

EFEK ANTIBAKTERI CUKA SARI APEL TERHADAP *Salmonella typhi*

Reza Indra Pratama¹, Usep Abdullah Husin², Siti Annisa Devi Trusda³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, ²Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, ³Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung

Abstrak

Demam tifoid masih menjadi masalah kesehatan pada negara berkembang. Kloramfenikol yang digunakan sebagai terapi lini utama memiliki banyak efek samping. Cuka sari apel telah digunakan sejak zaman dahulu untuk pengobatan masalah pencernaan, peningkatan stamina, dan pengobatan luka. Zat aktif yang terkandung didalamnya seperti asam asetat, flavonoid dan pektin telah diketahui memiliki efek antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antibakteri cuka sari apel terhadap *Salmonella typhi* dengan mengukur zona hambat, konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Penelitian ini berupa eksperimental laboratorik dengan kelompok perlakuan sebanyak enam konsentrasi yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, kontrol positif (kloramfenikol), dan kontrol negatif (aquades) dengan empat kali pengulangan. Penelitian ini menggunakan metode difusi agar *Kirby Bauer* untuk menilai zona hambat dan metode dilusi *Broth* untuk menentukan KHM dan KBM. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya zona hambat pada konsentrasi cuka sari apel 12,5%, dan semakin meningkat seiring peningkatan konsentrasi. Uji KHM dan KBM pada konsentrasi 25% dan secara statistik memperlihatkan hasil yang signifikan. Dari hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa cuka sari apel memiliki efek antibakteri yang signifikan pada *Salmonella typhi*.

Kata Kunci : cuka sari apel, metode difusi agar Kirby Bauer, metode dilusi Broth, *Salmonella typhi*

ABSTRACT

*Typhoid fever still become health problem in developing countries. Chloramphenicol, it's first line drug, possessed many side effect. Cider vinegar which has used for many centuries to heal digestive problems, increase stamina, and wound healing, had many active constituents. Acetic acid, flavonoid and pectin content of cider vinegar has known to have antibacterial effects. This study was carried out to assess antibacterial effect of cider vinegar on *Salmonella typhi* by measuring inhibition zone, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum killing concentration (MKC). Study used experimental method with six*

treatment groups, at 100%, 50%, 25%, 12,5% concentration, positive control (chloramphenicol), and negative control (aquadest), repeated four times. Inhibition zone were assessed using Kirby Bauer agar diffusion method, while MIC and MKC were assessed using Broth dilution method. The result showed that there were inhibition zone on 12,5% cider vinegar, and increased in dose dependent manner. MIC and MKC were 25% and were statistically significant. From the result, it may conclude that cider vinegar has a significant antibacterial effect on Salmonella typhi

Key words: *Broth dilution method, cider vinegar, Kirby Bauer diffusion method, Salmonella typhi*

Pendahuluan

Demam tifoid adalah penyakit multisistemik yang disebabkan oleh infeksi kuman *Salmonella enterica*, serovar *typhi*, *paratyphi A*, *paratyphi B*, dan *paratyphi C*.¹ Terhitung sejak 27 September 2004 – 11 Januari 2005, *World Health Organization* (WHO) telah menerima laporan total 42.564 kasus dan 214 diantaranya meninggal, dan 696 merupakan kasus berat dari perforasi intestinal. Insiden tinggi dari demam enterik berhubungan dengan sanitasi yang buruk dan sulitnya akses menuju air bersih.² Indonesia merupakan negara bagian dari benua Asia yang endemik terhadap kasus demam tifoid dan merupakan masalah kesehatan masyarakat. Dari telaah kasus di rumah sakit besar di Indonesia, kasus tersangka tifoid menunjukkan kecenderungan meningkat dari tahun ke tahun dengan rata-rata kesakitan 500/100.000 penduduk dengan kematian antara 0,6 – 5%.³

Penatalaksanaan demam tifoid secara medis sampai saat ini masih menganut trilogi penatalaksanaan demam tifoid yaitu tirah baring, diet, dan antimikroba.³ Kloramfenikol merupakan antibiotik lini pertama yang digunakan untuk pengobatan demam tifoid.⁴

Pada tahun 1989 di Cina dan Asia Tenggara terdapat kasus *Multidrug-resistant* (MDR) strain dari *S. typhi*. Strain ini mengandung *plasmid* yang resisten terhadap kloramfenikol, amfisilin, dan trimethoprim akibat penggunaan jangka panjang dalam pengobatan

demam enterik .² Di Indonesia sendiri kasus MDR terjadi di RSUD Ratu Zaleha, Martapura pada tahun 2011 memiliki resistensi sebesar 11,54% serta di RSUD Ulin Banjarmasin pada tahun 2012 memiliki resistensi sebesar 10% terhadap antibiotik kloramfenikol.⁵

Potensi herbal di Indonesia salah satunya adalah apel. Apel dapat diolah menjadi cuka sari apel. Cuka apel mentah berasal dari apel yang di fermentasikan didalam wadah kayu. Cuka apel berbeda dengan cuka biasanya yang ditemukan di pasaran. Karena manfaat cuka tersebut didapatkan dari buah apelnnya. Beberapa zat yang terkandung dalam cuka apel diantaranya : asam asetat, vitamin b1, b2, asam amino, flavonoids, pektin, potassium, dan magnesium.⁶

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ricke SC dkk⁷ menunjukkan bahwa asam asetat memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme mempengaruhi lingkungan sekitar pertumbuhan bakteri tersebut menjadi asam. Penelitian Plaper A dkk⁸ juga mengemukakan *flavonoid* memiliki efek antibakteri melalui mekanisme berikatan dengan GyrB yang merupakan subunit dari DNA gyrase milik bakteri *E. coli* dan menghambat aktifitas enzim ATPase. Sedangkan pada penelitian Thakur B.R. dkk⁹ menjelaskan bahwa pektin memiliki sedikit efek antimikroba melawan *E. coli* dengan metode penelitian secara *in-vitro*.

Atas dasar teori tersebut, peneliti bermaksud untuk meneliti mengenai efek dari larutan cuka sari apel dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Salmonella typhi* yang merupakan agen penyebab demam tifoid. Kemudian hasilnya akan dibandingkan dengan standar terapi demam tifoid yaitu kloramfenikol. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi suatu dasar pengembangan cuka sari apel sebagai pengobatan alternatif demam tifoid.

Bahan dan Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan 4 kali pengulangan menurut rumus Federer, sampel

penelitian yang berupa cuka sari apel dibandingkan dengan kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif. Uji difusi Kirby Bauer untuk tes zona hambat dan uji dilusi Broth untuk Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM).

Konsep variable terbagi menjadi variable bebas adalah konsentrasi cuka sari apel, kontrol negatif dengan aquades dan kontrol positif dengan kloramfenikol dan variable terikat adalah diameter hambat sumur cuka sari apel pada agar *Mueller Hinton* untuk zona hambat (mm) dan *Mueller Hinton Broth* untuk KHM dan KBM.

Bahan penelitian yang digunakan adalah cuka sari apel, agar *Mueller Hinton*, agar *Mueller Hinton Broth*, aquades, kloramfenikol, standar *Mc Farland* 0,5. Alat penelitian adalah timbangan digital, pengukur temperatur, Bunsen burner, Spiritus, labu Erlenmeyer, aluminium foil, kasa steril, kantong plastik, autoklaf, pelubang agar, cawan petri, ose, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, inkubator, penggaris, label, pengukur waktu.

Dosis kloramfenikol yang digunakan adalah 30 µg. Dosis cuka sari apel yang digunakan adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%.

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Salmonella typhi* yang telah diverifikasi berdasarkan morfologi dan tes biokimia.

Persiapan uji difusi Kirby Bauer meliputi pembuatan agar *Mueller Hinton*, persiapan suspensi inokulum bakteri dengan standar *Mc Farland* 0,5 dan kelompok perlakuan uji difusi Kirby Bauer yang terbagi menjadi 6 kelompok: kelompok I: biakan *Salmonella typhi* pada media yang mengandung cuka sari apel 100%; kelompok II yaitu biakan *Salmonella typhi* pada media yang mengandung cuka sari apel 50%; kelompok III yaitu biakan *Salmonella typhi* pada media yang mengandung cuka sari apel 25%; kelompok IV yaitu biakan *Salmonella typhi* pada media yang mengandung cuka sari apel 12,5%; kelompok V yaitu biakan *Salmonella typhi* pada media yang mengandung aquades sebagai kontrol negatif;

kelompok VI yaitu biakan *Salmonella typhi* pada media yang mengandung kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif. Selanjutnya dari setiap kelompok diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C kemudian setiap petri dievaluasi zona hambat yang terbentuk dan diukur menggunakan penggaris dalam satuan millimeter.

Persiapan uji dilusi Broth mengikuti prosedur yang sama pada uji Kirby Bauer. Setelah persiapan selesai maka sebanyak 0,5 ml Mueller Hinton Broth dituangkan ke tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 0,5 ml larutan cuka sari apel dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% kemudian suspensi bakteri dimasukkan dengan volume 50 µL dan selanjutnya tabung diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya evaluasi kekeruhan pada setiap tabung. Dari setiap tabung uji kemudian diambil dengan menggunakan ose dan di gores pada agar Mueller Hinton lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 12 jam, jumlah koloni yang tumbuh kemudian dihitung.

Data yang diperoleh dari penelitian yang berupa zona hambat, konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum disajikan dalam bentuk tabel dan diuji statistic dengan menggunakan uji normalitas menggunakan Saphiro-Wilks lalu uji homogenitas dengan uji Levene dilanjutkan dengan uji ANOVA dan selanjutnya dilakukan uji post hoc tukey untuk mengetahui dosis mana yang memberikan perbedaan bermakna.

HASIL

Uji kontak dengan metode difusi Kirby Bauer disajikan secara lengkap pada tabel 1

Tabel 1. Diameter Rata-Rata Zona Hambat Cuka Sari Apel terhadap *Salmonella typhi*

Kelompok Pengulangan	Konsentrasi Cuka Sari Apel				Kontrol	
	100%	50%	25%	12.5%	Kloramfenikol	Akuades
	Diameter Zona Hambat (mm)					
1	40	30	23	13	21	0
2	30	28	21	11	24	0
3	39	36	29	19	24	0
4	32	30	23	13	23	0
Rata-rata	35.25	31	24	14	23	0

*)Resisten <12 mm, intermediet 13-17 mm, sensitif >18 mm

Tabel diatas memperlihatkan bahwa zona hambat minimum pada konsentrasi 12,5% dengan rata-rata zona hambat yang terbentuk adalah 14 mm.

Pada uji dilusi Broth konsentrasi yang digunakan adalah cuka sari apel dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%. Konsentrasi 12.5% tidak digunakan karena daya hambatnya pada uji diameter zona hambat tidak melebihi diameter zona hambat kontrol positif. Hasil Uji KHM dapat dilihat pada tabel 2 dan hasil uji KBM dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 2. Hasil Uji KHM Cuka Sari Apel terhadap *Salmonella typhi* dengan Metode Dilusi Cair

Pengulangan	Konsentrasi Cuka Sari Apel		
	100%	50%	25%
1	Jernih	Jernih	Jernih
2	Jernih	Jernih	Jernih
3	Jernih	Jernih	Jernih
4	Jernih	Jernih	Jernih

*) Jernih : tidak terdapat pertumbuhan bakteri; keruh : terdapat pertumbuhan bakteri

Tabel 3. Hasil Uji KBM Cuka Sari Apel terhadap *Salmonella typhi*

Pengulangan	Konsentrasi Cuka Sari Apel		
	100%	50%	25%
	Jumlah Koloni		
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0

Dari tabel 2 dan 3 memperlihatkan bahwa hasil uji metode dilusi Broth memperlihatkan konsentrasi minimal cuka sari apel yang memiliki daya hambat terhadap *Salmonella typhi* terdapat pada konsentrasi 25%.

Uji normalitas dengan menggunakan uji statistik Shapiro Wilks menunjukkan bahwa semua variabel berdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas dengan menggunakan uji Levene didapatkan varian data homogen ($p > 0,05$) kedua hasil tersebut disajikan dalam tabel 4.

Tabel 4. Penyajian Analisis Statistik Uji Normalitas dan Homogenitas Varian Data Daya Hambat Cuka Sari Apel

	N	Shapiro Wilk test Nilai p	Levene test Nilai p
Cuka sari apel 100%	4	0,275	0,129
Cuka sari apel 50%	4	0,195	
Cuka sari apel 25%	4	0,195	
Cuka sari apel 12,5%	4	0,195	
Kontrol Positif	4	0,161	

Hasil uji ANOVA yang disajikan pada tabel 5 menunjukkan secara statistik terdapat perbedaan bermakna rata-rata zona hambat paling tidak pada dua kelompok dari kelima kelompok yang dibandingkan ($p < 0,05$).

Tabel 5. Penyajian Analisis Statistik Uji ANOVA

Variabel	Mean	SD	p-value
Cuka Sari Apel 100%	35.25	4.99	<0.001*
Cuka Sari Apel 50%	31	3.46	
Cuka Sari Apel 25%	24	3.46	
Cuka Sari Apel 12.5%	14	3.46	
Kontrol Positif	23	1.41	

Hasil uji Post Hoc Tukey yang tersaji pada tabel 6 memperlihatkan bahwa perbedaan rata-rata daya hambat terbaik terdapat pada kelompok perlakuan cuka sari apel 100% ($p < 0,05$)

Tabel 6. Penyajian Analisis Statistik Uji Post Hoc Tukey

Kelompok perlakuan	<i>p-value</i>	Kesimpulan
Cuka Sari Apel 100% - Cuka Sari Apel 50%	0.466	Tidak berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 100% - Cuka Sari Apel 25%	0.003*	Berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 100% - Cuka Sari Apel 12,5%	<0.001*	Berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 100% - Kontrol Positif	0.002*	Berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 50% - Cuka Sari Apel 25%	0.086	Tidak berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 50% - Cuka Sari Apel 12,5%	<0.001*	Berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 50% - Kontrol Positif	0.041*	Berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 25% - Cuka Sari Apel 12,5%	0.009*	Berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 25% - Kontrol Positif	0.994	Tidak berbeda bermakna
Cuka Sari Apel 12,5% - Kontrol Positif	0.019*	Berbeda bermakna

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa pada uji difusi Kirby Bauer menunjukkan zona hambat minimum terbentuk pada konsentrasi 12,5% dan uji dilusi Broth menunjukkan bahwa KHM dan KBM terdapat pada konsentrasi 25%. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0.05$).

Hasil penelitian ini sesuai dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh Ricke SC dkk⁴⁰, Plaper A dkk⁴⁵, dan Thakur B.R. dkk,⁵² yaitu terdapat efek antibakteri dari zat aktif seperti asam asetat, flavonoid dan pektin yang terkandung dalam cuka sari apel melalui beberapa macam mekanisme yang secara teori mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh simpulan bahwa uji zona hambat dimulai pada konsentrasi 12,5%, Uji KHM metode dilusi dimulai pada konsentrasi 25% dan uji KBM dimulai pada konsentrasi 25%. Hasil tersebut telah dibandingkan dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan memperlihatkan hasil yang signifikan secara statistik ($p < 0.05$).

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada yang terhormat Prof. DR. Hj. Ieva B. Akbar, dr., AIF sebagai dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brusck John L. Typhoid Fever. 2014 [diunduh 21 Des 2014]. Tersedia dari: <http://emedicine.medscape.com/article/231135-overview>.
2. Ilargi Martinez-Ballesteros, Bianca Paglietti, Aitor Rementeria, Lorena Laorden, Maria Garcia-Ricobaraza, Jaseba Bikandi et al. Intra- and inter-laboratory evaluation of an improved multiplex-PCR method for detecting and typing of Salmonella. *JIDC*. 2012;6(5):443-445.
3. Menteri Kesehatan RI. Pedoman pengendalian demam tifoid. Jakarta: Menteri Kesehatan RI. 2006: [dikutip 21 Desember 2014]. Tersedia dari: http://www.hukor.depkes.go.id/up_prod_kepmen_kes/KMK%20No.%20364%20ttg%20Pedoman%20Pengendalian%20Demam%20Tifoid.pdf.
4. Sodang Sidabutar, Hindra Irawan Satari. Pilihan terapi empiris demam tifoid pada anak: kloramfenikol atau seftriakson ?. 2010; vol.II.
5. Juwita Silvan, Edi Hartoyo, Lia Yulia. Pola sensitivitas *in vitro* *Salmonella typhi* terhadap antibiotik kloramfenikol, amoksisilin, dan kotrimoksazol di bagian anak rsud ulin Banjarmasin periode mei-september 2012. *Berkala Kedokteran. Banjarmasin* : 2013; 1(9): hlm. 21-29.
6. Apple Cider Vinegar Benefit Online. Come from the nutrition of the apple. [dikutip 2014 Desember 21]. Tersedia dari: <http://www.apple-cider-vinegar-benefits.com/apple-cider-vinegar-health-benefits.html>.
7. Ricke SC. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poult Sci*. New York: 2003; 82: 632-39.
8. Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Solmajer T, Jerala R. Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochem Biophys Res Commun*. London: 2003; 306:530-6.

9. Thakur, B.R., dkk. Chemistry and uses of pectin – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. New York: 1997; 37: hlm. 47-73.