

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN KELOR (*Moringa oleifera*, L) DAN EKSTRAK
DAUN SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 dan *Staphylococcus*
aureus ATCC 25923 SECARA
*IN-VITRO***

SKRIPSI



MITA ULY ANDINI

1813206016

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

2022

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN KELOR (*Moringa oleifera*, L) DAN EKSTRAK
DAUN SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 dan *Staphylococcus*
aureus ATCC 25923 SECARA
*IN-VITRO***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm.) Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



MITA ULY ANDINI

1813206016

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

2022

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN KELOR (*Moringa oleifera*, L) DAN EKSTRAK
DAUN SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 dan *Staphylococcus*
aureus ATCC 25923 SECARA
*IN-VITRO***

SKRIPSI

Yang diajukan oleh :

MITA ULY ANDINI

1813206016

Tanggal, 12 Agustus 2022

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



apt. Amalia Eka Putri, M.Farm
NIDN.0728129201



apt. Choirul Huda, M.Farm
NIDN.0726038502

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN KELOR (*Moringa oleifera*, L) DAN EKSTRAK
DAUN SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 dan *Staphylococcus*
aureus ATCC 25923 SECARA
IN-VITRO**

SKRIPSI

Oleh :

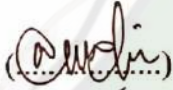

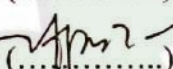
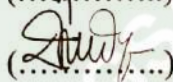
MITA ULY ANDINI

1813206016

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

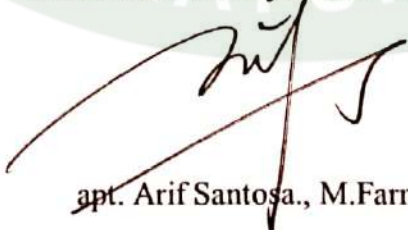
Tanggal :

Ketua Penguji : apt. Amalia Eka Putri, M.Farm
Anggota penguji : 1. apt. Choirul Huda, M.Farm
2. apt. Ary Kristijono, M.Farm
3. apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm


(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa


apt. Arif Santosa., M.Farm

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, Agustus 2022

Mita Uly Andini

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena dengan rahmat, karunia, serta taufik dan hidayah-Nya saya dapat menyelesaikan proposal dengan judul “ Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L) dan Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Bakteri *Esherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro* “, ini dengan baik meskipun banyak kekurangan didalamnya. Saya menyadari bahwa dalam proses menyelesaikan proposal ini membutuhkan waktu yang tidak sebentar, yang juga menyita tenaga dan pikiran. Skripsi ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes).

Dengan tersusunnya proposal ini diharapkan apa yang tertulis dalam kerangka penelitian ini dapat menjadi tambahan pengetahuan dan wawasan bagi para pembaca. Disamping itu, dengan adanya tulisan ini diharapkan dapat mendorong pembaca untuk melanjutkan dan mengkaji hasil penelitian ini untuk meningkatkan hasil yang lebih baik daripada penelitian sebelumnya.

Pada kesempatan ini, penulis hendak menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, semangat, dan doa sehingga proposal penelitian ini dapat selesai. Ucapan terima kasih ini penulis tujuikan kepada:

1. Ayah dan ibu dan adik ku tersayang yang telah memberikan doa, dorongan dan semangat selama penyusunan skripsi ini.
2. Bapak apt. Arif Santosa, M.Farm.selaku ketua Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung
3. Ibu apt. Amalia Eka Putri, M.Farm. selaku pembimbing I yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.

4. Bapak apt. Choirul Huda, M.Farm .selaku pembimbing II yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
5. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso M.Farm. yang telah medidik dan memberikan dukungan selama masa perkuliahan.
6. Bu Pristi (Laboran Mikro), Bu Retno dan Bu Dyah (Laboran Tekhnologi Sediaan Farmasi) yang senantiasa menjadi laboran saat praktikum.
7. Segenap Dosen Jurusan S1 Farmasi yang telah memberikan ilmunya kepada kami
8. Teman-teman ku satu bimbingan Aulya Fitria,Lulul Ulfatun, dika ikhlhasul, Novi Nur Haslinda, Shella Nada, Nungky Ervia, dan Niken Desi penelitian skripsi, yang telah berjuang bersama-sama dalam menyelesaikan skripsi penelitian ini dari awal sampai akhir terima kasih atas saran, dukungan, serta kerja samanya.
9. Terima kasih kepada teman-teman ku mahasiswa angkatan 2018/2019 atas do'a, dukungan dan kerja samanya.

Saya menyadari bahwa dalam proposal ini terdapat kekurangan . Oleh sebab itu, penulis berharap adanya kritik dan saran demi kesempurnaan proposal penelitian ini.

Tulungagung, Agustus 2022

Mita Uly Andini

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN KELOR (*Moringa oleifera*, L) DAN EKSTRAK
DAUN SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 dan *Staphylococcus*
aureus ATCC 25923 SECARA
IN-VITRO**

MITA ULY ANDINI

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Diare merupakan salah satu masalah kesehatan utama di Indonesia, karena tingginya angka kematian yang ada. Diare disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri antara lain tanaman kelor dan senggani karena memiliki senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan mengetahui kombinasi yang memiliki zona hambat paling besar. Metode yang digunakan adalah metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kelor dan senggani memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 1:1, 1:2, dan 2:1 dengan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO 5%. Hasil uji aktivitas antibakteri tidak terbentuk zona hambat pada kontrol negatif, kontrol positif 34,50 mm pada bakteri *Escherichia coli* dan 34,66 mm, 10,83mm pada perbandingan 1:1, 15,33mm pada perbandingan 1: 2, 13,00 mm pada perbandingan 2:1 untuk bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat sebesar 34,60 mm pada kontrol positif, 11,16 mm pada perbandingan 1:1, 12,00 mm pada perbandingan 1:2 dan 11,33 mm pada perbandingan 2:1. Aktivitas antibakteri tertinggi terdapat pada perbandingan 1:2.

Kata kunci : antidiare, daun kelor dan daun senggani, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, zona hambat

**ANTBACTERIA ACTIVITY TEST OF COMBINATION MORINGA LEAF
EXTRACT (*Moringa oleifera*, L) AND SENGGANI LEAF EXTRACT
(*Melastoma malabatricum* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922 BACTERIA
IN-VITRO**

MITA ULY ANDINI

Pharmacy S1 Study Program

ABSTRACT

Diarrhea is one of the main health problems in Indonesia, due to the high mortality rate. Diarrhea is caused by pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Plants that have the potential as antibacterial include Moringa and Senggani because they have compounds such as flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and to determine the combination that had the greatest inhibition zone. The method used is the disc diffusion method. The results showed that moringa and senggani extracts contained flavonoid compounds, saponins, tannins, and alkaloids. The antibacterial activity was tested using the disc diffusion method with concentrations of 1:1, 1:2, and 2:1 with a positive control of chloramphenicol and a negative control of 5% DMSO. The results of the antibacterial activity test did not form an inhibitory zone in the negative control, the positive control was 34.50 mm in *Escherichia coli* bacteria and 34.66 mm, 10.83 mm at a ratio of 1:1, 15.33 mm at a ratio of 1:2, 13.00 mm at a ratio of 2:1 for *Escherichia coli* bacteria. Meanwhile, the *Staphylococcus aureus* bacteria produced an inhibition zone of 34.60 mm in the positive control, 11.16 mm in the 1:1 ratio, 12.00 mm in the 1:2 ratio and 11.33 mm in the 2:1 ratio. The highest antibacterial activity was found in a ratio of 1:2.

Keywords: antidiarrheal, senggani and moringa leaves, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, zone of inhibition

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
INTISARI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Masalah.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Diare.....	5
2.1.1 Epidemiologi.....	5
2.1.2 Etiologi.....	6
2.1.3 Gejala.....	6
2.1.4 Pengobatan.....	7
2.1.5 Klasifikasi diare.....	9
2.2 Obat Tradisional.....	10
2.3 Tanaman Kelor.....	10
2.3.1 Klasifikasi Tanaman kelor.....	11
2.3.2 Morfologi.....	11
2.3.3 Sinonim.....	12
2.3.4 Nama Daerah.....	12
2.3.5 Kandungan Kimia.....	12
2.3.6 Khasiat dan Kegunaan.....	14
2.4 Tanaman Senggani.....	15
2.4.1 Klasifikasi Tanaman.....	15
2.4.2 Morfologi.....	16
2.4.3 Sinonim.....	16
2.4.4 Nama Daerah.....	16
2.4.5 Kandungan.....	17
2.4.6 Khasiat dan kegunaan.....	19

2.5 Simplisia.....	20
2.5.1 Syarat Simplisia	20
2.5.2 Persiapan Simplisia	21
2.6 Ekstraksi.....	24
2.6.1 Metode Ekstraksi.....	24
2.6.2 Pelarut	26
2.7 Bakteri.....	28
2.7.1 Klasifikasi bakteri	28
2.8 <i>Escherichia coli</i>	30
2.8.1 Klasifikasi	30
2.8.2 Morfologi	30
2.9.2 Morfologi	32
2.10 Antibakteri.....	32
2.10.1 Mekanisme kerja Antibakteri.....	33
2.10.2 Mekanisme Resistensi Antibakteri.....	34
2.10.3 Antibakteri Pembanding.....	34
2.11 Uji Aktivitas Antibakteri.....	35
2.11.1 Metode Difusi	36
2.11.2 Metode Dilusi.....	36
2.12 Hipotesis.....	37
BAB III METODE PENELITIAN.....	38
3.1 Bahan	38
3.2 Alat.....	38
3.3 Populasi Penelitian	38
3.4 Sampel Penelitian.....	38
3.5 Variabel Penelitian	39
3.5.1 Variabel Bebas	39
3.5.2 Variabel Kontrol.....	39
3.5.3 Variabel Terikat	39
3.6 Metode Penelitian.....	39
3.6.1 Determinasi Tanaman	39
3.6.2 Pembuatan Simplisia daun kelor dan daun senggani (KLSG).....	40
3.6.3 Uji Susut Pengeringan.....	41

3.6.4 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia	41
3.6.5 Pembuatan Ekstrak.....	42
3.6.6 Pemeriksaan karakteristik ekstrak.....	43
3.6.7 Skrining fitokimia	44
3.6.8 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	45
3.6.9 Pembuatan Suspensi Bakteri	46
3.6.10 Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak Daun Kelor dan Daun Senggani ...	47
3.6.11 Pengukuran Zona Hambat.....	47
3.6.12 Analisis Hasil	48
3.6.13 Rancangan Penelitian	51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	52
4.1 Determinasi Tanaman	52
4.2 Uji Karakteristik Ekstrak.....	52
4.2.1 Uji Susut Pengerinan.....	52
4.2.2 Uji Kadar Air Simplisia	53
4.2.3 Uji Rendemen Ekstrak	54
4.2.4 Uji Bebas Etanol	54
4.3 Skrining Fitokimia	55
4.3.1 Uji Flavonoid	56
4.3.3 Uji Tanin	57
4.3.4 Uji Alkaloid.....	57
4.3.5 Skrining fitokimia UV-Vis.....	58
4.4 Identifikasi Bakteri.....	59
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak KLSG	60
BAB V PENUTUP	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA	71

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penggunaan antibiotic pada penderita diare.....	8
Tabel 3.1 Kategori daya hambat bakteri	50
Tabel 4.1 Uji susut pengeringan.....	56
Tabel 4.2 Uji kadar air simplisia.....	57
Tabel 4.3 Uji rendemen ekstrak.....	58
Tabel 4.4 Hasil uji bebas etanol kombinasi ekstrak daun kelor dan daun senggani.....	59
Tabel 4.5 Hasil skrining fitokimia kombinasi ekstrak kelor dan senggani.....	60
Tabel 4.6 Tabel uji tukey subset ekstrak KLSG terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	65
Tabel 4.7 Tabel uji tukey subset ekstrak KLSG terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Kelor.....	10
Gambar 2.2 Tanaman Senggani.....	16
Gambar 2.3 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	31
Gambar 2.4 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Gambar 3.1 Pengukuran diameter zona hambat	49
Gambar 3.2 Skema kerangka penelitian.....	52
Gambar 4.1 Uji bebas etanol.....	59
Gambar 4.2 Hasil skrining fitokimia.....	61
Gambar 4.3 pewarnaan Gram.....	63
Gambar 4.4 Uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	64
Gambar 4.5 Uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	68

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diare merupakan suatu gejala klinik yang terjadi pada gangguan pencernaan dengan konsistensi tinja menjadi encer (Sukmawati *et al.*, 2020). Diare dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti virus yaitu Rotavirus (40-60%), bakteri *Escherichia coli* (20- 30%), *Shigella sp* (1-2%) dan parasit *Entamoeba histolytica* (<1%), selain itu diare dapat terjadi karena *higiene* dan sanitasi yang buruk, malnutrisi, lingkungan padat dan sumber daya medis yang buruk yang saat ini diare menjadi masalah di negara-negara berkembang (Ragil and Dyah, 2017). Menurut WHO tahun 2013, setiap tahun terjadi sekitar 1,7 miliar kasus diare pada anak, dengan dimana 525.000 kasus mengalami kematian (Basailin *et al.*, 2018). Diare sering kali menyerang usia di bawah lima tahun, dikarenakan usia di bawah lima tahun belum memiliki daya tahan yang cukup kuat sehingga mudah terpapar oleh bakteri penyebab diare (Wahyuni, 2021).

Diare di Indonesia merupakan salah satu masalah kesehatan utama, dikarenakan masih tingginya angka kesakitan dan kematian pada balita akibat diare (Ragil and Dyah, 2017). Profil Kesehatan Indonesia mencatat sebanyak 1.048.885 kasus diare ditemukan di Provinsi Jawa Timur dan ini membuat Provinsi Jawa Timur menduduki kasus diare tertinggi kedua. Tahun 2017 Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur mencatat kasus diare meningkat menjadi 1.060.910 kasus (Dinkes, 2018).

Penanganan diare pada anak-anak dengan disertai darah maka diberikan antibiotik, apabila diare dengan disertai dehidrasi ataupun tidak dapat ditangani dengan rehidrasi, sedangkan pemberian zinc digunakan untuk mengatasi kekambuhan diare pada pasien (Rahmawati, 2018). Penggunaan antibiotik secara terus menerus dan tanpa pemantauan dokter akan mengakibatkan terjadinya resistensi kuman, selain itu penggunaan antibiotik dapat mengakibatkan terbunuhnya flora normal dalam tubuh (Sari, 2019). Resistensi antibiotik juga disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak tepat untuk menangani suatu

penyakit (Simamora *et al.*, 2021). Penggunaan antibiotik perlu diadakan inovasi pengobatan lain untuk meminimalkan terjadinya pengurangan flora normal dalam tubuh akibat penggunaan antibiotik, yaitu dengan menggunakan beberapa tanaman yang dipercaya memiliki khasiat sebagai obat, salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antidiare yaitu tanaman kelor (Fauzi *et al.*, 2020).

Daun Kelor diyakini memiliki aktivitas sebagai antidiare karena mengandung senyawa metabolit sekunder seperti, *tanin katekol*, *tanin galia*, *flavonoid*, *saponin*, *antraknon*, dan *alkaloid* (Yulianto, 2020). Beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh Singh (2011) dibuktikan bahwa ekstrak daun kelor dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sp*, *Proteus mirabilis*, dan *Aspergillus flavus*. Penelitian Dima, dkk. (2016) membuktikan bahwa ekstrak daun kelor juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan penelitian (Dima *et al.*, 2016) diketahui bahwa ekstrak daun kelor mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi 5% menghasilkan zona hambat sebesar 13,33 mm dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5% menghasilkan zona hambat sebesar 12,26 mm, sedangkan Kadar Hambat Minimum (KHM) yang didapat yaitu 13 mm pada bakteri *Escherichia coli* dan 12 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan penelitian Emelia *et al.*, (2013) disebutkan bahwa pada konsentrasi ekstrak daun Kelor (KL) 10% mempunyai daya hambat sebesar 18,83 mm terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Tanaman kelor memiliki aktivitas sebagai antidiare sebagaimana dalam penelitian (Putri, 2021), disebutkan bahwa Efek ekstrak etanol daun kelor sebagai antidiare yaitu dengan pemberian dosis 36,4 mg/20 g BB sudah memberikan efek yang signifikan.

Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antidiare adalah tanaman senggani (Gloria *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian Dima *et al.*, (2016) ekstrak tunggal daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, selain itu berdasarkan Gloria *et al.*, (2019) ekstrak tunggal daun senggani (SG) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli*. Kombinasi antara dua ekstrak dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan

aktivitas antibakteri dari senyawa metabolit sekunder yang ada pada masing-masing tanaman (Maharani *et al.*, 2017).

Tanaman senggani memiliki senyawa yang bermanfaat seperti flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol, senyawa-senyawa tersebut dapat diketahui keberadaannya dalam tanaman dengan cara skrining fitokimia (Kusmana and Hikmat, 2015). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Yellin Gloria (2019) disebutkan bahwa ekstrak senggani (SG) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dimana pada konsentrasi 12,5% memiliki rata-rata zona hambat sebesar 12 mm (Gloria *et al.*, 2019). Ekstrak etanol daun Senggani mempunyai KHM terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 2%, sedangkan KHM terhadap *E. coli* sebesar 3%, dan belum mampu membunuh bakteri *S. aureus* MR dan *E. coli* MR sampai kadar 7% (Kusumowati *et al.*, 2014). Tanaman senggani memiliki banyak manfaat bagi kesehatan (Kusmana and Hikmat, 2015). Dilihat dari senyawa yang terkandung, tanaman senggani memiliki manfaat sebagai antioksidan, antibakteri, dan antikanker (Kusmana and Hikmat, 2015).

Berdasarkan paparan di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antidiare kombinasi ekstrak daun kelor dan daun senggani (KLSG) yang diinduksi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara *in-vitro* dengan menggunakan metode difusi. Penelitian ini dilakukan dengan harapan dapat membuktikan secara ilmiah bahwa kombinasi ekstrak daun kelor dan daun senggani (KLSG) memiliki aktivitas sebagai anti bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah kombinasi ekstrak KLSG memiliki aktivitas antidiare secara *in-vitro*?
- 1.2.2 Berapakah perbandingan kombinasi ekstrak KLSG yang menghasilkan zona hambat paling baik setelah uji difusi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ?

1.3 Tujuan Masalah

- 1.3.1 Untuk mengetahui Apakah kombinasi ekstrak KLSG memiliki aktivitas antibakteri secara *in vitro*.

- 1.3.2 Untuk mengetahui zona hambat terbaik dari kombinasi ekstrak KLSG yang telah diuji difusi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi masyarakat

Memberikan informasi bagi masyarakat bahwa kombinasi ekstrak daun kelor dan daun senggani memiliki aktivitas antidiare.

1.4.2 Bagi instansi kesehatan

1.4.2.1 Dapat menjadi referensi untuk mengembangkan obat-obatan yang berasal dari bahan alam.

1.4.2.2 Menjadi dasar penelitian lebih lanjut untuk mencari senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.

1.4.3 Bagi lembaga pendidikan

Dapat menjadikan referensi sebagai penelitian lebih lanjut.

1.4.4 Bagi peneliti

Untuk memenuhi tugas akhir sebagai persyaratan kelulusan S1 Farmasi dan dapat menambah pengetahuan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diare

Diare merupakan penyakit yang sering ditandai dengan berubahnya tekstur tinja menjadi cair dan tidak berbentuk dengan frekuensi buang air besar lebih dari 3 kali 24 jam. Diare dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti virus, bakteri, serta protozoa. Bakteri yang sering menginfeksi dan mengakibatkan diare adalah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini melakukan penempelan pada sel mukosa dengan atau tidak menimbulkan kerusakan mukosa, invasi mukosa, dan produksi enterotoksin atau sitoksin (Amin, 2015).

Diare dapat menyerang siapa saja tanpa batasan usia. Faktor penyebab diare pada masing-masing individu bermacam-macam mulai dari lingkungan, agen penyebab penyakit maupun pejamu (kondisi fisik seseorang). Tingkat keparahan penyakit yang dialami individu juga berbeda, karena sistem kekebalan tubuh setiap manusia dalam melawan bakteri, virus maupun rangsangan lain dari luar berbeda-beda. Diare sangat membahayakan kesehatan, bahkan bisa menyebabkan kematian (Mafazah, 2019).

2.1.1 Epidemiologi

Diare merupakan masalah umum yang terjadi di dunia. Di Negara maju diperkirakan terjadi kasus diare 0,5-2 episode/orang/per tahun, sedangkan pada negara berkembang diperkirakan lebih besar jumlahnya. Menurut WHO jumlah kasus diare di USA mencapai 4 miliar dengan mortalitas 3-4 juta kasus per tahun. Bila diterapkan di Indonesia kasus diare pada orang dewasa mencapai 100 juta episode. Dari laporan survei tahun 1989 jumlah kasus diare di puskesmas mencapai 13,3%, di rumah sakit 0,45%, dan pada instalasi rawat jalan 0,05%. Penyebab utama kasus diare ini adalah *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, dan *Entamoeba histolytica* (Zein *et al.*, 2004). Selain pada orang dewasa diare juga menyerang pada balita, pada tahun 2010 WHO menyatakan bahwa kasus kematian pada balita akibat diare mencapai 801.000 kasus.

Berdasarkan hasil Riskerdas tahun 2013 menunjukkan kasus diare di Indonesia mencapai 6,7% (Poernomo *et al.*, 2016)

2.1.2 Etiologi

Diare disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu : (Amin, 2015)

2.1.2.1 Virus

Virus merupakan penyebab utama diare pada anak, dimana kasus diare akibat virus pada anak mencapai 70%-80%. Beberapa jenis virus penyebab diare diantaranya *Rotavirus serotype* 1, 2, 8, dan 9 pada manusia, *Norwalk virus*, *Astrovirus*, *Adenovirus* (tipe 40, 41), *Small bowel structured virus*, *Cytomegalovirus*.

2.1.2.2 Bakteri

Bakteri penyebab diare antara lain, *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enteraggregative E. coli* (EAggEC), *Enteroinvasive E. coli* (EIEC), *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni* (*Helicobacter jejuni*), *Vibrio cholerae* 01, dan *V. cholerae* 0139, *Salmonella* (non-thypoid).

2.1.2.3 Protozoa

rotozoa penyebab diare diantaranya, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium*, *Microsporidium spp.*, *Isospora belli*, *Cyclospora cayatanensis*.

2.1.2.4 Helminths

Strongyloides stercoralis, *Schistosoma spp.*, *Capilaria philippinensis*, *Trichuris trichuria*.

2.1.3 Gejala

Gejala umum pasien diare antara lain berak cair atau lembek, sering buang aing besar, muntah biasanya menyertai pada pasien gastroenteritis akut, demam, dehidrasi (mata cekung, ketegangan kulit menurun, apatis, gelisah). Selain gejala umum terdapat gejala spesifik yaitu, *vibrio cholera* (diare hebat, warna tinja seperti cucian beras dan berbau amis), *disenteriform* (tinja berlendir dan berdarah) (nikma kumala Sari *et al.*, 2017).

2.1.4 Pengobatan

2.1.4.1 Penggantian cairan elektrolit

Aspek paling penting yaitu menjaga hidrasi yang adekuat dan keseimbangan elektrolit. Biasanya dilakukan dengan cara rehidrasi oral, yang harus dilakukan pada semua pasien kecuali pada pasien yang tidak dapat minum atau membahayakan jiwa sehingga perlu diberikan pemberian secara intravena. Cairan rehidrasi oral mengandung 3,5 g natrium klorida, 2,5 g natrium bikarbonat, 1,5 kalium klorida, 20 g glukosa per liter air. Biasanya cairan rehidrasi tersedia dalam bentuk komersial. Namun jika tidak terdapat dalam bentuk komersial dapat digantikan dengan cara menambahkan ½ sendok teh garam, ½ sendok teh baking soda 2-4 sendok makan gula per liter air. 2 pisang atau 1 cangkir jus jeruk untuk mengganti kalium (Amin, 2015).

2.1.4.2 Penggunaan antibiotik

Pemberian antibiotik secara empiris jarang diindikasikan pada penderita diare akut, hal ini dikarenakan 40% kasus diare akut sembuh kurang dari 3 hari tanpa pemberian antibiotik. Pemberian antibiotik diindikasikan pada pasien dengan gejala dan tanda diare infeksi seperti demam, feses berdarah, leukosit pada feses (Zein *et al.*, 2004).

Tabel 2.1 Tabel penggunaan antibiotik pada penderita diare (Zein, *et al.*, 2004).

Indikasi Pemberian Antibiotik	Pilihan Antibiotik
Demam (suhu oral > 38,5), bloody stools, leukosit, laktoferin, hemocult, sindroma disentri Traveler's diarrhea	Kuinolon 3–5 hari Kotrimoksazole 3 – 5 hari Kuinolon 1 – 5 hari
Diare persisten (kemungkinan giardiasis) Shigellosis	Metronidazole 3x500 mg selama 7 hari Kotrimoksazole selama 3 hari Kuinolon selama 3 hari
Intestinal salmonellosis	Kloramfenikol/Kotrimoksazole/Kuinolon selama 7 hari
Campylobacteriosis	Eritromisin selama 5 hari
EPEC	Terapi sebagai Febrile Dysentery
ETEC	Terapi sebagai Traveler's diarrhea
EIEC	Terapi sebagai Shigellosis
EHEC	Peranan antibiotik belum jelas
<i>Vibrio non kolera</i>	Terapi sebagai febrile dysentery
<i>Aeromonas diarrhea</i>	Terapi sebagai febrile dysentery
<i>Yersiniosis</i>	Umumnya dapat di terapi sebagai febrile dysentery. Pada kasus berat : Ceftriaxon IV 1 g/6 jam selama 5 hari
<i>Giardiasis</i>	Metronidazole 4 x 250 mg selama 7 hari. Atau Tinidazole 2 g single dose atau Quinacine 3 x 100 mg selama 7 hari
<i>Intestinal Amebiasis</i>	Metronidazole 3 x 750 mg 5 – 10 hari + pengobatan kista untuk mencegah relaps: Diiodohydroxyquin 3 x 650 mg 10 hari atau Paramomycin 3 x 500 mg 10 hari atau Diloxanide furoate 3 x 500 mg 10 hari
<i>Cryptosporidiosis</i>	Untuk kasus berat atau immunocompromised: Paromomycin 3 x 500 selama 7 hari
<i>Isosporiosis</i>	Kotrimoksazole 2 x 160/800 7 hari

2.1.4.3 Terapi simptomatik/supportif

Selama periode diare, pasien membutuhkan asupan kalori yang cukup untuk menaham energi dan membantu pemulihan eritrosit yang rusak. Obat-obatan antimotiliti tidak dianjurkan pada pasien diare dengan sindrom disentri yang disertai dengan demam. Obat simptomatis pada penderita diare diberikan dengan berbagai pertimbangan klinis, jenis diare yang dialami, serta kombinasi obat yang diberikan pada pasien. Pada prinsipnya obat simptomatik bekerja untuk mengurangi volume feses dan frekuensi diare maupun penyerapan air. Beberapa obat seperti *Loperamid*, *Difenoksilat*, *Kaolin*, *Pektin*, *Tannin albuminat*, *Aluminium silikat*, *Attapulgate*, dan *Diosmectite* beredar bebas dipasaran (Zein *et al.*, 2004).

Probiotik merupakan suplemen bakteri atau *yeast* yang digunakan untuk mengatasi diare atau menormalkan flora usus. Probiotik meliputi *Laktobasilus*, *Bifidobakterium*, *Streptokokus spp*, *yeast (Saccharomyces boulardi)*, dan lainnya (Zein, 2004).

2.1.5 Klasifikasi diare

2.1.5.1 Diare akut

Diare akut merupakan diare yang berlangsung kurang dari 15 hari. Menurut World Gastroenterology Organization global guidelines 2005, menyebutkan bahwa diare akut merupakan suatu keadaan dimana feses tinja yang cair atau lembek dengan jumlah lebih banyak dari keadaan normal yang berlangsung kurang dari 14 hari (Nikma *et al.*, 2017).

Yang berperan dalam terjadinya diare akut adalah faktor kuasa (agent) dan faktor pejamu (manusia). Faktor pejamu merupakan suatu pertahanan tubuh untuk mempertahankan diri dari organisme penyebab diare akut (nikma *et al.*, 2017).

2.1.5.2 Diare Kronis

Diare kronis merupakan diare yang berlangsung selama 15 hari atau lebih. Diare kronis diklasifikasikan menjadi :

1. Diare osmotik : usus mengalami peningkatan isi lumen,
2. Diare sekretonik : usus mengalami peningkatan sekresi cairan,
3. Malabsorpsi asam empedu, malabsorpsi lemak : micelle empedu mengalami pembentukan yang lebih cepat, Defek sistem pertukaran anion/transport

elektrolit aktif di eritrosit : mekanisme transport ion aktif berhenti (Sari *et al.*, 2017).

2.1.6 Gejala Diare

Diare dapat diakibatkan oleh beberapa faktor seperti bakteri, virus, lingkungan yang kumuh serta karena mengonsumsi makanan yang salah (keracunan makanan). Gejala diare dapat dilihat dari penyebabnya yaitu :

2.1.6.1 Gejala diare akibat infeksi bakteri

Gejala yang diare yang disebabkan adanya infeksi diare seperti :

1. Diare yang disertai kram perut
2. Diare yang bercampur darah
3. Muntah
4. Demam

2.1.6.2 Gejala diare akibat keracunan makanan

Gejala diare ini biasanya ditandai dengan :

1. Feses lembek dan berair
2. Terkadang feses mengandung ampas makanan

2.2 Obat Tradisional

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan bahan yang berupa tanaman, hewan, mineral, sediaan galenik, atau campuran bahan-bahan tersebut yang secara turun-temurun digunakan sebagai pengobatan dan dapat diterapkan dalam norma yang berlaku di masyarakat (Aulani, 2019).

2.3 Tanaman Kelor



Gambar 2.1 Tanaman Kelor (Berawi *et al.*, 2019)

Gambar 2.1 merupakan gambar tanaman kelor. Tanaman kelor merupakan tanaman tropis yang dapat hidup di pekarangan dan tanpa perawatan yang intensif. Tanaman kelor sering dimanfaatkan untuk dikonsumsi sehari-hari untuk dijadikan sayur mayur. Selain untuk dikonsumsi sehari-hari tanaman kelor juga dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah daun, batang dan buahnya (Isnain and Nurhaedah, 2017).

2.3.1 Klasifikasi Tanaman kelor

Menurut Integrated Taxonomic Information System (2017), klasifikasi tanaman kelor sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Brassicales
Familia	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lamk. (Isnain and Nurhaedah, 2017).

2.3.2 Morfologi

Kelor merupakan tanaman berupa pohon yang dapat hidup hingga mencapai ketinggian 12 m dengan diameter batang mencapai 30 cm. daun kelor memiliki karakteristik kecil, berbentuk telur, bersirip tidak sempurna, dan besarnya seujung jari. Memiliki helaian daun berwarna hijau hingga kecoklatan dengan oanjang 1-3 cm, lebar 4 mm sampai 1 cm, memiliki tepi rata, ujung daun tumpul, dan pangkal daun berbentuk bulat. Kelor memiliki batang berkayu lunak dan berkualitas rendah. Akar kelor berbentuk tidak beraturan dan tidak begitu keras, memiliki permukaan agak licin, permukaan dalam memiliki serabut kecil, bagian kayu berwarna coklat

muda. Tanaman kelor dapat tumbuh pada ketinggian hingga 1000 m dpl di atas permukaan laut (Isnan and Nurhaedah, 2017).

2.3.3 Sinonim

Tanaman kelor dikenal dengan nama lain seperti limaran, moringa, ben-oil (dapat diperoleh ekstrak dari bijinya), drumstick (dari bentuk benihnya yang panjang dan ramping), horseradish tree (dari bentuk akar tanaman yang mirip seperti horseradish), melunggay (filiphina) (Isnan and Nurhaedah, 2017).

2.3.4 Nama Daerah

Tanaman kelor di Indonesia memiliki nama yang berbeda di setiap daerah. Nama daerah tanaman kelor yaitu, kelor (Jawa, Bali, Sunda, Lampung), maronggih (Madura), moltong (Flores), keloro (Bugis), ongge (Bima), murong atau barunggai (Sumatera), dan hau fo (Timur) (Isnan and Nurhaedah, 2017).

2.3.5 Kandungan Kimia

Tanaman senggani memiliki kandungan tanin dan flavonoid (Gloria *et al.*, 2019). Menurut (Nurhayat *et al.*, 2020) disebutkan bahwa pada hasil skrining fitokimia secara kualitatif ekstrak daun senggani memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, polifenol, dan steroid.

2.3.5.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak memiliki atom nitrogen, dalam jaringan hewan dan tanaman. Alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, bunga, ranting, akar dan kulit batang. Fungsi alkaloid pada tumbuhan hampir sama. Ini diakibatkan karena alkaloid memiliki sifat basa, sehingga dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan (Ningrum *et al.*, 2016). Kebanyakan alkaloid diisolasi berupa padatan kristal dengan titik didih berkisar 87-238°C. Dalam bentuk garamnya, alkaloid mudah larut dalam pelarut organik polar (Wilantari, 2018).

Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain lain (Aksara *et al.*, 2013). Mekanisme

kerja dari alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Amalia *et al.*, 2017).

2.3.5.2 Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa- senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Golongan flavonoid memiliki kerangka karbon yang terdiri atas dua cincin benzena tersubstitusi yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Wahyulianingsih *et al.*, 2016).

Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C6-C3 (fenilpropana) yang bersumber dari asam sikimat dan unit C6 yang diturunkan dari jalur poliketida. Fragmen poliketida ini disusun dari tiga molekul malonil-KoA, yang bergabung dengan unit C6-C3 (sebagai koA tioester) untuk membentuk unit awal triketida. Oleh karena itu, flavonoid yang berasal dari biosintesis gabungan terdiri atas unit-unit yang diturunkan dari asam sikimat dan jalur poliketida (Wahyulianingsih *et al.*, 2016). Beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula. Ikatan glikosida akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi. Suhu 50 °C merupakan suhu yang relatif aman untuk mencegah kerusakan pada senyawa metabolit sekunder khususnya flavonoid (Oktavia, 2011).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseuler (Amalia *et al.*, 2017).

2.3.5.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin

memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangni *et al.*, 2012). Tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu 98,89°C-101,67°C (Purwitasari, 2014).

Kemampuan antibakteri yang dimiliki oleh tanin diduga karena tanin dapat mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri dan menyebabkan kerusakan pada dinding sel (Amalia *et al.*, 2017).

2.3.5.4 Saponin

Saponin merupakan suatu glikosida yang memiliki aglikon berupa sapogenin. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan air, sehingga akan mengakibatkan terbentuknya buih pada permukaan air setelah dikocok. Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi hingga mencapai 158°C (Santosa *et al.*, 2018). Sifat ini mempunyai kesamaan dengan surfaktan. Penurunan tegangan permukaan disebabkan karena adanya senyawa sabun yang dapat merusak ikatan hidrogen pada air. Senyawa sabun ini memiliki dua bagian yang tidak sama sifat kepolarannya. Struktur kimia saponin merupakan glikosida yang tersusun atas glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa, dan jenis gula lainnya. Bagian aglikon merupakan sapogenin. Sifat amfifilik ini dapat membuat bahan alam yang mengandung saponin bisa berfungsi sebagai surfaktan (Nurzaman *et al.*, 2018).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein, dikarenakan zat aktif permukaan saponin mirip deterjen sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tekanan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak (Sudarmi *et al.*, 2017).

2.3.6 Khasiat dan Kegunaan

Tanaman kelor seringkali dimanfaatkan sebagai makanan sehari-hari. Tanaman kelor dikonsumsi dengan dijadikan sayur maupun dalam bentuk serbuk sebagai suplemen. Baru-baru ini telah ditemukan kembali manfaat tanaman kelor lebih lanjut yaitu sebagai antimikroba, antijamur, antihipertensi, antihiperlipidemik, antitumor, antikanker, anti-inflamasi. Kelor memiliki banyak manfaat karena

memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari flavonoid, fenol, askorbat, serta karatenoid (Aminah *et al.*, 2015).

2.4 Tanaman Senggani



Gambar 2.2 Tanaman Senggani (Suliska *et al.*, 2019).

Gambar 2.2 merupakan gambar tanaman senggani. Senggani adalah tanaman jenis gulma yang berasal dari keluarga *melastomataceae*. Tanaman senggani merupakan tanaman yang kaya akan manfaat. Bagian tanaman senggani yang dapat dimanfaatkan sebagai obat yaitu, daun, buah, kulit dan biji. Tanaman senggani sering dimanfaatkan masyarakat sebagai obat demam, penghilang nyeri, dan mengatasi diare (Rahayu *et al.*, 2016).

2.4.1 Klasifikasi Tanaman

Tanaman senggani memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Subclassis	: Dialypetalae
Ordo	: Mytales
Familia	: Melastomaceae
Genus	: Melastoma
Spesies	: <i>Melastome polythum</i> BI. (Arifa and Periadnadi, 2018)

2.4.2 Morfologi

Senggani merupakan tanaman perdu, dengan tinggi 0,5-4 m. Daun bertangkai, berhadapan, memanjang atau bahkan bulat memanjang dengan ujung runcing dengan tulang daun 3,2-20 kali sampai 1-8 cm, dengan kedua sisi berbulu. Cabang muda memiliki sisik. Bunga bersama-sama 5-18, pada ujung dan ketiak daun tertinggi, terbilang 5(4-6). Tabung bunga berbentuk lonceng, memiliki sisik, taju dengan beberapa taju kecil. Daun pelindung memiliki sisik, langsing, 5 kali 2 mm, dan tidak menutupi kuncup. Daun mahkota berbentuk bulat telur terbalik, memiliki panjang 2-3 cm, berwarna ungu merah dan jarang berwarna putih. Benang sari 10(8-12), memanjang dari penghubung bawah ruas benang sari sekitar 6-16 mm, pada pendek 2-7 mm. Bakal buah memiliki 5(4-6) ruang, dihubungkan oleh bingkai ke tabung kelopak. Buah buni membentuk periuk, membuka melintang secara tidak teratur, dimana terlepas biji bingkai merah tua. Memiliki biji berbentuk kerang. Tanaman senggani dapat tumbuh pada pada rumput, semak di hutan kecil dengan luas 5-2000 m (Arifa and Periadnadi, 2018).

2.4.3 Sinonim

Senggani memiliki banyak nama lain atau sinonim yang mengacu pada tanaman ini antara lain *Melastoma malabathricum* L., *Melastoma candidum* D. Don, (*Melastoma septemnervium* Lour., non Jacq). *Melastoma dodecandum* Lour (*Melastoma repens* Desr) selanjutnya *Melastoma sanguineum* Sims (*Melastoma decemfidum* Roxb.). *Melastoma affine* D. Don (*Melastoma polyanthum* BI.) yang sering digunakan di Indonesia. (Tusti and Galuh, 2007)..

2.4.4 Nama Daerah

Tanaman senggani memiliki nama yang berbeda-beda didaerah masing-masing. Nama daerah tanaman senggani antara lain : Senggani (Sulawesi), Kluruk, Sengganen (Jawa), Senduduk (Melayu), Harendong (Sunda), Kemanden (Madura) (Arifa and Periadnadi, 2018).

2.4.5 Kandungan

2.4.5.1 Tanin

Tanin merupakan salah satu golongan senyawa polifenol yang sering ditemukan pada tanaman. Tanin merupakan senyawa yang memiliki berat molekul 1000 g/mol yang dapat membentuk senyawa kompleks protein. Senyawa tanin memiliki cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu 98,89 °C-101,67 °C (Purwitasari, 2014). Tanin memiliki fungsi sebagai pengelat logam dan pengendap protein. Karena itu tanin dipercaya dapat berperan sebagai antioksidan biologis (Noer *et al.*, 2014). Tanin juga memiliki khasiat sebagai astringen, antidiare, dan antibakteri (Malangngi *et al.*, 2012).

Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malangngi *et al.*, 2012). Kemampuan antibakteri yang dimiliki oleh tanin diduga karena tanin dapat mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri dan menyebabkan kerusakan pada dinding sel (Amalia *et al.*, 2017).

2.4.5.2 Flavonoid

Sebagian besar senyawa flavonoid berikatan dengan gugus gula glikosidanya dan dalam bentuk campurannya atau jarang sekali dalam bentuk tunggalnya. Flavonoid memiliki kerangka dasar yang terdiri dari 15 atom karbon. Dimana terdapat 2 cincin benzena (C6) berikatan dengan rantai propananya (C3) (Noer *et al.*, 2014).

Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C6-C3 (fenilpropana) yang bersumber dari asam sikimat dan unit C6 yang diturunkan dari jalur poliketida. Fragmen poliketida ini disusun dari tiga molekul malonil-KoA, yang bergabung dengan unit C6-C3 (sebagai koA tioester) untuk membentuk unit awal triketida. Oleh karena itu, flavonoid yang berasal dari biosintesis gabungan terdiri atas unit-unit yang diturunkan dari asam sikimat dan jalur poliketida (Wahyulianingsih *et al.*, 2016). Ikatan glikosida akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi. Suhu 50 °C

merupakan suhu yang relatif aman untuk mencegah kerusakan pada senyawa metabolit sekunder khususnya flavonoid (Oktavia, 2011).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseuler (Amalia *et al.*, 2017).

2.4.5.3 Saponin

Saponin merupakan suatu glikosida yang memiliki aglikon berupa sapogenin. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan air, sehingga akan mengakibatkan terbentuknya buih pada permukaan air setelah dikocok. Sifat ini mempunyai kesamaan dengan surfaktan. Penurunan tegangan permukaan disebabkan karena adanya senyawa sabun yang dapat merusak ikatan hidrogen pada air. Senyawa sabun ini memiliki dua bagian yang tidak sama sifat kepolarannya. Struktur kimia saponin merupakan glikosida yang tersusun atas glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa, dan jenis gula lainnya. Bagian aglikon merupakan sapogenin. Sifat ampifilik ini dapat membuat bahan alam yang mengandung saponin bisa berfungsi sebagai surfaktan (Nurzaman *et al.*, 2018). Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi, yaitu hingga mencapai 158 °C (Santosa *et al.*, 2018). Pada pengobatan maupun pencegahan penyakit saponin sering dimanfaatkan sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, pengontrol kadar glukosa darah, dan menghambat pertumbuhan sel tumor (Darma and Marpaung, 2020).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein, dikarenakan zat aktif permukaan saponin mirip deterjen sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tekanan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak (Sudarmi *et al.*, 2017).

2.4.5.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak memiliki atom nitrogen, dalam jaringan hewan dan tanaman. Alakalioid dapat ditemukan pada biji, daun, bunga, ranting, akar dan kulit batang. Kebanyakan alkaloid diisolasi berupa padatan kristal dengan titik didih berkisar 87-238°C

(Wilantari, 2018). Fungsi alkaloid pada tumbuhan hamper sama. Ini diakibatkan karena alkaloid memiliki sifat basa, sehingga dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan(Ningrum *et al.*, 2016).

Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain lain (Aksara *et al.*, 2013). Mekanisme kerja dari alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Amalia *et al.*, 2017).

2.4.5.5 Steroid

Steroid pada tumbuhan ada yang memiliki fungsi untuk menghambat penuaan daun sehingga daun tidak cepat gugur, sedangkan steroid pada hewan pada umumnya dijumpai dalam bentuk hormon yang salah satu fungsinya berpengaruh dalam pertumbuhan dan perkembangbiakan (Suryelita *et al.*, 2017).

Steroid pada tumbuh-tumbuhan secara umum terdapat dalam bentuk sterol. Tumbuhan tingkat tinggi biasanya mengandung fitosterol seperti: sitosterol (β -sitosterol), stigmasterol, dan kampesterol (Suryelita *et al.*, 2017). Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membral sel bakteri (Amalia *et al.*, 2017).

2.4.6 Khasiat dan kegunaan

Tanaman senggani banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Salah satu manfaat daun senggani yaitu sebagai antibakteri. Hal ini dikarenakan terdapat senyawa flavonoid yang bermanfaat sebagai antibakteri tersebut (Gloria *et al.*, 2019).

Tanaman senggani dapat dimanfaatkan sebagai penurun demam (*antipiretik*), pereda nyeri (*analgesik*), peluruh air seni (*diuretik*), mengobati keputihan (*leukorea*), dan berbagai obat luka sayat (Nurhayat *et al.*, 2020). Hingga saat ini masyarakat telah memanfaatkan daun senggani sebagai obat sariawan, keputihan, diare, dan pendarahan rahim. sedangkan menurut Soedibyo (1998) memiliki khasiat untuk astringen, disentri, keputihan, mencret, wasir, obat kumur, sakit perut dan borok (obat luar).

2.5 Simplisia

Simplisia menurut farmakope Indonesia merupakan bahan baku obat alami yang sudah dikeringkan dan diserbukan (Evifania *et al.*, 2020). Serbuk simplisia merupakan sediaan obat tradisional berupa butiran halus dan homogen, terbuat dari simplisia atau campuran ekstrak dimana cara penggunaannya diseduh dengan air panas (BPOM, 2014).

Simplisia dibagi menjadi 3 jenis, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati merupakan simplisia dari bagian utuh atau bagian tertentu tumbuhan maupun eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia bisa berupa hewan utuh atau zat-zat berguna dari hewan yang belum diubah menjadi bahan kimia murni misalnya, minyak ikan dan madu. Simplisia pelikan dan mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang diolah dengan sederhana yang belum berupa bahan kimia murni contohnya, serbuk seng dan serbuk tembaga (Evifania *et al.*, 2020).

2.5.1 Syarat Simplisia

Simplisia dapat dikatakan memenuhi syarat mutu simplisia apabila sudah memenuhi persyaratan mutu yang tertera dalam monografi simplisia, yang terdiri dari susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan kandungan kimia simplisia (Depkes RI, 2008).

Persyaratan mutu simplisia yaitu secara organoleptis dilakukan pengamatan terhadap bentuk, bau, rasa dan warna, mengandung kadar air $\leq 10\%$, bebas cemaran mikroba serta cemaran logam berat, kadar aflatoksin total (aflatoksin B1, B2, G1 dan G2) $\leq 20 \mu\text{g}/\text{kg}$, serta tidak boleh mengandung pengawet, pengharum, dan pewarna (BPOM, 2014).

2.5.2 Persiapan Simplisia

Pada proses penyiapan simplisia hal yang harus diperhatikan antara lain, bahan baku simplisia, proses pembuatan, pengepakan serta penyimpanan simplisia (Depkes RI, 1985).

2.5.2.1 Bahan Baku Simplisia

Pada pembuatan simplisia hal yang perlu diperhatikan adalah kualitas bahan baku simplisia, karena hal ini dapat mempengaruhi kualitas simplisia yang dihasilkan. Sumber bahan baku simplisia dapat diperoleh dari tanaman, hewan, maupun mineral. Simplisia nabati yang memiliki kualitas baik dapat dilihat dari waktu panen. Waktu panen yang tepat akan membuat simplisia memiliki kandungan kimia yang optimum dan memiliki manfaat yang optimal dalam pengobatan.

Ketentuan pemanenan tumbuhan berdasarkan bagian tubuh tumbuhan (Depkes RI, 1985) :

1. Biji (*semen*)

Biji dipanen ketika biji sudah mulai tua biasanya ditandai dengan perubahan warna pada buah menjadi berwarna kuning maupun buah sudah mengering, misalnya biji kedawung.

2. Buah (*fructus*)

Buah dapat dipanen ketika buah sudah mulai tua atau mengalami perubahan warna namun buah belum sepenuhnya masak, misalnya lada (pada pemanenan lada apabila waktu panen buah sudah tua namun belum masak maka akan diperoleh lada hitam (*Piperis nigri Fructus*), namun ketika pemanenan bahan sudah masak akan dihasilkan lada putih (*Piperis albi Fructus*).

3. Daun (*folia*)

Daun dipanen apabila tanaman sudah berbunga tetapi belum berbuah atau ketika tanaman menjelang berbunga.

4. Bunga (*flores/flos*)

Bunga dipanen ketika bunga masih kuncup (belum mekar) misalnya cengkeh, ataupun ketika bunga tetap mekarnya misalnya bunga mawar dan bunga sriganding.

5. Kulit batang (*cortex*)

Kulit Bbatang dipanen ketika tanaman sudah tua atau umum yang tepat, hendaknya dipanen ketika musim kemarau agar kulit mudah terkelupas.

6. Umbi lapis (*bulbus*)

Umbi lapis dipanen ketika umbi sudah mencapai besar optimum, yaitu ketika bagian atas tanaman sudah mulai mengering (misalnya bawang putih dan bawang merah)

7. Rimpang atau “empon-empon” (*rhizomad*)

Rimpang dipanen ketika pertumbuhannya sudah maksimal dan bagian di atas tanah sudah mulai mengering, yaitu di awal musim kemarau.

2.5.2.2 Proses pembuatan Simplisia

Setelah dilakukan pemanenan langkah selanjutnya pasca panen adalah sebagai berikut (Depkes RI, 1985):

1. Sortasi basah.

Tahap ini perlu dilakukan karena bahan baku simplisia benar dan murni, artinya tanaman berasal dari bahan baku simplisia yang dimaksud, bukan dari tumbuhan lain. Dalam kaitannya perlu dilakukan pemisahan dan pembuangan bahan organik asing atau tumbuhan atau bahan tanaman lain yang terikut. Bahan simplisia yang bersih tidak boleh bercampur dengan tanah, kerikil, maupun pengotor yang lainnya.

2. Pencucian.

Pencucian dapat dilakukan dengan air sumur, air mata air, maupun air ledeng (PAM). Pencucian sebaiknya tidak dilakukan dengan menggunakan air sungai, karena diketahui bahwa air sungai memiliki begitu banyak cemarannya. Setelah dilakukan pencucian bahan baku simplisia ditiriskan agar sisa air dapat mengalir. Kalium permanganat sebanyak 1/8000 dapat ditambahkan ke dalam air untuk mencuci, hal ini dilakukan untuk menekan angka kuman dan dilakukan untuk pencucian rimpang.

3. Perajangan.

Banyak simplisia yang memerlukan perajangan untuk mempermudah dan mempercepat pengeringan. Perajangan dapat dilakukan secara manual

maupun dengan menggunakan alat. Saat perajangan tidak boleh terlalu tebal karena dapat mempengaruhi proses pengeringan dan menyebabkan simplisia berjamur dan membusuk. Namun apabila perajangan terlalu tipis juga dapat mengakibatkan rusaknya zat kimia yang terdapat dalam simplisia.

4. Pengeringan.

Pengeringan merupakan suatu proses pengawetan simplisia sehingga simplisia dapat tahan lama. Selain itu pengeringan dapat menghindari terurainya kandungan kimia karena enzim. Selain itu pengeringan juga bermanfaat untuk mencegah terjadinya pertumbuhan mikroorganisme maupun jamur pada simplisia. Tanda dari simplisia yang sudah kering yaitu mudah patah apabila diremas. Menurut persyaratan obat tradisional kandungan air dalam simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Pengeringan simplisia sebaiknya tidak dilakukan dibawah sinar matahari langsung melainkan menggunakan oven agar kandungan senyawa dalam simplisia tidak rusak. Namun apabila terpaksa pengeringan dapat dilakukan dengan cara dibawah sinar matahari dan dengan ditutup kain hitam untuk menghindari terurainya kandungan kimia dan debu.

5. Sortasi kering.

Simplisia yang telah kering selanjutnya dilakukan sortasi sekali untuk memisahkan kotoran, bahan organik asing, dan simplisia yang rusak pada proses sebelumnya.

2.5.2.3 Pengepakan dan Penyimpanan

Bahan pengepak harus sesuai dengan simplisia yang dipak. Misalnya simplisia yang mengandung minyak atsiri jangan dipak dalam wadah plastik, karena plastik akan menyerap bau bahan tersebut. Bahan pengepak yang baik adalah karung goni atau karung plastik. Simplisia yang ditempatkan dalam karung goni atau karung plastik praktis cara penyimpanannya, yaitu dengan ditumpuk. Selain itu, cara menghandelnya juga mudah serta cukup menjamin dan melindungi simplisia di dalamnya. Pengepak lainnya digunakan menurut keperluannya. Pengepak yang dibuat dari aluminium atau kaleng dan seng mudah melapuk, sehingga perlu dilapisi dengan plastik atau malam atau yang sejenis dengan itu.

Penyimpanan harus teratur, rapi, untuk mencegah resiko tercemar atau saling mencemari satu sama lain, serta untuk memudahkan pengambilan, pemeriksaan, dan pemeliharannya. Simplisia yang disimpan harus diberi label yang mencantumkan identitas, kondisi, jumlah, mutu, dan cara penyimpanannya. Adapun tempat atau gudang penyimpanan harus memenuhi syarat antara lain harus bersih, tertutup, sirkulasi udara baik, tidak lembab, penerangan cukup bila diperlukan, sinar matahari tidak boleh leluasa masuk ke dalam gudang, konstruksi dibuat sedemikian rupa sehingga serangga atau tikus tidak dapat leluasa masuk, tidak mudah banjir serta terdapat alas dari kayu yang baik (hati-hati karena balok kayu sangat disukai rayap) atau bahan lain untuk meletakkan simplisia yang sudah dipak tadi. Pengeluaran simplisia yang disimpan harus dilaksanakan dengan cara mendahulukan bahan yang disimpan lebih awal ("*First in — First out*" = *FIFO*).

2.6 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dari massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Dirjen POM, 1995).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu (Dirjen POM, 2000).

2.6.1 Metode Ekstraksi

2.6.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan suatu proses ekstraksi yang tidak menggunakan pemanasan, sedangkan untuk menarik senyawa dalam ekstrak menggunakan kepolaran pelarut. Mekanisme kerja maserasi yaitu dengan melakukan perendaman ekstrak pada suhu kamar dan sesekali dikocok untuk menarik senyawa aktifnya keluar (Suhendar *et al.*, 2020). Proses ekstraksi dihentikan apabila sudah tercapai

kesetimbangan antara konsentrasi senyawa ekstrak dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel ekstrak tanaman. Setelah ekstraksi selesai selanjutnya ekstrak disaring untuk memisahkan sampel dengan dengan pelarut. Keuntungan dari metode ini yaitu memerlukan biaya yang murah dan dapat mengantisipasi rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Namun dibalik keuntungan ini juga terdapat kerugian antara lain, membutuhkan waktu yang lama, memerlukan pelarut yang cukup banyak, dan besar kemungkinan terdapat senyawa yang hilang selama ekstraksi berlangsung (Mukhtarini, 2011).

Remaserasi merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan pertama, dan seterusnya. Pelarut kedua ditambahkan sebanyak pelarut pertama (Depkes, 2000).

2.6.1.2 Refluks

Refluks merupakan suatu ekstraksi dengan menggunakan pemanasan pada suhu 50°C. Mekanisme kerja dari refluks yaitu pelarut yang digunakan akan menguap ketika pada suhu yang digunakan, namun uap tersebut setelah didinginkan menggunakan kondensor akan mengembun kembali dan turun kedalam wadah sehingga selama ekstraksi refluks terjadi tetap terdapat pelarut didalamnya (Suhendar *et al.*, 2020). Kekurangan dari ekstraksi ini yaitu apabila senyawa bersifat termolabil maka tidak ada terdegradasi.

2.6.1.3 Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dimana, sampel berupa serbuk dibasahi dengan perlahan dalam perkolator (wadah berbentuk silinder yang dilengkapi dengan kran di bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan di bagian atas serbuk sampel, kemudian pelarut ditunggu menetes kebagian bawah. Kelebihan dari metode perkolasi ini yaitu selalu menggunakan pelarut yang baru untuk dialirkan ke sampel. Namun terdapat kekurangan yaitu apabila sampel tidak homogen maka pelarut akan kesulitan untuk menjangkau area sampel dan juga memerlukan waktu dan pelarut yang banyak (Mukhtarini, 2011).

2.6.1.4 Soxletasi

Pada metode ini serbuk sampel diletakkan pada sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klongsong yang ditempatkan di atas labu di bawah

kondensor. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang sesuai dengan sampel, kemudian pelarut dimasukkan dalam labu dan suhu penangas di atur di bawah refluks. Keuntungan dari metode ini yaitu ekstraksi kontinyu, sampel terekstraksi dengan menggunakan pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak menggunakan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugian dari metode ekstraksi ini senyawa yang termolabil tidak dapat terdegradasi (Mukhtarini, 2011).

2.6.1.5 Destilasi Uap

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk ekstraksi minyak esensial. Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah 2 bagian yang saling tercampur) tertampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dan terdegradasi (Mukhtarini, 2011).

2.6.2 Pelarut

Dalam memilih pelarut yang akan digunakan harus diperhatikan sifat kandungan kimia (metabolit sekunder) yang akan diekstrak. Sifat yang penting dan harus diperhatikan adalah sifat kepolaran, dapat dilihat dari gugus polar senyawa tersebut yaitu gugus OH, COOH. Senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar, dan senyawa non polar akan lebih mudah larut dalam pelarut non polar. Derajat kepolaran tergantung kepada ketetapan dielektrik, makin besar tetapan dielektrik makin polar pelarut tersebut (PermenKes RI, 2007).

Beberapa pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi antara lain:

2.6.2.1 Air

Air merupakan pelarut universal yang sering digunakan, biasanya digunakan untuk menyari produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Walaupun pengobatan secara tradisional menggunakan air sebagai pelarut, tetapi ekstrak tumbuhan dari pelarut organik telah ditemukan memberikan aktivitas antimikroba yang lebih konsisten dibandingkan dengan ekstrak air. Air juga dapat melarutkan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.2.2 Aseton

Aseton dapat melarutkan beberapa komponen senyawa hidrofilik dan

lipofilik dari tumbuhan. Keuntungan dari pelarut ini yaitu dapat bercampur dengan air, mudah menguap, dan memiliki toksisitas yang rendah. Aseton digunakan terutama untuk studi antimikroba dimana banyak senyawa fenolik yang dapat disaring dengan aseton (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.2.3 Etanol

Ekstraksi menggunakan pelarut etanol menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut air. Hal ini dikaitkan dengan adanya jumlah polifenol yang lebih tinggi pada ekstrak dengan pelarut etanol dibandingkan dengan pelarut air. Konsentrasi tinggi dari senyawa flavonoid terdeteksi dengan etanol 70% dikarenakan polaritasnya lebih tinggi dibandingkan etanol murni. Etanol lebih mudah untuk menembus membran sel untuk menyari senyawa yang terdapat pada intraseluler dari tanaman. Metanol lebih polar daripada etanol namun lebih bersifat toksik, sehingga tidak cocok untuk ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.2.4 Kloroform

Kloroform memiliki nama umum triklorometana (CHCl_3). Pada suhu ruang kloroform memiliki wujud cairan bening, mudah menguap, serta memiliki bau yang khas. Kloroform merupakan pelarut yang bersifat semipolar dan biasa digunakan untuk menyari senyawa seperti tanin dan terpenoid (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.2.5 Eter

Eter semakin polar daripada alkena, namun tidak sepolar alkohol, ester, ataupun amida. Walau demikian, keberadaan dua pasangan elektron menyendiri pada atom oksigen eter, memungkinkan eter berikatan hidrogen dengan molekul air. Eter dapat dipisahkan secara sempurna menempuh destilasi. Eter biasanya digunakan secara selektif untuk menyari kumarin dan asam lemak (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.2.6 n-heksana

n-heksana memiliki bentuk cairan bening, Kurang padat dari air dan tidak larut dalam air. Uap lebih berat dari pada udara. Digunakan sebagai pelarut, cat thinner, dan media reaksi kimia. n-heksana memiliki karakteristik sangat tidak polar, volatil, mempunyai bau khas yang dapat menyebabkan pingsan. Berat molekulnya 86,2 gram/mol dengan titik leleh 94,3 sampai 95,3°C. Titik didih n-heksana pada

tekanan 760 mmHg yaitu 66 sampai 71°C (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.2.7 Etil Asetat

Etil asetat adalah pelarut dengan karakteristik semi polar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semi polar seperti fenol dan terpenoid (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.2.8 DMSO

DMSO adalah salah satu pelarut organik paling kuat yang dapat melarutkan berbagai bahan organik dan polimer secara efektif (Gaylord Chemical Company, 2007). DMSO larut dalam air dan berbagai cairan organik lainnya, seperti alkohol, ester, keton, pelarut terklorinasi, dan hidrokarbon aromatic (Jacob and de la Torre, 2015).

2.7 Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme mikroskopis yang memiliki sel tunggal, dan tidak memiliki membrane sel. Meskipun berukuran kecil bakteri berperan penting dalam kehidupan sehari-hari, beberapa kelompok bakteri dikenal bermanfaat untuk kehidupan, antara lain bakteri telah digunakan dalam sektor industri pangan, namun ada juga bakteri yang merugikan, seperti bakteri yang membusukkan bahan-bahan makanan dan bahkan menyebabkan infeksi dan penyakit bagi manusia (Febriza *et al.*, 2021). Karakteristik bakteri beranekaragam dapat dilihat dari bentuknya, seperti batang (spirilli), koma (vibrios), dan bulat (cocci). Struktur bakteri yang terpenting diketahui cambuk (flagella), kapsul (capsule), dan endospora (endospore) (Soedarto, 2015).

2.7.1 Klasifikasi bakteri

2.7.1.1 Bakteri Gram Positif

Bakteri Gram positif merupakan bakteri yang memiliki kandungan peptidoglikan yang tinggi dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Pada genus bakteri Gram positif terdapat asam terikoat, asam terikoat dapat mengikat ion magnesium yang berperan dalam membran sitoplasma sehingga akan memberikan tetahanan terhadap suhu yang tinggi. Bakteri Gram positif polimernya dapat mencapai 50% dan pada umumnya kandungan lipid pada dinding sel bakteri Gram

positif rendah. Contoh bakteri Gram positif yaitu : *Staphylococcus aureus*, *Clostridium tetani*, *Bacillus cereus* (Jawetz, 2004).

2.7.1.2 Bakteri Gram Negatif

Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel bakteri yang lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Perbedaan utama terdapat pada lapisan membran luar yaitu meliputi peptidoglikan, membran tersebut dapat menyebabkan



dinding sel bakteri Gram negatif kaya akan lipid (11-12%). Bakteri Gram negatif lebih sensitif terhadap antibiotik lainnya seperti streptomisin dan bersifat lebih konstan terhadap reaksi pewarnaan. Contoh dari bakteri gram negatif yaitu : *Helicobacter*, *Acinobacter*, *Escherichia coli* (Jawetz, 2004).

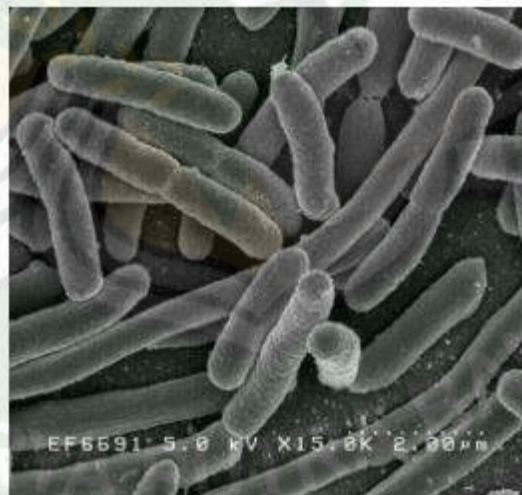
2.8 *Escherichia coli*

2.8.1 Klasifikasi

Klasifikasi dari *Escherichia coli*, yaitu (:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Sutiknowati, 2016)

2.8.2 Morfologi



Gambar 2.3 Bakteri *Escherichia coli* (Sutuknowati, 2016)

Pada gambar 2.3 di atas merupakan gambar bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* disebut juga *Bacterium coli*, merupakan bakteri Gram negatif,

aerob atau anaerob fakultatif, panjang 1-4 mikrometer, lebar 0,4-1,7 mikrometer, berbentuk monobasil yaitu basil yang terlepas satu sama lain dengan kedua ujung tumpul, tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh baik pada suhu 37°C tapi dapat tumbuh pada suhu 8-40°C, membentuk koloni yang bundar, cembung, halus dan dengan tepi rata. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang secara normal terdapat didalam usus dan berperan dalam proses pengeluaran zat sisa pada saluran pencernaan manusia. Bakteri *Escherichia coli* bersifat enterotoksigenik, dapat menghasilkan 2 macam enterotoksin yaitu toksin yang tahan panas dan toksin yang tidak tahan panas. Enterotoksin dari bakteri *Escherichia coli* menyebabkan infeksi didalam usus dan menyebabkan diare. Masa inkubasi berlangsung selama 12 jam hingga 3 hari, gejala timbul 18-24 jam setelah menyantap makanan (Sutiknowati, 2016)

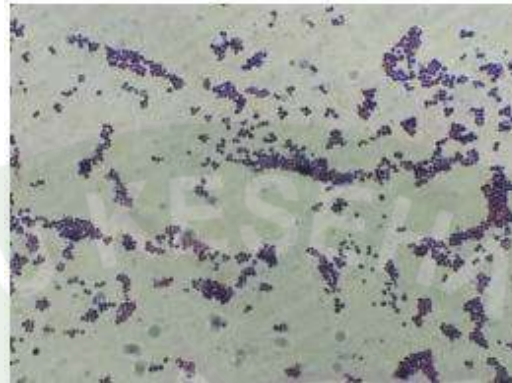
2.9 *Staphylococcus aureus*

2.9.1 Klasifikasi

Berdasarkan (Hayati *et al.*, 2019) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Hayati <i>et al.</i> , 2019)

2.9.2 Morfologi



Gambar 2.4 bakteri *Staphylococcus aureus* (Hayati *et al.*, 2019)

Gambar 2.4 merupakan gambar dari bakteri *Staphylococcus aureus* dibawah mikroskop dengan uji pewarnaan. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang berbentuk bulat, berdiameter 0,7-1,2 μm dan biasanya tersusun tidak beraturan seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* bersifat merugikan karena menyebabkan infeksi. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu abses atau bisul nanah, diare dan malaria. Proses Infeksi terjadi melalui udara, debu, limbah, air, makanan dan peralatan makan. *Staphylococcus aureus* menimbulkan penyakit melalui kemampuan berkembangbiak dan menyebar luas dalam jaringan. Penyebaran bakteri menggunakan sarana yang dimiliki inang untuk dapat memperbanyak diri. Bakteri yang menginfeksi inang dapat berakibat luka kronik, serta bahkan kematian (Seko *et al.*, 2021).

2.10 Antibakteri

Antibakteri yaitu suatu senyawa yang dapat mengganggu pertumbuhan bahkan mematikan suatu bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Senyawa antibakteri harus mempunyai sifat toksisitas selektif yaitu berbahaya bagi parasit tetapi tidak berbahaya pada inangnya. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat sintesis protein, mengubah fungsi membran plasma, menghambat sintesis asam nukleat, sedangkan aktivitas antibakteri dibagi menjadi dua macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak

membunuh patogen) dan dapat membunuh patogen dalam kisaran luas (Khilyasari, 2017).

2.10.1 Mekanisme kerja Antibakteri

2.10.1.1 Penghambatan Sintesis Dinding Sel

Sel bakteri dikelilingi oleh suatu struktur kaku yang disebut dengan dinding sel, yang melindungi protoplasma dibawahnya. Setiap zat yang mampu merusak dinding sel atau mencegah sintesisnya, menyebabkan terbentuknya selsel yang peka terhadap tekanan osmosis. Contoh obat : penisilin, sefalosporin, vankomisin, basitrain (Waluyo, 2010).

2.10.1.2 Penghambatan Sintesis Protein

Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama yaitu transkripsi (sintesis asam ribonukleat) dan translasi (sintesis protein yang ARNdependent). Antibakteri yang dapat menghambat salah satu dari proses tersebut dapat menghambat sintesis protein. Salah satu mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan adalah dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom. Contoh obat : eritromisin, tetrasiklin, golongan glikosida, kloramfenikol (Waluyo, 2010).

2.10.1.3 Perubahan Fungsi Membran Plasma

Membran sel mempunyai peran yang penting dalam sel, yaitu sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif, dan mengendalikan susunan dalam sel. Membran sel mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel dan merupakan tempat berlangsungnya pernapasan dan aktivitas biosintetik tertentu. Beberapa zat antibakteri dapat merusak atau melemahkan salah satu atau lebih dari fungsi-fungsi tersebut,

sehingga mengakibatkan pertumbuhan sel terhambat atau mati. Contoh obat : gramisidin, polimiksin (Waluyo, 2010).

2.10.1.4 Penghambatan Sintesis Asam Nukleat

RNA, DNA dan protein memegang peran penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA Dependent dan RNA Polymerase bakteri sehingga menghambat sintesis RNA bakteri. Contoh obat : sulfonamid, rifampisin (Waluyo, 2010).

2.10.2 Mekanisme Resistensi Antibakteri

Resistensi merupakan ketidakmampuan antibiotik untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri dengan pemberian kadar maksimum yang dapat ditolerir oleh inang. Resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik dapat terjadi dengan beberapa cara, yaitu dengan mengubah reseptor titik tangkap antibiotik, antibiotik tidak dapat menembus dinding sel akibat perubahan sifat dinding sel bakteri, merusak antibiotik menggunakan enzim yang diproduksi oleh bakteri, antibiotik masuk ke dalam sel bakteri namun segera dikeluarkan dari dalam sel melalui mekanisme transpor aktif ke luar sel, mengubah fisiko kimiawi target sasaran antibiotik pada sel bakteri (Waluyo, 2010).

2.10.3 Antibakteri Pembanding

Antibakteri yang digunakan sebagai pembanding adalah kloramfenikol sebagai kontrol positif. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena dapat memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Kloramfenikol adalah antibakteri statik berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif dan negatif baik anaerob maupun aerob (Buulolo *et al.*, 2018).

Mekanisme kerja kloramfenikol menghambat peptidil transverase pada fase pemanjangan, dengan demikian akan mengganggu sintesis protein dan mencegah

penambahan asam amino. Pada pembentukan rantai peptida dengan mengganggu pengikatan kompleks asam amino (Buulolo *et al.*, 2018).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Dalam menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkalsi atau ikatan hydrogen yakni dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA (Nomer *et al.*, 2019).

Karakteristik kloramfenokol menurut FI III adalah sebagai berikut (Depkes RI, 1979):

Nama obat	: Kloramfenikol
Nama lain	: Chloramfenicolum
Nama kimia	: D (-) treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol
RM	: $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$
BM	: 323,13
Kemurnian	: kloramfenikol mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%
Pemerian	: hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih sampai putih kelabu atau putih kekuningan; tidak berbau; rasa sangat pahit. Dalam larutan asam lemah, mantap.
Kelarutan	: larut dalam air, etanol, propilen glikol; sukar larut dalam eter dan kloroform.
Penyimpanan	: wadah tertutup baik, terhindar dari cahaya.
Kegunaan	: antibakteri pembanding.

2.11 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengetahui aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri secara in vitro. Pengujian tersebut dapat dilakukan dengan

metode penyebaran (Diffusion method) dan metode pengenceran (Dillution method) (Waluyo, 2010).

2.11.1 Metode Difusi

2.11.1.1 Metode *Disk diffusion*

Metode *Disk diffusion* memiliki prinsip kerja yaitu mengukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat antibakteri di dalam media padat melalui pencadangan. Daerah hambatan bakteri merupakan daerah jernih disekitar cakram. Luas daerah hambatan berbanding lurus dengan aktivitas antibakterinya maka semakin luas daerah hambatnya.

2.11.1.2 Metode *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2012).

2.11.1.3 *Ditch-plate technique*

Pada metode *Ditch-plate technique* sampel uji berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji (maksimal 6 macam) digoreskan kearah parit yang berisi agen antibakteri tersebut (Maradona, 2013).

2.11.1.4 *Cup-Plate technique*

Metode *Cup-Plate technique* serupa dengan metode disk diffusion, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji (Maradona, 2013).

2.11.2 Metode Dilusi

2.11.2.1 Metode dilusi cair (broth dilution test)

Metode dilusi cair memiliki prinsip yaitu senyawa antibakteri diencerkan hingga memperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan suspensi bakteri uji dalam media cair. Tahap selanjutnya yaitu sampel diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan

bakteri yang ditandai dengan adanya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai KHM yang selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Rahmadani, 2015). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9% pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Brooks *et al.*, 2013).

2.11.2.2 Metode dilusi padat (solid dilution test)

Metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair yang membedakan pada medianya yaitu dengan menggunakan media padat (solid). Keuntungan dengan metode dilusi padat yaitu satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2012)

2.12 Hipotesis

2.12.1 Kombinasi ekstrak daun kelor dan daun senggani (KLSG) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

2.12.2 Kombinasi Ekstrak daun kelor dan daun senggani (KLSG) dengan perbandingan 2:1 memiliki daya hambat terbaik. Semakin tinggi perbandingan konsentrasi bahan uji maka semakin besar zona bunuh bakteri, dikarenakan diameter zona bunuh bakteri yang terbentuk dipengaruhi oleh berapa faktor seperti toksisitas bahan uji, kemampuan difusi bahan uji pada media, interaksi antara komponen media dan kondisi lingkungan mikro in vitro (Maharani *et al.*, 2017).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun senggani dan daun kelor yang akan dibuat simplisia sebanyak masing-masing 5 kg. serbuk simplisia daun kelor dan daun senggani masing-masing 500 g dan etanol 70% masing-masing 5.000 ml untuk membuat ekstrak. Ekstrak daun kelor dan daun senggani, etanol, HCl, Magnesium, NaOH, AlCl₃, FeCl₃, H₂SO₄, aseton, pereaksi meyer digunakan untuk skrining fitokimia. *Nutrient agar*, *nutrient broth*, *aquadestilata*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, kloramfenikol (kontrol positif), DMSO 5% (kontrol negatif).

3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yaitu timbangan analitik (kenko), seperangkat alat gelas (Pyrex), magnetic stirrer with heater 79-1, autoclave (Gea model YX280B), LAF (ESCO), inkubator (Model DNP Electro Thermal Incubator), Ose, blender (philips), spektro Uv-vis, mesh ukuran 80, botol maserasi, kertas cakram, pinset, oven (mermert), lemari pendingin, Bunsen, jangka sorong, kapas.

3.3 Populasi Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia kering daun Senggani yang diperoleh dari kabupaten Trenggalek dan daun kelor yang diperoleh dari CV. Herbal Anugrah Alam Desa Mayungan RT 04 Kecamatan Banguntapan Kota Yogyakarta.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah daun senggani yang sudah tua dengan ciri memiliki warna hijau tua dan sudah tumbuh daun di ketiak daunnya, sedangkan untuk pemanenan daun senggani yaitu dipilih daun tua biasanya ditandai dengan daun berwarna hijau tua dan daun terasa kaku. sampel diperoleh dari perkebunan warga yang ada di RT.12 RW.03 desa Siki kecamatan Dongko Kabupaten

Trenggalek, Jawa Timur. Sampel simplisia daun kelor di dapat dari CV. Herbal Anugrah Alam Desa Mayungan RT 04 Kecamatan Banguntapan Kota Yogyakarta.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu bentuk yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan dipelajari sehingga akan didapatkan informasi tentang suatu hal untuk diambil kesimpulannya. Pada penelitian kali ini terdapat variabel bebas, variabel kontrol, dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan suatu variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi penyebab perubahan terhadap variabel terikat (Ulfa, 2019). Variabel bebas yang terdapat dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun kelor dan daun senggani, yaitu dengan perbandingan 1:1, 2:1, dan 1:2.

3.5.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang mengontrol pengaruh variabel bebas terhadap variabel tak bebas (Ulfa, 2019). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel kontrol adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta metode maserasi.

3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang akan mendapat pengaruh dari adanya data variabel bebas (Sugiyono, 2012). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat ekstrak daun kelor dan daun senggani.

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Sampel tanaman daun kelor dan daun senggani diidentifikasi Di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi tanaman yaitu untuk mengetahui kebenaran dari jenis tanaman yang digunakan (Fidyasari *et al.*, 2017). Determinasi juga dilakukan untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan baku utama yang akan digunakan pada uji aktivitas antibakteri. Determinasi tanaman berfungsi untuk membandingkan tanaman yang satu dengan tanaman lain

yang telah dikenal sebelumnya, untuk menghindari kesalahan ketika pengumpulan bahan baku.

3.6.2 Pembuatan Simplisia daun kelor dan daun sengani (KLSG)

Pembuatan simplisia yang pertama dengan pengumpulan daun, memetik daun pada tanaman, selanjutnya sortasi basah untuk memisahkan daun dari pengotor-pengotor serta pembawa yang menempel pada daun. Pencucian pada air mengalir dan bersih yang berguna untuk menghilangkan tanah yang menempel pada daun. Pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, dikarenakan pencucian satu kali dapat menghilangkan 25% jumlah mikroba awal, dan jika pencucian dilakukan tiga kali maka mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Depkes RI, 2010). Perajanaan simplisia dengan tujuan untuk mempermudah pengeringan. Biasanya pada daun dilakukan untuk menghilangkan batang daun. Pengeringan dapat menggunakan oven maupun diangin-anginkan pada suhu kamar. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan pengotor atau benda asing dari simplisia kering. Penyimpanan simplisia pada wadah kedap udara dan tidak lembab. Selanjutnya menyerbuk simplisia menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan ayakan nomor 80 (Depkes RI, 2008). Selanjutnya, dilanjutkan dengan pembuatan simplisia daun KLSG.

3.6.2.1 Pembuatan Simplisia Daun Kelor (KL)

Pembuatan simplisia daun kelor (KL) dengan menggunakan sinar matahari langsung dan dengan menggunakan pemanasan oven. Sebelum melakukan pengeringan, mencuci daun terlebih dahulu untuk memnersihkan dari pengotor yang menempel. Kemudian mengeringkan, pengeringan tanpa oven dilakukan dengan cara mengangin-anginkan pada suhu ruang untuk mengatasi kerusakan senyawa yang tidak tahan panas, sedangkan pengeringan dengan menggunakan oven dapat dilakukan dengan menggunakan suhu 40-50°C (Depkes RI, 2010). Menghaluskan daun dengan cara memblender kemudian mengayak dengan nomor ayakan 80, tujuan dari pengayakan adalah untuk mempermudah proses ekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang dapat bersentuhan dengan pelarut semakin luas (Putri, 2021).

3.6.2.2 Pembuatan Simplisia Daun Senggani (SG)

Pembuatan simplisia daun senggani (SG) dengan menggunakan sinar matahari langsung dan dengan menggunakan pemanasan oven. Sebelum melakukan pengeringan, terlebih dahulu mencuci daun yang berguna untuk membersihkan daun dari pengotor yang menempel. Kemudian mengeringkan daun, pengeringan tanpa oven dengan cara mengangin-anginkan pada suhu ruang untuk mengatasi kerusakan senyawa yang tidak tahan panas, sedangkan pengeringan dengan menggunakan oven dapat menggunakan suhu 40-50°C (Depkes RI, 2010). menghaluskan atau menyerbuk daun yang sudah kering dengan cara memblender yang selanjutnya dilanjutkan dengan proses mengayak dengan nomor ayakan 80, tujuan dari pengayakan adalah untuk mempermudah proses ekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang dapat bersentuhan dengan pelarut semakin luas (Sapitri *et al.*, 2020).

3.6.3 Uji Susut Pengeringan

Uji susut pengeringan dilakukan dengan menimbang sampel basah kemudian sampel dikeringkan, setelah kering sampel ditimbang kembali untuk mengetahui beratnya. Hasil yang diperoleh antara penimbangan pertama dan penimbangan kedua tidak lebih dari 10%. Tujuan dilakukan uji susut pengeringan yaitu untuk mengetahui batas maksimal atau rentang banyaknya senyawa yang hilang ketika proses pengeringan berlangsung (Depkes RI, 2000). Persamaan susut pengeringan:

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{a-b}{a} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000)}$$

keterangan :

a = berat awal daun (g)

b = berat akhir daun (g)

3.6.4 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan simplisia serbuk seberat 5-10 g. selanjutnya serbuk simplisia dikeringkan selama 5 jam dalam oven dengan suhu 105 °C. Selanjutnya dilakukan pengeringan dan dilakukan

penimbangan dengan jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan menunjukkan selisih tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2000).

Tujuan dari uji kadar air simplisia yaitu untuk mengetahui batasan maksimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan, penghilangan kadar air hingga jumlah tertentu berguna untuk memperpanjang ketahanan bahan selama penyimpanan (Siswati, 2020). menurut Farmakope Herbal Indonesia kadar air simplisia sebaiknya lebih kecil dari 10,00%.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000).}$$

keterangan :

a = berat awal daun (g)

b = berat akhir daun (g)

3.6.5 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dengan metode maserasi harus menggunakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia, kecuali dinyatakan lain dalam monografi digunakan etanol 70% LP (larutan pereaksi). Maserasi dilakukan dengan memasukkan sebanyak 1 bagian serbuk kering simplisia kedalam maserator, kemudian menambahkan 10 bagian pelarut etanol 70%. Setelah dilakukan penyaringan rendemen pertama kemudian dilakukan pengulangan atau remaserasi (Depkes RI, 2011).

3.6.5.1 Pembuatan ekstrak Kelor (KL)

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Menimbang simplisia daun kelor sebanyak 500 g, selanjutnya memasukkan dalam bejana maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak masing-masing 5000 ml kemudian diaduk hingga semua simplisia terbasahi oleh pelarut. Penyimpanan larutan selama 5 hari dengan sesekali pengadukan. Setelah 5 hari menyaring larutan untuk mendapatkan maserat menggunakan kertas saring dan ditampung dalam *beaker glass* (Dima *et al.*, 2016). Filtrat yang diperoleh, dikumpulkan untuk penyarian berikutnya. Serbuk simplisia disari kembali menggunakan cairan penyari baru dengan jumlah yang sama seperti yang pertama, hal tersebut dilakukan berulang selama 5 hari. Filtrat yang dihasilkan dijadikan satu dan diendapkan selama 1 hari.

Setelah diempuk dan disaring, filtrat dikumpulkan dan dipekatkan sampai diperoleh ekstrak kental. Maserat yang telah diperoleh diuapkan dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Putri, 2021).

3.5.6.2 Pembuatan ekstrak Senggani (SG)

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Menimbang simplisia daun senggani sebanyak 500 g, selanjutnya memasukkan dalam bejana maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak masing-masing 5000 ml kemudian diaduk hingga semua simplisia terbasahi oleh pelarut. Penyimpanan larutan selama 5 hari dengan sesekali pengadukan. Setelah 5 hari menyaring larutan untuk mendapatkan maserat menggunakan kertas saring dan ditampung dalam *beaker glass* (Sapitri *et al.*, 2020). Filtrat yang diperoleh, dikumpulkan untuk penyarian berikutnya. Serbuk simplisia disari kembali menggunakan cairan penyari baru dengan jumlah yang sama seperti yang pertama, hal tersebut dilakukan berulang selama 5 hari. Filtrat yang dihasilkan dijadikan satu dan diempuk selama 1 hari. Setelah diempuk dan disaring, filtrat dikumpulkan dan dipekatkan sampai diperoleh ekstrak kental. Maserat yang telah diperoleh diuapkan dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 2000).

3.6.6 Pemeriksaan karakteristik ekstrak

3.6.6.1 Uji bebas etanol

Ekstrak daun senggani dan daun kelor di uji bebas etanol 70% dengan menggunakan uji kualitatif yaitu ekstrak ditambahkan 2 tetes H₂SO₄ pekat dan 1 ml larutan kalium dikromat, adanya kandungan etanol dalam ekstrak ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna mula-mula dari jingga menjadi hijau kebiruan (Adiningsih *et al.*, 2020).

3.6.6.2 Rendemen

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku. Semakin tinggi nilai hasil dari rendemen berarti nilai ekstrak yang dihasilkan semakin besar (Nahor *et al.*, 2020).

Rumus perhitungan persen rendemen yaitu :

Rendemen ekstrak (%) = $\frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot awal simplisia yang digunakan}} \times 100\%$ (Nahor *et al.*, 2020).

3.6.7 Skrining fitokimia

3.6.7.1 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara mencampurkan beberapa ml ekstrak dengan 5 ml etanol, kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan 1,5 g magnesium. Indikator positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah. Adanya perubahan warna dikarenakan methanol dapat melarutkan senyawa senyawa flavonoid (Akasia *et al.*, 2021).

Uji kadar flavonoid dilakukan dengan pembuatan larutan standar flavonoid, selanjutnya dilanjutkan dengan preparasi sampel dan penetapan kadar. Larutan standar yang digunakan sebagai pembanding adalah quarcetin. Pembuatan larutan standar yaitu dengan membuat larutan induk quarcetin 100 mg/L dengan cara melarutkan 10 mg quarcetin kedalam 100 ml aqua destilata yang selanjutnya akan dibuat konsentrasi 1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L, dan 50 mg/L (Tambe and Bhambar, 2014). Tahap selanjutnya yaitu penentuan kadar flavonoid dengan cara 1 ml supernatan ataupun standar ditambahkan 0,3 ml NaNO₂ 5% kemudian didiamkan selama 5 menit, lalu ditambahkan 0,3 ml Al₂Cl₃ 10% diamkan lagi selama 5 menit, tambahkan juga 2 ml NaOH 1 M dan diamkan selama 1 menit, jangan lupa ditambahkan aquadest sebanyak 10 ml kemudian ukur absorbansi menggunakan spektrofotometri pada 510nm yang kemudian dihitung menggunakan persamaan linier $y = a + b(x)$ (Tambe and Bhambar, 2014).

3.6.7.2 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan mencampurkan 2 ml ekstrak dengan ditambahkan 5 ml aquadest, dikocok hingga menghasilkan busa stabil, selanjutnya ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Indikator positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil (Putri, 2021). Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika

direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama (Sari and Sumadewi, 2020).

3.6.7.3 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara mencampurkan 2 ml ekstrak dengan FeCl_3 kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan H_2SO_4 , selanjutnya diamati perubahan warna yang terjadi. Indikator positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna kuning kecoklatan. Kondisi tersebut terjadi karena senyawa tanin bersifat polar sehingga dapat larut dalam metanol yang memiliki sifat polar juga, sehingga dapat terekstrak dengan baik (Akasia *et al.*, 2021).

3.6.7.4 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara mencampurkan 2 ml ekstrak ditambahkan dengan 2 ml HCl dan pereaksi meyer, diamati perubahan warna yang terjadi. Indikator positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna putih. Endapan putih yang dihasilkan setelah ekstrak ditambahkan pereaksi Meyer merupakan kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang memiliki pasangan electron bebas dan akan beraksi dengan ion logam K^+ dari pereaksi Meyer (Putri, 2021).

3.6.8 Pengujian Aktivitas Antibakteri

3.6.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dimaksudkan untuk menghilangkan semua jenis bakteri, protozoa, fungi, dan virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan menggunakan autoclav dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam Erlenmeyer dengan ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.6.8.2 Pembuatan Media

1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 ml *aqua destilata*, kemudian dipanaskan hingga larut sempurna dan mendidih. Selanjutnya media disterilkan dalam autoclav dengan suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan dalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Nutrient Agar (NA) sebanyak 0,4 gram dilarutkan dalam 20 ml aquades (20 g/1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Setelah itu dihomogenkan dengan stirer diatas penangas air sampai mendidih. kemudian didinginkan sampai suhu \pm 45-500C. Media dasar digunakan dalam pembuatan media pengujian sebagai lapisan dasar (Dima *et al.*, 2016).

2.1.6.3 Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan kombinasi ekstrak daun kelor dan daun senggani ditentukan berdasarkan uji pendahuluan. Berdasarkan penelitian Dima *et al.*, (2016) dengan konsentrasi ekstrak daun kelor 5%, 10%, 20%, 40%, dan 80%. Berdasarkan penelitian Putri (2021) ekstrak etanol daun kelor dengan pemberian dosis 36,4 mg/20 gBB mencit. Sedangkan menurut (Sapitri *et al.*, 2020) dengan konsentrasi ekstrak daun senggani 20%, 40%, 60% dan 80%. Kemudian dibuat perbandingan ekstrak kelor dan ekstrak senggani 1:2, 1:1, dan 2:1 dengan konsentasi 5%:10%, 5%:5%, 10%:5%, dengan konsentrasi larutan sampel dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 0,5 g dan dilarutkan dalam 5 ml pelarut. Pelarut yang digunakan adalah DMSO 5% (Maharani *et al.*, 2017).

2.1.6.4 Pembuatan Larutan Kontrol

1. Kontrol Positif

Kontrol positif dibuat dari sediaan obat kapsul kloramfenikol 250 mg. Satu kapsul kloramfenikol dibuka cangkang kapsulnya kemudian timbang serbuk dalam kapsul sebanyak 30 mg. Kemudian serbuk dilarutkan dalam DMSO 5% 5 mL (Kumayas *et al.*, 2015).

2. Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5% dibuat dengan cara menambahkan 5 ml pelarut DMSO dengan aqua destilata steril hingga diperoleh volume larutan 100 ml (Andriyawan, 2015).

2.1.7 Pembuatan Suspensi Bakteri

3.6.9.1 Biakan Bakteri *Escherichia coli*

Dua ose biakan bakteri *Escherichia coli* disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. 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) (Jawetz and Adelberg's, 2005).

3.6.9.2 Biakan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Dua ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. 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) (Jawetz and Adelberg's, 2005).

3.6.10 Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak Daun Kelor dan Daun Senggani


Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor dan daun senggani menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. ditambahkan ekstrak kombinasi dengan perbandingan (2:1, 2:2, 1:2) dengan total 10 ml ditambahkan pada masing-masing cakram sejumlah 10 mikroliter. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan ekstrak daun kelor dan daun senggani ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam kloramfenicol. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam DMSO 5%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Jayaprakash and Nagarajan, 2016).

3.6.11 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mistar berskala dengan satuan millimeter, yaitu dengan cara mengukur total zona bening cakram. Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah disekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik maupun bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji (Andriyawan, 2015).

Zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur diukur diameter vertical (DV) dan diameter horizontal (DH) dalam satuan milimeter (mm) dengan menggunakan jangka sorong (Pormes *et al.*, 2016).

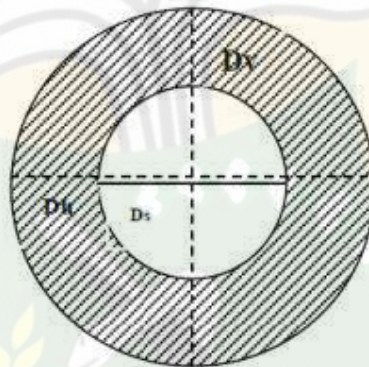
$$\text{Zona hambat} = \frac{Dv+Dh}{2} \quad (\text{Pormes } et \text{ al.}, 2016)$$

 = Zona hambat

DV = Diameter vertikal

DH = Diameter horizontal

DS = Diameter sumur



Gambar 3.1 Pengukuran diameter zona hambat (Pormes *et al.*, 2016)

Kekuatan bakteri dapat diklasifikasikan menjadi :

Tabel 3.1 kategori daya hambat bakteri (Sakul *et al.*, 2020).

Daya Hambat Bakteri	Kategori
≥ 20 mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

3.6.12 Analisis Hasil

Data hasil dari penelitian aktivitas antibakteri ekstrak kombinasi daun kelor dan daun senggani terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dianalisis dengan menggunakan program SPSS 28 dengan tujuan untuk melihat kemampuan ekstrak kombinasi daun kelor dan daun senggani dalam menghambat

bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan menggunakan tahapan berikut:

3.6.12.1 Uji Normalitas data

Uji normalitas data merupakan uji yang digunakan untuk mengukur apakah data yang digunakan mempunyai distribusi yang normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik (Muhid, 2010). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

H₀ : Data berdistribusi normal.

H₁ : Data berdistribusi tidak normal.

Pengambilan keputusan :

a. Jika $p > 0,05$: maka H₀ diterima

b. Jika $p \leq 0,05$: maka H₁ diterima

3.6.12.2 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:

H₀:data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

H₁:data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen

Pengambilan keputusan:

1) Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H₁ diterima

3.6.12.3 Uji One Way Anova

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak KLSG dengan variasi Perbandingan yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis:

H₀: Tidak ada pengaruh perlakuan dari beberapa perbandingan ekstrak KLSG terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

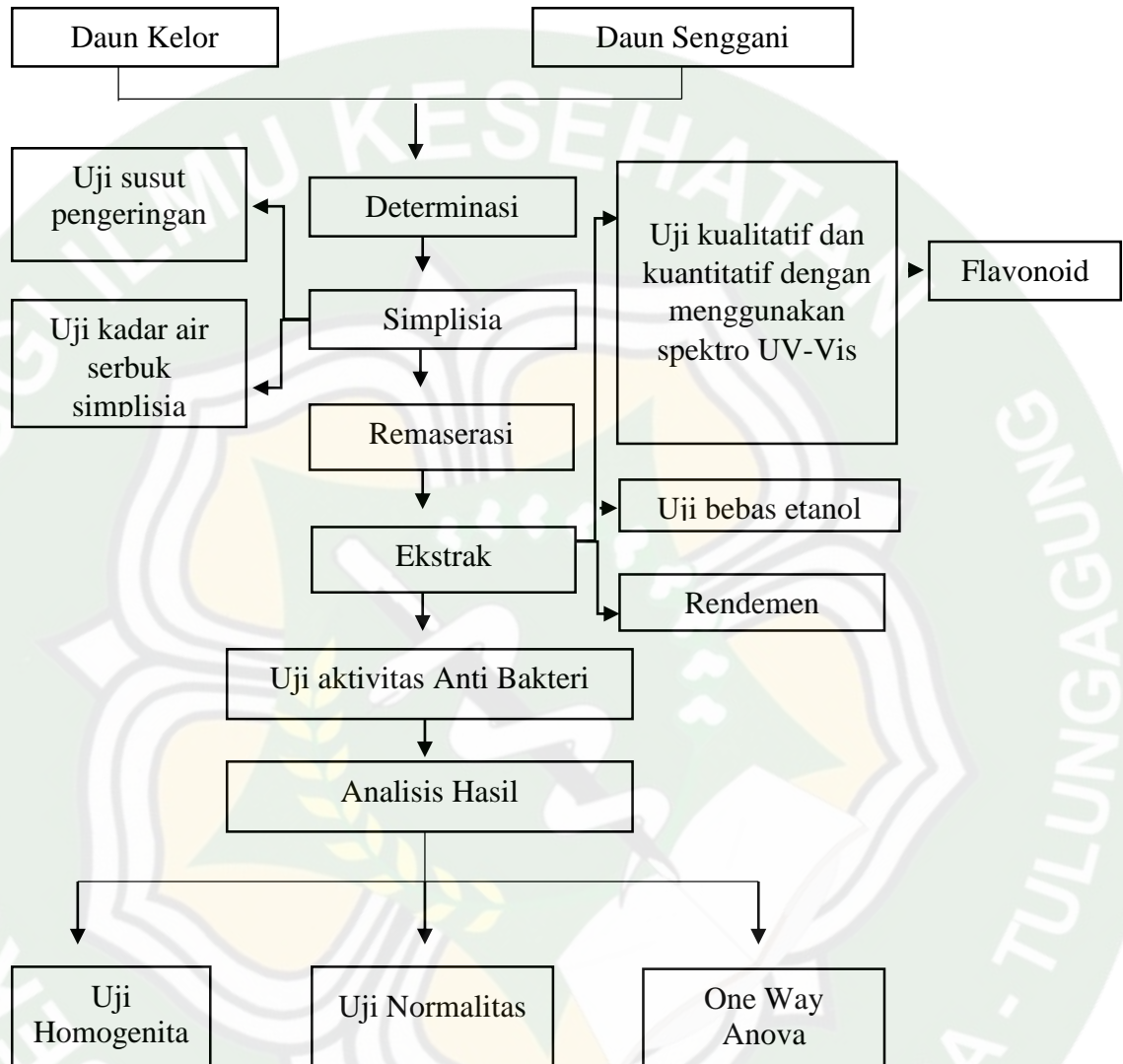
H₁: Ada pengaruh perlakuan dari beberapa perbandingan ekstrak KLSG terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Pengambilan keputusan:

1. Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima
2. Jika $p \leq 0,05$; maka H₁ diterima



3.6.13 Rancangan Penelitian



Gambar 3.2 Skema Kerangka Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman kelor dan senggani dilakukan di Materia Medica, Batu. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman kelor dan senggani. Kunci determinasi untuk kelor (*Moringa oliefera* Lamk.) adalah 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-209b-210b-211b-214a dengan nomor surat 074/049/102 7-A/2022 . Kunci determinasi untuk tanaman senggani (*Melastoma malabathricum* L.) adalah 1b-2b-3b-4b-6b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-24b-245b-246b-247bb dengan nomor determinasi 074/050/102 7-A/2022. Dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2. Hasil determinasi tersebut menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan memiliki morfologi yang sama dengan tanaman senggani dan kelor. Sehingga dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar tanaman senggani dan kelor.

4.2 Uji Karakteristik Ekstrak

4.2.1 Uji Susut Pengerinan

Uji susut pengerinan dilakukan dengan tujuan mengetahui batas maksimal atau rentang banyaknya senyawa yang hilang selama proses pengerinan berlangsung (Depkes RI, 2000).

Tabel 4.1. Uji Susut Pengerinan

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Kelor (<i>Moringa oliefera</i> , L.)	5000 g	1.730 g	65,4%
Daun Senggani (<i>Melastoma</i> <i>malabathricum</i> L.)	5000 g	1.670 g	66,6%

Keterangan : A = bobot awal simplisia sebelum dioven
B= bobot simplisia setelah dioven

$$\text{Rumus Uji Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000).}$$

Pada parameter susut pengeringan simplisia diperoleh hasil susut pengeringan daun kelor sebesar 65,4 % dan daun senggani sebesar 66,6%. Masa yang dapat hilang selama pengeringan yaitu meliputi molekul air dan minyak atsiri. Untuk perhitungan hasil uji susut pengeringan dapat dilihat pada Lampiran 7.

4.2.2 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air simplisia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui besarnya kadar air yang terdapat dalam simplisia, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Depkes RI, 2000). Kadar air dalam simplisia tidak lebih dan kurang dari sama dengan 10% (Depkes RI, 2008). Kadar air simplisia yang melebihi 10 % dapat menyebabkan simplisia mudah ditumbuhi mikroba dan dapat menurunkan stabilitas ekstrak (Utami *et al.*, 2017).

Tabel 4.2. Uji Kadar Air simplisia

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Kelor (<i>Moringa oliefera</i> , L.)	10,00 g	9,70 g	3%
Daun Senggani (<i>Melastoma malabathricum</i> L.)	10,00 g	9,42 g	5,7%

$$\text{Rumus Uji Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000).}$$

Keterangan : A = bobot awal simplisia sebelum dioven
B= bobot simplisia setelah dioven

Hasil uji kadar air simplisia (Tabel 4.2) memenuhi persyaratan yaitu sebesar 5,7% untuk simplisia daun senggani dan 3% untuk simplisia daun kelor. Kadar air yang sesuai dengan persyaratan Farmakope Herbal Indonesia sebesar kurang dari sama dengan 10% dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme sehingga simplisia akan bertahan lama selama penyimpanan (Utami *et al.*, 2017). Perhitungan kadar air serbuk simplisia dapat dilihat pada Lampiran 7.

4.2.3 Uji Rendemen Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan menggunakan metode maresai yang dilanjutkan dengan remaserasi. Selama proses maserasi atau perendaman dilakukan penggojokan setiap hari. Penggojokan dilakukan untuk menyeimbangkan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan serta menjaga adanya derajat konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan didalam dan diluar sel (Syamsul *et al.*, 2020).

Tabel 4.3. Uji Rendemen Ekstrak

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Kelor (<i>Moringa oliefera</i> , L.)	250 g	45g	18%
Daun Senggani (<i>Melastoma malabathricum</i> L.)	500 g	62 g	12,4 %

Hasil rendemen yang dihasilkan (Tabel 4.3) yaitu sebesar 18% untuk ekstrak daun kelor dan 12,4% untuk ekstrak daun senggani. Semakin tinggi nilai rendemen maka akan semakin besar pula ekstrak yang dihasilkan (Syamsul *et al.*, 2020). Kualitas ekstrak berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan mutu yang diperoleh semakin rendah (Nahor *et al.*, 2020).

4.2.4 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ekstrak yang dihasilkan terbebas dari pelarut etanol yang dimungkinkan dapat menimbulkan aktivitas antibakteri dari pelarut etanol tersebut (Adiningsih *et al.*, 2020). Uji hasil bebas menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak KLSG bebas etanol yaitu ditandai dengan tidak berubahnya ekstrak dari jingga menuju kehijauan.

Tabel 4.4. Hasil uji bebas etanol kombinasi ekstrak daun kelor dan daun kemuning

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> , L.)	H ₂ SO ₄ pekat + magnesium dikromat	+	Bebas etanol
Daun Senggani (<i>Melastoma malabathricum</i> L.)	H ₂ SO ₄ pekat + magnesium dikromat	+	Bebas etanol

Keterangan :

(+) tidak terjadi perubahan warna

(-) terjadi perubahan warna



(a)

(b)

Gambar 4.1. Uji Bebas Etanol

Keterangan : (a) uji bebas etanol ekstrak senggani

(b) uji bebas etanol ekstrak kelor

4.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalamnya. Senyawa kombinasi KLSG memiliki senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Hasil uji skrining fitokimia KLSG dapat dilihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Hasil skrining fitokimia kombinasi ekstrak kelor dan senggani

Identifikasi	Perlakuan	Hasil Uji	Keterangan
Flavonoid	Ekstrak + 5 ml etanol + 2 tetes HCl pekat + 0,1g Mg	Jingga	+
Saponin	2 ml ekstrak kental + 5 ml aquadest dikocok kuat + 1 tetes HCl 2 N	Busa stabil	+
Tanin	2 ml ekstrak + FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Alkaloid	2 ml ekstrak + 2 ml HCl + pereaksi meyer	Endapan	+

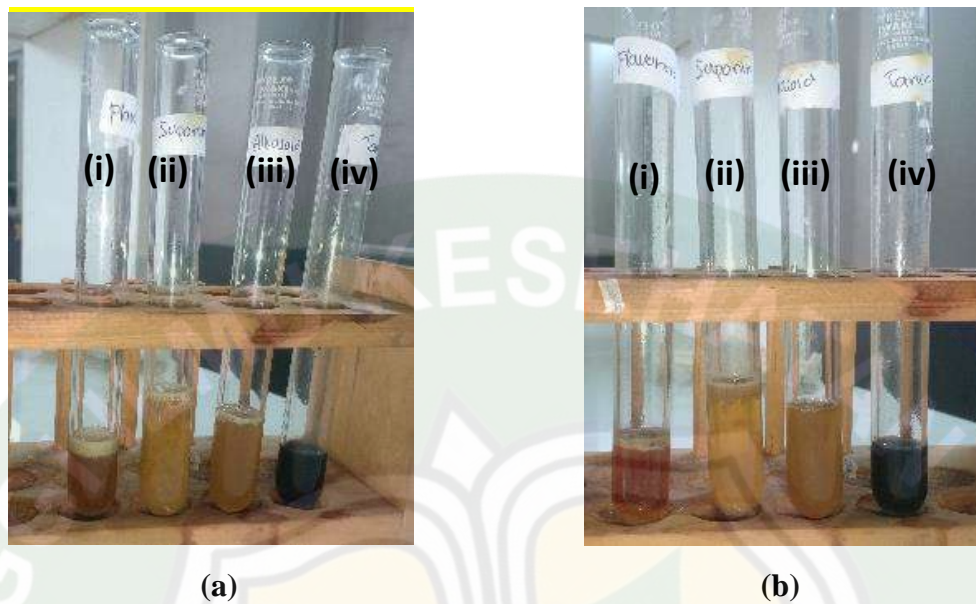
Keterangan : (+) terdapat senyawa
(-) tidak terdapat senyawa

4.3.1 Uji Flavonoid

Hasil uji flavonoid (Gambar 4.2) yaitu (+) mengandung flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Berdasarkan Riwanti and Izazih (2019) terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak. Apabila dalam suatu ekstrak terdapat senyawa flavonoid maka akan terbentuk garam flavilium saat penambahan Mg dan HCl yang berwarna merah atau jingga.

4.3.2 Uji Saponin

Hasil uji saponin (Gambar 4.2) yaitu (+) ditandai dengan terbentuknya busa stabil. Berdasarkan Putri (2021) busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa apabila dikocok. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama (Sari & Sumadewi, 2020).



Gambar 4.2 Hasil Skrining fitokimia

Keterangan : (a) hasil skrining fitokimia ekstrak sengani

(b) Hasil skrining fitokimia ekstrak kelor

- (i) flavonoid
- (ii) saponin
- (iii) alkaloid
- (iv) tanin

4.3.3 Uji Tanin

Hasil uji tanin pada ekstrak (Gambar 4.2) yaitu (+) mengandung tanin, dimana ditandai dengan terbentuknya warna hitam kebiruan pada ekstrak. Berdasarkan Riwanti and Izazih (2019) bahwa terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman pada ekstrak etanol setelah ditambahkan dengan FeCl_3 1% karena tanin akan bereaksi dengan Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks.

4.3.4 Uji Alkaloid

Hasil uji alkaloid pada ekstrak (Gambar 4.2) yaitu (+) mengandung alkaloid, hal ini ditunjukkan dengan adanya endapan dan larutan berwarna jingga. Berdasarkan Riwanti and Izazih (2019) menyatakan bahwa uji alkaloid dengan pereaksi meyer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalsium-alkaloid yang mengendap.

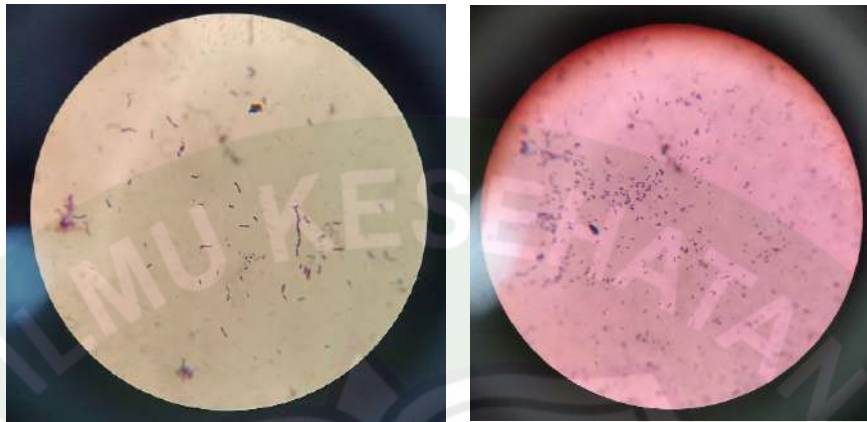
4.3.5 Skrining fitokimia UV-Vis

Spektrofotometri UV-VIS merupakan alat yang digunakan mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom suatu zat kimia pada daerah UV-VIS (DepKes RI., 1995). Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer yaitu, dapat mendeteksi panjang gelombang dari sinar putih dengan menggunakan alat seperti prisma, greting atau celah optis sebagai pengurai warna-warna, pada panjang gelombang tertentu di fotometer filter (Gandjar I., 2007). Prinsip dari spektrofotometri UV-VIS adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul didalam larutan dimana panjang gelombang yang ditransmisi oleh larutan sebagian energi cahaya akan diabsorbansikan (Nurul A., 2016).

Penetapan kadar senyawa ekstrak daun kelor dan senggani dilakukan di Universitas Brawijaya, Malang. Dalam proses pengujian kadar senyawa diperlukan larutan standar berupa kuarsetin untuk senyawa flavonoid. Larutan standar dibuat dalam lima seri konsentrasi, yaitu 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm dan 50 ppm. Hasil dari serapan yang diperoleh diplot, dimasukkan kedalam rumus persamaan kurva baku $y = ax + b$ dimana persamaan kurva baku flavonoid menjadi $y = 0,0137x + 0,0064$ untuk kelor dan $y = 0,0128x + 0,0064$ untuk senggani.

Nilai koefisien korelasi (r) merupakan nilai yang digunakan untuk mengetahui kuat, sedang atau lemahnya hubungan diantara variabel yang diteliti. Dimana nilai koefisien korelasi dikatakan sangat kuat apabila nilai (r) mendekati 1. Larutan standar yang digunakan memiliki hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi dengan hasil koefisien korelasi (r) sebesar 0,9961 untuk larutan standar kuarsetin. Kadar senyawa total flavonoid pada ekstrak daun kelor sebesar 23,93% dan untuk senggani sebesar 24,22%.

4.4 Identifikasi Bakteri



(a)

(b)

Gambar 4.3 Uji pewarnaan gram

Keterangan : (a) Pewarnaan *Escherichia coli*
 (b) Pewarnaan *Staphylococcus aureus*

Pada uji pewarnaan Gram ini dilakukan dengan mengambil sampel bakteri kemudian diberi cat Gram A, kemudian di bilas menggunakan aquades selanjutnya diberi cat Gram B dibilas lagi menggunakan aquadest lalu diberi cat Gram C dibilas dan yang terakhir di beri cat Gram D lalu dibilas kembali. Setelah kering kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bakteri biakan murni yang telah diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, Jawa Timur. Bakteri *Escherichia coli* yang digunakan memiliki kode ATCC 25922 yang disertai dengan sertifikat identifikasi bakteri (Lampiran 5). Sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan memiliki kode ATCC 25923 yang bersertifikat (Lampiran 6).

Uji pewarnaan ini dilakukan untuk memastikan kebenaran dari sertifikat yang telah tertera pada masing-masing bakteri. Hasil yang didapatkan pada pewarnaan gram menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* membentuk warna merah (Gambar 4.3) hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri ini memiliki bentuk batang. Sedangkan pada pewarnaan gram yang dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan warna ungu (Gambar 4.3). Warna ungu yang dibentuk menunjukkan bahwa bakteri ini tergolong bakteri Gram positif. Bakteri ini memiliki bentuk bulat yang

bergerombol. Perbedaan warna antara bakteri Gram positif dan Gram negatif disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri Gram positif dapat mempertahankan warna Kristal violet karena memiliki dinding sel yang lebih tebal dan peptidoglikan yang banyak, sehingga ketika proses pewarnaan gram berlangsung kristal violet tidak luntur dibilas dengan alkohol. Sedangkan pada bakteri Gram negatif ketika pencucian menggunakan alcohol warna kristal violet akan tercuci dan yang menempel hanya warna merah yang dihasilkan oleh safranin ketika pewarnaan terakhir (Nurhidayati *et al.*, 2015).

4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak KLSG

Uji ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi kampus STIKes Karya Putra Bangsa, Tulungagung. Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi kombinasi ekstrak KLSG sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In-vitro. Penelitian kali ini dilakukan kombinasi yang bertujuan untuk meningkatkan aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh masing-masing ekstrak (Maharani *et al.*, 2017).

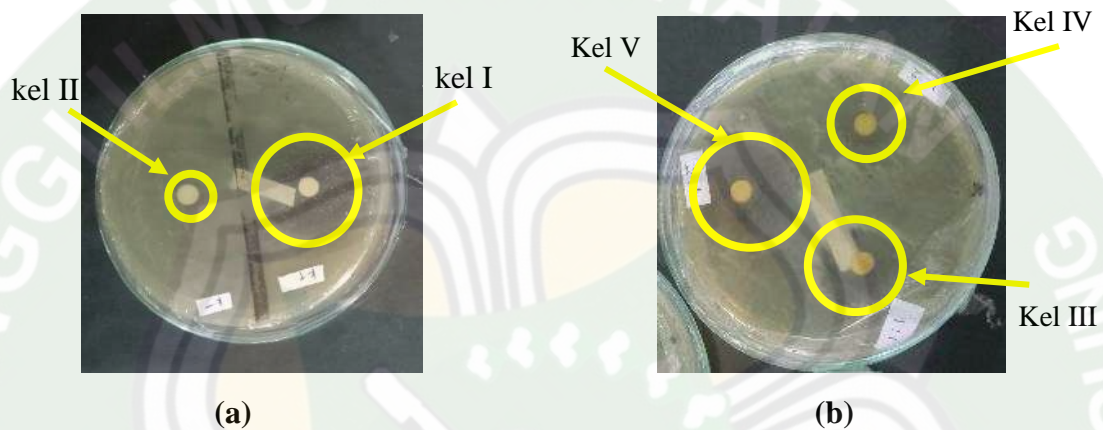
Tabel 4.5 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG terhadap bakteri *E. coli* dan *S.aureus*

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata	Kekuatan hambat
		I	II	III		
<i>Escherichia coli</i>	K+	36,5	34,5	32,5	34,5	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	1:1	11	10	11,5	10,3	Kuat
	1:2	12	16	18	15,3	Kuat
	2:1	12	11	16	13	Kuat
<i>Staphylococcus aureus</i>	K+	34,5	35	34,5	34,6	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	1:1	11	10	12,5	11,2	Kuat
	1:2	12,5	11	12,5	12	Kuat
	2:1	10,5	12	11,5	11,3	Kuat

Tabel di atas merupakan tabel hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil yang

di peroleh dari uji antibakteri di atas membuktikan bahwa ekstrak kombinasi KLSG memiliki aktivitas antibakteri yang kuat jika dibandingkan dengan kontrol positif berupa klorampenikol.

4.5.1 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak KLSG terhadap bakteri *Escherichia coli*



Gambar 4.4 Uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG terhadap bakteri *Escherichia coli*

Keterangan : (a) kontrol positif/negatif
 (a) Uji aktivitas antivakteri
 Kel I : kontrol positif
 Kel II: kontrol negative
 Kel III : perbandingan 1:1 (5% KL : 5% SG)
 Kel IV : perbandingan 1:2 (5% KL : 10%SG)
 Kel V : perbandingan 2:1 (10% KL : 5% SG)

Tabel 4.6 Tabel Uji Tukey subset ekstrak KLSG terhadap bakteri *Escherichia coli*

	Konsentrasi	N	Zona hambat		
			Subset for alpha = 0.05		
			Zona hambat ± SD		
			1	2	3
Tukey	kontrol negatif e. coli	3	0,00 ± 0		
HSD ^a	1:1 KLSG	3		10,83 ± 0,763	
	2:1 KLSG	3		13,00 ± 2,64	
	1:2 KLSG	3		15,33 ± 3,05	
	kontrol positif e. coli	3			34,50 ± 2
	Sig.		1,00	0,12	1,00

Uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG menggunakan kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1% menunjukkan adanya zona bening atau zona hambat sebesar 34,5mm (Gambar 4.4). Serta dibuktikan dengan hasil analisis statistic menggunakan SPSS 28 dimana nilai signifikan untuk uji normalitas data menggunakan shapiro-wilk sebesar 1,000 sehingga dapat dikatakan bahwa terdistribusi normal karena nilai sig ($p>0,05$). Selain itu pada uji homogenitas diperoleh nilai signifikan sebesar ,433 sehingga dapat dikatakan terdistribusi normal karena nilai sig ($p>0,05$). Zona hambat tersebut masuk dalam kategori sangat kuat. Berdasarkan tabel *post hoc* kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol negative maupun dengan perbandingan kombinasi ekstrak. Hal ini sesuai dengan mekanisme kerja kloramphenikol yaitu menghambat sintesis protein dan asam amino dari bakteri dengan cara menghambat peptidyl tranverase pada fase pemanjangan (Buulolo *et al.*, 2018). Sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menghasilkan zona hambat pada media pertumbuhan bakteri.

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO (*Dimetil Sulfoksida*) 5%, dikarenakan DMSO merupakan pelarut organik yang dapat melarutkan bahan organik dan bahan polimer secara efektif (Andriyawan, 2015). Penggunaan DMSO 5% sebagai kontrol negatif karena pelarut ini tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Huda *et al.*, 2019). Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat. Hal tersebut menunjukkan bahwa DMSO 5% tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri sehingga, aktivitas antibakteri hanya dihasilkan oleh larutan uji yang digunakan bukan dari pelarut. DMSO hanya bersifat sebagai pelarut yang melarutkan bahan organik dalam ekstrak serta tidak merusak dinding sel bakteri sehingga tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Huda *et al.*, 2019).

Uji antibakteri ekstrak KLSG digunakan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherihia coli*. Hasil yang diperoleh dari penelitian menghasilkan rata-rata zona hambat yaitu 1:1 sebesar 10,3 mm, 1:2 sebesar 15,3 mm dan 2:1 sebesar 13 mm. Dari ketiga perbandingan tersebut

masuk dalam kategori antibakteri yang kuat. Terlihat bahwa perbandingan 1:2 menghasilkan zona hambat paling besar, hal ini terlihat dari rata-rata zona hambat yang terbentuk yaitu 15,3 mm.

Data hasil penelitian yang telah didapatkan selanjutnya di uji statistic menggunakan SPSS 28 berupa uji *one way anova*. Sebelumnya diuji terlebih dahulu untuk memastikan data terdistribudi normal dan uji varians karena data harus homogen. Dari uji normalitas data menggunakan *shapiro-wilk* menunjukkan bahwa nilai signifikan yang diperoleh sebesar 0,637 untuk perbandingan 1:1, 0,637 untuk perbandingan 1:2, dan 0,363 untuk perbandingan 2:1, yang menunjukkan $p > 0,05$ yang artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan nilai signifikan 0,070 yang menunjukkan $p > 0,05$ artinya data dalam penelitian memiliki varian yang sama sehingga bias dilanjutkan untuk uji *one way anova*. Uji *one way anova* yang diperoleh sebesar $< 0,001$. Karena nilai $p < 0,05$ maka nilai rata-rata antar perbandingan berbeda bermakna.

Berdasarkan tabel *post hock* yang menunjukkan bilai $p < 0,05$ berarti data tersebut signifikan atau berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Uji *post hock* menunjukkan diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* untuk perbandingan 1:1 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan 1:2 dan 2:1, tetapi perbandingan 1:1 memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil uji untuk perbandingan 1:2 tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap perbandingan 1:1 dan 2:1, tetapi memiliki perbedaan bermakna terhadap kontrol positif dan negatif. Perbandingan 2:1 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan perbandingan 1:1 dan 1:2, sedangkan terhadap kontrol positif dan kontrol negatif memiliki perbedaan yang bermakna. Perbandingan yang memiliki zona hambat terbesar dan mendekati kontrol positif adalah perbandingan 1:2, hal ini dikarenakan pada konsentrasi tunggal ekstrak KLSG memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Semakin tinggi perbandingan yang dilakukan maka hasil zona hambat yang terbentuk semakin besar pula (Maharani *et al.*, 2017). Selain itu pada perbandingan ini ekstrak senggani memiliki aktivitas antibakteri lebih besar daripada ekstrak kelor. Selain itu metode ekstraksi yang digunakan juga cukup baik untuk mendapatkan ekstrak yang banyak mengandung senyawa metabolit

sekunder, serta senyawa antibakteri dari ekstrak KLSG dapat menembus kertas cakram dengan baik dan menghasilkan zona hambat yang baik. Sehingga menghasilkan zona hambat yang cukup besar.

Berdasarkan tabel subset (Tabel 4.7) menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak KLSG dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 berada dalam satu kolom yaitu berada pada kolom 2 artinya ketiga perbandingan tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* namun masih berbeda bermakna dengan kontrol positif. Dilihat dari tabel subset dan hasil rata-rata zona hambat yang terbentuk perbandingan 1:2 memiliki aktivitas antibakteri paling besar dan mendekati kontrol positif yang digunakan.

Ekstrak kombinasi KLSG memiliki senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel dari bakteri (Amalia *et al.*, 2017). Senyawa tanin memiliki mekanisme kerja mengkerutkan dinding sel sehingga mampu mengganggu permeabilitas sel dan dinding sel bakteri (Amalia *et al.*, 2017). Senyawa saponin memiliki mekanisme kerja mendenaturasi protein, dikarenakan zat aktif permukaan saponin mirip dengan deterjen sehingga bias digunakan sebagai antibakteri dimana tekanan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran dari bakteri dirusak (Sudarmi *et al.*, 2017). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme kerja antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Amalia *et al.*, 2017).

4.5.1 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak KLSG terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 4.5 Uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan : (a) kontrol positif/negatif
 (b) Uji aktivitas antibakteri
 Kel I : kontrol positif
 Kel II : kontrol negative
 Kel III : perbandingan 1:1 (5% KL : 5% SG)
 Kel IV : perbandingan 1:2 (5% KL : 10% SG)
 Kel V : perbandingan 2:1 (10% KL : 5% SG)

		zona hambat			
Konsentrasi		N	Subset for alpha = 0.05 Zona hambat ± SD		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	Kontrol s.aureus 1:1 KLSG	3	0,00 ± 0		
	2:1 KLSG	3		11,16 ± 1,25	
	1:2 KLSG	3		11,33 ± 0,76	
		3		12,00 ± 0,86	
	kontrol s.aureus	3			34,66 ± 0,28
Sig.			1,00	0,68	1,00

Tabel 4.7 Tabel uji Tukey subset ekstrak KLSG terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG menggunakan kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1% menunjukkan adanya zona bening atau zona hambat sebesar 34,6mm (Gambar 4.4). Serta dibuktikan dengan hasil analisis statistic menggunakan SPSS 28 dimana nilai signifikan untuk uji normalitas data menggunakan shapiro-wilk sebesar 1,000 sehingga dapat dikatakan bahwa terdistribusi normal karena nilai sig ($p>0,05$). Selain itu pada uji homogenitas diperoleh nilai signifikan sebesar ,475 sehingga dapat dikatakan terdistribusi normal karena nilai sig ($p>0,05$). Zona hambat tersebut masuk dalam kategori sangat kuat. Berdasarkan tabeol *post hock* kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol negative maupun dengan perbandingan kombinasi ekstrak. Hal ini sesuai dengan mekanisme kerja kloramphenikol yaitu menghambat sintesis protein dan asam amino dari barteri dengan cara menghambat peptidyl tranverase pada fase pemanjangan (Buulolo *et al.*, 2018). Sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menghasilkan zona hambat pada media pertumbuhan bakteri.

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO (*Dimetil Sulfoksida*) 5%, dikarenakan DMSO merupakan pelarut organik yang dapat melarutkan bahan organik dan bahan polimer secara efektif (Andriyawan, 2015). Penggunaan DMSO 5% sebagai kontrol negatif karena pelarut ini tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Huda *et al.*, 2019). Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat. Hal tersebut menunjukkan bahwa DMSO 5% tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri sehingga, aktivitas antibakteri hanya dihasilkan oleh larutan uji yang digunakan bukan dari pelarut. DMSO hanya bersifat sebagai pelarut yang melarutkan bahan organik dalam ekstrak serta tidak merusak dinding sel bakteri sehingga tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Huda *et al.*, 2019).

Uji antibakteri ekstrak KLSG digunakan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Sthaphylococcus aureus*. Hasil yang diperoleh dari penelitian menghasilkan rata-rata zona hambat yaitu 1:1 sebesar 11,16 mm, 1:2 sebesar 12,00 mm dan 2:1 sebesar 11,33 mm. Dari ketiga perbandingan tersebut masuk dalam kategori antibakteri yang kuat. Terlihat bahwa

perbandingan 1:2 menghasilkan zona hambat paling besar, hal ini terlihat dari rata-rata zona hambat yang terbentuk yaitu 12,00 mm.

Data hasil penelitian yang telah didapatkan selanjutnya di uji statistic menggunakan SPSS 28 berupa uji one way anova. Sebelumnya diuji terlebih dahulu untuk memastikan data terdistribudi normal dan uji varians karena data harus homogen. Dari uji normalitas data menggunakan *shapiro-wilk* menunjukkan bahwa nilai signifikan yang diperoleh sebesar 0,780 untuk perbandingan 1:1, 0,0 untuk perbandingan 1:2, dan 0,637 untuk perbandingan 2:1, yang menunjukkan $p > 0,05$ yang artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan nilai signifikan 0,067 yang menunjukkan $p > 0,05$ artinya data dalam penelitian memiliki varian yang sama sehingga bias dilanjutkan untuk uji *one way anova*. Uji *one way anova* yang diperoleh sebesar $< 0,001$. Karena nilai $p < 0,05$ maka nilai rata-rata antar perbandingan berbeda bermakna.

Berdasarkan tabel *post hock* yang menunjukkan bilai $p < 0,05$ berarti data tersebut signifikan atau berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Uji *post hock* menunjukkan diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* untuk perbandingan 1:1 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan 1:2 dan 2:1, tetapi perbandingan 1:1 memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil uji untuk perbandingan 1:2 tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap perbandingan 1:1 dan 2:1, tetapi memiliki perbedaan bermakna terhadap kontrol positif dan negatif. Perbandingan 2:1 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan perbandingan 1:1 dan 1:2, sedangkan terhadap kontrol positif dan kontrol negatif memiliki perbedaan yang bermakna. Perbandingan yang memiliki zona hambat terbesar dan mendekati kontrol positif adalah perbandingan 1:2, hal ini dikarenakan pada konsentrasi tunggal ekstrak KLSG memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Semakin tinggi perbandingan yang dilakukan maka hasil zona hambat yang terbentuk semakin besar pula (Maharani *et al.*, 2017). Selain itu pada perbandingan ini ekstrak senggani memiliki aktivitas antibakteri lebih besar daripada ekstrak kelor. Selain itu metode ekstraksi yang digunakan juga cukup baik untuk mendapatkan ekstrak yang banyak mengandung senyawa metabolit sekunder, serta senyawa antibakteri dari ekstrak KLSG dapat menembus kertas

cakram dengan baik dan menghasilkan zona hambat yang baik. Sehingga menghasilkan zona hambat yang cukup besar.

Berdasarkan tabel subset (Tabel 4.7) menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak KLSG dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 berada dalam satu kolom yaitu berada pada kolom 2 artinya ketiga perbandingan tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* namun masih berbeda bermakna dengan kontrol positif. Dilihat dari tabel subset dan hasil rata-rata zona hambat yang terbentuk perbandingan 1:2 memiliki aktivitas antibakteri paling besar dan mendekati kontrol positif yang digunakan.

Ekstrak kombinasi KLSG memiliki senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel dari bakteri (Amalia *et al.*, 2017). Senyawa tanin memiliki mekanisme kerja mengkerutkan dinding sel sehingga mampu mengganggu permeabilitas sel dan dinding sel bakteri (Amalia *et al.*, 2017). Senyawa saponin memiliki mekanisme kerja mendenaturasi protein, dikarenakan zat aktif permukaan saponin mirip dengan deterjen sehingga bias digunakan sebagai antibakteri dimana tekanan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membrane dari bakteri dirusak (Sudarmi *et al.*, 2017). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme kerja antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Amalia *et al.*, 2017).

Secara keseluruhan penelitian ini dengan berbagai konsentrasi dan pengulangan menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak KLSG memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat pada uji antibakteri. Hal tersebut dikarenakan kombinasi ekstrak KLSG memiliki senyawa metabolit sekunder yang diyakini dapat digunakan sebagai antibakteri seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kombinasi ekstrak KLSG memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*

aureus dengan perbandingan 1:1 (5%:5%), 1:2 (5%:10%), dan 2:1 (10%:5%) yang terbesar pada perbandingan 1:2 karena pada perbandingan ini senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid lebih banyak pada ekstrak senggani.

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan bakteri Gram negatif memiliki zona hambat yang lebih besar daripada Gram positif hal ini bertolak belakang dengan penelitian Lestari, dkk (2016) Uji aktivitas penghambatan antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*B. cereus*) lebih kuat dibandingkan bakteri Gram negatif (*E. coli*). Hal ini sesuai dengan sifat dinding sel yang dimiliki bakteri tersebut. Menurut Pelczar (1986) struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam. Sedangkan bakteri Gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. Siswandono (2000) menambahkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks akan menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.

Berdasarkan pada uraian di atas hasil yang diperoleh pada penelitian ini mungkin terjadi kesalahan pada metode yang dikerjakan, dimana seharusnya pada pengujian skrining fitokimia dengan menggunakan kombinasi berdasarkan perbandingan yang akan diuji, sedangkan pada penelitian ini hanya digunakan 1 perbandingan saja. Selain itu terjadinya kontaminasi ketika uji aktivitas antibakteri berlangsung. Ketika uji antibakteri saat penggoresan dimungkinkan ose yang digunakan tercemar dengan bakteri sebelumnya. Hal ini terjadi akibatkurangnya sterilisasi ketika pemansan ose berlangsung. Kontaminasi juga dimungkinkan terjadi ketika pembuatan media, ketika media agar dituang pada cawan petri dimungkinkan terdapat pengotor maupun bakteri lain yang ikut masuk dalam media, sehingga hasil yang diperoleh tidak sesuai dengan teori yang ada (Lestari *et al.*, 2016).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Kombinasi ekstrak KLSG memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang ada pada setiap perbandingan.
2. Kombinasi ekstrak KLSG mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona hambat kuat dan daya hambat tertinggi adalah ekstrak dengan perbandingan ekstrak 1:2 dengan diameter hambat *Escherichia coli* sebesar 15,3 mm dan diameter hambat *Staphylococcus aureus* sebesar 12 mm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik beberapa saran seperti:

1. Perlunya dilakukan pemurniaan ekstrak untuk mendapatkan ekstrak yang lebih murni agar mendapatkan zona hambat yang lebih baik.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode lain, agar diperoleh zona hambat yang lebih baik.
3. Pada proses penguapan ekstrak sebaiknya menggunakan rotary evaporator agar hasil ekstrak lebih baik.
4. Dilakukan uji kuantitatif dengan LC-MS

DAFTAR PUSTAKA

- Adiningsih, W., Vifta, R. L., & Yuswantina, R. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Etanol 96% Buah Strawberry (*Fragaria x ananassa*.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Artikel Farmasi*, 1–8. <http://www.akrabjuara.com/index.php/akrabjuara/article/view/919>
- Akasia, A. I., Nurweda Putra, I. D. N., & Giri Putra, I. N. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora apiculata* yang Dikoleksi dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal of Marine Research and Technology*, 4(1), 16. <https://doi.org/10.24843/jmrt.2021.v04.i01.p03>
- Aksara, R., Musa, W. J. A., & Alio, L. (2013). Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Entropi*, 8(1), 514–519.
- Amalia, A., Sari, I., & Nursanty, R. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumeabalsamifera*(L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 387–391.
- Amin, L. Z. (2015). Tatalaksana Diare Akut. *Cdk-230*, 42(7), 504–508.
- Aminah, S., Ramdhan, T., & Yanis, M. (2015). Syarifah Aminah et. al.: Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*). *Buletin Pertanian Perkotaan*, 5(30), 35–44.
- Andriyawan, F. (2015). uji aktivitas ekstrak etanol daun cengkodok (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 11–13.
- Arifa, N., & Periadnadi. (2018). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Segar Tumbuhan Sikaduduak (*Melastoma malabathricum* Linn.). *Jurnal Metamorfosa*, 5(2), 29–34. <http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

- Aulani, F. N. (2019). Cara BPOM Memastikan Keamanan Obat Tradisional di Masyarakat. *Farmasetika.Com (Online)*, 3(2), 30–32. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v3i2.21620>
- Basailin, M., Agrina, & Zulfitri, R. (2018). Hubungan Durasi Riwayat Pemberian ASI Terhadap Kejadian Diare Pada Bayi. *JOM FKp*, 5(2), 98–104.
- Berawi, K. N., Wahyudo, R., & Pratama, A. A. (2019). Potensi terapi moringa oleifera (Kelor) pada penyakit degeneratif. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 3(1), 210–214. <http://repository.lppm.unila.ac.id/20716/1/2229-2949-1-PB.pdf>
- Buulolo, N. T. ., Natali, O., Nasution, S. W., Nasution, S. L. R., Zendrato, A., & Nasution, A. N. (2018). UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI *Eshcerichia coli* TERHADAP BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria Macrocarpa*) DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*) DAN PARIA (*Momordia charantina*). *Scientia Journal*, 7(2), 159–168.
- Darma, W., & Marpaung, M. P. (2020). Analisis jenis dan kadar saponin ekstrak akar kuning secara gravimetri. *Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 3(1), 51–59. <https://ojs.uniska-bjm.ac.id/index.php/daltonjurnal/article/view/3109/2186>
- Dima, L. L. R. H., Fatimawali, & Lolo, W. A. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmacn*, 5(2), 282–289. <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.12273>
- Eka Putri, A. (2021). UJI AKTIVITAS ANTIDIARE KOMBINASI EKSTRAK DAUN KELOR Jack) YANG DIINDUKSI OLEUM RICINI PADA MENCIT JANTAN (Antidiare Activity Test Combination Of Moringa Leaf Extract (*Moringa Oleifera , L*) And Yellow (*Murraya Paniculata (L .)* Jack) Leaves Induced. *Journal of Current Pharmaceutical Science*, 5(1), 395–399.
- Emelia, R., Dwiyanti Safitri, D., & Andriyani, H. (2013). DAUN KELOR(*Moringa*

oleifera) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP INFEKSI BAKTERI *Escherichia coli*. *INFOKES*, 44–50.

Evifania, R. D., Apridamayanti, P., & Sari, R. (2020). Uji parameter spesifik dan nonspesifik simplisia daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal Cerebellum*, 5(4A), 17. <https://doi.org/10.26418/jc.v6i1.43348>

Fauzi, R., Fatmawati, A., & Emelda, E. (2020). Efek Antidiare Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Pada Mencit Putih Jantan. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 6(1), 35–39. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.006.01.6>

Febriza, M. A., Adrian, Q. J., & Sucipto, A. (2021). Penerapan AR dalam Media Pembelajaran Klasifikasi Bakteri. *Jurnal Program Studi Pendidikan Biologi*, 11(1), 11.

Fidyasari, A., Sari, R. M., & Raharjo, S. J. (2017). Identifikasi Komponen Kimia pada Umbi Bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) sebagai Pangan Fungsional. *Amerta Nutrition*, 1(1), 14. <https://doi.org/10.20473/amnt.v1i1.2017.14-21>

Ghazali, I. (2011). *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS19*. BP Universitas Diponegoro.

Gloria, Y., Delfina, D., & Bachtiar, Y. (2019). EFFECTIVITY TEST ANTIBACTERIAL SENGGANI LEAF (*Melastoma candidum*) ON BACTERY *Streptococcus mutans*. *JURNAL BIOSAINS*, 5(1), 31–37. <https://doi.org/10.24114/jbio.v5i1.12333>

Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>

Huda, C., Putri, A. E., & Sari, D. W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari

Maserat. *Jurnal SainHealth*, 3(1), 9–12.

Isnain, W., & M, N. (2017). Ragam Manfaat Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Bagi Masyarakat. *Info Teknis EBONI*, 14(1), 63–75.

Kumayas, A. R., Wewengkang, D. S., & Sudewi, S. (2015). Aktifitas Antibakteri Dan Karakteristik Gugus Fungsi Dari Tunikata Polycarpa Aurata. *Pharmacoin*, 4(1), 32–44. <https://doi.org/10.35799/pha.4.2015.6481>

Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management*, 5(2), 187–198. <https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>

Kusumowati, I. T. D., Melannisa, R., & Prasetyawan, A. (2014). DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SENGGANI (*Melastoma affine* D. Don). *Biomedika*, 6(2), 22–25. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v6i2.278>

Lestari, Y., Ardiningsih, P., & Nurlina. (2016). AKTIVITAS ANTIBAKTERI GRAM POSITIF DAN NEGATIF DARI EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN NIPAH (*Nypa fruticans* Wurmb.) ASAL PESISIR SUNGAI KAKAP KALIMANTAN BARAT. *Jkk*, 5(4), 1–8.

Mafazah, L. (2019). Ketersediaan sarana sanitasi dasar, personal hygiene ibu, dan kejadian diare. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(2), 176–182. <https://doi.org/10.31219/osf.io/ekfd4>

Maharani, M. D., Gama, S. I., & Masruhim, M. A. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) dan Daun Salam (*Syzygium polyanthun* Walp). *Mulawarman Pharmaceutical Conference*, 48–53.

Malangngi, L., Sangi, M., & Paendong, J. (2012). Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.423>

- Mukhtarini. (2011). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal of Pharmacy*, VII(2), 361.
- Nahor, E. M., Rumagit, B. I., YTu, H., & Kesehatan Kemenkes Manado, P. (2020). Comparison of the Yield of Andong Leaf Ethanol Extract (*Cordyline fruticosa* L.) Using Maceration and Soxhletation Extraction Methods. *Journal Poltekkes Manado*, 1(1), 40–44.
- Ningrum, R., Purwanti, E., & Sukarsono. (2016). Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) Sebagai Bahan Ajar Biologi Retno Ningrum et al ., Identifikasi Senyawa Alkaloid Indonesia merupakan Negara dengan kekayaan alam yang melimpah . Hampir segala jenis tumbuhan da. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3), 231–236. <https://media.neliti.com/media/publications/118168-ID-none.pdf%0Ahttp://eprints.umm.ac.id/20887/>
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2014). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Eksata: Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 19–29.
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). KANDUNGAN SENYAWA FLAVONOID DAN ANTOSIANIN EKSTRAK KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.) SERTA AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(2), 216–225. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i02.p12>
- Nurhayat, N., Yuliar, Y., & Marpaung, M. P. (2020). Analisis Efek Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Kemenkes Ri Pangkalpinang*, 8(1), 17. <https://doi.org/10.32922/jkp.v8i1.115>
- Nurhidayati, S., Faturrahman, F., & Ghazali, M. (2015). DETEKSI BAKTERI PATOGEN YANG BERASOSIASI DENGAN *Kappaphycus alvarezii* (Doty) BERGEJALA PENYAKIT ICE-ICE. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(2), 24–30. <https://doi.org/10.29303/jstl.v1i2.53>

- Nurzaman, F., Djajadisastra, J., & Elya, B. (2018). Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 85–93. <https://doi.org/10.22435/jki.v8i2.325>
- Oktavia, J. D. (2011). *Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (Syzygium polyanthum) dan Analisis Sidik Jari Dengan Kromatografi Lapis Tipis, Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Poernomo, H., Setiawati, M., Hadisaputro, S., Budhi, K., & Adi, M. S. (2016). Faktor Risiko Kejadian Diare Akut pada Anak Balita (Studi Epidemiologis di Puskesmas Baamang Unit I Kabupaten Kotawaringin Timur). *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*, 1(2), 77–82. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jekk/article/view/3946>
- Pormes, O., Pangemanan, D. H. C., & Leman, M. A. (2016). Uji daya hambat ekstrak daun bayam petik (*Amaranthus hybridus* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *E-GIGI*, 4(2). <https://doi.org/10.35790/eg.4.2.2016.14452>
- Rahayu, L., Dewi, R. S., & Ayu, G. (2016). Uji Efek Anti-Inflamasi dan Analgesik Infusa Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L .) (Anti-Inflammation and Analgesic Test Effect of Senggani Leaves (*Melastoma malabathricum* L .) Infusion. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 14(1), 93–98.
- Rahmawati, E. (2018). Efektivitas Manajemen Diare di Tatanan Rumah Tangga dalam Meningkatkan Pengetahuan dan Keterampilan Penanganan Diare Anak. *Jurnal Keperawatan Soedirman*, 12(2), 127. <https://doi.org/10.20884/1.jks.2017.12.2.737>
- Riwanti, P., & Izazih, F. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% *Sargassum polycystum* dan Profile dengan Spektrofotometri Infrared. *Acta Holistica Pharmacia*, 2(1), 34–41.

- Sakul, G., Simbala, H. E. I., & Rundengan, G. (2020). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Pangi (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmakon*, 9(2), 275. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.29282>
- Santosa, H., Sari, W., & Handayani, N. A. (2018). Ekstraksi Saponin Dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik Suatu Usaha Untuk Mendapatkan Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(2). <https://doi.org/10.31942/inteka.v3i2.2484>
- Sapitri, A., Lara, N., & Sitorus, P. (2020). Antibacterial Activity Test of the Ethanol in Leaves Extract of Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 6(2), 139–152. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v6i2.1766>
- Sari, Nikma Kumala, Lukito, A., & Astria, A. (2017). Hubungan Pengetahuan Ibu tentang Diare dengan Kejadian Diare pada Anak 1-4 Tahun di Wilayah Puskesmas Pekan Bahorok. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Ibnu Sina*, 25(4), 1–11.
- Sari, N. K. Y., & Sumadewi, N. L. U. (2020). Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*). *Sintesa*, 301–304. <https://www.undhirabali.ac.id/jurnal/index.php/sintesa/article/download/1265/1111>
- Seko, Mami H., Sabuna, A. C., & Ngginak, J. (2021). Ekstrak Etanol Daun Ajeran sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biosains*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.24114/jbio.v5i2.13984%0AISSN>
- Simamora, S., Sarmadi, Rulianti, M. R., & Suzalin, F. (2021). Pengendalian Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik Melalui Pemberdayaan Perempuan Dalam Kelompok Masyarakat. *Jurnal Abdikemas*, 3(1), 12–20.
- Siswati. (2020). Analisa Kadar Air dan Kadar Abu pada Simplisia Temu Giring

(*Curcumae heyneana*) dan *Simplisia Kunyit (Curcumae domestica)* di Balai Riset dan Standarisasi Industri Medan. *Tugas Akhir Program Studi D3 Analisis Farmasi Dan Makanan*, 1–35.

Sudarmi, K., Darmayasa, I. B. G., & Muksin, I. K. (2017). Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *SIMBIOSIS Journal of Biological Sciences*, 5(2), 47. <https://doi.org/10.24843/jsimbiosis.2017.v05.i02.p03>

Suhendar, U., Utami, N. F., Sutanto, D., & Nurdayanty, S. M. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83. <https://doi.org/10.33751/jf.v10i1.2069>

Sukmawati, I. K., Yulinah Sukandar, E., & Fisher Kurniati, N. (2020). Aktivitas Antidiare Daun Harendong (*Malestoma malabathricum* L.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 2(1), 39–48. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v2i1.2674>

Suliska, N., E, T. D., & Herlinda, H. (2019). Efek Antidiare Infusa Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster yang diinduksi *Oleum ricini*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(2), 126. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i2.733>

Suryelita, Etika, Sri Benti, & Kurnia, Nivi Suci. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid dari Daun Cemara Natal (*Cupressus funebris* Endl.). *Eksakta*, 18(1), 87–94. http://clpsy.journals.pnu.ac.ir/article_3887.html

Sutiknowati, L. I. (2016). “Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*.” *Jurnal Oseana*, 41(4), 63–71. oseanografi.lipi.go.id

Syamsul, E. S., Anugerah, O., & Supriningrum, R. (2020). Penetapan Rendamen

Ekstrak daun Jambu Mawar Determination of Mawar Jambu Leaf Extract (Syzygium. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 147–157.

Tambe, V. D., & Bhambar, R. S. (2014). Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in Hibiscus Tiliaceus Linn. Wood Extracts. *Research and Reviews: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4), 41–47.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *INTERNATIONALE PHARMACEUTICA SCIENCIA*, 1(1), 98–106. <https://doi.org/10.1002/hep.29375>

Tri Wahyuni, N. (2021). FAKTOR RISIKO KEJADIAN DIARE PADA BALITA SYSTEMATIC REVIEW BIDANG KESEHATAN MASYARAKAT. *Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 8(September), 270–278.

Ulfa, R. (2019). Variabel Dalam Penelitian Pendidikan. *Jurnal Teknodik*, 6115, 196–215. <https://doi.org/10.32550/teknodik.v0i0.554>

Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrani, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (Clerodendrum. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.

Wahyulianingsih, W., Handayani, S., & Malik, A. (2016). PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAUN CENGKEH (Syzygium aromaticum (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 188–193. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.221>

Wilantari, P. D. (2018). Isolasi Kafein Dengan Metode Sublimasi Dari Dengan Fraksi Etil Asetat Serbuk Daun Camelia Sinensis. *Jurnal Farmasi Udayana*, 8(1), 53. <https://doi.org/10.24843/jfu.2018.v07.i02.p03>

WL ragil, D., & PS dyah, Y. (2017). Hubungan Antara Pengetahuan Dan Kebiasaan Mencuci Tangan Pengasuh Dengan Kejadian Diare Pada Balita Di Kelurahan Bandarharjo. *Journal of Health Education*, 2(1), 39–46. <https://doi.org/10.15294/jhe.v2i1.13867>

wulan sari, S. (2019). Inovasi Pemberian Madu Untuk Menurunkan Frekuensi Bab Pada Anak Dengan Diare Di Wilayah Kabupaten Magelang. *Karya Tulis Ilmiah*, 4–11.

Yulianto, S. (2020). Identifikasi Alkaloid Daun Kelor (*Moringa oleifera* L). *Jurnal Kebidanan Dan Kesehatan Tradisional*, 5(1), 55–57.
<https://doi.org/10.37341/jkkt.v5i1.136>


Zein, U. (2004). Diare Akut Infeksius Pada Dewasa. *Universitas Stuttgart*, 1–8.
<https://www.mendeley.com/catalogue/543c724d-2cc1-3291-bb4e-a0746daabdbc/>

Zein, U., Sagala, khalid huda, & Ginting, J. (2004). Diare Akut Disebabkan Bakteri. *Universitas Stuttgart*, 1–15.



Lampiran 1. Hasil determinasi Kelor *Moringa oleifera* L.

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/049/102.7-A/2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Kelor**

Memuhi permohonan saudara :

Nama : MITA ULY ANDINI
NIM : 1813206016
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman kelor

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Sub kelas	: Dilleniidae
Bangsa	: Capparales
Suku	: Moringaceae
Marga	: Moringa
Jenis	: <i>Moringa oleifera</i> Lamk.
Nama Daerah	: Kelor (Indonesia, Jawa, Sunda, Bali, Lampung), Kerol (Baru), Maranghi (Madura), Molong (Flores), Kelo (Gorontalo), Keloro (Bugis), Kawano (Sumba), Ongge (Bima), Hau fo (Timor).
Kunci determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-209b-210b-211b-214a:Moringaceae-1.M.oleifera

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi ≈ 8 m. Batang: Berkayu, bulat, berenang, berbintik hitam, putih kotor. Daun: Majemuk, panjang 20-60 cm, anak daun bulat telur, tepi rata, ujung berlekuk, menyirip ganjil, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk malai, letak di ketiak daun, panjang 10-30 cm, daun kelopak hijau, benang sari dan putik kecil, mahkota putih, putih. Buah: Polong, panjang 20-45 cm, berisi 15-25 biji, cangkang kelhitaman. Biji: Bulat, bersayap tiga, hitam. Akar: Tunggang, putih kotor.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 20 Januari 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU


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

Lampiran 2. Hasil Determinasi Senggangi *Melastoma malabathricum*

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU**

Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 - 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id

Nomor : 074/050/102.7-A/2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Senggangi**

Menerima permohonan saudara :

Nama : MITA ULY ANDINI
NIM : 1813206016
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman senggangi

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Myrtales
Suku : Melastomaceae
Marga : Melastoma
Jenis : *Melastoma malabathricum* L.
Sinonim : *M. affine* D. Don = *M. candidum* D. Don = *M. corakvict* H. Lev. & Vainot = *M. eugenioides* H. Lev. = *M. mense* D. Don = *M. polyanthum* Blume
Nama umum : Senduduk (Sumatera), harendong (Sunda), kluruk, senggangi (Jawa), keméndan (Madura)

Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-245b-246b-247b: Melastomataceae-1b: Melastoma-2a: *Melastoma malabathricum*


2. Morfologi
perkebangan simpodial, coklat. Daun tunggal, bulat telur, panjang 2-20 m, lebar 1-8 cm, berhadapan, ujung dan pangkal runcing, tepi rata berbulu, hijau. Bunga majemuk, ketopak berlekatan, berbulu, bagian ujung pendek dari pangkal, ujung meruncing, daun pelindung berbulu, ungu kemerahan, benang sari 8-12, panjang >3 cm, merah muda, putik satu, kepala putik berbulu hijau, bakal buah beruang 4-6, mahkota lima, bulat telur, ungu. Buah: buni, bulat telur, merah. Biji: kecil, merah. Akar: tunggang, coklat.

3. Bagian yang digunakan : Daun.
4. Penggunaan : Penelitian.
5. Daftar pustaka
• Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: anak Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 20 Januari 2022

KEPAJABATAN UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU


ACHMAD MAHRUR, SKM, M.Kes
Pembina
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

1. Pembuatan simplisia dan ekstrak kental



Simplisia kering daun kelor dan daun sengani



Serbuk kelor dan kemuning



Penyaringan



Ekstrak kental


2. Skrining fitokimia




3. Uji bebas etanol



Lampiran 4. Identifikasi bakteri *Escherichia coli*


KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
Jalan Karamanjaya No. 18 Surabaya - 60201
 Telepon Pelayanan : (031) 502016, (031) 8371 901431, Ekstensi : (031) 502658
 Website : balaikekes@surabaya.go.id, balaikekesykn.go.id



Surabaya, 22 April 2022

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :


Nama : Mts Uly Andini
 Instansi : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 04 April 2022
 Keperluan : Penelitian skripsi dengan judul, "Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L.) dan Ekstrak Daun Seenggani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*."



Keterangan jenis strain

Bakteri : *Escherichia coli*
 ATCC : ATCC 25922
 Passage : #4

Hasil Uji Biokimia bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 :

NO	JENIS UJI	HASIL	
1	Pengobatan Gram	Gram negatif batang	
2	KIA	Larung	Acid
		Dasar	Acid
		Gas	Positif
		H ₂ S	Negatif
3	Glukosa	Positif, Gas Positif	
4	Laktosa	Positif, Gas Positif	
5	Maltosa	Positif, Gas Positif	
6	Manrosa	Positif, Gas Positif	
7	Sukrosa	Negatif	
8	Injoli	Positif	
9	Methyl Red	Positif	
10	Voges Proskauer	Negatif	
11	Simon Citrat	Negatif	
12	Urease	Negatif	
13	Motility	Positif	
14	Lysin Decarboxilase	Positif	

Manager Teknis

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

Lampiran 5. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
 BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
Jalan Katangrabangan No. 18, Sushawa - 60296
 Telpun Pelayanan : (031) 5003000, TIF : (031) 5021431; Faksimili : (031) 5003000
 Website : info.surabaya.kemkes.go.id; Email : info.kemkes@kemkes.go.id



Surabaya, 22 April 2022

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Mita Uly Andini
 Instansi : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 04 April 2022
 Keperluan : Penelitian skripsi dengan judul, "Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L.) dan Ekstrak Daun Senggang (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*"

Keterangan jenis strain
 Bakteri : *Staphylococcus aureus*
 ATCC : ATCC 25923
 Passage : #3

Hasil Uji Biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

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

Manajer Teknis

 dr. Titiek S, M.Ked Klin, Sp.MK
 NIP. 196207262010122002



Manajemen
Sistem
ISO 9001:2015



Lampiran 6. Proses pembiakan bakteri dan uji aktivitas antibakteri

1. Pembiakan bakteri

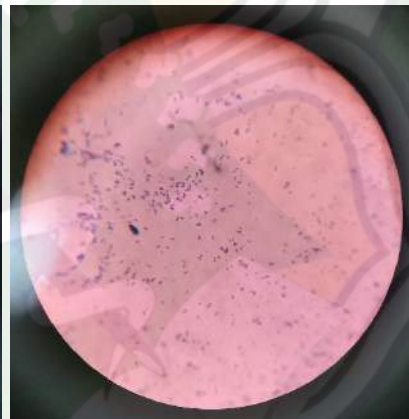
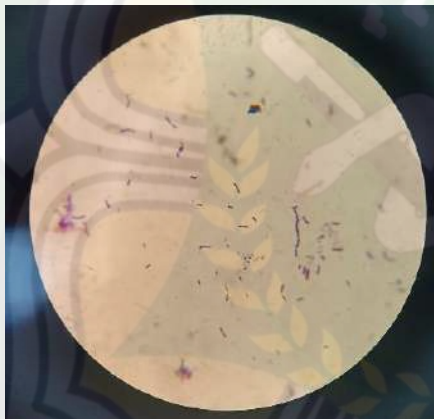


Peremajaan bakteri



Suspense bakteri

2. Identifikasi bakteri



Pewarnaan gram

3. Uji antibakteri ekstrak KLSG terhadap bakteri e.coli dan s.aureus



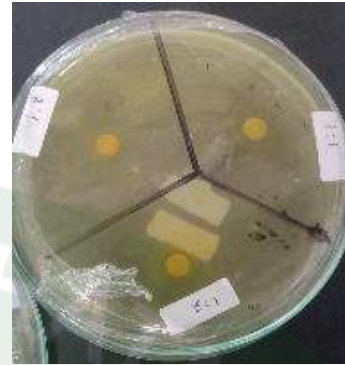
Replikasi kontrol +/- e.coli



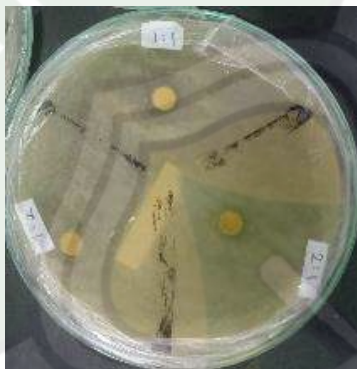
Replikasi kontrol +/- s.aureus



Replikasi 1 e.coli



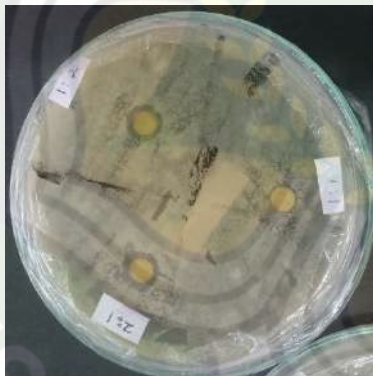
Replikasi 1 s.aureus



Replikasi 2 e.coli



Replikasi 2 s.aureus



replikasi 3 e.coli



Replikasi 3 s.aureus

Lampiran 7. Perhitungan

1. Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{\text{mr}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 20 \text{ ml} \\ &= 0,16 \text{ g}\end{aligned}$$

2. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{\text{mr}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 480 \text{ ml} \\ &= 9,6 \text{ g}\end{aligned}$$

3. Penetapan susut pengeringan simplisia

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Kelor (<i>Moringa oliefera</i> , L.)	5000 g	1730 g	65,4%
Daun Senggani (<i>Melastoma</i> <i>malabathricum</i> L.)	5000 g	1670 g	66,6%

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

$$\begin{aligned}\text{Daun kelor} &= \frac{5000 - 1730}{5000} \times 100\% \\ &= 65,4\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Daun senggani} &= \frac{5000 - 1670}{5000} \times 100\% \\ &= 66,6\%\end{aligned}$$

4. Penetapan kadar air simplisia

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Kelor (<i>Moringa oliefera</i> , L.)	10,00 g	9,70 g	3%

Daun Senggani (<i>Melastoma malabathricum L.</i>)	10,00 g	9,42 g	5,7%
--	---------	--------	------

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

Daun kelor =

$$\begin{aligned} \text{Daun senggani} &= \frac{10 - 9,42}{10} \times 100\% \\ &= 5,7\% \end{aligned}$$

5. Rendemen kelor dan senggani

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Kelor (<i>Moringa oliefera</i> , L.)	250 g	45g	18%
Daun Senggani (<i>Melastoma malabathricum L.</i>)	500 g	62 g	12,4 %

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} \text{ kelor} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{45}{250} \times 100\% \\ &= 18\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} \text{ senggani} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{62}{500} \times 100\% \\ &= 12,4\% \end{aligned}$$

6. Uji bebas etanol

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Daun Kelor (<i>Moringa oliefera</i> , L.)	H ₂ SO ₄ pekat + magnesium dikromat	+	Bebas etanol

Daun Senggani H₂SO₄ pekat + + Bebas etanol
 (*Melastoma* magnesium
malabathricum L.) dikromat

Keterangan :

(+) tidak terjadi perubahan warna

(-) terjadi perubahan warna

7. Skrining fitokimia

Identifikasi	Perlakuan	Hasil Uji	Keterangan
Flavonoid	Ekstrak + 5 ml etanol + 2 tetes HCl pekat + 0,1g mg	Jingga	+
Saponin	2 ml ekstrak kental + 5 ml aquadest dikocok kuat + 1 tetes HCl 2 N	Busa stabil	+
Tanin	2 ml ekstrak + FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Alkaloid	2 ml ekstrak + 2 ml HCl + pereaksi meyer	Endapan	+

Keterangan : (+) terdapat senyawa

(-) tidak terdapat senyawa

8. Uji antibakteri

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata	Kekuatan hambat
		I	II	III		
<i>Escherichia coli</i>	K+	36,5	34,5	32,5	34,5	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	1:1	11	10	11,5	10,3	Kuat
	1:2	12	16	18	15,3	Kuat
	2:1	12	11	16	13	Kuat
<i>Staphylococcus aureus</i>	K+	34,5	35	34,5	34,6	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	1:1	11	10	12,5	11,2	Kuat
	1:2	12,5	11	12,5	12	Kuat
	2:1	10,5	12	11,5	11,3	Kuat

Lampiran 8. Analisis data

1. Analisis kombinasi KLSG terhadap e.coli

A. Uji normalitas

Tests of Normality KLSG E.coli							
	konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statisti c	df	Sig.	Statisti c	df	Sig.
zona hambat	kontrol positif e. coli	.175	3	.	1.000	3	1.000
	kontrol negatif e. coli	.	3	.	.	3	.
	1:1 KLSG	.253	3	.	.964	3	.637
	1:2 KLSG	.253	3	.	.964	3	.637
	2:1 KLSG	.314	3	.	.893	3	.363

B. Uji homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances KLSG E.coli					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
zona hambat	Based on Mean	3.044	4	10	.070
	Based on Median	1.042	4	10	.433
	Based on Median and with adjusted df	1.042	4	5.371	.465
	Based on trimmed mean	2.868	4	10	.080

C. Uji anova

ANOVA					
zona hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1879.100	4	469.775	112.297	<,001
Within Groups	41.833	10	4.183		
Total	1920.933	14			

D. Uji tukey subset

zona hambat					
	konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	kontrol negatif e. coli	3	.0000		
	1:1 KLSG	3		10.8333	
	2:1 KLSG	3		13.0000	
	1:2 KLSG	3		15.3333	
	kontrol positif e. coli	3			34.5000
	Sig.			1.000	.125

E. Uji post hock

Multiple Comparisons								
Dependent Variable: zona hambat								
	(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	kontrol + e.coli	kontrol - e.coli	-	34.50000*	1.67000	<,001	29.0039	39.9961
		1:1 KLSG		23.66667*	1.67000	<,001	18.1706	29.1628
		1:2 KLSG		19.16667*	1.67000	<,001	13.6706	24.6628
		2:1 KLSG		21.50000*	1.67000	<,001	16.0039	26.9961
	kontrol - e.coli	kontrol + e.coli	+	-34.50000*	1.67000	<,001	-39.9961	-29.0039
		1:1 KLSG		-10.83333*	1.67000	<,001	-16.3294	-5.3372
		1:2 KLSG		-15.33333*	1.67000	<,001	-20.8294	-9.8372
		2:1 KLSG		-13.00000*	1.67000	<,001	-18.4961	-7.5039
	1:1 KLSG	kontrol + e.coli	+	-23.66667*	1.67000	<,001	-29.1628	-18.1706
		kontrol - e.coli	-	10.83333*	1.67000	<,001	5.3372	16.3294
		1:2 KLSG		-4.50000	1.67000	.125	-9.9961	.9961
		2:1 KLSG		-2.16667	1.67000	.699	-7.6628	3.3294
	1:2 KLSG	kontrol + e.coli	+	-19.16667*	1.67000	<,001	-24.6628	-13.6706
		kontrol - e.coli	-	15.33333*	1.67000	<,001	9.8372	20.8294
		1:1 KLSG		4.50000	1.67000	.125	-.9961	9.9961
		2:1 KLSG		2.33333	1.67000	.643	-3.1628	7.8294

	2:1 KLSG	kontrol + e.coli	-21.50000*	1.67000	<,001	-26.9961	-16.0039
		kontrol - e.coli	13.00000*	1.67000	<,001	7.5039	18.4961
		1:1 KLSG	2.16667	1.67000	.699	-3.3294	7.6628
		1:2 KLSG	-2.33333	1.67000	.643	-7.8294	3.1628
LSD	kontrol + e.coli	kontrol - e.coli	34.50000*	1.67000	<,001	30.7790	38.2210
		1:1 KLSG	23.66667*	1.67000	<,001	19.9457	27.3877
		1:2 KLSG	19.16667*	1.67000	<,001	15.4457	22.8877
		2:1 KLSG	21.50000*	1.67000	<,001	17.7790	25.2210
	kontrol - e.coli	kontrol + e.coli	-34.50000*	1.67000	<,001	-38.2210	-30.7790
		1:1 KLSG	-10.83333*	1.67000	<,001	-14.5543	-7.1123
		1:2 KLSG	-15.33333*	1.67000	<,001	-19.0543	-11.6123
		2:1 KLSG	-13.00000*	1.67000	<,001	-16.7210	-9.2790
	1:1 KLSG	kontrol + e.coli	-23.66667*	1.67000	<,001	-27.3877	-19.9457
		kontrol - e.coli	10.83333*	1.67000	<,001	7.1123	14.5543
		1:2 KLSG	-4.50000*	1.67000	.023	-8.2210	-.7790
		2:1 KLSG	-2.16667	1.67000	.224	-5.8877	1.5543
	1:2 KLSG	kontrol + e.coli	-19.16667*	1.67000	<,001	-22.8877	-15.4457
		kontrol - e.coli	15.33333*	1.67000	<,001	11.6123	19.0543
		1:1 KLSG	4.50000*	1.67000	.023	.7790	8.2210
		2:1 KLSG	2.33333	1.67000	.193	-1.3877	6.0543

	2:1 KLSG	kontrol + e.coli	-21.50000*	1.67000	<,001	-25.2210	-17.7790
		kontrol - e.coli	13.00000*	1.67000	<,001	9.2790	16.7210
		1:1 KLSG	2.16667	1.67000	.224	-1.5543	5.8877
		1:2 KLSG	-2.33333	1.67000	.193	-6.0543	1.3877

2. uji analisis data s.aureus

A. Uji normalitas

Tests of Normality KLSG S.aureus							
	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona hambat	kontrol positif s.aureus	.385	3	.	.750	3	.000
	kontrol negatif s.aureus	.	3	.	.	3	.
	1:1 KLSG	.219	3	.	.987	3	.780
	1:2 KLSG	.385	3	.	.750	3	.000
	2:1 KLSG	.253	3	.	.964	3	.637

B. Uji homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances KLSG S.ureus					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
zona hambat	Based on Mean	3.091	4	10	.067
	Based on Median	.950	4	10	.475
	Based on Median and with adjusted df	.950	4	5.714	.499
	Based on trimmed mean	2.891	4	10	.079

C. Uji anova

ANOVA					
zona hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1926.333	4	481.583	802.639	<,001
Within Groups	6.000	10	.600		
Total	1932.333	14			

D. Uji tukey subset

zona hambat					
	konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	kontrol negatif s.aureus	3	.0000		
	1:1 KLSG	3		11.1667	
	2:1 KLSG	3		11.3333	
	1:2 KLSG	3		12.0000	
	kontrol positif s.aureus	3			34.6667
	Sig.			1.000	.687

E. Uji post hock

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zona hambat

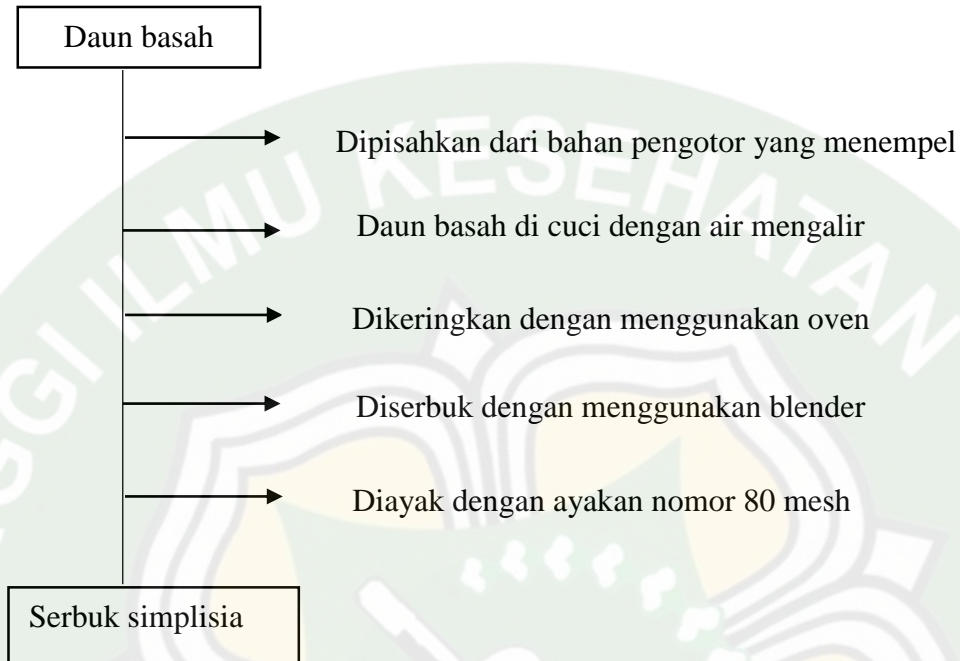
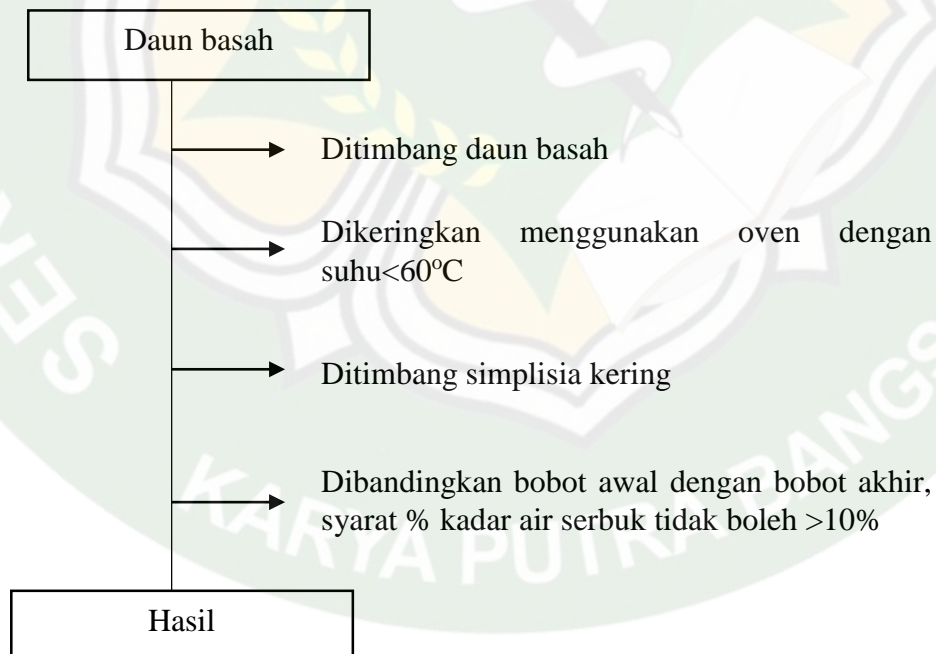
99

	(I) konsentras i	(J) konsentras i	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	kontrol + s.aureus	kontrol - s.aureus	34.66667*	.632 46	<,001	32.5852	36.7481
		1:1 KLSG	23.50000*	.632 46	<,001	21.4185	25.5815
		1:2 KLSG	22.66667*	.632 46	<,001	20.5852	24.7481
		2:1 KLSG	23.33333*	.632 46	<,001	21.2519	25.4148
	kontrol - s.aureus	kontrol + s.aureus	-34.66667*	.632 46	<,001	-36.7481	-32.5852
		1:1 KLSG	-11.16667*	.632 46	<,001	-13.2481	-9.0852
		1:2 KLSG	-12.00000*	.632 46	<,001	-14.0815	-9.9185
		2:1 KLSG	-11.33333*	.632 46	<,001	-13.4148	-9.2519
	1:1 KLSG	kontrol + s.aureus	-23.50000*	.632 46	<,001	-25.5815	-21.4185
		kontrol - s.aureus	11.16667*	.632 46	<,001	9.0852	13.2481
		1:2 KLSG	-.83333	.632 46	.687	-2.9148	1.2481
		2:1 KLSG	-.16667	.632 46	.999	-2.2481	1.9148
	1:2 KLSG	kontrol + s.aureus	-22.66667*	.632 46	<,001	-24.7481	-20.5852
		kontrol - s.aureus	12.00000*	.632 46	<,001	9.9185	14.0815
		1:1 KLSG	.83333	.632 46	.687	-1.2481	2.9148

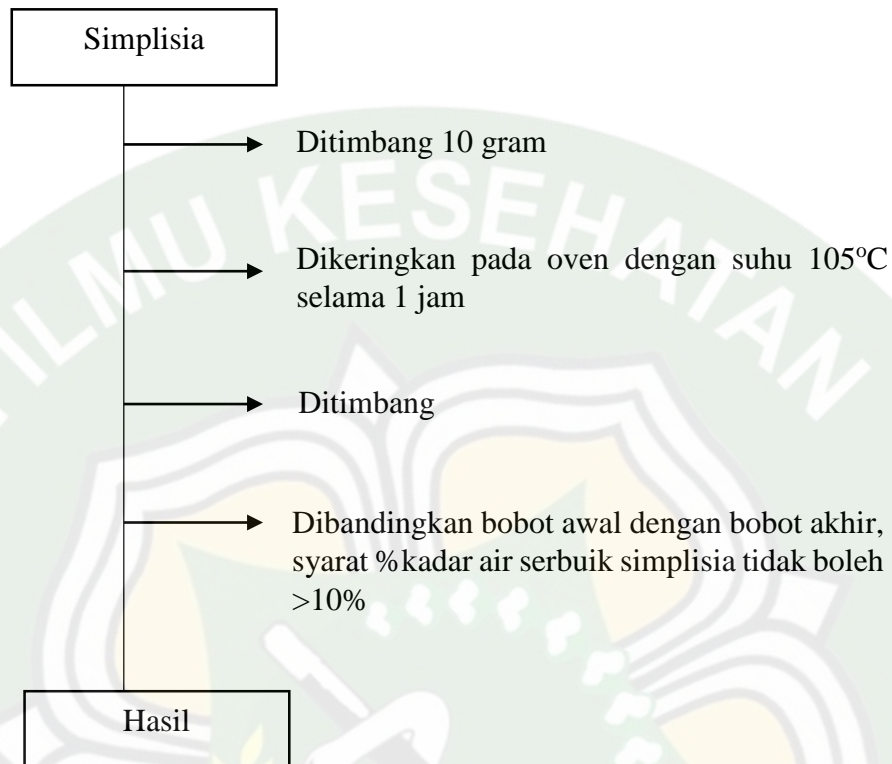
		2:1 KLSG	.66667	.632 46	.825	-1.4148	2.7481
	2:1 KLSG	kontrol + s.aureus	-23.33333*	.632 46	<,001	-25.4148	-21.2519
		kontrol - s.aureus	11.33333*	.632 46	<,001	9.2519	13.4148
		1:1 KLSG	.16667	.632 46	.999	-1.9148	2.2481
		1:2 KLSG	-.66667	.632 46	.825	-2.7481	1.4148
LSD	kontrol + s.aureus	kontrol - s.aureus	34.66667*	.632 46	<,001	33.2575	36.0759
		1:1 KLSG	23.50000*	.632 46	<,001	22.0908	24.9092
		1:2 KLSG	22.66667*	.632 46	<,001	21.2575	24.0759
		2:1 KLSG	23.33333*	.632 46	<,001	21.9241	24.7425
	kontrol - s.aureus	kontrol + s.aureus	-34.66667*	.632 46	<,001	-36.0759	-33.2575
		1:1 KLSG	-11.16667*	.632 46	<,001	-12.5759	-9.7575
		1:2 KLSG	-12.00000*	.632 46	<,001	-13.4092	-10.5908
		2:1 KLSG	-11.33333*	.632 46	<,001	-12.7425	-9.9241
	1:1 KLSG	kontrol + s.aureus	-23.50000*	.632 46	<,001	-24.9092	-22.0908
		kontrol - s.aureus	11.16667*	.632 46	<,001	9.7575	12.5759

		1:2 KLSG	-.83333	.632 46	.217	-2.2425	.5759
		2:1 KLSG	-.16667	.632 46	.797	-1.5759	1.2425
1:2 KLSG		kontrol + s.aureus	-22.66667*	.632 46	<,001	-24.0759	-21.2575
		kontrol - s.aureus	12.00000*	.632 46	<,001	10.5908	13.4092
		1:1 KLSG	.83333	.632 46	.217	-.5759	2.2425
		2:1 KLSG	.66667	.632 46	.317	-.7425	2.0759
2:1 KLSG		kontrol + s.aureus	-23.33333*	.632 46	<,001	-24.7425	-21.9241
		kontrol - s.aureus	11.33333*	.632 46	<,001	9.9241	12.7425
		1:1 KLSG	.16667	.632 46	.797	-1.2425	1.5759
		1:2 KLSG	-.66667	.632 46	.317	-2.0759	.7425

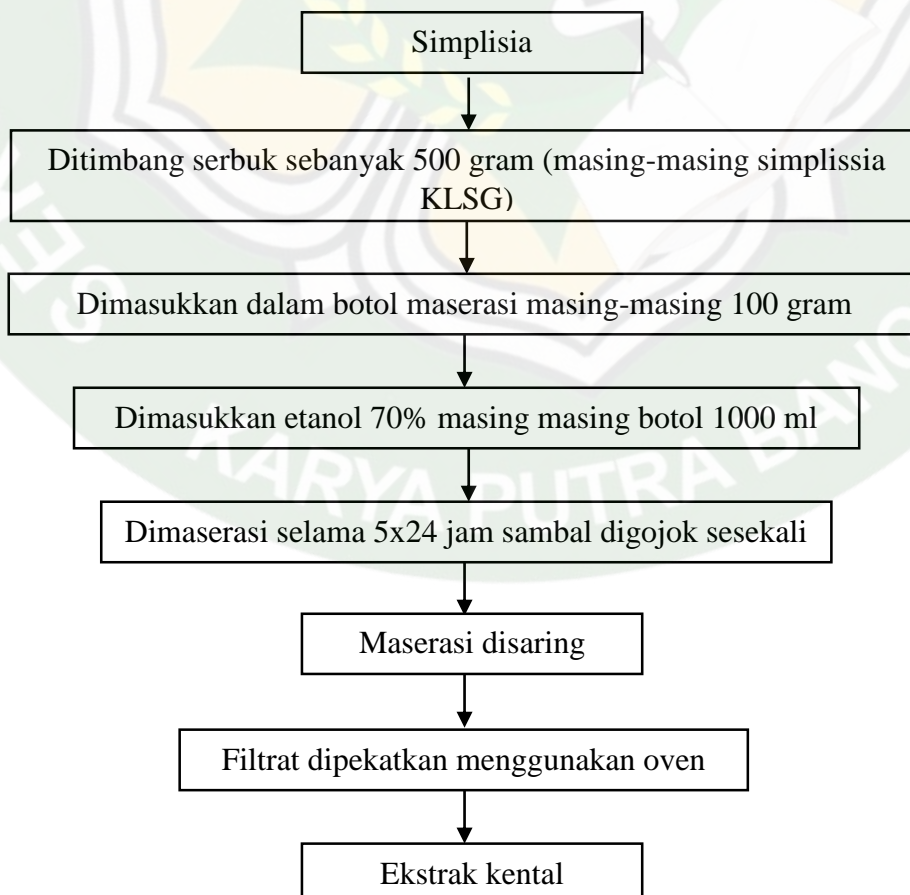
Lampiran 9. Alur Kerja

1. Pembuatan simplisia**2. Susut pengeringan**

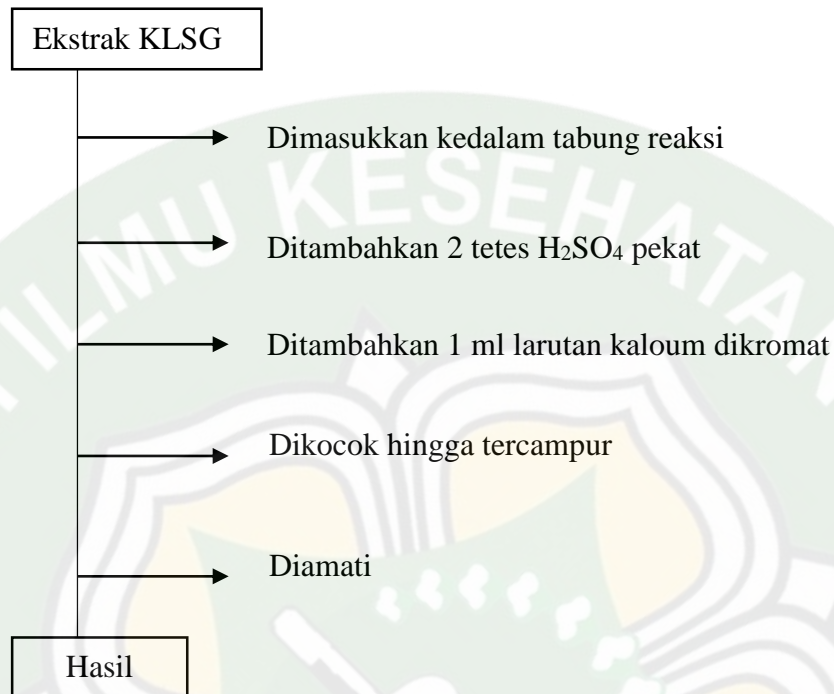
3. Uji kadar air serbuk simplisia



4. Pembuatan ekstrak dengan menggunakan metode maserasi



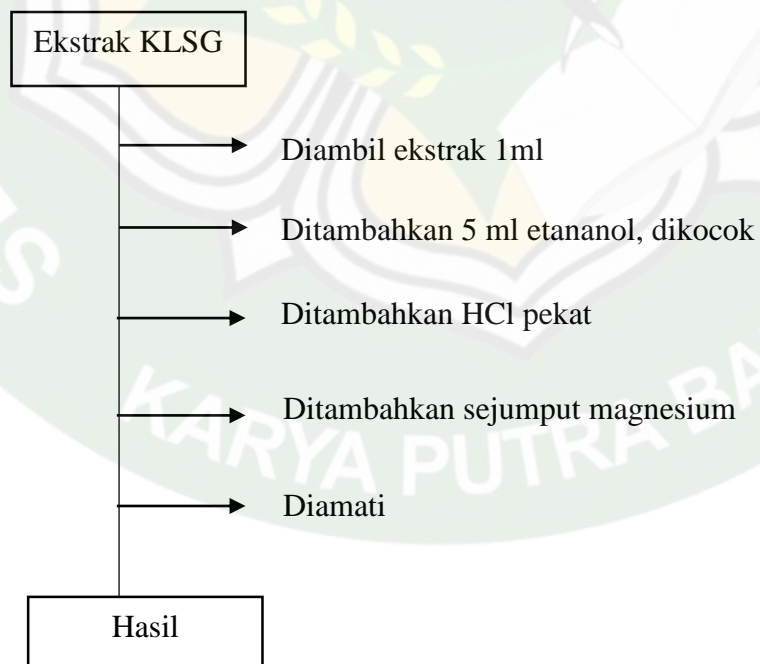
5. Uji bebas etanol



*keterangan : tidak adanya perubahan warna dari tingga menjadi hijau kebiruan menunjukkan bahwa esktrak bebas etanol.

6. Skrining fitokimia

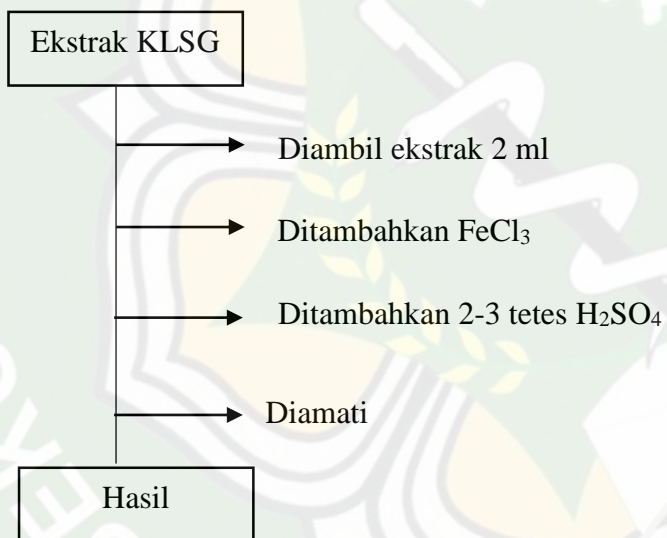
a. Flavonoid



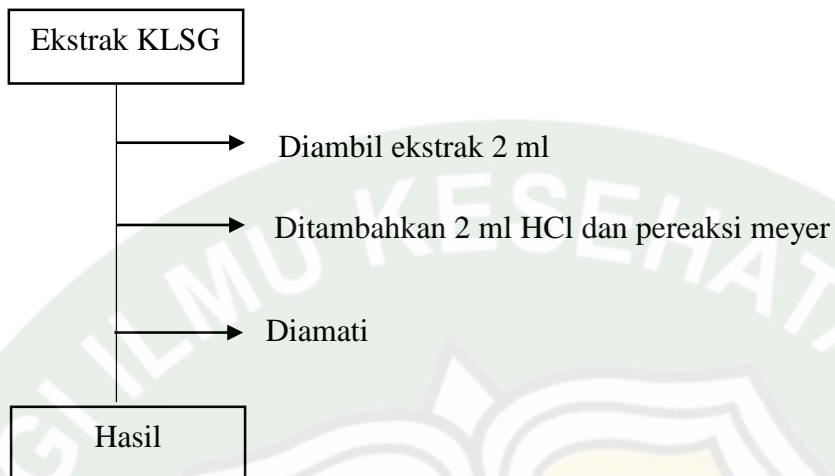
*Keterangan : positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah

b. Saponin

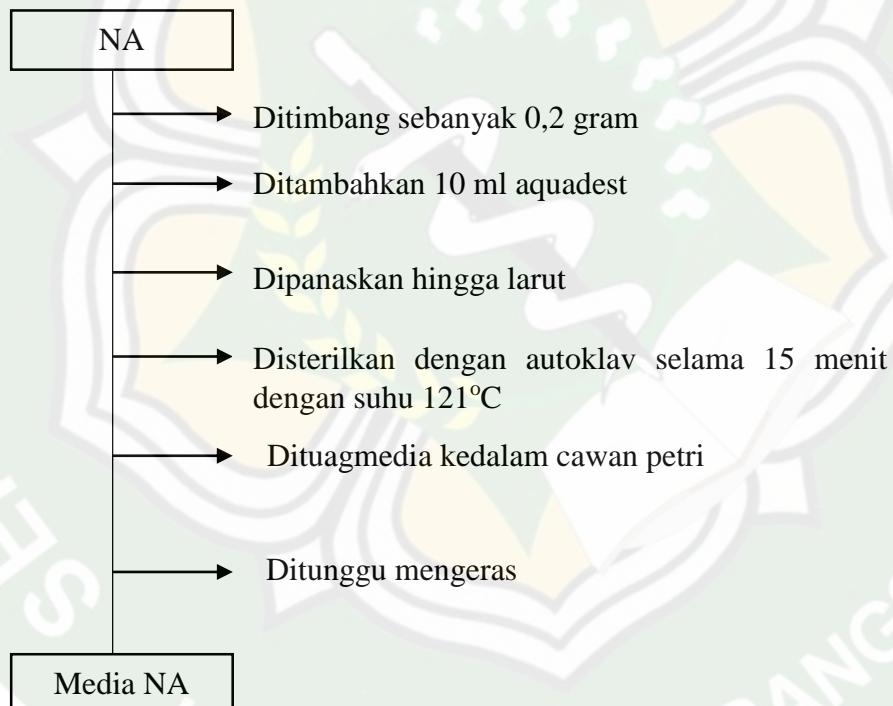
*keterangan : positif saponin dengan terbentuknya busa stabil

c. Tanin

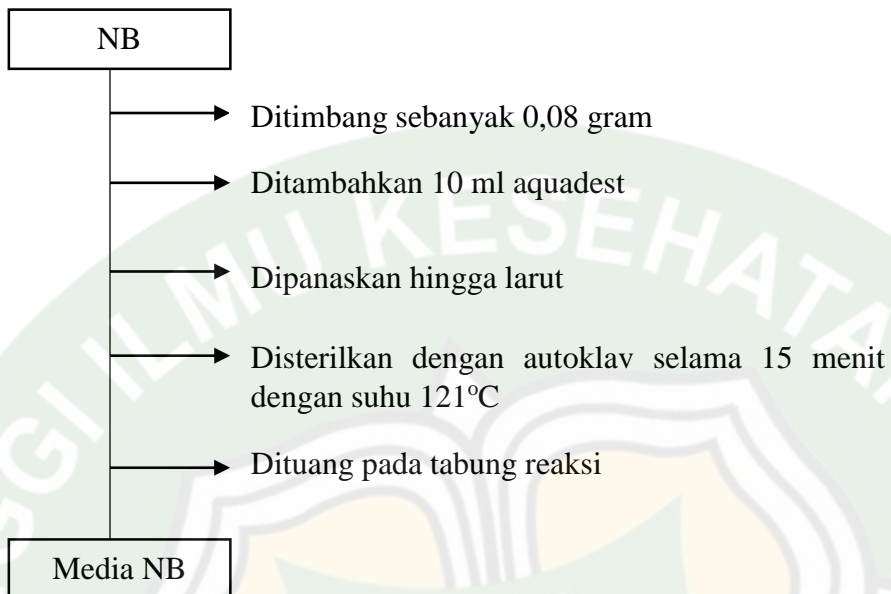
*keterangan : positif tanin ditunjukkan dengan terbentuknya larutan kuning kecoklatan

d. Alkaloid

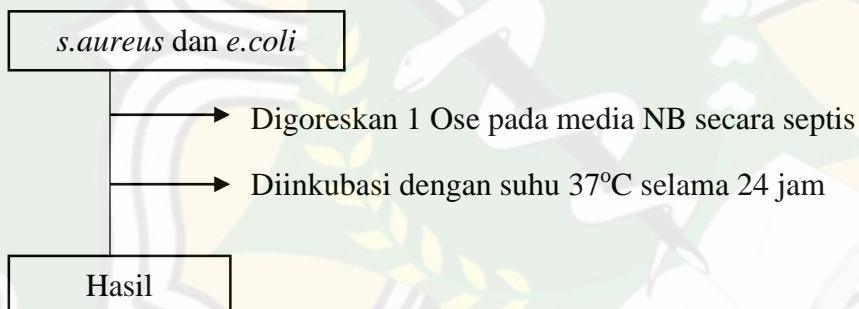
*keterangan : positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan putih.

7. pembuatan media pertumbuhan bakteri

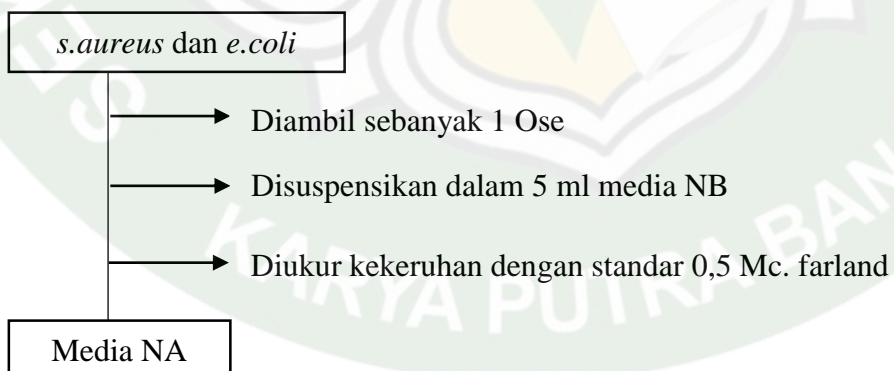
8. Pembuatan media NB



9. Peremajaan bakteri



10. Pembuatan suspense bakteri



11. Uji aktivitas antibakteri ekstrak KLSG

