

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN MIANA (*Coleus atropurpureus L. Benth*) dan DAUN
SALAM (*Syzygium Polyanthum*) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



Oleh:

NOVI NUR HASLINDHA

1813206021

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

2022

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN MIANA (*Coleus atropurpureus L. Benth*) dan DAUN
SALAM (*Syzygium Polyanthum*) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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



Oleh:

NOVI NUR HASLINDHA

1813206021

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN MIANA (*Coleus Antropurpureus L. Benth*) dan DAUN
SALAM (*Syzygium Polyanthum*) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus Aureus dan *Eschericia Coli*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Yang Diajukan Oleh :

Novi Nur Haslinda
1813206021

Tanggal : 02 November 2022

Telah Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Apt. Amalia Eka Putri, M.Fram

NIDN. 07 28129201



Apt. Choirul Huda, M.Fram

NIDN. 07 260385 02

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN MIANA (*Coleus Antropurpureus L. Benth*) dan DAUN
SALAM (*Syzygium Polyanthum*) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus Aureus dan *Eschericia Coli*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

NOVINUR HASLINDHA

1813206021

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

Tanggal: 02 November 2022

Ketua Penguji : apt. Amalia Eka Putri, M.Farm

(Amalia)

Anggota penguji : 1. apt. Choirul Huda, M.Farm

(Choirul Huda)

2. apt. Ary Kristijono, M.Farm

(Ary Kristijono)

3. Afidatul Muadifah, S,Si.,M.Si

(Afidatul Muadifah)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

(Arif Santosa)

apt. Arif Santosa, M.Farm

HALAMAN 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, 25 Oktober 2022



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Miana (*Coleus antropurpureus L. Benth*) dan Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Terhadap Bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In-Vitro*” ini dengan lancar meskipun banyak kekurangan.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa. Penyusunan skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik dan lancar tanpa bantuan banyak pihak, baik secara moril maupun materiil. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak apt. Arif Santoso M.Farm selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Ibu Afidhatul Muadifah, S.Si, M.Si selaku dosen pembimbing akademik dan Bapak Ibu dosen yang telah membimbing dan memberikan nasihat selama studi di S1 farmasi di STIKES Karya Putra Bangsa.
3. Ibu apt. Amalia Eka Putri M.farm selaku dosen pembimbing utama yang selalu memberikan bimbingan dalam penyelesaian skripsi.
4. Bapak apt. Choirul Huda M.farm selaku dosen pembimbing serta yang selalu memberikan saran dan masukan.
5. Ibu apt. Dara Pranindya Tilarso, M.Farm selaku Kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama penyusunan skripsi.
6. Seluruh keluarga besar saya yang telah memberikan dukungan semangat do'a yang tulus.
7. Seluruh teman serta angkatan 2018 Jurusan Farmasi yang telah memberikan dukungan semangat.

8. Seluruh Grup Calon Orang Sukses (Niken Desi W dan Rofi' Nur Afhidah) yang telah memberikan dukungan semangat dalam menyelesaikan proposal skripsi.
9. Teman Departemen Bahan Alam yang telah memberikan dukungan semangat.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa proposal skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk memperbaiki proposal skripsi. Penulis berharap semoga proposal skripsi ini memberikan manfaat bagi pembaca dan menambah pengetahuan bagi semua pihak. Terimakasih

Tulungagung, 25 Oktober 2022

Novi Nur Haslindha

DAFTAR ISI

COVER LUAR.....	i
COVER DALAM.....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	vi
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
INTISARI.....	1
BAB I PENDAHULUAN.....	2
1.1 Latar Belakang.....	2
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tanaman Miana.....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Miana.....	6
2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia.....	7
2.1.3 Khasiat.....	9
2.2 Tanaman Salam.....	10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Salam.....	10
2.2.2 Kandungan Senyawa.....	11
2.2.3 Khasiat.....	13
2.3 Simplisia.....	13
2.3.1 Pengertian Simplisia.....	13
2.3.2 Syarat-syarat Simplisia.....	13
2.3.3 Penyiapan Simplisia.....	14

2.4 Serbuk dan Kadar Air Simplisia.....	16
2.5 Ekstraksi.....	17
2.5.1 Destilasi.....	18
2.5.2 Refluks.....	18
2.5.3 Maserasi.....	18
2.5.4 Perkolasi.....	19
2.6 Pelarut.....	19
2.6.1 Air 19	
2.6.2 Etanol.....	20
2.6.3 N-heksana.....	20
2.6.4 Etil Asetat.....	20
2.6.5 DMSO.....	21
2.7 Bakteri <i>Escherichia Coli</i>	21
2.7.1 Definisi Bakteri.....	21
2.7.2 Penggolongan Bakteri.....	22
2.8 <i>Escherichia Coli</i>	23
2.8.1 Morfologi.....	23
2.8.2 Klasifikasi.....	23
2.9 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.9.1 Morfologi.....	24
2.9.2 Klasifikasi.....	24
2.10 Antibakteri.....	25
2.10.1 <i>In Vivo</i>	25
2.10.2 <i>In Vitro</i>	25
2.11 Obat Golongan Antibakteri.....	27
2.11.1 Kontrol Positif (<i>Chloramphenicol</i>).....	27
2.11.2 Karakteristik <i>Chloramphenicol</i>	28
2.12. Hipotesis.....	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	28
3.1 Bahan dan Alat.....	28
3.1.1 Bahan.....	28

3.1.2 Alat.....	28
3.2 Populasi Penelitian	28
3.3 Sampel Penelitian	28
3.3.1 Variabel Bebas	28
3.3.2 Variabel Terikat	29
3.3.3 Variabel Kontrol	29
3.4 Metode Penelitian.....	29
3.4.1 Determinasi Tanaman	29
3.4.2 Pembuatan Simplisia	29
3.4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	30
3.4.4 Pembuatan Ekstrak.....	31
3.4.5 Skrining Fitokimia	32
3.4.6 Sterilisasi Alat dan Bahan	32
3.4.7 Pembuatan Media.....	34
3.4.8 Peremajaan Bakteri	34
3.4.9 Uji Identifikasi Bakteri.....	34
3.4.10 Pembuatan Kontrol Positif.....	35
3.4.11 Pembuatan Kontrol Negatif	35
3.4.12 Pembuatan Larutan Uji.....	35
3.4.13 Uji Antibakteri Variasi Konsentrasi Ekstrak	36
3.5 Uji Aktivitas Antibakteri	36
3.5.1 Pengukuran Zona Hambat	37
3.6 Analisis Statistika	37
3.6.1 Uji Normalitas Data	37
3.6.2 Uji homogenitas	37
3.6.3 Uji <i>One Way Anova</i>	38
3.6.4 Kerangka Penelitian	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Determinasi Tanaman	40
4.2 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	40
4.2.1 Uji Kadar Air Simplisia.....	40

4.2.2 Uji Rendemen Ekstrak	41
4.2.3 Uji Bebas Etanol	42
4.3 Skrinning Fitokimia	43
4.3.1 Uji Flavonoid	43
4.3.2 Uji Alkaloid	44
4.3.3 Uji Saponin	45
4.3.3 Uji Saponin	45
4.3.4 Uji Tanin.....	46
4.3.5 Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak DMDS dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS	47
4.4 Identifikasi Bakteri	48
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak DMDS.....	49
4.5.1 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak DMDS Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	49
4.5.2 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak DMDS Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	52
BAB V PENUTUP	57
5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	68

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri Berdasarkan Diameter Zona Hambat (Susanto <i>et al.</i> , 2012).....	26
Tabel 4.1 Uji Kadar Aird Simplisia DMDS	40
Tabel 4.2 Hasil uji rendemen ekstrak DMDS	41
Tabel 4.3 Hasil uji bebas etanol kombinasi DMDS	42
Tabel 4.4 Hasil Uji skrining fitokimia ekstrak DMDS	43
Tabel 4.1 Tabel kadar senyawa flavonoid ekstrak DMDS	47
Tabel 4.5 Tabel Uji Tukey subset ekstrak DMDS terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	49
Tabel 4.6 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50
Tabel 4.7 Tabel uji Tukey subset ekstrak DMDS terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	53
Tabel 4.8 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Miana	6
Gambar 2.2 Daun Salam	10
Gambar 2.3 Bakteri <i>E. coli</i> diamati secara mikroskopis.....	24
Gambar 2.4 Bakteri <i>S. aureus</i> diamati secara mikroskopis.....	25
Gambar 3.1 Kerangka Penelitian.....	39
Gambar 4.1 Uji Bebas Etanol DMDS	42
Gambar 4.2 Skrinning fitokimia flavonoid	44
Gambar 4.3 Skrinning fitokimia alkaloid DMDS	45
Gambar 4.4 Skrinning fitokimia saponin DMDS	46
Gambar 4.5 Skrinning fitokimia tanin DMDS	47
Gambar 4.6 Identifikasi bakteri	48
Gambar 4.7 Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	49
Gambar Diagram batang rata-rata zona hambat Ekstrak DMDS terhadap pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50
Gambar 4.8 Uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS terhadap bakteri <i>S.aureus</i>	52
Gambar 4.6 Diagram batang rata-rata zona hambat Ekstrak DMDS terhadap pertumbuhan bakteri <i>Sthaphylococcus aureus</i> ATCC 25923	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Daun Miana	68
Lampiran 2 Hasil Determinasi Daun Salam.....	68
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....	69
Lampiran 4 Uji skrining fitokimia DMDS	70
Lampiran 5 Pembuatan NA dan NB	71
Lampiran 6 Standart Mc Farland 0,5	72
Lampiran 7 Identifikasi bakteri <i>Eschericia Coli</i>	73
Lampiran 8 Identifikasi bakteri <i>Sthaphylococcus aureus</i>	74
Lampiran 9 Uji antibakteri ekstrak DMDS terhadap <i>Eschericia Coli</i>	75
Lampiran 10 Uji antibakteri ekstrak DMDS terhadap bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i>	77
Lampiran 11 Perhitungan	78
Lampiran 12 Analisis data.....	81
Lampiran 13 Alur kerja.....	87

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN
MIANA (*Coleus atropurpureus* L. Benth) dan DAUN SALAM
(*Syzygium Polyanthum*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus*
Aureus dan *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO***

**Novi Nur Haslindha
Prodi S1 Farmasi**

INTISARI

Infeksi merupakan penyakit yang bisa di sebabkan oleh bakteri. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negative. Kedua bakteri tersebut termasuk flora normal dalam tubuh manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* mudah resisten terhadap antibiotic jika di konsumsi jangka panjang, oleh sebab itu di perlukan alternative lain yang dapat di tempuh yaitu dengan memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung di dalam tanaman seperti daun miana dan daun salam. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun dan daun salam (DMDS) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Sampel diekstraksi dengan maserasi menggunakan etanol 70%. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun miana dan daun salam menggunakan metode pengujian *in vitro* yaitu difusi cakram dengan control positive kloramfenikol 0,1% dan kontrol negatif DMSO 5%. Ekstrak DMDS yang mempunyai aktivitas antibakteri yang teraktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah 1:2 dengan rata-rata zona hambat sebesar 14,6 mm dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 1:2 dengan rata-rata zona hambat sebesar 12,6 mm. Aktivitas antibakteri ini berasal dari aktivitas senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin yang terkandung di dalam Ekstrak DMDS.

Kata kunci: Antibakteri, Daun miana, Daun salam, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST COMBINATION OF MIANA (*Coleus
athropurpureus L. Benth*) and SALAM (*Syzygium Polyanthum*) LEAVES
EXTRACTS AGAINST *Staphylococcus aureus* and
Escherichia coli IN VITRO**

**Novi Nur Haslindha
Pharmacy S1 Study Program**

Abstrac

Infection is a disease that can be caused by bacteria. *Staphylococcus aureus* is a Gram-positive bacterium and *Escherichia coli* is a Gram-negative bacterium. Both bacteria are included in the normal flora in the human body. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria are easily resistant to antibiotics if consumed long-term, therefore other alternatives are needed that can be taken, namely by utilizing active bacteria-killing substances contained in plants such as miana leaves (DM) and bay leaves (DS). The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of miana and bay leaf extracts against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The method used in this research is the experimental method. Samples were extracted by maceration using 70% ethanol. The antibacterial activity test of miana leaf and bay leaf extracts used an in the vitro test method, namely disc diffusion with a positive control of 0.1% chloramphenicol and a negative control of DMSO 5%. DMDS extract which has the most active antibacterial activity in inhibiting the growth of *Escherichia coli* bacteria ATCC 25922 is 1:2 with an average inhibition zone of 14.6 mm and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 1:2 with an average inhibition zone of 12.6 mm. . This antibacterial activity comes from the activity of secondary metabolites, namely flavonoid compounds, saponins, alkaloids, and tannins contained in the DMDS extract.

Keywords: Antibacterial, Miana leaf, Bay leaf, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi dapat disebabkan oleh sejumlah mikroorganisme seperti bakteri yang bersifat patogen yang biasa dikenal dengan kuman penyakit (Pratiwi, 2017). Agen infeksi biasanya ada di alam dan akan masuk ke dalam tubuh sehingga menimbulkan penyakit pada tubuh, dengan gejala seperti demam, muntah-muntah, diare, hilangnya napsu makan, rasa sakit disekujur tubuh dan lain-lain (Besung, 2012).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan bakteri Gram positif yang termasuk flora normal pada kulit (Foster *et al.* 2014). Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* dengan derajat keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang mengancam jiwa (Lutpiatina, 2017). Infeksi yang disebabkan *s. aureus* terus meningkat di berbagai belahan dunia. Prevalensi infeksi *s.aureus* di Asia kini mencapai 70%, sementara di Indonesia pada tahun 2006 prevalensinya berada pada angka 23,5% (Sulistiyaningsih 2010).

Escherichia coli (*E.coli*) merupakan bakteri gram negatif yang berkoloni di saluran pencernaan manusia dan dapat menyebabkan penyakit seperti diare, sepsis, meningitis, dan infeksi saluran kemih (Jawetz 2014). Berdasarkan Profil Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2019 kelompok umur prevalensi diare tertinggi yaitu pada umur 1-4 tahun sebesar 11,5%, pada bayi sebesar 9%, dan pada kelompok umur 75 tahun keatas sebesar 7,2%. Pada tahun 2019 penyakit diare merupakan penyebab kematian kedua di Indonesia pada kelompok usia 29 hari - 11 bulan dengan jumlah 746 kematian. Menurut (Priamsari *et al.* (2020), salah satu penanganan bakteri adalah dengan pemberian antibiotik.

Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi atau bakteri yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya selektif (Pratomo and Dewi, 2018). Penggunaan antibiotik dalam pengobatan untuk manusia sudah dimulai sejak tahun 1940.

Selama 63 tahun, penggunaan antibiotik semakin luas. Hal ini mengakibatkan meluasnya potensi resistensi bakteri (Amin 2014). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat akan menimbulkan berbagai permasalahan seperti pengobatan kurang efektif, peningkatan resiko terhadap keamanan pasien, resistensi bakteri terhadap antibiotik dan tingginya biaya pengobatan (Priamsari *et al.* 2020). Alternatif yang dapat ditempuh adalah memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung dalam tanaman obat (Priamsari *et al.* 2020).

Tanaman obat yang memiliki kandungan senyawa alkaolid, tanin, flavonoid, dan saponin bersifat sebagai anti bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal (Fitriyah *et al.* 2013). Senyawa flavonoid sebagai senyawa antibiotik memiliki mekanisme kerja merusak dinding sel dan mengganggu proses metabolisme (Dwicahyani and Sumardianto, 2018). Menurut (Majidah *et al.* 2014), mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi. Selain itu senyawa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri. Mekanisme penghambatan senyawa saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel. Menurut Sari *et al.* (2015), bahwa saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri, mengakibatkan meningkatnya permeabilitas dinding sel serta menurunkan tegangan permukaan dinding sel sehingga ketika terjadi interaksi dinding sel tersebut akan pecah atau mengalami lisis dan membuat zat antibakteri akan masuk kedalam sel dengan mudah dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadi kematian bakteri.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dwicahyani and Sumardianto (2018) mekanisme senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Hal ini diperkuat oleh Retnowati *et al.* (2011), mekanisme penghambatan alkaloid adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel.

Menurut (Sapara and Waworuntu, 2016), tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Tanaman yang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin yaitu daun miana (DM) (Ridwan and Handharyani., 2020). Berdasarkan penelitian Trisnawati (2020) Daun salam (DS) juga memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin .

Berdasarkan permasalahan di atas dan perkembangan saat ini obat-obat antibiotik mulai dikurangi penggunaannya dan beralih ke obat yang bersifat alamiah atau tradisional (Prabowo, 2021). Terkait pula dengan adanya kandungan senyawa aktif yakni alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin pada ekstrak DM yang berperan sebagai anti bakteri (Evendi 2017). DS juga memiliki kandungan alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin sebagai bahan yang dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri termasuk *S. aureus* dan *E. Coli* (Faizah, Sulistyowati, and Hakim., 2021). Oleh sebab itu perlu untuk mengkombinasikan tanaman terhadap aktivitas antibakteri *E.coli* dan *S.aureus* yang menjadi salah satu bakteri penyebab infeksi. Pengkombinasian ekstrak daun mengalami kenaikan aktivitas antibakteri dari ekstrak tunggalnya. Menurut Rizema (2013), hal ini dapat disebabkan karena adanya interaksi yang sinergis antara senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung pada masing masing sampel jika dikombinasikan. Sinergisme merupakan keadaan tidak saling mengganggu satu sama lain, akan tetapi senyawa bioaktif masing masing saling menguntungkan jika diberikan bersama atau digabung.

Selain itu bahan DM dan DS sangat ekonomis dan mudah di jumpai di Kabupaten Tulungagung sehingga peneliti tertarik melakukan penelitian tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak DMDS terhadap *S.aureus* dan *E.coli*?
- 1.2.2 Berapakah variasi konsentrasi optimum zona hambat kombinasi DMDS ?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak DMDS terhadap *S.aureus* dan *E.coli*.
- 1.3.2 Mengetahui variasi konsentrasi optimum zona hambat kombinasi DMDS.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kesehatan ilmiah terhadap masyarakat bahwa DMDS dapat dimanfaatkan sebagai alternatif obat antibakteri

1.4.2 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan tentang uji aktivitas antibakteri DMDS terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. Coli*.

1.4.3 Bagi Instansi Kesehatan

- Dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut untuk mencari senyawa yang dapat memberikan efek sebagai antibakteri.
- Dapat menjadi bahan referensi untuk melakukan pengembangan obat-obatan yang berasal dari bahan alam.

1.4.4 Bagi Instansi Pendidikan

Dapat digunakan menjadi suatu bahan informasi dan pengembangan lebih lanjut untuk penelitian penelitian berikutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Miana

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Miana

Dari sistem taksonomi, tumbuhan miana dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kindom	: Plantae
Devisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Gens	: <i>Coleus</i>
Spesies	: <i>Coleus atropurpureus</i> L. Benth (Dalimartha, 2008).



Gambar 2.1 Daun Miana (Surahmaida, 2019)

Tumbuhan miana tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1500 meter di atas permukaan laut dan merupakan tanaman semusim. Umumnya tumbuhan ini ditemukan di tempat lembab dan terbuka seperti pematang sawah, tepi jalan pedesaan di kebun-kebun sebagai tanaman liar atau tanaman obat. Tumbuhan miana memiliki batang herbal, tegak atau berbaring pada pangkalnya dan merayap tinggi berkisar 30-150 cm, dan termasuk kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah. Daun tunggal, helaian daun berbentuk hati, pangkal membulat atau melekok menyerupai betuk jantung dan setiap tepiannya dihiasi oleh lekuk-lekuk tipis yang bersambungan dan didukung tangkai daun dengan panjang tangkai 3-4 cm yang memiliki warna beraneka ragam dan ujung meruncing dan tulang daun menyirip berupa alur. Batang bersegi

empat dengan alur yang agak dalam pada masing-masing sisinya, berambut, percabangan banyak, berwarna ungu kemerahan. Permukaan daun agak mengkilap dan berambut halus panjang dengan panjang 7-11 cm, lebar 3-6 cm berwarna ungu kecoklatan sampai ungu kehitaman. Bunga berbentuk untaian bunga bersusun, merah dan ungu. Tumbuhan miana memiliki aroma bau yang khas dan rasa yang agak pahit, sifatnya dingin. Buah keras berbentuk seperti telur dan licin. Jika seluruh bagian diremaskan mengeluarkan bau yang harum. Untuk memperbanyak tanaman ini dilakukan dengan cara stek batang dan biji. Tumbuhan ini dikenal masyarakat Indonesia dengan nama daerah yaitu: si gresing (batak), adang-adang (Palembang), miana, plado (sumbar), jawer kotok (sunda), iler, kentangan (Jawa), ati-ati, saru-saru (bugis), majana (Madura), Toraja sarenakko (Sentra informasi Iptek, 2009)

2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak daun miana menunjukkan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin serta negatif untuk uji steroid/triterponoid (Auliawan, R. 2014). Berdasarkan hasil penelitian Deby (2012), konsentrasi ekstrak daun miana 10% menghasilkan zona hambat 9,83 mm pada bakteri *S. aureus* dan 10,33 mm pada bakteri *E. coli*. Konsentrasi ekstrak 20% menghasilkan zona hambat 10,67 mm pada bakteri *S. aureus* dan 11,17 mm pada bakteri *E. coli*.

2.1.2.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan (Retno *et al.*, 2016). Menurut Setyaningsih (2010) alkaloid bersifat polar. Kebanyakan alkaloid diisolasi berupa padatan kristal dengan titik didih berkisar 87-238°C. Dalam bentuk garamnya, alkaloid mudah larut dalam pelarut organik polar (Charisma, 2020). Alkaloid pada tanaman berfungsi sebagai racun yang dapat melindunginya dari serangga dan herbivora, faktor pengatur pertumbuhan dan senyawa simpanan yang mampu menyuplai nitrogen dan unsur-unsur lain yang diperlukan tanaman (Wink 2008). Alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh (Darsana *et al.*, 2012).

2.1.2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol alam. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air (Nur Aini, 2015). 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, Handayani, and Malik 2016). Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya terdapat pada tanaman. Mengandung pigmen tanaman yaitu memproduksi warna bunga biru atau merah, pigmentasi kuning pada kelopak yang berfungsi untuk menarik hewan penyerbuk. Hampir seluruh bagian tumbuhan mengandung flavonoid seperti bagian buah, akar, daun dan kulit luar batang (Minarno 2015).

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, Sari, and Nursanty 2017).

2.1.2.3 Saponin

Saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut seperti air dan saponin juga bersifat non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin) (Agustina, 2017). 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, Sari, and Handayani 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, Djajadisastra, and Elya 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, Darmayasa, and Muksin 2017).

2.1.2.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa polar dengan gugus hidroksi, sehingga untuk mengekstraksinya diperlukan pelarut- pelarut polar seperti metanol, etanol, aseton dan air (Halimu, 2017). Tanin merupakan metabolit sekunder berkhasiat sebagai antibakteri, antioksidan, astringen dan antidiare. Tanin termasuk komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar mengkristal dan sukar dipisahkan (Malangnia *et al.*, 2012). Kelarutan tanin yaitu sangat mudah larut dalam air, larut aseton, larut alkohol, larut 1:1 dalam gliserol hangat, tidak larut dalam *petroleum*, kloroform dan eter. Tanin memiliki titik didih 1271°C (Amelia 2015). Mekanisme tanin sebagai antibakteri yaitu dengan mengganggu permeabilitas sel dengan cara mengerutkan dinding sel atau

membran sel bakteri (Fitriah *et al.*, 2017). Tannin memiliki dua jenis, yaitu, tanin hydrolyzed dan tanin terkondensasi

2.1.3 Khasiat

Tumbuhan miana bermanfaat untuk menyembuhkan hepatitis dan menurunkan demam, batuk dan influenza. Selain itu daun tumbuhan miana ini juga berkhasiat untuk penetralisir racun (antitoksik), menghambat pertumbuhan bakteri (antiseptik), mempercepat pematangan bisul, pembunuh cacing (vermisida), wasir, peluruh haid (emenagog), membuyarkan gumpalan darah, gangguan pencernaan makanan (despepsi), radang paru, gigitan ular berbisa dan serangga. Sedangkan akar tumbuhan ini berkhasiat untuk mengatasi perut mulas dan diare. Ibu hamil dilarang meminum rebusan daun miana atau iler ini karena dapat menyebabkan keguguran . Kumala (2009) menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 1 % dapat menghambat *S. aureus*, *E.coli*. Konsentrasi 10 % dan 20 % dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri Gram positif dan Gram negatif yang digunakan. Daun miana mempunyai aktivitas dengan spektrum luas karena dapat menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif.

2.2 Tanaman Salam

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Salam

Kedudukan tanaman daun *Syzygium polyanthum* dalam sistematika (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Super Sivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotiledoneae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Species	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.)



Gambar 2.2 Daun Salam (Dokumentasi Pribadi)

Pohon atau perdu, daun tunggal, bersilang berhadapan, pada cabang mendatar seakan-akan tersusun dalam 2 baris pada 1 bidang. Kebanyakan tanpa daun penumpu. Bunga kebanyakan banci, kelopak dan mahkota masing-masing terdiri atas 4-5 daun kelopak dan sejumlah daun mahkota yang sama, kadang-kadang berlekatan. Benang sari banyak, kadang-kadang berkelopak berhadapan dengan daun-daun mahkota. Mempunyai tangkai sari yang berwarna cerah, yang kadang-kadang menjadi bagian bunga. Yang paling menarik, bakal buah tenggelam, mempunyai 1 tangkai putik, beruang 1 sampai banyak, dengan 1-8 bakal biji dalam tiap ruang. Biji dengan sedikit atau tanpa endosperm, lembaga lurus, bengkok atau melingkar (Depkes RI, 2016).

2.2.2 Kandungan Senyawa

Kandungan yang ada didalam daun salam menurut Amalina (2014) antara lain:

2.2.2.1 Tanin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal (galokatekin) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Ikatan karbon-karbon menghubungkan satu flavon dengan satuan berikutnya melalui ikatan 4-6 atau 6-8. Kebanyakan flavolan mempunyai 2-20 satuan flavon. Tanin terhidrolisis terdiri atas dua kelas, yang paling

sederhana adalah deksida galoglukosa. Tanin ini berfungsi sebagai antibakteri, anti inflamasi, anti alergi, anti karsinogen, dan anti oksidan.

Sifat kimia dari tanin yaitu tanin memiliki gugus fenol, membentuk koloid jika dilarutkan dalam air, membentuk endapan jika dicampur dengan alkaloid dan gelatin, mengendapkan protein dari larutannya, tanin dapat bereaksi dengan garam besi, tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol apabila dipanaskan pada suhu 99-102°C, tanin dapat terhidrolisa oleh asam, basa dan enzim (Risnasari, 2002).

Sifat fisika dari tanin yaitu tanin berbentuk amorf, tanin berwarna putih kekuningan sampai coklat terang, tanin berbentuk serbuk, tanin berwarna gelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka, tanin memiliki sifat bakteriostatik dan fungistatik (Risnasari, 2002).

2.2.2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol alam (Harbone, 1987). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air (Nur Aini, 2015). Flavonoid sebagai suatu senyawa fenol dalam dunia tumbuhan dapat ditemukan dalam bentuk glikosida. Flavonoid mempunyai kerangka dasar struktur C₆-C₃-C₆. Berdasarkan tingkat oksidasi serta substituenya kerangka flavonoid dibedakan menjadi berbagai jenis seperti flavon, flavonol, khalkon, santon, auron, flavon, antosianidin dan leukoantosianidin flavonoid mengandung cincin aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum UV (ultra violet) dan spektrum tampak. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula seperti glikosida. Aglikon flavonoid terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida. Fungsi flavonoid pada tumbuhan secara umum sebagai pengatur tumbuh, pengatur fotosintesis, dan aktivitas antibakteri (Evendi 2017).

2.2.2.3 Saponin

Saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut seperti air dan saponin juga bersifat non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin) (Agustina, 2017). Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa, sehingga saponin berbentuk buih menyerupai sabun yang dapat larut pada pelarut polar (Evendi 2017). Triterpen tertentu terkenal karena rasanya, terutama kepahitannya. Pencarian saponin dalam tumbuhan telah dirangsang oleh kebutuhan akan sumber sapogenin yang mudah diperoleh. Saponin dan glikosida sapogenin adalah salah satu tipe glikosida yang tersebar luas dalam tumbuhan. Dikenal dua macam saponin, yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida dengan struktur steroid.

2.2.2.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas anti bakteri yaitu menghambat esterase dan juga DNA dan RNA polimerase, juga menghambat respirasi sel dan berperan dalam interkalasi DNA. Fungsi flavonoid pada tumbuhan secara umum sebagai pengatur tumbuh, pengatur fotosintesis, dan aktivitas anti bakteri (Evendi, 2017)

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik alkaloid sering kali beracun pada manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Umumnya alkaloid tidak berwarna, bersifat optis aktif dan sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar.

2.2.3 Khasiat

Kegunaan tanaman Tanaman Salam lebih dikenal sebagai bumbu masakan, karena aromanya yang khas. Tetapi tanaman salam juga merupakan salah satu alternatif obat tradisional. Kegunaan daun salam untuk

pengobatan kolesterol tinggi, kencing manis (diabetes mellitus), tekanan darah tinggi (hipertensi), sakit maag (gastritis), diare dan asam urat (Andriani, 2016).

2.3 Simplisia

2.3.1 Pengertian Simplisia

Simplisia berasal dari kata *simple* yang mempunyai bentuk jamak dari *simpleks*, yang berarti satu atau sederhana. Untuk menandai bahan-bahan obat alam yang masih dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk biasanya disebut dengan istilah simplisia. Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipakai sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga atau kecuali dinyatakan yang baru mengalami proses setengah jadi seperti pengeringan (Prasetyo and Inorih, 2013). Simplisia dapat digolongkan menjadi tiga golongan, yaitu sebagai berikut (Kementerian, 2011) :

2.3.1.1 Simplisia Nabati

Simplisia nabati yaitu simplisia yang berasal dari tumbuhan utuh, bagian dari tumbuhan, maupun eksudat dari tanaman. Eksudat tumbuhan merupakan isi dari sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan maupun dengan cara dikeluarkan isinya dari sel atau zat nabati lain yang dipisahkan dari tumbuhan asalnya (Kementerian, 2011).

2.3.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani yaitu suatu simplisia yang berupa hewan utuh, bagian dari hewan, maupun zat-zat berguna yang dihasilkan oleh suatu hewan dan belum dalam bentuk zat kimia murni (Kementerian, 2011).

2.3.1.3 Simplisia Mineral (Pelikan)

Simplisia mineral atau pelikan yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum mengalami pengolahan dengan cara sederhana dan belum dalam bentuk zat kimia murni (Kementerian, 2011).

2.3.2 Syarat-syarat Simplisia

Simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu :

1. Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.
2. Kadar air harus kurang dari 10%
3. Adanya keseragaman bobot

4. Bahan tambahan tidak boleh mengandung pengawet, pengharum, dan pewarna. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (BPOM, 2010).

2.3.3 Penyiapan Simplisia

Tahapan penyiapan simplisia sangat penting untuk menjamin kualitas simplisia, diantaranya adalah pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, penggilingan dan penyimpanan (BPOM, 2014).

2.3.3.1 Pengumpulan Bahan Baku

Pengumpulan bahan baku berpengaruh terhadap kualitas bahan baku. Faktor yang paling berperan adalah masa panen (Narulita, 2014). Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan simplisia daun adalah daun yang masih segar, tidak busuk dan tidak cacat. Pemanenan dilakukan dengan cara dipetik atau digunting (Bahar, 2011).

2.3.3.2 Sortasi Basah

Sortasi basah ialah pemilahan hasil panen saat tanaman masih segar (Narulita, 2014). Sortasi basah dilakukan dengan tujuan memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya misalnya tanah, kerikil, rumput, dan batang atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan serta bagian tanaman yang rusak. Tanah mengandung mikroba dengan jumlah yang tinggi (Prasetyo and Inorih, 2013).

2.3.3.3 Pencucian

Pencucian dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia dan sisa pestisida yang melekat. Air yang digunakan untuk pencucian harus bersih misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM (Perusahaan Air Minum), jika air yang digunakan kotor maka dapat berpengaruh terhadap keberadaan mikroba pada permukaan simplisia. Air dapat mempercepat pertumbuhan mikroba (Prasetyo and Inorih, 2013).

Simplisia yang mengandung zat mudah larut harus dicuci dalam waktu singkat. Pencucian satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba awal sedangkan pencucian menggunakan air yang mengalir sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Prasetyo and Inorih, 2013). Pencucian dilakukan sampai air bekas cucian jernih (Bahar, 2011).

2.3.3.4 Perajangan

Simplisia dengan jenis tertentu perlu mengalami perajangan. Perajangan simplisia dilakukan dengan tujuan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan menggunakan pisau atau mesin perajang khusus untuk memperoleh ukuran yang dikehendaki. Perajangan simplisia yang tipis dapat mempercepat penguapan air sehingga dapat mempercepat pengeringan, namun apabila terlalu tipis dapat menyebabkan kerusakan dan berkurangnya zat berkhasiat yang mudah menguap sehingga mempengaruhi komposisi, bau dan rasa yang diinginkan (Prasetyo and Inorih, 2013).

2.3.3.5 Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk memperoleh simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Berkurangnya kadar air dapat menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu dan merusak simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada takaran tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Reaksi enzimatik tidak terjadi dalam simplisia bila kadar airnya kurang dari 10% (Prasetyo and Inorih, 2013).

Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering misalnya oven dengan suhu 40-50°C (Prasetyo and Inorih, 2013). Pengeringan dengan sinar matahari langsung dan oven suhu 50°C membutuhkan waktu 8 jam, sedangkan yang diangin-anginkan membutuhkan waktu hingga 4 hari (Bahar, 2011). Pengeringan menggunakan suhu ideal yaitu maksimal 50°C dengan ketebalan tumpukan 3-4 cm. Hasil pengeringan yang baik adalah simplisia daun yang mengandung kadar air maksimal 5% dan ketika diremas akan hancur yang berarti daun sudah kering optimal (Bahar, 2011).

2.3.3.6 Sortasi Kering

Sortasi kering adalah proses memilah bahan setelah mengalami pengeringan. Pemilahan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong dan bahan yang rusak (Narulita, 2014). Simplisia daun yang baik memiliki kandungan

benda asing tidak lebih dari 2%, warna dan aroma tidak berbeda jauh dari aslinya, tidak mengandung bahan beracun dan berbahaya serta tidak tercemar oleh jamur (Bahar, 2011).

2.3.3.7 Penggilingan

Penggilingan dilakukan untuk mendapatkan produk dalam bentuk serbuk dengan derajat kehalusan tertentu dengan menggunakan mesin yang terbuat dari *stainless stell*. Kehalusan partikel serbuk disesuaikan dengan kebutuhan. Derajat kehalusan serbuk 30-40 mesh digunakan untuk pembuatan produk teh, 40-60 mesh digunakan untuk ekstraksi dan 80-100 mesh untuk pembuatan kapsul (Bahar, 2011).

2.3.3.8 Penyimpanan

Simplisia disimpan dalam wadah tersendiri yang memenuhi persyaratan. Persyaratan wadah simplisia ialah harus tidak mudah bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, dan mampu melindungi simplisia dari penguapan kandungan zat aktif, pengaruh dari cahaya, oksigen dan uap air (Narulita, 2014). Tempat penyimpanan harus bersih pada suhu tidak lebih dari 30°C dan terpisah dari bahan lain yang dapat menyebabkan produk simplisia terkontaminasi serta harus bebas dari hama kutu, rayap atau tikus (Bahar, 2011).

2.4 Serbuk dan Kadar Air Simplisia

Serbuk adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat kehalusan yang cocok. Bahan bakunya berupa simplisia sediaan galenik, atau campurannya. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Derajat kehalusan simplisia merupakan salah satu faktor untuk mendapatkan ekstrak yang optimal (Salim *et al.*, 2018).

Pada umumnya proses ekstraksi akan menjadi lebih baik apabila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas. Semakin halus ukuran serbuk simplisia maka seharusnya semakin baik

proses ekstraksinya sehingga banyak zat aktif yang larut dalam cairan penyari (Endarini, 2016).

Berdasarkan dari hasil penelitian Sapri *et al* (2012) dapat diketahui bahwa pada rendemen ekstrak etanol daun sirsak yang dihasilkan dengan perbedaan ukuran serbuk 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh didapatkan hasil semakin besar ukuran nomor mesh yang digunakan dalam proses pengayakan simplisia akan menghasilkan rendemen yang semakin besar pula. Ukuran serbuk dari simplisia dapat berpengaruh terhadap hasil rendemen ekstrak yang akan diperoleh, dimana semakin kecil ukuran dari serbuk simplisia maka akan semakin besar pula hasil rendemen yang didapatkan.

Suatu serbuk simplisia harus mempunyai kadar air kurang dari 10%, karena reaksi enzimatis tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam suatu simplisia kurang dari 10%. Proses pengeringan dapat menghentikan reaksi enzimatis dalam sel apabila kadar airnya sudah mencapai kurang dari 10% (Prasetyo and Inorih, 2013).

2.5 Ekstraksi

Proses ekstraksi adalah suatu proses yang menggunakan pelarut yang sesuai untuk memisahkan antara bahan dari campurannya. Dengan konsentrasi dalam sel tanaman apabila telah tercapai suatu kesetimbangan antara senyawa dalam pelarut maka proses ekstraksi akan dihentikan (Mukhriani, 2014). Dalam berbagai macam simplisia yang dapat digolongkan dalam senyawa aktif yaitu golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Untuk mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat maka harus diketahui senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia (Endarini, 2016). Beberapa macam cara untuk melakukan Ekstraksi, yaitu ekstraksi cara dingin: maserasi dan perkolasi. Sedangkan ekstraksi cara panas: soxhlet, refluks, digesti dan infus (Emilan 2011).

2.5.1 Destilasi

Destilasi atau penyulingan adalah metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) bahan. Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini

kemudian didinginkan kembali kedalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap terlebih dahulu. sedangkan zat yang memiliki titik didih yang lebih tinggi akan mengembun dan akan menguap apabila telah mencapai titik didihnya (Mukhriani, 2014).

2.5.2 Refluks

Metode ekstraksi secara refluks pada dasarnya merupakan metode ekstraksi secara berkesinambungan. Simplisia yang akan dilakukan ekstraksi direndam dengan menggunakan cairan penyari dalam labu alas bulat yang sudah dilengkapi dengan kondensor atau alat pendingin tegak, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari pada labu alas bulat akan menguap, uap dari cairan penyari akan diembunkan oleh kondensor atau pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif simplisia dalam labu alas bulat. Ekstraksi refluks umumnya dilakukan sebanyak 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Putra *et al.*, 2014).

2.5.3 Maserasi

Metode maserasi adalah salah satu cara untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder dari sampel tanaman dengan perendaman menggunakan pelarut organik tanpa pemanasan (Hidayati., 2017). Maserasi adalah proses penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan sesekali pengadukan pada temperatur kamar. Maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus menerus disebut maserasi kinetik, sedangkan yang dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi (Depkes RI 2000).

Maserasi adalah metode ekstraksi yang dapat dilakukan dengan cara serbuk kasar atau halus dari tanaman disimpan dengan pelarut dalam wadah tertutup dalam jangka waktu tertentu pada suhu ruangan dengan menggunakan agitasi sesering mungkin sampai bahan terlarut. Metode ini sesuai untuk senyawa termolabil (Tiwari *et al.*, 2011). Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari seperti air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Perbandingan antara bahan dan pelarut yang digunakan pada metode maserasi adalah 1:7,5 atau merendam 1 bagian simplisia dengan derajat kehalusan tertentu

dengan 7,5 bagian pelarut (Ratna *et al.*, 2016). Keuntungan metode maserasi yaitu, prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan senyawa aktif tidak terurai karena proses ekstraksi dilakukan tanpa pemanasan (Nurhasnawati *et al.*, 2017).

2.5.4 Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu proses ekstraksi senyawa terlarut dari suatu jaringan selular simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu dalam keadaan baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruang. Metode perkolasi cukup sesuai untuk digunakan dalam ekstraksi pendahuluan maupun ekstraksi dalam jumlah yang besar (Mukhriani, 2014).

2.6 Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan untuk melarutkan zat lain sebagai media. Kesuksesan penentuan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi (Ncube *et al.*, 2008). Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011). Beberapa pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu sebagai berikut :

2.6.1 Air

Air dapat digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba dan termasuk pelarut universal. Air suling atau *aquadestilata* merupakan air yang diperoleh dengan cara pengembunan uap air yang terjadi akibat penguapan atau pendidihan air (Tiwari *et al.*, 2011). Air (H₂O) merupakan senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau dan tidak memiliki rasa. Air memiliki titik didih 100°C, viskositas 1,005 cP, berat molekul 18 g/mol, dan konstanta dielektrik sebesar 80,37 pada suhu 20°C (Chandra and Novalia, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kurniawati (2015) pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif *aquadesilata* steril tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. Aureus*.

2.6.2 Etanol

Etanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar, yang artinya dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Itu sebabnya etanol juga bias bercampur dengan air. Kepolaran dari etanol disebabkan adanya gugus -OH yang bersifat polar, sementara gugus etil (CH₃CH₂-) merupakan gugus non polar (Hidayah *et al.*, 2016). Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengestraksi, etanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menyari lebih banyak dibandingkan dengan pelarut lain (Kurniawati, 2015). Etanol 70% dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena memiliki keuntungan yaitu lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol pada konsentrasi lebih dari 20% dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti kapang dan kuman, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Sedangkan kerugiannya adalah etanol mahal dan mudah menguap (Rijayanti *et al.*, 2014).

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)

2.6.3 N-heksana

N-heksana merupakan jenis pelarut non-polar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa bersifat non-polar (Maulida and Naufal, 2014). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Puspita (2016) pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif yaitu heksan menunjukkan hasil bahwa

heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S.aureus*, sehingga zona hambat yang dihasilkan ekstrak bukan berasal dari pelarut heksan.

2.6.4 Etil Asetat

Etil asetat adalah suatu zat cair tak berwarna dengan bau buah yang semerbak bertitik didih 77°C dan $d = 0,9 \text{ g/ml}$. Etil asetat merupakan pelarut dengan karakteristik semi polar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid (Tiwari *et al.*, 2011). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Saleh and Marlina (2011) pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat dan heksana, ternyata hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut menunjukkan bahwa randemen ekstrak tertinggi dihasilkan ekstrak heksan yang bersifat non-polar, diikuti oleh etil asetat dan metanol.

2.6.5 DMSO

DMSO atau dimetil sulfoksida adalah senyawa organosulfur yang mempunyai rumus kimia $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ dan merupakan pelarut polar aprotik dapat digunakan sebagai pelarut senyawa polar maupun nonpolar, DMSO juga larut dalam berbagai pelarut organik maupun air. Pelarut DMSO 5% merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal. Selain itu, pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun nonpolar adalah DMSO 5%. DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu. DMSO memiliki ciri-ciri tidak berwarna, tidak berbau, agak higroskopik, dan juga merupakan pelarut bagi bahan uji anorganik dan organik (Anggraini and Masfufatun, 2017). DMSO biasa dikenal dengan sebutan krioprotektan konvensional yang dapat ditambahkan ke dalam media sel untuk mencegah kematian sel sepanjang proses pembekuan DMSO menjadi pelarut unik yang bersifat universal karena mempunyai titik beku yang tinggi, pada suhu kamar akan berupa padatan yang memiliki peran kristalisasi saat proses kimia terjadi yaitu sebagai waktu cooling, dengan nilai konstanta mencapai 47 (Ninulia 2016).

2.7 Analisis Quarcetin Menggunakan Spektro Uv-Vis

Spektrofotometri UV-Visible adalah salah satu teknik yang paling sering digunakan dalam analisis farmasi. Hal ini melibatkan pengukuran jumlah radiasi

ultraviolet atau zat yang diserap dalam larutan. Instrumen yang mengukur rasio, atau fungsi dari rasio, intensitas dua berkas cahaya di daerah UV-Visible disebut spektrofotometri Ultraviolet-Visible (Behera, 2012).

Radiasi atau cahaya putih dilewatkan melalui larutan berwarna, maka radiasi dengan panjang gelombang tertentu akan diserap (absorpsi) secara selektif dan radiasi lainnya akan diteruskan (transmisi). Absorbansi adalah perbandingan intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar datang. Nilai absorbansi ini akan bergantung pada kadar zat yang terkandung didalamnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi semakin besar atau dengan kata lain nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung didalam suatu sampel (Neldawati, 2013).

Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 sehingga dapat membentuk kompleks warna dengan $AlCl_3$ (Desmianty, 2009). Kadar kuersetin dihitung sebagai kadar flavonoid total dalam sampel. Perhitungan ini berdasarkan pada hukum Lambert-Beer yang menunjukkan hubungan lurus antara absorbansi dan kadar analit (Neldawati, 2013). Analisis kadar flavonoid merupakan pengukuran total flavonoid yang terkandung dalam sampel. Analisis kadar flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan aluminium klorida ($AlCl_3$), standar yang digunakan adalah kuersetin.

Analisis kualitatif flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak yang dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya. Absorbansi sebagai analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu

semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam suatu tanaman juga semakin tinggi (Neldawati, 2013).

Menurut Dirjen POM (2014) range nilai absorbansi yang baik yaitu berkisar antara 0,2-0,8 di daerah ultraviolet atau cahaya tampak. Kadar flavonoid didalam suatu tanaman berbeda-beda diantara setiap bagian, jaringan, dan umur tanaman, serta dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Faktor-faktor ini adalah temperatur, sinar ultraviolet dan tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar CO₂ pada atmosfer (Neldawati, 2013).

2.8 Bakteri Escherichia Coli

2.8.1. Definisi Bakteri

Nama bakteri berasal dari kata "*bakterion*" (bahasa Yunani) yang diartikan sebagai batang atau tongkat. Istilah yang digunakan untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu, tidak berklorofil, berkembangbiak dengan pembelahan diri serta dengan demikian kecilnya sehingga hanya terlihat dengan menggunakan mikroskop. Bakteri adalah mikroorganisme bersel satu yang dapat berkembang biak membelah diri (aseksual). Ukuran bakteri bervariasi baik panjangnya maupun permukaannya (bidang) (Rahmadani, 2015).

2.8.2. Penggolongan Bakteri

Bakteri dapat digolongkan berdasar pewarnaan yaitu Gram positif dan Gram negatif. Hal ini berdasar reaksi bakteri terhadap pewarnaan Gram, dimana Gram positif akan menunjukkan warna ungu dan Gram negatif akan menunjukkan warna merah dalam proses pewarnaan. Perbedaan antara Gram positif dan Gram negatif ditunjukkan oleh kandungan dinding sel. Dinding sel bakteri gram positif sebagian besar terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur tebal dan kaku. Kekakuan dinding sel bakteri yang disebabkan karena lapisan peptidoglikan dan ketebalan peptidoglikan ini membuat bakteri Gram positif resisten terhadap lisis osmotik. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lapisan peptidoglikan yang tipis, membran luar terdiri dari protein, lipoprotein, fosfolipid, lipopolisakarida dan membran dalam. Selain itu polisakarida yang terkandung pada dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (Putri, 2015).

Penggolongan bakteri berdasarkan bentuk atau morfologi dibagi menjadi tiga golongan yaitu golongan basil, kokus, spiral. Basil (dari *bacillus*) berbentuk serupa batang, silindris. Sebagian besar bakteri berupa basil. Ukuran bakteri basil lebarnya mencapai 0,2 sampai 2,0 μm sedangkan panjangnya 1 sampai 15 μm . Kokus adalah bakteri yang bentuknya bulat. Golongan ini tidak sebanyak golongan basil. Ukuran bakteri kokus biasanya memiliki diameter 0,5 μm dan ada juga yang berdiameter sampai 2,5 μm . Spiral adalah bakteri yang mempunyai bentuk berbengkok-bengkok. Jika dibandingkan dengan golongan kokus maupun golongan basil, bakteri berbentuk spiral tidak banyak dijumpai (Misnadiarly, 2014).

Penggolongan bakteri berdasarkan tingkat kebutuhan oksigen dibagi menjadi lima golongan, yaitu aerob, aerob obligat, aerob fakultatif, anaerob obligat dan *mivko-aerolhile*. Aerob merupakan bakteri yang hanya dapat hidup jika selalu tersedia oksigen. Aerob obligat merupakan bakteri yang tidak dapat hidup jika tidak ada oksigen bebas. Aerob fakultatif merupakan organisme yang dapat hidup baik dalam kondisi ada atau tidak oksigen, tetapi tumbuh lebih baik jika terdapat OTC. Anaerob obligat merupakan organisme yang hanya dapat hidup jika tidak terdapat oksigen bebas. *Mivko-aerolhile* merupakan bakteri yang hidup lebih baik pada keadaan oksigen rendah (Soedarto, 2015).

2.8.3. E. Coli

E. coli merupakan salah satu bakteri koliform yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri enterik atau bakteri yang dapat hidup dan bertahan di dalam saluran pencernaan. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang bersifat Gram-negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan merupakan flora alami pada usus mamalia (Yang dan Wang, 2014).

2.8.4. Morfologi

E. coli adalah salah satu jenis bakteri yang secara normal hidup dalam saluran pencernaan dan umum ditemukan didalam usus manusia (Anita *et al.*, 2019). *E. coli* berbentuk batang pendek (kokobasil), bersifat Gram negatif, berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm . Bakteri ini tidak membentuk spora, tidak

tahan terhadap suasana asam, tidak sensitif terhadap panas, dan sebagian besar bergerak menggunakan flagel peritrikus (merata tersebar ke seluruh permukaan sel) namun ada pula yang nonmotil, dan beberapa strain mempunyai kapsul. Cara tumbuh bakteri ini adalah anaerob fakultatif atau umumnya bersifat kemoheterotof Nilai pH yang digunakan untuk pertumbuhannya adalah 7,0-7,5 dan suhu pertumbuhannya 10oC-40oC dengan suhu optimum 37oC (Maradona, 2013).

E.coli dapat diidentifikasi pada media diferensial *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA). Media ini mempunyai kandungan *methylene blue* dimana zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif sehingga yang tumbuh hanya bakteri Gram negatif. EMBA mempunyai kondisi yang asam sehingga hal tersebut membuat kompleks presipitat dan menimbulkan warna hijau kilap logam pada *E.coli* (Putri, 2015).

2.8.5. Klasifikasi

Menurut Adriana (2017) bakteri *E.coli* diklasifikasikan sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Eschericia Coli</i>



Gambar 2.3 Bakteri *E. coli* diamati secara mikroskopis (Kusumawardani 2018)

2.8.5. Bakteri *S. aureus*

S.aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , fakultatif anaerob, tersusun berkelompok seperti buah anggur, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, menonjol, berbentuk bundar, halus dan berkilau (Jawetz 2005).

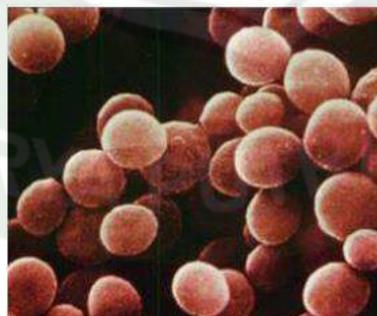
2.8.6. Morfologi

S.aureus adalah bakteri patogen utama pada manusia. Termasuk dalam famili Staphylococcacea, berukuran 0,5-1,5 μm dan membentuk pigmen kuning keemasan. Bakteri ini memiliki bentuk sel *coccus* tunggal, berpasangan, tetrad, berkelompok seperti buah anggur. Bakteri fakultatif anaerob dan tidak termasuk spora (Hidayati 2010).

2.8.7. Klasifikasi

Adapun klasifikasi ilmiah dari bakteri *S.aureus*, antara lain (Brooks *et al.*, 2008):

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2.4 Bakteri *S. aureus* diamati secara mikroskopis
(Sumber: Todar, 2008)

2.9. Antibakteri

Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode uji, yaitu dengan cara uji *in vivo* dan uji *in vitro*.

2.10.1 *In Vivo*

Uji *in vivo* merupakan metode eksperimen atau tes yang dilakukan dalam organisme hidup yaitu menggunakan hewan percobaan misalnya tikus, mencit dan kelinci. Hewan percobaan diinfeksi menggunakan bakteri tertentu dan diberi perlakuan yaitu pemberian sampel antibakteri untuk melihat aktivitas antibakteri pada sampel yang diuji (Dharmawibawa 2013).

2.10.2 *In Vitro*

Uji *in vitro* merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak. Metode yang digunakan pada pengujian *in vitro* adalah metode difusi dan metode dilusi (Lay 1994). Beberapa metode difusi yaitu metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur), *E-test*, *ditch-plate technique* dan *cup-plate technique*, sedangkan pada metode dilusi yaitu terdapat metode dilusi cair dan dilusi padat (Pratiwi 2008).

2.10.2.1 Metode Difusi

1. Metode *Disk Diffusion* (Tes Kirby & Baur)

Metode ini menggunakan kertas cakram yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Terbentuknya zona jernih di sekitar kertas cakram menandakan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme (Pratiwi 2008).

2. Metode *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Menggunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme.

Zona jernih yang dihasilkan menunjukkan kadar agen antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi 2008).

3. *Ditch-Plate Technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan kearah parit yang berisi agen antimikroba tersebut (Pratiwi 2008).

4. *Cup-Plate Technique*

Metode ini dibuat sumuran pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumuran tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi 2008).

Tabel 2.1 Kategori Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri Berdasarkan Diameter Zona Hambat (Susanto *et al.*, 2012)

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

2.10.2.2 Metode Dilusi

1. Metode Dilusi Cair/*Broth Dilution Test (Serial Diution)*1qq

Prinsip metode dilusi cair yaitu senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Larutan KHM tersebut dilakukan dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri dan dilakukan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bacterical Concentration* (MBC) (Pratiwi 2009).

2. Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

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

2.11 Obat Golongan Antibakteri

2.11.1 Kontrol Positif (*Chloramphenicol*)

Chloramphenicol menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang, karena kloramfenikol menghambat enzim peptidil transferase. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan bakteri bisa tumbuh lagi jika pengaruh obat dihilangkan (Charisma, 2020). *Chloramphenicol* merupakan suatu golongan antibiotika dengan spektrum kerja yang luas. Antibiotik ini berkhasiat sebagai bakteriostatik terhadap hampir semua bakteri gram positif dan sejumlah bakteri gram negatif. *Chloramphenicol* merupakan antimikroba dengan aktivitas mengubah proses denaturasi protein dan asam-asam nukleat sehingga dapat merusak sel tersebut dan tidak dapat diperbaiki kembali (Charisma, 2020). Senyawa flavonoid akan mengakibatkan lisis dan menghambat proses pembentukan dinding sel bakteri (Ningrum, 2019). Berdasarkan penelitian Syafriana *et al* (2020), antibiotik *chloramphenicol* termasuk antibiotik yang sering digunakan oleh masyarakat dan termasuk kedalam golongan antibiotik berspektrum luas. Antibiotik *chloramphenicol* tergolong sensitif terhadap isolat uji sebesar 75% dan menunjukkan masih tergolong efektif untuk melawan *Eschericia coli*. *Chloramphenicol* bekerja dengan mengganggu sintesis protein dengan cara berikatan pada subunit ribosom 50S (Syafriana *et al.*, 2020).

2.11.2 Karakteristik *Chloramphenicol*

Karakteristik *chloramphenicol* menurut FI IV adalah sebagai berikut:

Nama Umum : Kloramfenikol

Nama Lain : *Chloramphenicolum*

Nama Kimia : *D(-)-treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana 1,3-diol*

Suhu Lebur : 149⁰C – 153⁰C

Pemerian : Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.

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

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

2.12. Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara yang diambil dari suatu penelitian, patokan, dugaan, atau dalil sementara yang akan dibuktikan kebenarannya dalam penelitian tersebut. Pembuktian dapat dilakukan melalui hasil penelitian sehingga dapat diambil hipotesis benar atau salah, dapat diterima atau ditolak (Safitri, 2020). Berdasarkan pada masalah yang ada, maka dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

2.12.1 . Kombinasi ekstrak DMDS dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

2.12.2. Kombinasi DMDS dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 efektif sebagai antibakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya ekstrak daun salam dan daun miana sebanyak 5 kg, etanol 70%, HCl, Magnesium, NaOH, AlCl₃, FeCl₃, H₂SO₄, *aquadestilata*, pereaksi mayer, media *Nutrient Agar* (NA), Media *Nutrient Broth* (NB), bakteri uji (*E.coli* dan *S.aureus*), kapsul antibiotik *chloramphenicol* 500mg, *Dimethylsulfoxide* 5% (DMSO 5%).

3.1.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pisau, blender, ayakan mesh 80, neraca analitik, wadah *stainlees steel*, oven, kertas saring, waterbatt, statif dan klem, lampu spiritus, neraca analitik, sendok tanduk, tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, cawan porsen, seperangkat alat gelas, kapas steril, kertas saring, autoklaf (GEA YX2808), hot plate, lemari pendingin, cawan petri, pinset, kertas cakram, erlenmeyer, aluminium foil, *Ose*, mikropipet, rak tabung reaksi, bb bunsen, penggaris, tali, inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), spektrofotometer Uv-Vis.

3.2 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun miana dan daun salam yang terdapat di Kec. Sumbegempol Kab. Tulungagung, Jawa Timur.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah DM dan DS sebanyak 500g yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel tergantung (Supardi and Sudiby, 2014). Variabel bebas dalam penelitian ini merupakan maserasi DMDS menggunakan konsentrasi DM 10% DS 15%, dengan perbandingan 1:1 (10% : 15%), 1:2 (10% : 30%), 2:1 (20% : 15%).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat dalam penelitian ini merupakan adanya hambatan ekstrak DMDS terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang di buat konstan, sehingga tidak mempengaruhi variabel yang akan di teliti. Variabel ini berisi mengenai lingkungan yang dikondisikan sama dan terkendali pada saat penelitian dilakukan (Supardi and Sudiby, 2014). Variabel kontrol pada penelitian ini adalah tempat pengambilan sampel, metode maserasi, proses pencampuran ekstrak DMDS dan ujiaktivitas antibakteri.

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi adalah membandingkan suatu tumbuhan dengan satu tumbuhan lain yang sudah dikenal sebelumnya (dicocokkan atau dipersamakan), sehingga dapat mengetahui kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Diniatik 2015). Tujuan determinasi adalah untuk mengidentifikasi kecocokan atau kebenaran tanaman yang digunakan (Fidyasari, Sari, and Raharjo 2017). Sampel tanaman DMDS diidentifikasi di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur.

3.4.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan serbuk simplisia adalah proses awal pembuatan ekstrak. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah di keringkan melalui proses pembuatan serbuk tanpa menyebabkan kerusakan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga di peroleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu (Depkes RI 2008).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu bagian DM dan DS. Pembuatan simplisia dimulai dengan mengambil DM dan DS bagian daun yang tua selanjutnya melakukan sortasi basah untuk membersihkan daun dari kotoran dan benda asing. Selanjutnya melakukan pencucian sebanyak tiga kali dengan air mengalir. Proses satu kali pencucian dapat menghilangkan sebanyak 25% dari

jumlah mikroba, bila proses pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya sekitar 42% dari jumlah total mikroba awal (Depkes RI, 2008).

Proses selanjutnya melakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C, karena pada suhu 50°C mengasilkan kadar air paling rendah dibandingkan pengeringan dengan matahari langsung dan kering angin (Winarsih *et al.*, 2013). Batas suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (Depkes RI, 2008). Pengeringan dilakukan sampai simplisia mudah dipatahkan dan menimbulkan gemerisik apabila diremas. Tujuan dari pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dan tidak ditumbuhi jamur dalam penyimpanan jangka lama, menghemat tempat penyimpanan, serta menghentikan proses enzimatis sehingga metabolisme golongan senyawa yang ada dalam sampel dapat dihentikan (Nuria dkk, 2009). Simplisia yang telah dikeringkan selanjutnya dilakukan sortasi kering yang bertujuan untuk memisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya yang masih tertinggal setelah pencucian (Damayanti, 2021). Simplisia akan disimpan dalam wadah dan dihaluskan sampai menjadi serbuk halus.

Proses selanjutnya di blender menggunakan blender kering hingga menjadi serbuk lalu diayak dengan ayakan mesh 80 (Prabowo, 2021). Serbuk halus tersebut akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan dari serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Selanjutnya serbuk yang telah diayak akan ditimbang dengan bobot tertentu sesuai dengan kebutuhan untuk dilakukan proses ekstraksi secara maserasi (Damayanti, 2021).

3.4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

3.4.3.1 Uji Kadar Air

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10g simplisia dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam. Kadar air pada simplisia tidak lebih dari 10% (BPOM, 2014). Semakin tinggi kadar air maka semakin mudah suatu bahan tersebut akan rusak atau di tumbuhi mikroba dan jamur (Fidyasari et al. 2017)

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir} \times 100\%}{\text{Bobot awal}} \text{ (BPOM, 2014)}$$

3.4.4 Pembuatan Ekstrak

Ekstrak diperoleh dengan cara maserasi yakni dengan cara dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 500 gram dalam 5000 mL (Putra *et al.*, 2018). Wadah maserasi ditutup dan disimpan didalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari, setiap satu hari sekali dilakukan pengadukan atau penggojokan (Wahyuni *et al.*, 2018). Proses maserasi dilakukan hingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel yang ditandai dengan memudarnya warna maserat yang dihasilkan (Akti, 2010). Maserat dilakukan penyaringan, penyaringan dilakukan untuk memisahkan antara ampas dan filtrat (Anis *et al.*, 2011). Setelah proses pengadukan selesai, disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat ditampung dalam wadah atau botol maserasi. Filtrat hasil maserasi dipekatkan menggunakan oven pada suhu 50°C, Pemekatan menggunakan suhu 50°C bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan senyawa yang terkandung dalam tanaman seperti saponin, alkaloid, flavonoid dan tanin (Wahyuni *et al.*, 2018). Ekstrak kental dari masing-masing simplisia dikeringkan dalam oven selama 1 hari dan ditimbang hasil rendemennya (Lukman, 2016).

3.4.4.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak merupakan salah satu parameter untuk menilai mutu dari suatu ekstrak. (Wijaya *et al.*, 2018). Menurut Dewastisari (2018), nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada tumbuhan. Budiyanto (2015) menyatakan bahwa semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik ada pada suatu bahan baku. Rendemen dihitung menurut Depkes RI (2000) dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000)}$$

3.4.4.2 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol 70% sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Kurniawati 2015). Uji bebas etanol dapat dilakukan dengan cara 2 tetes asam sulfat pekat dan 1 ml kalium

dikromat ditambahkan ke dalam sampel ekstrak, jika terjadi perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan maka sampel positif bebas etanol (Midun 2012).

3.4.5 Skrining Fitokimia

3.4.5.1 Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak DMDS sampel + 1 ml 2N HCl. Filtrat ditempatkan dalam tabung dan ditambahkan pereaksi Mayer. Sampel positif ditandai, menghasilkan endapan putih kekuning-kuningan (Pradana, 2014).

3.4.5.2 Identifikasi Flavonoid

Ekstrak diambil sebanyak 0,5 gr dicampur dengan 3 ml etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 5 tetes HCl pekat. Sampel positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna kuning, jingga, atau merah (Nafisah et al., 2014). Perubahan warna yang terjadi disebabkan dengan adanya reduksi dalam flavonoid oleh Mg dan HCl (Fajriaty et al., 2018).

3.4.5.3 Identifikasi Saponin

Menimbang sebanyak 0,5 g ekstrak sampel, di tambahkan dengan 10 ml aquades panas, dinginkan, dan ditambahkan HCl 2N kemudian diaduk larutan selama 10 menit. Hasil positif menunjukkan bahwa busa terbentuk dan tetap stabil selama minimal 10 menit. Busa yang dihasilkan menunjukkan adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air, yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Sulistyarini *et al.*, 2020).

3.4.5.4. Identifikasi Tanin

Ekstrak DMDS diambil 2 gr sampel dilarutkan dengan etanol 70% sampai terendam semua, kemudian diambil 1 ml larutan sampel dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Fajriaty et al., 2018). Terbentuknya warna ini disebabkan karena setelah penambahan FeCl₃, tanin akan bereaksi dengan ion Fe³⁺ membentuk senyawa kompleks. (Afifah, 2020).

3.4.5.5. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak DMDS Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS

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 NaNO_2 5% kemudian didiamkan selama 5 menit, lalu ditambahkan 0,3 ml Al_2Cl_3 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).

3.4.6 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat bertujuan untuk mensterilkan semua peralatan saat bekerja di dalam laboratorium agar terbebas dari mikroorganisme yang mempunyai kemungkinan untuk mengganggu proses penelitian. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf, yang pertama dilakukan yaitu memasukkan semua alat kedalam autoklaf dan membuka pintu autoklaf serta kran untuk mengeluarkan air. Langkah selanjutnya menutup kran setelah air mendidih. Temperatur akan naik 121°C selama 15 menit. (Waluyo, J and Wahyuni, 2013). Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi 2008).

3.4.7 Pembuatan Media

3.4.7.1 Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)

Pembuatan media Nutrient broth dilakukan dengan melarutkan 0,08g *nutrient broth* dalam 10 mL aquades pada beaker gelas (Atlas 2010). Suspensi yang dihasilkan dipanaskan sampai mendidih, kemudian dimasukkan dalam

erlenmeyer ditutup dengan kapas dan wrap kemudian disterilisasi. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit (Arifin *et al.*, 2013).

3.4.7.2 Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Serbuk media *Nutrient Agar* (NA) ditimbang sebanyak 0,2g lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan aquadest sebanyak 10 mL, selanjutnya dipanaskan hingga larut. Ditutup mulut Erlemeyer dengan kapas, lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media siap dituangkan ke dalam cawan petri (Munira *et al.*, 2018). Proses sterilisasi selesai tabung diposisikan dalam keadaan miring (Arifin *et al.* 2013). Cawan petri terdiri dari berbagai ukuran diameter. Cawan petri dengan diameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 sampai 20 ml (Yunilas *and* Yusni, 2017).

3.4.8 Peremajaan Bakteri

Tujuan peremajaan bakteri yaitu untuk merawat bakteri agar tetap dalam kondisi yang baik. Bakteri diambil satu ose menggunakan ose steril selanjutnya digoreskan pada permukaan agar miring dengan cara silang (zig-zag) dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Rahmadani, 2015). Selanjutnya membandingkan kekeruhan biakan bakteri dengan menggunakan *Mc. Farland* (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 *Mc. Farland* mempunyai jumlah populasi sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Yusriana *et al.*, 2014).

3.4.9 Uji Identifikasi Bakteri

3.4.9.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri serta mengetahui kemurnian sel bakteri. Preparat ditetesi pewarna pertama dengan karbol gentian violet selama 2 menit, warna dibuang, ditetesi lugol selama 1 menit, kemudian preparat dilunturkan dengan alkohol 95% selama 1 menit. Setelah alkohol dibuang, preparat dicuci dengan akuades dan diberi pewarna kedua yaitu larutan fuschine selama 2 menit. Warna kemudian dibuang dan dibersihkan dengan akuades, dikeringkan dan diamati morfologi sel, serta warnanya di bawah mikroskop. Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif

apabila selnya terwarnai keunguan dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah (Dewi, 2013).

3.4.9.2 Pembuatan Suspensi Bakteri

Masing-masing koloni bakteri *S. Aureus* dan *E. Coli* diambil dari stock kultur menggunakan ose steril. Kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL NaCl 0,9% dan dikocok hingga terbentuk kekeruhan yang setara dengan standar 0,5 Mc. Farland (Munira *et al.*, 2018).

3.4.10 Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif dibuat dari sediaan obat kapsul dilakukan dengan cara membuka 1 kapsul kloramfenikol 500 mg dan menimbang serbuk sebanyak 0,1% dari bobot kapsul kloramfenikol (± 500 mg) dan menimbang serbuk sebanyak 0,1% dari bobot kapsul yaitu 5 mg, kemudian dilarutkan dalam aquadest sebanyak 100 ml (Isnawati, 2018).

3.4.11 Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5% dibuat dengan cara menambahkan 0,5 ml pelarut DMSO dengan menambahkan aquadest steril hingga diperoleh volume larutan 10 ml (Andriyawan, 2015).

3.4.12 Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan kombinasi ekstrak DMDS ditentukan berdasarkan uji pendahuluan. Berdasarkan penelitian Mpila *et al.*, (2012) dengan konsentrasi ekstrak DM 10%, mampu memberikan zona hambat sebesar 9,83 mm terhadap bakteri *S.aureus* dan 10,33mm terhadap *E.coli* hal ini termasuk dalam kategori sedang. Sedangkan menurut Utami (2020) dengan konsentrasi ekstrak DS 15% mampu menghambat bakteri *E.coli* sebesar 14 mm yang termasuk kategori kuat. DS dengan konsentrasi 10% mampu memberikan zona hambat sebesar 9,78 mm terhadap bakteri *S.aureus* (Gusmiah, Surtikanti, and Oktaviani 2014) . Selanjutnya dibuat perbandingan DMDS 1:1, 1:2, dan 2:1 dengan konsentasi 10%:15%, 10%:30%, 20%:15%, dengan konsentrasi larutan sampel dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 0,5 g dan di melarutkan dalam 5 ml pelarut. Pelarut yang digunakan adalah DMSO 5% (Halimatussa'diah and Fitriani, 2014).

3.4.13 Uji Antibakteri Variasi Konsentrasi Ekstrak

Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1%. Kloramfenikol bekerja menghambat sintesis protein pada sel bakteri (Katzung, 2004). Pemilihan kontrol positif kloramfenikol pada penelitian ini adalah karena kloramfenikol adalah antibakteri yang bersifat spektrum luas (Pertwi, 2008). Pada penelitian ini menggunakan bakteri gram positif dan gram negatif sehingga dengan menggunakan kontrol positif kloramfenikol. Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 5%.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol DMDS menggunakan metode difusi cakram kertas. Menyiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, kemudian mensterilkan kertas cakram dengan diameter 6 mm. Langkah selanjutnya yaitu menambahkan maserat DMDS dengan berbagai konsentrasi yaitu konsentrasi 10%:15%, 10:30%, dan 20%:15% pada masing-masing cakram sejumlah 20 mikroliter. Kertas cakram steril yang telah ditetesi dengan maserat, kemudian ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dengan cara menekan ke bawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan meneteskan kertas cakram dengan larutan kloramfenikol 0,1% sebanyak 20 mikroliter sampai terbasahi kertas cakram. Kontrol negatif disiapkan dengan meneteskan kertas cakram dengan pelarut DMSO 5% sebanyak 20 mikroliter. Langkah selanjutnya yaitu menginkubasi cawan petri pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian mengukur diameter zona hambatnya terhadap bakteri *E. Coli* dan *S. Aureus* (Kusumowati, Melannisa, and Prasetyawan 2014)

Diameter zona bening ekstrak lebih besar dibandingkan diameter zona bening kontrol positif, maka ekstrak sangat efektif sebagai antibakteri (Latifah, 2008). Zona bening ekstrak lebih kecil dibandingkan diameter zona bening kontrol positif, maka ekstrak masih kurang efektif sebagai antibakteri, sehingga dimungkinkan dengan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi ekstrak akan seefektif kontrol positif. (Latifah, 2008).

3.4.14 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat diukur dengan menggunakan mistar berskala/jangka sorong 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 (Mulyatni *et al.*, 2012).

3.5 Analisis Statistika

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri DM dan DS terhadap bakteri *E. coli* dan *S.aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 22 untuk melihat apakah maserasi DM DS mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan sebagai berikut :

3.5.1. Uji Normalitas Data

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

Perumusan hipotesis :

H₀ : data berdistribusi normal

H₁ : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan :

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

3.5.2. 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:

- a. Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima

- b. Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.5.3. Uji *One Way Anova*

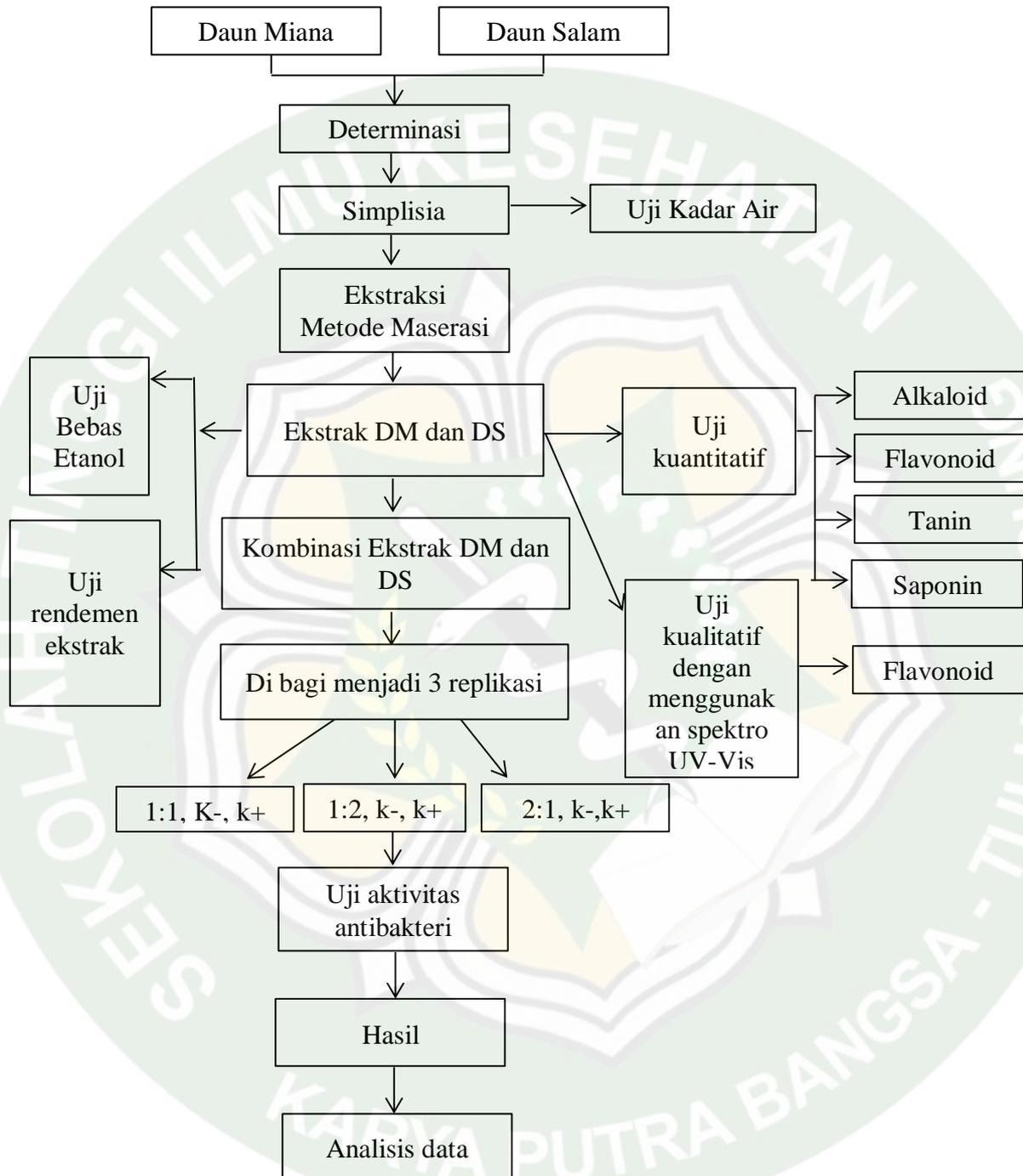
Analisis *One Way Anova* dilakukan dengan tujuan untuk melihat ada tidaknya perbedaan pada sampel yang diuji (formulasi I, II, III) sehingga didapatkan formulasi terbaik.

Pengambilan keputusan:

- a. Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
- b. Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima



3.6. Kerangka Penelitian



Gambar 3.1. Kerangka Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman DM dilakukan di Materia Medica, Batu. Hasil determinasi tanaman menunjukkan sampel yang digunakan merupakan tanaman Daun Miana (*Coleus antropurpureus L Benth*) dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250b-266b-267b-273b-276b-278b-279b-282a: Labiatae-1a-2a-4b-6b-7a: Coleus-7: *C. scutellarioides*.

Determinasi tanaman DS dilakukan di Materia Medica, Batu. Hasil determinasi tanaman menunjukkan sampel yang digunakan merupakan tanaman Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250a-251b-253b-254b-255b-256b-261a-262b-263b-264b: Mytaceae-2b: Syzygium-1b-7b-8b-11a-12b: *S. polyanthum*

4.2 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.2.1 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air merupakan salah satu parameter untuk melihat kualitas simplisia DMDS. Hal tersebut bertujuan untuk menjaga kualitas simplisia yang akan digunakan untuk proses selanjutnya. Hasil uji kadar air dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Uji Kadar Air Simplisia DMDS

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Miana (<i>Coleus antropurpureus L. Benth</i>)	10,0 g	9,1g	87%
Daun Salam (<i>Syzygium Polyanthum</i>)	10,0 g	9,3g	6,5%

Hasil uji kadar air DM sebesar 8,7% dan DS 6,5%. Hal ini sesuai dengan syarat yang tertera pada Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017 yaitu tidak lebih dari 10%. Jika kadar air dalam simplisia lebih dari 10% hal ini akan mempercepat pertumbuhan mikroorganisme sehingga terjadi pembusukan, dimana air merupakan salah satu media yang baik untuk pertumbuhan

mikroorganisme sehingga dapat mengakibatkan turunnya kualitas simplisia (Sugiarti and Setyawati 2017).

4.2.2. Uji Rendemen Ekstrak

Pembuatan ekstrak DMDS menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut etanol 70% selama 5 hari dan dilakukan penggojokan di setiap harinya. Hasil ekstrak cair proses maserasi dipekatan menggunakan oven pada suhu 50°C. Pemekatan menggunakan suhu 50°C bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan senyawa yang terkandung dalam tanaman seperti saponin, alkaloid, flavonoid dan tanin (Wahyuni *et al.*, 2018). Setelah pemekatan dilakukan uji rendemen ekstrak. Hasil perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil uji rendemen ekstrak DMDS

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	%Hasil
Daun Miana (<i>Coleus antropurpureus L. Benth</i>)	500 gr	54 gr	10,8%
Daun salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	500 gr	47 gr	9,4%

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi yaitu waktu, suhu, pengadukan dan pelarut (Febrina *et al.* 2014). Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi, semakin tinggi nilai rendemen maka semakin menurun kualitas senyawa yang ada pada ekstrak (Hasnaeni *et al.*, 2019). Hasil uji rendemen ekstrak DM sebesar 10,8% dan DS sebesar 9,4%. Menurut Susanty and Bachmid (2016) hasil rendemen dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis pelarut, konsentrasi pelarut, ukuran partikel simplisia, dan lamanya waktu ekstraksi. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan membuktikan bahwa nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Syamsul *et al.*, 2020). Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin rendah mutu yang dihasilkan (Yasi and Harsanti, 2018).

4.2.3. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari pelarut etanol sehingga didapatkan ekstrak tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Kurniawati, 2015). Perlakuan uji bebas etanol menambahkan asam sulfat pekat ke dalam ekstrak dengan tujuan membuat kondisi menjadi asam dengan kalium dikromat yang awalnya berwarna jingga, setelah bereaksi, larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi warna hijau kebiruan dikarenakan ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Ramadhani *et al.* 2020).

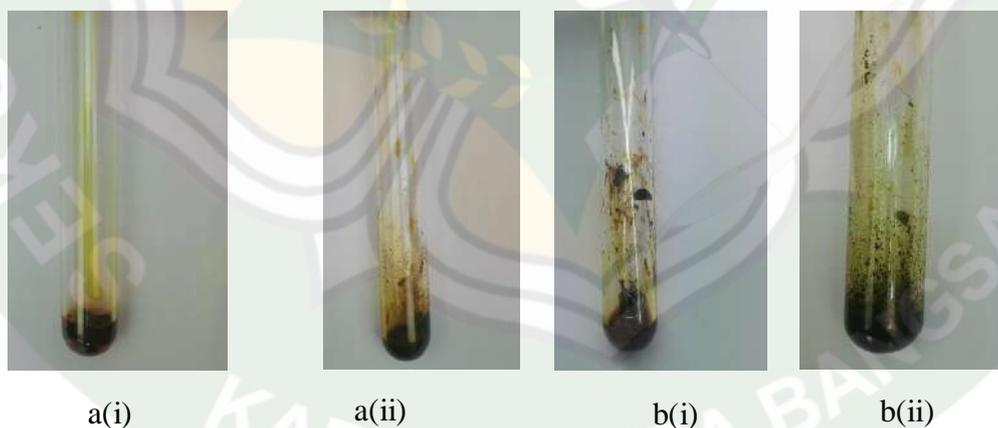
Tabel 4.3. Hasil uji bebas etanol kombinasi DMDS

Sampel	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Daun Miana (<i>Coleus antropurpleus L. Benth</i>)	Asam sulfat + kalium dikromat	+	Bebas Etanol
Daun Salam (<i>Syzygium Polyanthum</i>)	Asam sulfat + kalium dikromat	+	Bebas Etanol

Keterangan :

(+) Tidak terjadi perubahan warna

(-) Terjadi perubahan warna



Gambar 4.1. Uji Bebas Etanol DMDS

Keterangan :

a(i): DM + kalium dikromat

a(ii): DM + kalium dikromat + asam sulfat

b(i): DS + kalium dikromat

a(ii): DS + kalium dikromat + asam sulfat

Hasil uji bebas etanol ekstrak DMDS menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bebas etanol sehingga dapat digunakan untuk tahap selanjutnya. Hasil uji bebas etanol ini ditandai dengan tidak ada perubahan warna ekstrak.

4.3. Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak DMDS dengan cara menambahkan beberapa bahan kimia, sehingga dapat diidentifikasi dengan adanya perubahan warna pada sampel. Ekstrak DMDS hasil maserasi diuji dengan reagen tertentu untuk menentukan kandungan senyawa kimianya. Hal penting yang mempengaruhi dalam proses skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Pelarut yang tidak sesuai memungkinkan senyawa aktif yang diinginkan tidak dapat tertarik secara baik dan sempurna (Kristianti *et al.*, 2008). Hasil uji skrining fitokimia ekstrak DMDS dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji skrining fitokimia ekstrak DMDS

Golongan Senyawa	Hasil	Perubahan Warna
Flavonoid	+	Merah / Jingga
Alkaloid	+	Endapan / Jingga
Tanin	+	Hitam kemerahan / kehijauan
Saponin	+	Busa

Keterangan :

(+) terdapat senyawa

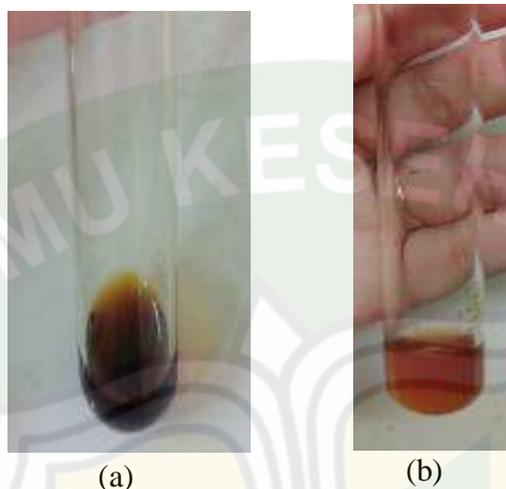
(-) tidak terdapat senyawa

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak DMDS menunjukkan bahwa ekstrak DM DS mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Hasil skrining fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian Evendi (2017) yang menyatakan bahwa daun salam mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin.

4.3.1. Uji Flavonoid

Uji flavonoid di gunakan untuk mengetahui kandungan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak DMDS. Hasil yang didapatkan pada ekstrak DMDS yaitu terbentuknya larutan berwarna merah / jingga yang menandakan adanya senyawa flavonoid. Tujuan penambahan logam Mg dan HCl adalah untuk membentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Adapun reaksi yang

terjadi antara senyawa flavonoid dengan HCl dan logam Mg dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar.4.2 Skrinning fitokimia flavonoid

Keterangan :

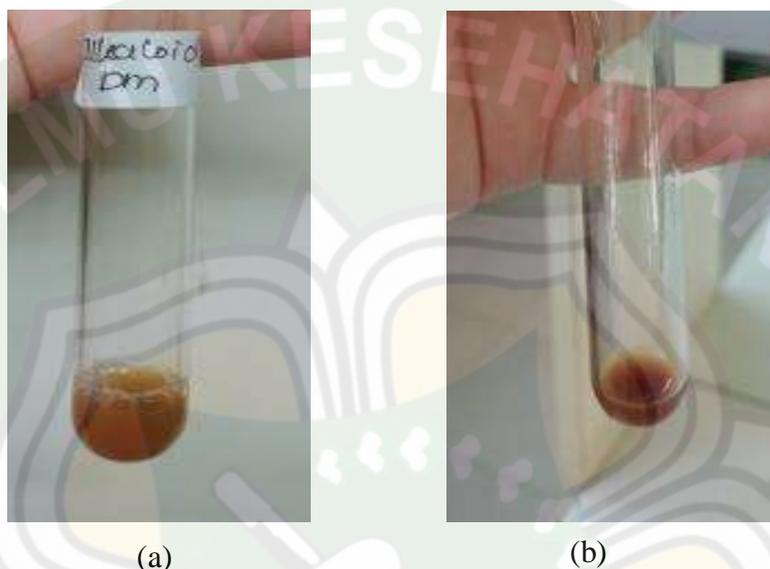
(a) : Flavonoid DS

(b) : Flavonoid DM

4.3.2. Uji Alkaloid

Hasil uji alkaloid pada ekstrak DMDS) yaitu (+) mengandung alkaloid, hal ini ditunjukkan dengan adanya endapan dan larutan berwarna jingga. Hasil uji alkaloid ekstrak didapatkan hasil positif (+) terdapat adanya endapan dan larutan berwarna jingga, karena senyawa alkaloid yang direaksikan dengan HCl 2N dan pereaksi meyer. Tujuan penambahan HCl karena senyawa alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang bersifat asam (Pradana, 2014). Pereaksi mayer dengan senyawa alkaloid dapat menghasilkan endapan. Endapan yang terbentuk adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada proses pembuatan pereaksi mayer, larutan mercury (II) klorida (HgCl_2) ditambah kalium iodida (KI) akan membentuk endapan merah mercury (II) iodida. Kalium idoda yang ditambahkan berlebih maka akan membentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Alkaloid mempunyai atom 46 nitrogen (N) yang memiliki pasangan elektron bebas sehingga digunakan untuk membentuk ikatan kovalen dengan ion logam, sehingga uji alkaloid menggunakan pereaksi mayer nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk lapisan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Ergina et al., 2014). Pereaksi mayer

merupakan pereaksi yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi alkaloid karena mampu memberikan endapan putih hampir semua alkaloid dan kebanyakan alkaloid bereaksi tanpa membedakan kelompok alkaloid (Pradana, 2014). Hasil uji alkaloid dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar. 4.3. Skrinning fitokimia alkaloid DMDS

Keterangan

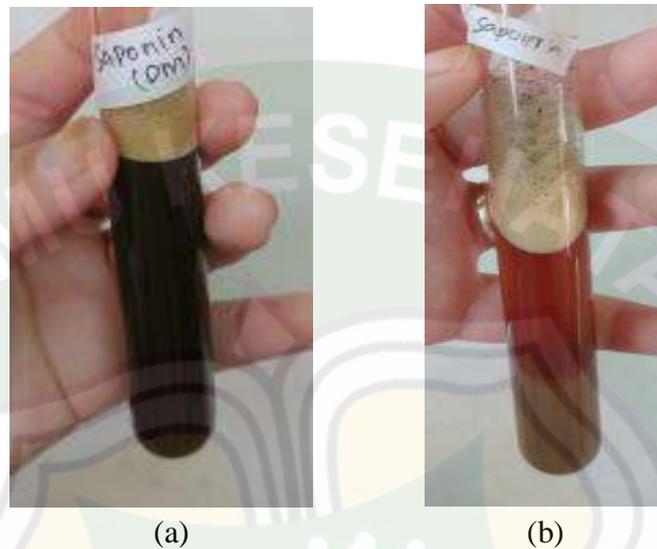
(a) : Alkaloid ekstrak DM

(b) : Alkaloid ekstrak DS

4.3.3. Uji Saponin

Uji saponin di gunakan untuk mengetahui senyawa saponin yang terkandung dalam ekstrak DMDS. Dasar reaksi uji busa adalah sifat senyawa saponin yang mudah larut dalam air dan menimbulkan busa ketika dikocok. Fungsi air pada uji saponin ini adalah sebagai pelarut. Uji fitokimia senyawa saponin dalam penelitian ini dilakukan dengan menambahkan ekstrak dengan air (1:1) kemudian dikocok selama 1 menit. Uji positif untuk saponin adalah dengan terbentuknya busa stabil selama 10 detik. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Astarina et al., 2012). Dalam penelitian ini memberikan hasil positif karena terbentuknya busa atau buih yang stabil pada ekstrak daun miana dan daun salam. Hal ini

menunjukkan ekstrak daun daun miana dan daun salam mengandung senyawa saponin.



Gambar. 4.4. Skrinning fitokimia saponin DMDS

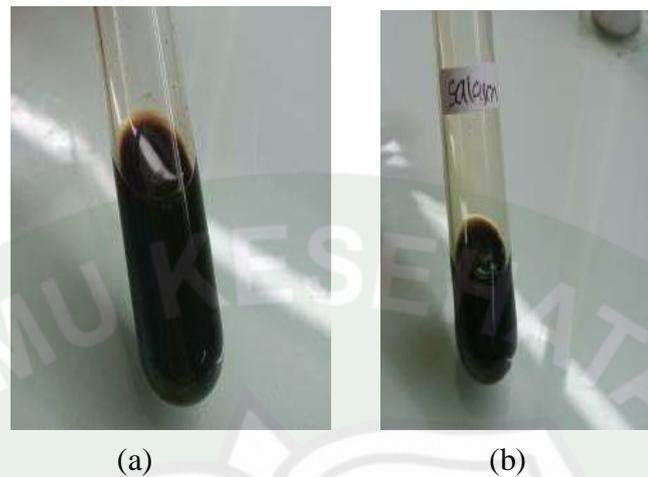
Keterangan

(a) : Saponin ekstrak DM

(b) : Saponin ekstrak DS

4.3.4. Uji Tanin

Uji tanin dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa tanin didalam ekstrak DMDS. Hasil uji tanin ekstrak DMDS adalah positif terdapat hitam kemerahan hal ini terjadi karena terbentuk senyawa kompleks dari tanin dan Fe^{3+} yang memberikan perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Putra et al., 2016). Uji fitokimia dengan menggunakan $FeCl_3$ digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan $FeCl_3$, sehingga apabila uji fitokimia dengan $FeCl_3$ memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina 2014). Hasil uji tannin dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar. 4.5. Skrinning fitokimia tanin DMDS

Keterangan:

- (a) : Tanin ekstrak DM
- (b) : Tanin ekstrak DS

4.3.5. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak DMDS dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS

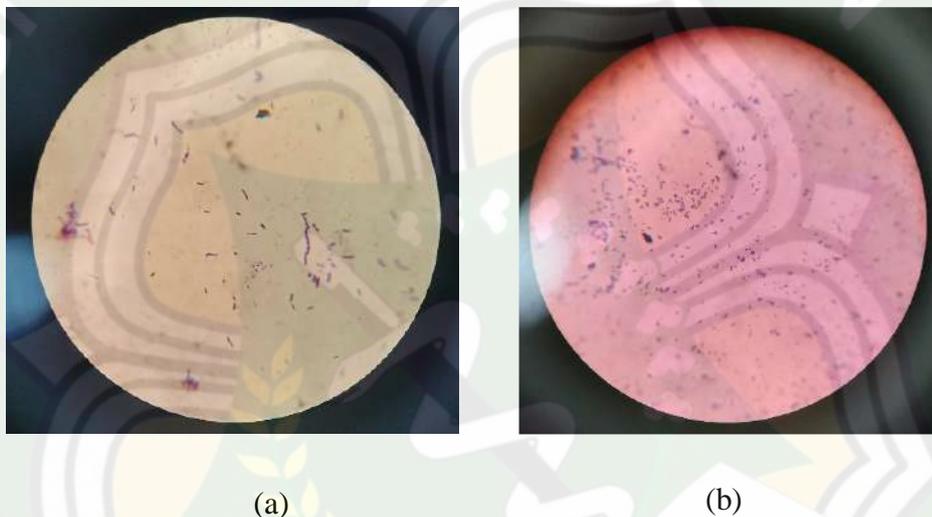
Analisis kuantitatif senyawa flavonoid total dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang optimum yaitu 510nm. Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Aminah, Tomayahu, and Abidin 2017). Nilai koefisien korelasi (r) merupakan nilai yang digunakan untuk mengetahui kuat, sedang atau lemahnya hubungan diantara variable yang diteliti. 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 0.9962.

Tabel 4. 1 Tabel kadar senyawa flavonoid ekstrak DMDS

Senyawa	Kadar (%)
Flavonoid DM	2,5%
Flavonoid DS	0,8%

Kadar flavonoid ekstrak DMDS yang digunakan dalam penelitian ini telah sesuai dengan standart kadar flavonoid total daun salam. Berdasarkan FHI (2017) kadar flavonoid total ekstrak daun salam adalah tidak kurang dari 0.4%.

4.4. Identifikasi Bakteri

**Gambar. 4.6.** Identifikasi bakteri

Keterangan

(a) : Pewarnaan *Escherichia coli* ATCC 25922

(b) : Pewarnaan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yakni *Escherichia coli* yang memiliki kode ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* yang memiliki kode ATCC 25923 dan bersertifikat yang di peroleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, Jawa Timur.

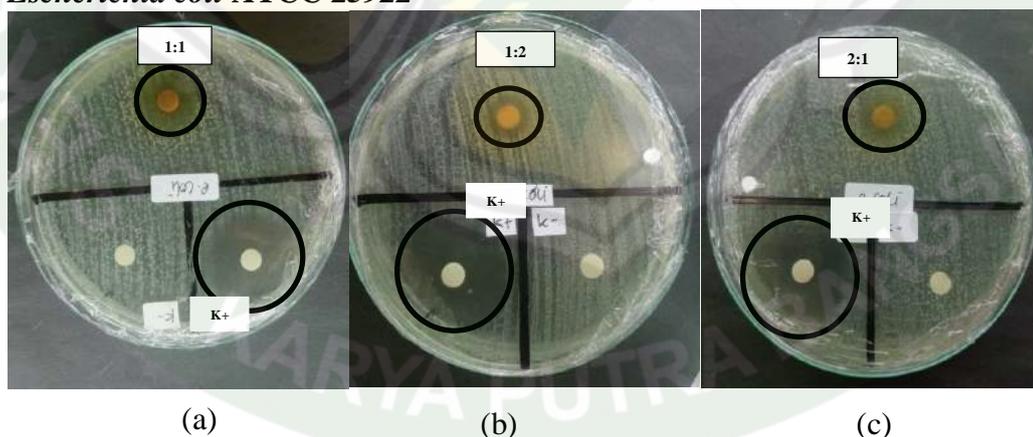
Uji pewarnaan ini dilakukan untuk memastikan kebenaran dari sertifikat yang telah tertera pada masing-masing bakteri. Hasil yang didapatkan pada pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 membentuk warna merah. Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan salah satu bakteri Gram negatif. Berdasarkan penelitian Tivani (2019) bakteri Gram negatif memiliki bentuk seperti batang. Pada pewarnaan Gram, bakteri

Gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol, dan ketika diberi zat pewarna safranin akan tampak berwarna merah. Sedangkan pada pewarnaan Gram yang dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berwarna ungu, berbentuk bulat, dan bergerombol setelah pengamatan dibawah mikroskop. Warna ungu yang dihasilkan dari uji pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri tersebut ialah bakteri Gram positif. Warna ungu ini terjadi karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu kristal violet (cat Gram A) (Nasirudin, 2018). Perbedaan sifat Gram positif dan negatif dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri Gram positif kandungan peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan Gram negatif (Hayati *et al.*, 2019).

4.5. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak DMDS

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada ekstrak DMDS untuk mengetahui adanya suatu aktivitas antibakteri dari ekstrak DMDS terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan pengujian *in vitro* adalah metode difusi atau metode cakram kertas. Metode ini dipilih karena pengerjaan yang sederhana, mudah, dan cepat karena hanya menggunakan cakram kertas (Jayanti *et al.*, 2017).

4.5.1. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak DMDS Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922



Gambar. 4.7. Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Keterangan :

(a) : perbandingan 1:1 (10% DM : 15% DS)

(b) : perbandingan 1:2 (10% DM : 30% DS)

(c) : perbandingan 2:1 (20% DM : 15% DS)

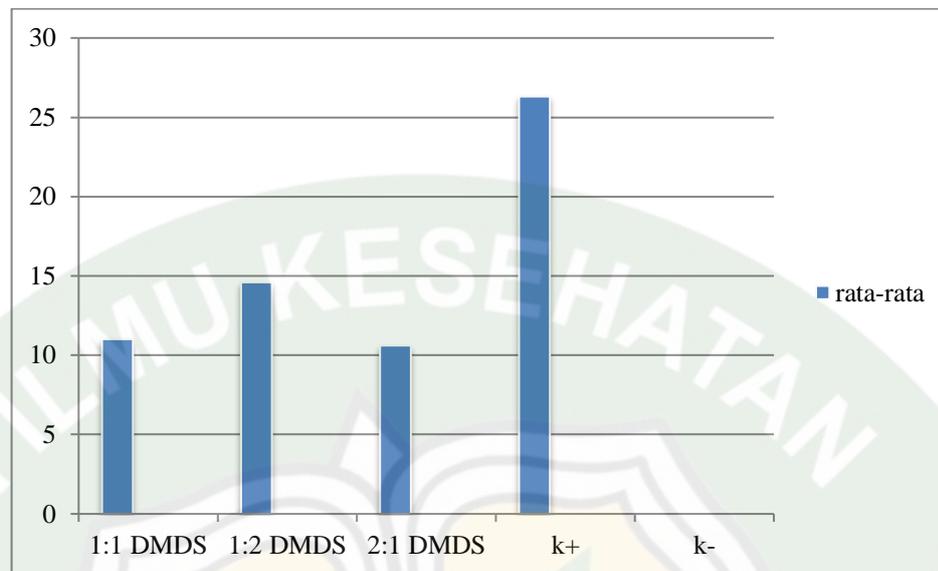
Tabel.4.5. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS terhadap bakteri

Escherichia coli ATCC 25922

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata \pm SD	Kekuatan Hambat
		I	II	III		
<i>E. coli</i>	K+	27	25,5	25,5	26 \pm 0,86	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0 \pm 0	0
	1:1	6	13	14	11 \pm 4,35	Kuat
	K+	30	27	24	27 \pm 3	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0 \pm 0	0
	1:2	13	14	17	14,6 \pm 2,08	Kuat
	K+	28	25	25	26 \pm 1,73	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0 \pm 0	0
	2:1	7	12,5	12,5	10,6 \pm 3,17	Kuat

Tabel 4.6 Tabel Uji Tukey subset ekstrak DMDS terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

ZONA HAMBAT					
Subset for alpha = 0,05					
	Konsentrasi	N	1	2	3
Tukey HSD	K-	3	0,00		
	2:1 DMDS	3		10,66	
	1:1 DMDS	3		11,00	
	1:2 DMDS	3		14,66	
	K+	3			26,33
	Sig.		1,00	0,38	1,00



Gambar 4.8. Diagram batang rata-rata zona hambat Ekstrak DMDS terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS menggunakan kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1% menunjukkan adanya zona bening atau zona hambat sebesar 26,3 mm (Tabel 4.6). 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 ($p > 0,05$). Pada uji homogenitas diperoleh nilai signifikan sebesar 0,635 sehingga dapat dikatakan terdistribusi normal karena nilai sig ($p > 0,05$). Berdasarkan tabel *post hock* kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol negatif maupun dengan perbandingan kombinasi ekstrak. Zona hambat kontrol positif masuk dalam kategori sangat kuat, hal ini dikarenakan kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum luas dan memiliki daya hambat anti mikroba yang kuat. Mekanisme kerja kloramfenikol sama dengan metabolit skunder flavonoid adalah dengan menghambat sintesis protein, mencegah ujung aminoasil tRNA bergabung dengan peptidil tranferase (enzim yang menghubungkan asam amino dengan rantai peptide selama proses sintesis protein)(Kusumawati, Apriliana, and Yulia, 2017).

Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh basis pelarut terhadap pertumbuhan bakteri uji, sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas yang ditunjukkan oleh ekstrak ialah zat yang terkandung dalam sampel bukan berasal dari pelarut yang digunakan (Hastuti, Taurhesia, and Wibowo 2019). Pelarut dan kontrol negatif yang digunakan yaitu *Dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%, karena dengan konsentrasi tersebut tidak akan membentuk zona hambat bakteri, pelarut ini mempunyai aktivitas antibakteri pada konsentrasi diatas 5% dan pada konsentrasi 2% tidak efektif (Suryaku, 2017). 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, Putri, and Sari, 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 DMDS digunakan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherihia coli* ATCC 25922. Hasil yang diperoleh dari penelitian menghasilkan rata-rata zona hambat yaitu 1:1 sebesar 11 mm, 1:2 sebesar 14,6 mm dan 2:1 sebesar 10,6 mm. 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 14,6 mm.

Uji normalitas data menggunakan *shapiro-wilk* menunjukkan bahwa nilai signifikan yang menunjukkan $p>0,05$ artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan nilai yang signifikan. Uji *one way anova* yang diperoleh sebesar $<,001$. Karena nilai $p<0,05$ maka nilai rata-rata antar perbandingan berbeda bermakna. Berdasarkan tabel *post hock* yang

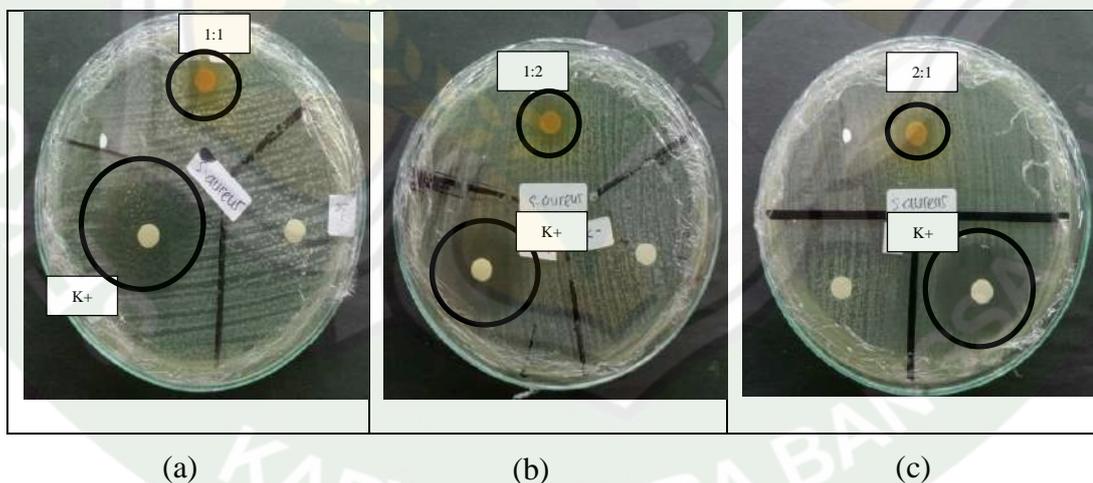
menunjukkan nilai $p < 0,05$ berarti data tersebut signifikan atau berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Uji *post hoc* menunjukkan diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 untuk perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kontrol positif dan kontrol negatif. Perbandingan yang memiliki zona hambat terbesar dan mendekati kontrol positif adalah perbandingan 1:2, hal ini dikarenakan 1:2 merupakan konsentrasi tertinggi. Semakin tinggi perbandingan yang dilakukan maka hasil zona hambat yang terbentuk semakin besar pula (Maharani, Gama, and Masruhim, 2017). Hal ini didukung oleh penelitian Mpila *et al.*, (2012) bahwa miana dengan konsentrasi 10% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar 10,33mm dan berdasarkan penelitian Utami (2020) daun salam dengan konsentrasi 15% mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* sebesar 14 mm. Menurut Siatava (2013) hal ini dapat disebabkan karena adanya interaksi yang sinergis antara senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung pada masing-masing daun jika dikombinasikan. Perbandingan 1:2 memiliki zona hambat paling baik disebabkan juga karena adanya metabolit sekunder pada DMDS seperti flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid.

Ekstrak DMDS memiliki kandungan flavonoid, saponin, tanin, alkaloid yang merupakan senyawa antibakteri. Flavonoid memiliki sifat antibakteri dimana mekanisme kerjanya adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Darmawati *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian (Haryati and Chairul Saleh, 2015) Senyawa flavonoid pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa flavonoid berkoagulasi dengan protein seluler. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Tanin

memiliki aktifitas antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Efek antibakteri tanin antara lain melalui : reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tannin dalam menghambat bakteri dengan menginaktivasi adhesi sel bakteri (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel dan enzim serta mengganggu transport pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel yang menyebabkan kerusakan dinding sel. Hal ini menyebabkan fosfolipid tidak dapat mempertahankan bentuk membrane sel, akibatnya membrane akan rusak dan mengalami hambatan pertumbuhan (Evendi 2017). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Nikham, 2012). Flavonoid diketahui memiliki sifat antibakteri dimana mekanisme kerjanya adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Darmawati *et al.*, 2015).

4.5.2. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak DMDS Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Gambar. 4.8. Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Gambar 4.8 Uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS terhadap bakteri *S.aureus*
Keterangan :

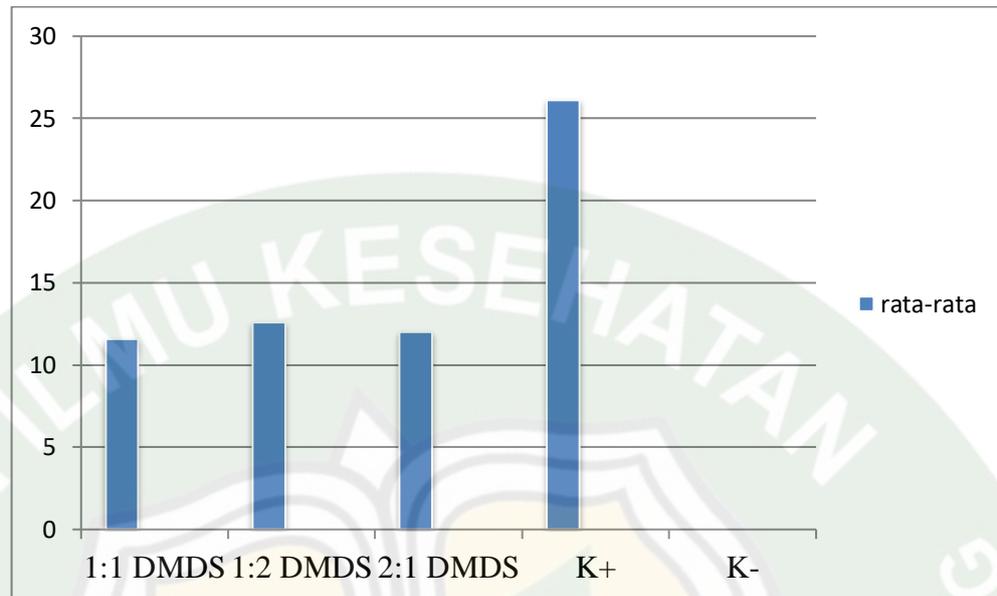
- (a) : perbandingan 1:1 (10% DM : 15% DS)
- (b) : perbandingan 1:2 (10% DM : 30% DS)
- (c) : perbandingan 2:1 (20% DM : 15% DS)

Tabel. 4.7. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata ± SD	Kekuatan Hambat
<i>S.aureus</i>	K+	25	25	26,5	25,5 ± 0,86	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0 ± 0	0
	1:1	6	12	17	11,6 ± 5,50	kuat
	K+	28	25,5	25	26 ± 1,60	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0 ± 0	0
	1:2	12	13	13	12,6 ± 0,57	Kuat
	K+	28	27	26,5	27 ± 0,76	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0 ± 0	0
	2:1	12,5	11	12,5	12 ± 0,86	kuat

Tabel. 4.8. Tabel uji Tukey subset ekstrak DMDS terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

zona hambat					
	Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	k-	3	0,00		
	1:1	3		11,66	
	2:1	3		12,00	
	1:2	3		12,66	
	k+	3			26,16
	Sig.		1,00	0,98	1,00



Gambar.4.10. Diagram batang rata-rata zona hambat Ekstrak DMDS terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS menggunakan kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1% menunjukkan adanya zona bening atau zona hambat sebesar 26,1 mm (Tabel 4.8). 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 ($p > 0,05$). Pada uji homogenitas diperoleh nilai signifikan sebesar 0,078 sehingga dapat dikatakan terdistribusi normal karena nilai sig ($p > 0,05$). Berdasarkan tabel *post hock* kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol negative maupun dengan perbandingan kombinasi ekstrak. Zona hambat kontrol positif masuk dalam kategori sangat kuat, hal ini dikarenakan kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum luas dan memiliki daya hambat anti mikroba yang kuat. Mekanisme kerja kloramfenikol sama dengan metabolit sekunder flavonoid adalah dengan menghambat sintesis protein, mencegah ujung aminoasil tRNA bergabung dengan peptidil tranferase (enzim yang menghubungkan asam amino dengan rantai peptide selama proses sintesis protein)(Kusumawati *et al*, 2017).

Uji antibakteri ekstrak DMDS digunakan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil yang diperoleh dari penelitian menghasilkan rata-rata zona hambat yaitu 1:1 sebesar 11,6 mm, 1:2 sebesar 12,6 mm dan 2:1 sebesar 12 mm. 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 12,6mm.

Uji normalitas data menggunakan *shapiro-wilk* menunjukkan bahwa nilai signifikan yang menunjukkan $p > 0,05$ artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan nilai yang signifikan. 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 nilai $p < 0,05$ berarti data tersebut signifikan atau berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Berdasarkan tabel *post hock* yang menunjukkan nilai $p < 0,05$ berarti data tersebut signifikan atau berbeda bermakna dengan konsentrasi lain. Uji *post hock* menunjukkan diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 untuk perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kontrol positif dan kontrol negatif. Perbandingan yang memiliki zona hambat terbesar dan mendekati kontrol positif adalah perbandingan 1:2, hal ini dikarenakan 1:2 merupakan konsentrasi tertinggi. Semakin tinggi perbandingan yang dilakukan maka hasil zona hambat yang terbentuk semakin besar pula (Maharani *et al*, 2017). Hal ini di dukung oleh penelitian Mpila *et al*, (2012) bahwa miana dengan konsentrasi 10% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 10,33 mm dan berdasarkan penelitian (Gusmiah *et al*, 2014) daun salam dengan konsentrasi 10% mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 9,78 mm. Menurut Siatava (2013) hal ini dapat di sebabkan karena ada nya interaksi yang sinergis antara senyawa-senyawa bioaktiv yang terkandung pada masing-masing daun jika di kombinasikan. Perbandingan 1:2 memiliki zona hambat paling baik disebabkan juga karena adanya metabolit sekunder pada DMDS seperti flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid.

Ekstrak DMDS memiliki kandungan flavonoid, saponin, tanin, alkaloid yang merupakan senyawa antibakteri. Flavonoid memiliki sifat antibakteri dimana mekanisme kerjanya adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Darmawati *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian (Haryati and Chairul Saleh, 2015) Senyawa flavonoid pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa flavonoid berkoagulasi dengan protein seluler. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Tanin memiliki aktifitas antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Efek antibakteri tanin antara lain melalui : reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tannin dalam menghambat bakteri dengan menginaktivasi adhesi sel bakteri (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel dan enzim serta mengganggu transport pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel yang menyebabkan kerusakan dinding sel. Hal ini menyebabkan fosfolipid tidak dapat mempertahankan bentuk membrane sel, akibatnya membrane akan rusak dan mengalami hambatan pertumbuhan (Evendi, 2017). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diprediksi melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Nikham, 2012).

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Kombinasi ekstrak DMDS memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang ada pada setiap perbandingan.
2. Kombinasi ekstrak DMDS mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* mempunyai konsentrasi optimum 1:2 dengan diameter hambat *Escherichia coli* sebesar 14,6 mm dan diameter hambat *Staphylococcus aureus* sebesar 12,6mm, yang ditandai dengan zona hambat paling luas dan analisis data. Sedangkan DMDS belum bisa menyamai K+ di karenakan banyak faktor.

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 emnggunakan rotary evaporator agar hasil ekstrak lebih baik.
4. Pembuatan variasi konsentrasi DMDS untuk kedepan nya harus menggunakan metode yang tepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, Wulan, Nurhamidah, and Dewi Handayani. 2017. "Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Bantang Jarak (*Ricinus Communis L.*)." *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia* 1(2):Hlm. 117-122.
- Amalia, Alfi, Irma Sari, and Risa Nursanty. 2017. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumeabalsamifera(L.) DC.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*(MRSA)." *Prosiding Seminar Nasional Biotik* 387-91.
- Amelia, F. R. 2015. "Penentuan Jenis Tanin Dan Penetapan Kadar Tanin Dari Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia Speciosa Pers.*) Secara Spektrofotometri Dan Permanganometri." *Calyptra : Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya* 4(2):1-20.
- Amin, Lukman Zulkifli. 2014. "Pemilihan Antibiotik Yang Rasional." *PPDS Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia* Vol. 27, N.
- Aminah, Aminah, Nurhayati Tomayahu, and Zainal Abidin. 2017. "PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH ALPUKAT (*Persea Americana Mill.*) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS." *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 4(2):226-30. doi: 10.33096/jffi.v4i2.265.
- Andriyawan, Fariza. 2015. "Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Cengkodok (*Melastoma Malabathricum L.*) Terhadap *Escherechia Coli* Secara in Vitro." *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura* 11-13.
- Anggraini, V., & Masfufatun, M. 2017. "Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Dan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida Albicans*." *Jurnal Kimia Riset* 2:86-92.
- Anita, Mujahidah Basarang, Dewi Arisanti, Rahmawati, and Andi Fatmawati. 2019. "Analisis Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Miana (*Coleus Atropurpureus*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Vibrio Cholera*." *Seminar Nasional Sains, Teknologi, Dan Sosial Humaniora Uit 2019* 1-9.

- Arifin, Haris Nursyah, Rachmawati Ningsih, Avin Ainur Fitrianiingsih, and Abdul Hakim. 2013. "ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST SEA CUCUMBER EXTRACT (*Holothuria Scabra*) SIDAYU COAST GRESIK USING DISK DIFFUSION METHOD." *Alchemy* 2(2):101–6. doi: 10.18860/al.v0i0.2882.
- Atlas, R. .. 2010. *Handbook Of Microbiological Media*. 4th ed. Washington D.C: CRC Press.
- Auliawan, R., B. Cahyono. 2014. "Efek Hidrolisis Ekstrak Daun Iler (*Coleus Scutellarioides*) Terhadap Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase." *Jurnal Sains Dan Matematika* 22(1):15–19.
- Besung, I. Nengah Kerta. 2012. "PEGAGAN (*Centella Asiatica*) SEBAGAI ALTERNATIF PENCEGAHAN PENYAKIT INFEKSI PADA TERNAK." *Buletin Veteriner Udayana* 1(2):61–67.
- BPOM.2014. n.d. "Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional." Jakarta: BPOM RI. Page 3-25.
- Brooks, G. F., J.S. Butel, Ornston, L. .. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran (Terjemahan)*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Charisma, N. Q. S. 2020. "Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*." *Skripsi (Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung)*.
- Damayanti, M. V. 2021. "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KENIKIR (*Cosmos Caudatus Kunth.*) SECARA DIFUSI TERHADAP BAKTERI *Bacillus Cereus*." *Skripsi (STIKES KARYA PUTRA BANGSA)*.
- Darsana, I. Besung, I. Mahatmi, H. 2012. "Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara In Vitro." *Indonesia Medicus Veterinus*.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Umum Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Obat Dan Makanan.
- Depkes RI. 2008. "Farmakope Herbal Indonesia." *Edisi 1*.
- Dewi, A. K. 2013. "Isolasi, Identifikasi Dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus Aureus* Terhadap Amoxicillin Dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa

(Pe) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta.”

Jsv Jurnal Sain Veteriner 2.

Dharmawibawa, Iwan Doddy. 2013. “UJI IN VITRO DAN IN VIVO EKSTRAK HIBUSCUS SABDARIFFA SEBAGAI ANTIBAKTERI SALMONELLA TYPHIMURIUM.” *Jurnal Ilmiah Biologi “Bioscientist”* 1(1).

Diniatik. 2015. “PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOLIK DAUN KEPEL (*Stelechocarpus Burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI.” *Jurnal Ilmiah Farmasi* 1:1–5.

Emilan, T. et al. 2011. “Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal.” (Universitas Indonesia).

Ergina, Siti Nuryanti dan Indarini Dwi Pursitasari. 2014. “Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol.” *J. Akad. Kim* 3(3):165–72.

Evendi, Agus. 2017. “UJI FITOKIMIA DAN ANTI BAKTERI EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum*) TERHADAP BAKTERI *Salmonella Typhi* DAN *Escherichia Coli* SECARA IN VITRO Agus Evendi Analisis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Kaltim, Jl. Kurnia Makmur No. 64 Abstrak PENDAHULUAN Indo.” *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal* II(1):1–9.

Faizah, Nurul, Erna Sulistyowati, and Reza Hakim. 2021. “Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun *Syzygium Polyanthum* Dengan Kotrimoksazol Pada *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro.” *Jurnal Kedokteran Komunitas* 9(1):1–9.

Fauziah Halimatussa’diah, Victoria Yulita Fitriani, Laode Rijai. 2014.

“AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMBINASI DAUN CEMPEDAK (*Artocarpus Champedan*) DAN DAUN BANDOTAN (*Ageratum Conyzoides* L).” Vol 2. No.(ISSN: 2087-7099; e-ISSN: 2407-6090):248–51.

Febrina, Ellin, Muhammad Ridwan, Rani Ratnawati, and Ivan Pradipta. 2014.

“Identifikasi Pola Penggunaan Antibiotik Sebagai Upaya Pengendalian Resistensi Antibiotik.” *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy* 1(1):0–0.

- Fidyasari, Ambar, Rizky Mayang Sari, and Sentot Joko Raharjo. 2017. "Identifikasi Komponen Kimia Pada Umbi Bentul (*Colocasia Esculenta* (L .) Schott) Sebagai Pangan Fungsional Chemical Component Identification of (*Colocasia Esculenta* (L .) Schoot) as Functional Food." 14–21. doi: 10.20473/amnt.v1i1.2017.14-21.
- Fitriah, Mappiratu, Prismawiryanti. 2017. "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN TANAMAN JOHAR (*Cassia Siamea* Lamk.) DARI BEBERAPA TINGKAT KEPOLARAN PELARUT." *KOVALEN Jurnal Riset Kimia* 3(3):242–51.
- Fitriyah, Nikmatul, Mahendrata K. Purwa, M. Afif Alfiyanto, Nila Wahuningsih, and Joko Kismanto. 2013. "Obat Herbal Antibakteri Ala Tanaman Binahong." *Jurnal KesMaDaSka* 116–22.
- Foster, Timothy J., Joan A. Geoghegan, Vannakambadi K. Ganesh, and Magnus Höök. 2014. "Adhesion , Invasion and Evasion : The Many Functions of the Surface Proteins of *Staphylococcus Aureus*." *Nature Publishing Group* 12(1):49–62. doi: 10.1038/nrmicro3161.
- Ghazali, I. 2011. *Aplikasi Analisa Multivariate Dengan Program SPSS 19*. Semarang: BP Universitas Diponegoro.
- Gusmiah, Tisa, Surtikanti, and Rizka U. Oktaviani. 2014. "Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Syzigium Polyanthum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro." *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan* 5(Vol 5 No 1 (2014): Jurnal Keperawatan dan Kesehatan (JK2)):33–43.
- Halimu, Rizkito Bay, Rieny S.Sulistijowati, and Lukman Mile. 2017. "Identifikasi Kandungan Tanin Pada *Sonneratia Alba*." *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan* 5(4):93–97.
- Harjono., Hidayati AS dan. 2017. "Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum Conyzoides*. L) Dalam Pelarut Etanol."
- Hastuti, Ninik Setya, Shelly Taurhesia, and Agung Eru Wibowo. 2019. "Aktivitas Secara in Vitro Dan in Vivo Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Dan Pegagan (*Centella Asiatica* (l). Urb.) Sebagai Gel Anti

- Jerawat.” *Intisari Sains Medis* 10(3):629–36. doi: 10.15562/ism.v10i3.351.
- Hayati, Laila Nur, Wiwiek Tyasningsih, Ratih Novita Praja, Sri Chusniati, Maya Nurwartanti Yunita, and Prima Ayu Wibawati. 2019. “Isolasi Dan Identifikasi *Staphylococcus Aureus* Pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis Di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi.” *Jurnal Medik Veteriner* 2(2):76. doi: 10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82.
- Hidayah, Nikmatul, Aisyah Khoirotnun Hisan, Ahmad Solikin, Irawati, and Dewi Mustikaningtyas. 2016. “Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum Muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus Aureus*.” *Journal of Creativity Students* 1(1):1–9.
- Hidayati, N. 2010. “Isolasi Dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Umbi Bawang Putih (*Allium Sativum*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri *S.Mutans* Dan *E. Coli*.” UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Huda, C., A. E. Putri, and D. W. Sari. 2019. “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat.” *Jurnal SainHealth* 3(1):9–12.
- Iptek, Sentra Informasi. 2009. “Senggani (*Melastoma Affine* G. Don).”
- Jawetz, Melnick & Adelberg’s. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2014. “Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25.” Salemba Medika : Jakarta.
- Jayanti, Tri Desi, Ariyanti, and Eni Masruriati. 2017. “Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Dan Sirup Daun Rambutan (*Nepheliumlappaceum* Linn) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Secara In Vitro.” *Jurnal Farmasetis* 6(2):71–76.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. “Profile Kesehatan Republik Indonesia.”
- Kenneth, Todar. 2008. “*Staphylococcus Aureus* and *Staphylococcal* Disease.”
- Kurniawati, Evi. 2015. “DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL TUNAS BAMBU APUS TERHADAP BAKTERI *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* SECARA IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY THE BAMBU APUS SHOOT OF *Escherichia Coli* DAN *Staphylococcus Aureus* IN VITRO.” 193–99.

- Kusumawardani, Annisa. 2018. "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT UMBI *Eleutherine Palmifolia* (L.) TERHADAP *Escherichia Coli* DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM." (Universitas Muhammadiyah Malang).
- Kusumawati, Eko, Anita Apriliana, and Rahmi Yulia. 2017. "KEMAMPUAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN NANGKA (*Atrocarpus Heterophyllus* Lam.) TERHADAP *Escherichia Coli*." *Jurnal Sains Dan Kesehatan* 1(7):327–32. doi: 10.25026/jsk.v1i7.51.
- Kusumowati, Ika Trisharyanti Dian, Rosita Melannisa, and Angga Prasetyawan. 2014. "DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SENGGANI (*Melastoma Affine* D. Don)." *Biomedika* 6(2):22–25. doi: 10.23917/biomedika.v6i2.278.
- Latifah, Qurrotu A'yunin. 2008. "ANTIBAKTERI PADA BUAH BELIMBING WULUH Oleh : QURROTU A ' YUNIN LATHIFAH NIM : 03530015 JURUSAN KIMIA FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALANG MALANG."
- Lay, B. .. 1994. *Analisis Mikroba Di Laboratorium*. Jakarta: PT Grafindo Persada.
- Lutpiatina, Leka. 2017. "CEMARAN *Staphylococcus Aureus* DAN *Pseudomonas Aerogenosa* PADA STETESKOP DIRUMAH SAKIT." *Jurnal Teknologi Laboratorium* 6(2):61. doi: 10.29238/teknolabjournal.v6i2.94.
- Maharani, Maylasari Dewi, Sabaniah Indjar Gama, and Muhammad Amir Masruhim. 2017. "Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Etanol Daun Kelor (*Moringa Oliefera* Lam) Dan Daun Salam (*Syzygium Polyanthun* Walp)." *Mulawarman Pharmaceutical Conference* 48–53.
- Majidah, Dewi, Dwi Warna Aju Fatmawati, Achmad Gunadi, Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Fakultas Kedokteran Gigi, and Universitas Jember. 2014. "Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium Graveolens* L .) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans* Sebagai Alternatif Obat Kumur (Antibacterial Activity of Celery Leaves Extract [*Apium Graveolens* L .] against *Streptococcus Mutans* as an Alternative."

- Malangnia, L. P., Sangia, M. S. & Paendonga, J. J. E. 2012. "Penentuan Kandungan Tanin Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.)." *Jurnal Mipa Unsrat Online* 1(1):5–10.
- Maulita Cut Nuria, Arvin Faizatun, Sumantri. 2009. "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha Curcas* L) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, *Escherichia Coli* ATCC 25922, Dan *Salmonella Typhi* ATCC 1408." VOL 5 NO 2:HAL 26-37.
- Midun. 2012. "Uji Efektivitas Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia Purpurata* K. Schum) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan Bakteri *Escherichia Coli* Dengan Metode Dics Diffusion." Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Minarno, E. B. 2015. "Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavonoid Pada Buah *Carica Pubescens* Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cangar, Dan Dataran Tinggi Dieng." *El-Hayah* 5(2):73–82.
- Mpila, Deby. ..., Fatimawali, and Weny I. Wiyono. 2012. "Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (*Coleus Atropurpureus* [L] Benth) Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Secara in-Vitro." *Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (Coleus Atropurpureus [L] Benth) Terhadap Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli Dan Pseudomonas Aeruginosa Secara in-Vitro* 13.
- Nasirudin. 2018. "Velabo: Buletin Laboratorium Veteriner Edisi I." 25.
- Ningrum, Dkk. 2019. "Efektivitas Ekstrak Daun Maja (*Crescentia Cujete* L.) Sebagai Antibakteri Pada Bakteri *E. Coli* Dan *S. Aureus* Effectiveness Maja Leaves (*Crescentia Cujete* L.) As Antibacterial in *E. Coli* and *S. Aureus* Bacteria." *Proceeding Biology Education Conference* 16:285–87.
- Ninulia, P. P. 2016. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Randu (*Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn) Terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (Mrsa)."
- Nur Aini Haryati, Chairul Saleh², Erwin. 2015. "UJI TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN MERAH TANAMAN

- PUCUK MERAH (*Syzygium Myrtifolium* Walp .) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus Aureus* DAN *Escherichia Coli*.” *Jurnal Kimia Mulawarman Volume 13 Nomor 35–40*.
- Nurzaman, Fulka, Joshita Djajadisastra, and Berna Elya. 2018. “Identifikasi Kandungan Saponin Dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria Rubra* L.) Dan Daya Surfaktan Dalam Sediaan Kosmetik.” *Jurnal Kefarmasian Indonesia* 8(2):85–93. doi: 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*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- PRABOWO, ZULFA. 2021. “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL KAYU MANIS (*Cinnamomum Burmannii*) DAN DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum* Wight) TERHADAP BAKTERI *Escherichia Coli*.” *PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA*.
- Pratiwi, Rina. H. 2017. “Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik.” *Journal Pro-Life* 4(2):418–29.
- Pratiwi, S. T. 2008. “Mikrobiologi Farmasi.” Jakarta: Erlangga.
- Pratiwi, Sylvia. T. 2009. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Pratomo, Guntur Satrio, and Nuria Ayu Dewi. 2018. “Tingkat Pengetahuan Masyarakat Desa Anjir Mambulau Tengah Terhadap Penggunaan Antibiotik.” *Jurnal Surya Medika* 4(1):79–89. doi: 10.33084/jsm.v4i1.354.
- Priamsari, Margareta Retno, Agastia Cicilia Wibowo, Politeknik Katolik, Mangunwijaya Semarang, Program Studi, Diploma Tiga, and Disc Diffusion. 2020. “AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK PERASAN DAUN MENKUDU (*Morinda Citrifolia* L .) TERHADAP *Escherichia Coli* SECARA IN VITRO IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM LEAF EXTRACT FEEDING OF *Morinda Citrifolia* L . AGAINST *Escherichia Coli*.” *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia* 2(1).
- Rahmadani, Fitri. 2015. “Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit

- Batang Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Helicobacter Pylori*, *Pseudomonas Aeruginosa*.” *UIN Syarif Hidayatullah Jakarta* 24.
- Ramadhani, Melati Aprilliiana, Anita Kumala Hati, Novel Fibriani Lukitasari, and Armin Hari Jusman. 2020. “Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin ((*Tithonia Diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96%.” *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product* 03(01).
- Retno, Ningrum. Elly, Purwanti. Sukarsono. 2016. “IDENTIFIKASI SENYAWA ALKALOID DARI BATANG KARAMUNTING (*Rhodomlyrtus Tomentosa*) SEBAGAI BAHAN AJAR BIOLOGI UNTUK SMA KELAS X.” *JURNAL PENDIDIKAN BIOLOGI INDONESIA* 2(3).
- Retnowati, Yuliana, Nurhayati Bialangi, and Nona Wingti Posagi. 2011. “Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*).” *Saintek* 6(2):397–405.
- RI., Departemen Kesehatan. 2008. “No Title.” *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1. Jakarta: Depkes RI*.
- RI, DepKes. 1995. “Formularium Indonesia.” edisi iv.
- Ridwan, Yusuf, Fadjar Satrija, and Ekowati Handharyani. 2020. “Aktivitas Anticestoda In Vitro Metabolit Sekunder Daun Miana (*Coleus Blumei*. Benth) Terhadap Cacing Hymenolepis Microstoma.” *Jurnal Medik Veteriner* 3(1):31. doi: 10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.31-37.
- Santosa, Herry, Widya Sari, and Noer Abyor Handayani. 2018. “Ekstraksi Saponin Dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik Suatu Usaha Untuk Mendapatkan Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker.” *Jurnal Inovasi Teknik Kimia* 3(2). doi: 10.31942/inteka.v3i2.2484.
- Sapara, Thresia U., and Olivia Waworuntu. 2016. “Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina L.*) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas Gingivalis*.” *Pharmacon* 5(4):10–17. doi: 10.35799/pha.5.2016.13968.

- Sari, Intan Permata, M. Agus Wibowo, and Savante Arreneuz. 2015. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria Leucospilota*) Dari Pulau Lemukutan Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* Dan *Staphylococcus Epidermidis*." *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 4(4):21–28.
- Sitiatava, Rizema. 2013. *Ajaibnya Daun Sukun Berantas Berbagai Penyakit*.
- Sudarmi, Kadek, Ida Bagus Gede Darmayasa, and I. Ketut Muksin. 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. doi: 10.24843/jsimbiosis.2017.v05.i02.p03.
- Sugiarti, Lilis, and Tri Setyawati. 2017. "Karakteristik Mutu Simplisia Rimpang Jahe Di PJ.Cap Klanceng Kudus." *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan* 2(5).
- Sulistiyarningsih, Rr. 2010. "Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Staphylococcus Aureus* Resisten Metisilin (MRSA)." *LPM. Fakultas Farmasi. Universitas Padjajaran*.
- Supardi, Sudiby, Surahman. 2014. "Metode Penelitian Untuk Mahasiswa Farmasi." (Jakarta, Trans Indo Media).
- Surahmida, & Umarudin. 2019. *Aplikasi Miana, Kemangi, Dan Kumis Kucing Sebagai Pestisida Nabati (Cetakan Pertama)*. Vols. 26-30.
- Suryaku, N. I. 2017. "Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat Dan Air Dari Ekstrak Etanolik Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) Terhadap *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923." Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi,.
- Susanto, Sudrajat D, Ruga R. 2012. "Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea Leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri." *Mulawarmnan Scientific* 11(2):181.
- Susanty, and Fairus Bachmid. 2016. "Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea Mays* L.)" *Jurnal Konversi* 5(2):1–7.
- Syafriana, Vilya, Fathin Hamida, Ami Rahmawati Sukamto, and Lisana Sidqi Aliya. n.d. "Resistensi *Escherichia Coli* Dari Air Danau ISTN Jakarta

- Terhadap Antibiotik Amoksisilin, Tetrasiklin, Kloramfenikol, Dan Siprofloksasin.” 2020 (Institut Sains dan Teknologi Nasional).
- Syamsul, Eka Siswanto, Nadhila Ajrina Amanda, and Dwi Lestari. 2020. “Perbandingan Ekstrak Lamur *Aquilaria Malaccensis* Dengan Metode Maserasi Dan Refluks.” *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia* 2(2).
- Tambe, Vijay D., and Rajendra S. Bhambar. 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.
- Tiara Dwicahyani, Sumardianto, Laras Rianingsih. 2018. “UJI BIOAKTIVITAS EKSTRAK TERIPANG KELING *Holothuria Atra* SEBAGAI ANTIBAKTERI *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*.” *J. Peng. & Biotek. Hasil Pi.* Vol. 7 No.(ISSN : 2442-4145).
- Tivani, Inur, Wilda Amananti, and Ahmad Sunardi. 2019. “UJI IDENTIFIKASI BAKTERI *Esherichia Coli* PADA JAMU GENDONG KUNYIT ASEM DI KABUPATEN TEGAL.” *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi* 8(1):31. doi: 10.30591/pjif.v8i1.1297.
- Tiwari, Prashant, Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, and Harleen Kaur. 2011. “Phytochemical Screening and Extraction: A Review.” *INTERNATIONALE PHARMACEUTICA SCIENCIA* 1(1):98–106. doi: 10.1002/hep.29375.
- Trisnawati, Eka Elly, Winni Astuti, and Rudi Kartika. 2020. “KEMAMPUAN EKSTRAK METANOL DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Staphylococcus Aureus* DAN *Salmonella Typhi*.” *Jurnal Atomik* 2020(1):53–56.
- Utami, Putra Rahmadea. 2020. “UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium Polyanthum* [Wight] Walp) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia Coli*.” *Jurnal Ilmiah PANNMED (Pharmacist, Analyst, Nurse, Nutrition, Midwivery, Environment, Dentist)* 15(2):255–59. doi: 10.36911/pannmed.v15i2.726.
- Wahyulianingsih, Wahyulianingsih, Selpida Handayani, and Abd. Malik. 2016.

“PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAUN CENGKEH (*Syzygium Aromaticum* (L.) Merr & Perry).” *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 3(2):188–93. doi: 10.33096/jffi.v3i2.221.

Waluyo, J. & Wahyuni, D. 2013. “Petunjuk Praktikum Mikrobiologi.” (Jember : FKIP Universitas Jember).

Wijaya, Heri., Novitasari dan S. Juabaidah. 2018. “Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia Caseolaris*, L. Engl).” *Jurnal Ilmiah Manuntung* 4(1):79–83.

Wink, M. 2008. *Ecological Roles of Alkaloids*. Jerman: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA.

Yasi, Ratna Mustika, and Restiani Sih Harsanti. 2018. “Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Aloifera*) Terhadap Kematian Larva *Aedes Aegypti*.” *Seminar Nasional Program Studi Agribisnis, Fakultas Pertanian, Universitas Jember*.

Yusriana C.S., Budi C. ... dan Dewi T. 2014. “Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*.” *Jurnal Permata Indonesia* 5(2):1–7.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Daun Miana



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/ 196/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Miana**

Memenuhi permohonan saudara

Nama / NIM : ERNISA AFIDATUL ISMA / 1813206008
NOVI NUR HASLINDHA / 1813206021
MILLENNIA RAMADHANI / 1813206015
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA

1. Perihal determinasi tanaman miana / iler

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Solanales
Suku : Labiales
Marga : Coleus
Jenis : *Coleus scutellarioides* (L.) Benth.
Sinonim : *Coleus atropurpureus* Benth. - *Plectranthus scutellarioides* (L.) Benth.
Nama Daerah : iler, miana (Indonesia); kentangan (Jawa); jawer kotok (Sunda); si gresing (Batak); adang-adang (Palembang); mayam (Menafo); ati-ati, panci-panci (Bugis).
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250b-266b-267b-273b-276b-278b-279b-282a: Labiales-1a-2a-4b-6b-7a: Coleus-7: *C. scutellarioides*.

2. Morfologi : Batang: Batang herba tegak dan merayap dengan tinggi berkisar 30 cm sampai 150 cm, mempunyai penampang batang berbentuk segi empat dan termasuk kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah. Daun: Berbentuk hati dan pada setiap tepiannya dihiasi oleh jorong-jorong atau lekuk-lekuk tipis yang bersambungan, didukung oleh tangkai daun, berwarna ungu. Bunga: Berbentuk antaian bunga bersusun, bunganya muncul pada pucuk tangkai batang.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

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

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

Batu, 08 Maret 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
ACIMAD MABRUR, SKM., M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 2. Hasil Determinasi Daun Salam



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

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



Nomor : 074/ 215/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Salam**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : NOVI NUR HASLINDHA / 1813206021
IKKE PRASASTI / 1813206011
Fakultas : FARMASI STIKES KARYA PUTRA BANGSA

1. Perihal determinasi tanaman salam

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae (suku jambu-jambuan)
Genus : Syzygium
Spesies : *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.
Sinonim : *Eugenia polyantha* Wight; *Eugenia lucidula* Miq.
Nama Daerah : Gowok (Sunda); manting (Jawa); kastolan (Kangean); mesclangan, uhar sorai (Melayu); Salam (Ladonesia, Sunda, Jawa, Madura).
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250a-251b-253b-254b-255b-256b-261a-262b-263b-264b: Myrtaceae-2b: Syzygium-1b-7b-8b-11a-12b: *S. polyanthum*.

2. Morfologi : Habitus: Pohon besar, menahun. Batang: Bulat, permukaan licin, diameter ± 25 cm, putih kecoklatan. Daun: Majemuk, menyirip genap, permukaan licin, tepi rata, ujung meruncing, pangkal runcing, panjang 10-14 cm, lebar 4-8 cm, tangkai panjang ± 1 cm, pertulangan menyirip, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda. Bunga: Majemuk, tumbuh di ujung batang, kelopak bentuk piala, diameter 4 mm, hijau, mahkota panjang 2-3,5 mm, putih, putik panjang 1,5-2 mm, hijau keputih-putihan. Buah: Buni, bulat, diameter ± 1,2 cm, masih muda hijau setelah tua coklat kehitaman. Biji: Bulat, diameter ± 1 cm, coklat. Akar: Tunggai, coklat muda.

3. Bagian yang digunakan : Daun

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGI. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradaya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 14 Maret 2022



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

Lampiran 3. Identifikasi bakteri *Eschericia Coli*


KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
Jalan Karangasapan No. 19, Surabaya - 60261
 Telepon Pelayanan : (031) 500386, (031) 5001451, Faksimili : (031) 503438
 Website : balikesurabaya.surabaya.go.id, bbkesurabaya.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 Senggangi (*Molostoma 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	KKA	Lereng	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	Manitosa	Positif, Gas Positif	
7	Sukrosa	Negatif	
8	Inol	Positif	
9	Methyl Red	Positif	
10	Voges Proskauer	Negatif	
11	Simon citrat	Negatif	
12	Ureasa	Negatif	
13	Motility	Positif	
14	Lysin Decarboxilase	Positif	

Manajer Teknis

dr. Titiek S., M.Ked Klin, Sp.MK
 NP: 198207262010122002




Lampiran 4. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
 Jalan Karangrejo No. 19, Surabaya - 60261
 Telpun Pelayan : (031) 5020906, Tt : (031) 5021451, Faks: (031) 5020908
 Website : BLSK.surabaya.id, Email: eblt@eski.bkk.surabaya.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 Sengani (*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	Pengcatan Gram	Gram positif coccus bergerombol
2	Glukose	Positif (+)
3	Sukrose	Positif (+)
4	Mantol	Positif (+)
5	Katalase	Positif (+)
6	Koagulase	Positif (+)
7	DNase	Positif (+)
8	Haemolisa	β Haemolitik

Manajer Teknis

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



Management System ISO 9001:2015



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN KARYA PUTRA BANGSA - TULUNGAGUNG

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

1. Penimbangan serbuk simplisia



serbuk DS



serbuk DM

2. Maserasi ekstrak



3. Penyaringan



4. Pembuatan ekstrak



Lampiran 6. Uji skrining fitokimia DMDS

Uji tanin DM



Uji tanin DS



Uji flavonoid DM



Uji flavonoid DS



Uji alkaloid DM



Uji alkaloid DS



Uji saponin DM

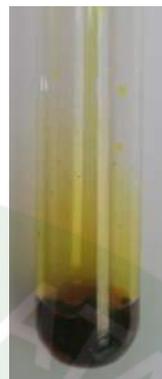


Uji saponin DS

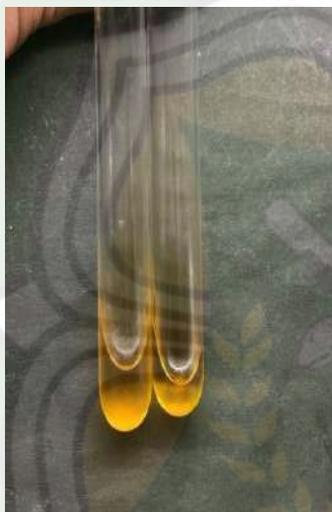


Uji bebas etanol DM

Uji bebas etanol DS



Lampiran 5. Pembuatan NA dan NB
PEMBUATAN NA



PEMBUATAN NB



Lampiran 7. Standart Mc Farland 0,5*E.coli**S.aureus*

Lampiran 8. Uji antibakteri ekstrak DMDS terhadap *Eschericia Coli*

KONSENTRASI

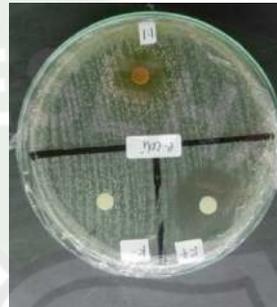
RASI

R1

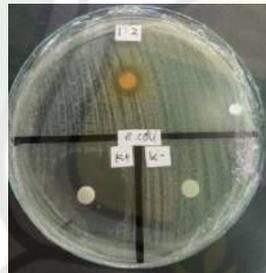
R2

R3

1:1



1:2



2:1



Lampiran 9. Uji antibakteri ekstrak DMDS terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus*

KONSENTRASI
1:1

R1



R2



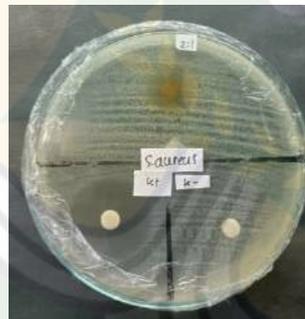
R3



1:2



2:1



Lampiran 10. Perhitungan

1. Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)

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

$$= \frac{8}{1000} \times 20 \text{ ml}$$

$$= 0,16 \text{ g}$$

2. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

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

$$= \frac{20}{1000} \times 480 \text{ ml}$$

$$= 9,6 \text{ g}$$

3. Penetapan kadar air simplisia

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Miana (<i>Coleus antropurpureus L. Benth</i>)	10,0 g	9,14 g	8,7%
Daun Salam (<i>Syzygium Polyanthum</i>)	10,0 g	9,35 g	6,5%

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

$$\text{DM} = \frac{10,0 - 9,14}{10,0} \times 100\%$$

$$= 8,7\%$$

$$\text{DS} = \frac{10,0 - 9,35}{10,0} \times 100\%$$

$$= 6,5\%$$

4. Rendemen DMDS

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	% Hasil
Daun Miana (<i>Coleus antropurpureus L. Benth</i>)	500g	54 g	10,8%
Daun Salam (<i>Syzygium Polyanthum</i>)	500g	47 g	9,4%

$$\text{Rendemen (\%)} \text{ DM} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{54}{500} \times 100\%$$

$$= 10,8\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} \text{ DS} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{47}{500} \times 100\%$$

$$= 9,4\%$$

5. Penetapan kadar flavonoid

$$\% = \frac{Cp \times \frac{Au}{Ap} \times V \times f}{W} \times 100$$

Cp = Kadar larutan pembeding

- Au = Serapan larutan uji
 Ap = Serapan larutan pembanding
 V = volume larutan uji sebelum pengenceran
 F = faktor pengenceran larutan uji
 W = bobot bahan uji (gr)
- Penetapan kadar flavonoid DM

$$\% = \frac{0.02 \times \frac{0.100}{0.204} \times 100 \times 25}{1000} \times 100$$

$$= 2,45\%$$

- Penetapan kadar flavonoid DS

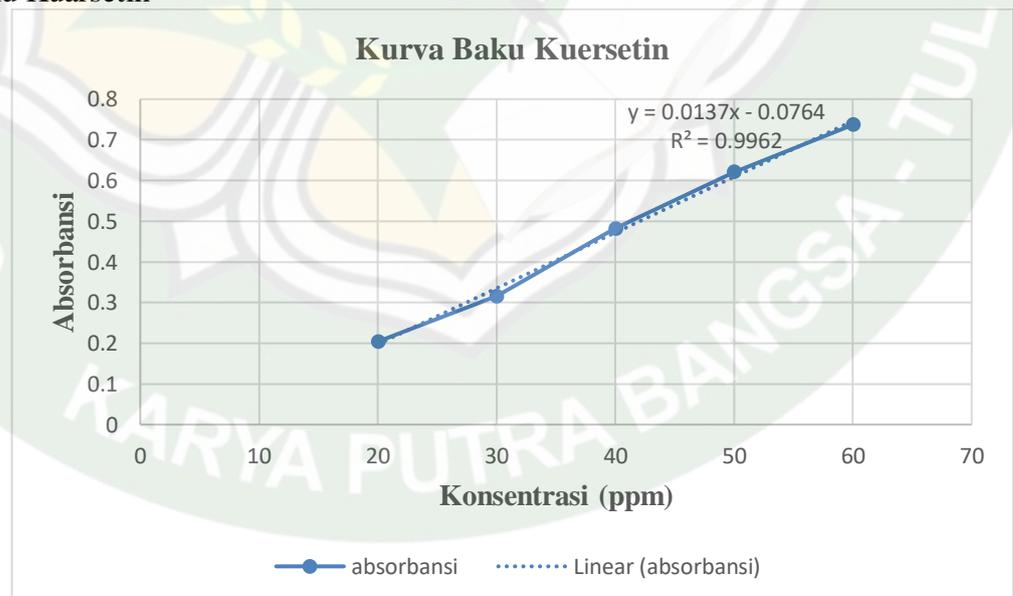
$$\% = \frac{0.02 \times \frac{0.034}{0.204} \times 100 \times 25}{1000} \times 100$$

$$= 0,8\%$$

Standart kuarsetin

konsentrasi	absorbansi
20	0.204
30	0.316
40	0.482
50	0.621
60	0.737

Kurva baku Kuarsetin



6. Uji bebas etanol

Sampel	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Daun Miana (<i>Coleus antropurpureus L. Benth</i>)	Asam sulfat + kalium dikromat	+	Bebas Etanol
Daun Salam (<i>Syzygium Polyanthum</i>)	Asam sulfat + kalium dikromat	+	Bebas Etanol

Keterangan :

(+) tidak terjadi perubahan warna

(-) terjadi perubahan warna

6. Skrinning fitokimia

Golongan Senyawa	Hasil	Perubahan Warna
Flavonoid	+	Merah / Jingga
Alkaloid	+	Endapan Jingga
Tanin	+	Hitam kemerahan / kehijauan
Saponin	+	Busa

Keterangan :

(+) terdapat senyawa

(-) tidak terdapat senyawa

7. Uji bakteri

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata	Kekuatan Hambat
		I	II	III		
<i>Escherichia coli</i>	K+	27	25,5	25,5	26	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	1:1	6	13	14	11	Kuat
	K+	30	27	24	27	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	1:2	13	14	17	14,6	Kuat
<i>Staphylococcus aureus</i>	K+	28	25	25	26	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	2:1	7	12,5	12,5	10,6	Kuat
	K+	25	25	26,5	25,5	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	1:1	6	12	17	11,6	kuat
	K+	28	25,5	25	26	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	1:2	12	13	13	12,6	
	K+	28	27	26,5	27	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0	0
	2:1	12,5	11	12,5	12	kuat

Lampiran 11. Analisis data

1. Analisis kombinasi DMDS terhadap *Escherichia Coli*

A. Uji normalitas

		Tests of Normality					
konsentra		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
si		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona hambat	1:1	.343	3	.	.842	3	.220
	DMDS						
	1:2	.292	3	.	.923	3	.463
	DMDS						
	2:1	.385	3	.	.750	3	.000
	DMDS						
	K-	.	3	.	.	3	.
	K+	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

B. uji homogenitas

		Test of Homogeneity of Variances				
		Levene	df1	df2	Sig.	
		Statistic				
zona hambat	Based on Mean	6.799	4	10	.007	
	Based on Median	.658	4	10	.635	
	Based on Median and with adjusted df	.658	4	4.6 92	.648	
	Based on trimmed mean	5.670	4	10	.012	

C. Uji ANOVA

		ANOVA				
zona hambat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Between Groups	1073.733	4	268.433	39.768	.000	
Within Groups	67.500	10	6.750			
Total	1141.233	14				

D. Uji Tukey Subset

	konsentra si	N	zona hambat		
			Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey	K-	3	.0000		
HSD ^a	2:1	3		10.666	
	DMDS			7	
	1:1	3		11.000	
	DMDS			0	
	1:2	3		14.666	
	DMDS			7	
	K+	3			26.3333
	Sig.		1.000	.383	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

E. Uji Post Hock

Dependent Variable: zona hambat						115	
(I)	(J)	Mean	Std.	Sig.	95% Confidence		
konsentra	konsentra	Difference	Error		Lower	Upper	
si	si	(I-J)			Bound	Bound	Interval
Tukey HSD	1:1 DMDS	1:2	-3.66667	2.12132	.460	-	3.3148
		2:1	.333333	2.12132	1.000	-6.6481	7.3148
		K-	11.00000*	2.12132	.003	4.0186	17.9814
		K+	-15.33333*	2.12132	.000	-	-8.3519
	1:2 DMDS	1:1	3.66667	2.12132	.460	-3.3148	10.6481
		2:1	4.00000	2.12132	.383	-2.9814	10.9814
		K-	14.66667*	2.12132	.000	7.6852	21.6481
		K+	-11.66667*	2.12132	.002	-	-4.6852
	2:1 DMDS	1:1	-.333333	2.12132	1.000	-7.3148	6.6481
		1:2	-4.00000	2.12132	.383	-	2.9814
		K-	10.66667*	2.12132	.004	3.6852	17.6481
		K+	-15.66667*	2.12132	.000	-	-8.6852
K-	1:1	-11.00000*	2.12132	.003	-	-4.0186	
	1:2	-14.66667*	2.12132	.000	-	-7.6852	
	2:1	-10.66667*	2.12132	.004	-	-3.6852	
	K+	-26.33333*	2.12132	.000	-	-	
K+	1:1	15.33333*	2.12132	.000	8.3519	22.3148	
	1:2	11.66667*	2.12132	.002	4.6852	18.6481	
	2:1	15.66667*	2.12132	.000	8.6852	22.6481	
	K-	26.33333*	2.12132	.000	19.3519	33.3148	
LSD	1:1 DMDS	1:2	-3.66667	2.12132	.115	-8.3933	1.0599
		2:1	.333333	2.12132	.878	-4.3933	5.0599
		K-	11.00000*	2.12132	.000	6.2734	15.7266
		K+	-15.33333*	2.12132	.000	-	-
	1:2 DMDS	1:1	3.66667	2.12132	.115	-1.0599	8.3933
		2:1	4.00000	2.12132	.089	-.7266	8.7266
		K-	11.00000*	2.12132	.000	6.2734	15.7266
		K+	-15.33333*	2.12132	.000	-	-

	K-	14.66667*	2.12132	.000	9.9401	19.3933
	K+	-11.66667*	2.12132	.000	-	-6.9401
					16.3933	
2:1	1:1	-.33333	2.12132	.878	-5.0599	4.3933
DMDS	DMDS					
	1:2	-4.00000	2.12132	.089	-8.7266	.7266
	DMDS					
	K-	10.66667*	2.12132	.001	5.9401	15.3933
	K+	-15.66667*	2.12132	.000	-	-
					20.3933	10.9401
K-	1:1	-11.00000*	2.12132	.000	-	-6.2734
	DMDS				15.7266	
	1:2	-14.66667*	2.12132	.000	-	-9.9401
	DMDS				19.3933	
	2:1	-10.66667*	2.12132	.001	-	-5.9401
	DMDS				15.3933	
	K+	-26.33333*	2.12132	.000	-	-
					31.0599	21.6067
K+	1:1	15.33333*	2.12132	.000	10.6067	20.0599
	DMDS					
	1:2	11.66667*	2.12132	.000	6.9401	16.3933
	DMDS					
	2:1	15.66667*	2.12132	.000	10.9401	20.3933
	DMDS					
	K-	26.33333*	2.12132	.000	21.6067	31.0599

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

2. Analisis kombinasi DMDS terhadap *Staphylococcus aureus*

A. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
konsentrasi		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statisti	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona	1:1	.191	3	.	.997	3	.900
hambat	1:2	.385	3	.	.750	3	.000
	2:1	.385	3	.	.750	3	.000
	k-	.	3	.	.	3	.
	k+	.253	3	.	.964	3	.637
	a. Lilliefors Significance Correction						

B. Uji Homogenitas

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
zona	Based on Mean	3.802	4	10	.039
hambat	Based on Median	2.911	4	10	.078
	Based on Median and with adjusted df	2.911	4	2.532	.230
	Based on trimmed mean	3.754	4	10	.041

C. Uji ANOVA

		ANOVA				
zona hambat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Between Groups	1032.000	4	258.000	40.313	.000	
Within Groups	64.000	10	6.400			
Total	1096.000	14				

D. Uji Tukey Subset

		zona hambat				
		konsentra	N	Subset for alpha = 0.05		
		si		1	2	3
Tukey HSD ^a	k-		3	.0000		
	1:1		3		11.6667	
	2:1		3		12.0000	
	1:2		3		12.6666	

				7	
	k+	3			26.1667
	Sig.		1.000	.987	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

E. Uji Post Hock

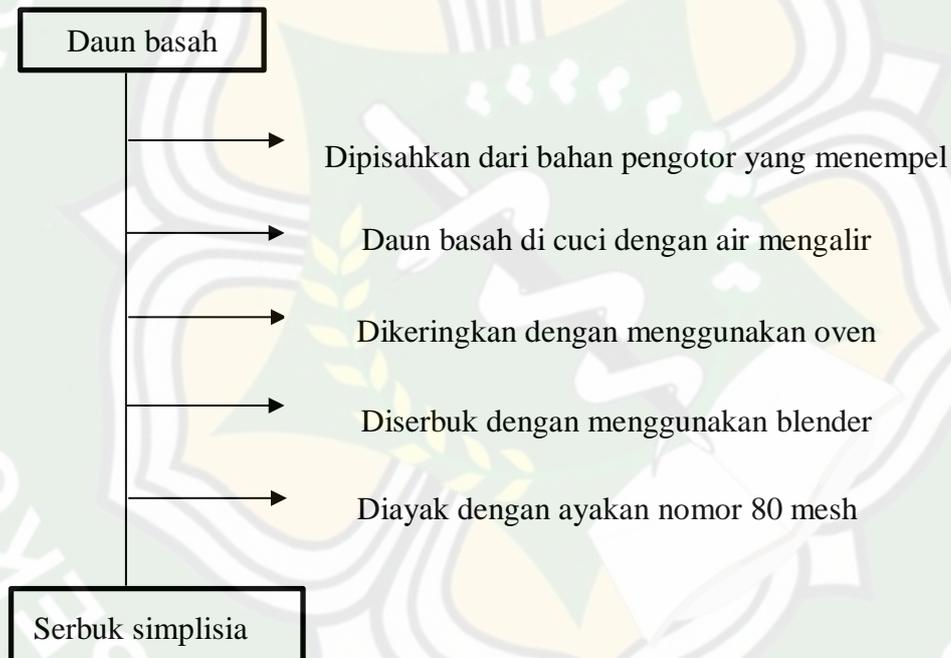
Multiple Comparisons							
Dependent Variable: zona hambat							
	(I)	(J)	Mean	Std.	Sig.	95% Confidence Interval	
	kons	konse	Difference	Error		Lower Bound	Upper
	entra	ntrasi	(I-J)				Bound
	si						
Tukey HSD	1:1	1:2	-1.00000	2.06559	.987	-7.7980	5.7980
		2:1	-.33333	2.06559	1.000	-7.1314	6.4647
		k-	11.66667*	2.06559	.002	4.8686	18.4647
		k+	-14.50000*	2.06559	.000	-21.2980	-7.7020
	1:2	1:1	1.00000	2.06559	.987	-5.7980	7.7980
		2:1	.66667	2.06559	.997	-6.1314	7.4647
		k-	12.66667*	2.06559	.001	5.8686	19.4647
		k+	-13.50000*	2.06559	.000	-20.2980	-6.7020
	2:1	1:1	.33333	2.06559	1.000	-6.4647	7.1314
		1:2	-.66667	2.06559	.997	-7.4647	6.1314
		k-	12.00000*	2.06559	.001	5.2020	18.7980
		k+	-14.16667*	2.06559	.000	-20.9647	-7.3686
	k-	1:1	-11.66667*	2.06559	.002	-18.4647	-4.8686
		1:2	-12.66667*	2.06559	.001	-19.4647	-5.8686
		2:1	-12.00000*	2.06559	.001	-18.7980	-5.2020
		k+	-26.16667*	2.06559	.000	-32.9647	-
LSD	k+	1:1	14.50000*	2.06559	.000	7.7020	21.2980
		1:2	13.50000*	2.06559	.000	6.7020	20.2980
		2:1	14.16667*	2.06559	.000	7.3686	20.9647
		k-	26.16667*	2.06559	.000	19.3686	32.9647
	1:1	1:2	-1.00000	2.06559	.639	-5.6024	3.6024
		2:1	-.33333	2.06559	.875	-4.9358	4.2691
		k-	11.66667*	2.06559	.000	7.0642	16.2691
		k+	-14.50000*	2.06559	.000	-19.1024	-9.8976
	1:2	1:1	1.00000	2.06559	.639	-3.6024	5.6024
		2:1	.66667	2.06559	.754	-3.9358	5.2691
		k-	12.66667*	2.06559	.000	8.0642	17.2691
		k+	-13.50000*	2.06559	.000	-18.1024	-8.8976
	2:1	1:1	.33333	2.06559	.875	-4.2691	4.9358
		1:2	-.66667	2.06559	.754	-5.2691	3.9358
		k-	12.00000*	2.06559	.000	7.3976	16.6024

	k+	-14.16667*	2.06559	.000	-18.7691	-9.5642
k-	1:1	-11.66667*	2.06559	.000	-16.2691	-7.0642
	1:2	-12.66667*	2.06559	.000	-17.2691	-8.0642
	2:1	-12.00000*	2.06559	.000	-16.6024	-7.3976
	k+	-26.16667*	2.06559	.000	-30.7691	-
						21.5642
k+	1:1	14.50000*	2.06559	.000	9.8976	19.1024
	1:2	13.50000*	2.06559	.000	8.8976	18.1024
	2:1	14.16667*	2.06559	.000	9.5642	18.7691
	k-	26.16667*	2.06559	.000	21.5642	30.7691

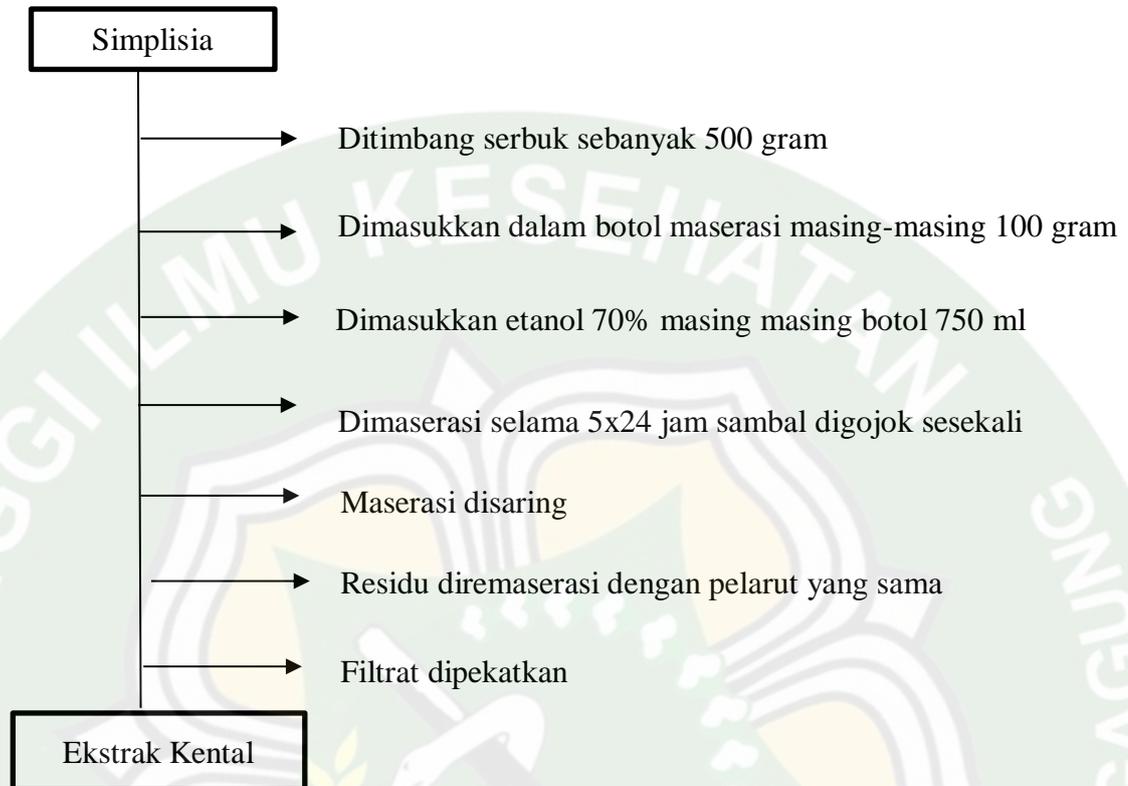
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 12. Alur kerja

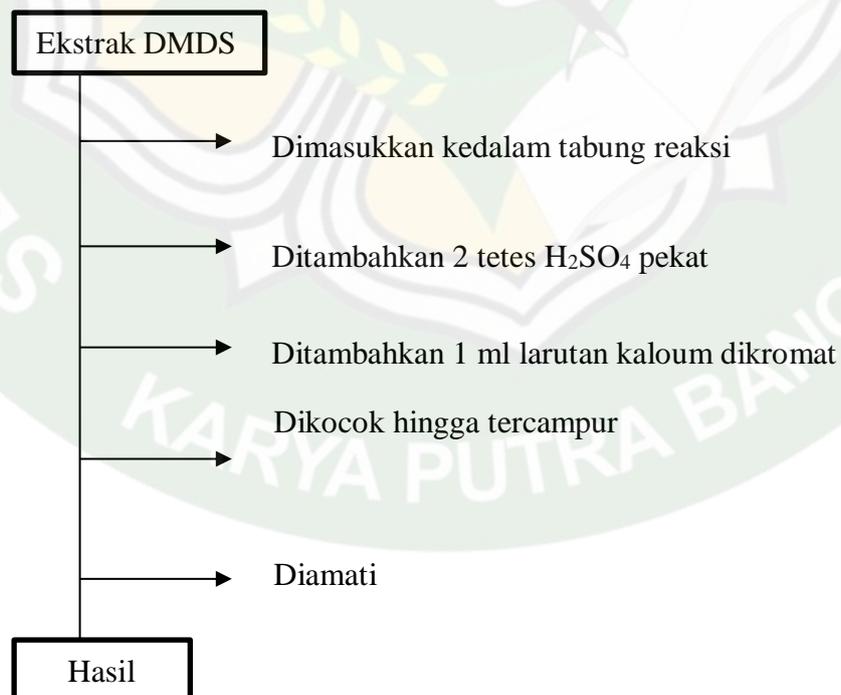
1. Pembuatan simplisia



2. Pembuatan ekstrak dengan menggunakan metode maserasi



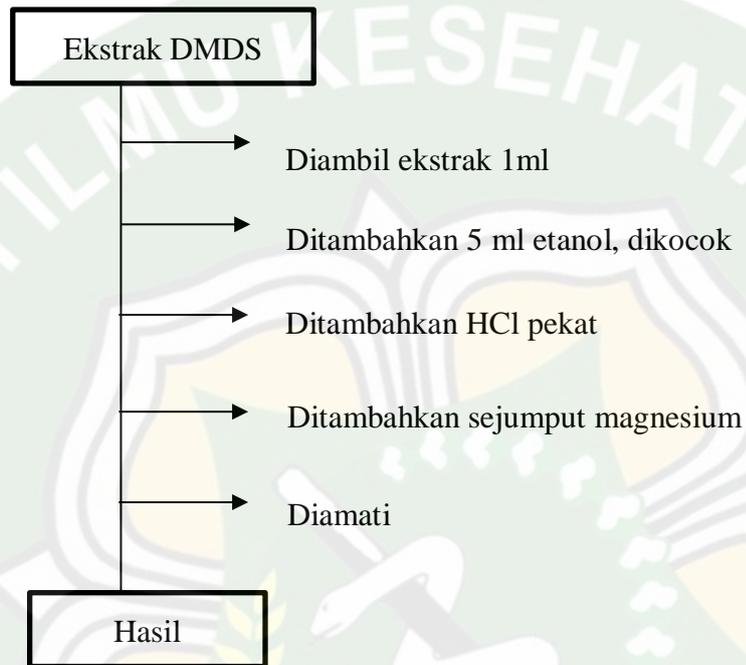
3. Uji bebas etanol



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

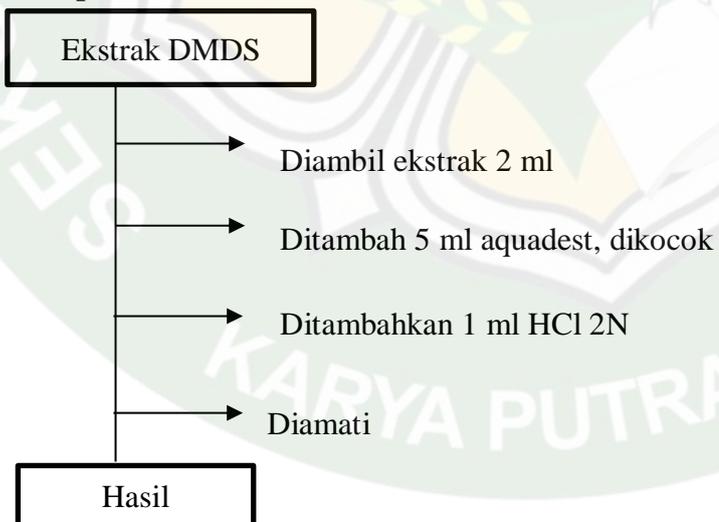
4. Skrining fitokimia

a. Flavonoid

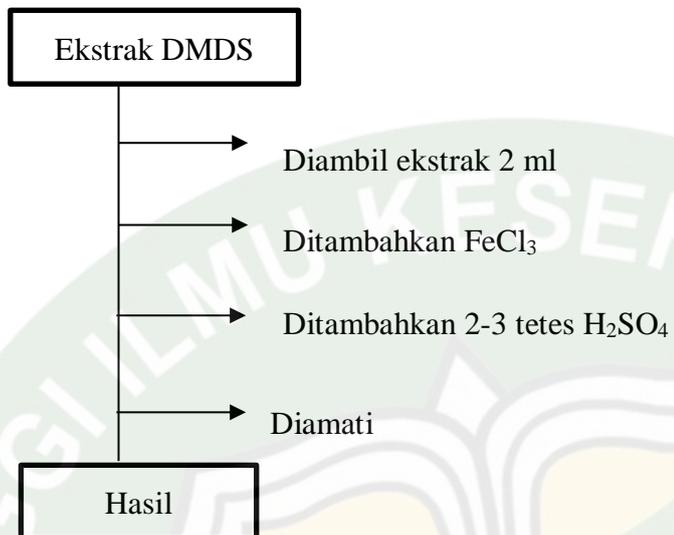


*Keterangan : positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah

b. Saponin

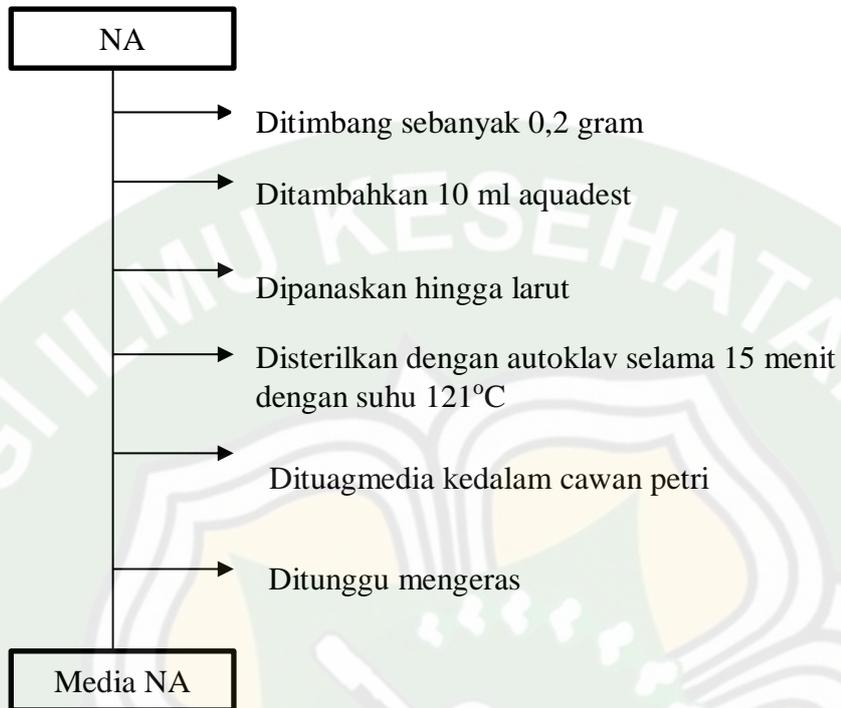


*keterangan : positif saponin dengan terbentuknya busa stabil

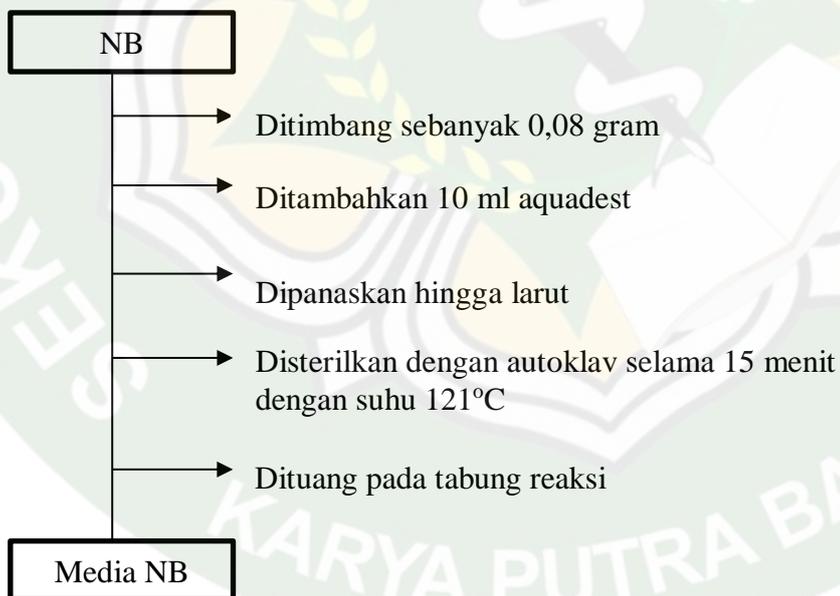
c. Tanin

*keterangan : positif tanin ditunjukkan dengan terbentuknya larutan kuning kecoklatan

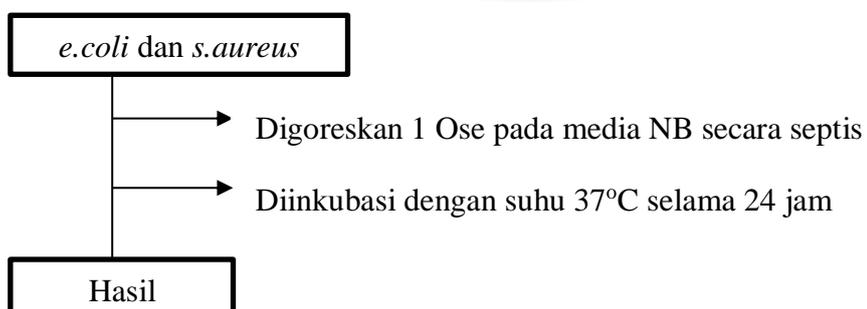
5. Pembuatan media pertumbuhan bakteri



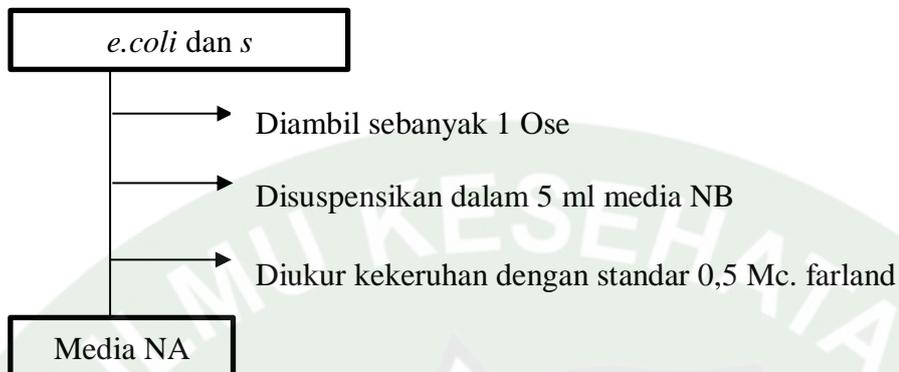
6. Pembuatan media NB



7. Peremajaan bakteri



8. Pembuatan suspense bakteri



9. Uji aktivitas antibakteri ekstrak DMDS

