

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



Oleh:

IRNA NUR LAILATUL KHOLISHOH

1713206016

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2021

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar
Sarjana Farmasi (S.Farm) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh:

IRNA NUR LAILATUL KHOLISHOH

1713206016

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2021

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

IRNA NUR LAILATUL KHOLISHOH

1713206016



Telah disetujui oleh:

Pemimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

apt., Choirul Huda, M.Farm
NIDN 07.26.03.85.02

apt., Amalia Eka Putri, M.Farm
NIDN 07.28.12.92.01

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:

IRNA NUR LAILATUL KHOLISHOH

1713206016

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji
Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal: 28 Juli 2021

Ketua Penguji : apt., Alfian Syarifuddi, M.Farm ()

Anggota Penguji : 1. apt., Amalia Eka Putri, M.Farm ()

2. apt., Choirul Huda, M.Farm ()

3. Yunita Diyah Safitri., M.Si ()

Mengetahui,
Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Agustus 2021

Penulis,

Irna Nur Lailatul Kholishoh

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nyalah yang telah memberikan kesehatan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*” tepat pada waktunya.

Adapun salah satu tujuan dari penulisan skripsi yaitu untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung

Pada kesempatan ini, penulis hendak menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan moril maupun materiil sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Ucapan terima kasih ini penulis tujukan kepada:

1. dr. Denok Sri Utami M.H selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. apt. Ary Kristidjono, M.Farm selaku Kemahasiswaan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm selaku Kaprodi S1 Farmasi dan pembimbing akademik STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
4. apt. Choirul Huda, M.Farm selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan ilmu dan pengarahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. apt. Amalia Eka Putri, M.Farm selaku dosen pembimbing II yang juga telah memberikan bimbingan ilmu dan pengarahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak atau ibu dosen program studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah memberikan banyak ilmu, nasehat, dan motivasi kepada penulis.
7. Orang tua, keluarga besar, teman, dan sahabat yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan doa serta selalu membantu baik moril maupun materiil sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

8. Teman-teman seperjuangan program studi S1 Farmasi angkatan 2017 yang selalu bersama, baik suka maupun duka selama 4 tahun ini dan telah membantu memberikan masukan hingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Meskipun telah berusaha menyelesaikan skripsi ini sebaik mungkin, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih ada kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari para pembaca guna menyempurnakan segala kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini berguna bagi para pembaca dan pihak-pihak lain yang berkepentingan.

Tulungagung, Agustus 2021

Penulis,

Irna Nur Lailatul Kholishoh

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUNKENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***

**Irna Nur Lailatul Kholishoh
Prodi S1 Farmasi**

INTISARI

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki potensi tanaman sebagai obat tradisional yang digunakan secara turun temurun. Penggunaan obat tradisional dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat kimia. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal adalah tanaman kenikir. Tanaman yang merupakan familia dari Asteraceae ini, diduga dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit infeksi bakteri. Penyakit pneumonia, luka, dan endocarditis merupakan beberapa jenis infeksi yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri jenis Gram positif dan merupakan bakteri patogen utama pada manusia. Terapi pengobatan terhadap infeksi bakteri, diaplikasikan dengan penggunaan antibiotik yang saat ini telah banyak menimbulkan permasalahan kesehatan seperti resistensi antibiotik. Sehingga diperlukan penelitian yang menunjang perkembangan obat herbal sebagai obat antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fraksi n-heksana, diklorometana, dan aquadestilata dari daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penyarian ekstrak daun kenikir dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, dan difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, diklorometana dan *aquadestilata*. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 10%. Analisis statistik menggunakan *Anova one way test* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh fraksi daun kenikir terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi diklorometana mempunyai aktivitas antibakteri yang teraktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat sebesar $21,67 \text{ mm} \pm 0,764$.

Kata kunci: daun kenikir, *Staphylococcus aureus*, fraksinasi, difusi cakram.

**TEST OF THE ACTIVITY OF KENIKIR LEAF FRACTION
(*Cosmos caudatus* Kunth.) AGAINST *Staphylococcus aureus*
BACTERIA IN VITRO**

**Irna Nur Lailatul Kholishoh
Prodi S1 Farmasi**

ABSTRACT

Indonesia is a tropical country with the potential of plants that have been used for generations as traditional medicine. The use of traditional medicine is considered safer than the use of chemical drugs. One of the plants that can be used as herbal medicine is kenikir plant. This plant, which is a family of Asteraceae, is thought to be used as a traditional medicine for bacterial infections. Pneumonia, wounds, and endocarditis are some types of infections produced by *Staphylococcus aureus* bacteria. *Staphylococcus aureus* is one of the Gram positive bacteria and is the main pathogenic bacteria in humans. Treatment therapy for bacterial infections is applied with the use of antibiotics, which currently have caused many health problems such as antibiotic resistance. So that research is needed to support the development of herbal medicines as antibacterial drugs. The purpose of this study was to determine the activity of n-hexane, dichloromethane, and *aquadestilata* fractions from kenikir leaves against *Staphylococcus aureus* bacteria.

Kenikir leaf extract was extracted using maceration method with 96% ethanol as solvent, and fractionated using n-hexane, dichloromethane and *aquadestilata* as solvents. The antibacterial activity of kenikir leaf fraction was tested using the disc diffusion method with a concentration of 10%. Statistical analysis using *Anova one way test* to determine whether there is an effect of kenikir leaf fraction on the growth of *Staphylococcus aureus*. The results showed that the dichloromethane fraction had the most active antibacterial activity in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria with an average inhibition zone of 21.67 mm \pm 0.764.

Keywords: Kenikir leaf, *Staphylococcus aureus*, fractionation, disc diffusion.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN COVER DALAM.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Makalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth.)	5
2.2 Simplisia.....	10
2.3 Ekstraksi	13
2.4 Bakteri	20
2.5 Antibakteri.....	24
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri.....	26
2.7 Antibiotik Pembanding atau kontrol positif	28
2.8 Hipotesis Penelitian.....	29
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	30
3.1 Bahan.....	30
3.2 Alat.....	30
3.3 Populasi Penelitian.....	30
3.4 Sampel Penelitian.....	30
3.5 Variabel Penelitian.....	30
3.6 Metode Penelitian	31
3.7 Analisa Hasil.....	39

3.8 Jalan Penelitian	41
3.9 Jadwal Penelitian	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
4.1 Determinasi Tanaman	43
4.2 Uji kadar air serbuk simplisia	43
4.3 Ekstraksi daun kenikir	44
4.4 Fraksinasi daun kenikir	45
4.5 Skrining Fitokimia	47
4.6 Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	49
4.7 Uji aktivitas antibakteri	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan Diameter zona hambat	26
Tabel 3.1	Jadwal pelaksanaan penelitian.....	42
Tabel 4.1	Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun kenikir	44
Tabel 4.2	Hasil rendemen ekstrak daun kenikir	45
Tabel 4.3	Hasil rendemen fraksi daun kenikir	46
Tabel 4.4	Hasil skrining fitokimia daun kenikir	47
Tabel 4.5	Hasil uji orientasi aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir	52
Tabel 4.6	Hasil uji <i>Post Hoc</i> ekstrak dengan metode <i>Tukey HSD</i>	53
Tabel 4.7	Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir.....	47
Tabel 4.8	Hasil uji <i>Post Hoc</i> fraksi dengan metode <i>Tukey HSD</i>	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun kenikir	5
Gsmbar 2.2	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Gambar 3.1	Jalan penelitian.....	41
Gambar 4.1	Hasil skrining fitokimia flavonoid	48
Gambar 4.2	Hasil skrining fitokimia saponin.....	48
Gambar 4.3	Hasil skrining fitokimia tanin	49
Gambar 4.4	Hasil uji identifikasi bakteri <i>S. Aureus</i>	50
Gambar 4.5	Hasil zona hambat ekstrak daun kenikir	52
Gambar 4.6	Hasil zona hambat fraksi daun kenikir	57
Gambar 4.7	Diagram rata-rata diameter zona hambat fraksi daun kenikir	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil determinasi daun kenikir	73
Lampiran 2.	Identifikasi bakteri	74
Lampiran 3.	Dokumentasi penelitian	75
Lampiran 4.	Perhitungan pembuatan media pertumbuhan bakteri	79
Lampiran 5.	Pembuatan hasil	79
Lampiran 6.	Hasil orientasi ekstrak daun kenikir	81
Lampiran 7.	Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir	81
Lampiran 8.	Analisis statistika ekstrak daun kenikir	82
Lampiran 9.	Analisis statistika fraksi daun kenikir	85

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dengan potensi tanaman yang secara turun temurun digunakan sebagai obat tradisional (Fitri *et al.*, 2018). Indonesia memiliki sekitar 30.000 jenis tumbuhan yang telah diidentifikasi dan 950 jenis diantaranya diketahui memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat, suplemen makanan, kosmetika, dan farmasi nutrisi (BPOM RI, 2012). Lebih kurang 180 jenis tumbuhan telah digunakan oleh industri di bidang obat tradisional (BPOM RI, 2012). Bangsa Indonesia telah menggunakan berbagai ramuan dari bagian tumbuh-tumbuhan seperti daun, akar, buah, kayu, dan umbi-umbian untuk mendapatkan kesehatan dan menyembuhkan berbagai penyakit (Setyawan, 2019).

Pemanfaatan tumbuhan dalam pengobatan menjadi salah satu warisan budaya bangsa Indonesia berdasarkan pengalaman, pengetahuan, dan keterampilan yang secara turun-temurun diwariskan kepada generasi berikutnya (Lesmana *et al.*, 2018). Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat kimia (Murdopo, 2014). Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat kimia (Murdopo, 2014). Akhir-akhir ini pengobatan tradisional telah menjadi perhatian para pakar kesehatan baik di level nasional maupun internasional. Hal ini dibuktikan dengan diterbitkannya pedoman praktik yang baik dan pedoman penelitian serta pengembangan di bidang pengobatan tradisional oleh WHO (Joan, 2020).

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia (Aniq *et al.*, 2015). Infeksi sering terjadi baik di lingkungan yang didapat masyarakat maupun yang didapat di rumah sakit (Nurrosyidah *et al.*, 2019). Infeksi nosokomial dapat disebabkan oleh mikroorganisme diantaranya adalah *Staphylococcus aureus*,

Pseudomonas aeruginosa, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans* (Lutpiatina *et al.*, 2017). Presentase mikroorganisme yang menyebabkan terjadinya infeksi nosokomial yakni *Staphylococcus aureus* sebesar 34%, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* sebesar 32%, *Candida albicans* sebesar 10% dan *Acinetobacter baumannii* sebesar 7% (Lutpiatina *et al.*, 2017).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri jenis Gram positif dan merupakan bakteri patogen utama pada manusia (Yunita, 2012). Penyakit pneumonia, luka, radang paru-paru, dan endokarditis atau sepsis merupakan beberapa jenis infeksi dan penyakit yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Angelica, 2013). Selain menimbulkan infeksi, *Staphylococcus aureus* juga dapat menimbulkan keracunan makanan yaitu melalui makanan yang tercemar (Dwiyanti and Lutpiatina, 2016).

Terapi pengobatan terhadap infeksi bakteri, diaplikasikan dengan penggunaan antibiotik yang saat ini telah banyak menimbulkan permasalahan kesehatan seperti resistensi antibiotik dan timbulnya efek samping yang berbahaya (Razak *et al.*, 2013). Sehingga diperlukan penelitian yang menunjang perkembangan obat herbal sebagai obat antibakteri (Musnaeni *et al.*, 2018). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah kenikir (Sari *et al.*, 2018)

Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) merupakan tanaman obat yang daunnya sering dikonsumsi sebagai sayuran (Dwiyanti *et al.*, 2014). Tanaman yang merupakan familia dari Asteraceae ini, diduga dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit infeksi atau sebagai antibakteri (Chotiah, 2015). Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun kenikir diketahui berupa flavonoid, polifenol, saponin, tanin, alkaloid dan minyak atsiri (Ningtyas, 2020). Golongan senyawa kimia tersebut diketahui memiliki kontribusi terhadap aktivitas antibakteri (Sari *et al.*, 2018). Pengambilan senyawa metabolit sekunder pada daun kenikir dapat dilakukan dengan cara ekstraksi (Dwiyanti *et al.*, 2014)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Simanjuntak, (2018) diketahui bahwa ekstrak etanol daun kenikir dengan konsentrasi 10%, 20%, dan

30% menghasilkan rata-rata zona hambat antibakteri *Staphylococcus aureus* berturut-turut sebesar 13,31 mm yang termasuk dalam kategori kuat, 15,43 mm yang termasuk dalam kategori kuat, dan 18,55 mm termasuk dalam kategori kuat. Berdasarkan uraian di atas, maka tujuan dilakukan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana pengaruh aktivitas fraksi n-heksan, diklorometana, dan *aquadestilata* pada daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?
- 1.2.2 Fraksi manakah yang memiliki zona hambat paling kuat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui pengaruh aktivitas fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* pada daun kenikir sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
- 1.3.2 Mengetahui fraksi yang memiliki zona hambat paling kuat dari fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* pada daun kenikir sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Bagi masyarakat

Dapat digunakan untuk memberikan informasi kepada masyarakat bahwa daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri.
- 1.4.2 Bagi instansi kesehatan
 - a. Dapat menjadi bahan referensi untuk mengembangkan obat yang berasal dari bahan alam
 - b. Dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut untuk mencari senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.

1.4.3 Bagi instansi pendidikan

Dapat menjadi bahan informasi dan pengembangan untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

1.4.4 Bagi peneliti

Untuk memenuhi tugas akhir sebagai persyaratan untuk kelulusan S1 Farmasi dan dapat digunakan untuk menambah pengetahuan mengenai manfaat bahan alam yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

2.1.1 Morfologi

Kenikir merupakan tumbuhan tingkat tinggi karena memiliki perbedaan yang jelas antara akar, batang, dan daunnya. Tanaman kenikir berasal dari daratan Amerika dengan penyebaran yang sangat luas terutama di daerah-daerah tropis dimana sinar matahari dapat diperoleh sepanjang tahun. Kenikir merupakan tanaman perdu dengan tinggi 75-100 cm dan berbau khas. Batang tegak, segi empat, beralur membujur, bercabang banyak, beruas, serta berwarna hijau keunguan. Daunnya majemuk, bersilang berhadapan, berbagi menyirip, ujung runcing, tepi rata, panjang 15-25 cm, berwarna hijau. Bunga majemuk, berbentuk bongkol, di ujung batang, tangkai Panjang \pm 25 cm, mahkota terdiri dari 8 daun mahkota, panjang \pm 1 cm, merah, benang sari bentuk tabung, kepala sari coklat kehitaman, putik berambut, hijau kekuningan, merah. Buahnya keras, bentuk jarum, ujung berambut, masih muda berwarna hijau setelah tua coklat. biji keras, kecil, bentuk jarum, panjang \pm 1 cm, berwarna hitam. Akar tunggang dan berwarna putih (Hidayat, 2015)



Gambar 2.1 Tanaman Kenikir (Hariana, 2013)

2.1.2 Klasifikasi

Menurut Sharifuldin, (2014) klasifikasi ilmiah tanaman kenikir adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: Cosmos
Spesies	: <i>Cosmos caudatus</i> Kunth.

2.1.3 Khasiat

Kenikir merupakan sayuran tradisional yang sering dikonsumsi mentah sebagai lalapan atau dimasak sebagai sayur. Tumbuhan ini memiliki karakter yang unik, dengan aroma yang menarik sehingga menambah cita rasa pada makanan. Kenikir juga digunakan sebagai penyedap makanan dan obat tradisional. Selain itu, beberapa penelitian gizi dan obat menunjukkan bahwa kenikir kaya akan senyawa bioaktif meliputi fenolat, flavonoid, karbohidrat, protein, mineral, dan vitamin yang dapat meningkatkan nilai gizi (Rahman, 2014).

Daun dan batang muda kenikir segar ataupun kering dapat dimanfaatkan untuk mengobati beberapa masalah kesehatan seperti kurang nafsu makan, lemah jantung, memperbaiki sirkulasi darah, dan memperkuat tulang karena kandungan kalsiumnya yang tinggi serta menghilangkan bau nafas yang kurang sedap. Masyarakat di pedesaan banyak menggunakan tanaman kenikir sebagai penambah nafsu makan, obat lemah lambung, dan penguat tulang (Sari *et al.*, 2018)

Manfaat lain daun kenikir yaitu mengandung zat antioksidan yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas. Radikal bebas dipercaya dapat memicu banyak penyakit karena faktor lingkungan seperti penyakit kanker dan jantung. Pada daun kenikir kandungan flavonoidnya merupakan zat antioksidan paling efektif untuk menangkal radikal bebas. Melalui sebuah penelitian lain yang

mempelajari secara lebih dalam kandungan senyawa antioksidan kenikir, ditemukan 4 senyawa kuersetin yang memang menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, dibandingkan dengan senyawa antioksidan standar, yaitu tokoferol (vitamin E) (Rahman, 2014).

2.1.4 Kandungan kimia

Daun kenikir banyak dikonsumsi masyarakat sebagai sayuran. Secara tradisional daun kenikir juga digunakan sebagai obat penambah nafsu makan, lemah lambung, penguat tulang dan pengusir serangga (Hariana, 2013). Daun dari tanaman kenikir memiliki kandungan kimia antara lain: flavonoid, saponin, dan tanin. Kandungan flavonoid, saponin, dan tanin dalam daun kenikir mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Rasdi, 2010).

2.1.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk golongan fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$, yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Redha, 2010). Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi. Sistem aromatik terkonjugasi mudah rusak pada suhu tinggi. Beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula. Ikatan glikosida akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi. Suhu 50 °C merupakan suhu yang relatif aman untuk mencegah kerusakan pada senyawa metabolit sekunder khususnya flavonoid (Oktavia, 2011).

Flavonoid memiliki sifat kimia seperti senyawa fenolik yaitu agak asam dan dapat larut dalam basa. Flavonoid merupakan senyawa polihidroksi (gugus hidroksil) yang bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, aseton, air, butanol, dimetil sulfoksida, dimetil formamida. Selain itu, dengan adanya gugus glikosida yang terikat pada gugus flavonoid menyebabkan flavonoid cenderung mudah larut dalam air (Redha, 2010).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga terjadi denaturasi protein.

Semakin lipofilik suatu flavonoid, maka kemampuannya dalam merusak dinding sel bakteri semakin kuat. Senyawa flavonoid dari tanaman dapat dimurnikan dengan menggunakan ekstrak alkohol. Bagi manusia, flavonoid berguna sebagai antioksidan, antibakteri, antivirus, antiinflamasi, anti alergi, anti mutagenik, anti klastogenik, antiplatelet, dan lain-lain (Nurjanah, 2011).

2.1.4.2 Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin. Saponin dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa saponin sangat ekstrim, dari sangat pahit hingga sangat manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa nonvolatil dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, namun membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik (Jaya, 2010).

Saponin merupakan senyawa amfifilik. Gugus gula (heksosa) pada saponin dapat larut dalam air tetapi tidak larut dalam alkohol absolut, kloroform, eter, dan pelarut organik non polar lainnya. Sedangkan gugus steroid (sapogenin) pada saponin, biasa juga disebut dengan triterpenoid aglikon dapat larut dalam lemak dan dapat membentuk emulsi dengan minyak dan resin (Bintoro *et al.*, 2017).

Saponin memiliki kegunaan dalam pengobatan, terutama karena sifatnya yang mempengaruhi absorpsi zat aktif secara farmokologi. Beberapa jenis saponin bekerja sebagai antimikroba (Mashroh, 2010). Senyawa saponin akan memberikan hasil yang lebih baik sebagai antibakteri jika menggunakan pelarut polar. Sebagai antimikroba saponin bekerja dengan cara merusak membran plasma dari bakteri. Selain itu saponin juga akan membentuk kompleks dengan protein dan dinding sel sehingga berakibat terjadinya denaturasi protein dan rusaknya dinding sel (Jaya, 2010).

2.1.4.3 Tanin

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol dan dapat membentuk kompleks dengan protein membentuk kopolimer yang tidak larut

dalam air. Senyawa tanin banyak ditemukan pada daun, buah yang belum matang. Tanin mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Senyawa tanin merupakan senyawa yang termasuk golongan senyawa flavonoid, karena dilihat dari strukturnya yang memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon. Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi (Hayati *et al.*, 2010).

Sifat kimia dari senyawa tanin yaitu memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Semua jenis tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya yang besar, akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas, selain itu tanin juga akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu 98,89 °C-101,67 °C. Tanin dapat dihidrolisa oleh asam, basa dan enzim. Ikatan kimia yang terjadi antara tanin-protein atau polimer-polimer lainnya terdiri dari ikatan hidrogen, ikatan ionik dan ikatan kovalen (Purwitasari, 2014)

Senyawa tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh. Tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin tersebut. Tanin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat. Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka. Tanin mempunyai sifat atau daya bakterostatik, fungistatik dan merupakan racun (Rahmawati, 2015). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri itu sendiri. Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba atau aktivitas enzim (Purwitasari, 2014). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan target penyerangan tanin terhadap kerusakan polipeptida yang terdapat pada dinding sel bakteri sehingga mengganggu sintesa peptidoglikan yang menjadikan pembentukan dinding sel tidak sempurna dan mengakibatkan

inaktivasi sel bakteri pada sel inang (Fitriah *et al.*, 2017)

2.2 Simplisia

2.2.1 Definisi simplisia

Simplisia atau herbal yaitu bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60 °C (Kemenkes RI, 2014). Istilah simplisia dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk (Gunawan and Mulyani, 2010)

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral (Fitri *et al.*, 2018)

2.2.2 Jenis simplisia

2.2.2.1 Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya (Melinda, 2014).

2.2.2.2 Simplisia hewani

Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Contohnya adalah minyak ikan dan madu (Gunawan and Mulyani, 2010)

2.2.2.3 Simplisia mineral

Simplisia mineral merupakan simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau yang telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Contohnya serbuk seng dan serbuk tembaga (Gunawan and Mulyani, 2010)

2.2.3 Syarat mutu simplisia

- 2.2.3.1 Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.
- 2.2.3.2 Kadar air, harus kurang dari 10%.
- 2.2.3.3 Adanya keseragaman bobot.
- 2.2.3.4 Bahan tambahan, tidak boleh mengandung pengawet, pengharum, dan pewarna. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (Khoirani, 2013).

2.2.4 Proses pembuatan simplisia

2.2.4.1 Pengumpulan bahan baku

Senyawa aktif yang terdapat pada suatu simplisia memiliki kadar yang berbeda- beda, hal ini antara lain tergantung pada:

1. Bagian tanaman yang digunakan
2. Umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen
3. Waktu panen
4. Lingkungan tempat tumbuh (Kemenkes RI, 2014)

2.2.4.2 Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar (Gunawan and Mulyani, 2010). Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran- kotoran atau bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah yang mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dan tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Melinda, 2014).

2.2.4.3 Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih misalnya dari mata air air, sumur, atau air PAM. Simplisia yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air mengalir, pencucian dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin. Pencucian sayur-sayuran satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba awal, jika dilakukan pencucian sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal. Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari semua mikroba karena air pencucian yang

digunakan biasanya juga mengandung sejumlah mikroba (Melinda, 2014).

Cara sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Misalnya jika air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba. Bakteri yang umum terdapat dalam air adalah *Pseudomonas*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, dan *Escherichia*. Pada simplisia akar, batang, atau buah dapat pula dilakukan pengupasan pada kulit luarnya untuk mengurangi jumlah mikroba awal, karena sebagian besar mikroba biasanya terdapat pada permukaan bahan simplisia. Bahan yang telah dikupas tersebut mungkin tidak memerlukan pencucian jika cara pengupasannya dilakukan dengan tepat dan bersih (Melinda, 2014).

2.2.4.4 Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami perajangan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan maka semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi, irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan (Melinda, 2014). Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Theodora *et al.*, 2019)

2.2.4.5 Pengeringan

Proses pengeringan simplisia, terutama bertujuan sebagai berikut:

1. Menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri.
2. Menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif.
3. Memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya) (Gunawan dan Mulyani, 2010).

Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel

bila kadar airnya dapat mencapai kurang dan 10%. Hal-hal yang perlu diperhatikan dari proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi 60 °C, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30 °C sampai 45 °C. Terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan dengan menggunakan instrumen (Melinda, 2014).

2.2.4.6 Sortasi kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong atau bahan yang rusak (Gunawan and Mulyani, 2010). Sortasi setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Melinda, 2014).

2.2.4.7 Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan lainnya (Gunawan and Mulyani, 2010). Untuk persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus inert, artinya tidak bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen, dan uap air (Melinda, 2014).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Definisi ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sesuai kepolaritasannya sehingga terpisah dari bahannya. Diketahuinya senyawa aktif yang terkandung pada simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut yang digunakan dan cara ekstraksi yang tepat (BPOM RI, 2012). Hasil dari ekstraksi

disebut dengan ekstrak. Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Sari, 2018).

2.3.2 Jenis ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan dengan cara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan utama obat sesedikit mungkin terkena panas (Dirjen POM, 2014).

Berdasarkan sifatnya ekstrak dapat dibagi menjadi empat, yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstrak encer (*Extractum tenue*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu yang dapat dituang dan mudah mengalir. Ekstrak kental (*Extractum spissum*) merupakan sediaan kental yang apabila dalam keadaan dingin dan kecil kemungkinan bisa dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%. Tingginya kandungan air menyebabkan ketidakstabilan sediaan obat karena cemaran bakteri. Ekstrak kering (*Extractum siccum*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dihancurkan dengan tangan, sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%. Ekstrak cair (*Extractum fluidum*) merupakan sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat (Dirjen POM, 2014).

2.3.3 Metode ekstraksi

2.3.3.1 Ekstraksi cara dingin

Proses ekstraksi secara dingin pada prinsipnya tidak memerlukan

pemanasan. Hal ini diperuntukkan untuk bahan alam yang mengandung komponen kimia yang tidak tahan pemanasan dan bahan alam yang mempunyai tekstur yang lunak, yang termasuk ekstraksi secara dingin adalah sebagai berikut:

1. Metode Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan melalui perendaman serbuk bahan dalam larutan pengeksrak. Metode ini digunakan untuk mengekstrak zat aktif yang mudah larut dalam cairan pengeksrak, tidak mengembang dalam pengeksrak, serta tidak mengandung benzoin. Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya mudah ditemukan dan pengerjaannya sederhana (Sidabutar, 2018).

Menurut Dirjen POM, (2014) ada beberapa variasi metode maserasi, antara lain digesti, maserasi melalui pengadukan kontinyu, remaserasi, maserasi melingkar, dan maserasi melingkar bertingkat. Digesti merupakan maserasi menggunakan pemanasan lemah (40-50 °C). Maserasi pengadukan kontinyu merupakan maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus-menerus, misalnya menggunakan shaker, sehingga dapat mengurangi waktu hingga menjadi 6-24 jam. Remaserasi merupakan maserasi yang dilakukan beberapa kali. Maserasi melingkar merupakan maserasi yang cairan pengeksrak selalu bergerak dan menyebar. Maserasi melingkar bertingkat merupakan maserasi yang bertujuan untuk mendapatkan pengeksrak yang sempurna.

Lama maserasi memengaruhi kualitas ekstrak yang akan diteliti. Lama maserasi pada umumnya adalah 4-10 hari. Menurut Dirjen POM, (2014) maserasi akan lebih efektif jika dilakukan proses pengadukan secara berkala karena keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Melalui usaha ini diperoleh suatu keseimbangan konsentrasi bahan ekstraktif yang lebih cepat masuk ke dalam cairan pengeksrak.

2. Metode Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia dengan jalan melewati pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu perkolator, atau ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna umumnya dilakukan pada suhu kamar. Tujuan dari perkolasi adalah upaya zat berkhasiat tertarik

seluruhnya dan biasanya dilakukan untuk zat berkhasiat yang tahan ataupun tidak tahan pemanasan (Dirjen POM, 2014).

Prinsip dari perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan diatasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (Dirjen POM, 2014).

Keuntungan dari metode perkolasi yaitu tidak terjadi kejenuhan dan pengaliran meningkatkan difusi dengan dialiri cairan penyari sehingga zat seperti terdorong untuk keluar dari sel. Sedangkan kerugian metode perkolasi yaitun cairan penyari lebih banyak dan resiko cemaran mikroba untuk penyari air karena dilakukan secara terbuka (Setyawan, 2019).

2.3.3.2 Ekstraksi cara panas

Ekstraksi secara panas dilakukan untuk mengekstraksi komponen kimia yang tahan terhadap pemanasan, seperti glikosida, saponin, dan minyak-minyak menguap yang mempunyai titik didih yang tinggi, selain itu pemanasan juga diperuntukkan untuk membuka pori-pori sel simplisia sehingga pelarut organik mudah masuk ke dalam sel untuk melarutkan komponen kimia. Metode ekstraksi yang termasuk cara panas yaitu:

1. Sokletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya merupakan ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan, kemudian uap yang dihasilkan dialirkan pada pipa dan akan diembunkan oleh pendingin balik. Cairan penyari turun untuk mencari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan turun sampai mengenai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi sirkulasi secara terus menerus. Proses akan berlangsung secara kontinyu sampai zat aktif yang terdapat pada simplisia tersari secara menyeluruh (Dirjen POM, 2014).

2. Refluks

Ekstraksi metode refluks biasa disebut dengan ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin balik, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap dan uap yang dihasilkan akan diembunkan dengan pendingin balik dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya (Dirjen POM, 2014).

3. Infudasi

Infundasi merupakan metode penyarian dengan cara menyari simplisia dalam air pada suhu 90 °C selama 15 menit. Infundasi merupakan penyarian yang umum dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan metode ini menghasilkan sari atau ekstrak yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari (Mayang dan Santoso, 2020).

4. Digesti

Metode ekstraksi digesti merupakan suatu maserasi kinetik (maserasi dengan pengadukan secara kontinyu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu umumnya dilakukan pada suhu sekitar 40 °C-50 °C (Nudiasari *et al.*, 2019)

5. Dekok

Metode ekstraksi dekok merupakan suatu ekstraksi infus yang dilakukan pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai mencapai titik didih air, yaitu pada suhu 90 °C -100 °C dengan waktu selama 30 menit

6. Destilasi

Destilasi atau penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang memiliki titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Menghindari kerusakan dari bahan dan menjaga kualitas senyawa yang akan diekstrak maka dilakukan proses ekstraksi dengan penyulingan.

2.3.4 Metode fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan fraksi yang terkandung dalam

suatu larutan atau suspensi yang mempunyai karakteristik berbeda. Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair yang mana proses pemisahan didasarkan atas perbedaan distribusi komponen yang dipisahkan antara dua fase cair. Proses pemisahan tersebut dilakukan di dalam dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Hal tersebut memungkinkan karena adanya sifat senyawa yang dapat terlarut dalam air maupun senyawa yang dapat larut dalam pelarut organik. Fraksinasi dilakukan secara berkesinambungan dengan dimulai dari pelarut non polar, semi polar, dan pelarut polar. Akhir dari fraksinasi akan didapatkan fraksi yang mengandung senyawa yang secara berurutan dari senyawa non polar, semi polar, dan polar (Kandoli *et al.*, 2016).

2.3.5 Pelarut ekstraksi

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan suatu zat lain. Persyaratan pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi. Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang diambil (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemilihan pelarut dipengaruhi oleh faktor jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi kemudahan dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari *et al.*, 2011). Beberapa pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

2.3.5.1 *Aquadestilata*

Air merupakan pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air dapat melarutkan flavonoid yang tidak memiliki aktivitas signifikan terhadap antimikroba dan senyawa fenolat yang larut dalam air yang mempunyai aktivitas antioksidan (Tiwari *et al.*, 2011).

2.3.5.2 Etanol

Etanol (C₂H₅OH) memiliki nama lain yaitu etil alkohol, hidroksietana, alkohol murni, dan alkohol absolut. Etanol merupakan molekul yang sangat polar

karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan keelektronegatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil (C_2H_5) pada etanol bersifat non polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non polar. Oleh karena itu, etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non polar. Etanol memiliki berat molekul 46,04 gr/mol, massa jenis 0,789 gr/ cm³, titik didih 78,4 °C, viskositas pada 20 °C 1,200 cP, momen dipol sebesar 1,69 D (gas), konstanta dielektrik 24,3 pada 20 °C, dan tidak berwarna (Karimela *et al.*, 2017).

Pertimbangan dalam penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena lebih selektif dalam menyari suatu senyawa, kapang dan bakteri yang sulit tumbuh dalam etanol dengan konsentrasi lebih dari 20%, serta tidak beracun. Pelarut etanol 96% adalah senyawa polar yang mudah menguap sehingga baik digunakan sebagai pelarut ekstrak. Etanol dapat digunakan sebagai pelarut untuk melarutkan senyawa alkaloid, minyak atsiri, glikosida, antraknon, flavonoid, tannin, saponin, steroid, dan kurkumin. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif etanol 96% menunjukkan hasil bahwa etanol 96% tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga zona hambat yang dihasilkan bukan disebabkan karena adanya etanol 96% (Sembiring *et al.*, 2016).

2.3.5.3 N-heksana

N-heksana adalah senyawa hidrokarbon alkana yang memiliki rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama n-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$). N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa- senyawa bersifat nonpolar dan volatil. N-heksana memiliki bau yang khas yang dapat menyebabkan pingsan apabila menghirupnya. Titik didih dari heksana pada tekanan 760 mmHg adalah sebesar 66-71 °C (Mariana *et al.*, 2013).

2.3.5.4 Diklorometana

Diklorometana (DCM) atau dengan nama lain metilena klorida merupakan suatu senyawa organik yang memiliki rumus kimia CH_2Cl_2 . Diklorometana merupakan senyawa yang tidak berwarna dan mempunyai aroma manis yang banyak digunakan sebagai pelarut. Diklorometana tidak dapat larut sempurna

dalam air, namun dapat larut dengan pelarut organik lainnya (Mariana *et al.*, 2013).

2.4 Bakteri

2.4.1 Definisi bakteri

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 ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Irianto, 2014).

Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dan tersebar luas dibandingkan makhluk hidup lainnya. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di gurun pasir, salju atau es, hingga lautan. Bakteri yang keberadaannya banyak sekali ini, memungkinkan untuk menjadi salah satu penyebab penyakit pada manusia (Radji, 2011). Bakteri yang menyebabkan penyakit pada manusia adalah bakteri patogen. Bakteri pathogen yang menyebabkan penyakit infeksi pada manusia contohnya adalah *Staphylococcus aureus*.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah:

1. Sumber energi, yang diperlukan untuk reaksi-reaksi sintesis yang membutuhkan energi dalam pertumbuhan dan restorasi, pemeliharaan keseimbangan cairan, gerak dan sebagainya.
2. Sumber karbon.
3. Sumber nitrogen, sebagian besar untuk sintesis protein dan asam-asam nukleat.
4. Sumber garam-garam anorganik, khususnya folat dan sulfat sebagai anion; dan potasium, sodium magnesium, kalsium, besi, mangan sebagai kation.
5. Bakteri-bakteri tertentu membutuhkan faktor-faktor tumbuh tambahan, disebut juga vitamin bakteri, dalam jumlah sedikit untuk sintesis metabolic esensial (Irianto, 2014).

2.4.2 Golongan bakteri

Untuk memahami beberapa kelompok organisme, diperlukan klasifikasi. Tes biokimia, pewarnaan gram, merupakan kriteria yang efektif untuk klasifikasi.

Hasil pewarnaan mencerminkan perbedaan dasar dan kompleks pada sel bakteri (struktur dinding sel), sehingga dapat membagi bakteri menjadi 2 kelompok, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Irianto, 2014).

2.4.2.1 Bakteri Gram negatif

1. Bakteri Gram Negatif Berbentuk Batang (*Enterobacteriaceae*).

Bakteri Gram negatif berbentuk batang habitatnya adalah usus manusia dan binatang. *Enterobacteriaceae* meliputi *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*. Beberapa organisme seperti *Escherichia coli* merupakan flora normal dan dapat menyebabkan penyakit, sedangkan yang lain seperti *salmonella* dan *shigella* merupakan patogen yang umum bagi manusia.

2. *Pseudomonas*, *Acinobacter* dan Bakteri Gram Negatif Lain.

Pseudomonas aeruginosa bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh dan merupakan patogen nosokomial yang penting.

3. *Vibrio campylobacter*, *Helicobacter*, dan Bakteri lain yang berhubungan.

Mikroorganisme ini merupakan spesies berbentuk batang Gram negatif yang tersebar luas di alam. *Vibrio* ditemukan didaerah perairan dan permukaan air. *Aeromonas* banyak ditemukan di air segar dan terkadang pada hewan berdarah dingin.

4. *Haemophilus*, *Bordetella*, dan *Brucella*

Gram negatif *Hemophilis influenza* tipe B merupakan patogen bagi manusia yang penting.

5. *Yersinia*, *Franscisella*, dan *Pasteurella*.

Berbentuk batang pendek Gram-negatif yang pleomorfik. Organisme ini bersifat katalase positif, oksidase positif, dan merupakan bakteri anaerob fakultatif

2.4.2.2 Bakteri Gram positif

1. Bakteri Gram positif pembentuk spora

Bakteri Gram positif pembentuk spora yaitu spesies *Bacillus* dan *Clostridium*. Kedua spesies ini terdapat dimana-mana, membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Spesies *Basillus*

bersifat aerob, sedangkan *Clostridium* bersifat anaerob obligat.

2. Bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora

Bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora yaitu spesies *Corynebacterium*, *Listeria*, *Propionibacterium*, *Actinomyces*. Beberapa anggota genus *Corynebacterium* dan kelompok *Propionibacterium* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia.

3. *Staphylococcus*

Staphylococcus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun bergerombol yang tidak teratur seperti anggur. Beberapa spesies merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lendir, yang lain menyebabkan supurasi dan bahkan septikemia fatal. *Staphylococcus* yang patogen sering menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler. Tipe *Staphylococcus* yang berkaitan dengan medis adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*.

4. *Streptococcus*

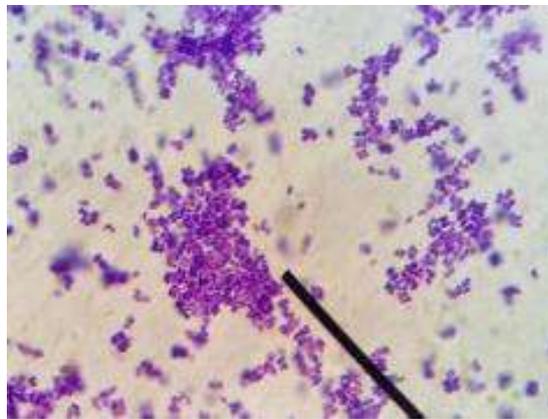
Streptococcus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat yang mempunyai pasangan atau rantai pada pertumbuhannya. Beberapa *streptococcus* merupakan flora normal manusia tetapi lainnya bisa bersifat patogen pada manusia. Ada 20 spesies diantaranya: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, dan jenis *Enterococcus* (Irianto, 2014).

2.4.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.4.3.1 Morfologi

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri fakultatif anaerob. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20 °C -25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Ningtyas, 2020)

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Antigen ini merupakan kompleks peptidoglikan asam teikhoat dan dapat menghambat fagositosis dan bagian ini yang diserang bakteriofaga. Selain itu bakteri *Staphylococcus aureus* juga bersifat lisogenik yaitu mengandung faga yang tidak berpengaruh pada dirinya sendiri, tetapi menyebabkan lisis pada anggota dari spesies sama. *Staphylococcus aureus* merupakan kuman patogen yang bersifat invasif, penyebab hemolisis, membentuk koagulase, mencairkan gelatin, membentuk pigmen kuning emas. *Staphylococcus aureus* umumnya dapat memfermentasi manitol dan menghancurkan sel darah merah. Setiap jaringan ataupun organ tubuh dapat terinfeksi dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan lokal, nekrosis, dan pembentukan abses. Pada penyebaran ke bagian tubuh lain melewati pembuluh getah bening dan pembuluh darah. Infeksinya dapat berupa furunkel yang ringan pada kulit sampai berupa suatu piemia yang fatal, serta keracunan makanan, dan toxic shock syndrome (Jannah, 2018)



Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Jannah, 2018)

2.4.3.2 Klasifikasi

Menurut Syahrurrahman, (2010) klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Protozoa
 Divisio : Schyzomycetes
 Kelas : Schyzomycetes
 Ordo : Eubacterialos

Famil : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Species : *Staphylococcus aureus*

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, memusnahkan mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Radji, 2011).

2.5.1 Sifat-sifat antibakteri

Berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antibakteri mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan mikroorganisme yaitu:

2.5.1.1 Bakteriostatik

Bakteriostatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakteriostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.

2.5.1.2 Bakteriosidal

Bakteriosidal memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.

2.5.1.3 Bakteriolitik

Bakteriolitik menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antimikrobia. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase

logaritmik, jumlah sel total maupun jumlah sel hidup menurun (Radji, 2011).

2.5.2 Mekanisme kerja antibakteri

Menurut (Radji, 2011), berdasarkan mekanisme kerjanya dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme, antibakteri digolongkan sebagai berikut:

2.5.2.1 Antibakteri yang dapat menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Oleh karena itu, zat yang dapat merusak dinding sel akan melisiskan dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel, yang pada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut.

2.5.2.2 Antibakteri yang dapat mengganggu atau merusak membran sel

Membran sel mempunyai peranan penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel. Membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu membran sel sehingga dapat mempengaruhi kehidupan sel bakteri.

2.5.2.3 Antibakteri yang dapat mengganggu biosintesis asam nukleat

Proses replikasi DNA di dalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri.

2.5.2.4 Antibakteri yang menghambat sintesis protein

Sintesis protein merupakan suatu rangkaian proses yang terdiri atas proses transkripsi (yaitu DNA ditranskripsi menjadi mRNA) dan proses translasi (yaitu mRNA ditranslasi menjadi protein). Antibakteri dapat menghambat proses-proses tersebut akan menghambat sintesis protein.

Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBM terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9% pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi bunuh minimal (KBM). Suatu

zat aktif dikatakan memiliki potensi yang tinggi sebagai antibakteri jika pada konsentrasi rendah memiliki daya hambat yang besar. Kemampuan suatu antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Sari *et al.*, 2018)

Diameter zona hambat	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
0-5 mm	Lemah

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Pada uji antibakteri, yang akan diukur adalah respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Salah satu manfaat dari uji antibakteri adalah diperolehnya satu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Penentuan setiap kepekaan bakteri terhadap suatu obat adalah dengan menentukan kadar obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *in vitro*. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut:

2.6.1 Metode difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antibakteri dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antibakteri pada waktu tertentu masa inkubasi. Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

2.6.1.1 Cara cakram (*disc*)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antibakteri. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi bakteri uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari bakteri uji. Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37 °C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya

daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Nurhayati *et al.*, 2020).

Metode *paper disc* atau cakram kertas ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram kertas biasanya sulit untuk diinterpretasikan. Selain itu, metode cakram kertas ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.6.1.2 Cara parit (*ditch*)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.6.1.3 Cara sumuran (*hole/cup*)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.6.2 Metode dilusi

Metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba didalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu:

2.6.2.1 Pengenceran serial dalam tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai kadar hambat minimal (KHM) (Fatisa, 2013).

2.6.2.2 Penipisan lempeng agar

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan kuman kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM) (Fatisa, 2013).

2.7 Antibiotik Pembanding atau Kontrol Positif

Antibakteri yang digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif adalah kloramfenikol. Kloramfenikol digunakan karena mempunyai mekanisme kerja yang sama seperti senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun kenikir. Kloramfenikol merupakan suatu golongan antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan spektrum kerja yang luas. Kloramfenikol efektif terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Antibiotik ini bekerja dengan menghambat proses sintesis protein yang terjadi pada sel bakteri *Staphylococcus aureus*. Kloramfenikol akan berikatan secara reversibel dengan unit ribosom 50S sehingga mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom (Sari *et al.*, 2018). Karakteristik kloramfenikol menurut (Dirjen POM, 2014) adalah sebagai berikut:

Nama Umum	: Kloramfenikol
Nama lain	: Chloramphenicolum
Nama kimia	: D(-) treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol
BM	: 323,13
Suhu lebur	: 149 °C-153 °C
Pemerian	: Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang;

putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.

Kelarutan : Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam diklorometana.

Persyaratan : Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

2.8 Hipotesis Penelitian

Fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* daun kenikir mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksi yang memiliki zona hambat paling kuat adalah fraksi diklorometana pada daun kenikir sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Sari *et al.*, 2018)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun kenikir, etanol 96%, bakteri *Staphylococcus aureus*, antibiotik kloramfenikol, *nutrient agar*, *nutrient broth*, MSA, NaCl, n-heksana, diklorometana, *aquadestilata*, asam klorida (HCl) pekat, asam sulfat (H₂SO₄), serbuk Mg, dan FeCl₃.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: botol maserasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu erlenmeyer, cawan penguap, corong kaca, labu evaporator, aluminium foil, autoklaf, cawan petri, jarum Ose, batang L, pinset, kaca arloji, pipet, blender, spatula, gelas ukur, mikropipet, dan tip, lampu spiritus, kapas steril, vortex, hot plate, oven, lemari pendingin, Laminar Air Flow (LAF), inkubator, cakram kosong steril, jangka sorong, dan alat-alat gelas standar laboratorium.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun kenikir yang didapatkan dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk simplisia daun kenikir sebanyak 500 g yang diperoleh dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* daun kenikir yang akan dilakukan

uji aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5.2 Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5.3 Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* daun kenikir terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Determinasi tanaman

Sampel tanaman daun kenikir dilakukan determinasi di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman berdasarkan klasifikasi ilmiah serta menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan pada uji aktivitas antibakteri (Priamsari dan Rokhana, 2020).

3.6.2 Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia daun kenikir dimulai dengan mengambil daun kenikir dengan cara memetik daunnya secara langsung sebanyak 5 kg. Kegiatan panen dimulai pada minggu ke-8 setelah tanam berdasarkan tingkat kesiapan tanaman untuk dipanen. Daun kenikir diambil pada bagian daun tua atau muda secara acak yang masih segar dan tidak berpenyakit (Revianto *et al.*, 2016). Daun kenikir yang telah dipetik kemudian disortasi basah yang bertujuan untuk membersihkan daun dari kotoran dan benda asing lainnya.

Tahap selanjutnya dilakukan pencucian sebanyak tiga kali, satu kali pencucian dapat menghilangkan sebanyak 25% dari jumlah mikroba, bila proses pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya sekitar 42% dari jumlah total mikroba awal. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih dari sumur secara mengalir untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat kemudian ditiriskan. Proses selanjutnya yaitu

melakukan pengeringan simplisia dengan cara diangin-anginkan atau tidak terkena cahaya matahari secara langsung pada suhu kamar. Simplisia yang telah kering kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan simplisia dari kotoran atau bahan asing lainnya yang masih menempel. Simplisia yang telah mengering kemudian dihaluskan menggunakan blender sampai simplisia daun kenikir menjadi serbuk halus. Selanjutnya, serbuk simplisia daun kenikir dilakukan pengayakan dengan ayakan nomer mesh 80. Pengayakan dilakukan untuk mempermudah proses ekstraksi karena semakin halus ukuran serbuk simplisia maka permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari akan semakin luas. Selanjutnya simplisia disimpan dalam wadah yang terlindung dari sinar matahari dan ditempat yang kering (Handayani *et al.*, 2020).

3.6.3 Uji kadar air serbuk simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan cara menimbang 10 g serbuk simplisia daun kenikir. Kemudian mengeringkan serbuk simplisia daun kenikir pada suhu 105 °C selama 5 jam. Persentase kadar air serbuk simplisia dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

Persyaratan kadar air pada simplisia adalah tidak lebih dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam serbuk simplisia kurang dari 10% dan dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM RI, 2014).

3.6.4 Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir

Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia daun kenikir sebanyak 500 g. Perbandingan antara bahan dengan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi yaitu 1:7,5 (Ratna *et al.*, 2016). Serbuk simplisia yang telah ditimbang kemudian dilakukan proses maserasi dengan cara memasukkan serbuk simplisia kedalam botol maserasi, dan menambahkan pelarut etanol 96%. sebanyak 3.750 ml, selanjutnya diaduk hingga homogen. Serbuk dalam botol maserasi kemudian ditutup dan disimpan dalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama selama 5 hari.

Selama perendaman sesekali dilakukan pengadukan selama 15 menit. Filtrat kemudian disaring menggunakan kain mori rangkap dua. Residu yang diperoleh selanjutnya dilakukan proses remaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan jumlah yang sama yaitu sebanyak 3.750 ml. Filtrat yang diperoleh digabungkan, kemudian diuapkan dengan oven pada suhu 70 °C untuk mendapatkan ekstrak daun kenikir. Proses pemekatan dilakukan pada suhu 70 °C karena pada suhu tersebut relatif aman untuk mencegah terjadinya kerusakan pada senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan tanin (Oktavia, 2011).

3.6.5 Pemeriksaan Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak merupakan salah satu parameter untuk menilai mutu dari suatu ekstrak. Rendemen ekstrak adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Persentase rendemen ekstrak daun kenikir dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

Hasil perhitungan rendemen ditunjukkan dengan satuan (%), semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak nilai ekstrak yang dihasilkan. Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan (Wijaya *et al.*, 2018).

3.6.6 Fraksinasi ekstrak etanol daun kenikir

3.6.6.1 Fraksinasi n-heksana daun kenikir

Fraksinasi n-heksana daun kenikir dilakukan dengan cara menimbang ekstrak etanol daun kenikir sebanyak 5 gram, kemudian melarutkan ekstrak dalam *aquadestilata* sebanyak 75 ml. Larutan sampel kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan 25 ml n-heksana sebagai pelarut non polar, larutan dikocok beberapa kali diselingi dengan membuka tutup corong untuk mengeluarkan udara. Larutan didiamkan beberapa menit hingga tampak terjadi pemisahan menjadi dua fase, kemudian fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi bagian bawah yaitu fraksi *aquadestilata*, sehingga didapat fraksi n-heksana.

Masing-masing fraksi ditampung di beaker glass. Penyarian di ulang sebanyak 3 kali dengan penambahan jumlah pelarut yang sama. Fraksi yang diperoleh dipekatkan dalam oven dengan suhu 70 °C sampai didapat fraksi n-heksan yang kental (Novianti, 2020).

3.6.6.2 Fraksinasi diklorometana daun kenikir

Fraksinasi diklorometana daun kenikir dilakukan dengan cara fraksinasi dari residu n-heksana yang difraksinasi kembali dengan menggunakan pelarut diklorometana sebanyak 25 ml sebagai pelarut semi polar. Larutan dimasukkan corong pisah, kemudian dikocok dan dipisahkan antara fraksi *aquadestilata* dengan fraksi diklorometana. Penyarian dilakukan 3 kali dengan penambahan jumlah pelarut yang sama. Fraksi yang diperoleh dipekatkan dalam oven pada suhu 70 °C sampai didapat fraksi diklorometana yang kental (Handayani *et al.*, 2020)

3.6.6.3 Fraksinasi *aquadestilata* daun kenikir

Fraksi *aquadestilata* daun kenikir dibuat dengan cara fraksinasi dari residu diklorometana, kemudian didapat fraksi *aquadestilata*. Fraksi yang diperoleh dipekatkan dalam oven pada suhu 70 °C sampai didapat fraksi *aquadestilata* yang kental (Novianti, 2020).

3.6.7 Skrining fitokimia

3.6.7.1 Identifikasi senyawa flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara menimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 0,5 g dan mencampurkan dengan 3 ml etanol 96%, selanjutnya larutan dikocok sampai homogen, kemudian dipanaskan dan dikocok kembali. Selanjutnya menyaring larutan. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambahkan serbuk Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol. Perubahan warna yang terjadi pada identifikasi flavonoid tersebut disebabkan karena flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl (Latifah, 2015).

3.6.7.2 Identifikasi senyawa saponin

Menimbang ekstrak daun kenikir sebanyak kurang lebih 0,5 g, kemudian

mendidihkan dengan 10 ml *aquadestilata* dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Latifah, 2015).

3.6.7.3 Identifikasi senyawa tanin

Menimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 2 g dan menambahkan etanol sampai ekstrak terendam secara keseluruhan. Kemudian memindahkan sebanyak 1 ml larutan sampel kedalam tabung reaksi dan menambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau. Pembentukan warna hitam kebiruan atau hijau disebabkan karena logam Fe dan tanin membentuk senyawa kompleks. Senyawa kompleks tersebut terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Latifah, 2015).

3.6.8 Pembuatan Media

3.6.8.1 Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Atlas, 2010).

3.6.8.2 Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)

Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB) dilakukan dengan cara menimbang serbuk *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 0,08 g. Kemudian serbuk NB dilarutkan dalam 10 ml *aquadestilata* dan dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya tercampur secara homogen. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Selanjutnya media dituangkan ke dalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

3.6.8.3 Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan media *nutrient agar* dilakukan dengan cara menimbang serbuk *nutrient agar* sebanyak 0,3 g dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Selanjutnya *nutrient agar* ditambahkan dengan *aquadestilata* sebanyak 15 ml dan dipanaskan di atas api sampai serbuk agar benar-benar larut. Selanjutnya media agar disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Temperatur dibiarkan turun sampai 45 °C. Media agar siap dituangkan pada plate atau cawan petri (Maryono, 2017). Cawan petri berdiameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 ml, sedangkan cawan berdiameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 ml (Atlas, 2010).

3.6.8.4 Pembuatan Media *Manitol Salt Agar* (MSA)

Pembuatan Media MSA dilakukan dengan menimbang serbuk MSA sebanyak 1,08 g. Serbuk MSA kemudian dilarutkan dalam 10 ml *aquadestilata* dan dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut sempurna. Selanjutnya media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Selanjutnya media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan sampai mengeras (Atlas, 2010).

3.6.9 Pembuatan Larutan Uji

3.6.9.1 Pembuatan larutan uji orientasi ekstrak daun kenikir

Larutan uji ekstrak daun kenikir dibuat dengan seri konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Larutan uji ekstrak daun kenikir dibuat dengan cara mengencerkan ekstrak dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan pelarut ekstraksi yaitu etanol 96%. Larutan uji yang dibuat dalam penelitian ini yaitu sebanyak 10 ml. Konsentrasi 5% dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 0,5 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96%, konsentrasi 10% dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96%, konsentrasi 15% dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 1,5 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 96%

3.6.9.2 Pembuatan larutan uji fraksi daun kenikir

Larutan uji fraksi daun kenikir masing-masing dibuat dengan konsentrasi 10%. Pembuatan larutan uji fraksi daun kenikir dilakukan dengan cara mengencerkan fraksi daun kenikir dengan masing-masing pelarut. Hal ini

dilakukan agar masing-masing fraksi daun kenikir dapat larut secara sempurna (Laksono, 2019). Larutan uji yang dibuat dalam penelitian ini yaitu sebanyak 10 ml. Larutan uji fraksi n-heksana dibuat dengan cara menimbang 1 g fraksi n-heksana kemudian dilarutkan dalam 10 ml pelarut n-heksana dan diaduk sampai homogen. Larutan uji fraksi diklorometana dibuat dengan cara menimbang 1 g fraksi diklorometana kemudian dilarutkan dalam 10 ml pelarut diklorometana. Larutan uji fraksi *aquadestilata* dibuat dengan cara menimbang 1 g fraksi *aquadestilata* kemudian dilarutkan dalam 10 ml pelarut *aquadestilata* (Handayani *et al.*, 2020).

3.6.10 Pembuatan kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu kapsul kloramfenikol 500 mg. Pembuatan kontrol positif dilakukan dengan cara membuka 1 kapsul kloramfenikol 500 mg dan menimbang serbuk sebanyak 1% dari bobot kapsul kloramfenikol (± 500 mg) yaitu 5 mg, kemudian dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 100ml. Kloramfenikol termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena memiliki zona hambat sebesar 22 mm (Ratna *et al.*, 2016).

3.6.11 Pembuatan kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksan, diklorometana, dan *aquadestilata*. Pembuatan kontrol negatif dilakukan dengan cara mengambil 20 μ l masing-masing pelarut pada cakram steril dengan diameter 6 mm menggunakan pipet mikro. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sari, (2018) menunjukkan hasil bahwa pelarut n-heksan, diklorometana, dan *aquadestilata* tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai kontrol negatif.

3.6.12 Identifikasi Bakteri

3.6.12.1 Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri *staphylococcus* dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Pengecatan Gram merupakan salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan. Preparat apus bakteri dibuat dengan cara, mencampurkan satu Ose biak bakteri dengan NaCl fisiologis yang telah ditetaskan pada gelas obyek, kemudian dibuat apus setipis

mungkin, dikeringkan, dan difiksasi di atas lampu spiritus. Preparat apus ditetesi pewarna pertama dengan karbol gentian violet selama 2 menit, warna dibuang, ditetesi lugol selama 1 menit, kemudian preparat apus dilunturkan dengan alkohol 95% selama 1 menit. Selanjutnya alkohol dibuang, preparat dicuci dengan *aquadestilata* dan diberi pewarna kedua dengan larutan fuschine selama 2 menit. Warna kemudian dibuang dan dibersihkan dengan *aquadestilata*, dikeringkan dan diamati morfologi sel, serta warnanya di bawah mikroskop. Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah (Dewi, 2013). Bakteri gram positif pada pewarnaan Gram berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan alkohol, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah sebab kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan alkohol sehingga mengambil warna merah safranin (Dewi, 2013). Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (Nurhidayati *et al.*, 2015)

3.6.12.2 Identifikasi bakteri dengan media MSA

Suspensi *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada permukaan media MSA, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Radji, 2013). Koloni *Staphylococcus aureus* memiliki ciri-ciri bundar, halus, menonjol dan berkilau serta berwarna abu-abu sampai kuning emas tua (Dewi, 2013).

3.6.13 Pembuatan suspensi bakteri

Diambil bakteri uji yang telah diinokulasi menggunakan kawat Ose steril. Bakteri *Staphylococcus aureus* disuspensi kedalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Suspensi bakteri tersebut kemudian diencerkan menggunakan NaCl 0,9 %. Larutan NaCl 0,9% dibuat dengan cara menimbang serbuk NaCl sebanyak 0,9 g kemudian dilarutkan dalam 100 ml *aquadestilata*. Selanjutnya larutan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Suspensi bakteri diencerkan

menggunakan NaCl 0,9 % hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang mempunyai populasi 1×10^7 CFU/ml sampai 1×10^8 CFU/ml (Ngajow *et al.*, 2013).

3.6.14 Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir dilakukan dengan metode difusi. Selanjutnya disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Fraksi daun kenikir dengan seri konsentrasi 10% ditambahkan pada masing-masing cakram steril sejumlah 20 μ l menggunakan pipet mikro. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan fraksi daun kenikir ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media (Huda *et al.*, 2019). Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol, sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata*. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Diamati dan diukur diameter zona hambat (Huda *et al.*, 2019).

3.6.15 Pengukuran zona hambat

Cawan petri dikeluarkan dari inkubator setelah 24 jam. Pengukuran zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram dilakukan dengan menggunakan mistar berskala atau jangka sorong. Hasil yang diperoleh berupa diameter zona hambat dengan satuan mm, yang mana daerah hambatan pertumbuhan bakteri termasuk diameter kertas cakram. Setiap daerah zona hambat dilakukan 3 kali pengukuran dari arah yang berbeda, untuk mendapatkan hasil yang akurat (Yusriana *et al.*, 2014).

3.7 Analisa Hasil

Data hasil penelitian uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 16 untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

3.7.1 Uji normalitas data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis:

H_0 : data berdistribusi normal

H_1 : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan:

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.7.2 Uji homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel-sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic*.

Perumusan hipotesis:

H_0 : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

H_1 : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen

Pengambilan keputusan:

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.7.3 Uji One Way Anova

Uji One Way Anova bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak daun kenikir dengan variasi konsentrasi fraksi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis:

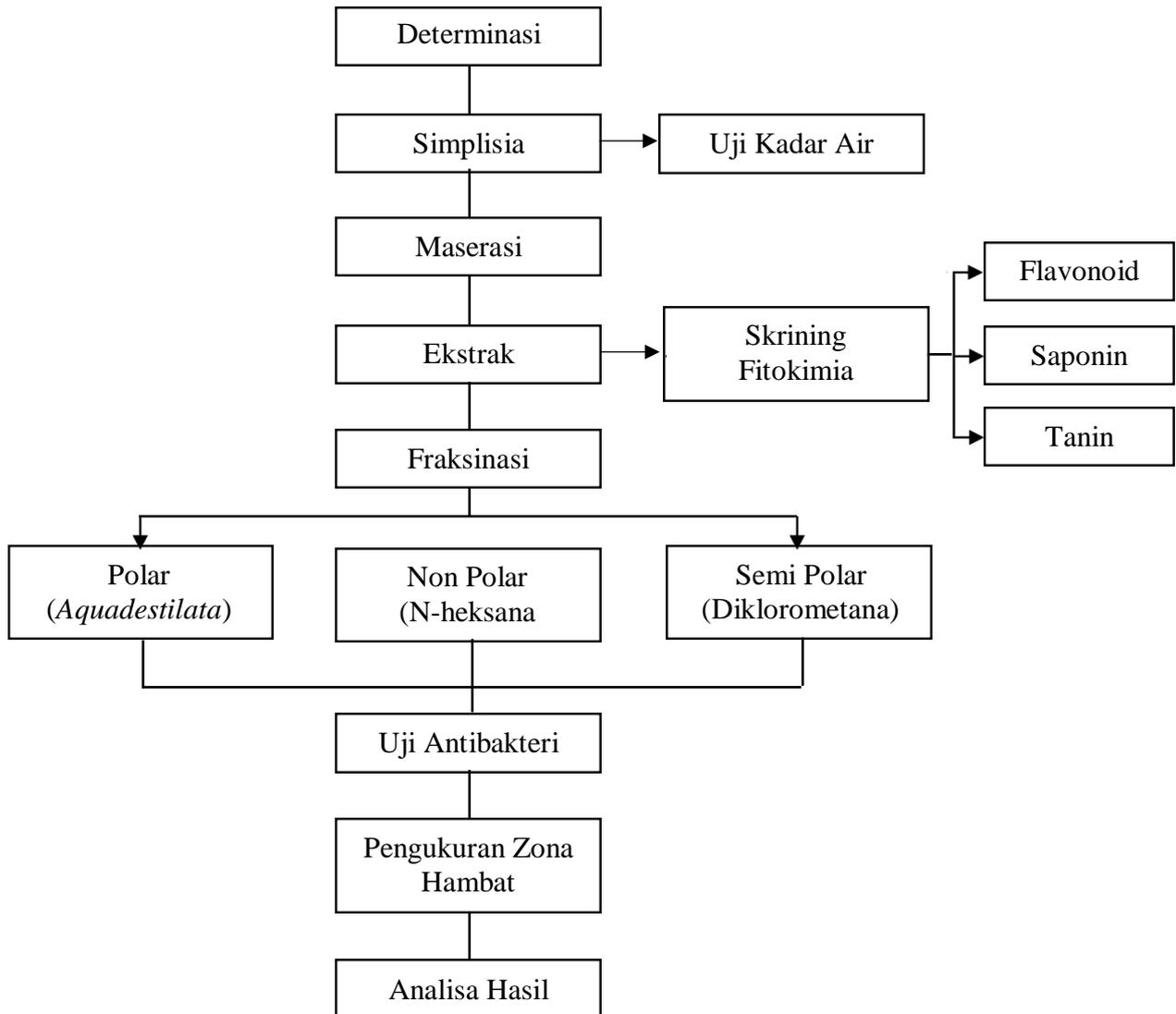
H_0 : Tidak ada pengaruh perlakuan dari beberapa fraksi daun kenikir terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

H_1 : Ada pengaruh perlakuan dari beberapa fraksi daun kenikir terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengambilan keputusan:

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.8 Jalan Penelitian



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

3.9 Jadwal Penelitian

Jadwal Kegiatan		Bulan Ke-							Tempat
		1	2	3	4	5	6	7	
1.	Tahap persiapan penelitian								
a.	Persiapan bahan	√							Lab. Botani STIKes Kartrasa
b.	Persiapan alat	√							Lab. Botani STIKes Kartrasa
2.	Tahap penelitian								
a.	Determinasi		√						UPT. Matera Medika Batu, Jawa Timur
b.	Pembuatan ekstrak			√					Lab. Botani STIKes Kartrasa
c.	Fraksinasi			√					Lab. Botani STIKes Kartrasa
d.	Skrining fitokimia			√					Lab. Botani STIKes Kartrasa
e.	Identifikasi bakteri				√				Lab. Botani STIKes Kartrasa
f.	Uji antibakteri				√				Lab. Mikrobiologi STIKes Kartrasa
3.	Tahap penyelesaian								
a.	Analisis dan pengolahan data					√			STIKes Karya Putra Bangsa
b.	Penyusunan laporan						√		STIKes Karya Putra Bangsa
c.	Pengumpulan laporan							√	STIKes Karya Putra Bangsa

Table 3.1 Jadwal pelaksanaan penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dari suatu tanaman yang akan digunakan. Sehingga kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari. Determinasi tanaman dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Kota Batu, Malang, Jawa Timur. Berdasarkan hasil dari determinasi yang telah dilakukan, diperoleh kebenaran bahwa tanaman yang akan dilakukan penelitian adalah tanaman kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan kunci determinasi yaitu 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43a-44b-45a-46a-1b-12a-13b-15a. Hasil determinasi tanaman kenikir dapat dilihat pada lampiran 1.

4.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia bertujuan untuk mengetahui batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air dalam serbuk simplisia (Tantrayana dan Zubaidah, 2015). Hal ini terkait dengan kemurnian dan adanya kontaminan dalam serbuk simplisia tersebut. Penghilangan kadar air hingga jumlah tertentu berguna untuk memperpanjang daya tahan serbuk simplisia selama penyimpanan (Tantrayana dan Zubaidah, 2015). Kandungan air yang berlebihan pada serbuk simplisia akan mempercepat pertumbuhan mikroba dan juga dapat mempermudah terjadinya hidrolisis terhadap kandungan senyawa kimia sehingga dapat mengakibatkan penurunan mutu dari serbuk simplisia (Handayani *et al.*, 2017).

Uji kadar air dilakukan dengan metode gravimetri menggunakan oven (Depkes RI, 2017). Prinsip dari metode ini yaitu menguapkan air yang ada pada sampel dengan cara pemanasan pada suhu 105 °C selama 5 jam (Depkes RI, 2017). Kehilangan berat akibat proses pengeringan dianggap sebagai berat kandungan air yang terdapat dalam bahan yang menguap selama pemanasan.

Analisis kadar air bahan dengan pengeringan dipengaruhi oleh faktor-faktor yang berhubungan dengan karakter bahan, kondisi oven, dan penanganan bahan yang telah dikeringkan (Nadia, 2010)

Kadar air simplisia daun kenikir sebaiknya lebih kecil dari 10% (Depkes RI, 2017). Kadar air yang lebih besar dari 10% akan menyebabkan terjadinya proses enzimatik dan kerusakan oleh mikroba (Rina *et al.*, 2014). Simplisia yang disimpan dalam waktu yang lama, enzim akan merubah kandungan kimia yang telah terbentuk menjadi produk lain yang mungkin tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa asalnya (Nadia, 2010). Hal ini tidak akan terjadi jika bahan yang telah dikeringkan mempunyai kadar air yang rendah (Nadia, 2010). Beberapa enzim perusak kandungan kimia antara lain adalah hidrolase, oksidase, dan polymerase (Rina *et al.*, 2014). Hasil dari uji kadar air serbuk simplisia daun kenikir dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Uji kadar air serbuk simplisia daun kenikir

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Daun kenikir	10,00 g	9,21 g	7,9%

Rumus % kadar air (Depkes RI, 2014):

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

Uji kadar air serbuk simplisia daun kenikir diperoleh hasil sebesar 7,9%. Hasil ini menunjukkan bahwa simplisia daun kenikir yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar air yang sesuai dengan syarat mutu yang ditetapkan yaitu $\leq 10\%$.

4.3 Ekstraksi Daun Kenikir

Ekstraksi daun kenikir dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Prinsip dari metode maserasi adalah merendam serbuk simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu pada temperatur ruang dan terlindungi dari cahaya (Trisia *et al.*, 2018). Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dengan tujuan agar jumlah senyawa yang tertarik dalam ekstrak lebih banyak karena sifat etanol 96% sebagai pelarut universal (Noviyanti, 2016). Perbandingan antara serbuk simplisia daun kenikir dengan pelarut yang digunakan yaitu 1:7,5 (Ratna *et al.*,

2016). Residu yang diperoleh dari proses maserasi selanjutnya dilakukan proses remaserasi menggunakan pelarut yang sama (Laksono, 2019). Filtrat yang diperoleh kemudian digabungkan dan diuapkan dengan oven pada suhu 70 °C untuk mendapatkan ekstrak kental daun kenikir. Perhitungan rendemen ekstrak bertujuan untuk membandingkan bobot awal serbuk simplisia daun kenikir dengan bobot ekstrak yang dihasilkan, sehingga kualitas ekstrak dapat diketahui. Hasil dari rendemen ekstrak daun kenikir dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil rendemen ekstrak daun kenikir

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Kenikir	500 g	57,45 g	11,49%

Rumus % rendemen ekstrak (Depkes RI, 2014):

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui bahwa nilai rendemen ekstrak daun kenikir yaitu sebesar 11,49%. Hasil ini menunjukkan bahwa rendemen ekstrak sesuai dengan persyaratan Farmakope Herbal Indonesia, yaitu rendemen ekstrak tidak kurang dari 6,8% (Depkes RI, 2017). Nilai tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis pelarut, konsentrasi pelarut, ukuran partikel simplisia, dan lamanya waktu ekstraksi (Susanty, 2016). Nilai rendemen ekstrak menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai rendemen ekstrak, maka semakin banyak nilai ekstrak yang dihasilkan. Namun kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan yang artinya semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan. (Wijaya *et al.*, 2018).

4.4 Fraksinasi Daun Kenikir

Tujuan dari fraksinasi ekstrak daun kenikir adalah untuk memisahkan senyawa yang memiliki kepolaran berbeda dalam ekstrak daun kenikir. Fraksinasi dilakukan menggunakan metode partisi cair-cair. Metode ini dipilih karena pengerjaannya yang mudah dan cepat. Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Prinsip corong pisah adalah memisahkan zat atau senyawa tertentu yang terdapat dalam sampel berdasarkan perbedaan berat jenis

antara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur (Pratiwi *et al.*, 2016).

Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi yaitu n-heksana sebagai pelarut non polar, diklorometana sebagai pelarut semi polar, dan *aquadestilata* sebagai pelarut polar. Pemilihan pelarut fraksi ini didasarkan pada perbedaan bobot jenis yang nyata sehingga proses pemisahan lebih mudah. Masing-masing pelarut yang berbeda sifat kepolarannya tersebut akan melarutkan komponen-komponen bioaktif yang berbeda pula. Proses fraksinasi ini menggunakan ekstrak daun kenikir daun kenikir yang diencerkan dengan *aquadestilata* lalu diaduk hingga homogen kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Fraksinasi dilakukan secara bergantian dan berurutan mulai dari n-heksana, diklorometana, *aquadestilata*. Hasil rendemen fraksi daun kenikir dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil rendemen fraksi daun kenikir

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Hasil
Fraski n-heksan	5 g	1,34 g	26,8%
Fraski diklorometana	5 g	1,56 g	31,2%
Fraksi <i>aquadestilata</i>	5 g	2,12 g	42,4%

Berdasarkan Tabel 4.3 rendemen fraksi daun kenikir yang diperoleh memiliki hasil yang berbeda pada masing-masing fraksi. Hal tersebut dikarenakan kekuatan kepolaran antar pelarut yang berbeda dalam menyari senyawa dalam ekstrak. Nilai rendemen fraksi yang tertinggi yaitu fraksi *aquadestilata* sebesar 42,4%. Diketahui bahwa *aquadestilata* merupakan pelarut yang bersifat polar dibandingkan dengan pelarut lainnya sehingga senyawa yang bersifat polar akan cenderung larut dalam fraksi *aquadestilata*. Selanjutnya diikuti dengan nilai rendemen fraksi diklorometana sebesar 31,2% dan yang terakhir yaitu fraksi n-heksan yang memiliki nilai rendemen sebesar 26,8%.

Menurut Andarwulan *et al.* (2010) daun kenikir mengandung kuersetin sebanyak 51% yang merupakan flavonoid utama yang terdapat pada daun kenikir. Selain itu, juga terdapat tanin dan polifenol yang merupakan senyawa yang dapat larut dalam air. Nilai rendemen fraksi diklorometana dan fraksi n-heksan lebih rendah jika dibandingkan dengan fraksi *aquadestilata* karena senyawa aktif yang bersifat semi polar dan non polar terdapat dalam jumlah yang lebih kecil pada daun kenikir (Sembiring *et al.*, 2016).

4.5 Skrining Fitokimia

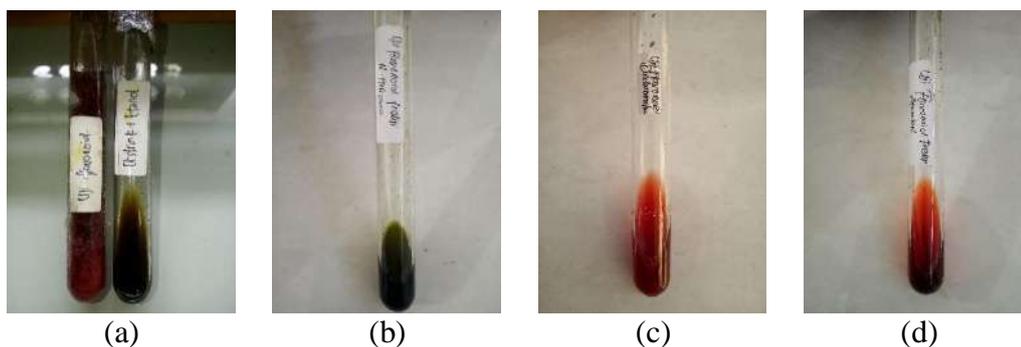
Skrining fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu sampel. Analisis ini sangat berguna untuk menentukan golongan utama senyawa aktif dari daun kenikir yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Skrining fitokimia dalam penelitian ini meliputi uji flavonoid, saponin, dan tanin. Uji ini dilakukan secara kualitatif menggunakan metode tabung dengan cara mengambil sedikit sampel dari ekstrak maupun fraksi daun kenikir yang ditambahkan dengan suatu reagen yang sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi (Astarina *et al.*, 2012). Hasil skrining fitokimia ekstrak daun kenikir dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Kenikir

Golongan Senyawa	Ekstrak Etanol	Fraksi		
		N-heksana	Diklorometana	<i>Aquadestilata</i>
Flavonoid	+	+	+	+
Saponin	+	-	+	+
Tanin	+	+	+	+

Keterangan: (+) mengandung golongan senyawa, (-) tidak mengandung golongan senyawa

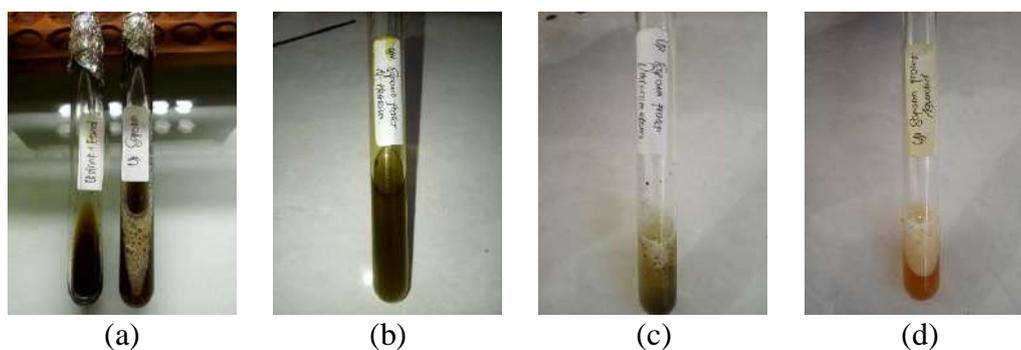
Uji flavonoid dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak maupun fraksi daun kenikir. Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi *wilstater* yang dilakukan dengan menambahkan Mg dan HCl pekat pada sampel ekstrak dan fraksi daun kenikir (Theodora *et al.*, 2019). Penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H⁺ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat dapat menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Ikalinus *et al.*, 2015). Warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh senyawa flavanol atau flavanon, warna hijau diberikan oleh senyawa glikon atau glikosida (Mariana *et al.*, 2013). Hasil Skrining Fitokimia Flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil Skrining Fitokimia Flavonoid, (a) Ekstrak Etanol, (b) Fraksi N-Heksana, (c) Fraksi Diklorometana, (d) Fraksi *Aquadestilata*

Uji saponin dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa saponin dalam ekstrak dan fraksi daun kenikir. Uji fitokimia senyawa saponin dalam penelitian ini dilakukan dengan menambahkan ekstrak maupun fraksi dengan air (1:1) kemudian dikocok selama 1 menit. Identifikasi saponin menunjukkan hasil positif apabila terbentuk busa dan bertahan selama 10 menit. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Astarina *et al.*, 2012).

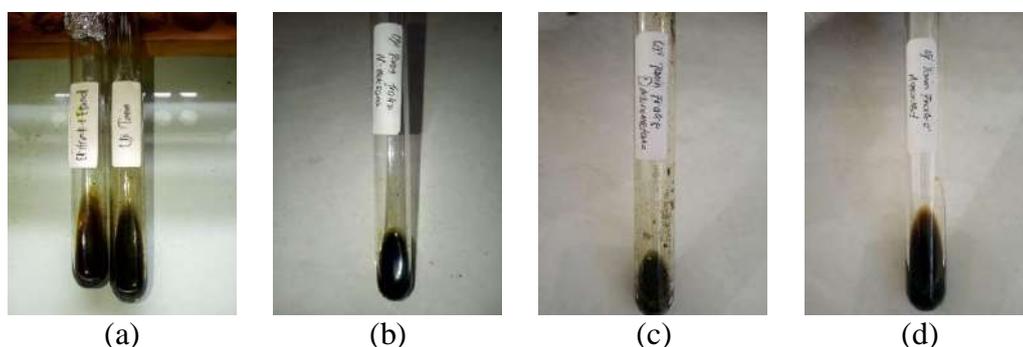
Hasil uji dalam penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa saponin dari ekstrak daun kenikir memiliki nilai positif yang artinya dalam ekstrak daun kenikir terkandung senyawa saponin. Sedangkan pada fraksi daun kenikir menunjukkan bahwa fraksi *aquadestilata* dan fraksi diklorometana memiliki nilai positif dan pada fraksi n-heksana memiliki nilai negatif. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa saponin dalam daun kenikir hanya mampu terekstrak pada pelarut polar dan semi polar. Hasil skrining fitokimia saponin dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Saponin, (a) Ekstrak Etanol, (b) Fraksi N-

Heksana, (c) Fraksi Diklorometana, (d) Fraksi *Aquadestilata*

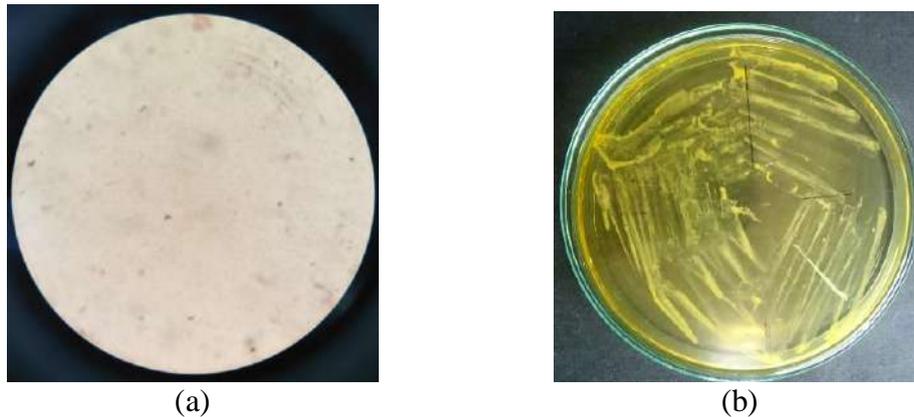
Uji tanin bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa tanin dalam ekstrak maupun fraksi daun kenikir. Hasil uji menunjukkan bahwa senyawa tanin dari ekstrak dan ketiga fraksi daun kenikir memiliki nilai positif. Hasil identifikasi tanin positif dengan ditandai terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau. Uji fitokimia senyawa tanin dilakukan dengan menambahkan ekstrak maupun fraksi daun kenikir dengan larutan FeCl_3 . Uji fitokimia menggunakan FeCl_3 dapat menunjukkan adanya gugus fenol, apabila terdapat senyawa fenol, maka dimungkinkan juga terdapat tanin, karena tanin merupakan senyawa polifenol. Perubahan warna hitam kebiruan atau hijau terjadi akibat pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan FeCl_3 . Senyawa kompleks tersebut terbentuk karena terdapat ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Sari *et al.*, 2015). Hasil skrining fitokimia tanin dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil Skrining Fitokimia Tanin, (a) Ekstrak Etanol, (b) Fraksi N-Heksana, (c) Fraksi Diklorometana, (d) Fraksi *Aquadestilata*

4.6 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui identitas dari bakteri uji yang digunakan. Bakteri uji pada penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Identifikasi bakteri yang dilakukan pada penelitian ini yaitu uji pewarnaan Gram dan identifikasi bakteri dengan media MSA. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.3 Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*, (a) Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram, (b) Identifikasi bakteri dengan media MSA

Uji pewarnaan Gram merupakan teknik pewarnaan diferensial yang memisahkan bakteri menjadi dua kelompok yaitu Gram positif dan Gram negatif. Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri dan mengetahui kemurnian sel bakteri. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang menghasilkan warna ungu pada pewarnaan Gram dan berbentuk kokus ketika diamati dibawah mikroskop (Dewi, 2013). Bakteri Gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Perbedaan struktur luar dinding sel bakteri Gram positif dan negatif mengakibatkan terjadinya perbedaan warna pada akhir prosedur pewarnaan Gram. Dinding sel terluar bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan tebal tanpa lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida sedangkan bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan tipis yang dibungkus oleh lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida (Karimela *et al.*, 2017).

Identifikasi bakteri dengan media MSA dilakukan untuk mengetahui koloni dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan untuk memfermentasikan *manitol*. Hal tersebut dapat dibuktikan bila *Staphylococcus aureus* dibiakkan dalam media MSA, dimana terjadi perubahan warna dari merah ke kuning. Zona kuning menunjukkan adanya fermentasi *manitol*, yaitu asam yang dihasilkan akan mengubah indikator pH dan menyebabkan perubahan *phenol red* pada agar dari merah menjadi berwarna

kuning (Dewi, 2013). Media MSA merupakan media selektif dan diferensial untuk identifikasi *Staphylococcus*. Media ini mengandung garam natrium klorida sebesar 7,5% sehingga media ini menjadi media selektif. Hal ini disebabkan karena sebagian besar bakteri tidak dapat tumbuh pada konsentrasi garam 7,5% kecuali *Staphylococcus* (Dewi, 2013). Hasil uji media MSA pada penelitian ini menunjukkan hasil positif bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona kuning yang mengelilingi koloni.

4.7 Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kenikir

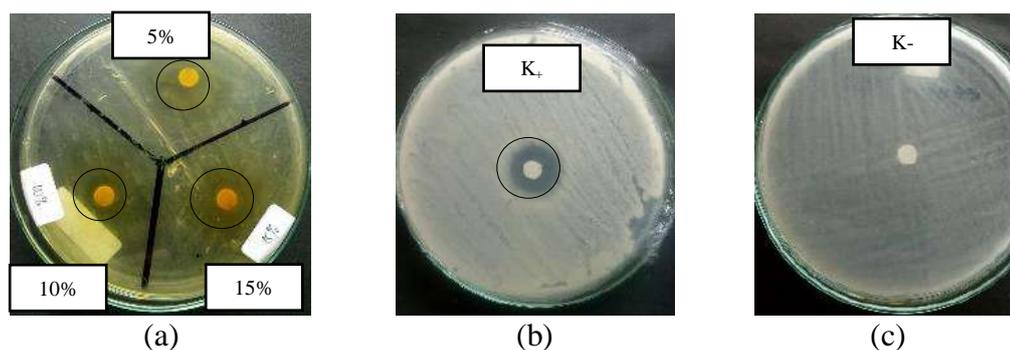
Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak dan fraksi daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dengan tujuan untuk mengetahui besarnya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri (Sidabutar, 2018). Zona hambat adalah zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram pada media yang sudah di inokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona ini menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Dwiyanti *et al.*, 2014). Keuntungan dari penggunaan metode cakram yaitu memiliki harga yang relatif murah karena tidak memerlukan alat khusus dalam pengerjaannya, pengerjaan yang cepat, dan lebih mudah dilakukan (Katrin *et al.*, 2015).

4.7.1 Uji Orientasi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir digunakan sebagai landasan untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak, yang akan dilanjutkan pada uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Simanjuntak, 2018) diketahui bahwa ekstrak etanol daun kenikir dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dapat menimbulkan efek antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat berturut-turut sebesar 13,31, 15,43, dan 18,55 mm yang termasuk dalam kategori kuat.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah masih terdapat aktivitas antibakteri dengan konsentrasi yang lebih kecil. Kontrol positif yang

digunakan yaitu kloramfenikol dengan konsentrasi 1%. Kloramfenikol memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa pada daun kenikir yaitu flavonoid. Kloramfenikol mampu mengubah proses denaturasi protein dan asam nukleat pada bakteri sehingga antibiotik ini dapat merusak sel bakteri (Ganiswara, 2012). Kontrol negatif yang digunakan yaitu etanol 96%. Hal ini dikarenakan pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah etanol 96%. Sehingga etanol 96% berfungsi sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan tersebut tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri (Utomo *et al.*, 2018). Uji Aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram. Hasil uji aktivitas ekstrak daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, (a) Uji ekstrak (b) Uji kontrol positif, (c) Uji kontrol negatif

Tabel 4.5 Hasil uji orientasi aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata \pm Standart Deviasi
	1	2	3	
Ekstrak etanol daun kenikir 5%	17	16,3	16,5	16,60 \pm 0,360
Ekstrak etanol daun kenikir 10%	19,3	19,5	21,5	20,10 \pm 1,217
Ekstrak etanol daun kenikir 15%	21	21,5	22,5	21,67 \pm 0,764
Kontrol positif kloramfenikol	21,5	23	23,5	22,67 \pm 1,040
Kontrol negatif	0	0	0	00,00 \pm 0,000

Data zona hambat yang diperoleh kemudian dilakukan analisis statistika dengan uji *One-Way Anova*. Hasil analisis data dengan *One-way Anova* menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang

signifikan pada pengaruh perlakuan terhadap bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif dan ketiga konsentrasi ekstrak dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji lanjutan yang digunakan yaitu uji *Post Hoc* dengan metode *Tukey HSD*. Hasil Uji *Pos Hoc* dengan metode *Tukey HSD* dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Uji *Pos Hoc* dengan metode *Tukey HSD*

Zona hambat					
Tukey HSD					
Ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol -	3	.0000			
Ekstrak 5%	3		16.6000		
Ekstrak 10%	3			20.1000	
Ekstrak 15%	3			21.6667	21.6667
Kontrol +	3				22.6667
Sig.		1.000	1.000	0.201	0.577

Kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kontrol positif dan berbagai konsentrasi ekstrak daun kenikir, hal ini dibuktikan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Kontrol negatif yang digunakan adalah etanol 96% yang menunjukkan tidak adanya zona hambat. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antibakteri (Mpila *et al.*, 2012). sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa yang ada pada ekstrak daun kenikir. Penggunaan etanol sebagai kontrol negatif diperkuat dengan penelitian sebelumnya oleh Ratna *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa kontrol negatif etanol 96% pada uji antibakteri tidak menunjukkan adanya aktivitas sehingga dapat dipastikan bahwa etanol 96% tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri yang terbentuk. Etanol dapat digunakan sebagai antiseptik untuk permukaan kulit. Etanol sebagai antiseptik memiliki aktivitas bakteriosidal yang mampu bekerja pada berbagai jenis bakteri, tetapi tidak terhadap virus dan jamur (Mpila *et al.*, 2012).. Namun pada hasil penelitian ini, etanol tidak membentuk zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut dikarenakan etanol yang digunakan memiliki konsentrasi tinggi yaitu 96%. Menurut Siti Fauziah, (2011), alkohol absolute yang tidak mengandung air dan campuran

bahan lain memiliki aktivitas antibakteri jauh lebih rendah dibandingkan dengan alkohol yang memiliki konsentrasi lebih rendah. Hal ini dikarenakan etanol pekat mudah mengalami penguapan dan hanya bersifat sebagai *short acting* dalam membunuh bakteri.

Kontrol positif atau antibiotik yang digunakan sebagai pembanding adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 1%. Kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik yang berspektrum luas (Kumayas *et al.*, 2015). Kontrol positif kloramfenikol, memberikan zona hambat dengan diameter rata-rata $22,67 \pm 1,040$ mm yang menunjukkan bahwa antibiotik kloramfenikol memberikan respon hambat pertumbuhan bakteri dengan kategori sangat kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Kontrol positif menunjukkan perbedaan yang nyata dalam uji *Post hoc*, karena menghasilkan aktivitas antibakteri yang paling besar terhadap bakteri uji dibandingkan dengan ketiga konsentarsi ekstrak dan kontrol negatif. Hal ini dibuktikan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hasil tersebut dapat terjadi karena antibiotik kloramfenikol 500 mg merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga untuk menyetarakan zona hambat ekstrak daun kenikir dengan antibiotik kloramfenikol diperlukan dibutuhkan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi (Handayani *et al.*, 2020). Kontrol positif tidak berbeda bermakna dengan konsentrasi ekstrak 15% hal ini dibuktikan dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ yang berarti bahwa konsentrasi ekstrak 15% memiliki pengaruh antibakteri yang hampir sama dengan kontrol positif. Kloramfenikol memiliki mekanisme kerja yang mampu mengubah proses denaturasi protein dan asam nukleat pada bakteri sehingga antibiotik ini dapat merusak sel bakteri (Ganiswara, 2012). Kloramfenikol memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa terdapat pada daun kenikir yaitu flavonoid (Ratna *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil bahwa ekstrak daun kenikir mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat dilihat dari adanya zona hambat yang terbentuk akibat aktivitas antibakteri. Uji *Post hoc* terhadap diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* untuk konsentrasi ekstrak 5% menunjukkan perbedaan

nyata terhadap kedua konsentrasi ekstrak yang lain, kontrol positif, dan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 5% memberikan efek yang berbeda dengan kedua konsentrasi lainnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan konsentrasi ekstrak 10% menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata dengan konsentrasi ekstrak 15%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak tersebut menunjukkan efek yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Besar kecilnya zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak yang diberikan (Sudarmi *et al.*, 2017). Abfidah, (2014) menyatakan bahwa meningkatnya konsentrasi ekstrak menyebabkan meningkatnya kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga semakin besar.

Peningkatan konsentrasi ekstrak daun kenikir mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat yang berbeda-beda menunjukkan kemampuan ekstrak yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Perbedaan diameter zona hambat ini dapat disebabkan adanya kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak. Hal ini sesuai dengan pendapat Mpila *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa ukuran dari zona hambat dipengaruhi oleh perbedaan besar kecilnya konsentrasi ekstrak. Faktor lain yang mempengaruhi perbedaan zona hambat adalah temperatur inkubasi, waktu pemasangan cakram, dan jarak cakram antimikroba.

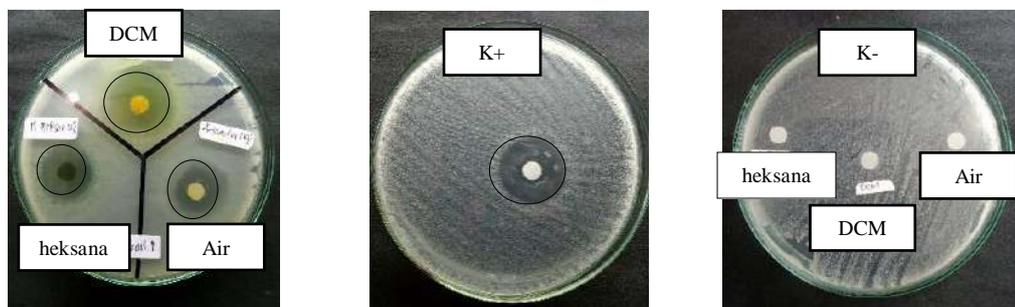
Peningkatan konsentrasi ekstrak juga memberikan pengaruh terhadap respon hambatan. Semakin tinggi konsentrasi maka respon hambatan semakin kuat. Konsentrasi ekstrak 10% sudah memberikan respon hambatan yang sangat kuat. Berdasarkan respon hambatan tersebut dapat dinyatakan bahwa ekstrak daun kenikir memiliki sensitivitas yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi tersebut telah memenuhi persyaratan tentang kepekaan bakteri uji terhadap senyawa antibakteri yang berasal dari tanaman yang menyatakan bahwa kategori peka dari bakteri uji apabila diameter zona hambat yang dihasilkan berkisar antara 12–24 mm serta termasuk memiliki aktivitas antibakteri kategori sangat kuat (Saputro, 2014).

Perlakuan konsentrasi ekstrak daun kenikir dan kontrol positif kloramfenikol dalam penelitian ini menunjukkan adanya zona hambat, yang artinya ekstrak daun kenikir memiliki keefektifan yang hampir sama dengan kontrol positif kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan Tabel 4.6 diketahui bahwa ekstrak daun kenikir konsentrasi 15% merupakan konsentrasi ekstrak yang memiliki zona hambat paling besar jika dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 10% dan dibuktikan dengan uji *Post hoc* yang menunjukkan bahwa konsentrasi 15% berada pada satu kolom yang sama dengan kontrol positif kloramfenikol yang artinya konsentrasi ekstrak 15% memiliki pengaruh antibakteri yang hampir sama dengan kontrol positif. Konsentrasi 10% merupakan konsentrasi minimum yang memberikan respon hambatan sangat kuat sehingga dinyatakan sebagai konsentrasi efektif. Menurut Fitriah *et al.* (2017) konsentrasi efektif adalah konsentrasi minimum yang dapat memberikan respon hambatan sangat kuat.

Adanya zona hambat pada masing-masing perlakuan konsentrasi ekstrak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan adanya zat-zat aktif atau senyawa metabolit sekunder yang terkandung seperti flavonoid, saponin, dan tanin pada ekstrak daun kenikir yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Masing-masing senyawa metabolit sekunder memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mitokondria dan lisosom sebagai interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Riwanti *et al.*, 2021). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar (Saputro, 2014). Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mengpresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membrane sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Riwanti *et al.*, 2021).

4.7.2 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kenikir

Uji aktivitas antibakteri kemudian dilanjutkan dengan sampel fraksi daun kenikir. Fraksi yang digunakan yaitu fraksi n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata*. Konsentrasi fraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu konsentrasi 10%. Pembuatan larutan uji fraksi daun kenikir dilakukan dengan cara mengencerkan fraksi daun kenikir dengan masing-masing pelarut, agar fraksi daun kenikir dapat larut secara sempurna (Laksono, 2019). Hal ini sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yang berarti suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama (Verdiana *et al.*, 2018). Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir dapat dilihat pada gambar 4.6.

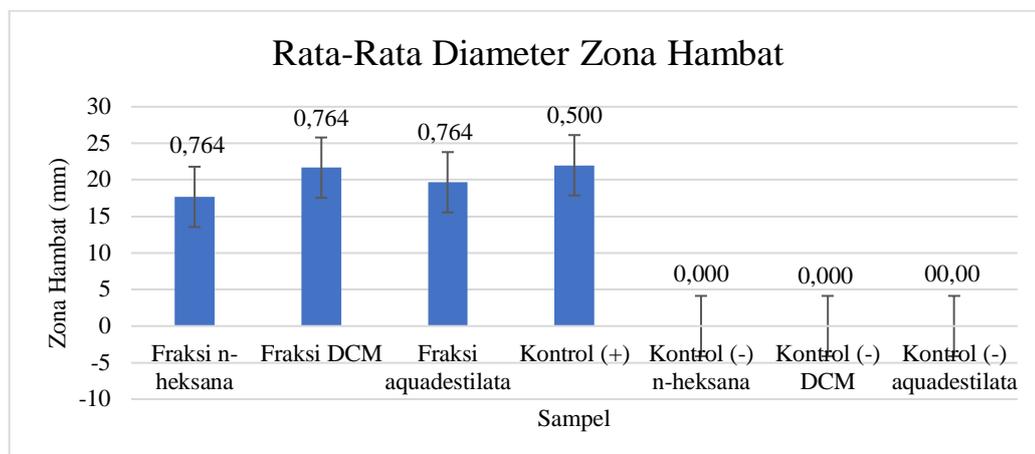


Gambar 4.6 Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, (a) Uji ekstrak (b) Uji kontrol positif, (c) Uji kontrol negatif

Tabel 4.7 Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir terhadap bakteri

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	1	2	3	
Fraksi n-heksana 10%	17	18,5	17,5	17,67±0,764
Fraksi diklorometana 10%	21,5	21	22,5	21,67±0,764
Fraksi <i>aquadestilata</i> 10%	20,5	19	19,5	19,67±0,764
Kontrol positif kloramfenikol	21,5	22	22,5	22,00±0,500
Kontrol negatif n-heksana	0	0	0	00,00±0,000
Kontrol negatif diklorometana	0	0	0	00,00±0,000
Kontrol negatif <i>aquadestilata</i>	0	0	0	00,00±0,000

Berdasarkan Tabel 4.7 didapatkan gambar diagram sebagai berikut:



Gambar 4.7 Diagram rata-rata diameter zona hambat

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu kloramfenikol dengan konsentrasi 1%. Penggunaan kontrol positif kloramfenikol pada penelitian ini dikarenakan kloramfenikol memiliki mekanisme yang sama dengan senyawa aktif yang terkandung dalam daun kenikir yaitu senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai bakteriostatik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Ganiswara, 2012). Kloramfenikol mampu mengubah proses denaturasi protein dan asam nukleat pada bakteri sehingga antibiotik ini dapat merusak sel bakteri (Ganiswara, 2012). Kontrol positif kloramfenikol, memberikan zona hambat dengan diameter rata-rata $22 \pm 0,500$ mm yang menunjukkan bahwa kloramfenikol mampu memberikan respon hambat pertumbuhan bakteri dengan kategori sangat kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Ratna *et al.*, 2016). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ratna *et al.*, (2016) yang mana dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 1% dapat menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 22 mm yang termasuk dalam kategori kuat. Sehingga bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat sensitif terhadap kloramfenikol (Ratna *et al.*, 2016).

Berdasarkan analisis statistik menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif dibandingkan dengan ketiga fraksi daun kenikir dan kontrol negatif mempunyai perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hasil tersebut dapat terjadi karena antibiotik kloramfenikol 500 mg merupakan suatu bahan kimia

yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga untuk menyetarakan zona hambat ekstrak daun kenikir dengan antibiotik kloramfenikol diperlukan dibutuhkan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi (Handayani *et al.*, 2020).

Kontrol negatif yang digunakan yaitu pelarut dari masing-masing fraksi berupa n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata*. Kontrol negatif digunakan untuk melihat adanya aktivitas antibakteri pada pelarut atau tidak sehingga tidak menimbulkan bias pada hasil penelitian (Sudarmi *et al.*, 2017). Berdasarkan Tabel 4.6 dapat diketahui bahwa hasil zona hambat kontrol negatif pada penelitian ini memiliki rata-rata $0,00 \pm 0,000$. Berdasarkan analisis statistik menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kontrol positif dan fraksi daun kenikir yang dibuktikan dengan signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol negatif berupa n-heksana, diklorometana, dan *aquadestilata* tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri pada fraksi daun kenikir (Maulana *et al.*, 2021). Hal ini juga menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan sebagai kontrol negatif merupakan pelarut yang baik yang dapat melarutkan sampel uji tanpa memberikan pengaruh zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri (Dewi, 2013).

Uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir yang memiliki zona hambat paling aktif adalah fraksi diklorometana yang ditandai dengan diameter rata-rata zona hambat paling besar yaitu $21,67 \pm 0,76$ mm. Hal ini dapat dibuktikan berdasarkan analisis statistika bahwa fraksi diklorometana berbeda bermakna apabila dibandingkan dengan fraksi *aquadestilata* dan fraksi n-heksana dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hal ini disebabkan karena fraksi diklorometana merupakan fraksi yang bersifat semi polar yang mampu menarik senyawa dengan rentang polaritas yang lebar dari polar hingga non polar seperti senyawa flavonoid, saponin dan tanin pada daun kenikir (Maulana *et al.*, 2021). Fitriah *et al.* (2017) menyatakan bahwa senyawa semi polar mempunyai afinitas lebih tinggi untuk berinteraksi dengan dinding sel, sehingga fraksi semi polar lebih efektif

dalam menghambat pertumbuhan bakteri daripada fraksi *aquadestilata* yang bersifat polar dan fraksi n-heksana yang bersifat non polar. Hal ini terjadi karena berkaitan dengan sifat senyawa fitokimia yang diujikan dengan sifat struktur dinding sel bakteri. Senyawa fitokimia yang terekstrak ke dalam diklorometana bersifat semipolar. Senyawa semipolar tersebut memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk berinteraksi dengan dinding sel bakteri yang tidak bersifat absolut hidrofobik dan absolut hidrofilik. Suatu senyawa yang memiliki polaritas optimum akan memiliki afinitas optimum. Senyawa yang memiliki afinitas optimum akan memiliki afinitas antimikrobia yang optimum, karena untuk dapat berinteraksi antara senyawa antimikroba dengan bakteri yang diujikan membutuhkan keseimbangan antara hidrofilik dan hidrofobik (Novalina *et al.*, 2018).

Fraksi *aquadestilata* memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-heksana. Hal ini dapat dibuktikan berdasarkan analisis statistika bahwa fraksi *aquadestilata* berbeda bermakna apabila dibandingkan dengan fraksi n-heksana dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hal ini dimungkinkan karena kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri pada fraksi non polar yaitu fraksi n-heksana berjumlah lebih sedikit daripada fraksi *aquadestilata* dan beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi stabilitas senyawa aktif yaitu suhu, radiasi cahaya, udara (terutama oksigen, karbondioksida, dan uap air) dan kelembaban. Selain itu kondisi lingkungan yang buruk juga dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder (Asita, 2014). Hasil Uji *Pos Hoc* dengan metode *Tukey HSD* dapat dilihat pada tabel 4.8.

Tabel 4.8 Hasil Uji *Pos Hoc* dengan metode *Tukey HSD*

Zona Hambat					
Tukey HSD					
Fraksi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif n-heksana	3	.0000			
kontrol negatif diklorometana	3	.0000			
kontrol negatif aquadestilata	3	.0000			
n-heksana	3		17.6667		
Aquadestilata	3			19.6667	
Diklorometana	3				21.6667
kontrol positif kloramfenikol	3				22.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.985

Aktivitas Antibakteri daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dikarenakan adanya kandungan senyawa aktif didalam fraksi daun kenikir seperti senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain yaitu flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom bakteri, dan lisosom bakteri. Sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri, flavonoid juga mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri. Selain itu flavonoid juga dapat menghambat motilitas bakteri. Gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri (Egra *et al.*, 2019).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein. Karena zat aktif permukaan saponin mirip deterjen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membrane bakteri dirusak. Kelangsungan hidup bakteri akan terganggu akibat rusaknya membran sel. Kemudian saponin akan berdifusi melalui membran sitoplasma sehingga kestabilan membran akan terganggu yang menyebabkan sitoplasma mengalami kebocoran dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Sudarmi *et al.*, 2017). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan target penyerangan tanin terhadap kerusakan polipeptida yang terdapat pada dinding sel bakteri sehingga

mengganggu sintesa peptidoglikan yang menjadikan pembentukan dinding sel tidak sempurna dan mengakibatkan inaktivasi sel bakteri pada sel inang (Fitriah *et al.*, 2017).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian serta pembahasan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

- 5.1.1 Fraksi n-heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi *aquadestilata* daun kenikir memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- 5.1.2 Fraksi diklorometana daun kenikir merupakan fraksi teraktif yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena fraksi diklorometana bersifat semi polar yang mampu menarik senyawa dengan rentang polaritas yang lebar dari polar hingga non polar seperti senyawa flavonoid, saponin dan tanin pada daun kenikir

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran untuk penelitian selanjutnya adalah:

- 5.2.1 Perlu penelitian lebih lanjut terkait skrining fitokimia pada fraksi n-heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi *aquadestilata* daun kenikir untuk memastikan metabolit sekunder yang terkandung pada tiap fraksi.
- 5.2.2 perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri daun kenikir terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif lain.
- 5.2.3 Perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi.
- 5.2.4 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bentuk sediaan obat untuk mengetahui efektifitas daun kenikir sebagai bahan baku obat tradisional.

DAFTAR PUSTAKA

- Abfidah, R. (2014). *Ekstraksi dan Uji Stabilitas Antosianin dari Daun Jati Muda (Tectona grandis L.F). Skripsi*. Pendidikan Kimia UIN Sultan Syarif Kasim Riau.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D. A., Bolling, B., & Wijaya, H. (2010). Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia. *Food Chemistry, 121*(4), 1231–1235.
- Angelica, N. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* (Nees & Th. Nees)) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Calyptra, 2*(2), 1–8.
- Aniq, A., Mutsaqof, N., Suryani, E., & Kom, S. S. M. (2015). *Sistem Pakar untuk Mendiagnosis Penyakit Infeksi Menggunakan Forward Chaining*. *4*(1), 43–47.
- Asita. (2014). Aktivitas Antibakteri Fraksi Nonpolar, Semipolar, dan Polar Ekstrak Etanol Daun Buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta Bioautografinya, *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2012). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *2009*, 310027.
- Atlas, M. R. (2010). *Microbiological Media* (4th Ed.). CRC Press.
- BPOM RI. (2012). Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak. In *Badan POM RI*.
- Chotiah, S. (2015). Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*. (L.)) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus epidermidis*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (II). Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Dewi, A. K. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(2). <https://doi.org/10.2105/Ajph.45.9.1138>
- Dwiyanti, & Lutpiatina, L. (2016). Mutu Bakteriologis Saus Tomat Pentol di Banjarbaru. *Med. Lab. Technol. J.*, 2(1), 1–5.
- Dwiyanti, W., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. (2014). Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* secara In Vitro. *Lenterabio*.
- Egra, S., Mardhiana, ., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. (2019). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 12(1), 26. <https://doi.org/10.21107/Agrovigor.V12i1.5143>
- Fatisa, Y. (2013). (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Peternakan*, 10(1), 31–38.
- Fitri, R., Oktiarni, D., & Arso, D. D. (2018). Eksplorasi Pengetahuan Obat Tradisional dalam Prespektif Hukum Kekayaan Intelektual di Bengkulu. *Mimbar Hukum - Fakultas Hukum Universitas Gadjah Mada*, 30(2), 304. <https://doi.org/10.22146/Jmh.31021>
- Fitriah, F., Mappiratu, M., & Prismawiryanti, P. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) dari Beberapa Tingkat Kepolaran Pelarut. *Kovalen*, 3(3), 242.
- Ghazali, I. (2011). *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program SPSS19*. BP Universitas Diponegoro.

- Gunawan, D. dan Mulyani, S. (2010). *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*. Penebar Swadaya.
- Handayani, S., *et al.* (2017). Penapisan Fitokimia Dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar (*Syzygium Jambos Aiston*). *Jf Fix Uninam*, 5(3), 179–180.
- Handayani, K., Putri, A. E., & Martha, R. D. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica papaya* Linn.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Pharmacy And Science*, 4(1).
- Hariana, A. (2013). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya.
- Hidayat, S, Rodame, M., N. (2015). *Kitab Tumbuhan Obat*. Swadaya.
- Huda, C., Putri, A. E., & Sari, D. W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari Maserat *Zibethinus Folium* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Sainhealth*, 3(1), 7. <https://doi.org/10.51804/Jsh.V3i1.333.7-14>
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2014). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vitro*. BPOM RI.
- Irianto, K. (2014). *Bakteriologi Medis, Mikologi Medis, dan Virologi Medis*. Alfabeta.
- Joen, S. T. N. (2020). Efektivitas Ekstrak Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron* L.) sebagai Antibakteri secara In Vitro. *Medical Journal Of Lampung University*, 9(2), 45.
- Kandoli, F., Abijulu, J., & Leman, M. (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Durian (*Durio zybethinus*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara In Vitro. *Pharmacon*, 5(1). <https://doi.org/10.35799/Pha.5.2016.11223>

- Karimela, E. J., Ijong, F. G., & Dien, H. A. (2017). Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang di Isolasi dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 188. <https://doi.org/10.17844/Jphpi.V20i1.16506>
- Kumayas, A. R., Silvia, W. D., & Sri, S. (2015). Aktifitas Antibakteri dan Karakteristik Gugus Fungsi dari Tunikata *Polycarpa aurata*. *Pharmakon*, 4(1), 32–44. <https://doi.org/10.35799/Pha.4.2015.6481>
- Laksono, T. A. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Sitotoksitas Ekstrak dan Fraksi Epifit Liken *Physcia Millegrana* terhadap Sel Kanker Payudara (MCF-7), *Skripsi*.
- Latifah. (2015). *Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur Kaempferia Galanga L. dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)*. *Skripsi*. Jurusan Kimia. Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim.
- Lesmana, H., Alifianur, Utami, P. A., & Darni. (2018). Pengobatan Tradisional Pada Masyarakat Tidung Kota Tarakan: Study Kualitatif Kearifan Lokal Bidang Kesehatan. *Medisains*, 16(1), 33.
- Lutpiatina, L., Amaliah, N. R., & Dwiyanti, R. D. (2017). Daya Hambat Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Meditory*, 5(2), 83–91. <http://ejournal.poltekkes-denpasar.ac.id>
- Mariana, L., Andayani, Y., & Gunawan, R. (2013). Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih. 6(2), 50–55. <https://doi.org/10.35799/Cp.6.2.2013.3494>
- Maulana, A. R., Triatmoko, B., & Hidayat, M. A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Waru Gunung (*Hibiscus macrophyllus*) dan Fraksinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *Pustaka Kesehatan*, 9(1), 48. <https://doi.org/10.19184/Pk.V9i1.16432>
- Mayang, A., & Santoso, B. S. (2020). Uji Toksisitas Akut Infusa Daun Sirsak

- (*Annona muricata*) Pada Larva Artemia Salina Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Pharmacy Medical Journal*, 3(1), 23–27.
- Melinda. (2014). *Aktivitas Antibakteri Daun Pacar (Lowsonia Inermis L)*, Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Mpila, D. ., Fatimawali, & Wiyono, W. I. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (*Coleus Atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In-Vitro. 13.
- Murdopo. (2014). Obat Herbal Tradisional. *Warta Ekspor*, 1–20. [Http://Djpen.Kemendag.Go.Id/App_Frontend/Admin/Docs/Publication/4651421058307.Pdf](http://Djpen.Kemendag.Go.Id/App_Frontend/Admin/Docs/Publication/4651421058307.Pdf)
- Musnaeni, N., & R, F. I. (2018). Uji Identifikasi Metabolit Sekunder Maserat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) dengan Variasi Pereaksi Kimia. 12(6), 589–592.
- Nadia, L., *et al.*, (2010). *Praktikum Kimia dan Analisis Pangan*. Universitas Terbuka.
- Ningtyas, M. J. M. (2020). Standarisasi Simplisa Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dari Tiga Daerah Berbeda. Widya Mandala Catholic University Surabaya. [Http://Repository.Wima.Ac.Id/Id/Eprint/20641](http://Repository.Wima.Ac.Id/Id/Eprint/20641)
- Novalina, D., Sugiyarto, S., & Susilowati, A. (2018). Aktivitas antibakteri kulit buah karika dieng terhadap shigella flexneri dan escherichia coli. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 7(2), 53-60.
- Novianti. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara In Vitro, *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Noviyanti. (2016). Pengaruh Kepolaran Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Brazil Batu (*Psidium guineense L.*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmako Bahari*, 7(1), 29–35.

- Nudiasari, V., Suhariyadi, & Istanto, W. (2019). Efektivitas Ekstraksi antara Maserasi dengan Digesti terhadap Kadar Flavonoid Buah Naga Putih (*Hylocereus undatus*). *ISSN: 2320 - 3635*, 8(1), 677–682.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Nurhidayati, S., Faturrahman, & Ghazali, M. (2015). Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus*. *Jurnal Sains Teknologi Dan Lingkungan*, 1(2), 24–30.
- Nurjanah, Laili Izzati, Dan A. A. (2011). Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen S Pp.*): *Vol. 16 (3)* (Pp. 119–124). Ilmu Kelautan.
- Nurrosyidah, I. H., Hermawati, R., & Asri, M. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanol Pegagan (*Centela asiatica L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Journal Of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-Pham)*, 1(2).
- Oktavia, J. D. (2011). Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Analisis Sidik Jari dengan Kromatografi Lapis Tipis, *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- POM, D. (2014). *Farmakope Indonesia Edisi V*. Depkes RI.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, And N-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana L.*) as Source Of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *JPSCR : Journal Of Pharmaceutical Science And Clinical Research*, 1(2), 71. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i2.1936>

- Priamsari, M. R., & Rokhana, A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* Secara In Vitro. *Journal of Pharmacy*, 9(2), 15–20.
- Puspita Sari, P., Susannah Rita, W., & Puspawati, N. (2015). Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea Saman* (Jacq.) Merr) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*, 9(1), 27–34.
- Radji, M. (2011). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Buku Kedokteran EGC.
- Rahman, A. (2014). *Studi In Natural Product Chemistry* (Vol. 41). Elsevier B.V.
- Rasdi, Nor Hafipah Md, *Et al.* (2010). Antimicrobial Studies of *Cosmos caudatus* Kunth. (Cpositae). *Journal Of Medicinal Plants Research*, 4(8), 669–673.
- Ratna, Y. R. D., Ardani, U. S., Fathiana, Z., Rahmatillah, A., K., I. T. D., & F. (2016). Daya Antibakteri Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Sensitif dan Multiresisten. *Aga*. 14(1), 103–110.
- Razak, A., Djamal, A., & Revilla, G. (2013). Artikel Penelitian Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. 2(1), 5–8.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*, 9, 196–202.
- Revianto, Rahayu, A., & Mulyaningsih, Y. (2016). Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) pada Berbagai Tingkat Naungan (Issue 2007, Pp. 76–83).
- Rina, W., Guswandi, & Harrizul, R. (2014). Pengaruh Cara Pengeringan dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung terhadap Mutu

- Simplisia Herba Sambiloto. *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), 126–133.
- Riwanti, P., Andayani, R., & Trinanda, L. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri *Sargassum polycystum* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Pharmacy And Science*, 6(1), 19–23.
- Rizqi Dwi Ratna, Y., Sita Ardani, U., Fathiana, Z., Rahmatillah, A., & Trisharyanti K, I. D. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Sensitif dan Multiresisten. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 57162(1), 103–110.
- Saputro, G. M. H. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) terhadap *Shigella flexneri*, Skripsi.
- Sari, E. R., Lely, N., & Septimarleti, D. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol dan Beberapa Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Bakteri Penyebab Disentri *Shigella* Sp. *Jurnal Penelitian Sains*, 20(1), 14–19.
- Sembiring, E., Sangi, M. S., & Suryanto, E. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Dari Biji Jagung (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*, 9(1), 14–20. <https://doi.org/10.35799/Cp.9.1.2016.13908>
- Setyawan, D. W. I. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri dari Daging Buah Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G. Forst) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli*.
- Sharifuldin, M. B. M. . (2014). Profiling and Qualification of *Cosmos caudatus* Kunth. and *Centella asiatica* Linn and In Vitro Anti Cancer Activity of *Cosmos caudatus*.
- Sidabutar, R. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan Metode Difusi Agar. Skripsi.

- Simanjuntak, S. R. (2018). Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*. Poltekkes Kemenkes Medan Jurusan Farmasi.
- Sudarmi, K., Darmayasa, I. B. G., & Muksin, I. K. (2017). Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Symbiosis Journal Of Biological Sciences*, 5(2), 47
- Susanty, F. B. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). 5(2), 87–93.
- Syahrurrahman, A. (2010). *Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara.
- Tantrayana, P. B., & Zubaidah, E. (2015). Karakteristik Fisik- Kimia dari Ekstrak Salak Gula Pasir dengan Metode Maserasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(4), 1608–1619.
- Theodora, C. T., Gunawan, I. W. G., & Swantara, I. M. D. (2019). Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid pada Ekstrak Etil Asetat Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal Kimia*, 131.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., K. G. & K. H. (2011). *Phytochemical Screening and Extraction: a Review*, *International Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 98-106.
- Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A. N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (*Kirby-Bauer*). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136–143.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks[4]Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*,

3(3), 201. <https://doi.org/10.20961/jkpk.v3i3.22742>

Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.V07.I04.P08>

Wijaya, H., Novitasari, & Siti, J. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manutung*, 4(1), 79–83.

Yunita, D. W. (2012). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Atcc 25923, *Shigella sonnei* Atcc 9290, dan *Escherichia coli* Atcc 25922, *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Daun Kenikir

	<p style="text-align: center;">PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR DINAS KESEHATAN UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU Jalan Labor No.87 Telp. (0341) 593396, e-mail: materiamedicabatu@jatimprov.go.id KOTA BATU 65313</p>
Nomor	: 074/ 595A/ 102.7/ 2020
Sifat	: Biasa
Perihal	: Determinasi Tanaman Kenikir
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama	: IRNA NUR LAILATUL KHOLISHOH
NIM	: 1713206016
Fakultas	: FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman kenikir

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: Cosmos
Spesies	: <i>Cosmos caudatus</i> Kunth
Nama Daerah	: Kenikir, curing (Indonesia), ulam raja (Melayu), kenikir (Jawa Tengah).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43a-44b-45a-46a-1b-12a-13b-15a

2. Morfologi : Habitus: Perdu, tinggi 75-100 cm, bau khas. Batang: Tegak, segi empat, berahur membujur, bercabang banyak, muda berbulu, beruas, hijau keunguan. Daun: Majemuk, bersilang berhadapan, berbagi menyirip, ujung runcing, tepi rata, panjang 15-25 cm, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk bongkol, di ujung batang, tangkai panjang ± 25 cm, mahkota terdiri dari 8 daun mahkota, panjang ± 1 cm, merah, benang sari bentuk tabung, kepala sari coklat kehitaman, putik berambut, hijau kekuningan, tnerah. Buah: Keras, bentuk jarum, ujung berambut, masih muda hijau setelah tua coklat. Biji: Keras, kecil, bentuk jarum, panjang ± 1 cm, hitam. Akar: Tunggang, putih.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johnny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 22 Desember 2020

KPPA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU


AHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 2. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
 BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
 Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388
 Website : bblksurabaya.id; Surat elektronik : bblksub@yahoo.co.id



Surabaya, 24 Maret 2021

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Monicca Vabbella Damayanti
 Institusi : STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 24 Februari 2021
 Keperluan : Penelitian Tugas Akhir
 Keterangan dan Hasil Uji Biokimia bakteri :
 Bakteri : *Staphylococcus aureus*
 ATCC : ATCC 25923
 Passage : #3

Hasil Uji Biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

No	Jenis Uji	Hasil
1	Pengecatan Gram	Gram positif coccus bergerombol
2	Glukose	Positif (+)
3	Sukrose	Positif (+)
4	Manitol	Positif (+)
5	Katalase	Positif (+)
6	Koagulase	Positif (+)
7	DNase	Positif (+)
8	Haemolisa	β Haemolitik



dr. Titiek S. M.Ked Klin, Sp.MK
 NIP. 198207262010122002



Management System
 ISO 9001:2015
 www.tuv.com
 ID 919930917



Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Dan Fraksi Daun Kenikir



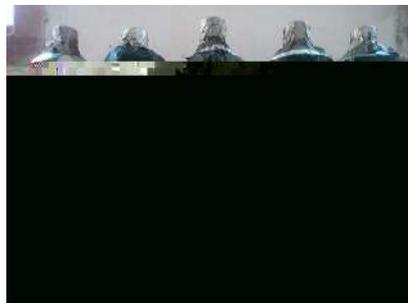
Pengambilan daun kenikir



Serbuk daun kenikir



Proses maserasi daun kenikir



Proses remaserasi daun kenikir



Penyaringan maserat daun kenikir



Ekstrak kental daun kenikir



Proses fraksinasi daun kenikir



Fraksi daun kenikir

2. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir



Flavonoid



Saponin



Tanin

3. Skrining Fitokimia Fraksi Daun Kenikir

3.1 Skrining fitokimia fraksi n-heksana



Flavonoid



Saponin



Tanin

3.2 Skrining fitokimia fraksi diklorometana



Flavonoid



Saponin



Tanin

3.3 Skrining fitokimia fraksi aquadestilata



Flavonoid



Saponin



Tanin

4. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*



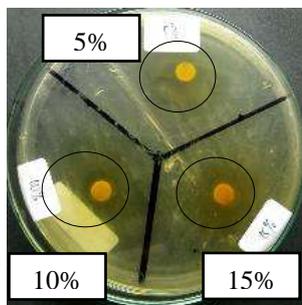
Peremajaan Bakteri



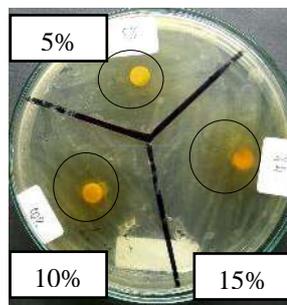
Suspensi Bakteri

5. Orientasi Konsentrasi Ekstrak Daun Kenikir

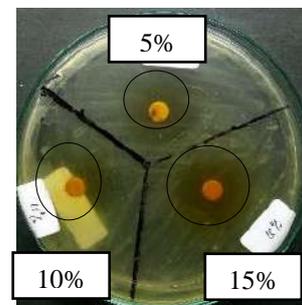
5.1 Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir



Replikasi 1

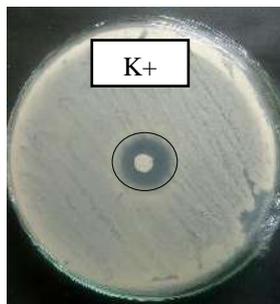


Replikasi 2

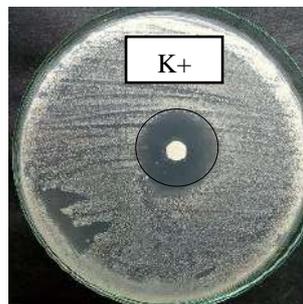


Replikasi 3

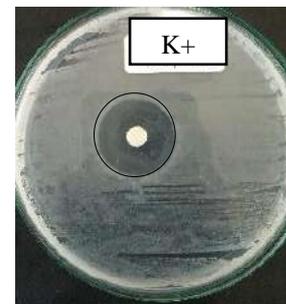
5.2 Kontrol positif



Replikasi 1

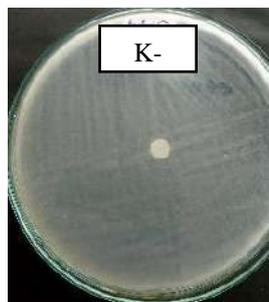


Replikasi 2

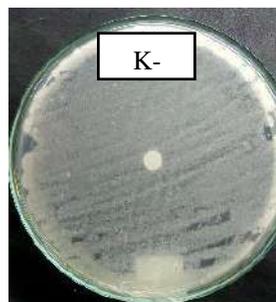


Replikasi 3

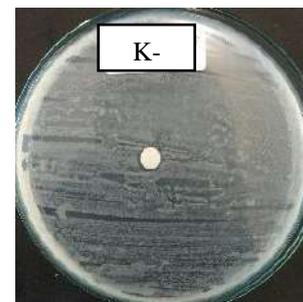
5.3 Kontrol negatif



Replikasi 1



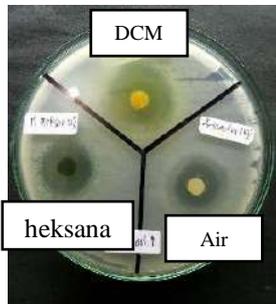
Replikasi 2



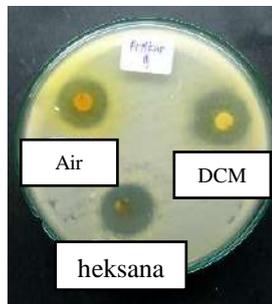
Replikasi 3

6. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kenikir

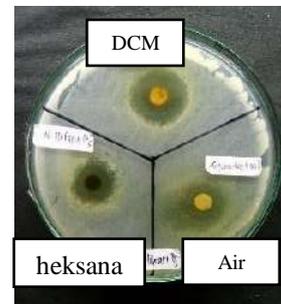
6.1 Uji aktivitas antibakteri fraksi daun kenikir



Replikasi 1

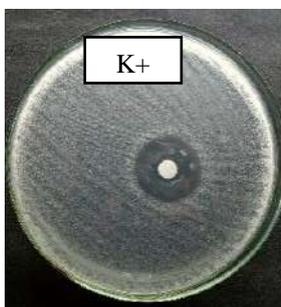


Replikasi 2

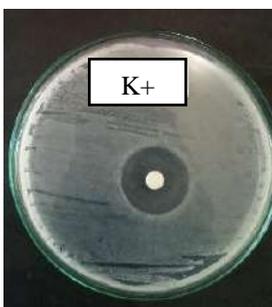


Replikasi 3

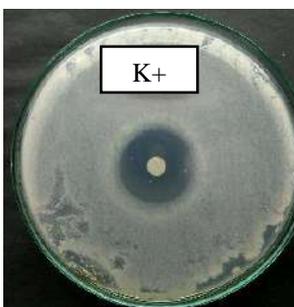
6.2 Kontrol positif



Replikasi 1



Replikasi 2

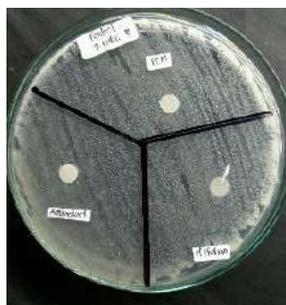


Replikasi 3

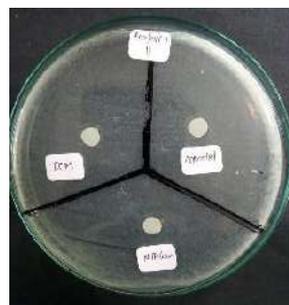
6.3 Kontrol negatif



Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Pembuatan Nutrient Broth (NB)

$$\text{Gram} = \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{Volume}$$

$$\text{Gram} = \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml}$$

$$\text{Gram} = 0,08 \text{ gram}$$

2. Pembuatan Nutrient Agar (NA)

$$\text{Gram} = \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{Volume}$$

$$\text{Gram} = \frac{20}{1000} \times 10 \text{ ml}$$

$$\text{Gram} = 0,2 \text{ gram}$$

Lampiran 5. Perhitungan Hasil

1. Penetapan Kadar Air Serbuk Simplisia

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	Hasil
Daun kenikir	10,00 g	9,21 g	7,9%

Rumus:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{10,00 \text{ g} - 9,21 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air} = 7,9\%$$

2. Rendemen Rendemen Ekstrak Daun Kenikir

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun kenikir	500 g	57,45 g	11,49%

Rumus:

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{57,45 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = 11,49\%$$

3. Rendemen Fraksi Daun Kenikir

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Hasil
Fraski n-heksan	5 g	1,34 g	26,8%
Fraski diklorometana	5 g	1,56 g	31,2%
Fraski <i>aquadestilata</i>	5 g	2,12 g	42,4%

Rumus:

$$\% \text{ Rendemen Fraksi} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi n-heksan} = \frac{1,34}{5} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi n-heksan} = 26,8\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi Diklorometan} = \frac{1,56 \text{ g}}{5} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi Diklorometan} = 31,2\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi Aquadestilata} = \frac{2,12 \text{ g}}{5} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi aquadestilata} = 42,4\%$$

Lampiran 6. Hasil Orientasi Ekstrak Daun Kenikir

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	1	2	3	
Ekstrak etanol daun kenikir 5%	17	16,3	16,5	16,60±0,360
Ekstrak etanol daun kenikir 10%	19,3	19,5	21,5	20,10±1,217
Ekstrak etanol daun kenikir 15%	21	21,5	22,5	21,67± 0,764
Kontrol positif kloramfenikol	21,5	23	23,5	22,67±1,040
Kontrol negatif	0	0	0	00,00±0,000

Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kenikir

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	1	2	3	
Fraksi n-heksana 10%	17	18,5	17,5	17,67±0,764
Fraksi diklorometana 10%	21,5	21	22,5	21,67±0,764
Fraksi <i>aquadestilata</i> 10%	20,5	19	19,5	19,67±0,764
Kontrol positif kloramfenikol	21,5	22	22,5	22,00±0,500
Kontrol negatif n-heksana	0	0	0	00,00±0,000
Kontrol negatif diklorometana	0	0	0	00,00±0,000
Kontrol negatif <i>aquadestilata</i>	0	0	0	00,00±0,000

Lampiran 8. Analisis Statistik Ekstrak

1. Tabel Input Data

The screenshot shows the SPSS Data Editor interface. The 'Data View' tab is active, displaying a data grid with 25 rows and 17 columns. The first two columns are labeled 'Ekstrak' and 'Zonahambat'. The data for 'Ekstrak' ranges from 1.00 to 5.00, and for 'Zonahambat' from 17.00 to 0.00. The remaining 15 columns are labeled 'var'.

	Ekstrak	Zonahambat	var													
1	1.00	17.00														
2	1.00	16.30														
3	1.00	16.50														
4	2.00	19.30														
5	2.00	19.50														
6	2.00	21.50														
7	3.00	21.00														
8	3.00	21.50														
9	3.00	22.50														
10	4.00	21.50														
11	4.00	23.00														
12	4.00	23.50														
13	5.00	0.00														
14	5.00	0.00														
15	5.00	0.00														
16																
17																
18																
19																
20																
21																
22																
23																
24																
25																

2. Tabel Normalitas Data

Tests of Normality ^b							
Ekstrak		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona hambatan	Ekstrak 5%	.276	3	.	.942	3	0.537
	Ekstrak 10%	.356	3	.	.818	3	0.157
	Ekstrak 15%	.253	3	.	.964	3	0.637
	Kontrol +	.292	3	.	.923	3	0.463

3. Tabel Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances				
Zona hambatan	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	4.353	4	10	0.273

Descriptives						
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 5%	3	16.6000	0.36056	.20817	15.7043	17.4957
Ekstrak 10%	3	20.1000	1.21655	.70238	17.0779	23.1221
Ekstrak 15%	3	21.6667	0.76376	.44096	19.7694	23.5640

Kontrol +	3	22.6667	1.04083	.60093	20.0811	25.2522
Kontrol -	3	0.00000	0.00000	.00000	.0000	.0000
Total	15	16.2067	8.68122	2.24148	11.3992	21.0142

4. Tabel Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak Daun Kenikir

5. Analisis *One Way Anova*

ANOVA					
Zona Hambat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35,729	3	11,910	27,222	0,000
Within Groups	3,500	8	,438		
Total	39,229	11			

6. Analisis Post Hoc

Multiple Comparisons						
Zonahambat						
Tukey HSD						
(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 5%	Ekstrak 10%	-3.50000*	.66098	0.003	-5.6753	-1.3247
	Ekstrak 15%	-5.06667*	.66098	0.000	-7.2420	-2.8913
	Kontrol +	-6.06667*	.66098	0.000	-8.2420	-3.8913
	Kontrol -	16.60000*	.66098	0.000	14.4247	18.7753
Ekstrak 10%	Ekstrak 5%	3.50000*	.66098	0.003	1.3247	5.6753
	Ekstrak 15%	-1.56667	.66098	0.201	-3.7420	.6087
	Kontrol +	-2.56667*	.66098	0.020	-4.7420	-.3913
	Kontrol -	20.10000*	.66098	0.000	17.9247	22.2753
Ekstrak 15%	Ekstrak 5%	5.06667*	.66098	0.000	2.8913	7.2420
	Ekstrak 10%	1.56667	.66098	0.201	-.6087	3.7420
	Kontrol +	-1.00000	.66098	0.577	-3.1753	1.1753
	Kontrol -	21.66667*	.66098	0.000	19.4913	23.8420
Kontrol +	Ekstrak 5%	6.06667*	.66098	0.000	3.8913	8.2420
	Ekstrak 10%	2.56667*	.66098	0.020	.3913	4.7420
	Ekstrak 15%	1.00000	.66098	0.577	-1.1753	3.1753
	Kontrol -	22.66667*	.66098	0.000	20.4913	24.8420
Kontrol -	Ekstrak 5%	-16.60000*	.66098	0.000	-18.7753	-14.4247
	Ekstrak 10%	-20.10000*	.66098	0.000	-22.2753	-17.9247
	Ekstrak 15%	-21.66667*	.66098	0.000	-23.8420	-19.4913
	Kontrol +	-22.66667*	.66098	0.000	-24.8420	-20.4913

7. Tabel Subsets

Zona hambat					
Tukey HSD					
Ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol -	3	.0000			
Ekstrak 5%	3		16.6000		
Ekstrak 10%	3			20.1000	
Ekstrak 15%	3			21.6667	21.6667
Kontrol +	3				22.6667
Sig.		1.000	1.000	0.201	0.577

Lampiran 9. Analisis Statistik Fraksi Daun kenikir

1. Tabel Input Data

	Fraksi	zona_hambat	var													
1	1.00	17.00														
2	1.00	18.50														
3	1.00	17.50														
4	2.00	21.50														
5	2.00	21.00														
6	2.00	22.50														
7	3.00	20.50														
8	3.00	19.00														
9	3.00	19.50														
10	4.00	21.50														
11	4.00	22.00														
12	4.00	22.50														
13	5.00	0.00														
14	5.00	0.00														
15	5.00	0.00														
16	6.00	0.00														
17	6.00	0.00														
18	6.00	0.00														
19	7.00	0.00														
20	7.00	0.00														
21	7.00	0.00														
22																
23																
24																
25																

2. Tabel Rata-Rata Zona Hambat Fraksi Daun Kenikir

Descriptives						
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana	3	17.6667	0.76376	.44096	15.7694	19.5640
diklorometana	3	21.6667	0.76376	.44096	19.7694	23.5640
aquadestilata	3	19.6667	0.76376	.44096	17.7694	21.5640
kontrol (+) kloramfenikol	3	22.0000	0.50000	.28868	20.7579	23.2421
kontrol (-) n-heksana	3	0.0000	0.00000	.00000	.0000	.0000
kontrol (-) diklorometana	3	0.0000	0.00000	.00000	.0000	.0000
kontrol (-) aquadestilata	3	0.0000	0.00000	.00000	.0000	.0000
Total	21	11.5714	10.36615	2.26208	6.8528	16.2900

3. Tabel Normalitas

Tests of Normality ^{b,c,d}						
Fraksi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona hambat n-heksana	.253	3	.	.964	3	0.637
diklorometana	.253	3	.	.964	3	0.637
aquadestilata	.253	3	.	.964	3	0.637
Kontrol (+) kloramfenikol	.175	3	.	1.000	3	1.000

4. Tabel Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Zona hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.667	6	14	0.773

5. Analisis *One Way Anova*

ANOVA					
Zona hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2145.143	6	357.524	1.251	0.000
Within Groups	4.000	14	.286		
Total	2149.143	20			

6. Tabel Analisis *Post Hoc*

Multiple Comparisons						
Zona hambat						
Tukey HSD						
(I) Fraksi	(J) Fraksi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana	diklorometana	-4.00000*	.43644	0.000	-5.4902	-2.5098
	aquadestilata	-2.00000*	.43644	0.006	-3.4902	-.5098
	kontrol positif kloramfenikol	-4.33333*	.43644	0.000	-5.8236	-2.8431
	kontrol negatif n-heksana	17.66667*	.43644	0.000	16.1764	19.1569
	kontrol negatif diklorometana	17.66667*	.43644	0.000	16.1764	19.1569
	kontrol negatif aquadestilata	17.66667*	.43644	0.000	16.1764	19.1569
diklorometana	n-heksana	4.00000*	.43644	0.000	2.5098	5.4902
	aquadestilata	2.00000*	.43644	0.006	.5098	3.4902
	kontrol positif kloramfenikol	-.33333	.43644	0.985	-1.8236	1.1569
	kontrol negatif n-heksana	21.66667*	.43644	0.000	20.1764	23.1569
	kontrol negatif diklorometana	21.66667*	.43644	0.000	20.1764	23.1569
	kontrol negatif aquadestilata	21.66667*	.43644	0.000	20.1764	23.1569
aquadestilata	n-heksana	2.00000*	.43644	0.006	.5098	3.4902

	diklorometana	-2.00000*	.43644	0.006	-3.4902	-.5098
	kontrol positif kloramfenikol	-2.33333*	.43644	0.002	-3.8236	-.8431
	kontrol negatif n-heksana	19.66667*	.43644	0.000	18.1764	21.1569
	kontrol negatif diklorometana	19.66667*	.43644	0.000	18.1764	21.1569
	kontrol negatif aquadestilata	19.66667*	.43644	0.000	18.1764	21.1569
kontrol positif kloramfenikol	n-heksana	4.33333*	.43644	0.000	2.8431	5.8236
	diklorometana	.33333	.43644	0.985	-1.1569	1.8236
	aquadestilata	2.33333*	.43644	0.002	.8431	3.8236
	kontrol negatif n-heksana	22.00000*	.43644	0.000	20.5098	23.4902
	kontrol negatif diklorometana	22.00000*	.43644	0.000	20.5098	23.4902
	kontrol negatif aquadestilata	22.00000*	.43644	0.000	20.5098	23.4902
kontrol negatif n-heksana	n-heksana	-17.66667*	.43644	0.000	-19.1569	-16.1764
	diklorometana	-21.66667*	.43644	0.000	-23.1569	-20.1764
	aquadestilata	-19.66667*	.43644	0.000	-21.1569	-18.1764
	kontrol positif kloramfenikol	-22.00000*	.43644	0.000	-23.4902	-20.5098
	kontrol negatif diklorometana	.00000	.43644	1.000	-1.4902	1.4902
	kontrol negatif aquadestilata	.00000	.43644	1.000	-1.4902	1.4902
kontrol negatif diklorometana	n-heksana	-17.66667*	.43644	0.000	-19.1569	-16.1764
	diklorometana	-21.66667*	.43644	0.000	-23.1569	-20.1764
	aquadestilata	-19.66667*	.43644	0.000	-21.1569	-18.1764
	kontrol positif kloramfenikol	-22.00000*	.43644	0.000	-23.4902	-20.5098
	kontrol negatif n-heksana	.00000	.43644	1.000	-1.4902	1.4902
	kontrol negatif aquadestilata	.00000	.43644	1.000	-1.4902	1.4902
kontrol negatif aquadestilata	n-heksana	-17.66667*	.43644	0.000	-19.1569	-16.1764
	diklorometana	-21.66667*	.43644	0.000	-23.1569	-20.1764
	aquadestilata	-19.66667*	.43644	0.000	-21.1569	-18.1764
	kontrol positif kloramfenikol	-22.00000*	.43644	0.000	-23.4902	-20.5098
	kontrol negatif n-heksana	.00000	.43644	1.000	-1.4902	1.4902
	kontrol negatif diklorometana	.00000	.43644	1.000	-1.4902	1.4902

7. Tabel Subsets Homogeneous

Zona Hambat					
Tukey HSD					
Fraksi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif n-heksana	3	.0000			
kontrol negatif diklorometana	3	.0000			
kontrol negatif aquadestilata	3	.0000			
n-heksana	3		17.6667		
aquadestilata	3			19.6667	
diklorometana	3				21.6667
kontrol positif kloramfenikol	3				22.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.985