

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*)

Terhadap *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Diare Secara *in vitro*

KARYA TULIS ILMIAH



DISUSUN OLEH

NURHASANAH

518020001

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM

2021

HALAMAN PERSETUJUAN

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*)

Terhadap *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Diare Secara *in vitro*

KARYA TULIS ILMIAH



Disusun Oleh:

NURHASANAH
518020001

**Telah Memenuhi Persyaratan dan Disetujui Untuk Mengikuti Ujian
Proposal Penelitian Pada Program Studi DIII Farmasi Fakultas Ilmu
Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram**

Hari/Tanggal:

Menyetujui,

Pembimbing Utama



(apt. Yuli Fitrianna, M. Farm)
NIDN: 08220782002

Pembimbing Pendamping



(apt. Alvi Kusuma Wardani, M.Farm)
NIDN:0326089001

HALAMAN PENGESAHAN

**Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*)
Terhadap *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Diare Secara *in vitro***

KARYA TULIS ILMIAH

Disusun Oleh:

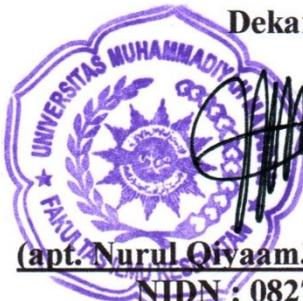
NURHASANAH
518020001

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji dan Diterima Sebagai
Syarat Untuk Melakukan Penelitian pada Program Studi DIII
Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.**

Dewan penguji	: Nama	Tanda Tangan
1. Ketua Tim Penguji	: apt. Yuli Fitriana, M.Farm	
2. Penguji I	: apt. Anna Paradiningsih, M.Sc	
3. Penguji II	: apt. Alvi Kusuma Wardani, M.Farm	

**Mengesahkan
Universitas Muhammadiyah Mataram
Fakultas Ilmu Kesehatan**

Dekan,

(apt. Nurul Qiyaam, M. Farm. Klin)
NIDN : 0827108402

LEMBARAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Dengan ini menyatakan:

1. Karya tulis ilmiah yang berjudul:

“Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) Terhadap *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Diare Secara *in vitro*. Ini merupakan hasil karya tulis asli yang saya ajukan untuk mendapatkan gelar Ahli Madya pada program Studi D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Mataram.

2. Semua sumber yang saya gunakan dalam penulisan karya tulis ilmiah tersebut telah saya cantumkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Mataram.

3. Jika dikemudian hari terbukti bahwa karya saya tersebut bukti hasil asli saya atau jiplakan dari orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi yang berlaku di Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Mataram.

Mataram, 28 September 2021

Yang membuat pernyataan



Nurhasanah
NIM. 518020001



**MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT**

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

**SURAT PERNYATAAN BEBAS
PLAGIARISME**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurhasanah
 NIM : 518020001
 Tempat/Tgl Lahir : Lokah, Bafuyai kec. Praya barat / 24 Mei 1999
 Program Studi : D3 Farmasi
 Fakultas : Ilmu Kesehatan
 No. Hp : 081949809812
 Email : Nurhasanah2405@gmail.com

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi/KTI/Tesis* saya yang berjudul :

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (*Tournefortia bicolor*) Terhadap *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Diare Secara *in vitro*

Bebas dari Plagiarisme dan bukan hasil karya orang lain. 27%

Apabila dikemudian hari ditemukan seluruh atau sebagian dari Skripsi/KTI/Tesis* tersebut terdapat indikasi plagiarisme atau bagian dari karya ilmiah milih orang lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dan disebutkan sumber secara lengkap dalam daftar pustaka, saya **bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum** sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Mataram.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya tanpa ada paksaan dari siapapun dan untuk dipergunakan sebagai mana mestinya.

Mataram, 21 Mei 2022
 Penulis



Nurhasanah
 NIM. 518020001

Mengetahui,
 Kepala UPT. Perpustakaan UMMAT



Iskandar, S.Sos., M.A.
 NIDN. 0802048904

*pilih salah satu yang sesuai



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurhasanah
NIM : 518020001
Tempat/Tgl Lahir : Lurah, Batujai, kec. Praya barat / 24 Mei 1984
Program Studi : D3. Farmasi
Fakultas : ILMU. Kesehatan
No. Hp/Email : 081 949 804 812 / nurhasanah2405@gmail.com
Jenis Penelitian : Skripsi KTI Tesis

Menyatakan bahwa demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Mataram hak menyimpan, mengalih-media/format, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Repository atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama *tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta* atas karya ilmiah saya berjudul:

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Agave Jawa (*Stauranthera Indica*)
Terhadap *Escherichia coli* sebagai Penyebab Diare secara *in vitro*

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian hari terbukti ada pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggungjawab saya pribadi.
Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa ada unsur paksaan dari pihak manapun.

Mataram, 11.03.2022
Penulis



Nurhasanah
NIM. 518020001

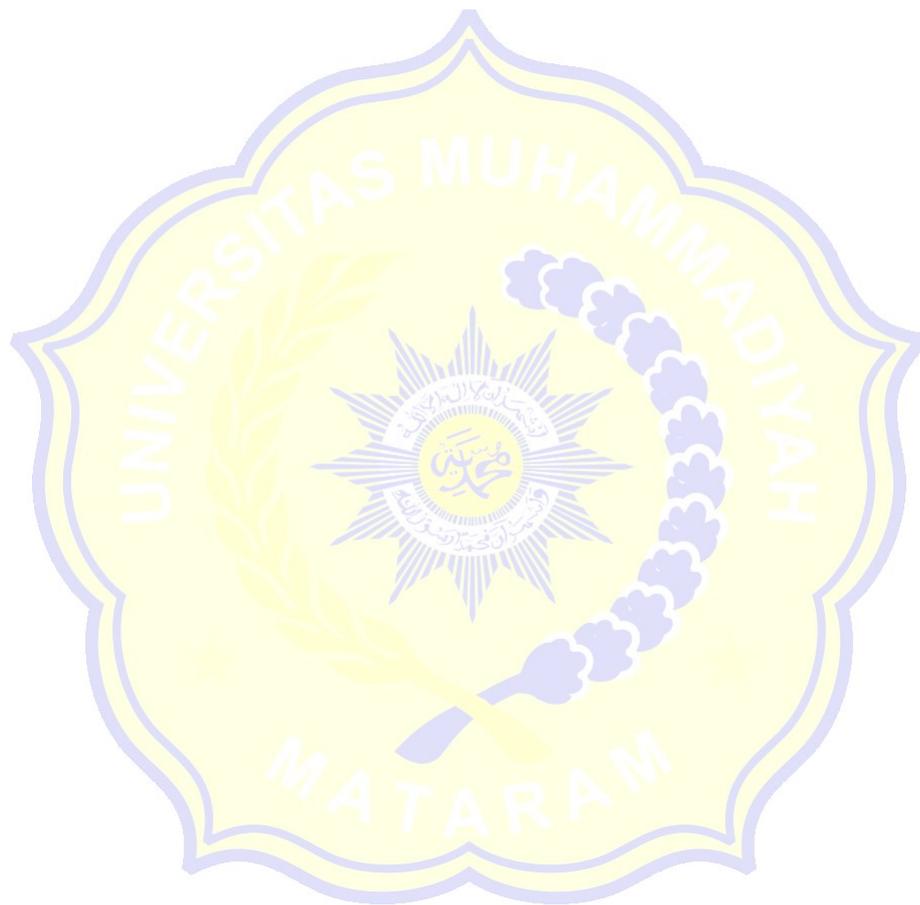
Mengetahui,
Kepala UPT. Perpustakaan UMMAT



Iskandar, S.Sos., M.A.
NIDN. 0802048904

MOTTO

"Akan selalu ada jalan menuju sebuah kesuksesan bagi siapapun, selama orang tersebut mau berusaha dan bekerja keras untuk memaksimalkan kemampuan yang ia miliki"



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal sebagai salah satu syarat akan melanjutkan proposal Ilmiah untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi tentang “Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Diare Secara *in vitro*” Melalui kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan proposal ini, terutama :

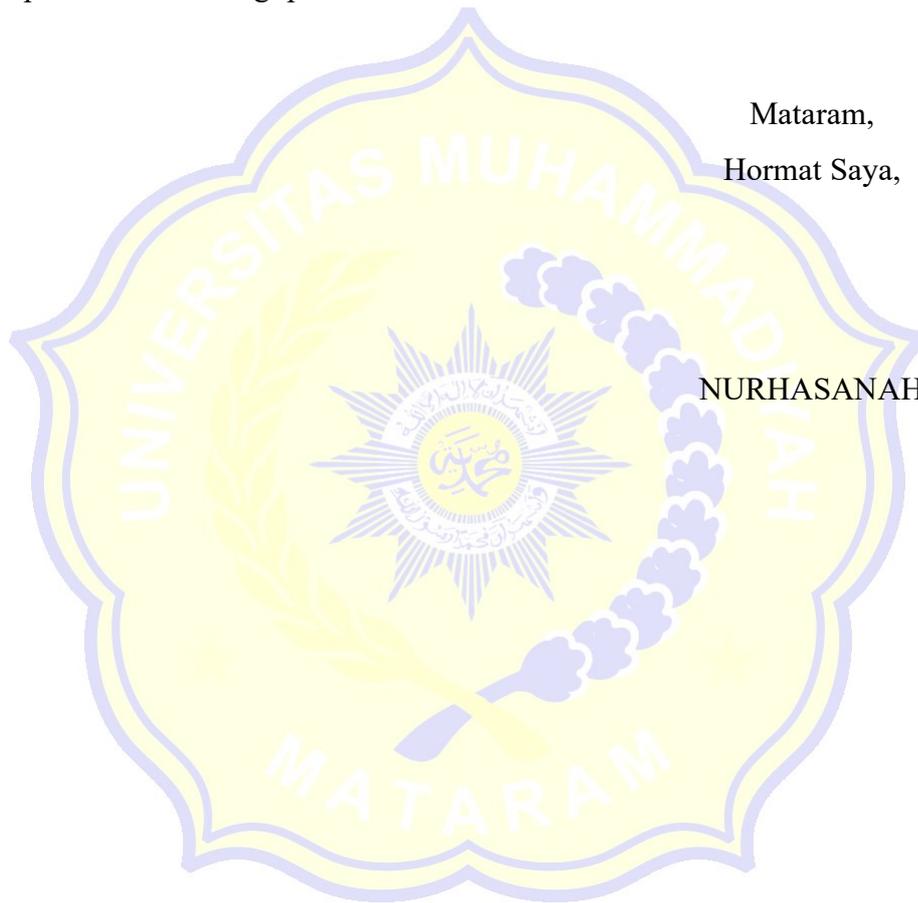
1. Apt. Nurul Qiyaam M.Farm.Klin., selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. Cahaya Indah Lestari, M.Keb selaku Wakil Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram
3. apt. Baiq Nurbaety, M.Sc. selaku Ketua Prodi Farmasi Universitas Muhammadiyah Mataram.
4. apt. Yuli Fitriana, M.Farm. selaku Pembimbing Utama yang sabar dalam memberikan bimbingan dan masukan dalam proses konsultasi selama menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. apt. Alvi Kusuma Wardani, M Farm. selaku pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam menyelesaikan proposal sebagai sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi.
6. Bapak/ibu dosen DIII Farmasi atas bimbingan kesabaran motivasi selama perkuliahan.

7. Kedua orang tua tercita yang telah memberikan dukungan baik dari segi materi, moral maupun spiritual.
8. Seluruh staf pegawai DIII Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu demi perbaikan saran dan kritik untuk kesempurnaan proposal penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Mataram,
Hormat Saya,

NURHASANAH



**Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*)
Terhadap *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Diare Secara *in vitro*
Nurhasanah,2021**

Pembimbing : (I) apt.Yuli Fitrianna, M. Farm, (II) apt. Alvi Kusuma
Wardani,M.Farm, (III) apt. Anna Paradiningsih, M.Sc

ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki sumber daya alam yang banyak. Salah satu tanaman obat yang terdapat di Indonesia adalah *Tamarindus indica* atau yang biasa dikenal sebagai asam Jawa. Asam Jawa telah dipercaya sejak lama dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Dan Biji asam Jawa mengandung senyawa Tanin merupakan senyawa yang memiliki kemampuan antibakteri melalui reaksi membran sel, aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh senyawa tanin bekerja dengan cara memasuki dinding bakteri yang telah lisis akibat senyawa saponin dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan Mengetahui ekstrak etanol biji asam Jawa (*Tamarindus indica*) memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* sebagai penyebab diare secara *in vitro* dan Mengetahui konsentrasi berapa ekstrak etanol biji asam Jawa paling efektif dari seri konsentrasi. Jenis penelitian ini termasuk eksperimental desain penelitian dengan menggunakan metode sumuran menggunakan etanol 70% sebagai kontrol positif digunakan Gentamicin. Hasil penelitian ini ekstrak biji asam Jawa dengan konsentrasi 20% 5,33 mm, 40% 8,50 mm, 60% 11,50 mm 80% 12,67 mm dan 100%17,00 sedangkan zona hambat *Gentamicin* sebesar 20,00. **Simpulan** : Ekstrak biji asam Jawa memiliki potensi daya hambat rentan sedang kuat dan mendekati potensi daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Esecherichia coli*.

Kata kunci : Biji asam Jawa, Escherichia coli, Daya hambat

Ethanol Extract of Tamarind Seed (*Tamarindus Indica*) Inhibitory Test against *Escherichia Coli* as a Diarrhea Cause in Vitro

Nurhasanah, 2021

Supervisor: (I) apt. Yuli Fitrianna, M. Farm, (II) apt. Alvi Kusuma Wardani, M. Farm, (III) apt. Anna Paradiningsih, M. Sc

ABSTRACT

Indonesia is blessed with abundant natural resources. *Tamarindus indica*, sometimes known as tamarind, is one of the medicinal plants found in Indonesia. Tamarind has long been thought to have medicinal properties. The antibacterial effect of tannin compounds works by infiltrating the bacterial wall that has been lased due to *saponin* and *flavonoid* compounds. Tamarind seeds also contain tannin compounds, which are substances that have antibacterial powers through cell membrane interactions. The goal of this study is to see if an ethanolic extract of tamarind seeds (*Tamarindus indica*) has inhibitory power against *Escherichia coli* as diarrhea-causing bacteria in vitro, as well as to figure out which concentration of ethanolic extract of tamarind seeds is the most effective from a concentration series. This is an experimental study that uses the well method with 70% ethanol as a positive control and *Gentamicin* as a negative control. The findings of this study showed that tamarind seed extract had concentrations of 20% 5.33 mm, 40% 8.50 mm, 60% 11.50 mm, 80% 12.67 mm, and 100% 17.00, while the *Gentamicin* inhibition zone was 20.00. Conclusion: Tamarind seed extract has a moderately good inhibitory capability and comes near to inhibiting the development of *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: *Tamarind seeds, Escherichia coli, Inhibitory power*



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumus Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat penelitian.....	5
1.5 Keaslian Penelitian.....	6
BAB II TINJUAN PUSTAKA	
2.1 Tamarindus Indica L	8
2.1.1 Klasifikasi Biji Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i>).....	8
2.1.2 Morfologi Tanaman Biji Asam Jawa.....	9
2.1.3 Kandungan Biji Asam Jawa	11
2.1.4 Manfaat Biji Asam Jawa <i>Tamarindus indica</i> L.....	12
2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	14
2.2.1 Klasifikasi dan Gambar <i>Escherichia coli</i>	14
2.2.2 Manfaat dan Patogenitas <i>Ersherichia coli</i>	15
2.2.3 Morfologi <i>Ersherichia coli</i>	15
2.3 Diare.....	16
2.3.1 Penyebab Diare	17
2.3.2 Jenis-Jenis Diare	19
2.3.3 Pengobatan Diare	20
2.3.4 Terapi Non Farmakologi dan Farmakologi.....	22

2.4 Ekstraksi.....	24
2.4.1 Metode Ekstraksi	24
2.5 Metode Penghambat Bakteri.....	26
2.5.1 Metode Difusi (<i>Disc diffusion test</i>).....	26
2.5.2 Metodi Dilusi (Pengenceran)	28
2.6 Kerangka Konsep.....	28

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian	29
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	29
3.3 Definisi Operasional	29
3.4 Alat dan Bahan.....	30
3.5 Populasi dan Sampel	31
3.6 Variabel Penelitian.....	31
3.7 Pelaksanaan Penelitian.....	32
3.9 Analisis Kualitatif Ekstrak Biji Asam Jawa	34
3.9 Pembuatan Seri Konsentrasi	35
.....	
3.10 Pemiakan Suspensi <i>Escherichia coli</i>	36
3.11 Pembuatan Agar Media	37
3.12 Penanaman <i>Escherichia coli</i>	37
3.13 Uji aktifitas ekstrak biji asam Jawa dalm menghambat bakteri <i>Escherichia coli</i>	37
3.14 Analisi Data	38
3.15 Alur Penelitian.....	40

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian	41
4.2 Ekstraksi	42
4.3 Pengujian Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i>) Terhadap <i>Escherichia coli</i> Sebagai Penyebab Diare Secara in vitro	44

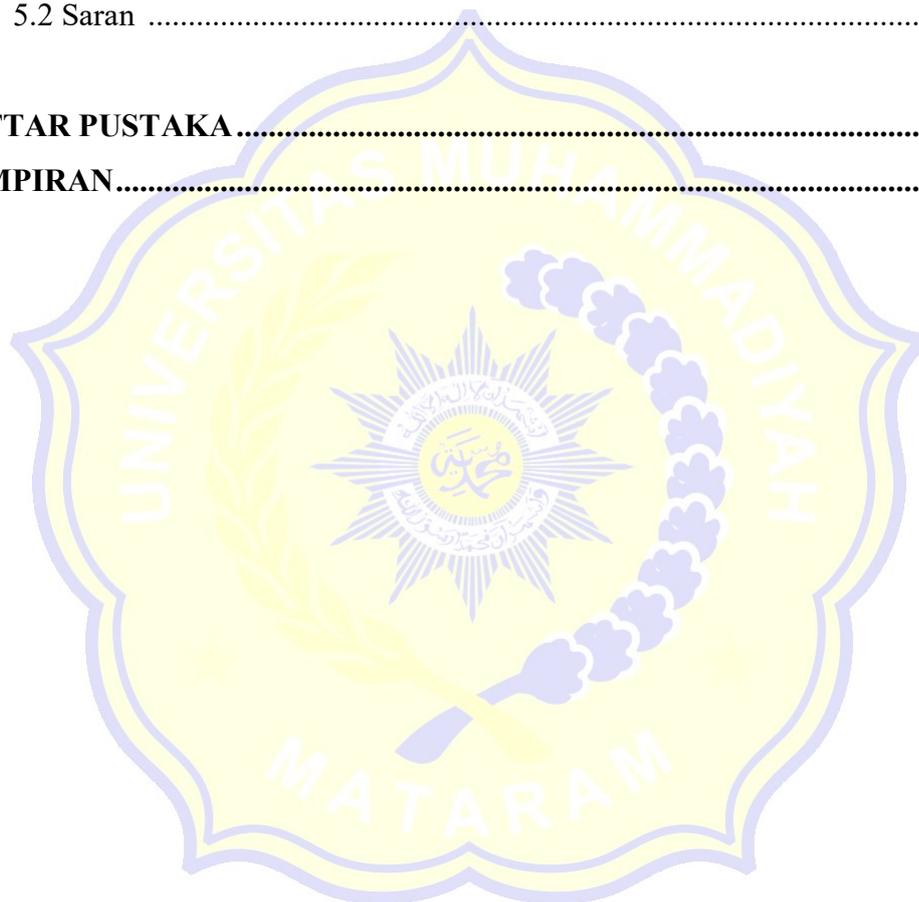
4.4 Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol (<i>Tamarindus indica</i>) Terhadap <i>Escherichia coli</i> Sebagai Penyebab Diare Secara <i>in vitro</i>	45
4.5 Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol (<i>Tamarindus indica</i>) Terhadap <i>Escherichia coli</i> Sebagai Penyebab Diare Secara <i>In Vitro</i>	47

BAB V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan.....	56
5.2 Saran	57

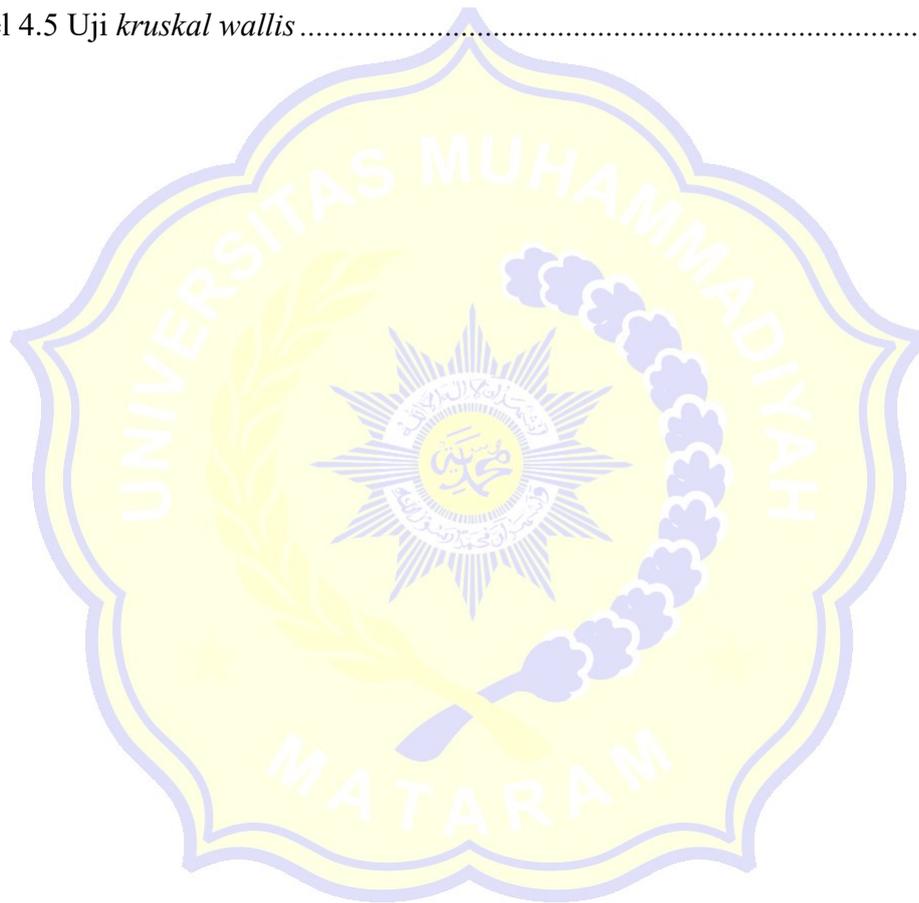
DAFTAR PUSTAKA	58
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	61
-----------------------	-----------



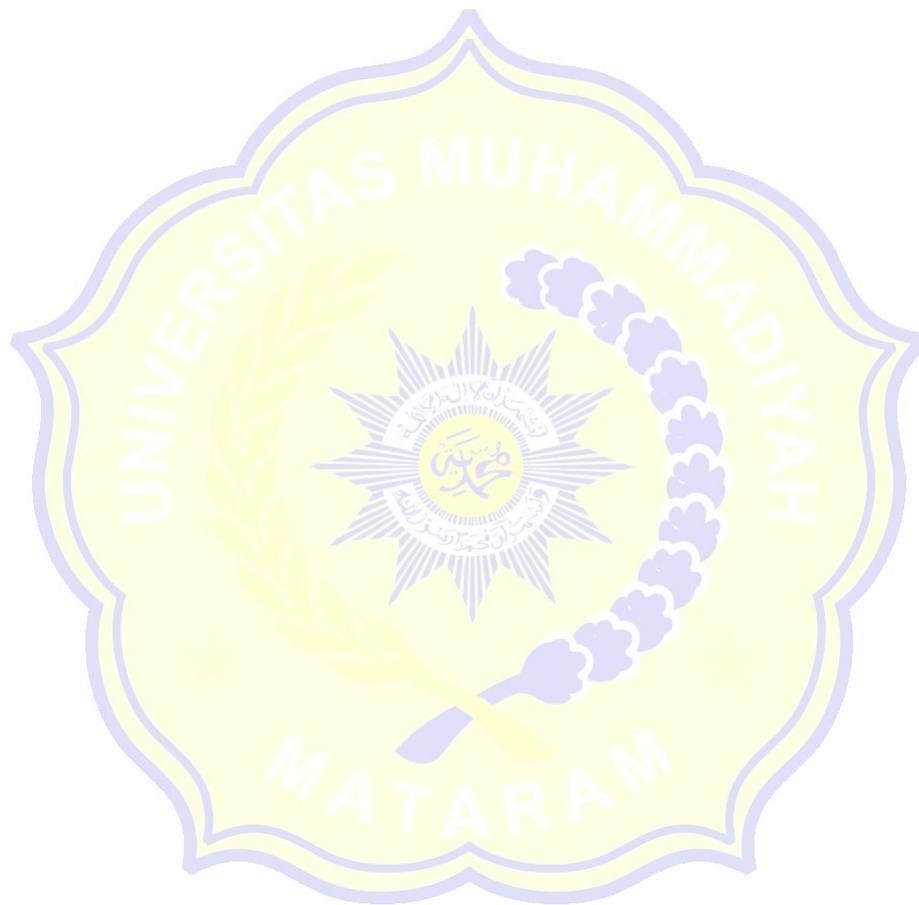
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 2.1. Klasifikasi Respon Zona Hambat Bakteri	30
Table 4.1. Hasil simplisia dan rendemen ekstrak biji asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i> L.)	41
Tabel 4.2. Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Biji Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i>) ...	45
Tabel 4.3. Klasifikasi respon zona hambat bakteri (Greenwood, 1995).....	47
Tabel 4.4 Uji daya hambat ekstrak etanol biji asam Jawa menggunakan metode sumuran	48
Tabel 4.5 Uji <i>kruskal wallis</i>	53



DAFTAR GAMBAR

2.1. Biji Asam Jawa	9
2.2. <i>Ersherichia coli</i>	15
2.6 Kerangka Konsep.....	28
3.12 Alur Penelitian	40



DAFTAR LAMPIRAN

1. Proses Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Asam Jawa
2. Hasil Analisis Data



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit adalah suatu keadaan abnormal tubuh atau pikiran yang menyebabkan ketidak nyamanan terhadap orang yang dipengaruhinya. Ada beberapa jenis penyakit, yaitu jenis penyakit menular, dan penyakit kronis (Wikipedia, 2008). Perkembangan penyakit menular telah menjadi suatu tantangan pada abad 21. Di dunia penyakit menular telah menyumbang 3 juta kematian, pada tahun 2005 di mana 60% kematian di antaranya terjadi pada penduduk berumur di bawah 70 tahun (WHO Technical Report Series, 2003).

Penyakit diare di Indonesia masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang utama. Hal ini disebabkan karena masih tingginya angka kesakitan dan kematian terutama pada balita. Diperkirakan lebih dari 1,3 miliar serangan dan 3,2 juta kematian per tahun pada balita disebabkan oleh diare. Setiap anak mengalami episode serangan diare rata-rata 3,3 kali setiap tahun dan lebih dari 80% kematian terjadi pada anak berusia kurang dari dua tahun (Widoyono, 2005).

Salah satu penyakit menular adalah diare. Diare adalah penyakit yang membuat penderitanya menjadi sering buang air besar dengan kondisi tinja yang encer pada umumnya diare terjadi akibat makanan dan minuman yang terpapar virus, bakteri, atau parasit. Salah satu bakteri yang menyebabkan diare yaitu bakteri *Escherichia coli*. Penyakit diare dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain disebabkan oleh masalah kebersihan lingkungan, kebersihan

makanan, dan juga infeksi mikroorganisme (bakteri, virus, dan jamur) .
(Korompis *et al.*, 2013).

Diare merupakan salah satu penyebab utama kesakitan dan kematian hampir di seluruh daerah geografis di dunia dan semua kelompok usia dapat terserang. Diare menjadi salah satu penyebab utama mordibitas dan mortalitas pada anak di negara berkembang. Di negara berkembang, anak-anak balita mengalami rata-rata 3-4 kali kejadian diare per tahun tetapi di beberapa tempat terjadi lebih dari 9 kali kejadian diare per tahun hampir 15-20% waktu hidup dihabiskan untuk diare (Soebagy, 2008).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki sumber daya alam yang banyak. Salah satu tanaman obat yang terdapat di Indonesia adalah *Tamarindus indica* atau yang biasa dikenal sebagai asam Jawa. Asam Jawa telah dipercaya sejak lama dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Salah satu bagian tanaman asam Jawa yang bisa dimanfaatkan sebagai obat adalah bijinya, karena didalam biji asam Jawa terdapat seyawa metabolit sekunder Metabolit sekunder sekunder merupakan hasil akhir dari suatu proses metabolisme. Metabolit sekunder juga memiliki struktur yang bervariasi dan bersifat spesifik. (Ergina *et al*, 2016). Metabolit sekunder merupakan dalam pengembangan obat-obatan sehingga metabolit sekunder banyak dimanfaatkan pada bidang farmakologi.

Biji asam Jawa mengandung senyawa Tanin merupakan senyawa yang memiliki kemampuan antibakteri melalui reaksi membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik (Puspodewi *et al*, 2015). Aktivitas

antibakteri yang dimiliki oleh senyawa tanin bekerja dengan cara memasuki dinding bakteri yang telah lisis akibat senyawa saponin dan flavonoid, sehingga menyebabkan senyawa tanin mengkoagulasi protoplasma sel bakteri (Karlina *et al*, 2013).

Bakteri *Escherichia coli* yaitu bakteri yang hidup di dalam usus manusia untuk menjaga kesehatan sistem pencernaan. Umumnya tidak berbahaya, ada jenis *Escherichia coli* tertentu yang menyebabkan diare merupakan bakteri komensal, pathogen intestinal dan pathogen ekstraintestinal yang dapat menyebabkan infeksi traktus urinarius, meningitis dan septicemia. Sebagian besar dari bakteri *Escherichia coli* berada dalam saluran pencernaan hewan maupun manusia dan merupakan flora normal, namun ada yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia (Bettelheim, 2000).

Berdasarkan penelitian Nerly Juli Pranita Simanjuntak (2014), tanaman asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) secara tradisional banyak digunakan dalam pengobatan. Salah satu bagian tanaman yang digunakan adalah bijinya untuk asma, bronkitis, kusta, tuberkulosis, luka, sakit perut, diare, disentri, vertigo dan diabetes. Senyawa aktif yang terdapat dalam biji asam Jawa adalah senyawa tannin, asam lemak, flavonoid, saponin, alkaloid dan glikosida. (Suralkar, *et al.*, 2013). Tanin bekerja sebagai adstringen yang dapat menciutkan selaput lendir usus sehingga digunakan sebagai obat antidiare (Tan dan Rahardja, 2007).

Tanin juga bersifat antibakteri dan antivirus. Mekanisme kerja tanin akan merusak membran sel bakteri dan mengecilkan dinding sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri, sehingga memperlambat pertumbuhan

bahkan kematian sel bakteri. Asam tanat, sebagai agen antiviral, menghancurkan enzim yang dibutuhkan untuk reproduksi virus sehingga sulit berkembang (Shabella, 2012).

Berdasarkan uraian di atas diketahui bahwa ekstrak etanol biji asam Jawa dapat mempengaruhi efektivitas antidiare pada bakteri *Escherichia coli* sehingga penulis tertarik untuk meneliti dengan judul: **“Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) Terhadap *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Diare Secara *in vitro*”**

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak etanol biji asam Jawa (*Tamarindus indica*) memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* sebagai penyebab diare secara *in vitro* ?
- b. Pada konsentrasi berapa ekstrak etanol biji asam Jawa paling efektif dari seri konsentrasi ?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui ekstrak etanol biji asam Jawa (*Tamarindus indica*) memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* sebagai penyebab diare secara *in vitro*.
- b. Mengetahui konsentrasi berapa ekstrak etanol biji asam Jawa paling efektif dari seri konsentrasi.

1.4 Manfaat Penelitian:

1.4.1 Bagi Akademisi

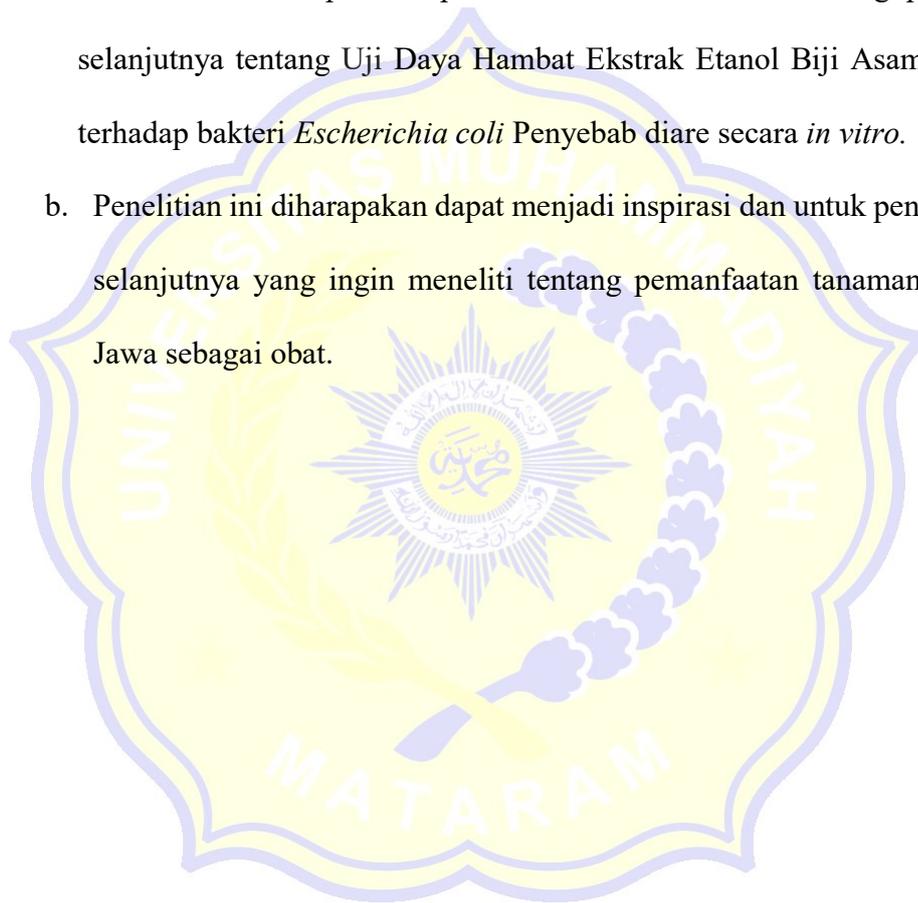
- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi pembaca atau sebagai tambahan Pengetahuan Tentang Uji Daya Hambat Ekstrak

Etanol Biji Asam Jawa terhadap bakteri *Escherichia coli* Penyebab diare secara *in vitro*.

- b. Sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan Gelar Ahli Madya pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

1.4.2 Penelitian Selanjutnya

- a. Penelitian ini diharapkan dapat menambah referensi ilmiah bagi penulis selanjutnya tentang Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa terhadap bakteri *Escherichia coli* Penyebab diare secara *in vitro*.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi inspirasi dan untuk penelitian selanjutnya yang ingin meneliti tentang pemanfaatan tanaman asam Jawa sebagai obat.



1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1. Keaslian Penelitian

No	Peneliti	Judul	Hasil
1.	Tina Multazami. (2013)	Uji Aktivitas Anti bakteri Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (<i>Tamarindus indica L.</i>) Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 6538 Dan <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	Penelitian ini memeberikan hasil konsentrasi ekstrak etanol daun asam Jawa (<i>Tamarindus Indica L</i>) adalah 20%, 40%, 60%, 80% dan 100 % memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri dengan rerata diameter zona hambat
2.	Vijay Khotari dan Sriram S. di india pada tahun (2010)	“ <i>in vitro</i> Antibacterial Activity In Seed Extracts Of Manikara Zapota , <i>Anona Squamoso</i> , And <i>Tamarindus indica</i> “.	Hasil penelitian ini menunjukan bahwa ekstrak methanol biji asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i>) dan ekstrak aseton <i>Manikara zapota</i> memiliki efek bakterisida.
3.	Nerly Juli Pranita Simanjuntak (2014)	“Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Serta Uji Efektifitas Anti Diare Ekstrak Etanol Biji Asam	Hasil analisis statistic menunjukan pemberian suspensi

	Jawa (<i>Tamarindus indica</i>) Terhadap Mencit Jantan Dengan Metode Transit Intestinal”.	ekstrak etanol biji asam Jawa 2% dengan dosis 150mg/kg BB dan 450 mg/kg BB pada mencit jantan menunjukkan efek antidiare yang efektif karena tidak berbeda nyata dengan loperamide 0,52 mg/kg BB yang menunjukkan efek anti diare pada uji beda rata-rata Duncan($P > 0,05$).
--	--	--

BAB II TINJUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Asam Jawa (*Tamarindus Indica*) L.

Tumbuhan asam Jawa (*Tamarindus indica*) L. merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dibudidayakan di negara tropis sehingga dapat dengan mudah ditemukan termasuk di Indonesia. Tumbuhan ini biasanya dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan tradisional. Bagian tumbuhan *Tamarindus indica* L. yang biasa digunakan untuk pengobatan antara lain bagian daun, kulit batang, daging buah dan juga bijinya (Faridba *et al*, 2016).

Tamarindus indica L. dapat dikembangkan baik secara vegetatif maupun generatif. Perbanyakan *Tamarindus indica* L. secara vegetatif dapat menghasilkan buah berlimpah apabila organ tanamannya berasal dari pohon induk yang bergenetik unggul. Namun karena jaranginya ketersediaan tegakan pohon *Tamarindus indica* L. di alam saat ini, maka perbanyakan secara generatif dengan biji dapat menjadi pilihan yang tepat dalam upaya pembudidayaannya (Sutimarong *at al*, 2015).

2.1.1 Klasifikasi Asam Jawa (*Tamarindus indica*) L.

Menurut Backer & van, klasifikasi ilmiah dari *Tamarindus indica* L. adalah sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Sub kingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Divisio</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Sub divisio</i>	: <i>Magniliophyt</i>
<i>Classis</i>	: <i>Magnoliopsida</i>

<i>Sub classis</i>	: <i>Risidae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Fabales</i>
<i>Familia</i>	: <i>Fabaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Tamarindus</i>
<i>Species</i>	: <i>Tamarindus indica.L</i>



Gambar 2.1. Biji asam Jawa (*Tamarindus indica L.*) (Sumber : Achlana, 2013)

2.1.2 Morfologi Tanaman Biji asam Jawa

Morfologi tumbuhan asam Jawa (*Tamarindus indica L.*) adalah sebagai berikut (Doughari, 2006):

a. Batang

Batang pohonnya yang cukup keras dapat tumbuh menjadi besar dengan tinggi mencapai 24 meter dan diameter di pangkal hingga 2 meter. Kulit batang berwarna coklat keabu-abuan dan memiliki corak bealur vertikal.

b. Daun

Tamanan asam Jawa memiliki daun-daun yang sangat rindang dan memiliki daun berkisar antara sepuluh sehingga dua puluh anak daun yang bertumbuh kecil-kecil. Daun sendiri berbentuk menyirip dan berselang-seling dan mampu bertumbuh antara empat hingga lima belas senti meter.

c. Bunga

Bunga dari tanaman asam Jawa tercipta dengan warna merah krem yang tumbuh dalam rumpun pohonnya, bahwa bunga asam Jawa memiliki aroma yang harum dan memiliki biji. Biji bunganya berbentuk melengkung serta berwarna coklat, setiap bunga dapat ditumbuh biji mulai dari satu hingga sepuluh biji.

d. Buah

Buah asam Jawa terdiri dari 40-50% daging buah; buah polong yang menggelembung, hampersilindris, bengkok atau lurus. Daging buah (mesocarp) putih kehijauan ketika muda menjadi merah kecoklatan sampai kehitaman ketika sangat masak, rasa asam manis dan melengket, kulit buah (esokarp) mengeras berwarna kecoklatan atau kelabu bersisik, dengan urat-urat yang mengeras dan liat serupa benang.

e. Biji Asam Jawa

Biji asam Jawa berbentuk agak persegi, berwarna coklat kehitaman, mengkilap dan keras.

f. Akar Asam Jawa

Tumbuhan asam Jawa memiliki sistem perakaran akar tunggang terbukti dengan adanya akar lembaga (radikula) yang tumbuh terus menjadi akar pokok yang bercabang-cabang menjadi akar-akar yang lebih kecil. Akar tunggang (*radix primaria*) yang dapat menembus kedalam tanah (Gembong, 1989).

2.1.3 Kandungan Biji Asam Jawa

2.1.3.1 Daun Asam Jawa

Daun *Tamarindus indica* L. memiliki banyak kandungan antara lain protein, lemak, serat, asam tatarat, dan metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, mineral seperti sodium (natrium), potasium (kalium), magnesium, fosfor, kalsium, dan sulfur. Selain mineral juga ada beberapa vitamin seperti thiamin (vitamin B1), pektin, ribhoflavin (vitamin B2), β -karoten (vitamin A), asam askorbat (vitamin C), dan niasin (vitamin B3 atau B kompleks). Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak daun *Tamarindus indica* L. yang berupa flavonoid, tannin, saponin, dan alkaloid ini lah yang membuat daun *Tamarindus indica* L. dapat berkhasiat sebagai antibakteri (Fakhrurrazi *et al.* 2016).

2.1.3.2 Biji Asam Jawa

Kandungan biji asam Jawa mengandung zat aktif berupa tanin, minyak esensial dan beberapa polimer alami seperti pati, getah dan albuminoid. Biasanya di dalam buah juga terdapat biji berkisar 2-5 yang berbentuk pipih dengan warna coklat agak kehitaman. Biji asam Jawa bentuknya tidak beraturan warna coklat tua atau hitam mengkilat. Biji dibagi dalam tiga bagian utama yaitu kulit biji Spermodermis, kulit ari tali pusar Funiculus, dan inti biji Nukleus seminis. Kulit biji terdiri dari lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan kulit dalam. Inti biji asam terdiri dari lembaga Embrio, dan putih lembaga albumen yang berupa jaringan cadangan makanan untuk permulaan pertumbuhan. Sejak dulu tanaman asam, khususnya asam Jawa, dikenal sebagai obat tradisional, bumbu dapur, dan kayu bangunan. Tanaman asam berpotensi untuk dikembangkan secara intensif dan

berpola komersial karena nilai sosial dan ekonominya cukup tinggi (Rukmana, 2005).

2.1.3.3 Daging Buah Asam Jawa

Daging buah asam Jawa mengandung 8-14% asam tartarat, 30-40% gula serta sejumlah kecil asam sitrat dan kalium bitaerat sehingga berasa sangat masam. Daun asam Jawa mengandung erpenoid, saponin, flavonoid dan asam-asam organik.

2.1.4 Manfaat Biji Asam Jawa

Tamarindus indica L. merupakan salah satu tumbuhan yang banyak digunakan untuk mengobati macam penyakit, seperti demam, disentri, hepatitis, gonorrhoea, dan gangguan pencernaan (Fakhrurrazi dkk, 2016). Biji *Tamarindus indica* L. memiliki banyak kandungan zat aktif yang berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit dan juga menghambat pertumbuhan bakteri. Getah daun *Tamarindus indica* L. memiliki khasiat diuretic, dekokta daunnya juga dapat digunakan untuk mengatasi batuk dan demam (Faridba *et al.*, 2016).

Senyawa yang terkandung di dalam biji asam Jawa mengandung zat aktif berupa tanin, minyak esensial dan beberapa polimer alami seperti pati, getah.

a. Tanin

Tanin adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba yaitu dengan cara menghambat kerja enzim seperti selulosa, pektinase, peroksida oksidatif dan lain-lain (Utami, 2005).

Menurut (Sutresno, 2006), fenol yang ada pada senyawa tanin dikenal sebagai asam karbol yang dalam konsentrasi tinggi dapat beracun pada bakteri dan biasanya digunakan untuk membunuh kuman.

b. Minyak Esensial

Minyak esensial (minyak aromatik) adalah kelompok minyak nabati yang wujudnya cair kental dan pada suhu ruangan akan mudah menguap sehingga akan menimbulkan aroma yang khas. Minyak ini digunakan untuk mengurangi bau yang tidak sedap (Suprianti, 2006).

c. Pati

Pati adalah polimer glukosa yang bergranula (butiran) dan memiliki diameter 2 mikron-100 mikron yang tersusun atas komponen-komponen polimer lurus (amilosa) yang menyusun kurang lebih 25% pati dan polimer bercabang (amilopektin).

d. Getah

Getah adalah senyawa polimer hidroksi karbon yang dihasilkan dari koloid. Senyawa hidro karbon adalah senyawa kimia yang hanya mengandung karbon (C) dan hidrogen (H). Getah digunakan sebagai pengental, bahan pengikat, emulsifer, penstabil, perekat, koagulan dan sebagai filter dalam industri tekstil (Khan, 2005).

2.2 Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrak romosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz, 2004).

Escherichia coli adalah salah satu jenis bakteri yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan baik manusia maupun hewan yang sehat. Nama bakteri ini diambil dari nama seorang *bacteriologist* yang berasal dari Jerman yaitu *Theodor Von Escherich*, yang berhasil melakukan isolasi bakteri ini pertamakali pada tahun 1885. Dr. Escherich juga berhasil membuktikan bahwa diare dan gastroenteritis yang terjadi pada *infant* adalah disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Jawetz, 1995).

2.2.1 Klasifikasi dan Gambar *Eschericia Coli*

Klasifikasi *Eschericia Coli*

- Fluim* : Protoebacteria
- Kelas* : Gamma Protoebacteria
- Ordo* : Enterobacteriaceae
- Genus* : Eschericia
- Spesies* : Escherichia coli



Gambar 2.2 *Escherichia Coli* (Sumber : Ahmad, 2004)

2.2.2 Manfaat dan Patogenitas *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah anggota flora normal usus, menghasilkan kolisin yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri usus yang patogenik. *Escherichia coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral. Di dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiwarna dkk, 1995).

2.2.3 Morfologi *Escherichia coli*

Kehidupan bakteri tidak hanya dipengaruhi oleh faktor-faktor luar tetapi sebaliknya bakteri mampu mempengaruhi keadaan lingkungannya, misalnya dapat menyebabkan demam (panas) akibat terinfeksi oleh bakteri *E. coli* yang ada dalam saluran pencernaan dan menyebabkan diare yang berkepanjangan. Jika *Escherichia coli* berada dalam medium yang mengandung sumber karbon (glukosa, laktosa,

dsb.), maka akan mengubah derajat asam (pH) dalam medium menjadi asam dan akan membentuk gas sebagai hasil proses terurainya glukosa menjadi senyawa lain (Melliawati, 2009).

Eschericia coli merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk kemangi, ada yang individu (monobasil), saling berpasangan (diplobasil) atau berkoloni membentuk rantai pendek (streptobasil), tidak membentuk spora juga kapsula, berdiameter $\pm 1,1 - 1,5 \times 2,0 - 6,0$ um, bisa bertahan hidup di medium sederhana dan memfermentasi laktosa, menghasilkan asam dan gas, isi G + C DNA adalah 50-51 mol % (Jawetz dkk, 2008).

2.3 Diare

Diare adalah keadaan dimana seseorang mengalami buang air besar dengan konsistensi encer atau bahkan berupa air saja yang terjadi lebih sering dari biasanya (3 kali atau lebih) dalam 1 hari (Kemenkes RI, 2011). Diare adalah suatu penyakit dengan tanda-tanda adanya perubahan bentuk dan konsistensi dari tinja, yang melembek sampai mencair dan bertambahnya frekuensi buang air besar biasanya tiga kali atau lebih dalam sehari (Depkes RI, 2005). Diare merupakan penyebab umum kematian di negara berkembang, penyebab kedua kematian bayi di seluruh dunia dan penyebab nomor satu kematian balita (di bawah lima tahun) di seluruh dunia. Hilangnya cairan karena diare dapat menyebabkan dehidrasi dan gangguan elektrolit seperti kekurangan kalium atau tidak seimbangan garam lainnya (Sumampouw et al., 2017).

Umumnya Diare merupakan masalah kesehatan masyarakat di negara berkembang seperti Indonesia karena angka morbiditas dan mortalitas yang masih

tinggi. Tahun 2016 jumlah penderita diare semua umur yang dilayani di sarana kesehatan sebanyak 3.176.079 penderita dan terjadi peningkatan pada tahun 2017 yaitu menjadi 4.274.790. Kejadian luar biasa (KLB) diare juga masih sering terjadi dengan *Crude Fatality Rate* (CFR) (angka kematian kasar) yang masih tinggi. Data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2017 terjadi 21 kali KLB diare yang tersebar di 12 provinsi, 17 kabupaten/kota, dengan jumlah penderita 1.725 orang dan kematian 34 orang (CFR 1,97%) (Kemenkes, 2018).

2.3.1 Penyebab Diare

Diare akibat virus yang disebabkan antara lain oleh rota virus dan denovirus. Virus melekat pada sel mukosa usus dan menjadi rusak sehingga kapasitas absorpsi menurun dan sekresi air dan elektrolit memegang peran. Diare yang terjadi dan dapat bertahan terus sampai beberapa hari setelah virus lenyap dengan sendirinya, biasanya dalam 3 -6 hari. Penderita diare biasanya akan kehilangan cairan dan garam dalam tubuh yang lebih besar dari normal menyebabkan dehidrasi. Dehidrasi tersebut timbul bila pengeluaran cairan dan garam lebih besar dari pada masukan (Andrianto, 1995).

Faktor-faktor penyebab diare kronik yaitu:

1. Infeksi bakteri/infestasi parasit yang sudah resisten terhadap antibiotik/anti parasit, disertai *overgrowth* bakteri non patogen.

Kerusakan epitel usus, pada tahap awal sebagai akibat kerusakan epitel terjadi kekurangan enzim laktase dan protease dengan akibat terjadinya maldigesti dan malabsorpsi karbohidrat dan protein, terjadilah defisiensi enzim-enzim yang dikeluarkan oleh organ-organ tersebut, menyebabkan terjadinya maldigesti dan

malabsorpsi dari seluruh nutrisi. Makanan yang tidak dicerna dengan baik tersebut, akan menyebabkan tekanan koloid osmotik di dalam lumen usus meningkat, menyebabkan osmotik diare. Selain itu, juga akan menyebabkan *overgrowth* bakteri yang menyebabkan terjadinya dekonjugasi dan dehidroksilasi asam empedu. Dekonjugasi dan dekarboksilasi asam empedu ini merupakan zat toksik terhadap epitel usus dan menyebabkan gangguan pembentukan ATP-ase yang sangat penting sebagai sumber energi dalam absorpsi makanan.

Menurut *World Health Organization* (WHO), diare adalah penyebab nomor satu kematian balita di seluruh dunia dan angka kesakitan diare pada tahun 2011 yaitu berkisar 411 penderita per 1000 penduduk. Menurut data WHO tahun 2013, setiap tahunnya terjadi Shigellasp, dan *Campylobacter* (Joko dkk., 2015). Kematian akibat diare sebesar 760.000 jiwa dan lebih banyak terjadi pada anak berumur di bawah lima tahun dan 21% terjadi kematian pada anak karena diare di negara berkembang (Fatkhian, 2016). Diare dapat disebabkan oleh infeksi mikroorganisme, antara lain bakteri, virus, dan parasit lainnya, yaitu jamur, cacing, dan protozoa (Tarman dkk., 2013). Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan diare yaitu *staphylococcus aureus*, *salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *vibrio cholera*.

2.3.2 Jenis-Jenis Diare

Berdasarkan waktu terjadinya, pengelompokan diare (Navaneethan dan Giannella, 2011) antara lain:

2.3.2.1 Diare Akut

Diare ini berlangsung selama kurang dari dua minggu. Penyebabnya adalah infeksi bakteri, virus, atau parasit, keracunan atau alergi terhadap makanan, reaksi obat seperti magnesium yang terdapat pada antasida, antibiotik, misoprostol, H₂ reseptor bloker dan proton pum inhibitor.

2.3.2.2 Diare Persisten

Diare ini berlangsung selama dua sampai empat minggu. Diare persisten merupakan kelanjutan dari diare akut, yang umumnya disebabkan karena infeksi bakteri, virus, atau parasite.

2.3.2.3 Diare Kronik

Diare ini berlangsung selama lebih dari empat minggu. Penyebabnya adalah *irritable bowel syndrome* (IBS), *inflammatory bowel disease* (IBD), kanker kolon, malabsorpsi lemak atau karbohidrat. Karena penyakit kanker kolon dan rectum atau penyakit yang berhubungan dengan gastro intestinal.

2.3.3 Pengobatan Diare

Pengobatan utama yang dibutuhkan adalah minum cairan yang cukup. Pada penderita yang muntah harus minum sedikit demi sedikit untuk mengatasi dehidrasi, yang selanjutnya bisa membantu menghentikan muntahnya. Muntah yang berlangsung terus dan terjadi dehidrasi berat diperlukan infus cairan dan elektrolit. Anak-anak lebih cepat jatuh dalam keadaan dehidrasi, mereka harus diberi larutan garam dan gula, cairan yang biasa digunakan seperti minuman bersoda, teh, minuman olahraga dan sari buah, tidak tepat diberikan pada anak-anak penderita diare. Muntah yang berat dapat diberikan suntikan atau supositoria. Jika

gejalanya membaik, penderita secara bertahap mendapatkan makanan lunak seperti gandum, pisang, bubur nasi, selai apel dan roti panggang. Jika makanan tersebut tidak menghentikan diare setelah 12-24 jam dan bila tidak terdapat darah pada tinja, berarti ada infeksi bakteri yang serius (Andrianto, 1995).

Dalam garis besarnya pengobatan diare dapat dibagi dalam:

1. Pengobatan kausatif

Pengobatan yang tepat terhadap kausatif diare diberikan setelah kita mengetahui penyebabnya yang pasti. Jika kausal diare ini penyakit parenteral, diberikan antibiotik sistemik, jika tidak terdapat infeksi pengobatan simptomatik.

a) Obat-obat anti diare: obat-obat yang berkhasiat menghentikan diare secara cepat seperti antispasmodik atau spasmolitik atau opium (papaveri, ekstrakum belladonna, loperamid, kodein, dan sebagainya) justru akan memperburuk keadaan karena akan menyebabkan terkumpulnya cairan di lumen usus dan akan menyebabkan terjadinya perlipat gandaan (*overgrowth*) bakteri, gangguan digesti dan absorpsi. Obat-obat ini berkhasiat untuk menghentikan peristaltik, tetapi akibatnya sangat berbahaya karena penderita akan terkelabui. Diarenya terlihat tidak ada lagi tetapi, perut akan bertambah kembung dan dehidrasi bertambah berat yang berakibat fatal untuk penderita (Noerasid, dkk., 1988).

b) Adsorben: Obat-obat adsorben seperti kaolin, pektin, charcoal (norit, tabonal), bismut sub bikarbonat dan sebagainya, telah dibuktikan tidak ada manfaatnya.

- c) Stimulans: Obat-obat stimulans seperti adrenalin, nikoti namide dan sebagainya tidak akan memperbaiki renjatan atau dehidrasi karena penyebab dehidrasi ini adalah kehilangan cairan sehingga pengobatanyang paling tepat adalah pemberian cairan secepatnya.
- d) Antiemetik : Obat antiemetik seperti *chlorpromazine* (largactil) terbukti selain mencegah muntah juga dapat mengurangi sekresi dan kehilangan cairan bersama tinja. Pemberian dalam dosis kuat (sampai dengan 1mg/kg BB/hari) sekiranya cukup bermanfaat. Tetapi pada anak obat antiemetik seperti *chlorpromazine* dan *prochlorperazine* mempunyai efek sedatif, menyebabkan anak tidak mau mengkonsumsi cairan. Oleh karena itu antiemetik tidak digunakan pada anak yang diare (Soebagyo, 2008).
- e) Antipiretix : Obat antipiretik seperti preparat salisilat (asetosal dan aspirin) dalam dosis (2mg/th/kali) ternyata selain berguna untuk menurunkan panas yang terjadi sebagai akibat dehidrasi atau panaskarena infeksi penyerta juga mengurangi sekresi cairan yang keluar bersama tinja (Suharyono, *et al.*, 1994).

Panduan pengobatan menurut WHO, diare akut dapat dilaksanakan secara sederhana yaitu dengan terapi cairan dan elektrolit per-oral dan melanjutkan pemberian makanan, sedangkan terapi non spesifik dengan anti diare tidak di rekomendasikan dan terapi antibiotika hanya diberikan bila ada indikasi. Pemberian cairan dan elektrolit secara parenteral hanya untuk kasus dehidrasi berat (Soebagyo, 2008). Pemberian antibiotik secara rutin tidak diperlukan. Tetapi antibiotik

diberikan sesuai dengan tata laksana diare akut atau apabila ada infeksi non intestinal seperti pneumonia, infeksi saluran kencing atau sepsis.

2.3.4 Terapi Nonfarmakologi dan Farmakologi

2.3.4.1 Terapi non Farmakologi

Pencegahan Diare dapat diupayakan melalui berbagai cara umum dan khusus/imunisasi. Termaksud cara umum antara lain adalah peningkatan higiene dan sanitasi karena peningkatan higiene dan sanitasi dapat menurunkan insiden diare, jangan makan sembarangan terlebih makanan mentah, mengonsumsi air yang bersih dan sudah direbus terlebih dahulu, mencuci tangan setelah BAB dan atau setelah bekerja. Memberikan ASI eksklusif selama 6 bulan dan diteruskan sampai 2 tahun. Memberikan makanan pendamping ASI sesuai umur, untuk mencegah dehidrasi bila perlu diberikan infus cairan untuk dehidrasi. Buang air besar di jamban, membuang tinja bayi dengan benar, memberikan imunisasi campak (Kasaluhe *et al*, 2015).

2.3.4.2 Terapi Farmakologi

Anti-Diare diberikan untuk mengurangi peristaltik, spasme usus, menahan iritasi, absorpsi racun dan sering dikombinasi dengan antimikroba. Diare yang menyerupai kolera mengakibatkan dehidrasi ringan dan sering memerlukan infus, karena pasien dapat meninggal karena kekurangan cairan dan elektrolit. Bila tidak disertai muntah, maka cairan garam rehidrasi (oral rehydration salt = ORALIT) banyak menolong sebagai pertolongan pertama (Djamhuri, 1994).

Oralit merupakan cairan elektrolit-glukosa yang sangat esensial dalam pencegahan dan rehidrasi penderita dengan dehidrasi ringan-sedang. Pada

dehidrasi ringan dan sedang, bila diare profus dengan pengeluaran air tinja yang hebat (>100 ml/kg/hari) atau muntah hebat (*severe vomiting*) dimana penderita tak dapat minum sama sekali, atau kembung yang sangat hebat (*violent meteorism*) sehingga rehidrasi oral tetap akan terjadi defisit maka dapat dilakukan rehidrasi parenteral meskipun sebenarnya rehidrasi parenteral dilakukan hanya untuk dehidrasi berat dengan gangguan sirkulasi (Wiffen, 2014).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Tanaman yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavanoid dan lain - lain. Senyawa aktif yang dikandung dalam tanaman telah diketahui akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Departemen kesehatan RI, 2000).

2.4.1 Metode ekstraksi

Metode Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain:

2.4.1.1 Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses penyairan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan dan terlindung dari cahaya (Departemen kesehatan RI, 2000).

Metode ekstraksi tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut ekstraksi pada suhu kamar.

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI, 1986).

Penyariannya kurang sempurna. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari disertai ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Benjana ditutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari, kemudian dapat dipisahkan (Depkes RI, 1986).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan (Departemen kesehatan RI, 2000).

2.4.1.2 Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Departemen kesehatan RI, 2000).

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang dipanaskan hingga mendidih sehingga uap membasahi serbuk simplisia karena adanya pendingin balik dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan (Ditjen POM, 2000)

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Departemen kesehatan RI, 2000).

2.5 Metode Penghambat Bakteri

2.5.1 Metode Difusi (*Disc diffusion test*)

Disc diffusion test atau uji difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambat pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa anti bakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan atau sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/ml (Hermawan dkk.,

2007). Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu cara Kirby Bauer dan cara sumuran :

a. Cara Kirby Bauer

Metode difusi disk (tes Kirby Bauer) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen anti mikroba. Piringan yang berisi agen anti mikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen anti mikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Pherson Sacher dan Mc, 2004).

b. Cara sumuran

Metode ini serupa dengan metode difusi disk, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen anti mikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

Metode ini umumnya digunakan dalam uji aktivitas anti bakteri karena lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan zat aktif dapat berdifusi langsung tanpa penghalang kertas cakram (seperti pada metode *Kirby Bauer*). Selain itu, dengan metode ini dapat diketahui luas zona hambat. Diameter zona hambat merupakan petunjuk kepekaan bakteri uji, semakin besar zona hambat maka aktivitas anti bakteri semakin besar pula (Panangan & Syarif, 2009).

2.5.2 Metode Dilusi (Pengenceran)

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu metode dilusi cair dan metode dilusi padat:

a. Metode dilusi cair

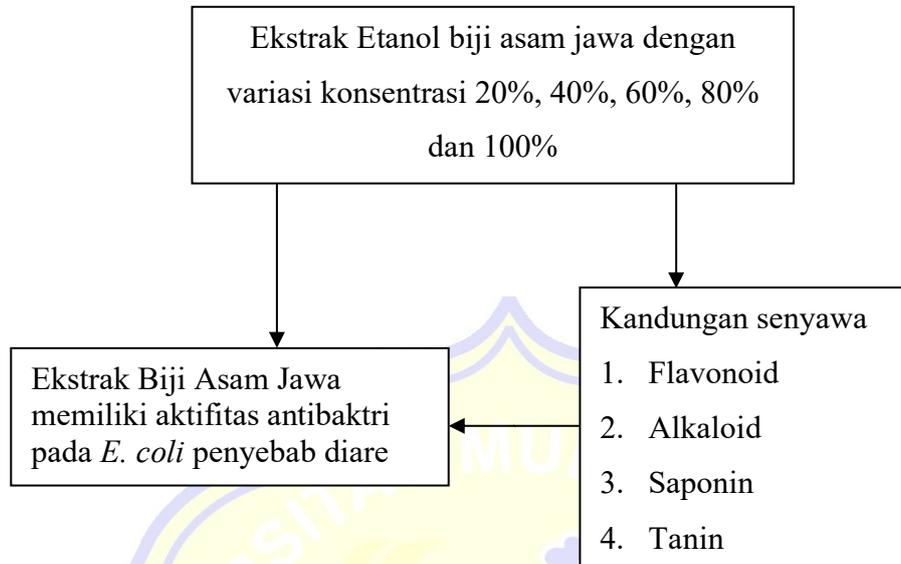
Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum) dengan cara membuat seri pengenceran agen-agen anti mikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Pratiwi, 2008).

b. Metode dilusi padat

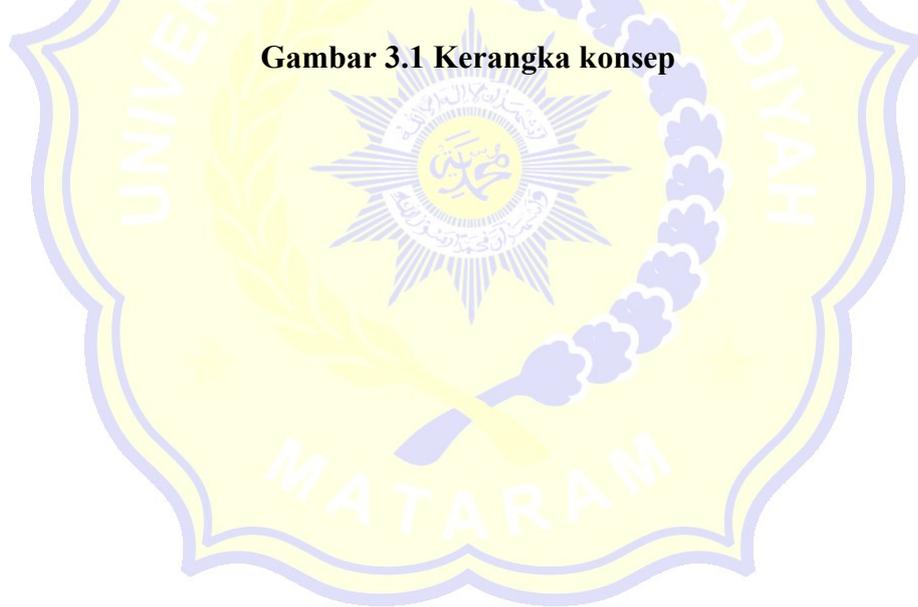
Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*solid*). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen anti mikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

2.6 Kerangka Konsep

Menurut Singarimbun, konsep adalah generalisasi dari sekelompok fenomena tertentu, sehingga dapat dipakai untuk menggambarkan fenomena yang sama (Mardalis, 2017:45). Kerangka Teoritis merupakan bagan atau gambar yang digunakan untuk membahas konsep teori agar mudah dipahami (Kurniawan, 2014:54). Berikut Kerangka Teoritis dalam penelitian ini.



Gambar 3.1 Kerangka konsep



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian ini termasuk eksperimental desain penelitian dengan menggunakan metode sumuran.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Program Studi DIII Farmasi Diploma Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Kota Mataram. Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Agustus 2021.

3.3 Definisi Operasional

- a. Biji asam Jawa adalah biji asam Jawa yang dipanen dari kebun Lakah, Batujai Kabupaten Lombok Tengah
- b. Ekstrak biji asam Jawa adalah sediaan kental yang melalui proses ekstrak dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70 %
- c. Daya hambat Ekstrak biji asam Jawa adalah kemampuan untuk mengurangi jumlah koplone bakteri yang telah diberikan ekstrak biji asam Jawa menggunakan metode sumuran.
- d. Diameter zona hambat adalah luas zona bening yang terbentuk disekitar sumuran yang telah diberikan ekstrak biji asam Jawa

Rumus:

$$L = \frac{(D1 - D3) + (D2 + D3)}{2}$$

Keterangan :

L : Luas zona hambat

D1 : Diameter zona hambat horizontal

D2 : Diameter zona hambat vertikal

D3 : Diameter sumuran

Tabel 2.1. Klasifikasi Respon Zona Hambat Bakteri

Diameter zona hambat	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Sensitif (kuat)
16 – 20 mm	Intermediet (sedang)
<15 mm	Resisten (lemah)

Sumber : (Greenwood, 1995)

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Beberapa peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah petridis, tabung reaksi, rak tabung, lampu spiritus, labu erlemeyer, pinset, jarum ose, *autoclave*, timbangan, inkubator, lemari penanaman, *swab* kapas steril, *yellow tip*, batang pengaduk, mikro pipet.

3.4.2 Bahan

Ekstrak Biji asam Jawa, etanol 96 %, bakteri murni *E coli*, Media Muller Hinton Agar (MHA), Aquades.

3.5 Populasi dan Sampel

3.5.1 Populasi

Pada penelitian ini diperoleh populasi biji asam Jawa yang berwarna coklat tua yang diperoleh disekitar daerah Lombok Tengah, Nusa Tenggara Barat.

3.5.2 Sampel

Sampel yang digunakan diperoleh dari hasil Ekstrak Biji Asam Jawa *Tamarindus indica* L.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah luas zona hambat atau zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambat pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa anti bakteri *Eschericia coli* dalam Ekstrak Biji Asam Jawa.

3.6.2 Variabel Bebas

Variabel Bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak yang dibuat dalam variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% konsentarsi ini sudah ditentukan dalam uji efektivitas dalam bakteri untuk melakukan perbandingan suatu sampel.

3.6.3 Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian yaitu Positif Gentamicin dan negatif Aquadest.

3.7 Pelaksanaan Penelitian

3.7.1 Persiapan Awal Pembuatan Simplisia

Ada beberapa tahapan dalam pembuatan sampel yaitu :

a. Pembuatan simplisia biji asam Jawa

Adapun beberapa tahapan dalam pembuatan simplisia biji asam Jawa (Gunawan dan Mulyani, 2004), yaitu :

1. Pengumpulan bahan baku

Biji asam Jawa diambil dari pohonnya langsung disebuah rumah di Daerah Lakah, Batujai Lombok Tengah, Biji Asam Jawa yang di ambil yang masih kering dan bagus.

2. Sortasi basah

Perlakuan ini bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing yang tidak diinginkan.

3. Pencucian

Pencucian dilakukan menggunakan air bersih yang mengalir sehingga benar-benar bersih dari kotoran yang menempel.

4. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 50 °C sampai kering selama kurang 24 jam.

5. Sortasi kering

Bertujuan untuk memisahkan bahan baku dari bahan yang tidak diinginkan seperti bahan yang terlalu kering atau gosong.

6. Pembuatan serbuk

Setelah mendapatkan simplisia biji asam Jawa dilanjutkan dengan proses pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan) dengan menggunakan blender

b. Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Asam Jawa

Pembuatan ekstrak biji asam Jawa dilakukan dengan metode maserasi, dengan cara serbuk biji asam Jawa segar diambil 300 gram kemudian dimasukkan ke dalam bejana yang telah disediakan dan direndam dengan pelarut dengan etanol bahan pembanding pelarut 3:10 yaitu 1000 ml pelarut, kemudian ditutup. Lakukan penggojokan secara konstan pada suhu ruangan sampai seluruh bahan tercampur dengan baik, kemudian didiamkan selama 3 hari sambil dilakukan penggojokan sesekali. Selanjutnya setelah 3 hari melakukan penyaringan dengan menggunakan kain flannel dan diperas. Hasil filtrat ditampung dalam beaker glass, kemudian dipekatkan dengan cara *Rotary Evaporator* sampai diperoleh ekstrak yang pekat.

Ekstrak pekat ditimbang dan dihitung rendemennya dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Rendemen } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{\text{bobot ekstrak (gram)} \times 100\%}{\text{bobot serbuk kering}}$$

3.8 Analisis Kualitatif Ekstrak Biji Asam Jawa

3.8.1 Uji Flavonoid

Ekstrak ditambah metanol dan kocok selama 15 menit dengan menutup rapat mulut tabung, saring, filtrat diteteskan pada kertas saring dan diuapkan dengan amoniak pekat. Warna kuning atau bercak kuning pada kertas saring menunjukkan adanya kandungan flavonoid (Sri, Rissa , & Agitya, 2018).

3.8.2 Uji Saponin

Ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah aquadest, dididihkan selama 2-3 menit, dinginkan, setelah dingin dikocok dengan kuat. Uji positif ditandai dengan adanya busa yang stabil selama 5 menit. (Sri, Rissa , & Agitya, 2018)

3.8.3 Uji Tanin

Dua gram ekstrak ditambahkan aquadest kemudian dididihkan selama beberapa menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtrat yang diperoleh ditambahkan 3 tetes $FeCl_3$ warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya senyawa tanin (Sri, Rissa , & Agitya, 2018).

3.8.4 Uji Alkaloid

Ekstrak dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, ditambahkan dengan 0,5 ml asam asetat anhidrida. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung tersebut. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol. Bila cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid (Eva, 2014).

3.9 Pembuatan Seri Konsetrasi

Uji daya hambat yang telah memformulasikan konsentrasi sampel ekstrak biji asam Jawa dan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% Jumlah ekstrak biji asam Jawa yang dibutuhkan dalam tiap-tiap konsentrasi (Tina Multazami, 2013).

Dengan perhitungan sebagai berikut:

1. Pembuatan larutan simplisia dengan (Konsentrasi) 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% ekstrak biji asam Jawa ditambahkan dengan 10 ml aquadest steril kemudian dicampurkan dan digojoj sampai terlarut.

2. Pembuatan konsentrasi 100%

Rumus :

$$\% = \frac{g}{100 \text{ ml.}} (b/v)$$

1. Kelompok I : 20%

$$\begin{aligned} 20\% &= \frac{20\text{g}}{100\text{ml}} = 20\% \\ &= \frac{2\text{g}}{10 \text{ ml}} = 20\% \end{aligned}$$

2. Kelompok II : 40%

$$\begin{aligned} 40\% &= \frac{40\text{g}}{100 \text{ ml}} = 40\% \\ &= \frac{4\text{g}}{10 \text{ ml}} = 40\% \end{aligned}$$

3. Kelompok III : 60%

$$\begin{aligned} 60\% &= \frac{60\text{g}}{100 \text{ ml}} = 60\% \\ &= \frac{6\text{g}}{10 \text{ ml}} = 60\% \end{aligned}$$

4. Kelompok IV : 80%

$$\begin{aligned} 80\% &= \frac{80\text{g}}{100 \text{ ml}} = 80\% \\ &= \frac{8\text{g}}{10\text{ml}} = 80\% \end{aligned}$$

5. Kelompok V : 100 %

$$\begin{aligned} 100\% &= \frac{100\text{g}}{100\text{ml}} = 100\% \\ &= \frac{10\text{g}}{10 \text{ ml}} = 100\% \end{aligned}$$

3.10 Pemiakan Suspensi *Escherichia Coli*

a. Kesetaraan *Mc.Farland*

Standar kekeruhan *Mc.Farland* yang digunakan adalah skala 0,5 yaitu $<3 \times 10^8$ CFU/ml. Cara pembuatan dengan mengambil Barium Sulfat sebanyak 0.05 ml. Larutkan dalam 9,95 ml Asam sulfat kemudian kocok perlahan.

b. Pembuatan suspensi *Escherichia Coli*

Suspensi *Escherichia Coli* dilakukan dengan cara mengambil *Escherichia Coli* uji dengan menggunakan jarum ose lalu disuspensikan kedalam tabung reaksi berisi 5 ml larutan NaCl steril 0,9%. Suspensi yang terbentuk disetarakan kekeruhannya dengan larutan *Mc.Farland* skala 0,5 yaitu $<3 \times 10^8$ CFU/ml (Lien, et al.2020).

3.11 Pembuatan Agar Media

Menimbang sebanyak 4g MHA (Muller Honton Agar) kemudian dilarutkan pada 100 ml aquades. Panaskan dan aduk sampai homogen. Kemudian masukkan ke dalam 5 cawan petri masing-masing sebanyak 15ml. Lapsi cawan petri dengan plastic wrap dan aluminium foil. Sterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C Tekanan 2 atm selama 15 menit.

3.12 Penanaman *Escherichia Coli*

Media Nutrient agar yang telah sterilkan kemudian ditanami biakan *Escherichia Coli* dengan cara mencelupkan batang swab kedalam tabung reaksi yang berisi suspensi bakteri *Escherichia Coli*, kemudian tempelkan kapas swab

ke dinding tabung agar bakteri *Escherichia Coli* menetes. Lakukan teknik swab secara perlahan diatas nutrisi agar telah memadat hingga merata.

3.13 Uji Aktivitas Ekstrak Biji Asam Jawa dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

- a. Membuat suspensi murni bakteri *Escherichia coli* dengan pekatan 0,5 unit *Mc. Farland*.
- b. Selanjutnya siapkan media MHA, kemudian gunakan kapas yang steril untuk diolesi suspensi bakteri hingga merata pada permukaan media dan diinkubasi 5-15 menit pada suhu kamar.
- c. Kemudian dibuat lubang-lubang sumuran menggunakan *yellowtip steril* yang ditekan pada media, dengan menggunakan dispenser.
- d. Kemudian pipetkan masing-masing 5 ml ekstrak biji asam Jawa konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dan diletakan pada masing-masing sumuran.
- e. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan keadaan petri dish tidak terbalik agar tidak terbentuk tetesan embun ke dalam sampel
- f. Kemudian dilihat hasilnya dengan menggunakan penggaris jangka sorong untuk diukur besarnya zona hambat dan kemudian menghitung standar deviasi. Dan Reflikasi dilakukan 3 kali
- g. kontrol positif yang digunakan yaitu Ciprofloxacin dan kontrol negatif aquades

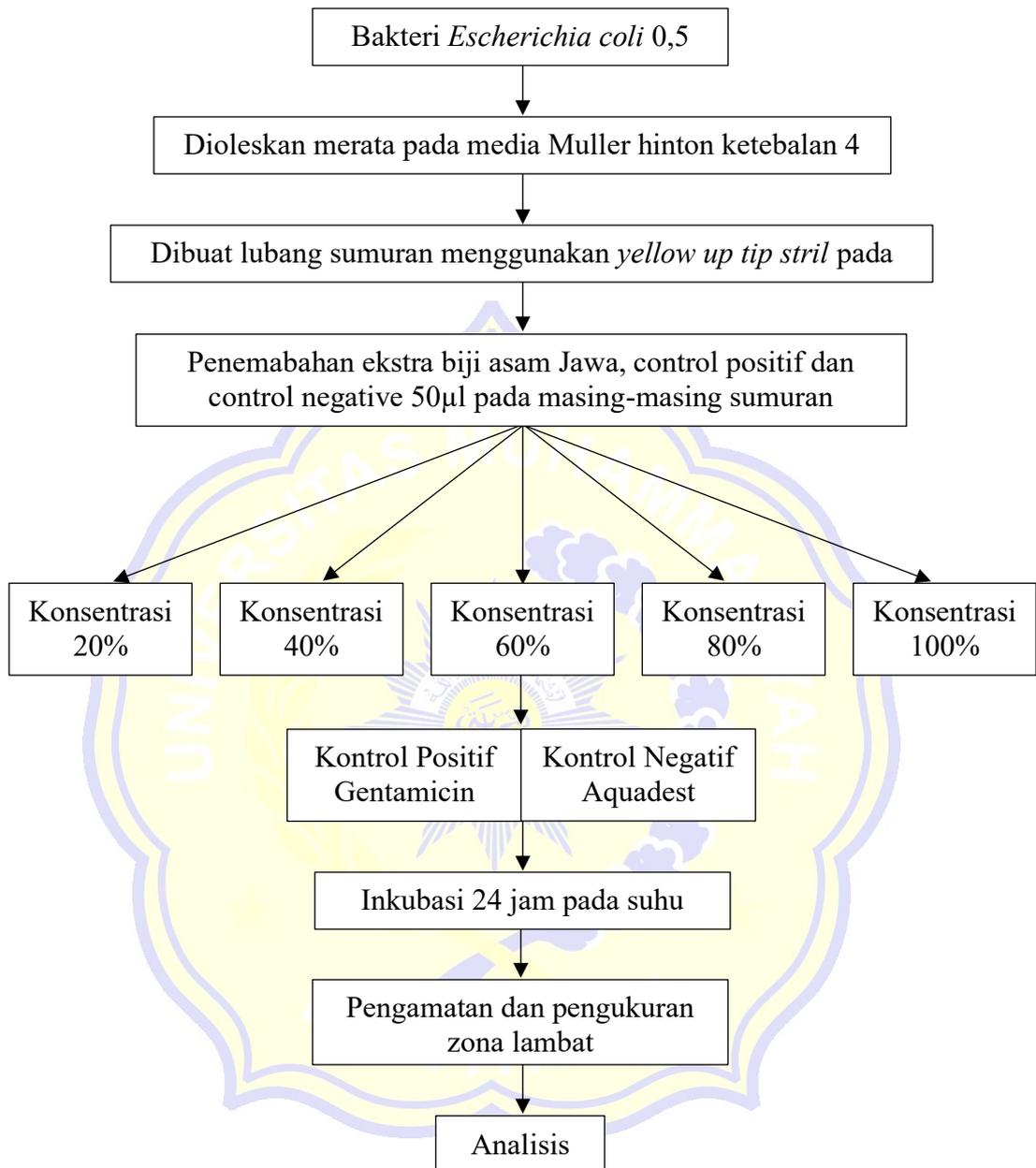
3.14 Analisis Data

Data yang telah didapat dari hasil pengamatan akan diolah dengan menggunakan *software statistik* SPSS untuk melihat apakah ada perbedaan daya hambat yang bermakna dari masing-masing uji yang mengandung kontrol positif, kontrol negatif, dan berbagai konsentrasi ekstrak dalam hambatan pertumbuhan bakteri. Data pada penelitian ini berupa variabel numerik lebih dari 2 kelompok sehingga menggunakan uji *One Way Anova* (Eko Prayoga, 2013).

Jika distribusi data normal, dilanjutkan dengan menggunakan uji analisis *One Way Anova*. Berikut ini adalah langkah-langkah melakukan uji analisis *One Way Anova*:

1. Memeriksa syarat uji parametrik *One Way Anova* untuk lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan :
 - a. Distribusi data harus normal
 - b. Variasi data harus sama
2. Jika memenuhi syarat uji parametrik (distribusi data normal), dipilih uji *One Way Anova*
3. Jika variabel hasil transformasi tidak memenuhi syarat, maka dipilih uji parametrik *One Way Anova*
4. Jika variabel hasil transformasi tidak memenuhi syarat, maka alternatifnya dipilih uji non parametrik *Kruskal-Wallis*, jika pada uji *One Way Anova* atau *Kruskal-Wallis* menghasilkan nilai $p < 0,05$ dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post Hoc* pada taraf kepercayaan 0,05 (Dahlan, 2011).

3.12 Alur Penelitian



Gambar 3.12 Alur Penelitian