

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus Kunth.*) SECARA DIFUSI TERHADAP
BAKTERI *Bacillus Cereus***

SKRIPSI



**Oleh :
MONICCA VABELLA DAMAYANTI
1713206020**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus Kunth.*) SECARA DIFUSI TERHADAP
BAKTERI *Bacillus Cereus***

SKRIPSI

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



**Oleh :
MONICCA VABELLA DAMAYANTI
1713206020**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2021**

LEMBAR PERSETUJUAN

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus Kunth.*) SECARA DIFUSI TERHADAP
BAKTERI *Bacillus Cereus***

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

**MONICCA VABELLA DAMAYANTI
1713206020**

Tanggal : 21 juli 2021

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Apt. Choirul Huda, M.Farm.
NIDN. 072 603 8502

Rahma Diyan Martha, S.Si. M.Sc.
NIDN. 071 002 9107

LEMBAR PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus Kunth.*) SECARA DIFUSI TERHADAP
BAKTERI *Bacillus Cereus***

SKRIPSI

Oleh:

**MONICCA VABELLA DAMAYANTI
1713206020**

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

Tanggal : 21 juli 2021

Ketua Penguji	: Apt. Choirul Huda, M.Farm.	(.....)
Anggota Penguji	: 1. Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc.	(.....)
	2. Apt. Alfian Syarifuddin, M.Farm.	(.....)
	3. Apt. Amalia Eka Putri, M.Farm	(.....)

Mengetahui,
Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi 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, 09 Juni 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Monicca', with a stylized flourish extending to the right.

Monicca Vabella Damayanti

KATA PENGANTAR



Assalamu ‘alaikum warrahmatullahi wabarakatuh.

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya, penulis dapat menyelesaikan proposal dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus Kunth.*) Secara Difusi Terhadap Bakteri *Bacillus Cereus*” ini dengan baik meskipun banyak kekurangan. Proposal ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa.

Penyusunan proposal ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan banyak pihak, baik secara moril maupun materiil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

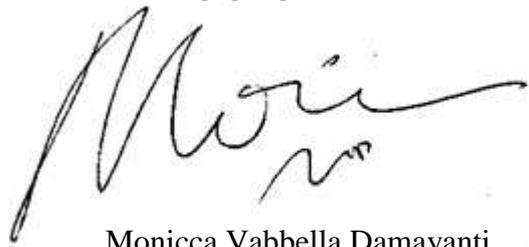
1. Diri saya sendiri karena telah berhasil menyelesaikan skripsi ini tepat waktu.
2. Orang tua saya Bapak Lamidi dan Ibu Sutiya yang memberikan dukungan semangat, do’a dan selalu membantu baik moril maupun materiil selama penyusunan proposal dengan penuh ketulusan dan kesabaran.
3. Sahabat terbaik saya Pransiska Setyobudi yang memberikan dukungan semangat, do’a dengan penuh ketulusan dan kesabaran.
4. Apt. Choirul Huda, M.Farm. selaku pembimbing I yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama penyusunan proposal.
5. Rahma Diyan M, S.Si., M. Sc. selaku pembimbing II yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama penyusunan proposal.
6. Seluruh keluarga besar saya, teman dan sahabat, serta rekan-rekan Angkatan 2017 Jurusan Farmasi yang telah memberikan dukungan semangat dan do’a yang tulus.

7. Saudara MAPALA Green Edelweis yang telah memberikan motivasi dan telah banyak memberikan bantuan selama penyusunan proposal.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa proposal skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk memperbaiki proposal skripsi. Penulis berharap semoga proposal skripsi ini bisa memberi manfaat bagi pembaca dan menambah pengetahuan bagi semua pihak. Terima kasih.

Wassalamu 'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh.

Tulungagung, 09 Juni 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Monicca', with a stylized flourish extending to the right.

Monicca Vabella Damayanti

PERSEMBAHAN

*Dear myself,
Thank you for fighting so hard, thank you for trying not to give up
and also thank you for completing the study on time.*

*Dear my mother,
I love you mom
and thank you, for all your struggles,
thank you, because of you I can be like this now <3.*

*Dear my lil sis,
do you know if you're cute, dear?
but also annoying at the same time :D You are my besties
always there anytime and anywhere, until I get bored of it :D
but i love you my lil sis.*

*And last but not least, THANK GOD
for everything i've done. I am nothing without you.*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUNG	
HALAMAN JUDUL.....	I
LEMBAR PERSETUJUAN.....	II
LEMBAR PENGESAHAN	III
PERNYATAAN.....	IV
KATA PENGANTAR	V
PERSEMBAHAN	VII
DAFTAR ISI.....	VIII
DAFTAR TABEL.....	XI
DAFTAR GAMBAR	XII
DAFTAR LAMPIRAN.....	XIII
INTISARI.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Daun Kenikir (<i>Cosmos caudatus Kunth.</i>)	5
2.1.1 Morfologi	5
2.1.2 Klasifikasi	6
2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia.....	6
2.1.4 Manfaat atau Khasiat.....	7
2.2 Kandungan Senyawa Daun Kenikir.....	8
2.2.1 Flavonoid	8
2.2.2 Alkaloid.....	9
2.2.3 Saponin.....	10
2.2.4 Tanin	11
2.3 Simplisia.....	12
2.3.1 Pengertian Simplisia.....	12
2.3.2 Syarat-syarat Simplisia	12
2.3.3 Persiapan Simplisia	13
2.3.4 Penghalusan Simplisia	14
2.4 Ekstraksi	15
2.4.2 Metode yang termasuk cara dingin	16
2.4.3 Metode yang termasuk cara panas	16
2.5 Bakteri	20
2.5.1 Definisi Bakteri	20
2.5.2 Penggolongan Bakteri	20
2.6 <i>Bacillus cereus</i>	21
2.6.1 Morfologi	21
2.6.2 Klasifikasi	22

2.6.3 Patofisiologi	22
2.7 Antibakteri.....	23
2.7.1 Definisi.....	23
2.7.2 Mekanisme Kerja	23
2.8 Uji Aktivitas Antibakteri.....	24
2.8.1 Metode Difusi	25
2.8.2 Metode Dilusi.....	26
2.9 Obat golongan Antibakteri.....	27
2.9.1 Kontrol Positif (Tetrasiklin).....	27
2.9.2 Karakteristik Tetrasiklin.....	28
2.10 Hipotesis.....	29
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
3.1 Bahan dan Alat.....	30
3.1.1 Bahan	30
3.1.2 Alat.....	30
3.2 Populasi Penelitian	30
3.3 Sampel Penelitian.....	30
3.4 Variabel Penelitian	31
3.4.1 Variabel bebas.....	31
3.4.2 Variabel kontrol	31
3.4.3 Variabel terikat.....	31
3.5 Metode Penelitian.....	31
3.5.1 Determinasi tanaman.....	31
3.5.2 Pembuatan simplisia daun kenikir	32
3.5.3 Pemeriksaan karakteristik simplisia daun kenikir.....	32
3.5.4 Pembuatan ekstrak daun kenikir	33
3.5.5 Pemeriksaan karakteristik ekstrak daun kenikir.....	33
3.5.6 Skrining fitokimia ekstrak daun kenikir.....	34
3.5.7 Uji daya hambat bakteri ekstrak daun kenikir.....	35
3.6 Analisis Statistika.....	38
3.6.1 Uji normalitas data	38
3.6.2 Uji homogenitas	39
3.6.3 Uji one way anova.....	39
3.6.4 Uji korelasi	40
3.7 Kerangka penelitian	41
3.8 Jadwal penelitian.....	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1 Determinasi Tanaman Kenikir	43
4.2 Pembuatan Simplisia Serbuk Daun Kenikir.....	43
4.2.1 Uji susut pengeringan simplisia	43
4.2.2 Uji kadar air simplisia	44
4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kenikir.....	45
4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Daun Kenikir	45
4.4.1 Uji rendemen ekstrak daun kenikir	45
4.4.2 Organoleptik ekstrak daun kenikir	46
4.4.3 Uji bebas etanol ekstrak daun kenikir	46

4.5 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir	47
4.5.1 Skrining fitokimia ekstrak daun kenikir.....	47
4.6 Uji Identifikasi Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	50
4.6.1 Uji identifikasi pewarnaan	50
4.6.2 Uji katalase.....	50
4.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir (<i>Cosmos caudatus Kunth.</i>) Terhadap Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	51
BAB V PENUTUP.....	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN.....	64

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Susanto <i>et al.</i> , 2012)	26
Tabel 3. 1 Jadwal pelaksanaan penelitian	42
Tabel 4. 1 Hasil uji susut pengeringan simplisia daun kenikir	44
Tabel 4. 2 Hasil uji kadar air simplisia serbuk daun kenikir.....	44
Tabel 4. 3 Hasil uji rendemen ekstrak daun kenikir.....	46
Tabel 4. 4 Hasil uji bebas etanol ekstrak daun kenikir	46
Tabel 4. 5 Hasil uji skrining fitokimia daun kenikir	47
Tabel 4. 6 Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir (<i>Cosmos caudatus Kunth.</i>) terhadap bakteri <i>Bacillus cereus</i>	52
Tabel 4. 7 Hasil Uji post hoc pada metode one way anova	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Herba Kenikir.....	5
Gambar 2. 2 Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	22
Gambar 3. 1 Kerangka penelitian.....	41
Gambar 4.1 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir Sebelum Dan Sesudah Ditambahkan Larutan Pereaksi	47
Gambar 4. 2 Mekanisme Reaksi Uji Skrining Fitokimia Flavonoid.....	48
Gambar 4. 3 Mekanisme Reaksi Uji Skrining Fitokimia Alkaloid.....	48
Gambar 4. 4 Mekanisme Reaksi Uji Skrining Fitokimia Tanin	49
Gambar 4. 5 Mekanisme Uji Skrining Fitokimia Saponin.....	49
Gambar 4. 6 Hasil Uji Pewarnaan Bakteri <i>Bacillus Cereus</i>	50
Gambar 4. 7 Hasil Uji Katalase Bakteri <i>Bacillus Cereus</i>	51
Gambar 4. 8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Daun Kenikir (<i>Cosmos caudatus Kunth.</i>).....	64
Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian.....	65
Lampiran 3 Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri.....	68
Lampiran 4 Hasil Orientasi	69
Lampiran 5 Hasil Analisis.....	70
Lampiran 6 Alur Prosedur Kerja.....	72

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus Kunth.*) SECARA DIFUSI TERHADAP
BAKTERI *Bacillus Cereus***

**Monicca Vabella Damayanti
Program Studi S1 Farmasi**

INTISARI

Daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) mengandung senyawa aktif yaitu fenol, flavonoid, tanin, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri. Senyawa aktif tersebut dapat mengganggu permeabilitas membran sel, mengganggu pembentukan peptidoglikan atau dinding sel, mendenaturasi protein dan inaktivasi enzim pada sel bakteri. Ekstrak daun kenikir terbukti menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Bacillus cereus* yang menjadi penyebab keracunan makanan. *Bacillus cereus* menurut beberapa ilmuwan adalah pembentuk spora, aerobik hingga fakultatif, Gram-positif, motile rod yang dapat dipisahkan dari berbagai variasi yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) metode soxhletasi terhadap bakteri *bacillus cereus* secara in vitro dengan variasi konsentrasi ekstrak 10%, 20%, dan 30%. Tetrasiklin HCl 0,25% digunakan sebagai K+ karena mekanisme kerjanya sama dengan senyawa alkaloid. Zona hambat sampel dikategorikan dalam rentang diameter yang dihasilkan, meliputi ≥ 21 mm termasuk kategori sangat kuat, 11-20 mm termasuk kategori kuat, 6-10 mm termasuk kategori sedang, dan < 5 mm termasuk kategori lemah. Hasil uji menunjukkan rata-rata zona hambat ekstrak daun kenikir pada variasi konsentrasi 10%, 20%, dan 30%, berturut-turut sebesar $17,33 \pm 1,25$ mm, $17,16 \pm 1,04$ mm, dan $17,33 \pm 1,04$ mm. Ekstrak daun kenikir mempunyai aktivitas antibakteri dengan kategori daya hambat yang dihasilkan kuat, dengan konsentrasi hambat optimum pada konsentrasi 30%.

Kata kunci : antibakteri, soxhletasi, ekstrak, kenikir, *Bacillus cereus*

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF KENIKIR LEAF EXTRACT
(*Cosmos caudatus Kunth.*) BY DIFFUSION AGAINST
Bacillus cereus bacteria**

**Monicca Vabella Damayanti
Pharmacy S1 Study Program**

ABSTRACT

Kenikir leaves (*Cosmos caudatus Kunth.*) contain active compounds, namely phenols, flavonoids, tannins, and saponins that function as antibacterial. These active compounds can interfere with the permeability of cell membranes, interfere with the formation of peptidoglycan or cell walls, denature proteins and inactivate enzymes in bacterial cells. Kenikir leaf extract has been shown to produce an inhibitory zone against the bacterium *Bacillus cereus* which causes food poisoning. *Bacillus cereus* according to some scientists is a spore-forming, aerobic to facultative, Gram-positive, motile rod that can be separated from different variations. This study aims to determine the antibacterial activity of kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) leaf extract against *Bacillus cereus* in vitro with various extract concentrations of 10%, 20%, and 30%. Tetracycline HCl 0.25% is used as K+ because its mechanism of action is the same as that of alkaloids. The inhibition zone of the sample was categorized in the resulting diameter range, including 21 mm including the very strong category, 11-20 mm including the strong category, 6-10 mm including the medium category, and <5 mm including the weak category. The test results showed the average inhibition zone of kenikir leaf extract at various concentrations of 10%, 20%, and 30%, respectively 17.33±1.25 mm, 17.16±1,04 mm, and 17.33±1,04 mm. Kenikir leaf extract has antibacterial activity in the category of strong inhibitory power, with the optimum inhibitory concentration at a concentration of 30%.

Keywords: antibacterial, soxhletation, extract, kenikir, *Bacillus cereus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan hayati terbesar di dunia yang memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman tingkat tinggi. Hingga saat ini, tercatat 7000 spesies tanaman telah diketahui khasiatnya namun kurang dari 300 tanaman yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi secara regular. WHO pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk masih menggantungkan sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit (Saifudin, 2011).

Permenkes RI No. 007 Tahun 2012, menyatakan bahwa obat tradisional digunakan untuk berbagai pengobatan yang dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat secara turun temurun. Ramuan bahan untuk membuat obat tradisional berasal dari sediaan sarian, tumbuhan, hewan, mineral, atau campuran dari beberapa bahan tersebut (Permenkes RI, 2012).

Salah satu tumbuhan yang umum dijumpai dan termasuk tanaman liar adalah kenikir (Dwiyanti *et al.*, 2012). Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) merupakan salah satu keanekaragaman hayati yang berpotensi sebagai tumbuhan obat (Saranraj and Sivasakthi, 2014). Bagian muda daun kenikir biasanya digunakan masyarakat sebagai lalapan atau dijadikan makanan pembuka karena memiliki rasa dan aroma yang khas (Lutpiatina *et al.*, 2017).

Daun kenikir mengandung senyawa aktif yaitu fenol, flavonoid, tanin dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri (Lutpiatina *et al.*, 2017). Uji fitokimia yang dilakukan oleh peneliti terdahulu, daun kenikir yang diekstrak menggunakan etanol dan pelarut lain menunjukkan adanya senyawa aktif flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri yang berpotensi sebagai antimikroba (Dwiyanti *et al.*, 2012).

Bacillus cereus menurut beberapa ilmuwan adalah pembentuk spora, aerobik hingga fakultatif, Gram-positif, motile rod yang dapat dipisahkan dari berbagai variasi yang berbeda (Kotiranta et al., 2000). *Bacillus cereus* sering ditemukan pada nasi basi dan dapat tumbuh pada makanan siap santap dan membentuk toksin (Ruriani and Nurhayati, 2010).

Metode ekstraksi bertujuan untuk melakukan pemisahan komponen-komponen senyawa aktif tumbuhan dalam larutan berdasarkan perbedaan kelarutannya (Senduk *et al.*, 2020). Soxhletasi merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut murni dengan prinsip penyarian berulang, sehingga proses ekstraksi tidak memerlukan jumlah pelarut yang banyak (Febryanto, M. A., 2017).

Metode difusi cakram atau disk merupakan metode yang sering digunakan dalam penelitian, untuk mengetahui aktivitas zona hambat suatu bakteri (Prayoga, 2013). Sering digunakan karena mudah dan sederhana untuk menentukan aktivitas antibakteri (Prayoga, 2013). Metode difusi cakram atau disk dipilih karena memiliki harga relatif murah karena tidak memerlukan alat khusus dalam pengerjaannya, cepat dan mudah dilakukan (Katrin *et al.*, 2014).

Antibiotik merupakan pilihan yang terbaik untuk menanggulangi suatu infeksi (Hidayah *et al.*, 2021). Antibiotik merupakan senyawa obat yang digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan mikroorganisme selain bakteri (Bahi and Anizar, 2013). Penelitian Dwiyantri et al., (2012) menggunakan kontrol positif untuk membandingkan potensi ekstrak daun kenikir dengan kontrol positif yaitu tetrasiklin konsentrasi 0,25%. Tetrasiklin dipilih karena sifatnya yang bakteristatik dan aktif terhadap bakteri Gram positif maupun negatif (Dwiyantri *et al.*, 2012). Akan tetapi, penggunaan antibiotik yang tidak dapat menyebabkan terjadinya resistensi masih sangat sedikit. Oleh karena itu, diperlukan adanya terapi alternatif dari tumbuhan yang berpotensi tinggi sebagai antibakteri (Kholifah *et al.*, 2019).

Senyawa aktif dari ekstrak daun kenikir dapat mengganggu permeabilitas membran sel, mengganggu pembentukan peptidoglikan atau dinding sel, mendenaturasi protein dan inaktivasi enzim pada sel bakteri (Dwiyantri *et al.*, 2012). Penelitian terdahulu menyatakan bahwa ekstrak daun kenikir terbukti

menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Bacillus cereus* yang menjadi penyebab keracunan makanan, pada semua konsentrasi uji (konsentrasi 30% hingga 100%) (Dwiyanti *et al.*, 2012). Penelitian lainnya terkait daun kenikir juga menyatakan bahwa ekstrak daun kenikir pada konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% dapat menghambat bakteri penyebab penyakit *dysentri basiller* yaitu bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Shigella flexneri* ATCC 12022 dan *Shigella boydii* ATCC 12985 dengan kandungan kimia alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin dan steroid (Sari *et al.*, 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir (*cosmos caudatus kunth.*) metode soxhletasi terhadap bakteri *bacillus cereus* penyebab keracunan makanan secara in vitro dengan variasi konsentrasi ekstrak 10%, 20% dan 30%.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) terhadap *Bacillus cereus* secara in vitro?

1.2.2 Berapakah konsentrasi optimum zona hambat ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) pada variasi konsentrasi 10%, 20%, dan 30% terhadap *Bacillus cereus* secara in vitro?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) terhadap *Bacillus cereus* secara in vitro.

1.3.2 Mengetahui konsentrasi optimum zona hambat ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) pada variasi konsentrasi 10%, 20%, dan 30% terhadap *Bacillus cereus* secara in vitro.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa daun ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) memiliki aktivitas antibakteri.

1.4.2 Bagi Instansi

Kesehatan Sebagai referensi untuk mengembangkan senyawa antibakteri baru dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari tanaman.

1.4.3 Pendidikan

Memberikan informasi dan referensi untuk mahasiswa dalam melakukan penelitian berikutnya.

1.4.4 Bagi Peneliti

Menambah informasi dan pengetahuan tentang obat tradisional khususnya manfaat daun biduri sebagai antibakteri serta untuk memenuhi tugas akhir sebagai persyaratan kelulusan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*)

2.1.1 Morfologi

Menurut Noor (2016) kenikir berasal dari dataran Amerika yang tersebar ke daerah-daerah dengan iklim tropis. Kenikir juga telah banyak ditemui di negara Malaysia dan Indonesia (Bunawan *et al.*, 2014). Masyarakat banyak menyebut tanaman kenikir sebagai Ulam Raja, kenikir dapat tumbuh dengan baik di daerah yang mempunyai intensitas sinar matahari penuh serta dapat tumbuh pada kondisi tanah yang liat, gembur, dan memiliki sistem drainase yang baik, kenikir dapat tumbuh pada dataran rendah hingga ketinggian 700 mdpl (Hidayat and Napitupulu, 2015). Kenikir sebagai tanaman herba tergolong berbau khas juga dapat tumbuh tinggi mencapai 3 m pada alam liar (Saraswati and Restuti, 2020).



Gambar 2. 1 Herba Kenikir.

Mempunyai beberapa nama latin salah satunya yaitu *Cosmos caudatus Kunth.*

Akses online pada tanggal 23 Juli 2021 di website

(<http://obatkampung.com/wp-content/uploads/2020/03/BBVImzL.jpg>)

Kenikir mempunyai bentuk percabangan batang berupa segi empat, berdaun majemuk berbentuk lanset, anak daun bagian tepinya tampak bergerigi. Bunga kenikir berupa majemuk bentuknya seperti cawan dengan wama jingga serta memiliki buah seperti jarum ketika sudah tua berwarna coklat dan ketika masih muda berwarna hijau, dengan bentuk bijinya seperti jarum mempunyai warna hitam (Bunawan *et al.*, 2014).

2.1.2 Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Asteridae
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : Cosmos
Spesies : *Cosmos caudatus Kunth.* (Bunawan *et al.*, 2014)

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia

Menurut Rasdi *et al.*, (2010) daun kenikir mengandung beberapa golongan senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Penelitian lain mengungkapkan bahwa proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol telah didapatkan senyawa antibakteri seperti golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Moore *et al.*, 2015). Uji fitokimia juga telah dilakukan untuk menentukan golongan senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, dan fenol (Noor, 2016). Penelitian Bunawan *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa senyawa golongan flavonoid yang banyak terdapat dalam daun kenikir adalah kuersetin. Senyawa kuersetin diketahui memiliki aktivitas terhadap bakteri seperti *Escherichia coli*, *Salmonellae enterica* dan *Listeria monocytogenes* (Noor, 2016).

Kuersetin dapat menghambat bakteri golongan Gram-positif dan Gram negatif melalui inaktivasi protein ekstraseluler, mekanisme antibakteri yang dihasilkan adalah gangguan pada membran serta inaktivasi protein ekstraseluler membentuk kompleks yang tidak dapat diubah, tetapi mekanisme pastinya masih

belum jelas (Ramadhan *et al.*, 2018). Pada penelitian terdahulu Cushnie *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa senyawa golongan alkaloid memiliki aktivitas terhadap bakteri. Beberapa senyawa golongan alkaloid tersebut adalah indolinidin, isoquinolin, dan kuinolon. Pada senyawa golongan alkaloid kelas indolizin seperti pergularinin dan tylophorinidin memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis asam nukleat, karena keduanya menghambat enzim dihydrofolate reduktase (Noor, 2016).

Pada senyawa golongan alkaloid kelas isoquinolon yaitu sanguinarin yang merupakan alkaloid benzophenanthridin, memiliki mekanisme kerja memberikan aktivitas antibakteri dengan mengganggu pembentukan cincin-Z atau sitoskeletal dan menghambat pembelahan sel pada bakteri serta menghambat sitokenesis (Noor, 2016). Pada senyawa golongan alkaloid kelas kuinolon yang secara alami tidak memiliki gugus 3-karboksil, sehingga memungkinkan sintesis senyawa kuinolon menjadi fluoroquinolon untuk menghambat enzim topoisomerase tipe II (Heeb *et al.*, 2011). Selain senyawa flavonoid dan alkaloid, pada senyawa saponin dan tanin juga terbukti memberikan aktivitas sebagai antibakteri (Noor, 2016).

Saponin memiliki mekanisme kerja meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, sehingga menyebabkan perubahan struktur dan fungsi membran selain itu juga dapat mengganggu tegangan permukaan dinding sel, kemudian saponin juga memudahkan zat antibakteri untuk memasuki sel dan mengganggu metabolisme sel sambil mendenaturasi protein membran sehingga membran sel akan lisis (Noor, 2016). Sedangkan tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengkelat besi sehingga kebutuhan zat besi pada mikroorganisme tidak terpenuhi (Noor, 2016).

2.1.4 Manfaat atau Khasiat

Masyarakat Indonesia memanfaatkan kenikir sebagai tanaman obat sejak jaman nenek moyang dari generasi ke generasi (Mursito, 2011). Herba kenikir secara empiris mulai dari akar hingga bijinya terbukti dapat dimanfaatkan. Bagian akar kenikir dapat dimanfaatkan untuk melancarkan buang air besar, bagian bunga dapat dimanfaatkan untuk obat batuk dan sakit gigi, dan bagian daun kenikir dapat digunakan sebagai obat cacing (Mursito, 2011). Masyarakat juga percaya bahwa

daun kenikir memiliki khasiat sebagai penambah nafsu makan, untuk obat lemah lambung, dan memperkuat tulang (Noor, 2016). Masyarakat melayu menggunakan bagian batang dan daun kenikir untuk merawat dan menyembuhkan penyakit infeksi serta sebagai anti-aging (Noor, 2016).

Daun kenikir menurut Penelitian terdahulu Lutpiatina *et al.*, (2017) terbukti memberikan aktivitas terhadap beberapa bakteri, ekstrak daun kenikir memberikan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan konsentrasi 170 mg/ml dan memiliki konsentrasi bunuh minimal (KBM) pada konsentrasi 190 mg/ml dengan tidak ditemukannya pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus*. Ekstrak daun kenikir juga menghasilkan zona hambat pada bakteri *Bacillus cereus* pada semua konsentrasi uji yaitu 30% hingga 100% (Dwiyanti *et al.*, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Sari (2018), ekstrak daun kenikir juga memberikan aktivitas terhadap bakteri *Disentri shigella* dengan membuktikan bahwa fraksi ekstrak etanol daun kenikir memberikan aktivitas terbesar pada konsentrasi 30% yang mempunyai zona hambat sebesar 20,22 mm. Ekstrak metanol daun kenikir juga ditemukan berpotensi memberikan aktivitas terhadap bakteri *S. thypi* pada konsentrasi optimal yaitu 30 mg/ml sebesar 24,22 mm (Noor, 2016).

2.2 Kandungan Senyawa Daun Kenikir

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang terdiri dari C6-C3-C6. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tumbuhan, termasuk pada buah, tepung sari, dan akar (Sirait, 2007). Flavonoid adalah senyawa yang memiliki sifat polar, umumnya akan mudah terlarut dalam pelarut polar seperti etanol, dimetilformamida, metanol, butanol, dimetil-sulfoksida, air, aseton, dan lain-lain (Hidayah *et al.*, 2021). Suhu 50°C merupakan suhu yang relatif aman untuk mencegah kerusakan pada senyawa metabolit khususnya flavonoid (Oktavia, 2011). Sistem aromatik terkonjugasi merupakan senyawa fenol yang terkandung dalam flavonoid (Oktavia, 2011). Sistem aromatik terkonjugasi pada suhu tinggi mudah rusak dan golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula yang mudah rusak atau

putus pada suhu tinggi (Oktavia, 2011). Flavonoid bersifat bakteriostatik karena adanya reaksi dari suatu senyawa kimia (Rijayanti, 2014). Flavonoid sebagai antibakteri memiliki tiga mekanisme kerja yaitu menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA, merusak membran sitoplasma bakteri dan menghambat metabolisme energi (Rijayanti, 2014).

Flavonoid dapat merusak membran sitoplasma senyawa tersebut menyebabkan bocornya metabolit penting dan dapat mengaktifkan sistem enzim bakteri (Charisma *et al.*, 2020). Kerusakan membran sitoplasma dapat menyebabkan nukleotida dan asam amino keluar, mencegah bahan-bahan aktif masuk ke dalam sel sehingga menyebabkan kematian bakteri (Charisma *et al.*, 2020). Mekanisme kerja flavonoid adalah menghambat metabolisme energi dengan menghambat sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme dapat terhambat dan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri sehingga bakteri akan mati (Rijayanti, 2014). Flavonoid dengan mekanisme kerjanya yang menghambat fungsi membran sel, kemudian membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang terlarut sehingga flavonoid dapat merusak membran sel bakteri, serta diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Hidayah *et al.*, 2021).

2.2.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman. Kebanyakan alkaloid diturunkan dari asam amino, sedangkan sebagian kecil diantaranya diturunkan dari unit isoprena, alkaloid berfungsi sebagai antimikroba (Charisma *et al.*, 2020). Alkaloid bebas biasanya tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam pelarut organik yang bersifat semi polar (eter, benzena, kloroform) (Charisma *et al.*, 2020). Alkaloid merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut organik polar ketika berbentuk garam (Charisma *et al.*, 2020). Kemudian apabila senyawa alkaloid telah diisolasi dan membentuk padatan kristal maka alkaloid tidak larut dengan titik lebur yang tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi (Charisma *et al.*, 2020). Sedikit alkaloid memiliki bentuk amorf, nikotin dan koniin berupa cairan (Charisma *et al.*, 2020). Pada sebagian

besar alkaloid tidak berwarna, namun untuk beberapa senyawa yang memiliki sifat kompleks, spesies aromatik akan berwarna (misalnya berberin berwarna kuning dan betanin berwarna merah) (Charisma *et al.*, 2020).

Alkaloid memiliki sifat basa, namun sifat tersebut tergantung adanya pasangan elektron pada nitrogen. Alkaloid yang bersifat basa akan sangat mudah mengalami dekomposisi, terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen (Charisma *et al.*, 2020). Senyawa alkaloid mempunyai sifat fisik kurang tahan panas (Charisma *et al.*, 2020; Eleanore, 2013). Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen yang akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri (Charisma *et al.*, 2020). Reaksi ini akan mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga hal tersebut akan menimbulkan perubahan pada keseimbangan genetik rantai DNA sehingga terjadi kerusakan yang mendorong sel bakteri lisis hingga menyebabkan kematian pada sel bakteri (Charisma *et al.*, 2020).

2.2.3 Saponin

Saponin adalah senyawa metabolit sekunder dari tanaman (Charisma *et al.*, 2020). Saponin merupakan glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon (sapogenin) yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid (Charisma *et al.*, 2020). Saponin memiliki sifat cenderung polar karena ikatan glikosidanya (Simaremare, 2014). Saponin memiliki rumus kimia $C_{30}H_{48}O_5$. Struktur saponin menyebabkan saponin bersifat seperti deterjen (Charisma *et al.*, 2020). Saponin memiliki berat molekul tinggi yaitu 414,6231 g/mol (Hidayah *et al.*, 2021). Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi yaitu 158°C dan densitas 0,5 g/cm³ pada suhu 20°C (Santosa *et al.*, 2018). Saponin berupaa kristal warna kuning dengan berbentuk amorf yang memiliki bau menyengat serta memiliki rasa pahit (Charisma *et al.*, 2020). Saponin merupakan senyawa non-volatile, larut dalam air dingin maupun panas dan larut dalam alkohol (Hidayah *et al.*, 2021). Saponin membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat tahan terhadap pemanasan yaitu tahan pada suhu 70°C (Prasetyo *et al.*, 2011 ; Wahyuni *et al.*, 2018).

Saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan efektif pada bakteri Gram positif (Hidayah *et al.*, 2021). Saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida yang terdapat pada dinding sel bakteri, hal ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas dinding sel bakteri sehingga membran menjadi tidak stabil dan menurunkan tegangan permukaan dari dinding sel bakteri sehingga dinding sel tersebut akan mengalami lisis (Hidayah *et al.*, 2021). Zat antibakteri akan masuk ke dalam sel kemudian zat tersebut akan mengganggu metabolisme yang dapat menyebabkan bakteri mati (Dwicahyani *et al.*, 2018).

2.2.4 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang terdiri dari gugus hidroksi dan karboksil. Tanin memiliki rumus kimia $C_{76}H_{52}O_{46}$ (Dwicahyani *et al.*, 2018). Tanin dapat terlarut ke dalam pelarut organik polar, namun tidak dapat terlarut ke dalam pelarut organik non polar seperti benzena, tanin memiliki sifat polar (Dwicahyani *et al.*, 2018). Tanin berfungsi untuk melindungi tanaman dari hewan pemangsa karena tanin memiliki rasa sepat (Dwicahyani *et al.*, 2018). Senyawa tanin memiliki sifat kimia dan fisika. Sifat kimia dari tanin yaitu tanin memiliki gugus fenol, membentuk koloid jika dilarutkan dalam air, membentuk endapan jika dicampur dengan alkaloid dan gelatin, mengendapkan protein dari larutannya, tanin dapat bereaksi dengan garam besi, tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol apabila dipanaskan pada suhu 99-102°C, tanin dapat terhidrolisa oleh asam, basa dan enzim (Charisma *et al.*, 2020).

Sifat fisika dari tanin yaitu tanin memiliki berat molekul tinggi, berbentuk amorf, tanin berwarna putih kekuningan sampai coklat terang, tanin berbentuk serbuk, tanin berwarna gelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka, tanin memiliki sifat bakteristatik dan fungistatik (Charisma *et al.*, 2020). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu tanin menyebabkan dinding sel bakteri menjadi lisis, sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan sel bakteri mati. Tanin dapat mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel serta menginaktifkan enzim pada bakteri (Ngajow *et al.*, 2013).

2.3 Simplisia

2.3.1 Pengertian Simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang banyak digunakan sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain simplisia adalah bahan obat yang telah dikeringkan (Charisma *et al.*, 2020). Simplisia adalah bahan alam yang dapat digunakan sebagai bahan obat, sebagian besar simplisia belum mengalami pengolahan dan telah dikeringkan, kecuali dinyatakan lain simplisia telah mengalami proses pengeringan pada suhu tidak lebih dari 60°C (BPOM, 2014).

2.3.1.1 Simplisia nabati

Simplisia nabati berupa tanaman utuh, eksudat tanaman atau bagian tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang keluar atau sengaja dikeluarkan dari dalam sel tanaman dengan cara tertentu, atau dapat juga diartikan sebagai zat-zat nabati lain yang dipisahkan dengan cara tertentu dari dalam sel tanamannya (Charisma *et al.*, 2020).

2.3.1.2 Simplisia hewani

Simplisia hewani berupa bagian hewan, hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Charisma *et al.*, 2020).

2.3.1.3 Simplisia pelikan (mineral)

Simplisia pelikan berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Charisma *et al.*, 2020).

2.3.2 Syarat-syarat Simplisia

Menurut BPOM (2010) simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu:

2.3.2.1 Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.

2.3.2.2 Kadar air, harus kurang dari 10%.

2.3.2.3 Adanya keseragaman bobot.

2.3.2.4 Tidak ada cemaran mikroba sesuai dengan nilai yang telah ditentukan.

2.3.2.5 Bahan tambahan pada simplisia, tidak diperbolehkan mengandung pengawet, pewarna, dan pengharum. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan.

2.3.3 Persiapan Simplisia

Menurut Charisma *et al.*, (2020) pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut:

2.3.3.1 Pengumpulan bahan baku: bagian tanaman yang akan digunakan, umur tanaman saat akan dipanen, waktu panen dan lingkungan habitat tumbuh tanaman akan mempengaruhi jumlah kandungan senyawa aktif dalam simplisia.

2.3.3.2 Sortasi basah: dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotor lain yang harus dibuang.

2.3.3.3 Pencucian: Pencucian pada umumnya dilakukan tiga kali, tahap pertama proses pencucian bertujuan menghilangkan 25% dari jumlah mikroba, hingga tahap selanjutnya pencucian bertujuan untuk mengurangi jumlah mikroba yang tertinggal 42% dari jumlah mikroba awal. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan sisa tanah yang menempel pada simplisia dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Untuk proses pencucian menggunakan air bersih, misalnya mata air, air sumur atau air PAM.

2.3.3.4 Perajangan: proses tersebut untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan pada simplisia.

2.3.3.5 Pengeringan: dilakukan untuk menghasilkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik pada simplisia sehingga mencegah penurunan mutu atau perusakan simplisia.

2.3.3.6 Sortasi kering: tujuannya untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran

lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia keringsebelum simplisia dibungkus untuk disimpan.

2.3.3.7 Pengepakan dan penyimpanan: hal yang harus diperhatikan saat penyimpanan simplisia yaitu cara pengepakan, pembungkusan, persyaratan gudang penyimpanan simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu simplisia.

2.3.4 Penghalusan Simplisia

Proses pembuatan serbuk simplisia yang berasal dari simplisia utuh yang telah melalui proses pengeringan atau perajangan (Charisma *et al.*, 2020). Pembuatan serbuk dilakukan dengan bantuan alat sehingga mengurangi resiko terjadi kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan, kemudian dilakukan pengayakan hingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu (Charisma *et al.*, 2020). Serbuk simplisia memiliki derajat kehalusan terdiri dari serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus (Charisma *et al.*, 2020). Kecuali dinyatakan lain, derajat kehalusan serbuk simplisia daun kenikir untuk pembuatan ekstrak merupakan serbuk simplisia halus seperti tertera pada pengayak dan derajat halus serbuk (Charisma *et al.*, 2020).

Proses ekstraksi bertambah baik jika permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas. Dengan demikian maka semakin tinggi derajat kehalusan serbuk simplisia seharusnya semakin baik pula ekstraksinya (Charisma *et al.*, 2020).

Pada penelitian terdahulu Menurut Sapri *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa rendemen ekstrak etanol dari simplisia daun sangat dipengaruhi oleh ukuran ayakan. Ayakan yang digunakan umumnya adalah ukuran 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh (Sapri *et al.*, 2014). Semakin besar nomor mesh yang digunakan dalam pengayakan simplisia semakin besar pula rendemen yang dihasilkan (Sapri *et al.*, 2014). Sehingga serbuk simplisia ukuran 80 mesh menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi (Sapri *et al.*, 2014). Rendemen ekstrak yang diperoleh akan dipengaruhi oleh ukuran serbuk dari simplisia, sehingga semakin kecil ukuran serbuk simplisia, maka akan semakin besar rendemen ekstrak yang diperoleh (Sapri *et al.*, 2014).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Charisma *et al.*, 2020). Simplisia mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain (Charisma *et al.*, 2020). Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia seperti golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain (Charisma *et al.*, 2020). Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Charisma *et al.*, 2020). Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen-komponen senyawa tumbuhan dalam larutan berdasarkan perbedaan kelarutannya (Charisma *et al.*, 2020).

2.4.1 Pengelompokan ekstrak menurut (Febryanto, 2017), yaitu :

2.4.1.1 Ekstrak encer berupa sediaan yang dengan konsistensi semacam madu dan dapat dituang.

2.4.1.2 Ekstrak kental berupa sediaan apabila dilihat dalam keadaan dingin, memiliki kandungan air kira-kira sampai 30% dan tidak dapat dituang. Kandungan air yang tinggi menyebabkan sediaan tidak stabil karena resiko terkena kontaminasi bakteri sangat tinggi.

2.4.1.3 Ekstrak kering berupa sediaan dengan konsistensi kering, memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5% dan mudah dituang.

2.4.1.4 Ekstrak cair berupa ekstrak yang dibuat sedemikian rupa agar satu bagian simplisia sesuai dengan dua bagian ekstrak cair.

Proses ekstraksi umumnya menurut Febryanto (2017) memiliki dua cara yaitu cara dingin dan cara panas. Keuntungan dalam proses ekstraksi cara dingin, yaitu kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel sangat kecil (Febryanto, 2017). Kemudian sebagian besar senyawa juga dapat terekstraksi dengan sempurna, walaupun masih terdapat beberapa senyawa yang memiliki keterbatasan kelarutan terhadap pelarut pada suhu ruangan (Febryanto, 2017).

Metode ekstraksi menggunakan cara dingin, yang paling sederhana ialah ekstraksi dalam labu besar berisi biomasa yang diagitasi menggunakan stirrer,

dengan cara tersebut bahan kering hasil gilingan dapat diekstraksi pada suhu kamar secara berturut-turut dengan pelarut yang kepolarannya makin tinggi (Febryanto, 2017).

2.4.2 Beberapa metode yang termasuk cara dingin, yaitu :

2.4.2.1 Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai dilakukan pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (Charisma *et al.*, 2020). Modifikasi dari maserasi adalah remaserasi, remaserasi menggunakan cairan penyari yang dibagi menjadi dua dan seluruh serbuk simplisia dimaserasi menggunakan cairan penyari pertama (Charisma *et al.*, 2020). Filtrat hasil maserasi pertama dimaserasi kembali dengan cairan penyari kedua (Charisma *et al.*, 2020).

2.4.2.2 Perkolasi

Perkolasi merupakan proses pemisahan atau ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang dilakukan pada suhu ruangan(Charisma *et al.*, 2020). Proses pengembangan bahan, tahap perkolasi sebenarnya yaitu penetasan atau penampungan ekstrak dan tahap maserasi antara, terus menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat (Charisma *et al.*, 2020).

Cara panas yaitu metode yang melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung (Charisma *et al.*, 2020). Keuntungan dari metode ini ialah dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin(Charisma *et al.*, 2020).

2.4.3 Beberapa metode yang termasuk cara panas, yaitu :

2.4.3.1 Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan bantuan alat khusus sehingga ekstraksi terjadi secara kontinu dan adanya pendingin balik sehingga jumlah pelarut relatif konstan (Febryanto, 2017). Metode soxhletasi merupakan ekstraksi menggunakan pelarut cair dan merupakan salah satu metode yang paling baik digunakan dalam memisahkan senyawa bioaktif dari alam (Febryanto, 2017). Alat soxhlet merupakan suatu sistem dengan penyarian berulang menggunakan pelarut yang

sama dan juga menggunakan proses sirkulasi perubahan uap–cair dari pelarut dengan pemanasan (Febryanto, 2017).

Soxhletasi adalah metode ekstraksi dengan pelarutnya yang selalu baru, pada umumnya soxhletasi dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik atau kondensor (Febryanto, 2017). Beberapa kelebihan metode soxhletasi yaitu proses ekstraksi menggunakan pelarut murni dengan prinsip penyarian berulang, sehingga proses ekstraksi tidak memerlukan jumlah pelarut yang banyak (Febryanto, 2017). Namun, terdapat juga kelemahan pada metode yaitu dapat menyebabkan rusaknya solute atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.3.2 Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dan adanya pendingin balik dilakukan selama waktu tertentu (Charisma *et al.*, 2020). Umumnya dilakukan pengulangan proses pada 3-5 kali sehingga dapat termasuk ekstraksi sempurna (Charisma *et al.*, 2020).

2.4.3.3 Digesti

Digesti merupakan metode maserasi kinetik dilakukan dengan cara pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Charisma *et al.*, 2020).

2.4.3.4 Infus

Infus disebut sebagai metode ekstraksi yang umumnya dilakukan menggunakan pelarut air dipanaskan pada temperatur penangas air atau dalam bejana infus tercelup penangas air mendidih, pada suhu atau temperatur terukur 96-98°C, selama waktu tertentu 15-20 menit (Charisma *et al.*, 2020).

2.4.3.5 Dekok

Dekok merupakan infus yang diekstraksi pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air $\geq 30^\circ\text{C}$ (Charisma *et al.*, 2020).

2.4.4.6 Pelarut

Cairan pelarut adalah pelarut yang optimal untuk kandungan senyawa yang berkhasiat atau senyawa aktif, sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan (Charisma *et al.*, 2020). Faktor utama pertimbangan dalam pemilihan cairan penyari yaitu, selektivitas, kemudahan bekerja pada proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, keamanan (Charisma *et al.*, 2020). Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuan pelarut tersebut dalam melarutkan jumlah simplisia yang maksimum dari zat aktif dan yang seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Febryanto, 2017). Pada beberapa penelitian disebutkan beberapa jenis pelarut, yaitu etanol, air, methanol, kloroform, dan petroleum eter yang dibedakan berdasarkan tingkat kepolarannya (Charisma *et al.*, 2020).

2.4.4.6.1 Air

Air memiliki bahasa latin aquadestilata yang berarti air suling. Air suling merupakan air yang diperoleh dari pengembunan uap air akibat penguapan atau pendidihan air (Charisma *et al.*, 2020). Air senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau dan tidak berasa yang memiliki titik didih 100°C (Chandra, 2015). Air adalah pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba (Charisma *et al.*, 2020).

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). Air digunakan sebagai pelarut memiliki harga murah, mudah diperoleh, tidak mudah menguap, dan tidak beracun (Charisma *et al.*, 2020). Kerugian pelarut air yaitu tidak dapat melarutkan semua zat berkhasiat yang dikehendaki, ekstrak dapat ditumbuhi kapang sehingga cepat rusak dan waktu pengeringan ekstrak memerlukan jangka waktu lama (Charisma *et al.*, 2020). Air dapat melarutkan garam alkaloid, glikosida, tanin, gom, pati, protein, dan asam organik (Charisma *et al.*, 2020).

2.4.4.6.2 Etanol

Etanol (C_2H_5OH) memiliki nama lain etil alkohol, hidroksietana, alkohol murni, dan alkohol absolut (Charisma *et al.*, 2020). Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan ke elektro negatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion (Charisma *et al.*, 2020). Gugus etil (C_2H_5) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non-polar (Charisma *et al.*, 2020). Oleh karena itu, etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun nonpolar (Charisma *et al.*, 2020). Etanol memiliki titik didih $78,4^{\circ}C$, dan tidak berwarna (Chandra, 2015). Berdasarkan penelitian Fathurrachman (2014) konsentrasi etanol mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan juga hasil uji fitokimia senyawa dalam tanaman sirsak. Ekstrak etanol 70% menghasilkan persentase rendemen lebih tinggi dibanding ekstrak etanol 96% (Febryanto, 2017). Hal ini dikarenakan adanya perbedaan polaritas antara pelarut etanol 96% dan 70% (Febryanto, 2017).

2.4.4.6.3 DMSO

DMSO atau dimetil sulfoksida merupakan senyawa organosulfur yang memiliki rumus kimia $(CH_3)_2SO$, juga merupakan pelarut polar aprotik dapat digunakan untuk melarutkan senyawa polar maupun nonpolar, DMSO juga dapat larut dalam berbagai pelarut organik maupun air (BPOM, 2010). Pelarut DMSO 10% merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal (Anggraini and Masfufatun, 2017). Selain itu, pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar adalah DMSO 10% (Anggraini and Masfufatun, 2017). DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu (Anggraini and Masfufatun, 2017). DMSO memiliki ciri-ciri tidak berwarna, tidak berbau, agak higroskopik, dan juga merupakan pelarut bagi bahan uji anorganik dan organik (Anggraini and Masfufatun, 2017). DMSO biasa dikenal dengan sebutan krioprotektan konvensional yang dapat ditambahkan ke dalam media sel untuk mencegah kematian sel sepanjang proses pembekuan (Ninulia, 2016).

DMSO menjadi pelarut unik yang bersifat universal karena mempunyai titik beku yang tinggi, pada suhu kamar akan berupa padatan yang memiliki peran kristalisasi saat proses kimia terjadi yaitu sebagai waktu cooling, dengan nilai konstanta mencapai 47 (Ninulia, 2016). Merupakan salah satu jenis pelarut organik yang paling kuat sehingga dapat melarutkan berbagai bahan organik dan polimer secara efektif (Widya, 2018). Larut dalam air dan berbagai cairan organik lainnya, seperti alkohol, ester, keton, pelarut terklorinasi, dan hidrokarbon aromatik (Widya, 2018). DMSO juga merupakan pelarut aprotik dipolar, yaitu pelarut yang lebih cenderung menerima proton (Hanafi, 2016). Senyawanya bersifat amfifilik yang memiliki dua karakteristik yaitu hidrofilik dan hidrofobik, DMSO juga dikenal sebagai surfaktan (surface-active molecules) yang memiliki berperan sebagai interfase antara air dan minyak serta bersifat netral (Amiyati, 2016). Hal tersebut menyebabkan DMSO banyak digunakan sebagai pelarut ekstrak tanaman pada berbagai penelitian uji antimikroba (Amiyati, 2016).

2.5 Bakteri

2.5.1 Definisi Bakteri

Bakteri pada umumnya tidak berklorofil, merupakan uniseluler, ada beberapa bakteri yang mengalami fotosintetik dan bereproduksi aseksual dengan cara membelah diri serta mempunyai ukuran sel yang kecil dimana hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (Charisma *et al.*, 2020). Bakteri umumnya akan memiliki ukuran sel 0,5-1,0 μm kali 2,0-5,0 μm , dengan tiga bentuk dasar yaitu bentuk batang atau bacillus, bentuk bulat atau coccus, bentuk spiral (Charisma *et al.*, 2020).

2.5.2 Penggolongan Bakteri

Bakteri berdasarkan komposisi dinding sel dan sifat pewarnaannya dibedakan menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Charisma *et al.*, 2020).

2.5.2.1 Bakteri Gram Negatif

Bakteri gram negatif berbentuk batang (*Enterobacteriaceae*) habitatnya adalah usus manusia dan binatang. *Enterobacteriaceae* meliputi *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*. Beberapa organisme yang berupa flora normal misalnya *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit, sedangkan organisme lain seperti *shigella* dan *salmonella* termasuk dalam patogen yang umum bagi manusia (Charisma *et al.*, 2020).

2.5.2.2 Bakteri Gram-positif

Bakteri gram positif merupakan bakteri pembentuk spora misalnya spesies *Bacillus* dan *Clostridium* (Charisma *et al.*, 2020). Kedua spesies ini terdapat dimana-mana dalam membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun (Charisma *et al.*, 2020). Adapun bakteri gram positif yang tidak membentuk spora yaitu spesies *Corynebacterium*, *Listeria*, *Propionibacterium*, dan *Acynomyces* (Charisma *et al.*, 2020). Spesies *Staphylococcus* dan *Streptococcus* juga merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat, biasanya berbentuk menggerombol (Charisma *et al.*, 2020).

2.6 *Bacillus cereus*

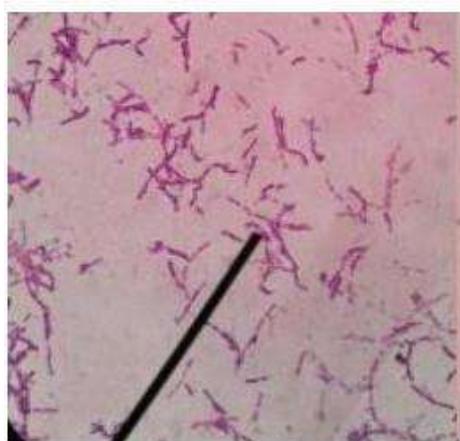
2.6.1 Morfologi

Bacillus cereus termasuk bakteri batang-Gram positif yang mempunyai ukuran lebar 1,0 μm – 1,2 μm dan panjang 3 μm – 5 μm , bersifat aerob, dengan suhu pertumbuhan maksimum 37°C – 48°C dan minimum 5°C – 20°C serta pH pertumbuhan yang sesuai berkisar 5,5 – 8,5 (Jawetz *et al.*, 2013). *Bacillus cereus* bersifat kosmopolit dengan suhu pertumbuhan optimum 30°C. Bakteri ini merupakan saprofit ringan yang tidak berbahaya lazim terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh-tumbuhan serta mampu membentuk endospore yang tahan oleh kondisi panas (Jawetz *et al.*, 2013). Beberapa ilmuwan juga berpendapat bahwa *Bacillus cereus* termasuk dalam bakteri gram positif dengan sel tunggal yang dilengkapi endospora berbentuk oval atau silinder dan terletak ditengah (mesolit), serta merupakan bakteri menyebabkan keracunan yang mempunyai gejala muntah dan diare, *Bacillus cereus* tersebar luas di alam, karena memiliki

spora yang tahan terhadap stres lingkungan daripada sel vegetatifnya (Brooks, 2013; Bottone, 2010).

2.6.2 Klasifikasi

Kingdom : Bacteria
Subkingdom : Posibacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Bacillaceae
Genus : Bacillus
Spesies : *Bacillus cereus* (Radji, 2010).



Gambar 2. 2 Bakteri *Bacillus cereus*
Apabila diamati secara mikroskopis (Indrawati and Rizki, 2017)

2.6.3 Patofisiologi

Pada penelitian terdahulu Brooks, (2013) menyatakan bahwa *Bacillus cereus* berkembang biak pada saluran pencernaan bagian bawah karena termasuk jenis bakteri saprofit tanah, merupakan patogen bersifat oportunistik penyebab terjadinya infeksi lokal dan sistemik karena memproduksi enterotoksin, sehingga terjadi keracunan makanan jenis emetik maupun diare (Brooks, 2013). Selaput sel epitel yang melapisi saluran pencernaan dapat terganggu apabila enterotoksin tertelan, sehingga menyebabkan diare, mual, muntah, kram perut, hingga demam (Brooks, 2013).

Menurut review jurnal yang dilakukan oleh Ramarao and Sanchis (2013) menerangkan bahwa patogenisis *Bacillus cereus* tergantung pada racun atau enterotoksin yang diproduksi oleh bakteri tersebut. *Bacillus cereus* dapat memproduksi beberapa racun seperti hoemolysin proleuse, fosfolipase dan toksin nonprotein (Ramarao and Sanchis, 2013). Enterotoksin pada *Bacillus cereus* adalah haemolysin II yang dapat menginduksi pembentukan pori di selaput sel yang akan mempengaruhi permeabilitas membran, sehingga dapat menyebabkan kematian sel (Ramarao and Sanchis, 2013).

2.7 Antibakteri

2.7.1 Definisi

Antibakteri adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu yang memiliki kemampuan dalam konsentrasi rendah untuk menghambat atau membunuh, secara selektif mikroorganisme lain (Charisma *et al.*, 2020). Antibiotika berasal dari fungi dan bakteri yang mengasilkan suatu zat kimia yang memiliki khasiat menghambat atau mematikan pertumbuhan kuman, dengan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Charisma *et al.*, 2020).

2.7.2 Mekanisme Kerja

2.7.2.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Senyawa antimikroba menurut Charisma *et al.*, (2020) dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim seperti enzim transpeptidase yang dapat menimbulkan kerusakan dinding sel yang berakibat sel mengalami lisis. Jenis mikroba dengan mekanisme tersebut, antara lain Basitrasin, Sefalosporin, Sikloserin, Penisilin, Vankomisin (Charisma *et al.*, 2020).

2.7.2.2 Menghambat Sintesis Protein

Kehidupan suatu sel tergantung pada kondisi terjaganya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah (Charisma *et al.*, 2020). Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini seperti proses denaturasi protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tersebut dan tidak dapat diperbaiki kembali (Charisma *et al.*, 2020). Tingginya Suhu dan konsentrasi beberapa zat kimia dapat menyebabkan terjadinya koagulasi (denaturasi) yang

bersifat ireversibel (tidak dapat balik) dari komponen-komponen selular penting (Charisma *et al.*, 2020). Contoh jenis antimikroba dengan aktivitas tersebut adalah Contohnya: aminoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin eritromisin, dan linkomisin (Charisma *et al.*, 2020).

2.7.2.3 Menghambat Fungsi DNA

DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel (Charisma *et al.*, 2020). Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang akan terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Charisma *et al.*, 2020). Jenis mikroba dengan aktivitas tersebut, antara lain quinolon, pyrimethamin, sulfonamide, trimethoprim dan trimetrexat (Charisma *et al.*, 2020).

2.7.2.4 Menghambat Metabolisme Sel Mikroba

Enzim yang ada didalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat (Charisma *et al.*, 2020). Banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia (Charisma *et al.*, 2020). Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Charisma *et al.*, 2020). Antimikroba bekerja dengan menghambat metabolit spesifik dari suatu mikroba, contohnya sulfonamida (Charisma *et al.*, 2020). Pertumbuhan sel dihambat oleh senyawa sulfonamida melalui penghambatan sintesis asam folat, para amino benzoic acid (PABA), dan enzim secara kompetitif langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidraproat (Charisma *et al.*, 2020).

2.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Kultur In Vitro merupakan metode yang digunakan untuk mengisolasi bagian-bagian sel, jaringan atau organ yang ditumbuhkan di atas media tanam secara aseptik dalam ruangan yang terkendali, sehingga bagian-bagian tersebut tersebut dapat memperbanyak diri dan meregenerasi menjadi sel, jaringan ataupun organ yang lengkap (Khasanah, 2013). Prinsip kultur In Vitro terdapat yang telah dikemukakan oleh dua orang ahli biologi dari German yaitu Schleiden dan Schwann di dalam teori sel, menyatakan bahwa sel bersifat autonom dan bersifat

totipotensi (Khasanah, 2013). Sel bersifat autonom artinya dapat melakukan metabolisme, tumbuh dan berkembang secara mandiri jika diisolasi dari jaringan induknya (Khasanah, 2013). Totipotensi artinya sebagai kemampuan sel yang digunakan untuk tumbuh dan meregenerasi menjadi jaringan atau organ yang lengkap (Khasanah, 2013).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel pada metode kultur antara lain sumber eksplan, media, hormon, lingkungan fisik kultur jaringan dan zat pengatur tumbuh (Khasanah, 2013). Kultur In Vitro memiliki tujuan untuk memperbanyak sel bakteri dengan waktu relatif singkat, sebagai langkah dalam pemuliahan bakteri serta menghasilkan jumlah bakteri yang diinginkan (Khasanah, 2013). Kultur In Vitro juga memiliki keuntungan untuk pengadaan bibit bakteri tidak yang dapat diproduksi dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif cepat, bibit yang dihasilkan bersifat seragam, bebas terhadap kontaminasi (Khasanah, 2013). Uji In Vitro menurut Charisma *et al.*, (2020) secara umum uji aktivitas antimikroba dilakukan menggunakan 2 metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi.

2.8.1 Metode Difusi

Metode ini menggunakan cakram uji untuk menyerap konsentrasi ekstrak tumbuhan yang diinginkan (Charisma *et al.*, 2020). Cakram tersebut kemudian diletakkan pada permukaan media agar padat yang cocok, setelah media diinokulasi dengan mikroorganisme uji (Charisma *et al.*, 2020). Cakram kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 48 jam pada suhu 25°C untuk fungi, setelah diinkubasi diameter zona hambat yang ada disekitar cakram diukur (Charisma *et al.*, 2020). Menurut Charisma *et al.*, (2020) metode difusi terdiri dari :

2.8.1.1 Metode *disk diffusion*

Metode ini menggunakan piringan yang berisi bahan antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah berisi mikroba patogen sehingga bahan antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut (Charisma *et al.*, 2020). Aktivitas antimikroba didasarkan pada pembentukan zona bening disekitar bahan antimikroba tersebut (Charisma *et al.*, 2020).

2.8.1.2 Metode *E-test*

Metode ini digunakan untuk memperkirakan Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimum dari bahan antimikroba untuk dapat menghambat suatu mikroorganisme (Charisma *et al.*, 2020). Dalam metode ini, digunakan suatu strip plastik yang mengandung bahan antimikroba dengan konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi, yang diletakkan pada permukaan media agar yang sebelumnya telah berisi mikroba patogen (Charisma *et al.*, 2020). Aktivitas antimikroba didasarkan pada pembentukan zona bening disekitar bahan antimikroba tersebut dan dapat ditentukan konsentrasi hambatannya (Charisma *et al.*, 2020).

2.8.1.3 Ditch-plate technique

Metode ini dilakukan dengan membuat suatu parit yang dibuat dengan cara memotong bagian tengah dari media pada cawan petri secara membujur, kemudian diisi dengan bahan antimikroba sedangkan mikroba patogen digores kearah parit yang berisi bahan antimikroba (Charisma *et al.*, 2020).

2.8.1.4 Cup-plate technique

Metode ini hampir sama dengan metode *disk diffusion* (Charisma *et al.*, 2020). Pada metode ini, dibuat sumur dibagian tengah media yang sebelumnya telah berisi mikroba patogen (Charisma *et al.*, 2020). Sedangkan sumur tersebut berisi antibakteri (Charisma *et al.*, 2020).

Tabel 2. 1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Susanto *et al.*, 2012)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 21 mm	Sangat Kuat
11 – 20 mm	Kuat
6 – 10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

2.8.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, diinokulasikan dengan mikroba uji (Yasjudani, 2017). Hasil dilakukan pengamatan tumbuh atau tidaknya mikroba di dalam media (Yasjudani, 2017).

2.8.2.1 Metode dilusi cair / broth dilution test (serial dilution)

Metode dilusi cair menggunakan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi (Yasjudani, 2017). Zat untuk uji aktivitas antibakteri diencerkan dalam media cair, diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji (Yasjudani, 2017).

2.8.2.2 Metode dilusi padat (solid dilution test)

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar, dituangkan dalam cawan petri. Media agar membeku kemudian diinokulasikan kuman dan diinkubasi (Yasjudani, 2017). Konsentrasi hambat minimum merupakan konsentrasi terendah larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman (Yasjudani, 2017).

2.9 Obat golongan Antibakteri

2.9.1 Kontrol Positif (Tetrasiklin)

Tetrasiklin adalah antibiotik memiliki mekanisme kerja mengganggu proses sintesis protein dan termasuk dalam antibiotik pilihan yang mampu menghambat bakteri gram positif maupun gram negatif (Arif, 2017). Tetrasiklin dapat digunakan sebagai kontrol positif karena mekanisme kerjanya sama dengan senyawa alkaloid, yang susunan strukturnya diturunkan dari asam amino sedangkan sebagian kecil diantaranya diturunkan dari unit isoprena, sehingga senyawa alkaloid dapat berfungsi sebagai antimikroba (Arif, 2017).

Tetrasiklin merupakan antibiotik dengan spektrum antibakteri yang luas, sehingga efektif terhadap kuman Gram positif maupun Gram negatif, serta mencakup spektrum penisilin, streptomisin dan kloramfenikol (Nursalam, 2016). Tetrasiklin juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri jenis riketsia, amuba, mikoplasma dan klamidia (Nursalam 2016). Tetrasiklin memiliki sifat bakteriostatik dengan mekanisme kerjanya mempengaruhi tRNA-ribosom sehingga menghambat ikatan aminosial-tRNA pada reseptor penerima pada ribosom (Nursalam, 2016). Kinerja tetrasiklin tidak dapat langsung menghambat penyusunan peptida atau tahap translokasi, tetapi dengan menghambat terminasi

rantai peptida pada kodon terminasi (Arif, 2017). Tetrasiklin menembus masuk sel bakteri dengan mekanisme yang mungkin masih sama dengan cara menghambat sintesis protein, kemudian disertai oleh modifikasi struktur untuk menghambat sintesis protein (Nursalam, 2016). Beberapa bakteri terbukti sensitif terhadap tetrasiklin yaitu β - hemolitik Streptolocci, non hemolytik Streptolocci, Clostridia, Brucella dan Haemophylus (Nursalam, 2016). Namun pada jenis Escherichia coli, pasteurella, Salmonella dan Corynebacterium, tetrasiklin memiliki sifat yang agak atau cukup sensitif (Nursalam, 2016). Tetrasiklin berupa basa yang sukar larut dalam air, namun dalam bentuk garam natrium atau garam HClnya mudah larut dengan air (Arif, 2017). Kemudian dalam keadaan kering tetrasiklin dalam bentuk basa dan garam HCl memiliki sifat yang relatif stabil. Sehingga dalam bentuk larutan, kebanyakan tetrasiklin memiliki sifat yang sangat labil menyebabkan potensinya berkurang (Arif, 2017).

2.9.2 Karakteristik Tetrasiklin

Nama Umum : Tetrasiklin
 Nama Lain : Tetracyclini Hydrochloridum
 Nama Kimia : $C_{22}H_{24}N_2O_8, HCl$
 Pemerian : serbuk hablur, kuning, rasa pahit, amfoter
 Kelarutan : larut dalam 10 bagian air dan dalam 100 bagian etanol (95%) P, larut dalam air jika dibiarkan menjadi keruh karena pengendapan tetrasiklin, praktis tidak larut dalam kloroform P, dalam eter P dan dalam aseton P, larut dalam larutan alkali hidroksida dan dalam larutan alkali karbonat.
 Persyaratan : kapsul tetrasiklin hidroklorida mengandung tetrasiklin hidroklorida, $C_{22}H_{24}N_2O_8, HCl$, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

2.10 Hipotesis

2.10.1 Ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* (Dwiyanti *et al.*, 2012). Penelitian terdahulu Rasdi *et al.*, (2010) dan Moore *et al.*, (2015) mengungkapkan ekstrak Etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang mempunyai kemampuan sebagai antibakteri. Daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus*.

Ho: Maserat dari daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus*.

Ha: Maserat dari daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus*.

2.10.2 Ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) dengan konsentrasi ekstrak 30% hingga 100% menimbulkan zona hambat terhadap bakteri *Bacillus cereus* (Dwiyanti *et al.*, 2012). Konsentrasi yang digunakan adalah 10%, 20% dan 30%.

Ho : Konsentrasi 30% ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) tidak sebagai konsentrasi optimum aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus*.

Ha : Konsentrasi 30% ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) sebagai konsentrasi optimum aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia serbuk daun kenikir 300 g, pelarut etanol 70%, bakteri *Bacillus cereus*, antibiotik Tetrasiklin, media Nutrien agar (NA), Nutrien broth (NB), magnesium (Mg), asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄) pekat, asam asetat anhidrat, pereaksi Dragendorff dan larutan ferri klorida (FeCl₃) 1%, pelarut DMSO.

3.1.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: Erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, seperangkat alat soxhlet, alumunium foil, labu evaporator, cawan penguap, kaca arloji, pipet, blender, spatula, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, jarum ose, batang L, pinset, 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.

3.2 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun kenikir yang terdapat di Desa Besuki, Kecamatan Besuki, Kabupaten Tulungagung.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba daun kenikir untuk membuat simplisia serbuk sebanyak 300 g yang diperoleh di Desa Besuki, Kecamatan Besuki, Kabupaten Tulungagung.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi 10%, 20%, dan 30% ekstrak daun kenikir yang dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus*.

3.4.2 Variabel kontrol

Variabel kontrol atau terkendali adalah variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2013). Penelitian ini menggunakan variabel kontrol metode ekstraksi soxhletasi dan menggunakan bakteri *Bacillus cereus*.

3.4.3 Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah respon daya hambat ekstrak daun kenikir terhadap bakteri *Bacillus cereus*.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Determinasi tanaman

Sampel daun kenikir dideterminasi di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Tujuan determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman yang digunakan pada pengujian.

3.5.2 Pembuatan simplisia daun kenikir

Pembuatan simplisia daun kenikir dilakukan dengan mengumpulkan herba daun kenikir sebanyak 10 kg yang masih segar dan hijau (Dwiyanti *et al.*, 2014). Daun kenikir yang telah terkumpul akan dilakukan proses sortasi basah bertujuan untuk membersihkan daun dari kotoran-kotoran dan bahan-bahan asing lainnya (Charisma *et al.*, 2020). Pencucian dilakukan menggunakan air bersih yang mengalir dengan proses pencucian sebanyak tiga kali yang bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang masih melekat pada daun dan selanjutnya ditiriskan (Charisma *et al.*, 2020).

Daun kenikir yang telah dicuci kemudian akan dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan tidak terkena cahaya matahari secara langsung (Charisma *et al.*, 2020). Simplisia yang telah dikeringkan selanjutnya dilakukan sortasi kering bertujuan untuk memisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya yang masih tertinggal setelah pencucian (Charisma *et al.*, 2020). Simplisia akan disimpan dalam wadah dan dihaluskan sampai menjadi serbuk halus (Charisma *et al.*, 2020).

Simplisia kering yang telah menjadi serbuk akan diayak dengan ayakan ukuran 80 mesh, serbuk halus tersebut akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan dari serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas (Charisma *et al.*, 2020). Selanjutnya serbuk yang telah diayak akan ditimbang dengan bobot tertentu sesuai dengan kebutuhan untuk dilakukan proses ekstraksi secara soxhletasi (Charisma *et al.*, 2020).

3.5.3 Pemeriksaan karakteristik simplisia daun kenikir

3.5.3.1 Uji susut pengeringan simplisia daun kenikir

Susut pengeringan adalah pengurangan berat setelah dikeringkan dengan carayang telah ditetapkan (Charisma *et al.*, 2020).

$$\text{Rumus \% Susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

3.5.3.2 Uji kadar air serbuk simplisia daun kenikir

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g ekstrak dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara (Charisma *et al.*, 2020). Ekstrak tersebut dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan kemudian ditimbang (Charisma *et al.*, 2020).

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

3.5.4 Pembuatan ekstrak daun kenikir

Simplisia halus daun kenikir ditimbang sebanyak 300 gram diekstraksi menggunakan seperangkat alat soxhlet dalam pelarut etanol 70% (Dwiyanti *et al.*, 2012). Perbandingan bahan dan pelarut pada metode soxhletasi yaitu 1:20 (Malinda *et al.*, 2013). Alat soxhlet dilengkapi dengan pendingin balik dan dilakukan pemanasan pada suhu titik didih pelarut, dibiarkan terjadi sirkulasi sampai pelarut menjadi jernih, dilakukan sirkulasi sebanyak 3 kali (Febryanto, 2017). Filtrat ditampung dalam penampungan atau wadah tahan panas (Charisma *et al.*, 2020). Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator pada suhu hingga diperoleh ekstrak daun kenikir (Dwiyanti *et al.*, 2012).

3.5.5 Pemeriksaan karakteristik ekstrak daun kenikir

3.5.5.1 Rendemen ekstrak daun kenikir

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak daun kenikir dihitung membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan (Charisma *et al.*, 2020).

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot awal ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal simplisia serbuk}} \times 100\%$$

3.5.5.2 Organoleptik daun kenikir

Uji organoleptik menggunakan panca indera secara langsung untuk menunjukkan bentuk, warna, dan bau dari ekstrak daun kenikir (Charisma *et al.*, 2020).

3.5.5.3 Uji bebas etanol ekstrak

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan sejumlah ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial, dan 1 ml asam sulfat pekat (Charisma *et al.*, 2020). Campuran dihomogenkan, hasil positif bebas etanol jika terjadi perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan (Ikhsanudin dan Mardhiyah, 2017).

3.5.6 Skrining fitokimia ekstrak daun kenikir

3.5.6.1 Flavonoid

Mencampurkan ekstrak daun kenikir sebanyak kurang lebih 0,5 g dengan 3 ml etanol kemudian memanaskan dan menghomogenkan campuran (Charisma *et al.*, 2020). Proses selanjutnya yaitu menyaring campuran yang telah homogen dan menambahkan Mg sebanyak 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat pada filtrat yang telah diperoleh (Charisma *et al.*, 2020). Adanya flavonoid dalam sampel ditandai dengan warna merah, orange, dan hijau Pada lapisan etanol (Charisma *et al.*, 2020). Perubahan warna yang terjadi pada identifikasi flavonoid tersebut disebabkan karena flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl (Latifah, 2015).

3.5.6.2 Alkaloid

Menimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 0,5 g kemudian dilarutkan dalam 2 mL asam klorida dan dipanaskan 5 menit lalu disaring (Charisma *et al.*, 2020). Filtrat yang diperoleh ditambah 2-3 tetes pereaksi Dragendorff (Charisma *et al.*, 2020). Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan endapan jingga (Charisma *et al.*, 2020).

3.5.6.3 Saponin

Menimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 0,5 g kemudian menambahkan 10 ml aquadestilata panas, dilakukan pendinginan dan kemudian mencampurkan larutan tersebut selama 10 menit (Hidayah *et al.*, 2021). Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit (Hidayah *et al.*, 2021). Busa yang terbentuk menunjukkan adanya kandungan glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Latifah, 2015).

3.5.6.4 Tanin

Menambahkan ekstrak daun kenikir sebanyak 2 g dengan etanol sampai ekstrak tersebut terendam, kemudian memindahkan larutan tersebut sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi dan menambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1% (Charisma *et al.*, 2020). Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Charisma *et al.*, 2020). Pembentukan warna hitam kebiruan atau hijau disebabkan karena logam Fe dan tanin membentuk senyawa kompleks (Latifah, 2015). Senyawa kompleks tersebut terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Latifah, 2015).

3.5.7 Uji daya hambat bakteri ekstrak daun kenikir

3.5.7.1 Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma atau virus yang terdapat pada suatu benda (Charisma *et al.*, 2020). Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Charisma *et al.*, 2020). Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Charisma *et al.*, 2020).

3.5.7.2 Pembuatan media nutrient broth (NB)

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 mL aquadestilata, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut (Atlas, 2010). Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi (Atlas, 2010). Media dituangkan ke dalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

3.5.7.3 Pembuatan media nutrient agar (NA)

Media NA untuk membiakkan bakteri uji. Serbuk NA ditimbang 0,2 gram dilarutkan dalam aquadestilata 10 ml dan dipanaskan sampai mendidih sehingga serbuk NA terlarut. Larutan NA dilakukan pemeriksaan pH dengan kertas pH Universal (Muhamad, 2014). Media agar disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Muhamad, 2014). Media agar dituangkan pada plate atau cawan petri (Muhamad, 2014).

3.5.7.4 Pembuatan larutan uji ekstrak daun kenikir

Variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir dibuat dengan pelarut DMSO 10% yang sudah berupa larutan dengan masing-masing volume 1 mL (Charisma *et al.*, 2020). Konsentrasi ekstrak 10% dibuat dengan menimbang ekstrak sebanyak 0,1 g dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10%, konsentrasi ekstrak 20% dibuat dengan menimbang ekstrak 0,2 g dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10%, dan konsentrasi ekstrak 30% dibuat dengan menimbang ekstrak 0,3 g dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10% (Dwiyanti *et al.*, 2012).

3.5.7.5 Pembuatan kontrol positif (Tetrasiklin)

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu tetrasiklin 0,25% (Dwiyanti *et al.*, 2012). Tetrasiklin termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus Cereus* karena memiliki zona hambat sebesar 30,5 mm (Dwiyanti *et al.*, 2012). Tablet tetrasiklin 250 mg dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 0,5 g, dilarutkan ke dalam DMSO 10% sebanyak 2 ml (Dwiyanti *et al.*, 2012)

3.5.7.6 Pembuatan kontrol negatif (DMSO)

Kontrol negatif yang digunakan berupa larutan DMSO 10% sesuai dengan yang digunakan sebagai pelarut ekstrak daun kenikir (Dwiyanti *et al.*, 2012).

3.5.7.7 Peremajaan Bakteri *Bacillus cereus*

Proses ini bertujuan untuk merawat bakteri agar tetap baik dengan cara menggunakan media agar miring NA (Handayani *et al.*, 2019). Masing- masing ditumbuhi *Bacillus cereus* dengan digores menggunakan kapas lidi steril (Handayani *et al.*, 2019). Bakteri diinkubasi selama 37-38°C selama 24 jam sehingga diperoleh bakteri murni (Handayani *et al.*, 2019). Mc Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5) (Handayani *et al.*, 2019). Mc Farland mempunyai populasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Handayani *et al.*, 2019). Peremajaan ini dilakukan karena dalam pengujian aktivitas antibakteri diperlukan koloni bakteri segar yang berusia 24 jam. Setelah dilakukan peremajaan, selanjutnya dilakukan pewarnaan gram guna mengkonfirmasi bakteri uji (Utami, 2012).

3.5.7.8 Uji identifikasi *Bacillus cereus* dengan pewarnaan bakteri

Bakteri *Bacillus cereus* diambil menggunakan ose steril kemudian digoreskan pada permukaan kaca objek steril, ditetesi NaCl 0,9% lalu dilakukan fiksasi (Muhamad, 2014). Ditambahkan kristal violet sebanyak 1 tetes pada permukaan kaca objek yang terdapat lapisan bakteri dan didiamkan selama 1 menit (Muhamad, 2014). Setelah 1 menit, kaca objek dibilas dengan aquades sampai zat warna luntur, kemudian kaca objek dikeringkan di atas api spiritus, kemudian ditambahkan larutan lugol 1 tetes dan didiamkan selama 1 menit (Muhamad, 2014). Setelah 1 menit, dibilas dengan aquades kemudian dibilas dengan alkohol 96% sampai zat warna luntur lalu dibilas dengan air (Muhamad, 2014). Kaca objek dikeringkan di atas api spiritus kemudian ditambahkan 1 tetes safranin dan didiamkan selama 45 detik (Muhamad, 2014). Preparat dicuci dengan air dan dikeringkan, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x (Muhamad, 2014).

3.5.7.9 Uji identifikasi *Bacillus cereus* dengan uji katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3% pada gelas obyek yang bersih, kemudian biakan dioleskan pada gelas obyek (Fallis, 2016). Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan ose (Fallis, 2016). Hasil menunjukkan positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara (Fallis, 2016).

3.5.7.10 Pembuatan suspensi bakteri *Bacillus cereus*

Ose dari biakan bakteri *Bacillus cereus* dilakukan suspensi ke dalam tabung berisi 5 mL media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Handayani *et al.*, 2020). Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. Farland mempunyai populasi 1×10^7 CFU/mL - 1×10^8 CFU/mL) (Handayani *et al.*, 2020)

3.5.7.11 Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir dengan perbandingan konsentrasi 10%, 20%, 30%.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (paper disc) berdiameter 6 mm yang telah disterilkan (Kusumowati *et al.*, 2014). Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri *Bacillus cereus* (Kusumowati *et al.*, 2014). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tiga kali pengulangan (Kusumowati *et al.*, 2014). Paper disc dicelupkan ke dalam larutan uji variasi konsentrasi 10%, 20% dan 30% sejumlah 20 mikropipet, kemudian diletakkan di atas media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji (Kusumowati *et al.*, 2014). Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam tetrasiklin (Kusumowati *et al.*, 2014). Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam DMSO (Kusumowati *et al.*, 2014). Inkubasi dilakukan pada suhu 37oC selama 2 x 24 jam, pengamatan dilakukan terhadap terbentuknya zona hambat di sekitar paper disc (Kusumowati *et al.*, 2014).

3.5.7.12 Pengukuran zona hambat

Pengukuran zona hambat dilakukan setelah masa inkubasi dimana zona hambat telah terbentuk disekitar cakram, pengukuran menggunakan diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan millimeter (mm) menggunakan penggaris atau jangka sorong sebanyak 3 kali pengulangan (Mulyatni, 2012).

3.6 Analisis Statistika

Data hasil uji aktivitas ekstrak daun kenikir terhadap pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dianalisa secara statistik menggunakan program Statistical Product Services Solution (SPSS 25). Pengolahan data sebagai berikut :

3.6.1 Uji normalitas data

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

Perumusan hipotesis :

- 1) H_0 : data berdistribusi normal
- 2) 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

3.6.2 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 :

- 1) H_0 : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen
- 2) 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

3.6.3 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 ekstrak berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*.

Perumusan hipotesis :

- 1) H_0 : Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus*.
- 2) H_1 : Ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus*.

Pengambilan keputusan :

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

3.6.4 Uji korelasi

Uji korelasi ini digunakan untuk membuktikan hubungan yang signifikan antara variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir terhadap efek antibakteri yang dihasilkan. Pengujian korelasi ini menggunakan metode statistik *Pearson*.

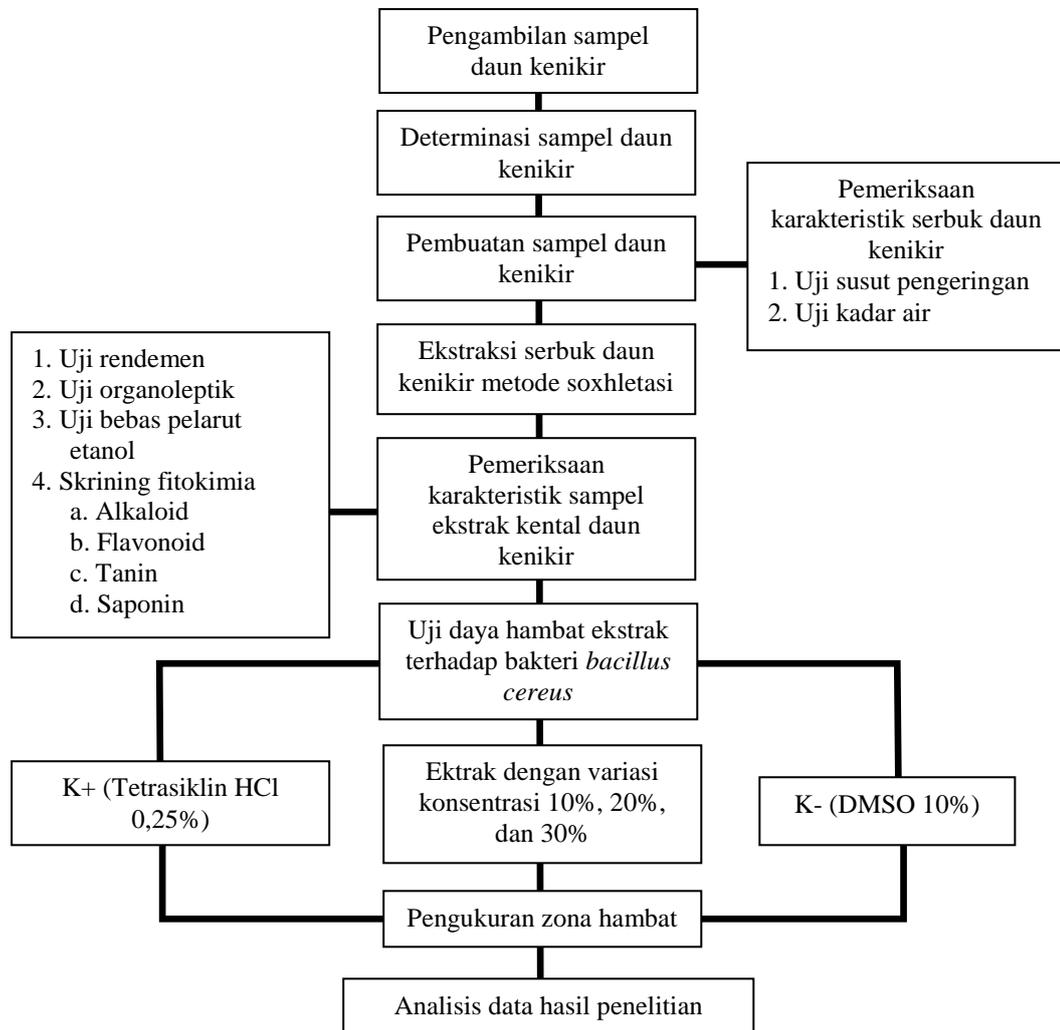
Perumusan hipotesis :

- 1) H_0 : Tidak terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara ekstrak daun kenikir terhadap efek antibakteri yang dihasilkan
- 2) H_1 : Terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara ekstrak daun kenikir terhadap efek antibakteri yang dihasilkan

Pengambilan keputusan :

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

3.7 Kerangka penelitian



Gambar 3. 1 Kerangka penelitian

3.8 Jadwal penelitian

Jadwal Penelitian	Tahun 2020 bulan ke-			Tahun 2021 bulan ke-						Tempat
	10	11	12	3	4	5	6	7	8	
1.Pengajuan judul	√									Kampus STIKes KARTRASA
2.Studi pustaka		√								Kampus STIKes KARTRASA
3.Persiapan penelitian			√							Kampus STIKes KARTRASA
a. Determinasi tanaman			√							UPT Materia Medica, Batu
b. Pembuatan simplisia				√						Laboratorium KARTRASA
c. Soxhletasi				√						Laboratorium KARTRASA
4.Penelitian laboratorium					√	√	√			Laboratorium KARTRASA
a. Identifikasi kandungan							√			Laboratorium KARTRASA
b. Orientasi penelitian							√			Laboratorium KARTRASA
5.Pengumpulan dan analisis data							√	√		Laboratorium KARTRASA
6.Penyusunan laporan								√		Laboratorium KARTRASA

Tabel 3. 1 Jadwal pelaksanaan penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman Kenikir

Determinasi tanaman kenikir dilakukan di Materia Medica, Batu. Hasil determinasi tanaman menunjukkan sampel yang digunakan merupakan tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43a-44b-45a-46a-1b-12a-13b-15a.

4.2 Pembuatan Simplisia Serbuk Daun Kenikir

Pembuatan simplisia serbuk dilakukan dengan mengumpulkan daun kenikir sebanyak 10 kg yang masih hijau dan segar (Dwiyanti *et al.*, 2012). Namun pada penelitian ini daun kenikir hanya dikumpulkan sebanyak 3 kg. Proses pengolahan yaitu melakukan sortasi basah dan pencucian sampel daun kenikir untuk membersihkan daun dari kotoran dan bahan asing lain (Charisma *et al.*, 2020). Kemudian dilakukan pengeringan sampel daun kenikir sehingga diperoleh simplisia kering daun kenikir, dan dilakukan sortasi kering untuk memisahkan sampel dari pengotor yang masih tertinggal (Charisma *et al.*, 2020). Simplisia kering daun kenikir kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan ukuran 80 mesh. Karena semakin besar nomor ayakan maka serbuk yang dihasilkan juga akan semakin halus, sehingga luas permukaan serbuk semakin besar dan mudah untuk diekstraksi (Charisma *et al.*, 2020).

4.2.1 Uji susut pengeringan simplisia

Uji susut pengeringan untuk mengetahui seberapa besar senyawa yang hilang akibat dari proses pengeringan (Charisma *et al.*, 2020). Hasil uji susut pengeringan simplisia daun kenikir pada **Tabel 4.1** diketahui sebesar 90%. Hasil tersebut dipengaruhi oleh kadar air yang sangat tinggi pada daun kenikir, sehingga mengalami penyusutan dari berat awal sebesar 3 kg menjadi 300 gram serbuk simplisia (DepKes RI, 2000).

Tabel 4. 1 Hasil uji susut pengeringan simplisia daun kenikir

Sampel	Bobot daun basah	Bobot daun kering	% Hasil
Daun Kenikir (<i>Cosmos caudatus Kunth.</i>)	3 kg	300 g	90%

$$\text{Rumus \% Susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

4.2.2 Uji kadar air simplisia

Uji kadar air pada simplisia bertujuan untuk melihat kualitas simplisia daun kenikir (DepKes RI, 2000). Apabila syarat uji kadar air telah sesuai maka dapat meminimalisir kandungan air yang terdapat pada simplisia, hal tersebut dapat mencegah pertumbuhan dan aktivitas enzim mikroorganisme pada simplisia (DepKes RI, 2000). Pada penelitian kali ini telah terbukti bahwa simplisia serbuk daun kenikir akan tahan lama dan kandungan zat aktif tidak berubah. Hasil uji kadar air dapat dilihat pada **Tabel 4.2** sebagai berikut. Hasil uji kadar air simplisia daun kenikir yaitu sebesar 9,8%. Hasil tersebut telah menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan memenuhi syarat uji kadar air yang telah ditetapkan, pada uji kadar air simplisia mempunyai syarat yaitu tidak lebih dari 10% (DepKes RI, 2000). Kadar air yang melebihi 10% dapat mengakibatkan simplisia mudah ditumbuhi mikroorganisme (DepKes RI, 2008). Persentase kadar air dipengaruhi oleh bobot awal simplisia sebelum dan setelah dihaluskan (Nursanti and Nindhira, 2017).

Tabel 4. 2 Hasil uji kadar air simplisia serbuk daun kenikir

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	% Hasil
Daun Kenikir (<i>Cosmos caudatus Kunth.</i>)	9,89 g	8,92 g	9,8%

Keterangan:

A= bobot awal simplisia sebelum dioven

B= bobot akhir simplisia setelah dioven

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

4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kenikir

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode soxhletasi. Metode ini terjadi secara kontinu dengan bantuan alat khusus (DepKes, 2000). Proses ekstraksi ini juga tidak memerlukan pelarut yang banyak (Maretniatin, 2008). Proses ekstraksi dilakukan dengan memasukkan serbuk simplisia yang sudah dibungkus dengan selongsong, ke dalam labu alas bulat pada seperangkat alat soxhlet (Chandra, 2015). Kemudian dimasukkan pelarut etanol 70%, pelarut etanol 70% dapat melarutkan senyawa polar maupun non-polar (Chandra, 2015). Etanol 70% menghasilkan rendemen lebih tinggi daripada etanol 96% karena perbedaan polaritas (Faturrahman, 2014).

Hasil ekstrak kemudian dipekatan dengan evaporator, Evaporasi (penguapan) adalah proses bentuk zat cair (air) menjadi gas (uap air) dan masuk ke atmosfer (Ali, 2019). Proses evaporasi merupakan proses menghilangkan kadar air dalam larutan simplisia sebesar 25% hingga 45% agar diperoleh simplisia pekat (Joharman, 2006).

4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Daun Kenikir

4.4.1 Uji rendemen ekstrak daun kenikir

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal dengan bobot akhir ekstrak yang dihasilkan (Charisma *et al.*, 2020). Uji rendemen ekstrak bertujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan bioaktif pada tanaman, senyawa bioaktif merupakan kandungan senyawa dalam tubuh hewan maupun tumbuhan (Dewatasari *et al.*, 2017). Senyawa bioaktif memiliki berbagai manfaat bagi kehidupan manusia, salah satunya sebagai antibakteri (Dewatasari *et al.*, 2017). Pada **Tabel 4.3** menunjukkan hasil rendemen setelah diperoleh ekstrak pekat setelah dilakukan. Hasil uji rendemen ekstrak yaitu 2%, semakin besar rendemen yang dihasilkan, maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan dengan tidak mengesampingkan sifat-sifat lain (Dewatasari *et al.*, 2017). Nilai rendemen dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut (Charisma *et al.*, 2020).

Tabel 4. 3 Hasil uji rendemen ekstrak daun kenikir

Sampel	Bobot ekstrak	Bobot serbuk simplisia	% Hasil
Daun Kenikir (<i>Cosmos caudatus Kunth.</i>)	6 g	300 g	2%

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal simplisia serbuk}} \times 100\%$$

4.4.2 Organoleptik ekstrak daun kenikir

Uji organoleptik bertujuan untuk menunjukkan bentuk, warna dan bau dari ekstrak daun kenikir (Depkes RI,2000). Uji organoleptik menggunakan panca indera secara langsung menunjukkan ekstrak daun kenikir memiliki bentuk setengah padat atau kental, memiliki bau khas daun kenikir dan memiliki warna hijau kecoklatan.

4.4.3 Uji bebas etanol ekstrak daun kenikir

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak daun kenikir yang dihasilkan bebas dari pelarut yang digunakan, karena etanol 70% memiliki aktivitas antibakteri sehingga dikhawatirkan akan mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak daun kenikir (Hidayah *et al.*, 2020). Hasil uji pada **Tabel 4.4** menunjukkan bahwa ekstrak daun kenikir terbukti positif bebas pelarut etanol. Hal tersebut ditandai dengan reaksi perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan (Hidayah *et al.*, 2020).

Tabel 4. 4 Hasil uji bebas etanol ekstrak daun kenikir

Sampel	Perlakuan	Perubahan warna	Hasil
Daun Kenikir (<i>Cosmos caudatus Kunth.</i>)	Asam asetat, Asam sulfat, dipanaskan	Hijau kebiruan	+

Keterangan : (+) tidak terdapat kandungan etanol 70%

4.5 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir

4.5.1 Skrining fitokimia ekstrak daun kenikir

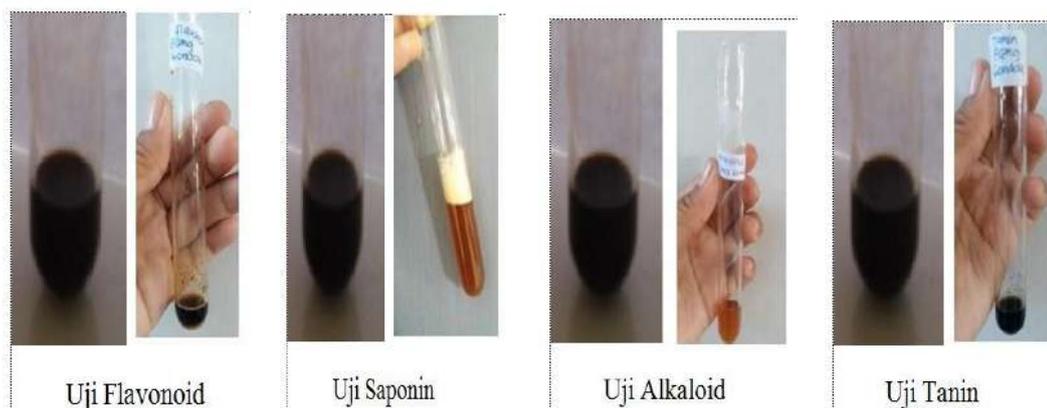
Skrining fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dari ekstrak daun kenikir, skrining fitokimia ekstrak biji ketumbar bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya (Syhadat and Siregar, 2020). Hasil pada **Tabel 4.5** menunjukkan uji skrining fitokimia ekstrak daun kenikir.

Tabel 4. 5 Hasil uji skrining fitokimia daun kenikir

Golongan senyawa	Perlakuan	Perubahan warna	Hasil
Flavonoid	Mg dan HCl Pekat	Jingga orange	+
Alkaloid	Dragendorf	Endapan jingga	+
Tanin	Etanol 70% + FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Saponin	Aquadestilata Panas	Busa stabil	+

Keterangan : (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa

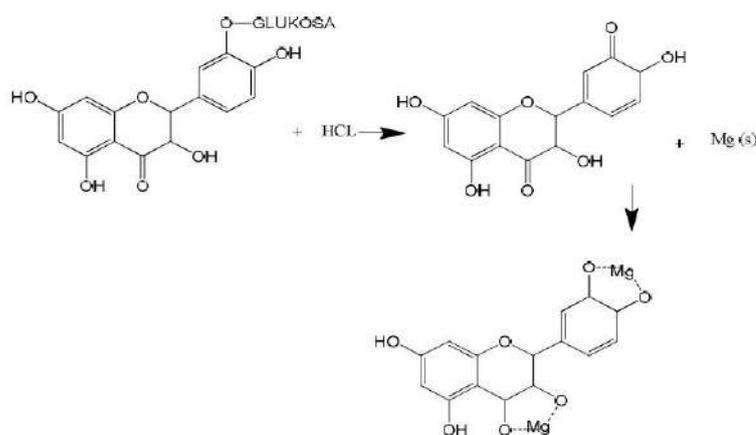
Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun kenikir menunjukkan bahwa ekstrak daun kenikir mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Hasil skrining fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian Dwiyanti *et al.*, (2012) dan Sari *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa daun kenikir mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin.



Gambar 4. 1 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir Sebelum Dan Sesudah Ditambahkan Larutan Pereaksi

4.5.1.1 Uji flavonoid daun kenikir

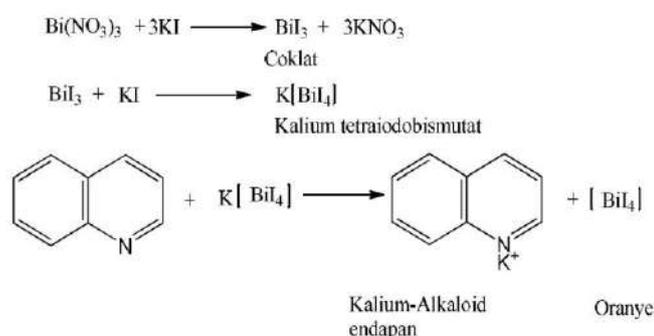
Uji flavonoid untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid didalam ekstrak daun kenikir. Hasil uji flavonoid ekstrak adalah positif terdapat warna jingga orange, karena penambahan logam Mg dan HCl telah mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Charisma *et al.*, 2020).



Gambar 4. 2 Mekanisme Reaksi Uji Skrining Fitokimia Flavonoid (Marlinda *et al.*, 2012)

4.5.1.2 Uji alkaloid daun kenikir

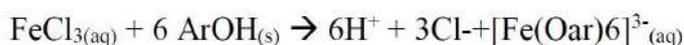
Uji alkaloid untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid didalam ekstrak daun kenikir. Hasil uji alkaloid ekstrak daun kenikir adalah positif terdapat endapan jingga. Pereaksi dragendorf, nitrogen membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam dan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Charisma *et al.*, 2020).



Gambar 4. 3 Mekanisme Reaksi Uji Skrining Fitokimia Alkaloid (Marlinda *et al.*, 2012)

4.5.1.3 Uji tanin

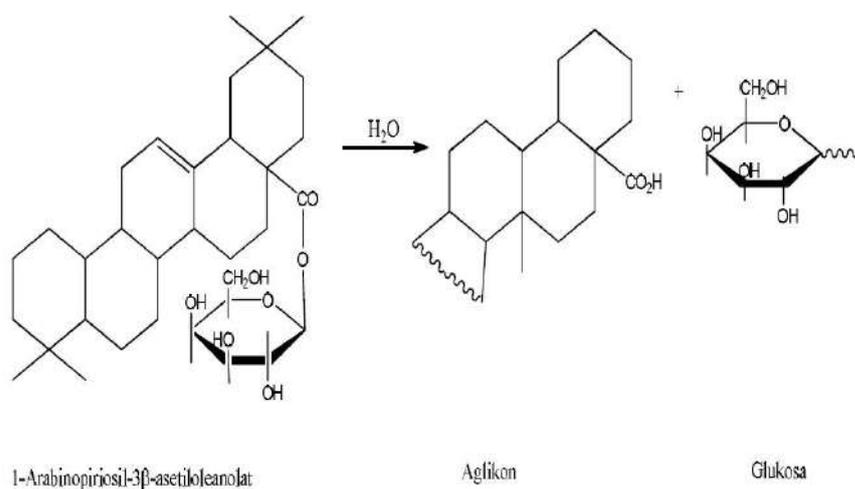
Uji tanin untuk mengetahui adanya senyawa tanin didalam ekstrak daun kenikir. Hasil uji tanin ekstrak daun kenikir adalah positif terdapat hitam kebiruan karena terbentuk senyawa kompleks dari tanin dan Fe^{3+} yang memberikan perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Charisma *et al.*, 2020). Pereaksi FeCl_3 dipergunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin (Marlinda *et al.*, 2012).



Gambar 4. 4 Mekanisme Reaksi Uji Skrining Fitokimia Tanin (Marlinda *et al.*, 2012)

4.5.1.4 Uji saponin

Uji saponin untuk mengetahui adanya senyawa saponin di dalam ekstrak daun kenikir. Hasil uji saponin daun kenikir adalah positif dengan terbentuknya busa stabil. Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosia yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Hidayah *et al.*, 2021).



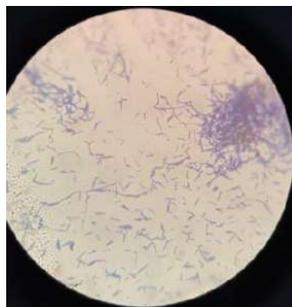
Gambar 4. 5 Mekanisme Uji Skrining Fitokimia Saponin (Marlinda *et al.*, 2012)

4.6 Uji Identifikasi Bakteri *Bacillus cereus*

Uji identifikasi dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Bacillus cereus*, sekaligus untuk memastikan agar tidak terjadi kontaminasi terhadap bakteri sebelum digunakan untuk uji daya hambat. Sampel bakteri pada penelitian ini yaitu bakteri yang berasal dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, bukti sertifikat identifikasi bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

4.6.1 Uji identifikasi pewarnaan

Bakteri Bacillus cereus merupakan bakteri gram positif dengan bentuk oval atau silinder (Bottone, 2010). Hasil uji pewarnaan Gram menghasilkan warna ungu menunjukkan sampel bakteri *Bacillus cereus* merupakan bakteri Gram positif. Menurut Djaenuddin and Muis, (2015) warna ungu muncul pada pewarnaan Gram tersebut dikarenakan dinding sel *Bacillus cereus* mampu mempertahankan zat warna kristal violet. Uji pewarnaan pada **Gambar 4.6** dalam penelitian ini diperoleh hasil berupa bakteri dengan bentuk basil/batang.



Gambar 4. 6 Hasil Uji Pewarnaan Bakteri *Bacillus Cereus*

4.6.2 Uji katalase

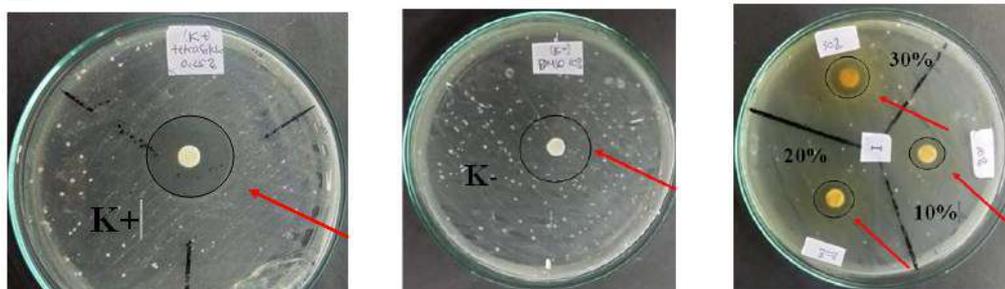
Menurut Brooks *et al.*, (2013) bakteri *Bacillus cereus* merupakan gram positif jenis aerobik hingga fakultatif. Uji katalase menunjukkan hasil positif pada **Gambar 4.7**. Menurut Gultom, (2019) katalase positif ditandai dengan adanya gelembung oksigen yang menunjukkan bahwa organisme yang bersangkutan menghasilkan enzim katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.



Gambar 4. 7 Hasil Uji Katalase Bakteri *Bacillus Cereus*

4.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

Uji aktivitas antibakteri daun kenikir terhadap bakteri *bacillus cereus* dilakukan secara difusi, pada ekstrak daun kenikir dengan variasi konsentrasi 10%, 20% dan 30% untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan dengan pembanding yang digunakan sebagai kontrol positif adalah Tetrasiklin HCl 0,25% dan kontrol negatif adalah DMSO 10%, munculnya zona hambat ditandai terbentuknya daerah jernih di sekitar cakram (Yasjudani, 2017). Tetrasiklin HCl digunakan sebagai kontrol positif karena mekanisme kerjanya sama dengan senyawa alkaloid, yang susunan strukturnya diturunkan dari asam amino sedangkan sebagian kecil diantaranya diturunkan dari unit isoprena, sehingga senyawa alkaloid dapat berfungsi sebagai antimikroba (Arif, 2017). DMSO 10% digunakan sebagai K- karena selain digunakan sebagai pelarut, DMSO 10% juga tidak memiliki aktivitas antibakteri (Anggraini and Masfufatun, 2017). Hasil dari uji aktivitas antibakteri pada **Gambar 4.8** menunjukkan bahwa ekstrak daun kenikir pada variasi konsentrasi 10%, 20%, dan 30% terbukti menghasilkan zona hambat.



Gambar 4. 8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Dilakukan pengukuran zona hambat dari hasil yang diperoleh dan telah ditunjukkan pada **Tabel 4.6**

Tabel 4. 6 Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) terhadap bakteri *Bacillus cereus*

Sampel	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± Standart deviasi
	Replikasi			
	I	II	II	
Kontrol positif (Tetrasiklin 0,25%)	24,00	24,00	24,00	24,00 ± 00,00
Kontrol negatif (DMSO 10%)	0	0	0	0±0,00
Ekstrak 10%	16,00	16,00	16,50	17,33±1,25
Ekstrak 20%	17,50	17,50	17,00	17,16±1,04
Ekstrak 30%	18,50	18,00	18,50	17,33±1,04

Tetrasiklin merupakan antibiotik dengan spektrum antibakteri yang luas, sehingga efektif terhadap kuman Gram positif maupun Gram negatif, (Nursalam, 2016). Hasil uji aktivitas antibakteri pada kontrol positif Tetrasiklin HCl 0,25% memiliki zona hambat sebesar 24,00 mm, ini membuktikan bahwa Tetrasiklin sensitif terhadap bakteri gram positif salah satunya yaitu *Bacillus cereus* (Nursalam, 2016). Tetrasiklin sesuai dengan teori yang dipaparkan oleh Nursalam, (2016) memiliki sifat bakteristatik dengan mekanisme kerjanya mempengaruhi tRNA-ribosom sehingga menghambat ikatan aminosial-tRNA pada reseptor penerima pada ribosom. Tetrasiklin menembus masuk sel bakteri dengan mekanisme yang mungkin masih sama dengan cara menghambat sintesis protein, kemudian disertai oleh modifikasi struktur untuk menghambat sintesis protein (Nursalam, 2016).

Hasil uji aktivitas antibakteri pada kontrol negatif DMSO 10% memiliki zona hambat sebesar 0,00 mm, hal ini sesuai dengan penelitian Arif (2017) bahwa pelarut DMSO 10% merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal. DMSO biasa dikenal dengan sebutan krioprotektan konvensional yang dapat

ditambahkan ke dalam media sel untuk mencegah kematian sel sepanjang proses pembekuan (Ninulia, 2016). Hal tersebut menyebabkan DMSO banyak digunakan sebagai pelarut ekstrak tanaman pada berbagai penelitian uji antimikroba (Amiyati, 2016).

Analisis statistik pada penelitian ini menggunakan program Statistical Product Services Solution (SPSS 25). Analisis yang dilakukan meliputi uji normalitas, uji homogenitas, uji one way anova dan uji korelasi. Hasil analisis data pada uji normalitas dan homogenitas yang diperoleh menunjukkan bahwa data hasil penelitian telah berdistribusi dengan normal dan homogen dengan syarat signifikansi $>0,05$.

**Tabel 4. 7 Hasil Uji post hoc pada metode one way anova
Zona Hambat**

Tukey HSD ^a				
Konsentrasi Uji	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K- DMSO 10%	3	,000		
Ekstrak 20%	3		17,167	
Ekstrak 10%	3		17,333	
Ekstrak 30%	3		17,333	
K+ tetrasiklin 0,25%	3			24,000
Sig.		1,000	,999	1,000

Uji one way anova menunjukkan bahwa variasi konsentrasi yang diberikan oleh ekstrak 10%, 20% dan 30%, dapat memberikan pengaruh terhadap zona hambat yang dihasilkan. **Tabel 4.7** menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan oleh variasi ekstrak yang diberikan, tidak memberikan perbedaan yang bermakna antara satu sama lain. Namun, variasi ekstrak yang diberikan dapat memberikan perbedaan yang bermakna apabila dibandingkan dengan kontrol positif tetrasiklin 0,25% dan kontrol negatif DMSO 10%. Menurut Wiharningtias and Waworuntu, (2016) hal tersebut dapat terjadi apabila konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin rendah, maka kemampuan daya hambat senyawa aktif dalam ekstrak tersebut akan semakin kecil atau berkurang. Uji korelasi menunjukan

bahwa masing-masing variabel yang digunakan yaitu respon daya hambat, variasi konsentrasi dan banyaknya replikasi uji masih memberikan korelasi positif terhadap satu sama lain.

Efektivitas zona hambat pada variasi ekstrak 10%, 20%, dan 30% belum bisa dikatakan sebanding dengan kontrol positif tetrasiklin 0,25%. Masing-masing variasi konsentrasi ekstrak menunjukkan daya hambat yang sebesar $17,33 \pm 1,25$ pada konsentrasi 10%, $17,16 \pm 1,04$ pada konsentrasi 20%, dan $17,33 \pm 1,04$ pada konsentrasi 30%. Konsentrasi 30% merupakan konsentrasi yang optimum, Indikator waktu optimum aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh senyawa aktif antibakteri yang menghasilkan zona hambat maksimal terhadap pertumbuhan bakteri (Rahmayanti *et al.*, 2020).

Zona hambat yang dihasilkan termasuk kategori respon daya hambat kuat, karena 10%, 20% dan 30% masih belum setara dengan zona hambat yang dihasilkan oleh Tetrasiklin 0,25. Namun pada variasi konsentrasi 10%, 20% dan 30% masih dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus*. Akan tetapi untuk menghasilkan respon hambat yang setara dengan Tetrasiklin 0,25%, maka perlu adanya peningkatan konsentrasi ekstrak daun kenikir. Pada variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir 10%, 20% dan 30% zona hambat paling optimum dihasilkan pada konsentrasi 30%. Menurut penjabaran Susanto *et al.*, (2012) kategori respon daya hambat kuat berada pada rentang daya hambat 11-20 mm.

Zona hambat tersebut dapat diperoleh karena adanya kandungan senyawa aktif dalam ekstrak daun kenikir meliputi flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja yaitu menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA, merusak membran sitoplasma bakteri dan menghambat metabolisme energi (Rijayanti, 2014).

Senyawa alkaloid menyebabkan perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga hal tersebut akan menimbulkan perubahan pada keseimbangan genetik rantai DNA sehingga terjadi kerusakan yang mendorong sel bakteri lisis hingga menyebabkan kematian pada sel bakteri (Charisma *et al.*, 2020). Saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida mengakibatkan peningkatan permeabilitas dinding sel bakteri sehingga membran menjadi tidak stabil dan menurunkan tegangan permukaan dari dinding sel bakteri sehingga dinding sel tersebut akan mengalami lisis (Hidayah *et al.*, 2021). Tanin dapat mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel serta menginaktifkan enzim pada bakteri (Ngajow *et al.*, 2013).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- 5.1.1 Ekstrak daun kenikir mempunyai aktivitas antibakteri dengan kategori zona hambat kuat pada variasi konsentrasi 10%, 20% dan 30%.
- 5.2.1 Pada variasi konsentrasi 10%, 20% dan 30% diperoleh konsentrasi hambat optimum pada konsentrasi 30%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi.
- 5.2.2 Perlu dilakukan skrining fitokimia terkait kandungan senyawa lain yang ada pada ekstrak daun kenikir.
- 5.2.3 Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi untuk mengetahui KHM dari ekstrak daun kenikir.
- 5.2.4 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bentuk sediaan untuk mengetahui keefektifan daun kenikir sebagai bahan obat.
- 5.2.5 Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut secara praklinis pada hewan coba untuk mengetahui khasiat daun kenikir.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, N. (2019). Pembuatan Sirup Glukosa Dari Buah Sawo (*Manilkara Zapota*) Dengan Metode Evaporasi (Doctoral Dissertation, Politeknik Negeri Sriwijaya).
- Amiyati, D. R. 2016. Kinerja Membran Selulosa Asetat Dengan Variasiwaktu Penguapan Pada Proses Ultrafiltrasi. Skripsi. Universitas Jember.
- Anggraini, V., & Masfufatun, M. (2017). Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Dan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Jurnal Kimia Riset*, 2(2), 86-92.
- Arif, A. (2017). Uji Sensitivitas Ampisilin , Imipenem Dan Tetrasiklin Terhadap *Staphylococcus Aureus* Penyebab Mastitis Pada Kambing Alfionita Arif Program Studi Kedokteran Hewan. Skripsi. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Atlas, M.Ronald. 2010. *Microbiological Media*, 4th Edition. Crc Press, New York.
- Badan Pom Ri. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*, Vol. 5, Edisi I, Direktorat Obat Asli Indonesia. Jakarta : Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Badan Pom Ri. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta : Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Bahi, M., & Anizar. (2013). *Senyawa Antibiotika Dari Bakteri Dan Jamur Endofit: Mini Review*. Prosiding Semirata Fmipa Universitas Lampung.
- Bottone, Edward J. 2010. "Hypermucoviscous Phenotype Expressed By An Isolate of Uropathogenic *Escherichia Coli*: An Overlooked And Under Appreciated Virulence Factor." *Clinical Microbiology News Letter*. <https://doi.org/10.1016/J.Clinmicnews.2010.05.001>.
- Brooks, F. (2013). *Medical Microbiology*. The Mcgraw-Hill Companies, Inc.
- Bunawan, S. N., H. Bunawan, N. Baharum, N. M. Amin, Dan N. M. Noor. 2014. *Cosmos Caudatus Kunth: A Traditional Medicinal Herb*. *Global Journal Of Pharmacology*. 8(3):420–426.

- Chandra, Andy. 2015. Studi Awal Ekstraksi Batch Daun Stevia Rebaudiana Dengan Variabel Jenis Pelarut Dan Temperatur Ekstraksi. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.
- Charisma N.Q., S. (2020) 'Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*', Skripsi. Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
- Cushnie, T. P. T., B. Cushnie, Dan A. J. Lamb. 2014. Alkaloids: An Overview Of Their Antibacterial, Antibiotic-Enhancing And Antivirulence Activities. *International Journal Of Antimicrobial Agents*. 44(5):377–386.
- Depkes Ri. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat . Jakarta Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan, Hal. 1-3.
- DepkesRi. 2008. Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta : Deparemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2017). Rendemen Dan Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun *Sansevieria Sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197-202.
- Dwicahyani, Tiara., Sumardianto., Rianingsih, Laras. 2018. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling (*Holothuria Atra*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *J. Peng. & Biotek*. Vol. 7, No. 1, P : 15-24
- Dwiyanti, Wariska, Muslimin Ibrahim, And Guntur Trimulyono. 2012. "Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir(*Cosmos Caudatus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Cereus* Secara In Vitro". *Lentera Bio : Berkala Ilmiah Biologi*, Issn: 2252-3979
- E.S. Simaremare. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea Decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, Vol.11 No. 01juli 2014. Issn 1693-3591
- Eleanore, Y. 2013. Analisis Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Dan Ekstrak Daun Sengon (*Paraserianthes Falcataria* (L) Nielsen) Menggunakan Metode Dpph. Skripsi. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Ergina, Nuryanti, S. Dan Pursitasari, I.D. 2014. Qualitative Test Of Secondary Metabolites Compounds In Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water And Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*. Vol. 3, No. 3, P. 165-172.
- Fallis, A. . (2016), *Journal Of Chemical Information And Modeling*, 53(9), Pp. 1689–1699.

- Fathurrachman, D.N., 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph (Skripsi). Jakarta: Uin Syarif Hidayatullah.
- Febryanto, M. A. (2017). Soxhletasi Pada Bahan Organik Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans*).
- Ghazali, I.,2011. Aplikasi Analisis Multi Variate Dengan Program Spss 19. Semarang : Bp Universitas Diponegoro.
- Gultom, S. (2019) ‘Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Pada Kolam Tanah Gathering Station Eor Plant Di Spt. Bumi Siak Pusako’, 8(5), P. 55.
- Hanafi, M. I. J. (2016). Pengaruh Penambahan Montmorillonite Pada Sifat Ketahanan Termal Polivinil Asetat (Doctoral Dissertation, Institut Teknologi Sepuluh Nopember).
- Handayani, K., Putri, A. E., & Martha, R. D. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Batang Pepaya (*Carica Papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jops (Journal Of Pharmacy And Science)*, 4(1), 21-30.
- Heeb, S., M. P. Fletcher, S. R. Chhabra, S. P. Diggle, P. Williams, Dan M. Cámara. 2011. Quinolones: From Antibiotics To Autoinducers. *Fems Microbiology Reviews*. 35(2):247–274.
- Hidayah, N., Huda, C., & Tilarso, D. P. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Biduri (*Calotropis Gigantea*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jops (Journal Of Pharmacy And Science)*, 4(1), 40–45. <https://doi.org/10.36341/jops.v4i1.1456>
- Hidayat, S. Dan R. M. Napitupulu. 2015. Kitab Tumbuhan Obat. Jakarta Timur: Agriflo (Penebar Swadaya Group).
- Ikhsanudin, Azis., Mardhiyah, Siti. 2017. Formulasi Dan Uji Antijerawat Gel Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. *Medula*. Vol. 5, No. 1. P: 416-426
- Jawetz E., Melnick JI Adelberg Ea. Brooks Gf, B. J. O. L. (2015) Mikrobiologi Kedokteran. 25th Edn. Jakarta: Egc.
- Joharman, Tomando. 2006. Studi Pengaruh Suhu Dan Lama Evaporasi Pada Proses Pemekatan Gelatin. Skripsi. Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Katrin, Dina., Idris, Nora., Sitorus, Berlian. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea Graciae* Vidal) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. Jkk. Vol. 4, No. 1, P : 7-12
- Khasanah, N.A.H. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia*) Terhadap Bakteri *Shigella* Sp. Jurnal Borneo Cendekia, 3(2), 223-228.
- Kholifah, Y. F., Rita Sulistya Dewi, E., & Widyastuti, D. A. (2019). Kemampuan Daya Hambat Limbah Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Sebagai Antibakteri Pada *Bacillus Cereus* Atcc 10876. Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Entaepaenurship Vi.
- Kotiranta, A., Lounatmaa, K., & Haapasalo, M. (2000). Epidemiology And Pathogenesis Of *Bacillus Cereus* Infections.
- Kusumowati, Ika Trisharyanti Dian., Dkk. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma Affine* D. Don). Biomedika. Vol.6, No.2.
- 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. Malang : Uin Maulana Malik Ibrahim Malang
- Lutpiatina, L., Amaliah, N. R., & Dwiyantri, R. D. (2017). Daya Hambat Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth.) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. Meditory, 5(2), 83–91.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. (2012). Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). Jurnal MIPA, 1(1), 24-28.
- Moore, S., G. Safita, E. Rismawati, E. Sakti, Dan L. Syafnir. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth.) Dan Daun Sintrong (*Crassocephalum Crepidioides*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. 421–428
- Muhamad, Zakiya Kamila. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Sintok (*Cinnamomum Suntoc* Blume.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Serta Analisa Komponen Senyawa Fraksi Aktif Dengan Kromatografi Gas - Spektrometri Massa. Skripsi. Jakarta : Uin Syarif Hidayatullah Jakarta
- Mulyatni, Agustin Sri., Et Al. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Terhadap *Escherichia Coli*, *Bacillus Subtilis*, Dan *Staphylococcus Aureus*. Menara Perkebunan. Vol. 80, No.2
- Mursito, B. 2011. Tanaman Hias Berkhasiat Obat. Jakarta: Niaga Swadaya.

- Ngajow, Mercy., Abidjulu, Jemmy., S.Kamu, Vanda. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia Pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. Vol.2, No.2, P : 128-132
- Ninulia, P. P. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Randu (*Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn) Terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (Mrsa) (Doctoral Dissertation, Uajy).
- Noor, A. S. (2016) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Dan Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth) Terhadap *Salmonella Typhi*’, Skripsi, Pp. 1–114.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining fitokimia dari ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam sediaan serbuk. *Jurnal penelitian pendidikan ipa*, 2(1).
- Nursalam. 2016. (2013). Pengaruh Pemberian Pakan Berantibiotik Pada Populasi Mikroba Air, Kadar Protein Sedimen Dan Akumulasi Tetrasiklin Dengan Menggunakan Pengembangan Metode Analisis Tetrasiklin Serta Pengaruhnya Pada Laju Pertumbuhan Lobster Air Tawar (*Cherax Quadricarinatus*). Skripsi. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Nursanti, Ida And Nindhira, A.L. 2017. “Desain Eksperimen Untuk Pengendalian Kadar Air Simplisia”. Seminar Dan Konferensi Nasional Idec 2017 Issn: 2579-6429. Surakarta
- Oktavia, Julia Devy. 2011. Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dan Analisis Sidik Jari Dengan Kromatografi Lapis Tipis [Skripsi]. Bogor: Departemen Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor
- Permenkes. (2012). Registrasi Obat Tradisional. 66(December), 37–39.
- Prayoga, E. (2013). Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Foundations Of Physics*, 34(3), 361–403.
- Radji, M. (2010) Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran. Jakarta: Egc.
- Rahmayanti, L. P. D., Edyson, E., & Budiarti, L. Y. (2020). Perbandingan Aktivitas Daya Hambat Sediaan Tunggal Dengan Kombinasi Infus *Phyllanthus Niruri* Dan *Peperomia Pellucida* Terhadap *Escherichia Coli*. *Homeostasis*, 3(1), 67-74.
- Ramadhan, F., L. Mukarramah, F. A. Risma, R. Yulian, N. H. Annisyah, Dan I. N. Asyiah. 2018. Flavonoids From Endophytic Bacteria Of *Cosmos*

- Caudatus Kunth. Leaf As Anticancer And Antimicrobial. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*. 11(1):200.
- Ramarao, N., & Sanchis, V. (2013). The Pore-Forming Haemolysins Of *Bacillus Cereus* : Areview. *Toxins*, 5(6), 1119-1139.
- Rasdi, N. H., O. A. Samah, A. Sule, Dan Q. U. Ahmed. 2010. Antimicrobial Studies Of *Cosmos Caudatus Kunth* . (*Compositae*). 4(April):669–673.
- Rijayanti, Rika Pratiwi. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera Foetida L.*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. Naskah Publikasi, Hal. 1-17
- Ruriani., E. & And Nurhayati, . (2010) ‘Investigasi Of *Bacillus Cereus* Dan *Salmonella* Pada Nasi Goreng Pedagang Kaki Lima Di Sekitar Kampus Universitas Jember’, *Jurnal Agroteknologi*, 4(1), Pp. 68–75.
- Saifudin, A. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.Pp. 1-11.
- Santosa, Herry., Sari, Widya., Handayani, Noer Abyor. 2018. Ekstraksi Saponin Dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik Suatu Usaha Untuk Mendapatkan Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker. *Inovasi Teknik Kimia*. Vol. 3, No.2, P : 12-16
- Sapri, Fitriani, A., Narulita, R., 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Dengan Metode Maserasi. *Akademi Farmasi Samarinda*. Prosiding Seminar Nasional Kimia 2014 Hki-Kaltim Isbn: 978-602-19421-0-9
- Saranraj, P. And S.Sivasakthi, 2014. *Medicinal Plants And Its Antimicrobial Properties: A Review*. *Global Journal Of Pharmacology*
- Saraswati, R. And Restuti, R. C. (2020) ‘Buku Pemanfaatan Daun Untuk Ecoprint Dalam Menunjang Pariwisata M . H . Dewi Susilowati Ratri Candra Restuti Fajar Dwi Pamungkas Departemen Geografi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam I Indonesia Universitas’, (October), Pp. 1–102.
- Sari, Ema Ratna, Nilda Lely, And Dian Septimarleti. 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.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove *Sonneratia Alba* (The Rendement Of Boiled Water Extract Of Mature Leaves Of Mangrove *Sonneratia Alba*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9–15.

- Sirait, Midian. *Penuntunfitokimiadalamfarmasi*. Bandung: Penerbit Itb. 2007
- Sugiyono. 2013. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif Dan R&D*. Bandung : Alfabeta, Hal : 60-64
- Susanto, Sudrajat, Dan R. Ruga. 2012. *Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (Shorea Leprosula Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri*.Mulawarman Scientifie.Vol.11, No. 12, Hal. 181–190.
- Syhadat, A. And Siregar, N. (2020) ‘Skrining Fitokimia Daun Katuk (Sauropus Androgynus) Sebagai Pelancar Asi| Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)’, *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)*, 5(1), Pp. 85–89. Available At: <https://jurnal.unar.ac.id/index.php/health/article/view/246>.
- Tiwari, Prashant., Kumar, Bimlesh., Kaur, Mandeep., Kaur, Gurpreet., Kaur, Harleen. 2011. *Phytochemical Screening And Extraction : A Review*. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. Vol. 1, No. 1, P : 98-106
- Utami, E. R. (2012) ‘Antibiotika, Resistensi, Dan Rasionalitas Terapi’, *El-Hayah*, 1(4), Pp. 191–198. Doi: 10.18860/Elha.V1i4.1783.
- Widya, W. P. 2018. *Penjernihan Sari Buah Apel Menggunakan Membran Selulosa Asetat Dengan Variasi Jumlah Sodium Dodecyl Sulfate (Sds)*.
- Wiharningtias, I. And Waworuntu, O. (2016) ‘Uji Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Ekstrak Kulit Nanas (Ananas Comosus L) Terhadap Staphylococcus Aureus’, *Pharmacon*, 5(4), Pp. 18–25. Doi: 10.35799/Pha.5.2016.13969.
- Yasjudani (2017) ‘Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni (Swietenia Mahagoni L.)Terhadap Beberapa Mikroba Patogen’, *Universitas Nusantara Pgrri Kediri*, 01, Pp. 1–7. Available At: <http://www.albayan.ae>.
- Yasjudani, Y. (2017). *Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni(Swietenia Mahagoni L.) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen (Doctoral Dissertation,Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar)*.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396, e-mail: materiamedicabatu@jatimprov.go.id
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 598A/ 102.7/ 2020
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Kenikir**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MONICCA VABELLA DAMAYANTI
NIM : 1713206020
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 : Asteridac
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : Cosmos
Spesies : *Cosmos caudatus* 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, beralur 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, merah. 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 Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 23 Desember 2020

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

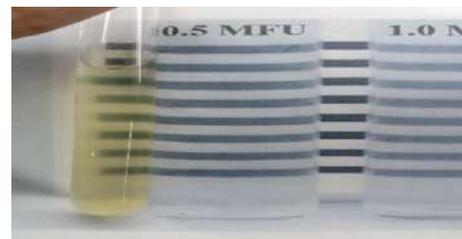
Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian



Pembuatan simplisia



Proses ekstraksi dan ekstrak pekat hasil evaporasi



Pembuatan larutan uji dan suspensi bakteri standar McFarland 0,5 MFU



Uji identifikasi pewarnaan dan uji katalase

Sertifikat pembelian dan uji identifikasi bakteri



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 : bbksurabaya.id; Surat elektronik : bbksub@yahoo.co.id



Surabaya, 24 Maret 2021

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Monica Vabella Damayanti
 Institusi : STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 24 Februari 2021
 Keperluan : Penelitian Tugas Akhir

Keterangan dan Hasil Uji Biokimia bakteri :

Bakteri : *Bacillus cereus*
 ATCC : ATCC 11778
 Passage : #5

Hasil Uji Biokimia bakteri *Bacillus cereus* ATCC 11778 :

No	Jenis Uji	Hasil
1	Glukosa	Positif (+)
2	Laktosa	Negatif (-)
3	Sukrosa	Positif / Negatif (±)
4	Maltosa	Positif (+)
5	Manitol	Negatif (-)
6	Simon Citrat	Negatif (-)
7	Sulfur Indol Motility (SIM)	Neg / Pos / Neg (-/+/-)
8	Starch	Positif / Negatif (±)
9	Reduksi nitrat	Positif / Negatif (±)
10	Lechitinase	Positif (+)
11	Pertumbuhan Nutrient Agar anaerob	Negatif (-)

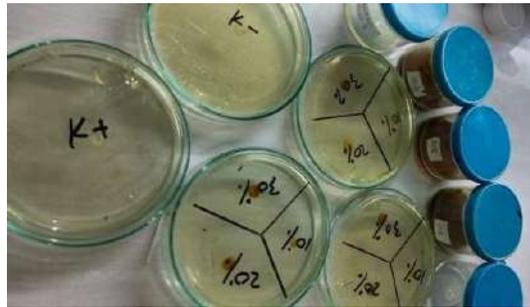


Manajer Teknis
 dr. Titiek S., M.Ked Klin, Sp.MK
 NIP. 198207262010122002



Management System
 ISO 9001:2015
 www.tqm.com
 ID 910506867

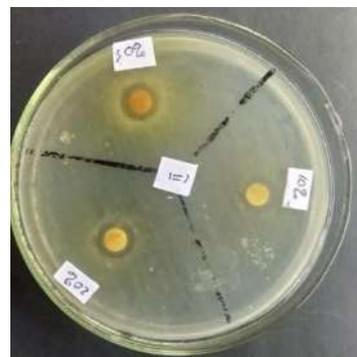
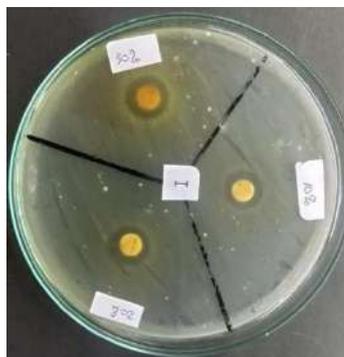




Persiapan uji aktivitas antibakteri



Hasil uji aktivitas antibakteri Tetrasiklin 0,25% (K+) dan DMSO 10% (K-)



Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir konsentrasi 10%, 20% dan 30%

Lampiran 3 Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Perhitungan Simplisia Daun Kenikir

a. Uji Susut Pengerinan

$$\begin{aligned} \% \text{ Susut Pengerinan} &= \frac{\text{Bobot daun basah} - \text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\% \\ &= \frac{3\text{kg} - 0,3\text{kg}}{5 \text{ kg}} \times 100\% \\ &= 90\% \end{aligned}$$

b. Uji Kadar Air

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar Air} &= \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\% \\ &= \frac{9,89\text{g} - 8,92\text{g}}{9,89\text{g}} \times 100\% \\ &= 9,8\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan Ekstrak Daun Kenikir Uji Rendemen Ekstrak

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{6 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 3\% \end{aligned}$$

3. Perhitungan Pembuatan Media

a. Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)

$$\begin{aligned} \text{Bobot NB} &= \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,08 \text{ g} \end{aligned}$$

b. Perhitungan Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

$$\begin{aligned} \text{Bobot NA} &= \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ g} \end{aligned}$$

4. Perhitungan Kontrol Positif

$$\begin{aligned} \text{Tetrasiklin } 0,25\% &= \frac{\text{tablet tetrasiklin (g)}}{1000 \text{ (ml)}} \times \text{volume larutan uji} \\ &= \frac{250 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \times 2 \text{ ml} \\ &= 0,5 \text{ g/ml} \end{aligned}$$

5. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Kenikir

a. Konsentrasi 10%

$$\begin{aligned} \text{Bobot Ekstrak} &= \frac{10}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{10}{100} \times 1 \text{ ml} \\ &= 0,1 \text{ g} \end{aligned}$$

b. Konsentrasi 20%

$$\begin{aligned} \text{Bobot Ekstrak} &= \frac{20}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{100} \times 1 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ g} \end{aligned}$$

c. Konsentrasi 30%

$$\begin{aligned} \text{Bobot Ekstrak} &= \frac{30}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{30}{100} \times 1 \text{ ml} \\ &= 0,3 \text{ g} \end{aligned}$$

Lampiran 4 Hasil Orientasi

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap bakteri *Bacillus cereus*

Sampel	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± Standart deviasi
	Replikasi			
	I	II	II	
Kontrol positif (Tetrasiklin 0,25%)	24,00	24,00	24,00	24,00 ± 00,00
Kontrol negatif (DMSO 10%)	0	0	0	0±0,00
Ekstrak 10%	16,00	16,00	16,50	17,33±1,25
Ekstrak 20%	17,50	17,50	17,00	17,16±1,04
Ekstrak 30%	18,50	18,00	18,50	17,33±1,04

Lampiran 5 Hasil Analisis

1. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi Uji	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona Hambat	K+ tetrasiklin 0,25%	.	3	.	.	3	.
	K- DMSO 10%	.	3	.	.	3	.
	Ekstrak 10%	,219	3	.	,987	3	,780
	Ekstrak 20%	,292	3	.	,923	3	,463
	Ekstrak 30%	,292	3	.	,923	3	,463

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homegenitas

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
Zona Hambat	Based on Mean	4,025	4	10	,034
	Based on Median	1,381	4	10	,308
	Based on Median and with adjusted df	1,381	4	6,000	,344
	Based on trimmed mean	3,785	4	10	,040

3. Uji One Way Anova

ANOVA					
Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	964,333	4	241,083	321,444	,000
Within Groups	7,500	10	,750		
Total	971,833	14			

Descriptives

Zona Hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K+ tetrasiklin 0,25%	3	24,000	,0000	,0000	24,000	24,000	24,0	24,0
K- DMSO 10%	3	,000	,0000	,0000	,000	,000	,0	,0
Ekstrak 10%	3	17,333	1,2583	,7265	14,208	20,459	16,0	18,5
Ekstrak 20%	3	17,167	1,0408	,6009	14,581	19,752	16,0	18,0
Ekstrak 30%	3	17,333	1,0408	,6009	14,748	19,919	16,5	18,5
Total	15	15,167	8,3317	2,1512	10,553	19,781	,0	24,0

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona Hambat

Tukey HSD

(I) Konsentrasi Uji	(J) Konsentrasi Uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K+ tetrasiklin 0,25%	K- DMSO 10%	24,0000*	,7071	,000	21,673	26,327
	Ekstrak 10%	6,6667*	,7071	,000	4,340	8,994
	Ekstrak 20%	6,8333*	,7071	,000	4,506	9,160
	Ekstrak 30%	6,6667*	,7071	,000	4,340	8,994
K- DMSO 10%	K+ tetrasiklin 0,25%	-24,0000*	,7071	,000	-26,327	-21,673
	Ekstrak 10%	-17,3333*	,7071	,000	-19,660	-15,006
	Ekstrak 20%	-17,1667*	,7071	,000	-19,494	-14,840
	Ekstrak 30%	-17,3333*	,7071	,000	-19,660	-15,006
Ekstrak 10%	K+ tetrasiklin 0,25%	-6,6667*	,7071	,000	-8,994	-4,340
	K- DMSO 10%	17,3333*	,7071	,000	15,006	19,660
	Ekstrak 20%	,1667	,7071	,999	-2,160	2,494
	Ekstrak 30%	,0000	,7071	1,000	-2,327	2,327
Ekstrak 20%	K+ tetrasiklin 0,25%	-6,8333*	,7071	,000	-9,160	-4,506
	K- DMSO 10%	17,1667*	,7071	,000	14,840	19,494
	Ekstrak 10%	-,1667	,7071	,999	-2,494	2,160

	Ekstrak 30%	-,1667	,7071	,999	-2,494	2,160
Ekstrak 30%	K+ tetrasiklin 0,25%	-6,6667*	,7071	,000	-8,994	-4,340
	K- DMSO 10%	17,3333*	,7071	,000	15,006	19,660
	Ekstrak 10%	,0000	,7071	1,000	-2,327	2,327
	Ekstrak 20%	,1667	,7071	,999	-2,160	2,494

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

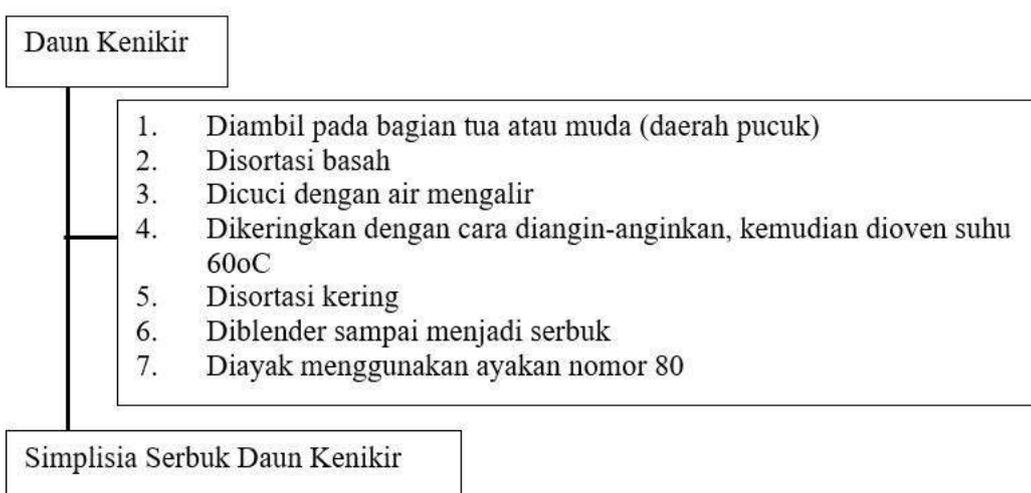
4. Uji Korelasi

Correlations

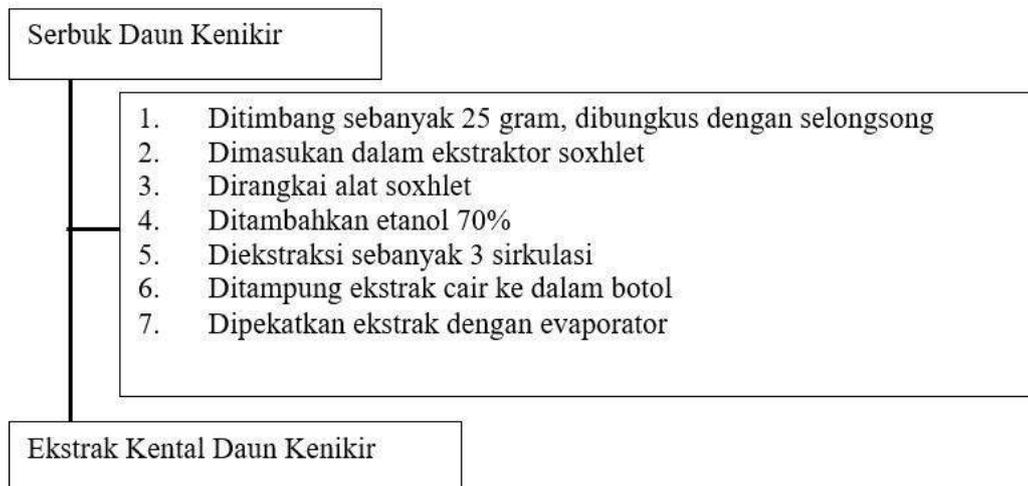
		Zona Hambat	Replikasi Uji	Konsentrasi Uji
Zona Hambat	Pearson Correlation	1	,000	,067
	Sig. (2-tailed)		1,000	,812
	N	15	15	15
Replikasi Uji	Pearson Correlation	,000	1	,346
	Sig. (2-tailed)	1,000		,206
	N	15	15	15
Konsentrasi Uji	Pearson Correlation	,067	,346	1
	Sig. (2-tailed)	,812	,206	
	N	15	15	15

Lampiran 6 Alur Prosedur Kerja

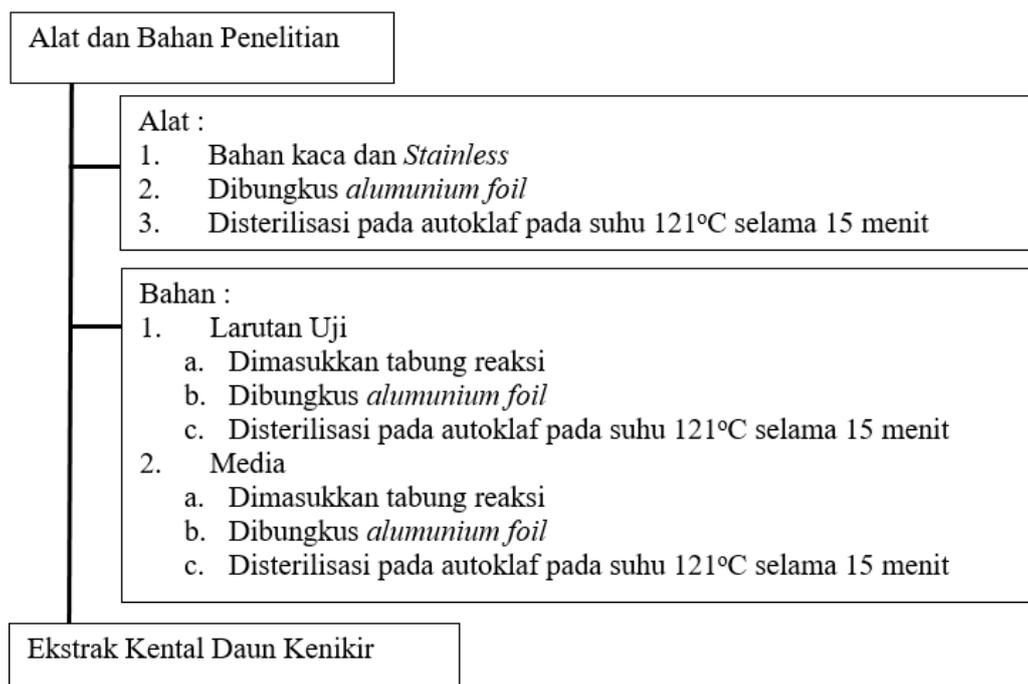
1. Pembuatan Simplisia Daun Kenikir



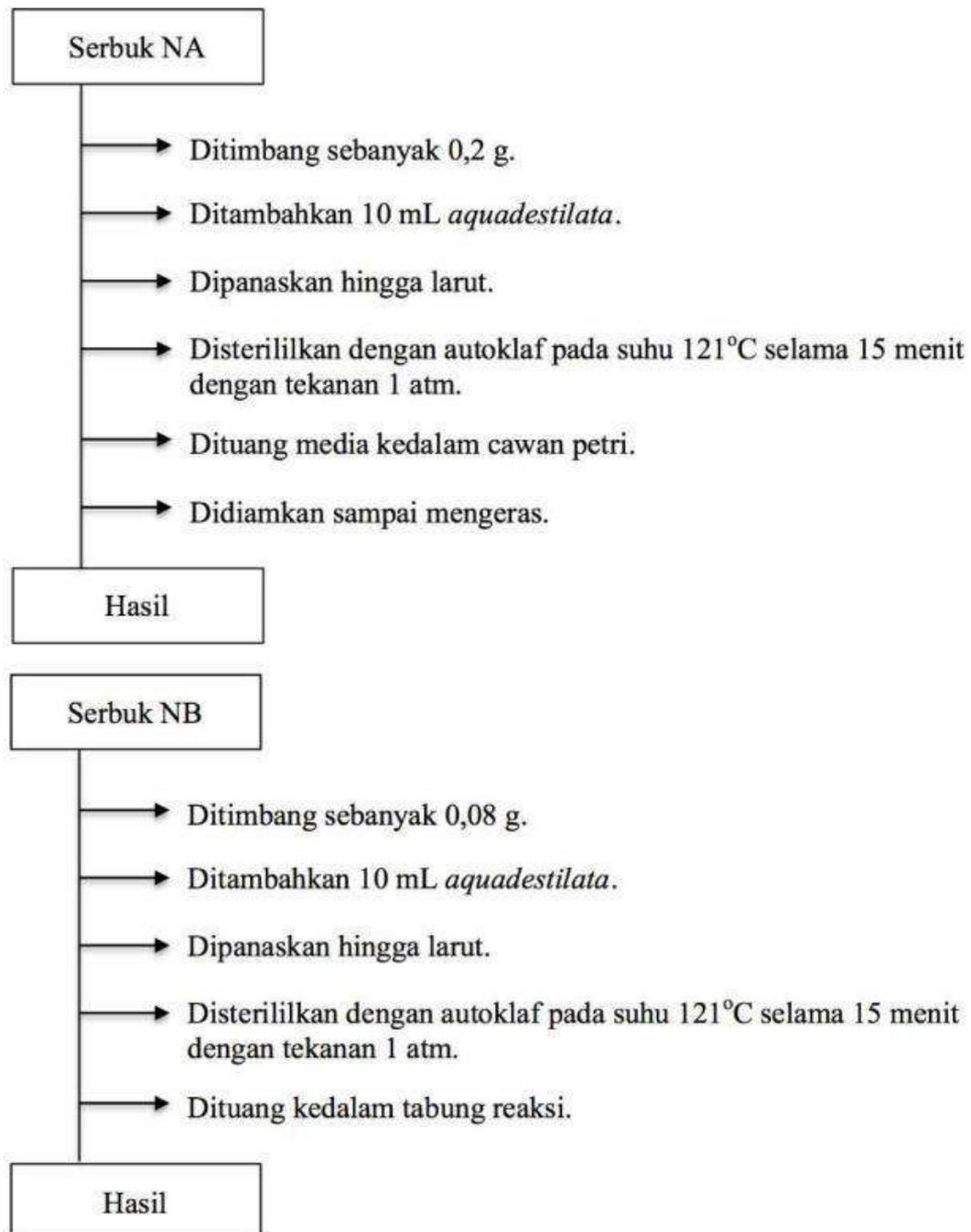
2. Pembuatan Ekstrak Daun Kenikir



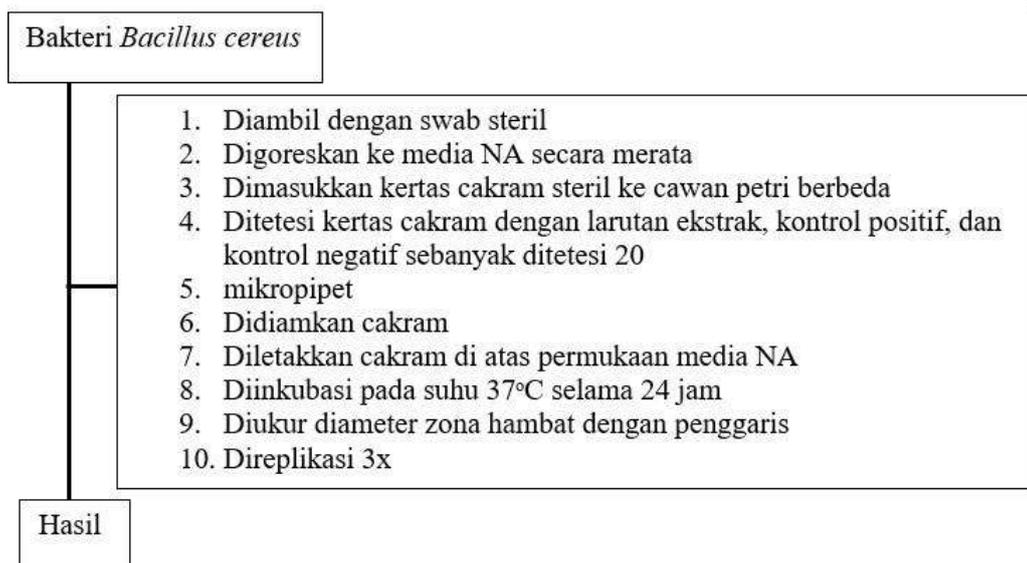
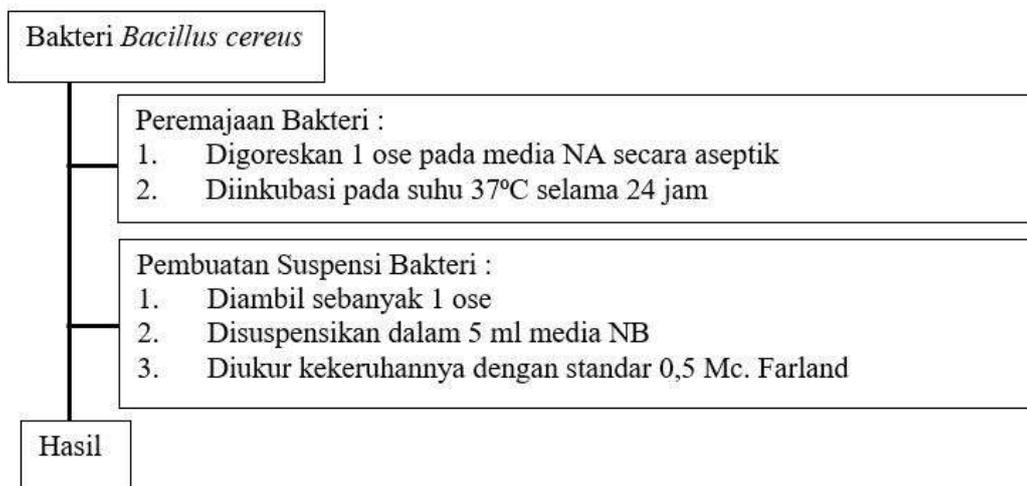
3. Sterilisasi Alat dan Bahan



4. Pembuatan Media



6. Uji Aktivitas Antibakteri



7. Analisa Data Hasil Penelitian

