan Ciprofloxasin 500 mg sebagai kontrol positif.
2	K (-)	Kelompok <i>Salmonella typhi</i> yang diberikan akuades untuk kontrol negatif.
3	P1	Kelompok <i>Salmonella typhi</i> yang diberikan 10% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).
4	P2	Kelompok <i>Salmonella typhi</i> yang diberikan 20% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).
5	P3	Kelompok <i>Salmonella typhi</i> yang diberikan 30% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).
6	P4	Kelompok <i>Salmonella typhi</i> yang diberikan 40% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).
7	P5	Kelompok <i>Salmonella typhi</i> yang diberikan 50% ekstrak daun sirih merah (<i>Piper crocatum Ruiz & PAV</i>).

3.6.2 Diagram Alur Penelitian



Gambar 8. Alur penelitian

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Persiapan

3.7.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *autoclave*, *anaerobic jar*, inkubator, *microwave*, tabung Erlenmeyer, lampu Bunsen, borer, cawan petri, jangka sorong, pipet tetes, pipet makro, rak, tabung reaksi, *handscoen*, masker, ose, kapas steril, dan kertas label.

3.7.1.2 Bahan Penelitian

1. Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) dari ekstraksi etanol daun sirih merah yang dilakukan di laboratorium kimia organik FMIPA.
2. Bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Bandar Lampung.
3. Bakteri *Salmonella typhi* yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Daerah Bandar Lampung.
4. Media lempeng agar darah, Muller Hinton Agar (MHA), dan MacConkey
5. Ciprofloxacin 500 mg
6. Erithromycin 500 mg
7. Cakram/ disk uji kosong
8. Aquades steril.

3.7.2 Sterilisasi Alat

Alat disterilkan dalam autoklaf pada suhu 120oC selama 15-20 menit. Hal ini dilakukan agar alat yang digunakan terbebas dari mikroorganisme lain (steril) yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Tunggu hingga alat berada pada suhu ruangan dan kering, barulah Anda bisa langsung menggunakannya.

3.7.3 Uji Determinasi

Uji Determinasi daun sirih merah dilaksanakan di Lab Botani FMIPA Universitas Lampung

3.7.4 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah

Daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) dicuci menggunakan air bersih, lalu dikeringkan menggunakan oven pada temperatur 50°C selama 24 jam. Setelah itu simplisia kering dibersihkan kembali dari kotoran yang mungkin tidak hilang pada saat pencucian.

Setelah dicuci simplisia dikeringkan digrinder sehingga menjadi simplisia serbuk, setelah itu serbuk simplisia diayak dengan menggunakan mesh 16, lalu disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat.

Penetapan kadar air simplisia dilakukan dengan menggunakan metoda gravimetri yaitu sebanyak ± 2 gram serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam krus tertutup yang sebelumnya dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara lebih dahulu. Kemudian serbuk simplisia di keringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam lalu didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%

Selanjutnya sediaan ekstrak etanol dibuat dengan cara maserasi, yaitu dengan merendam simplisia sebanyak 30 g dalam 300 ml pelarut etanol 96% selama 24 jam sambil sekali-sekali diaduk. Setelah 24 jam, ekstrak disaring melalui kain batis dan ampasnya diperas. Ampas ditambah cairan pelarut secukupnya, diaduk kemudian disaring sehingga diperoleh ekstrak sebanyak 300 ml. Setelah itu cairan ekstrak diuapkan dengan alat penguap (Rotary evaporator) sampai berbentuk cairan kental, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan penangas air dengan suhu antara 40°C - 50°C sampai diperoleh ekstrak kental dan hasilnya ditimbang. Rendeman ekstrak total dihitung dengan membandingkan berat awal simplisia dan berat ekstrak yang dihasilkan.

3.7.6 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Merah

Ekstrak daun sirih merah akan dilarutkan ke dalam 5 ml etanol. Selanjutnya setiap 1 ml ekstrak ditambahkan dengan 5 ml dan dicampurkan dengan kloroform dan aquades dengan perbandingan 1:1. Setelah itu larutan dikocok dan diamkan selama 5 menit untuk memisahkan kloroform dengan air. Kloroform yang terbentuk di bawah akan digunakan sebagai

pengecekan senyawa steroid dan tripernoid, sedangkan larutan air di atas digunakan sebagai pengecekan senyawa flavonoid dan saponin.

3.7.7 Pembuatan media MHA (*Mueller Hinton Agar*)

Sebanyak 7 mg MHA dilarutkan dalam 320 mL aquades lalu dipanaskan hingga MHA tersebut larut. Media lalu distreilisasikan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C.

3.7.8 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pengambilan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi* sebanyak 3 ose hasil permejaan, lalu disuspensikan dengan 3 mL NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 McFarland 1 (konsentrasi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Ambil 0,8 mL setiap suspensi bakteri untuk dicampurkan dengan MHA yang sudah disteriliasi.

3.7.9 Uji Diameter Zona Hambat *Streptococcus penumoniae* dan *Salmonella thypi* dengan Metode *Well Diffusion* (Metode Sumuran)

1. Setelah media MHA yang sudah larut sesuai dengan suhu tubuh, masukkan 0,8 mL suspensi bakteri dan dilakukan pengocokan lembut agar merata.
2. Masukkan MHA tersebut pada cawan petri secukupnya sampai mengeras membentuk seperti jeli.
3. Setelah itu membuat bolongan pada tiap sisi MHA pada cawan petri yang akan dilakukan perlakuan.
4. Masukkan setiap konsentasi kedalam sumuran tersebut beserta kontrol positif dan negatifnya.
5. Media yang telah disiapkan selanjutnya diinkubasi menggunakan anaerobic jar pada suhu 37°C selama 48 jam.
6. Setelah 48 jam, diameter zona bening diukur dengan menggunakan jangka sorong.
7. Prosedur di atas diulangi sebanyak 4 kali.

3.8. Analisis Data

Besar sampel dalam penelitian ini adalah <50 , oleh karena itu digunakan uji Shapiro-Wilk untuk melihat normalitas data. Berdasarkan hasil uji normalitas, data tidak berdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis. Setelah menggunakan uji Kruskal-Wallis, selanjutnya dilakukan uji post hoc Mann-Whitney. Uji ini digunakan untuk menganalisis variabel bebas dan terikat untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Salmonella typhi*. Interpretasi uji statistik ini adalah sebagai berikut:

1. Jika $p < \alpha$ (0,05) maka diperoleh hasil yang signifikan, yang berarti ada hubungan yang signifikan antara variabel bebas (bebas) dan terikat (terikat), atau dapat dikatakan hipotesis penelitian diterima.
2. Jika $p > \alpha$ (0,05) berarti sampel yang diteliti tidak mendukung perbedaan yang signifikan sehingga tidak ada pengaruh antara variabel bebas terhadap variabel terikat atau dengan kata lain hipotesis penelitian ditolak.

3.9 Ethical clearance

Izin etik penelitian (ethical clearance) untuk penelitian ini dikeluarkan komite etik penelitian kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran dengan nomor Ethical Clearance adalah 94/UN26.18/PP.05.02.00/2023

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & PAV*) mempunyai daya hambat pada bakteri *Salmonella typhi* namun tidak pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
2. Rerata zona hambat dari ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi coli* adalah sebagai berikut:
 - a. konsentrasi 10% yaitu 0 mm
 - b. konsentrasi 20% yaitu 8,155 mm
 - c. konsentrasi 30% yaitu 8,68 mm
 - d. konsentrasi 40% yaitu 12,295 mm, dan
 - e. konsentrasi 50% yaitu 14,48 mm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan agar:

1. Melakukan penelitian secara *in vivo* sehingga dapat mengetahui secara langsung apakah daun sirih merah dapat menjadi salah satu terapi mahluk hidup yang menderita penyakit yang disebabkan bakteri tersebut
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan konsentrasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & PAV*) yang lebih tinggi dari 50% terhadap bakteri *Salmonella typhi*.
3. Melakukan penelitian lanjut menggunakan konsentrasi Ekstrak daun sirih

merah (*Piper crocatum Ruiz & PAV*) yang lebih rendah dari 10% terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

4. Melakukan penelitian lanjut menggunakan metode disc diffusion (metode cakram).

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina D., Kurniawan DB., Palupi I. 2016. Modulasi Aktivitas Antibiotik terhadap *Streptococcus pneumoniae* oleh N-asetilsistein dan Vitamin C. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* : Vol. 2 No. 3
- Andayani T., Hendrawan Y., Yulianingsih R. 2014.
- Apriliana E., Dicky A. 2016. Efek Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* secara In Vitro. JK Unila : Vol. 1 No.2
- Apriliana E., Ramadhian RM., Warganegara E., Hasiabuan AS. 2018. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Agromedicine Unila* : Vol. 5 No. 2
- Balafif RA., Andayani Y., Gunawan RE. 2013. Analisis Senyawa Triterpenoid Dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* Lin). *Universitas Mataram : Nusa Tenggara Barat*
- Dewi YF, Anthara MS, Dharmayudha AAGO. 2014. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Yang Di Induksi Aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*. 6(1): 73-79.
- Elisabeth PI *et al.* 2016. Program Pengendalian Demam Thypoid di Indonesia:Tantangan dan Peluang, *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. 26(2) : 99-108
- Elvina R., Anggia V. 2018. Uji Aktivitas Aantibakteri dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz Pav) terhadap Bakteri Penyebab Ulkus Diabetik. *Universitas Muhamadiyah Prof Dr. Hamka : Jakarta*
- Fadlilah M. 2015. Benefit of Red Betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) as Antibiotics. *J MAJORITY* : Vol. 4 No. 3

- Fathoni SD., Fadhilah I., Kaavessina M. 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Sebagai Bahan Aktif Antibakteri Dalam Gel Hand Sanitizer Non-Alkohol. *Equilibrium* : Vol. 3 No. 2
- Fimani, A., Azizahwati and Mun'im, A. (2010). Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*, Benth) Secara Topikal Terhadap Penyembuhan Luka Pada Tikus Putih Jantan Yang Dibuat Diabetes. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Fitriyani, A., Lina, W., Siti, M., and Nuri. (2011). Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*, 16 (1) ,pp.34-42.
- Hamsa, A. 2021. Perbedaan Waktu Pemanenan Terhadap Mutu Kimia Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz and PAV*). Univesitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau : Pekanbaru
- Hidayah WW., Kusri D., Fachriyah E. 2016. Isolasi, Identifikasi Senyawa Steroid dari Daun Getih-Getihan (*Rivina humilis L.*) dan Uji Aktivitas Sebagai Antibakteri. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* : hal. 32 – 37
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg' s. 2014. Mikrobiologi Kedokteran, Ed 25, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Julistiara F etc. 2017. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia* : Indonesia.
- Juwita S., Hartoyo E., Budiarti YL. 2013. Pola Sensitivitas In Vitro *Salmonella typhi* terhadap Antibiotik Kloramfenikol, Amoksisilin, dan Kotrimoksazol. *Berkala kedokteran* Vol. 9 No.1
- Kemenkes RI. 2014. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2014. Kementerian Kesehatan RI : Jakarta
- Kumar, S. And Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : An Overview
- Kurniawaty E., Lestari EK. 2016. Uji Efektivitas Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) sebagai Pengobatan Diabetes Melitus. *Majority* : Vol. 5 No.2
- Kurniawaty E., Simanjuntak DJR. 2019. Efek Antibakteri Kopi Robusta yang Difermentasi dengan Kombucha Terhadap *Salmonella typhi*. *Jurnal Agromedicine*: Vol. 6 No. 1
- Larasati TA., Noviasari M. 2013. Hubungan Jenis Pengobatan dan Sikap Dengan Kualitas Hidup Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 di RSUD Dr. H. Abdul

- Leonard A., Lalk M. 2018. Infection and Metabolism – *Streptococcus pneumoniae* metabolism facing the host environment. Elsevier : Volume 112
- Lestari WT. 2013. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) dan Amoksisilin Terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi* S serta Bioautografinya. Universitas Muhammadiyah Surakarta : Surakarta Departemen Kesehatan RI. 1986. Farmakope Indonesia Edisi IV. Indonesia.
- Lister ENI. 2020. Daun Sirih Merah Manfaat Untuk Kesehatan. UNPRI PRESS : Universitas Prima Indonesia
- Moha RD. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz and PAV) Terhadap *Staphylococcus aureus* Resisten Ampisilin. Universitas Sanata Dharma : Yogyakarta
- Ngaisah S. 2010. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz and PAV) Asal Magelang. Universitas Sebelas Maret : Surakarta
- Ningtyas, R. 2010. Uji Aantioksidan, antibakteri, esktrak air daun kecombrang sebagai pengawet alami terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi Fakultas Sains dan Teknolohi Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah : Jakarta
- Nisa NG., Nugroho AW., Hendrawan Y. 2014. Ekstraksi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dengan Metode Microwave Assissted Extraction (MAE). Jurnal Bioproses Komoditas Tropis Vol. 2 Indonesia. 1 : Universitas Brawijaya
- Pakadang RS., Salim H. 2020. Sensitivitas *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* terhadap Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica* L). *Media Farmasi p.issn 0216-2083 e.issn 2622-0962 Vol XVI Indonesia.1*
- Pasril Y., Yuliasanti A. 2019. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar dengan Metode Dilusi. Univesitas Muhammadiyah Yogyakarta : Yogyakarta
- Purnama EF. 2022. Efektivitas Formulasi Sabun Cuci Tangan Cair Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper croatum* Ruiz & Rav.) dan Daun Iler (*Coleus scutellarioides* Linn.) Terhadap Pertumbuhan

Mikroba [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam
Negri Sunan Ampel Surabaya.

- Puspita JP., Safithri M., Sugiharti PN. 2019. Antibacterial Activities of Sirih Merah (*Piper crocatum*) Leaf Extracts. *Current Biochemistry* : Volume 5 (3): 1-10
- Rachmawati Sutji, I. And Ciptati. 2011. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*). *Prosiding Simposium Nasional Inovasi Pembelajaran dan Sains*, pp. 22–23.
- Rachmawaty, F.J. Akhmad, M.M., Pranacipta, S.H., Nabila Z., and Muhammad, A. (2018). Optimasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Mutiara Medika, Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 18(1), pp. 13–19.
- Rahmayanti Y. 2014. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & PAV) Sebagai Antibakteri Terhadap *Salmonella typhi Secara In Vitro*. Universitas Brawijaya : Malang
- Sari M, etc. 2020. Isolasi dan Identifikasi Gen pneumococcal surface adhesin Apsa A) Sebagai Faktor Virulensi *Streptococcus pneumoniae* Bioma : *Jurnal Biologi Makassar*
- Sapara UT, Waworuntu O., Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri ekstrak Daun Pacar Air Terhadap Pertumbuhan *Poryphiromonas gigivalis*. *Jurnal Ilmiah Pharmacon*
- Septiana. 2011. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Daun Sirih Merah. Universitas Sebelas Maret : Surakarta
- Sujaya TA *et al.* 2019. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Minyak Atsiri Daun Cendana (*Santalum album L.*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya* : Vol. 7 No.2
- Su T et al. 2020. Decoding capsule synthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *University of Singapore* : Singapore
- Sulistyawati S, et al. 2020. Pneumonia a neglected disease: A mixed-method study on the case-finding program in Indonesia. *AIMS Public Health* : Vol 7(1) : 81-91
- Syahidi MH., Gayatri D., Bantas K. 2016. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kejadian Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) pada Anak Berumur 12-59 Bulan di Puskesmas Kelurahan Tebet Barat, Kecamatan Tebet, Indonesia Selatan, Tahun 2013. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Indonesia* : Universitas Indonesia

- Syamhudi AFM. 2021. Efektivitas Ekstrak Daun Mangga (*Magnifera indica L.*) Terhadap Daya Hambat *Propionibacterium acnes*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung : Bandar Lampung
- Waluyo, J. 2016. Daya Hambat Ekstrak etanol Daun Akasia Berduri (*Acacianilotica L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Seminar Nasional Pendidikan : Universitas Jember.
- WHO. World Health Statistics: 2018. Geneva; 2018.
- Windono T., Parfati N. 2016. Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) Kajian Pustaka Aspek Botani, Kandungan Kimia, dan Aktivitas Farmakologi. Media Pharmaceutica Indonesiana. Surabaya
- Xu H., Sheng Y. 2021. New insights into the degradation of chloramphenicol and fluoroquinolone antibiotics by peroxymonosulfate activated with FeS : Performance and mechanism. Chemical Engineering Journal : Volume 414