

**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) EKSTRAK
ETANOL DAUN RANDU (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

SKRIPSI



DINDA AMANAH KUSUMA DEWI

1913206011

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
AGUSTUS 2023**

**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) EKSTRAK
ETANOL DAUN RANDU (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

SKRIPSI

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

Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



DINDA AMANAH KUSUMA DEWI

1913206011

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
AGUSTUS 2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

SKRIPSI

ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) EKSTRAK
ETANOL DAUN RANDU (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923

Yang diajukan oleh:

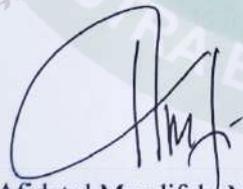
DINDA AMANAH KUSUMA DEWI

1913206011

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Afidatul Muadifah, M. Si
NIDN 07.08.03.91.02



Apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm
NIDN. 07.19.12.89.06

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) EKSTRAK
ETANOL DAUN RANDU (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923

Oleh:

DINDA AMANAH KUSUMA DEWI

1913206011

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

Tanggal: 24 Juli 2023

Ketua Penguji : Afidatul Muadifah, M. Si

(.....)

Anggota Penguji : 1. Apt, Dara Pranidya Tilarso, M. Farm

(.....)

2. Apt, Amalia Eka Putri, M. Farm

(.....)

3. Rahma Diyan Martha S. Si, M. Sc

(.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

(.....)
Apt, Arif Santoso, M. Farm

PERNYATAAN

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

Tulungagung, 24 Juli 2023

Penulis,

Dinda Amanah Kusuma Dewi

**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) EKSTRAK
ETANOL DAUN RANDU (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

DINDA AMANAH KUSUMA DEWI

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Pengembangan antibakteri sintesis menjadi antibakteri alami dari alam Indonesia sangat perlu dikembangkan, yang dimana Indonesia memiliki banyak potensi pengembangan sumber daya alam khususnya dalam hal jamu dan pengobatan. Salah satu diantaranya yang dapat digunakan ialah daun randu. Tanaman randu (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) memiliki khasiat antibakteri yang cukup tinggi pada daunnya. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas dari ekstrak etanol daun randu sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan senyawa yang terkandung yang berfungsi sebagai antibakteri menggunakan skrining LCMS. Daun randu diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun randu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram dengan seri konsentrasi 20%, 40%, dan 60%, hasil data dianalisis menggunakan uji *one way ANOVA* yang dilanjutkan dengan analisis LCMS untuk mengetahui senyawa dalam ekstrak daun randu dengan hasil data kromatogram dan m/z suatu senyawa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun randu mempunyai aktivitas antibakteri pada konsentrasi optimum 20% dengan rata-rata zona hambat 10,83 mm pada kategori kuat. Analisis LCMS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometri*) pada ekstrak etanol daun randu mengandung senyawa quersetin dan isoflavon yang tergolong senyawa flavonoid yang terbukti berkhasiat sebagai antibakteri.

Kata kunci: Antibakteri, daun randu, LCMS, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometri*, flavonoid, *Ceiba pentandra*

**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) EKSTRAK
ETANOL DAUN RANDU (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

DINDA AMANAH KUSUMA DEWI

Bachelor of Pharmacy

ABSTRACT

*The development of synthetic antibacterials into natural antibacterials from Indonesian nature really needs to be developed, where Indonesia has a lot of potential for developing natural resources, especially in terms of herbal medicine and medicine. One of them that can be used is the leaves of randu. The randu plant (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) has high antibacterial properties in its leaves. The purpose of this study was to determine the activity of the ethanol extract of randu leaves as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* bacteria and the compounds contained that function as antibacterials using LCMS screening. Randu leaves were extracted using maceration method with 70% ethanol solvent. Testing the antibacterial activity of the ethanol extract of randu leaves against *Staphylococcus aureus* bacteria using the disc diffusion method with concentration series of 20%, 40%, and 60%, the results of the data were analyzed using the one way ANOVA test followed by LCMS analysis to determine the compounds in the randu leaf extract with the results chromatogram and m/z data of a compound. The results showed that the ethanol extract of randu leaves had antibacterial activity at an optimum concentration of 20% with an average inhibition zone of 10,83 mm in the strong category. LCMS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) analysis of the ethanol extract of randu leaves contains a quarsetin and isoflavone class of flavonoid compounds which have been shown to have antibacterial properties.*

Keywords: *Antibacterial, randu leaves, LCMS, Liquid Chromatography-Mass Spectrometer, flavonoid, Ceiba pentandra*

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi penelitian dengan judul “**ANALISIS LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectometry*) EKSTRAK ETANOL DAUN RANDU (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk melakukan penelitian akhir untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Sarjana Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak terlepas dari kesalahan dan kekurangan.

Skripsi ini dapat diselesaikan berkat bimbingan, motivasi, petunjuk dan arahan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Allah SWT yang telah mengabulkan semua doa serta hajat saya.
2. Bapak Apt. Arif Santoso, M. Farm selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Ibu Afidatul Muadifah, M. Si selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan arahan dalam penyusunan skripsi.
4. Ibu Apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm selaku pembimbing II sekaligus selaku ketua Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang juga telah memberikan bimbingan, masukan, dan arahan dalam penyusunan skripsi.
5. Kedua orang tua, yang telah membiayai perkuliahan serta senantiasa memberikan doa, restu, semangat serta dukungan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Kakak dan saudara yang telah memberikan dukungan penuh.
7. Sahabat dan orang yang tersayang telah rela mendengarkan keluh kesah serta dukungan yang sangat baik.
8. Teman-teman angkatan 2019 yang telah mendoakan dan memberikan semangat.

9. Seluruh dosen dan warga STIKes Karya Putra Bangsa yang telah mendidik dan memberi semangat keceriaan dari awal hingga mengantar ke kelulusan.
10. Diri sendiri karena tak pernah memutuskan untuk menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini.
11. Dan semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan-kekurangan di dalamnya. Oleh karena itu, dapat menerima kritikan dan saran yang bersifat membangun, demi bisa melengkapi skripsi ini lebih baik lagi. Atas segala bantuan yang telah diberikan penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak, semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita dan semoga skripsi ini bisa bermanfaat, menambah wawasan dan juga menambah ilmu pengetahuan menjadi lebih luas. Aamiin Aamiin Ya Robbal Alaamiin.

Tulungagung, 2 Mei 2023

Penulis

Dinda Amanah Kusuma Dewi

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
ABSTRACT.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR PERSAMAAN.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Relevansi Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Uraian Tanaman Randu (<i>Ceiba pentandra (L.) gaert</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Morfologi	6
2.1.3 Kandungan Kimia	7
2.2 Simplisia	10
2.2.1 Pengertian Simplisia	10
2.2.2 Syarat-syarat Simplisia.....	11
2.2.3 Tahap Pembuatan Simplisia.....	11
2.2.4 Pembuatan Serbuk Simplisia	13
2.3 Ekstraksi.....	14

2.3.1	Maserasi	15
2.3.2	Perkolasi	16
2.3.3	Soxhlet	16
2.3.4	Refluks	17
2.3.5	Fraksinasi	17
2.4	Pelarut	17
2.5	Bakteri.....	20
2.5.1	Definisi Bakteri	20
2.5.2	Penggolongan Bakteri	22
2.6	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.6.1	Klasifikasi	24
2.6.2	Morfologi	24
2.7	Antibakteri	25
2.7.1	Pengertian Antibakteri	25
2.7.2	Mekanisme Kerja Antibakteri.....	26
2.7.3	Uji Aktivitas Antibakteri.....	27
2.7.4	Metode Difusi	28
2.7.5	Metode Dilusi.....	28
2.8	Tinjauan DMSO.....	29
2.9	Obat Golongan Antibakteri.....	30
2.9.1	Kloramfenikol	30
2.10	LCMS (<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>).....	31
2.11	Hipotesis	33
BAB III METODE PENELITIAN.....		34
3.1	Bahan	34
3.2	Alat.....	34

3.3	Populasi Penelitian.....	34
3.4	Sampel Penelitian.....	34
3.5	Variabel Penelitian.....	35
3.5.1	Variabel Bebas	35
3.5.2	Variabel Kontrol.....	35
3.5.3	Variabel Terikat	36
3.6	Persiapan Simplisia.....	36
3.6.1	Determinasi Tanaman	36
3.6.2	Pembuatan Simplisia.....	36
3.6.3	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	37
3.6.4	Proses Ekstraksi Daun Randu	37
3.6.5	Uji Organoleptik Ekstrak	38
3.6.6	Rendemen Ekstrak	38
3.6.7	Uji Bebas Etanol Ekstrak	39
3.6.8	Skrining Fitokimia	39
3.7	Pembuatan Media.....	40
3.7.1	Sterilisasi Alat dan Bahan	40
3.7.2	<i>Nutrient broth</i> (NB)	41
3.7.3	<i>Nutrient agar</i> (NA)	41
3.7.4	Pembuatan Suspensi Bakteri	41
3.8	Identifikasi Bakteri.....	41
3.8.1	Pewarnaan Gram	41
3.9	Uji Aktivitas Antibakteri.....	42
3.9.1	Pembuatan Larutan Uji Kloramfenikol.....	42
3.9.2	Pembuatan Larutan Uji DMSO 2,5%.....	42
3.9.3	Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Antibakteri Daun Randu.....	42

3.9.4	Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	42
3.9.5	Pengukuran Zona Hambat.....	43
3.10	Analisis LC-MS (<i>Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry</i>).....	43
3.10.1	Persiapan Sampel	43
3.10.2	Analisis LCMS.....	43
3.11	Analisis Statistika.....	44
3.11.1	Uji Normalitas Data	44
3.11.2	Uji Homogenitas	44
3.11.3	Uji <i>One Way Anova</i>	45
3.12	Kerangka Penelitian	46
BAB IV PEMBAHASAN.....		47
4.1	Determinasi Tanaman	47
4.2	Pembuatan Simplisia.....	47
4.3	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	48
4.3.1	Uji Organoleptik.....	48
4.3.2	Uji Susut Pengeringan.....	48
4.3.3	Uji Kadar Air.....	49
4.4	Pembuatan Ekstrak Daun Randu	49
4.5	Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Daun Randu.....	50
4.5.1	Organoleptik.....	50
4.5.2	Uji Susut Pengeringan Ekstrak.....	51
4.5.3	Uji Kadar Air Ekstrak	51
4.5.4	Rendemen Ekstrak	52
4.5.5	Uji Bebas Etanol	52
4.6	Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Randu.....	53
4.6.1	Uji Flavonoid	54

4.6.2	Uji Saponin	54
4.6.3	Uji Tanin	55
4.6.4	Uji Alkaloid.....	55
4.7	Uji Identifikasi Bakteri	56
4.8	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Randu	57
4.9	Analisis LC-MS Ekstrak Daun Randu.....	59
4.9.1	<i>Quercetin 3-glucosyl-(1→2) rhamnoside-7-glucoside</i>	61
4.9.2	<i>5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside</i> 62	
4.9.3	<i>Quercetin-3-glucoside-7 rhamnoside</i>	63
4.9.4	<i>Quercetin-3-diglucoside</i>	64
4.10	Analisis Statistika.....	65
4.10.1	Uji Normalitas Data	65
4.10.2	Uji Homogenitas	65
4.10.3	Uji <i>One Way Anova</i>	66
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		67
5.1	Kesimpulan	67
5.2	Saran	67
DAFTAR PUSTAKA		68
LAMPIRAN.....		76

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat-Sifat Etanol	19
Tabel 2.2 Perbedaan Bakteri Gram	23
Tabel 2.3 Lanjutan.....	24
Tabel 3.1 Kategori Antibakteri.....	43
Tabel 4.1 Uji Susut Pengeringan Daun Randu.....	48
Tabel 4.2 Lanjutan.....	49
Tabel 4.3 Uji Kadar Air Daun Randu.....	49
Tabel 4.4 Uji Susut Pengeringan Ekstrak Daun Randu.....	51
Tabel 4.5 Uji Kadar Air Daun Randu.....	51
Tabel 4.6 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Randu	52
Tabel 4.7 Hasil Uji Bebas Etanol dari Daun Randu.....	52
Tabel 4.8 Hasil Uji Bebas Etanol Daun Randu	53
Tabel 4.9 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Randu.....	53
Tabel 4.10 Diameter zona hambat antibakteri ekstrak daun randu (<i>Ceiba Pentandra (L.) gaertn</i>) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Tabel 4.11 Hasil Deteksi dan Identifikasi Senyawa Menggunakan LCMS	61
Tabel 5.1 Jadwal Kegiatan Penelitian	92

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun <i>Ceiba Pentandra (L) gaertn.</i>	6
Gambar 2.2 Struktur Flavonoid.....	8
Gambar 2.3 Struktur Tannin.....	8
Gambar 2.4 Struktur Saponin.....	9
Gambar 2.5 Struktur Kimia Etanol.....	19
Gambar 2.6 Gambaran Mikroskopis <i>S. Aureus</i>	24
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	46
Gambar 4.1 Hasil Pengamatan Uji Flavonoid.....	54
Gambar 4.2 Hasil Pengamatan Uji Saponin.....	54
Gambar 4.3 Hasil Pengamatan Uji Tanin.....	55
Gambar 4.4 Hasil Pengamatan Uji Alkaloid.....	55
Gambar 4.5 Uji Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram.....	56
Gambar 4. 6 Grafik Rata-Rata Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri.....	58
Gambar 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Randu.....	58
Gambar 4.8 Hasil Kromatogram Analisis LCMS Daun Randu.....	60
Gambar 4.9 Senyawa <i>Quercetin 3-glucosyl-(1→2) rhamnoside-7-glucoside</i>	61
Gambar 4.10 Mass Spektra <i>Quercetin 3-glucosyl-(1→2) rhamnoside-7-glucoside</i>	62
Gambar 4.11 Senyawa <i>5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside</i>	62
Gambar 4. 12 Mass Spektra <i>5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside</i>	63
Gambar 4.13 Senyawa <i>Quercetin-3-glucoside-7 rhamnoside</i>	63

Gambar 4.14 Mass Spectra *Quercetin-3-glucoside-7 rhamnoside*..... 64

Gambar 4.15 Senyawa *Quercetin-3-diglucoside*..... 64

Gambar 4.16 Mass Spectra *quercetin-3-diglucoside*..... 65



DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1	37
Persamaan 3.2	37
Persamaan 3.3	38
Persamaan 3.4	43



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Daun Randu.....	76
Lampiran 2. Sertifikat Strain Bakteri	77
Lampiran 3. Preparasi Sampel.....	78
Lampiran 4. Perhitungan Bahan.....	78
Lampiran 5. Komposisi Cat Gram	80
Lampiran 6. Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	80
Lampiran 7. Maserasi dan Evaporasi	81
Lampiran 8. Uji bebas etanol	82
Lampiran 9. Skrining Fitokimia	82
Lampiran 10. Analisis LCMS daun randu.....	84
Lampiran 11. Hasil Kromatogram Analisis LCMS Daun Randu	85
Lampiran 12. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Randu.....	85
Lampiran 13. Hasil Analisis SPSS 22.....	86
Lampiran 14. Alur Prosedur Kerja.....	88
Lampiran 15. Jadwal Kegiatan.....	92

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sudah mengenal tanaman obat sejak lama, khususnya jamu-jamu tradisional herbal. Banyak sekali tanaman Indonesia yang tumbuh baik di hutan maupun di pekarangan rumah yang dapat dijadikan sebagai bahan alternatif mengobati segala keluhan kesehatan masyarakat Indonesia. Hal ini yang menjadikan Indonesia sebagai negara megabiodiversitas. Resep-resep yang telah diwariskan secara turun temurun mereka gunakan hingga sekarang tanpa mengetahui khasiat dan senyawa yang berfungsi sebagai obat didalamnya (Agustina *et al.*, 2016).

Pendekatan medik yang dapat dilakukan yaitu dengan analisis kandungan kimia melalui skrining fitokimia. Skrining fitokimia bertujuan untuk menganalisis senyawa kimia tertentu yang dapat menimbulkan efek farmakoterapi pada tubuh dan berkhasiat obat. Skrining fitokimia merupakan sebuah metode untuk meneliti komponen senyawa aktif pada tumbuhan, baik struktur kimia, biosintesis, penyebaran, fungsi biologis, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa dalam suatu tanaman. Tanaman randu yang dapat digunakan sebagai bahan obat baik herbal maupun sintesis yaitu pada bagian bunga, batang, daun, akar, buah, dan lain lain yang mengandung senyawa aktif obat (Agustina *et al.*, 2016).

Tanaman randu atau dengan nama latin *Ceiba Pentandra (L) Gaertn* salah satunya yaitu memiliki khasiat antibakteri yang cukup tinggi pada daunnya (Pratiwi, 2014). Tanaman randu merupakan tanaman yang berasal dari bagian utara Amerika Selatan yang menyebar ke wilayah Asia dan Afrika. Tanaman ini tumbuh secara luas pada iklim tropis dengan curah hujan yang tinggi. Daun randu mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang berfungsi sebagai antibakteri (Asare & Oseni, 2012). *Ceiba pentandra* sebagai tanaman obat multifungsi yang potensial perlu ditingkatkan dalam penggunaannya sebagai obat modern (Pratiwi, 2014). Kondisi ini mendorong penulis melakukan pengembangan dari antibakteri sintesis menjadi antibakteri alami dari alam Indonesia, yang dimana Indonesia memiliki banyak potensi pengembangan

sumber daya alam khususnya dalam hal jamu dan pengobatan. Salah satu diantaranya yang dapat digunakan ialah daun randu/daun kapuk (*Ceiba pentandra* (L) gaertn).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, dilaporkan hasil penelitian menunjukkan bahwa daun randu mengandung senyawa bioaktif yang berfungsi teraupetik obat sebagai antibakteri diantaranya alkaloid ($4,54 \pm 0,02$ mg/g), flavonoid ($26,06 \pm 0,16$ mg/g), tanin ($0,48 \pm 0,03$ mg/g), saponin ($1,55 \pm 0,04$ mg/g) per gram sampel (Friday *et al.*, 2011). Analisis senyawa LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) terhadap ekstrak etanol daun randu masih terbatas. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC/MS-MS) merupakan suatu metode analisis dengan kombinasi kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifisitas deteksi spektrometri massa. Kromatografi cair memisahkan komponen-komponen sampel dan kemudian ion bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa. Data LC-MS dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu (Mangurana dkk., 2019). Uji analisis menggunakan instrumen LC-MS memiliki beberapa keunggulan diantaranya mampu menganalisis senyawa metabolit sekunder suatu senyawa bahkan hingga protein (Mangurana dkk., 2019). Penggunaan LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectometry*) dengan hasil analisis yang khas dan spesifik dari penggunaan spektrometer massa serta aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis diharapkan mampu menganalisa metabolit sekunder di dalam ekstrak etanol daun randu (*Ceiba pentandra* (L) gaertn) sebagai antibakteri.

Penelitian Ninulia *et al.*, tahun 2017 menyatakan bahwa ekstrak etanol daun randu (*Ceiba pentandra* (L) gaertn) dapat menghambat aktivitas bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada kategori sedang pada konsentrasi optimum 75% dengan diameter zona hambat 7,42 mm, perlakuan menggunakan metode *disc diffusion* dengan kontrol positif yaitu *Vancomysin disk* 30 μ g. Sedangkan pada penelitian Busman *et al.*, tahun 2018 pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kapuk randu (*Ceiba pentandra* (L) gaertn) terhadap *Streptococcus mutans* didapatkan nilai zona hambat pada konsentrasi 20% (16 mm), 30% (19 mm), 40% (21 mm), 50% (23 mm), 60% (24 mm), dan

80% (25 mm) menunjukkan kesimpulan bahwa didapatkan hasil yang signifikan pada konsentrasi 20%-30%, 30%-40%, dan 50%-60%, akan tetapi pada konsentrasi 40%-50% tidak mendapatkan hasil yang signifikan.

Infeksi nosokomial adalah infeksi silang yang terjadi di lingkup rumah sakit saat melakukan suatu perawatan diluar dari keluhan dan gejala pasien. Di Asia, Amerika Latin, dan Sub-Sahara Afrika sekitar 40% terjadi kejadian infeksi nosokomial dari seluruh negara-negara di dunia. Dari seluruh pasien rumah sakit di Asia Tenggara 8,7% menderita infeksi nosokomial (Amelia & Burhanuddin, 2018). *Staphylococcus aureus* adalah patogen yang paling umum diisolasi di Amerika Serikat dan Eropa menurut *Antimicrobial Surveillance Program* dari tahun 1997 sampai 2001 (Tong *et al.*, 2015). Bakteri ini dapat menjadi penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan dan sindrom syok toksik. Persentasi infeksi nosokomial oleh bakteri *S. aureus* sebesar 21,7%. Sekitar 40% diantaranya diketahui resistensi terhadap antibiotik golongan beta-laktam (Suyasa & Mastra, 2020). Resistensi *S. aureus* sangat tinggi menurut Diyantika *et al.*, tahun 2017 urutan antibiotik yang resisten terhadap bakteri ini dari yang tertinggi yaitu antibiotik ampisilin, asam-klavulanat, amoksisilin, penisilin G, sulbenisilin, dan ciprofloksasin. Beberapa antibiotik yang memiliki sensitivitas 100% pada resistensi *S. aureus* diantaranya yaitu kloramfenikol (Suyasa & Mastra, 2020). Penggunaan kloramfenikol dalam jangka panjang dapat menyebabkan efek samping berupa penekanan pada sumsum tulang dan faktor resiko terjadinya anemia aplastik. Terdapat juga kasus *Strain Multi Drug Resistance* pada beberapa negara. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena mekanisme kerjanya sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun randu contohnya, senyawa flavonoid dan alkaloid yaitu dengan cara menghambat sintesis protein dengan cara merusak dinding sel selain itu kloramfenikol juga memiliki sifat spektrum luas yang dapat menjangkau bakteri gram positif ataupun negatif (Pratiwi, S. T., 2008). Tingginya tingkat resistensi tersebut maka perlu penelitian untuk mencari substansi antibakteri alternatif baru dari berbagai bahan (Negara, 2014). Penelitian mengenai daun randu sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* masih terbatas diharapkan penggunaan antibakteri dari

ekstrak etanol daun randu dapat menggantikan penggunaan antibiotik sintesis seperti kloramfenikol.

Uji aktivitas antibakteri daun randu ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi daun randu sebagai antibakteri alami terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60%. Konsentrasi tersebut digunakan untuk membuktikan kombinasi ekstrak etanol daun randu (*Ceiba pentandra (L) gaertn*) sebagai antibakteri dapat diketahui diameter daya hambat yang optimum. Berdasarkan latar belakang dan tujuan tersebut, maka peneliti akan melakukan penelitian “Analisis LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectometry*) Ekstrak Etanol Daun Randu (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 21523”.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) yang memiliki zona hambat optimum antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?
- 1.2.3 Apa saja kandungan senyawa di dalam ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) yang bersifat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan identifikasi dengan instrument LC-MS?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*
- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) yang memiliki zona hambat optimum antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*
- 1.3.3 Mengetahui kandungan senyawa di dalam ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) Gaertn*) yang bersifat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan identifikasi dengan instrument LC-MS

1.4 Batasan Masalah

- 1.4.1 Sampel yang digunakan adalah daun randu (*Ceiba pentandra (L.) gaertn*) yang diperoleh di kawasan Pakel dan sekitarnya, Kabupaten Tulungagung
- 1.4.2 Metode ekstraksi dengan metode remaserasi dengan pelarut etanol 70% yang menghasilkan ekstrak etanol daun randu (*Ceiba pentandra (L.) gaertn*)
- 1.4.3 Identifikasi senyawa menggunakan analisis LCMS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*) yang memiliki potensi sebagai antibakteri
- 1.4.4 Uji aktivitas antibakteri dengan metode disc cakram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra (L.) gaertn*) sebagai antibakteri

1.5 Relevansi Penelitian

- 1.5.1 Penelitian oleh Busman, Edrizal dan Danu Eko Saputra pada tahun 2015 yang berjudul “Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kapuk randu (*Ceiba pentandra (L.) Gaertn*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*”. Dengan hasil penelitian yakni didapatkan nilai zona hambat pada konsentrasi 20% (16 mm), 30% (19 mm), 40% (21 mm), 50% (23 mm), 60% (24 mm), dan 80% (25 mm) menunjukkan kesimpulan bahwa didapatkan hasil yang signifikan pada konsentrasi 20%-30%, 30%-40%, dan 50%-60%, akan tetapi pada konsentrasi 40%-50% tidak mendapatkan hasil yang signifikan.
- 1.5.2 Penelitian lain oleh Pradhya Paramitha Ninulia, B. Boy Rahardjo Sidharta, dan F. Sinung Pranata pada tahun 2017 yang berjudul “Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun randu (*Ceiba pentandra (L.) gaertn*) terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*” mendapatkan hasil penelitian yakni dengan luas zona hambat pada konsentrasi optimal 75% dengan perlakuan menggunakan metode *disc diffusion* dengan kontrol positif yaitu Vancomysin disk 30 µg.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tanaman Randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaert)

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman kapuk/randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaert) adalah sebagai berikut (Fauzia *et al.*, 2020):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: <i>Ceiba</i>
Spesies	: <i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaert.



Gambar 2.1 Daun *Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn. (Saputra D., 2017)

2.1.2 Morfologi

Tanaman kapuk atau orang awam menyebutnya tanaman randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaert) adalah salah satu tanaman yang banyak tersebar di Asia terutama di wilayah Pulau Jawa. Tanaman ini banyak dilestarikan di wilayah asalnya yaitu Afrika dan Amerika Selatan bagian utara. Masyarakat di Indonesia rata-rata memanfaatkan daun randu sebagai makanan ternak, padahal tanaman randu ini mengandung berjuta manfaat (Pratiwi, 2014).

Tanaman randu (*Ceiba pentandra (L.) gaert*) termasuk tanaman dikotil yang dapat tumbuh hingga tinggi 60 m. Batang tanaman randu berbentuk bulat, pada beberapa spesies tanaman randu memiliki duri di sekitar bagian batangnya. Batang tanaman randu berwarna hijau disertai dengan kulit lapisan luar abu-abu. Tanaman randu pada musim kemarau akan meranggas, daunnya digugurkan untuk mengurangi penyerapan air. Tanaman ini memiliki daun tunggal menjari dengan diameter rata-rata 15 cm. Pada saat tanaman berbunga, bunganya akan berada di pucuk pohon dan menggerombol. Setelah berkembang, randu akan berbuah hijau pada saat muda, dan akan menjadi coklat dengan serabut halus didalamnya yang biasa disebut dengan buah kapuk. Di dalam buah kapuk terdapat segerombolan biji hitam ditengah-tengah buah kapuk. Tanaman randu mempunyai akar tunggang yang berwarna coklat (Van Steenis, 2008).

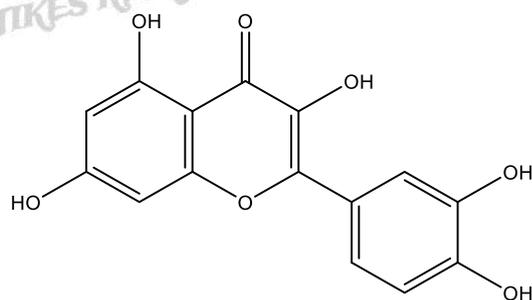
2.1.3 Kandungan Kimia

Menurut Pratiwi (2014) pada bagian daun randu mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, plobatanin, damar pahit dan hidrat arang. Sedangkan pada daun mudanya mengandung fenol, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, phytat, oxalat tripsin inhibitor (pengikat enzim) serta hemaglutinin yang digunakan sebagai inisiasi infeksi. Pada ekstrak metanol daun randu mengandung asam fenolik sebagai angiogenesis (Nguyen-hai-nam, 2001), pada ekstrak etanol daun randu menurut Asare & Oseni, (2012) mengandung gula pereduksi, saponin, poliuronoid, polifenol, tannin, dan juga plobatanin.

Menurut penelitian Busman *et al.*, (2015), daun randu mengandung senyawa flavonoid, tannin, saponin, dan juga alkaloid. Berikut senyawa yang terkandung dalam daun kapuk randu (*Ceiba pentandra (L.) gaert*):

2.1.3.1 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder golongan fenol yang tidak tahan panas karena mempunyai sistem aromatik terkonjugasi. Flavonoid ini termasuk dari golongan senyawa yang sangat mudah ditemukan di alam. Memiliki struktur molekul $C_6-C_3-C_6$ flavonoid ini memiliki kerangka satu buah cincin aromatic A dan B serta cincin heterosiklik. Pada cincin heterosiklik terdapat unsur O_2 yang bila teroksidasi maka menjadikan ciri khas dari senyawa turunannya (Redha, 2010).

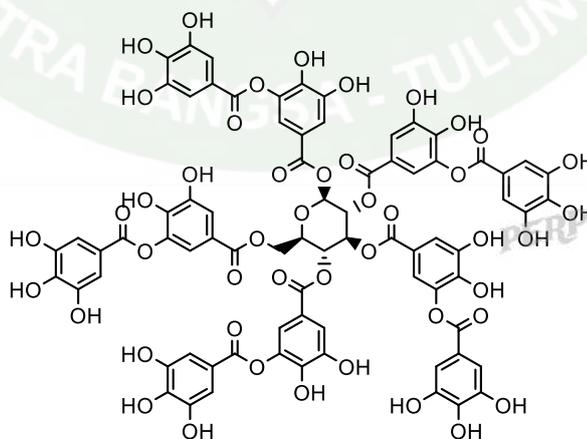


Gambar 2.2 Struktur Flavonoid (Chemdraw, 2022)

Senyawa metabolit sekunder ini tersebar banyak pada semua bagian tanaman kecuali pada alga, mulai dari biji, buah, daun, kayu, akar, dan lain-lain. Flavonoid sendiri termasuk dari senyawa polar yang dapat larut pada pelarut polar. Flavonoid termasuk polar dikarenakan memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi (Markham, 1998). Menurut Xie *et al.*, 2014 mekanisme kerja senyawa tersebut dalam menekan bakteri diantaranya adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, metabolisme energi, pembentukan biofilm dan menghambat porin di membran sel serta mengubah permeabilitas dinding selnya.

2.1.3.2 Tanin

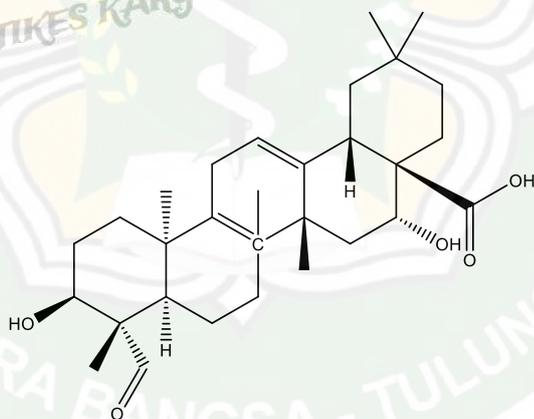
Selain flavonoid daun randu juga mengandung tannin. Tanin merupakan suatu senyawa metabolit sekunder dengan rumus kimia $C_{76}H_{52}O_{46}$ dengan berat molekul sebesar 500-3000. Senyawa tannin termasuk senyawa polar karena memiliki gugus hidroksi fenolik sama seperti flavonoid (Hidayah, 2016). Tanin larut dalam pelarut organik polar namun tidak pada pelarut organik non polar.



Tanin dibedakan menjadi 2 yaitu tannin terkondensasi dan tannin yang mudah terhidrolisis. Tanin terkondensasi merupakan flavonoid yang mengikat karbon *catechin* dan *galloocatechin*. Tannin yang mudah terhidrolisis merupakan ester yang berikatan dengan molekul gula membentuk suatu polimer, yaitu *polimer gallic* dan *ellagic acid* (Hidayah, 2016). Pada tanaman sendiri tannin digunakan untuk pelindung dari predator karena rasanya yang pahit dan sepat. Sebagai antibakteri tannin bekerja dengan menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri mengalami hambatan pembentukan. Dalam menghambat pertumbuhan bakteri tannin berfokus pada enzim mikrobial ekstraseluler dan mengganggu permeabilitas sel kemudian dinding sel bakteri dirusak (Tomiyama *et al.*, 2016).

2.1.3.3 Saponin

Saponin dapat ditemukan pada bagian akar, kulit, daun biji dan buah. Sama seperti tannin fungsi saponin juga sebagai pertahanan dari predator karena rasanya yang pahit. Saponin dapat membentuk busa stabil pada larutan cair (Hidayah, 2016).



Gambar 2.4 Struktur Saponin (Chemdraw, 2022)

Saponin juga bersifat polar karena memiliki ikatan glikosida yang tersusun dari gula dan aglikon yang berikatan, terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid (Simaremare, 2014). Senyawa dengan rumus molekul $C_{30}H_{46}O_5$ ini memiliki berat molekul 414,6231 g/mol nilai ini termasuk tinggi diantara senyawa-senyawa yang lainnya. Dengan titik didih saponin yaitu $158^{\circ}C$ dan densitas $0,5 \text{ g/cm}^3$ pada suhu $20^{\circ}C$ hal ini dipaparkan pada jurnal penelitian Santosa *et al.* pada tahun 2018. Struktur saponin memiliki diversifikasi yang luas dengan sifat surfaktan mampu

menyebabkan lisis pada dinding sel protozoa, sehingga dapat digunakan sebagai defaunasi protozoa (Hidayah, 2016). Pada antibakteri saponin bekerja dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel. Saponin lebih efektif pada bakteri gram positif dimana saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida yang terdapat pada dinding sel bakteri dan terjadilah permeabilitas dinding sel. Saponin memiliki sifat unik yaitu amfilik yang dapat membantu zat menembus membrane bakteri hingga menguras kandungan sel ke arah luar maka bakteri akan menjadi mati (Sonfack *et al.*, 2021).

2.1.3.4 Alkaloid

Selain ditemukan pada tumbuhan, alkaloid juga dapat ditemukan di hewan. Senyawa ini memiliki atom nitrogen terbanyak. Alkaloid banyak ditemukan pada tanaman khususnya famili angiosperm (Ningrum *et al.*, 2016). Bagian bunga, biji, daun, ranting, kulit batang hingga akar pada tanaman dapat ditemukan alkaloida. Alkaloida dalam tumbuhan biasanya ada dalam dosis kecil yang harus dilakukan pemisahan terlebih dahulu. (Ningrum *et al.*, 2016).

Senyawa alkaloid terbagi menjadi alkaloid heterosiklik dan alkaloid non heterosiklik. Alkaloid dapat mempertahankan keseimbangan ion didalam tumbuhan karena memiliki sifat basa yang dapat mengganti basa mineral. Sama seperti ketiga golongan di atasnya senyawa alkaloid juga bekerja dengan cara mengganggu homeostasis bakteri dengan merusak membran sitoplasma bakteri juga dinding selnya (Cushnie *et al.*, 2014). Kebanyakan alkaloid mempunyai 1 atom nitrogen, namun beberapa diantaranya memiliki lebih dari 5. Nitrogen dapat berbentuk amina primer (RNH_2), amina sekunder (R_2NH) atau amina tersier (RN). Alkaloid bersifat polar karena kebanyakan alkaloid mengandung oksigen selain itu senyawa ini juga mengandung hidrogen dan nitrogen (Cushnie *et al.*, 2014).

2.2 Simplisia

2.2.1 Pengertian Simplisia

Didalam buku Materia Medika Indonesia disebutkan bahwa simplisia merupakan suatu bahan alami yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain, digunakan sebagai bahan obat yang berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia yaitu bahan baku obat alami yang belum dilakukan proses pengolahan apapun, dibuat dalam sediaan kering ataupun galeknik tertentu.

Sediaan galenik yaitu ekstrak total yang mengandung dua atau lebih senyawa hasil ekstraksi yang dapat digunakan sebagai terapi farmakologis atau jamu dibuat dalam bentuk formulasi sediaan obat yang sesuai (Depkes RI, 1995). Simplisia atau herbal adalah bahan alam kering digunakan sebagai pengobatan tanpa mengalami pengolahan atau proses setengah jadi seperti pengeringan. Kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan kurang dari 60°C (Depkes RI, 2017).

Simplisia dapat digolongkan menjadi 3 bagian, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral) (Depkes RI, 2017):

2.2.1.1 Simplisia Nabati

Simplisia nabati berasal dari eksudat tanaman atau bagian tanaman secara utuh. Eksudat tanaman adalah bagian dari sel yang dipisahkan dengan Teknik tertentu atau secara spontan dari tanamannya.

2.2.1.2 Simplisia Hewani

Simplisia hewani berasal dari bagian hewan utuh atau bagian atau jaringan yang berguna yang menghasilkan suatu zat berguna untuk obat berupa zat kimia murni.

2.2.1.3 Simplisia Pelikan (Mineral)

Seperti namanya simplisia ini berasal dari pelikan atau mineral berupa zat kimia murni yang belum diolah.

2.2.2 Syarat-syarat Simplisia

Simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu (BPOM RI, 2014):

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

2.2.3 Tahap Pembuatan Simplisia

Beberapa cara yang dapat dilakukan dalam pembuatan simplisia yaitu dengan cara pengeringan, fermentasi, proses simplisia yang memerlukan air, dan simplisia yang dibuat dengan proses khusus. Pembuatan dengan cara pengeringan tidak boleh menggunakan suhu tinggi karena dapat berakibat pada perubahan kandungan kimia yang terkandung. Pengeringan dengan panas matahari dapat

menimbulkan kontaminasi bakteri dari debu dan bila pengeringan dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan pertumbuhan kapang dan mikroorganisme lainnya. Beberapa penelitian menyarankan pengeringan menggunakan oven atau dengan microwave dengan paparan panjang gelombang tertentu lebih baik dan dapat mengurangi resiko kegagalan pengeringan yang telah disampaikan tadi.

Pembuatan simplisia lainnya yaitu dengan menggunakan proses fermentasi. Proses ini harus dilakukan hati-hati dengan mengikuti prosedur agar tidak mengarah ke proses yang tidak diharapkan. Proses lainnya yaitu dengan cara penyulingan, pengambilan eksudat, pengeringan sari air, dan lain-lain. Sedangkan untuk pembuatan simplisia yang memerlukan air seperti pati, talk, air diharuskan tidak mengandung bahan pencemar. Hal tersebut dapat dilakukan dengan syarat harus mempertahankan kualitas dan mutu simplisia (Prasetyo, 2013).

Proses tahapan pembuatan simplisia meliputi (Prasetyo, 2013):

a. Pengumpulan bahan baku

Pengumpulan bahan baku dilakukan dengan cara pemanenan, pemanenan harus memenuhi persyaratan dari usia tanaman, jenis tanaman, bagian yang digunakan, waktu pemanenan, faktor lingkungan baik eksternal maupun internal.

b. Sortasi basah

Sortasi basah yaitu penghilangan partikel asing atau yang tak diperlukan, dilakukan pada saat simplisia belum mengalami proses apapun atau dalam keadaan segar. Sortasi basah bertujuan untuk mengurangi zat pencemar yang tersisa dari waktu pemanenan.

c. Pencucian

Proses pencucian dilakukan dibawah air mengalir agar pencemar tidak dapat menempel pada celah tertentu ditanaman. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan zat pengotor yang menempel pada bagian tanaman yang tidak dapat dihilangkan pada waktu sortasi basah. Pencucian diulangi sebanyak 3 kali hingga bersih.

d. Perajangan

Perajangan yaitu proses memperkecil ukuran tanaman agar proses pengeringan sempurna, selain itu akan memudahkan dalam proses pengepakan

dan penggilingan. Semakin tipis perajangan maka semakin mempercepat waktu pengeringan. Namun bila terlalu tipis maka zat aktif yang terkandung juga akan cepat menguap. Perajangan dapat menggunakan pisau atau alat lainnya agar diperoleh sesuai yang dikehendaki. Perlu diperhatikan juga keseragaman ukuran rajangan, agar proses pengeringan dapat merata.

e. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan mengurangi kadar air dalam tanaman agar tidak ada cemaran mikroba yang dapat tumbuh diatas permukaan simplisia. Pengeringan tidak boleh menggunakan suhu tinggi agar senyawa metabolit sekunder tidak rusak. Pengeringan juga bertujuan untuk memperpanjang waktu simpan.

f. Sortasi kering

Sortasi kering dilakukan untuk menghilangkan zat pengotor yang tertinggal pada saat proses pengeringan.

g. Pengepakan

Pengepakan dilakukan untuk menjaga mutu simplisia pada waktu penyimpanan. Simplisia harus terjaga dari cemaran mikroba dan kapang agar tidak terjadi perubahan senyawa aktif.

h. Penyimpanan

Penyimpanan dilakukan ditempat yang kering dan terhindar dari sinar matahari pada suhu ruang untuk menjaga mutu dan kualitas simplisia.

i. Pemeriksaan mutu

Pemeriksaan mutu simplisia meliputi susut kering, kadar air, kadar abu, kadar sari, dan lain-lain.

2.2.4 Pembuatan Serbuk Simplisia

Serbuk simplisia menurut farmakope Indonesia edisi 4 adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan derajat kehalusan yang cocok terbuat dari simplisia sediaan galenik ataupun campurannya (Depkes RI, 1995). Serbuk simplisia terbuat dari simplisia utuh ataupun rajang kering yang telah melalui proses pengecilan ukuran dengan alat tanpa menghilangkan senyawa sekunder yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Derajat kehalusan yang digunakan pada serbuk untuk ekstrak daun randu adalah dengan nomer pengayak

80 dengan lebar nominal lubang 0,105 mm dan garis tengahnya 0,064 (Depkes RI, 2017). Derajat kehalusan serbuk simplisia daun mempengaruhi rendemen yang dihasilkan. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas kontak pelarut dengan seluruh bagian simplisia hal ini sesuai dengan penelitian Sapri *et al.*, pada tahun 2014, dari pengayak 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh hasil rendemen ekstrak tertinggi ditunjukkan pada pengayak mesh 80.

2.3 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental dan cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani berdasarkan cara yang sesuai, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Depkes RI, 1995). Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan senyawa pada tumbuhan yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa metabolit sekunder dapat dikelompokkan menjadi kelompok minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahui senyawa aktif yang terkandung maka akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI, 2000).

Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode diantaranya adalah maserasi, perkolasi, soxhletasi, refluks, fraksinasi dan lain-lain. Sebelum menentukan metode ekstraksi harus dilihat dulu mana yang akan menjadi target ekstraksi, beberapa target yang dapat ditentukan diantaranya adalah senyawa bioaktif yang tidak diketahui ataupun yang diketahui dan sekelompok senyawa yang berhubungan dengan struktural. Selain itu pemilihan metode bergantung pada sifat bahan dan sifat senyawa yang akan diisolasi.

Tujuan ekstraksi antara lain sebagai berikut:

- a. Senyawa kimia telah diketahui identitasnya untuk diekstraksi dari organisme.
- b. Bahan diperiksa untuk menemukan kelompok senyawa kimia tertentu, misalnya alkaloid, flavonoid atau saponin, meskipun struktur kimia sebetulnya dari senyawa ini bahkan keberadaannya belum diketahui.
- c. Organisme (tanaman atau hewan) digunakan dalam pengobatan tradisional,
- d. Sifat senyawa yang akan diisolasi belum ditentukan sebelumnya dengan cara apapun.

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut:

- a. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan tumbuhan.
- b. Pemilihan pelarut
- c. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya
- d. Pelarut semipolar: etil asetat, diklorometan, dan sebagainya
- e. Pelarut nonpolar: N-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya (Mukhtarani, 2014).

2.3.1 Maserasi

Maserasi adalah cara yang paling sederhana dan murah dalam proses pemisahan senyawa dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam suatu pelarut dan digojok hingga mencapai kesetimbangan tertentu antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Maserasi menurut Farmakope Indonesia Edisi 4 yaitu, salah satu cara ekstraksi tanpa pemanasan dengan cara perendaman serbuk dengan pelarut bukan air atau setengah air selama periode tertentu sesuai dengan peraturan dalam Farmakope.

Prinsip maserasi yaitu dengan mengikat zat aktif berdasarkan dari kelarutannya dalam pelarut atau biasa dikenal dengan *like dissolved like*. Umumnya pelarut maserasi bersifat polar selain air atau pelarut non polar. Ketika simplisia direndam dalam pelarut, cairan penyari akan menembus setiap sel-sel tanaman yang kaya akan senyawa kimia aktif. Senyawa kimia akan larut dalam pelarut sesuai, sehingga pelarut akan mengandung senyawa aktif tanaman. Ketika konsentrasi sudah jenuh dan terjadi kesetimbangan akibat gaya difusi antara pelarut didalam dan diluar sel maka proses ekstraksi dinyatakan selesai (Mukhtarini, 2014).

Menurut Farmakope Indonesia Edisi III 1979, proses maserasi dilakukan dengan cara, kecuali dinyatakan lain, memasukan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam sebuah bejana, dituangkan dengan 75 bagian cairan penyari, kemudian tutup, biarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya sambil sering diaduk. Serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan dalam

bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 5 hari. Selanjutnya dituang dan disaring. Proses ekstraksi ini dapat menghindari senyawa yang bersifat termolabil karena tidak melewati proses pemanasan, unit alat yang dipakai tidak rumit dan mudah digunakan hanya dengan sedikit personil dan biaya yang diperlukan murah dan hemat penyari. Namun disisi lain, maserasi ini menggunakan waktu yang cukup lama, dan proses penyarian yang kurang sempurna karena hanya mampu menyari sekitar 50% zat aktif saja (Mukhtarini, 2014).

2.3.2 Perkolasi

Hampir sama dengan mekanisme penyarian maserasi, bedanya perkolasi menggunakan pelarut yang selalu baru dalam melewati celah-celah sel tanaman. Secara prinsip adalah pelarut yang telah jenuh didalam perkolator akan digantikan oleh pelarut baru dan kegiatan tersebut diulangi hingga cairan penyari berubah menjadi jernih maka proses perkolasi dapat dihentikan. Metode perkolasi dilakukan dengan cara serbuk dimasukan ke dalam perkolator kemudian dibasahi dengan perlahan. Pelarut dimasukan dari atas perkolator dan mengalir celah-celah serbuk hingga turun dan menetes dibagian bawah. Pada metode perkolasi memiliki kelemahan yaitu waktu yang dibutuhkan cukup lama dan pelarut yang dibutuhkan sangat banyak. Pelarut tidak dapat menjangkau seluruh bagian tanaman yang tidak homogen (Mukhtarini, 2014).

2.3.3 Soxhlet

Secara prinsip dalam proses sokletasi adalah dengan metode pemanasan dan perendaman sampel yang dapat menyebabkan pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan dari dalam dan luar sel, kemudian zat aktif dalam sitoplasma akan keluar dan terlarut dalam cairan penyari. Larutan tersebut menguap akibat pemanasan dan mengembun akibat kondensasi kemudian dikumpulkan dalam suatu wadah. Bila larutan melewati lubang sifon maka akan terjadi sirkulasi yang berulang dan menghasilkan ekstrak yang baik (Depkes RI, 2008). Kelebihan dari metode ini adalah proses yang berulang, tidak membutuhkan banyak pelarut dan hemat waktu. Namun memiliki kekurangan jika senyawa yang diambil tidak tahan panas maka senyawa akan terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh berada pada titik didih (Mukhtarini, 2014).

2.3.4 Refluks

Metode refluks tidak cocok untuk bahan simplisia yang tidak tahan panas, karena refluks menggunakan sistem kerja dengan cara pemanasan. Prinsip refluks berdasarkan pada pemanasan pelarut dengan suhu tinggi kemudian uap didinginkan oleh kondensor dan kembali menetes pada simplisia serbuk. Metode ini dapat mengekstrak serbuk simplisia secara kontinyu (Susanty & Bachmid, 2016). Bahan direndam pada cairan penyari di dalam labu alas bulat di atas pemanas, bagian atas diberi kondenser untuk mengembunkan uap pelarut. Cairan penyari yang kembali menjadi cair akan menetes ke bawah labu alas bulat dan kembali melarutkan zat aktif. Suatu ekstrak biasanya dilakukan 3 kali sirkulasi dan setiap 1 kali sirkulasi membutuhkan waktu sekitar 4 jam (Depkes RI, 2008).

2.3.5 Fraksinasi

Metode fraksinasi berdasarkan prinsip metode kelarutan zat aktif terhadap perbedaan pelarut dari polar, non polar, dan semi polar. Nilai kepolaran zat aktif menentukan tingkat absorpsi senyawa ke dalam sel. Zat aktif polar akan mudah menembus lapisan fosfolipid dan akan merusak dinding sel dan pelarut akan menyari zat aktif di dalam sel (Purwanto, 2015). Metode ekstraksi cair-cair ini merupakan suatu penyarian zat yang didasarkan pada perbedaan dua fase cair.

Proses dilakukan dalam corong pisah dengan perbedaan dua macam pelarut tak larut yang dicampur kemudian dipisahkan. Fraksinasi juga dilakukan dalam proses berkontinyu tanpa mengganti dengan pelarut organik baru. Hasil fraksi yang didapat mengandung senyawa yang berurutan dari non polar, semi polar dan polar (Purwanto, 2015). Kelebihan dari metode ini yaitu metode fraksinasi aman untuk zat aktif yang volatil meskipun menggunakan teknik pemanasan, dan waktu yang lumayan singkat. Sedangkan kekurangannya yaitu kebutuhan pelarut yang terbatas (Yulinar & Suharti, 2022).

2.4 Pelarut

Cairan pelarut yang optimal adalah cairan yang dapat menarik senyawa aktif dalam simplisia, sehingga zat aktif terpisah dari kandungan dan bahan atau sel lainnya. Setelah zat aktif terlarut pada pelarut maka sebagian besar pelarut akan didominasi oleh zat aktifnya (Depkes RI, 1986). Untuk mempertimbangkan pemilihan cairan penyari ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan yaitu:

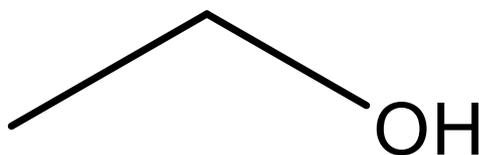
- Selektivitas
- Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
- Ekonomis
- Ramah lingkungan
- Keamanan
- Kepolaran dan Kelarutan penyari

Cairan pelarut harus melewati persyaratan kefarmasian dalam spesifikasi Pharmaceutical grade. Berdasarkan Peraturan BPOM Nomor 20 Tahun 2020 Tentang Bahan Penolong Dalam Pengolahan Pangan, bahan pelarut pengeksrak yang diizinkan yaitu:

- | | |
|------------------------|-----------------------------------|
| • 1,2,3-trikloroetilen | • Heptana |
| • Aseton | • Isobutanol (2-metilpropan-1-ol) |
| • Benzil alkohol | • Isopropil alkohol |
| • Butil alkohol | • Karbondioksida |
| • 2-butanol | • Metanol |
| • Butana | • Propil alkohol |
| • Dietil eter | • Sikloheksana |
| • Diklorometan | • Etil asetat |
| • Etanol | |
| • Heksana | |

Pelarut etanol adalah pelarut yang sangat umum digunakan karena sifatnya yang semi polar sehingga dapat menarik kandungan senyawa baik yang polar ataupun yang non polar selain itu harganya yang relatif murah, mudah didapat dan juga aman. Dengan rumus kimia C_2H_5OH pelarut yang memiliki nama lain etil alkohol hidroksietana atau alkohol murni atau alkohol absolut ini merupakan pelarut polar karena terdapat gugus hidroksil dengan keelektronegatifan yang sangat tinggi sehingga dapat berikatan dengan berbagai molekul ion dan polar. Etanol secara fisik tidak berwarna dengan sifat mudah terbakar, tidak berasa dan memiliki bau yang khas. Etanol dapat dibuat dari bahan-bahan yang mengandung turunan gula, pati dan selulosa. Selain sebagai pelarut etanol juga dapat digunakan

untuk sintesa bahan kimia dalam produksi industri kimia, bahan campuran dalam minuman, atau sebagai bahan bakar kendaraan (Utami, 2009).



Gambar 2.5 Struktur Kimia Etanol (Chemdraw, 2022)

Sifat-sifat etanol menurut *National Center for Biotechnology Information* pada tahun 2020 dapat dilihat berdasarkan tabel berikut ini:

Tabel 2.1 Sifat-Sifat Etanol (*National Center for Biotechnology Information*, 2020)

Parameter	Etanol	Keterangan
Berat molekul	46,07 g/mol	Data komputasi
Wujud	Cairan	Pada suhu kamar
Warna	Tidak berwarna	Data HSDB
Bau	Nyaman (pleasant)	Data HSDB
Titik didih	78,24°C	Data HSDB
Titik lebur	-114,14°C	Data HSDB
Titik nyala	14°C	Wadah tertutup
Kelarutan	- Dapat bercampur (<i>miscible</i>) dalam air (25 °C), etil eter, aseton, kloroform Larut dalam benzena	Data HSDB
Masa jenis	0,79	Data ILO ICSC
Viskositas	1,074 mPas	Pada 25°C
Kalor pembakaran	1336,8 kJ/mol (pada 25°C)	Data HSDB
Kalor penguapan	43,32 kJ/mol	Pada 25°C
Tegangan permukaan	21,97 Nm/m	Pada 25°C

2.5 Bakteri

2.5.1 Definisi Bakteri

Mikroorganisme atau mikroba adalah organisme hidup uniseluler yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, harus menggunakan bantuan alat yaitu mikroskop. Meskipun mikroorganisme hanya uni seluler namun mikroorganisme dapat berkembang biak, bereproduksi, bermetabolisme, berpindah tempat, berevolusi, dan melakukan komunikasi. Yang termasuk ke dalam golongan mikroorganisme diantaranya adalah bakteri, fungi, protozoa, alga mikroskopis, virus dan protozoa. Bakteri sendiri termasuk kedalam golongan prokariot, karena bakteri hanya memiliki membran plasma saja. Bakteri tidak memiliki inti sejati karena bahan penyusunnya tersebar di sitoplasma (Pratiwi, S. T., 2008).

Ciri-ciri sel eukariotik diantaranya sebagai berikut (Pratiwi, S. T., 2008):

- Memiliki bagian penyusun yang sederhana
- Hanya memiliki membran plasma tanpa membran inti
- DNA tidak terselubung oleh membran
- Sitoplasma bergranul karena terdapat ribosom yang melayang.

Beberapa bentuk dasar bakteri yaitu meliputi, bulat (*Coccus*; *Cocci*), silinder (*Bacillus*; *Bacilli*), dan spiral. Umumnya bakteri berukuran 0,5 hingga 5 μm (Pelczar *et al.*, 1998). Struktur bakteri terbagi menjadi 2 bagian, yaitu struktur eksternal dan internal. Struktur eksternal biasanya terdiri dari glikokaliks, flagela, filamen aksial, fimbria, pili dan dinding sel. Sedangkan struktur internal terdiri dari sitoplasma, membran plasma, nukleoid, ribosom dan plasmid (Pratiwi, S. T., 2008).

Struktur eksternal bakteri:

a. Glikokaliks

Merupakan substansi yang mengelilingi sel dan biasanya berbentuk kapsul yang terbuat dari gula. Fungsi dari glikokaliks yaitu membentuk tubuh bakteri dan melindungi bakteri patogen dari fagositosis sel inang. Kebanyakan bakteri memiliki kapsul yang terdiri atas polisakarida yang mengandung glukosa, gula amino, rhamnosa, 2-keto-3-deoxygalactonic acid.

b. Flagela

Digunakan sebagai kemudi untuk memudahkan bakteri bergerak, berbentuk untaian filamen dengan panjang 12-30 nm. Tipe bakteri juga ada yang dibedakan berdasarkan dari jumlah flagelanya, diantaranya yaitu *atrikus* (tanpa flagela), *monotrikus* (1 flagela), *lofotrikus* (1 atau lebih flagela pada ujung sel), *amfitrikus* (sekelompok flagela pada tiap ujung sel), dan yang terakhir *peritrikus* (flagela ada di seluruh bagian permukaan sel).

c. Filamen aksial

Biasa disebut dengan endoflagela, filamen aksial adalah benang-benang yang muncul dari bawah selaput luar sel pada bagian ujung sel. Bagian ini biasanya berbentuk pilinan spiral mengitari bagian sel. Sama seperti flagela fungsi dari filamen aksial ini juga untuk mempermudah pergerakan bakteri, dengan adanya filamen aksial ini memungkinkan bakteri untuk bergerak spiral.

d. Fimbria

Berfungsi untuk mengenali dan berikatan dengan residu gula yang ada pada polisakarida di permukaan sel. Fimbria ini masih termasuk golongan protein. Kemampuan patogen bakteri berasal dari fungsi fimbria ini. Dimana fimbria digunakan untuk melekatkan tubuh bakteri pada sel inangnya.

e. Pili

Seperti fimbria namun lebih panjang, digunakan untuk mentransfer DNA dari bakteri satu ke bakteri lainnya.

f. Dinding sel

Dinding sel merupakan bagian terluar yang membentuk bakteri dan melindungi bakteri dari pecahnya sel dan isi didalamnya. Tebal dinding sel sekitar 10-23 μ m dengan berat 20% dari berat keringnya bakteri itu sendiri. Dinding sel terbentuk dari peptidoglikan yang merupakan perulangan disakarida dari monosakarida NAG (*N-acetylglucosamine*) dan NAM (*N-acetylmuramic acid*) yang dapat membuat kaku dinding sel bakteri.

Struktur Internal bakteri:

a. Sitoplasma

Struktur bakteri didalam membran plasma yang berisi enzim, air, protein, karbohidrat, asam nukleat, ion organik, dan lipid. Sitoplasma merupakan koloid tebal semi transparan yang elastis, yang secara optik bersifat homogen.

b. Membran plasma

Terdiri dari fosfolipid berlapis ganda dan protein yang membentuk model mosaik cair dan berfungsi untuk melindungi bagian-bagian dalam dari sel-sel bakteri. Membran plasma biasanya terdapat di sebelah dinding sel.

c. Nukleoid

Nukleoid adalah inti dari sel bakteri. Nukleoid berfungsi sebagai wadah kromosom bakteri yang terkandung DNA dan RNA di dalamnya.

d. Ribosom

Ribosom adalah salah satu dari beberapa bagian di dalam sitoplasma. Ribosom berfungsi untuk sintesis protein. Di dalam ribosom ini terkandung sub unit yang menjadi target antibiotik kloramfenikol untuk menghancurkan bakteri.

e. Plasmid

Plasmid adalah bagian yang penting terpisah dari kromosom dan merupakan alat para ilmuwan dalam bidang rekayasa genetik. Pada plasmid ini dapat disisipkan sebuah DNA dari luar bakteri untuk menghasilkan molekul DNA rekombinan.

2.5.2 Penggolongan Bakteri

Golongan prokariota terbagi menjadi 4 golongan besar yang didasarkan pada karakteristik dinding selnya, diantaranya yaitu golongan *gracilicutes* atau bakteri gram positif, *firmicutes* atau bakteri gram negatif, *tenericutes* atau bakteri yang tidak memiliki dinding sel, dan yang terakhir golongan *archaeobacteria* (Rini & Rochmah, 2020). Bakteri gram positif adalah bakteri yang dinding penyusunnya terdiri dari peptidoglikan, polisakarida dan asam teikoat. Bakteri gram positif menunjukkan warna ungu pada saat uji pengecatan gram hal ini disebabkan karena kandungan peptidoglikan yang tebal pada bakteri mampu mempertahankan warna ungu violet meskipun telah dicuci dengan alkohol (Nurhidayati *et al.*, 2015).

Bakteri gram positif memiliki dinding sel dengan tebal 15-80 nm monolayer, bakteri gram positif ini lebih peka terhadap penisilin dan tidak peka terhadap streptomisin. Kandungan peptidoglikan dalam sel bakteri Gram Positif ini menyebabkan warna yang terlihat pada mikroskop saat pewarnaan gram berwarna ungu, karena kristal violet telah terkunci didalam sel meski telah di cuci. Bakteri tersebut dapat menghasilkan toksin berupa endotoksin dan juga eksotoksin. Yang termasuk dalam golongan bakteri gram positif meliputi, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Listeria sp.*, *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.*, dan juga *Mycobakterium sp* (Rini & Rochmah, 2020).

Bakteri gram negatif adalah bakteri yang dinding penyusunnya dari kandungan lipid yang tinggi sehingga lipid dapat melarutkan warna dari kristal violet setelah dicuci dengan alkohol saat pewarnaan gram sehingga menimbulkan warna merah untuk bakteri gram negatif (Nurhidayati *et al.*, 2015). Dinding sel yang dimiliki oleh bakteri gram negatif lebih tipis daripada bakteri gram positif yaitu sekitar 10-15 nm yang mengandung lipid dalam konsentrasi tinggi dan peptidoglikan. Memiliki membran sel ganda yang diselimuti oleh membran luar permeabel. Bakteri gram negatif lebih tahan terhadap antibiotik dari pada bakteri gram positif. Berbeda dengan bakteri gram positif, bakteri ini hanya dapat mengeluarkan satu toksin saja yaitu endotoksin. Contoh dari bakteri gram negatif ialah *Salmonella sp.*, *Eschericia sp.*, *Neisseria sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Vibrio*, dan juga *Treponema sp* (Rini & Rochmah, 2020).

Menurut Rini & Rochmah (2020), dalam bukunya yang berjudul "Bakteriologi Dasar" menyebutkan perbedaan bakteri gram positif dan negatif diantaranya adalah:

Tabel 2.2 Perbedaan Bakteri Gram

Perbedaan	Bakteri gram positif	Bakteri gram negatif
Lapisan peptidoglikan	Lebih tebal 1-4%	Lebih tipis 11-22%
Toksin yang dibentuk	Eksotoksin dan endotoksin	Endotoksin
Bentuk sel	Bulat, batang dan filamen	Bulat, oval, dan koma
Metabolisme	kemoorganoheterotrof	fototrof

Tabel 2.3 Lanjutan

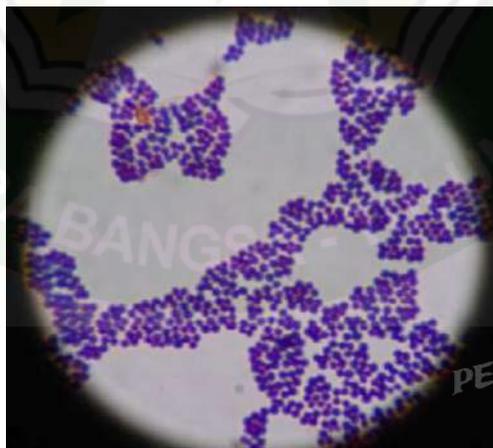
Motilitas	Tidak bergerak kecuali pada tipe flagella adalah tipe petitrikus	Bergerak dan tidak bergerak, flagella bervariasi
Endospora	Beberapa kelompok membentuk endospora	Tidak membentuk endospora

2.6 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.6.1 Klasifikasi

Menurut Rollando, (2019) dalam bukunya yang berjudul “Senyawa Antibakteri dan Fungsi Endofit” klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Monera
Devisi	: Firmicutes
Kelas	: Firmibacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2.6 Gambaran Mikroskopis *S. Aureus* (Joshi *et al.*, 2014)

2.6.2 Morfologi

Bakteri bulat berukuran diameter 0,8-10 μm ini disebut dengan *Staphylococcus aureus* yang termasuk kedalam bakteri gram positif. Hidupnya

berkoloni seperti untaian anggur, termasuk jenis bakteri aerob hingga anaerob yang tidak dapat bergerak. Bakteri ini termasuk flora normal yang tumbuh dan hidup di tubuh manusia, bagian yang paling banyak ditempati bakteri ini diantaranya ada di kulit dan usus (Rollando, 2019). Koloni *Staphylococci* berbentuk bulat, cembung dna mengkilap dengan diameter 6-8 mm tak berwarna dan pada strain memiliki pigmen jingga (Soedarto, 2015).

Berbeda dengan bakteri *Streptococcus*, bakteri *S. aureus* dapat menghasilkan enzim katalase yang dapat digunakan sebagai bahan untuk fermentasi karena dapat meragi karbohidrat dan menghasilkan asam laktat. Bakteri ini tumbuh dengan cepat pada suhu optimal tubuh yaitu 37°C pada pH 7,4. *S. aureus* dapat bertahan pada suhu normal maupun suhu kering dan panas maksimal selama 30 menit dan dalam larutan NaCl 9% (Rollando, 2019). Bakteri ini dapat berubah menjadi patogen dalam lingkungan yang memadai. Patogenesisnya merupakan gabungan dari berbagai macam metabolit. Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* ini memberi ciri khas yaitu peradangan di sekitar infeksi, nekrosis dan pembentukan abses (Rollando, 2019).

2.7 Antibakteri

2.7.1 Pengertian Antibakteri

Antibakteri atau antibiotik adalah semua substansi yang memiliki kemampuan dalam hal menghambat pertumbuhan dan perkembangbiakan suatu mikroorganisme (Pratiwi, S. T., 2008). Antibiotik dapat digunakan sebagai antibiotik antitumor atau agen sitostatik seperti mitramicin yang berasal dari *Streptomyces sp.*, untuk patologi tanaman seperti polioksin dari *Streptomyces cacaoi var. asoensis*, untuk bahan tambahan makanan contohnya klortetrasiklin untuk pengawet ikan dan daging dan juga antibiotik dalam bidang peternakan dan kesehatan hewan yaitu tilosin dari *Streptomyces fradiae* (Pratiwi, S. T., 2008). Antibiotik jenis baru dapat ditemukan dengan cara skrining mikroorganisme penghasil antibiotik. Skrining dibagi menjadi dua yaitu skrining primer dan skrining sekunder.

Skrining primer meliputi mencari sumber penghasil antibiotik, menumbuhkan mikroorganisme, mengisolasi dan mengoleksi mikroorganisme dan selanjutnya dilakukan uji kemampuan isolat. Sedangkan skrining sekunder

meliputi mencari kondisi optimal untuk pertumbuhan bakteri, selanjutnya dilakukan identifikasi mikroorganismenya, dan identifikasi substansi (Pratiwi, S. T., 2008).

2.7.2 Mekanisme Kerja Antibakteri

Berdasarkan spektrum kerjanya, antibakteri digolongkan dalam dua golongan besar, yakni bakteri spektrum luas dan bakteri spektrum sempit. Spektrum sempit hanya dapat membunuh satu golongan bakteri saja antara bakteri gram negatif ataupun positif, sebaliknya pada spektrum luas antibakteri mampu membunuh baik bakteri gram positif ataupun negatif. Menurut mekanisme aksinya, antibakteri digolongkan menjadi 5 golongan yakni antibiotik dengan menghambat sintesis dinding sel, merusak membran sel, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat, dan juga menghambat sintesis metabolit esensial (Pratiwi, S. T., 2008). Kategori kekuatan aktivitas antibakteri menurut Davis & Stout, tahun 1971 terbagi menjadi 4 kategori yaitu jika diameter zona hambat <5 mm maka dikatakan kategori lemah, jika zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, dan kategori kuat jika diameter zona hambat 11-20 mm, sedangkan kategori sangat kuat jika >20 mm (Davis & Stout, 1971).

2.8.2.1 Antibiotik yang Menghambat Sintesis Dinding Sel

Yang termasuk antibiotik golongan ini diantaranya adalah golongan penisilin, sefalosporin, karbapenem, basitrasin, vancomisin, etambutol dan isoniazid (INH). Golongan ini bekerja dengan merusak struktur sel pada saat dinding sel mulai terbentuk. Zat aktif golongan antibiotik ini melisis dinding sel agar bakteri terbunuh oleh sebab bentuk dan struktur sel yang rusak (Rollando, 2019).

2.8.2.2 Antibiotik yang Merusak Membran Plasma

Menurut Rollando (2019) Antibiotik yang dapat merusak membran plasma mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel sebab sitoplasma berfungsi untuk mengatur aktivitas difusi dan membentuk integritas komponen seluler, dengan adanya kerusakan ini maka bakteri tidak akan bisa hidup dalam jangka waktu yang lama. Jenis antibiotik polimiksin, nistatin dan amfoterisin B yang bekerja dengan mekanisme tersebut.

2.8.2.3 Antibiotik yang Menghambat Sintesis Protein

Dalam kutipan Pelczar, 1988 menyebutkan bahwa pengaruh suhu tinggi dan beberapa zat kimia dapat menyebabkan denaturasi protein serta asam nukleat dan dapat membunuh bakteri. Jenis antibiotik yang bekerja dengan menghambat sintesis protein diantaranya yaitu, golongan aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan makrolida. Pada antibiotik kloramfenikol, memberikan efek dengan bereaksi pada sub unit 50S ribosom dan akan menghalangi aktivitas enzim peptidil transferase sehingga ikatan peptida dan asam amino baru tidak jadi terbentuk dan akan menghentikan sintesis protein bakteri (Pratiwi, S.T., 2008).

2.8.2.4 Antibiotik yang Menghambat Sintesis Asam Nukleat

DNA dan RNA merupakan bagian sangat penting untuk suatu organisme. Maka jika organ penting ini rusak atau kerjanya terhambat maka akan menyebabkan kematian mikroorganisme dan mencegah bakteri untuk bereplikasi secara masal (Rollando, 2019). Penghambatan ini terjadi pada bagian transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Jenis antibiotik kedalam golongan ini yaitu, rifampisin dan kuinolon.

2.8.2.5 Antibiotik yang Menghambat Sintesis Metabolit Esensial

Antibiotik jenis ini bekerja dengan cara menyamai substrat normal bagi suatu mikroba. Dengan adanya pesaing berupa antimetabolit maka substansi akan menghancurkan secara kompetitif metabolit mikroorganisme. Dalam golongan ini antibiotik yang termasuk didalamnya adalah sulfanilamid dan golongan *Para Amino Benzoic Acid* atau PABA (Pratiwi, S.T., 2008).

2.7.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri adalah suatu uji yang dilakukan untuk menentukan potensi dan kontrol kualitas pada suatu agen antibiotik terhadap farmakokinetik pada manusia dan hewan. Fungsi dari uji aktivitas antibakteri ini adalah untuk memperoleh senyawa aktif atau obat baru yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen yang efektif dan efisien selain itu juga digunakan untuk monitoring dan kontrol kemoterapi obat. Teknik uji ini dibagi dalam 2 kelompok metode yakni, metode dilusi dan metode difusi (Pratiwi, S. T., 2008).

2.7.4 Metode Difusi

Prinsip metode difusi yaitu dengan menentukan kemampuan difusi agen antibakteri pada plat agar yang sudah diinokulasi dengan mikroba biakan. Metode difusi dapat digunakan untuk agen antibakteri larut maupun tidak larut. Hasil positif pada metode ini ditandai dengan adanya zona hambat yang mengelilingi agen antibakteri pada waktu inkubasi (Pratiwi, S. T., 2008).

2.8.4.1 Metode Cakram (*Disc*)

Untuk menentukan aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan cara plat yang berisi agen antibakteri diletakan diantara mikroba yang telah ditanamkan pada plat agar. Aktivitas antibakteri ditandai dengan adanya zona jernih yang mengelilingi plat atau cakram (Pratiwi, S.T., 2008). Kecepatan difusi cakram dengan agen antibakteri lebih cepat daripada mikroba, sehingga terbentuk zona hambat bakteri. Semakin luas zona hambat maka semakin sensitif senyawa tersebut. Metode difusi cakram ini relatif murah dan peralatan yang digunakan cukup sederhana, namun ukuran zona bening bergantung dari kondisi lingkungan pada saat perlakuan dan ketebalan media. Metode disk cakram ini tidak dapat digunakan untuk bakteri dengan laju pertumbuhan lambat dan untuk bakteri anaerob obligat (Pratiwi, S.T., 2008).

2.8.4.2 Metode Parit (*Ditch*)

Mirip seperti prinsip kerja metode cakram metode parit ini dibedakan oleh agen antibakteri diletakan pada parit yang telah dibuat dengan cara membelah agar secara membujur kemudian mikroba uji dioleskan melewati parit tersebut, zona hambat akan terbentuk disekitar parit tersebut (Pratiwi, S.T., 2008).

2.8.4.3 Metode Sumuran (*Hole/cup*)

Sama halnya dengan dua metode sebelumnya, bedanya pada tempat agen antibakteri yang ditempatkan pada suatu lubang atau sumur. Zona hambat terbentuk disekitar sumuran (Pratiwi, S.T., 2008).

2.7.5 Metode Dilusi

Prinsip kerja metode dilusi didasarkan pada penghambatan pertumbuhan mikroorganisme pada media cair setelah diberi agen antibakteri atau pada media padat yang dicairkan dan telah dilarutkan agen antibakteri. Hasil positif ditandai dengan tingkat kekeruhan media, semakin jernih media maka daya hambat yang

dihasilkan senyawa aktif antibakteri semakin tinggi. Kelemahan dari metode ini adalah tidak dapat digunakan bila agen antibakteri tidak mudah larut (Rollando, 2019).

2.8.5.1 Metode Dilusi Cair/*Broth Dilution Test (Serial Dilution)*

Metode dilusi cair bekerja dengan cara yang pertama dilakukan ialah membuat pengenceran agen antibakteri pada media cair kemudian ditetapkan KHM (Kadar Hambat Minimum)-nya berdasarkan dari kejernihan media. Larutan tersebut kemudian dikultur ulang tanpa penambahan bakteri yang selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam. Jika media tetap jernih maka konsentrasi tersebut dikatakan dapat menghambat bakteri (Pratiwi, S.T., 2008).

2.8.5.2 Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

Dengan prinsip yang sama dengan metode dilusi cair hanya berbeda pada media yang dipakai, pada dilusi padat ini yang digunakan adalah media solid atau padat. Keuntungannya dari metode ini adalah dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba dalam satu konsentrasi (Pratiwi, S.T., 2008).

2.8 Tinjauan DMSO

Senyawa organosulfur DMSO atau dimetilsulfoksida P dengan rumus kimia $\text{CH}_3\cdot\text{SO}\cdot\text{CH}_3$ dengan nama kimia *Hexadeutrodimethyl sulfoxide* adalah cairan kental jernih tidak berwarna yang bersifat higroskopis yang digunakan sebagai pelarut polar untuk krioprotektan konvensional yang ditambahkan pada media sel agar kematian sel selama pembekuan dapat di minimalisir. DMSO dapat larut ke dalam air, dalam etanol (95%) P dan dalam eter P bersifat aprotik dipolar atau semi polar dan ampifilik sehingga DMSO dapat dengan sangat baik menembus membran sel pada jaringan tanaman untuk melarutkan suatu senyawa metabolit sekunder baik polar maupun non polar hal ini juga yang menjadi alasan mengapa DMSO digunakan sebagai kontrol negatif pada uji antibakteri. Lebih dari 95% dapat tersuling pada suhu 189° dan 192°C (Dinkes RI, 1979).

Pada penelitian ini digunakan DMSO konsentrasi 2,5% sebagai kontrol negatif karena konsentrasi pelarut DMSO sama sekali tidak mempengaruhi hasil uji dan reaksi apapun terhadap bakteri dan ekstrak sampel (Rahmi & Hilda Putri, 2020). Pada DMSO yang digunakan sebagai fungsi pada pengenceran ekstrak,

konsentrasi DMSO juga tidak mempengaruhi aktivitas kimia ekstrak sampel (Anda *et al.*, 2019).

2.9 Obat Golongan Antibakteri

2.9.1 Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik yang diisolasi dari bakteri *Streptomyces*. Kloramfenikol termasuk golongan antibiotik spektrum kerja luas yang mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Kloramfenikol yang memiliki nama lain *D-treo-(-)-2,2-Dikloro-N-[\beta*-hidroksi- α -(hidroksimetil)-*p*-nitrofenetil] asetamida dengan rumus molekul $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ ini memiliki pemerian hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, berwarna putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan, larutan praktis netral terhadap lakmus P, stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam. pH kloramfenikol sekitar 4,5 sampai 7,5 (Depkes RI, 2014).

Menurut Buku *Basic Pharmacology & Drug Notes* tahun 2019, kloramfenikol digunakan sebagai obat antibiotik untuk infeksi pada demam tipoid dan juga terapi meningitis yang disebabkan oleh *H. influenzae*. Kloramfenikol bersifat bakteristatik, yaitu bakteri ini tidak dapat membunuh bakteri hanya menghambat pertumbuhannya saja. Bekerja dengan cara menghambat sintesis protein, berikatan dengan subunit 50s dan menghambat enzim peptidil tranferase, sehingga ikatan peptida pada bakteri tidak dapat terbentuk. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena mekanisme kerjanya sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun randu selain itu kloramfenikol juga memiliki sifat spektrum luas yang dapat menjangkau bakteri gram positif ataupun negatif.

Dari penelitian Dwicahyani *et al.*, (2018) hasil uji kontrol positif kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yaitu diperoleh zona hambat untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5% berturut-turut adalah $23,17 \pm 0,4$, $24,22 \pm 0,4$, $25,07 \pm 0,4$ sedangkan pada bakteri *Eschericia coli* dengan konsentrasi yang sama yaitu, $21,17 \pm 0,4$, $22,32 \pm 0,3$, $23,03 \pm 0,2$. Maka dapat diasumsikan bahwa kloramfenikol memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter rata-rata lebih dari 20 mm.

2.10 LCMS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*)

Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry atau dalam bahasa Indonesia disebut dengan Kromatografi Cair-Spektrometri Massa adalah suatu kombinasi metode analisis dari kromatografi cair dan spektrometri massa. Kromatografi cair adalah analisis identifikasi senyawa yang umumnya memisahkan komponen campuran dengan melewati kolom kromatografi, spektrometri masa juga digunakan untuk analisis suatu senyawa yang tidak diketahui untuk menjelaskan nomor massa berdasarkan nilai m/z . LC-MS lebih sering digunakan untuk studi bioavailabilitas, disolusi, bioequivalen, dan farmakodinamik (Pratima & Gadikar, 2018). Kromatografi cair adalah pemisahan komponen campuran menggunakan fase gerak cair dan fase diam padat. Bagian yang ada pada kromatografi cair diantaranya adalah (Pratima & Gadikar, 2018):

a. Pompa

Pompa berisi bahan yang inert terhadap pelarut atau komposisi campuran buffer berair dan pelarut organik. Terdapat beberapa macam pompa diantaranya ialah pompa *reciprocating*, pompa *syringe*, dan pompa tekanan konstan.

b. Sampel injektor

Sampel injektor digunakan untuk memasukan volume sampel ke dalam sistem kromatografi. volume sampel yang dapat disuntikan sekitar 1 μ l hingga 100 μ l. Peningkatan volume injeksi menggunakan loop injektor hingga 2ml. Sampel injeksi dapat digunakan dengan dua cara yaitu otomatis dan manual. Sampel injektor otomatis lebih akurat dan presisi daripada sampel manual.

c. Kolom

Kolom merupakan fase diam yang terdiri dari gel silika dalam kombinasi rantai karbon. Panjang kolom bekisar antara 50 mm sampai 300 mm. Kolom digunakan berdasarkan sifat senyawa yang akan dipisahkan.

d. Detektor dan perekam

Ada banyak macam detektor yang dapat digunakan diantaranya detektor UV-vis, detektor PDA, detektor indeks bias, detektor fluoresensi, dan detektor konduktivitas. Data dari detektor dapat direkam sehingga menghasilkan diagram senyawa untuk dianalisis puncak data masing-masing dan dapat disimpan di komputer atau perangkat. Spektrometri masa adalah teknik analisis yang

didasarkan pada pengukuran rasio massa terhadap muatan spesies ion yang terkait dengan analit yang diteliti. MS digunakan untuk menentukan struktur kedalaman senyawa analit, masa molekul dan komposisi unsur analit. Komponen MS terdiri dari sumber ionisasi dan antarmuka serta penganalisis massa (Pratima & Gadikar, 2018).

Kromatografi memisahkan campuran komponen yang berbentuk cair, cairan yang mengandung komponen tersebut dipindahkan kesumber ion MS. Perbedaan tekanan membuat sulit menguapkan tetesan cairan tanpa kehilangan komponen. Oleh karena itu antarmuka digunakan untuk menyelesaikan masalah ini, antarmuka yang dapat digunakan adalah DLI, API, ESI, APCI, TSPI, APPI, dan FAB (Pratima & Gadikar, 2018). Setelah ionisasi, ion-ion dipisahkan ke penganalisis masa dimana pemisahan ion dilakukan menurut rasio masa terhadap muatan. Pada umumnya penganalisis masa yang digunakan adalah pada kecepatan, waktu, laju dan reaksinya (Pratima & Gadikar, 2018).

Mekanisme kerja dari LC-MS sendiri adalah fase gerak dari pompa dialirkan menuju detektor kemudian sampel disuntikan ke dalam aliran fase gerak. Di dalam kolom terjadi pemisahan campuran, karena perbedaan kekuatan interaksi dengan fase diam. Larutan yang dapat berinteraksi akan keluar dari kolom dan menuju detektor kemudian selanjutnya direkam menjadi kromatogram (Mangurana dkk., 2019). Analisis hasil kromatogram berupa alur tinggi peak yang akan disertai keterangan mengenai bobot molekul dari senyawa di dalam ekstrak sehingga dapat diketahui jumlah senyawa yang terkandung pada sampel. Data dari LC-MS dapat memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu.

Senyawa tersebut telah melalui pemisahan komponen dengan interaksi relatif dari lapisan kimia partikel-partikel pada fase diam dengan elusi pelarut melalui kolom atau fase gerak dari analisis LC-MS (Mangurana dkk., 2019). LC-MS dapat menganalisis secara luas mulai dari senyawa volatil, senyawa berpolaritas tinggi, senyawa dengan masa molekul tinggi juga protein, namun, pengaplikasian analisis ini membutuhkan tim operasional khusus karena pengoperasiannya membutuhkan kompetensi khusus dan bersertifikasi (Mangurana dkk., 2019).

2.11 Hipotesis

2.11.1 Ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) gaertn*) diduga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* karena kandungan senyawa aktif tanin, alkaloid, flavonoid, dan saponin (Asare & Oseni, 2012).

2.11.2 Ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) gaertn*) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* memiliki konsentrasi optimum antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat terbesar (Busman *et al.*, 2018).

2.11.3 Terdapat senyawa aktif tanin, alkaloid, flavonoid, dan saponin di dalam ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L) gaertn*) setelah diidentifikasi menggunakan instrumen LC-MS (Friday *et al.*, 2011).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun randu, etanol 70% (Onemed), bakteri *Staphylococcus aureus*, kloramfenikol, media *Nutrient agar* (Merck), media *Nutrient broth* (Merck), NaCl 0,9%, DMSO (Merck), *aquadestilata*, HCl (Merck), magnesium (Merck), kloroform (Merck), H₂SO₄ (Merck), FeCl₃ 1% (Merck), CH₃COOH (Merck), kalium dikromat (Merck), pereaksi Mayer (Merck), cat kristal violet, larutan lugol, larutan safranin, H₂O₂ 3%, alkohol 96% (Onemed).

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi botol maserasi, timbangan, ayakan no 80 mesh, rak tabung reaksi, cawan penguap, aluminium foil, autoklaf, *sterilization pouch*, cawan petri, jarum ose, batang L, pinset, pipet, blender, objek glass, mikroskop, spatula, tip, lampu spiritus, kapas steril, *hot plate*, oven, *rotary evaporator*, lemari pendingin, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, termometer, kertas saring, kertas saring milipore, cakram kosong steril, jangka sorong, dan alat-alat gelas standar laboratorium, *Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer* (LC-MS) (Shimadzu LCMS-8040), kolom (Shimadzu Shim Pack FC-ODS (2 mm x 150 mm, 3µm)).

3.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) *gaertn.*) yang terdapat di kawasan Pakel Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) *gaertn.*) diperoleh di lahan bapak Sukimin RT. 02/ RW. 04, Dusun Krenggan, Desa Ngebong, Kecamatan Pakel, Kabupaten Tulungagung dan sekitarnya. Teknik pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling*, yaitu pengambilan subjek penelitian berdasarkan atas ciri-ciri ataupun pertimbangan tertentu. Alasan menggunakan teknik *purposive sampling* karena

tidak semua sampel memiliki kriteria yang sesuai dengan kriteria yang diteliti, dengan menetapkan pertimbangan atau kriteria yang harus dipenuhi oleh sampel yang digunakan dalam penelitian ini (Sugiyono, 2012). Tanaman randu ini dapat tahan terhadap kekurangan air sehingga dapat tumbuh dimanapun dan bagaimanapun kondisi geografis lingkungannya. Selain itu, tanaman randu juga dapat tumbuh di berbagai macam keadaan tanah (Pratiwi, 2014). Sampel penelitian yang digunakan harus memiliki kriteria-kriteria sebagai berikut diantaranya yaitu daun randu dengan spesies *Ceiba Pentandra (L.) gaertn* dalam keadaan hijau segar, dan tidak berlubang, serta merupakan tanaman randu yang sudah memiliki kuncup bunga atau keadaan menjelang berbunga.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian berasal dari karakteristik penelitian yang dapat bervariasi diantara objek dalam suatu populasi yang menempel pada diri subjek. Objek penelitian sendiri dapat berupa manusia, benda, peristiwa yang merepresentasikan kondisi dan nilai subjek penelitian (Ulfa, 2020). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat merubah atau mempengaruhi kondisi dari variabel yang lain. Perlu landasan yang kuat untuk menentukan suatu variabel bebas, tidak boleh terlepas dari suatu variabel terikat dan dapat menjamin keterkaitan dengan variabel lain, variabel bebas dapat ditentukan dengan menggunakan penelitian eksperimen (Ulfa, 2020). Variabel bebas yang digunakan untuk eksperimen ini adalah konsentrasi 20%, 40% dan 60% dari ekstrak etanol daun randu.

3.5.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol digunakan dengan tujuan membandingkan pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Variabel ini dapat dikendalikan sesuai dengan kualitas dan kuantitas yang diinginkan sehingga variabel bebas tidak dapat dipengaruhi oleh faktor tidak diteliti (Ulfa, 2020). Variabel kontrol pada penelitian ini adalah sampel dan simplisia, ketebalan media pertumbuhan, pH

media, kontaminasi dari bakteri lain, jarak disk cakram, waktu dan suhu inkubasi, sterilisasi alat, media pertumbuhan dan ruang kerja.

3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat atau yang biasa disebut dengan variabel dependen ini adalah kebalikan dari variabel bebas. Memiliki ciri nilai variabel ditentukan oleh variabel lain dan faktor yang diamati digunakan untuk melihat hasil pengaruh dari variabel bebas (Ulfa, 2020). Variabel yang digunakan peneliti dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat dari pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.6 Persiapan Simplisia

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman merupakan pencocokan suatu tanaman dengan nama latin atau familia berdasarkan literatur. Penelitian ini mengambil sampel dan dicocokkan dengan melihat jenis dan ciri ciri tanaman randu menggunakan literatur (Ratnawati, 2011). Sampel tanaman daun randu diidentifikasi di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran identitas dan jenis tanaman yang diteliti untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Ratnawati, 2011).

3.6.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan serbuk simplisia adalah suatu tahapan awal dari pembuatan ekstrak. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh maupun dari simplisia rajangan yang telah melalui proses pengeringan dengan atau tanpa alat yang tidak menyebabkan kerusakan kandungan kimia yang ada di dalam simplisa (Depkes RI, 2017).

Pembuatan simplisia dari daun randu dilakukan tahap pertama yaitu sortasi basah dan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan bagian bahan-bahan asing dan pengotor yang menempel lainnya. Proses pengeringan dilakukan secara manual dengan mengandalkan cahaya matahari tak langsung pada suhu ruang, penimbangan daun sebelum dan sesudah pengeringan untuk menghitung kadar air yang susut dari daun randu. Simplisia kering selanjutnya disortasi kering untuk memisahkan pengotor pada saat masa pengeringan. Simplisia kemudian diserbuk dengan blender dan diayak dengan ayakan no 80 mesh sehingga menghasilkan simplisia serbuk daun randu (Depkes RI, 2017).

3.6.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

3.6.3.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan pengenalan awal yang sederhana seobjektif mungkin. Uji organoleptik dilakukan dengan pengamatan terhadap bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 2017).

3.6.3.2 Uji Susut Pengerinan Simplisia

Susut pengerinan simplisia merupakan pengurangan berat bahan simplisia setelah dikeringkan. Susut pengerinan bertujuan untuk mengetahui batas maksimal dan rentang besarnya pengukuran susut bahan pada proses pengerinan dengan syarat susut pengerinan kurang dari 11% (Depkes RI, 2017). Susut dilakukan menggunakan metode gravimetri dengan menimbang 1-2 gram simplisia dalam botol timbang ditara. Bahan dalam botol timbang digoyangkan untuk meratakan simplisia hingga didapatkan lapisan dengan tebal 5-10 mm. Botol timbang dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C dengan tutup terbuka hingga bobot tetap. Dapat dihitung dengan rumus (Depkes RI, 2017):

$$\% \text{ susut pengerinan} = \frac{\text{bobot basah} - \text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.1})$$

3.6.3.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air digunakan untuk mencegah penurunan mutu simplisia akibat kontaminasi bakteri dari air yang menjadi tempat pertumbuhan paling baik oleh bakteri. Syarat kandungan air serbuk simplisia yang baik adalah kurang dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung (BPOM RI, 2014). Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri dengan menimbang 10 gram serbuk simplisia daun randu. Dioven pada suhu 105°C selama 5 jam atau hingga bobot tetap dan ditimbang. Selanjutnya dihitung dengan rumus berikut (Depkes RI, 2017):

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.2})$$

3.6.4 Proses Ekstraksi Daun Randu

Pemilihan metode ekstraksi digunakan berdasarkan pada sifat bahan dan senyawa yang akan dipisahkan dengan tujuan untuk memisahkan komponen senyawa metabolit sekunder dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai yaitu pelarut etanol 70% yang bersifat semipolar karena dapat melarutkan

baik senyawa polar maupun non polar (Mukhtarini, 2014). Selain itu etanol juga memiliki titik didih yang rendah yaitu 78°C sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan dan mengurangi hilangnya kadar senyawa di dalam ekstrak (Farida, *et al.*, 2012).

Menimbang serbuk simplisia daun randu sebanyak 500 gram dan dimasukan kedalam bejana maserasi. Ditambahkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5 bagian penyari yaitu sebanyak 3,75 liter atau hingga terendam. Selanjutnya digojok hingga terbasahi semua bagian serbuk simplisia daun randu. Bejana disimpan didalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Setiap hari meserat diaduk selama 15 menit. Setelah dilakukan perendaman, saring meserat dengan kain atau alat saring. Hasil ampas yang diperoleh, dimaserasi lagi dalam jumlah penyari yang sama dan filtrat hasil remaserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C 50 rpm, suhu diatur stabil untuk mengurangi risiko kerusakan senyawa metabolit sekunder yang akan diambil seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid (Depkes RI, 1979).

3.6.5 Uji Organoleptik Ekstrak

Uji organoleptik ekstrak bertujuan untuk mengamati secara visual ekstrak yang telah dibuat. Pemeriksaan organoleptis ekstrak meliputi bentuk, bau, rasa dan warna ekstrak setelah terpapar udara selama 15 menit (Depkes RI, 2017).

3.6.6 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak adalah perbandingan ekstrak kering dengan berat bahan baku ekstrak. Rendemen yang tinggi dapat diartikan bahwa kandungan bioaktif suatu ekstrak terdapat dalam jumlah yang banyak. Nilai rendemen mempengaruhi zat bioaktif karena semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku. Selain itu lama waktu ekstraksi juga dapat mempengaruhi rendemen, semakin tinggi interaksi bahan dan pelarut maka penetrasi pelarut semakin baik dan menyebabkan banyak senyawa berdifusi keluar (Senduk *et al.*, 2020). Rendemen ekstrak daun randu dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Depkes RI, 2000):

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan (gram)}}{\text{bobot awal serbuk simplisia (gram)}} \times 100\% \quad (\text{Persamaan 3.3})$$

3.6.7 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol digunakan untuk membebaskan suatu ekstrak dari senyawa etanol agar ekstrak yang didapat murni, etanol bersifat antiseptik dan anti fungi yang dapat menimbulkan positif palsu saat dilakukan suatu uji antibakteri. Dilakukan dengan cara menambahkan 1 ml asam asetat (CH_3COOH) dan 1 ml asam sulfat (H_2SO_4) pekat pada sejumlah sampel ekstrak. Campuran sedikit dipanaskan dengan api bunsen. Hasil positif menunjukkan larutan tidak beraroma ester. Cara lainnya dengan menggunakan penambahan 2 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat dan 1 ml kalium dikromat, apabila ada perubahan dari jingga menuju hijau kebiruan maka hasil dinyatakan positif mengandung etanol (Klau *et al.*, 2021).

3.6.8 Skrining Fitokimia

3.6.7.1 Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan mencampurkan 0,5 ml sampel dengan 3 ml etanol 70% kemudian dihomogenkan, dipanaskan, kemudian dikocok lagi dan disaring. Filtrat yang didapatkan ditambahkan 0,1 gram Mg dan 2 tetes HCl pekat. Hasil positif menunjukkan warna merah, orange hingga hijau pada lapisan etanol (Harborne, 2006).

Uji flavonoid yang menggunakan pereaksi wilstater atau dengan penambahan HCl pekat berfungsi untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu menghidrolisis O-glisol. Glisol diganti menjadi H^+ dari asam sebab dari sifat elektrofiliknya. Reaksi Mg dan HCl pekat menghasilkan warna merah atau jingga karena adanya flavonol, flavonon, flavanolol, dan xanton (Setyowati *et al.*, 2014).

3.6.7.2 Saponin

Sampel 0,5 gram dilarutkan dengan aquadestilata 10 ml panas, kemudian didinginkan dan dihomogenkan selama 10 menit. Hasil positif menunjukkan adanya busa yang stabil dan bertahan lama dengan ketinggian sekitar 1-3 cm (Harborne, 2006).

3.6.7.3 Tanin

Uji tanin dilakukan dengan menambahkan etanol pada 2 gram hingga terendam. Selanjutnya sebanyak 1 ml sampel dipindahkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Jika hasil menunjukkan warna hitam

kebiruan atau hijau maka sampel positif mengandung tanin (Harborne, 2006).

Warna hitam kehijauan pada tanin dihasilkan dari reaksi tanin dengan ion Fe_3^+ yang akan membentuk senyawa kompleks bernama trisianoferitikaliumFerri (III) (Setyowati *et al.*, 2014).

3.6.7.4 Alkaloid

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 0,5 gram selanjutnya ditambahkan HCl 2M 1 ml dan *aquadestilata* 9 ml dipanaskan selama 2 menit, dinginkan dan selanjutnya disaring. Kemudian filtrat dibagi ditambahkan pereaksi Mayer yang ditandai dengan endapan putih. Dengan pereaksi mayer endapan terbentuk dari kalium dan alkaloida. Larutan merkuriium (II) klorida jika ditambahkan kalium iodida maka menghasilkan endapan merah merkuriium (II) iodida. Sifat alkaloid yang mempunyai atom nitrogen dapat membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Jika penambahan kalium tetraiodomerkurat (II) berlebihan akan terjadi reaksi nitrogen dan ion K^+ yang akan membentuk endapan kalium-alkaloid (Setyowati *et al.*, 2014).

3.7 Pembuatan Media

3.7.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi adalah suatu proses yang bertujuan untuk membunuh semua bentuk mikroorganisme hidup dan sporanya yang ada pada alat yang akan disterilkan. Umumnya sterilisasi alat dan bahan menggunakan pemanasan basah dengan autoklaf dan pemanasan kering dengan menggunakan oven (Meliawaty, 2012). Pada penelitian kali ini sterilisasi alat dan bahan dengan menggunakan metode pemanasan basah, metode ini menggunakan prinsip pensterilan suatu alat atau bahan menggunakan pemanasan dari uap bertekanan. Yang pertama dilakukan adalah menyiapkan autoklaf dengan mengisi dengan air kran hingga tanda batas. Alat dan bahan yang sudah dibersihkan yang telah dibungkus dengan menggunakan kertas atau aluminium foil atau menggunakan *sterillization pouch* dan diberi solatip sterilisasi kemudian dimasukan dan ditata di dalam autoklaf. Autoklaf dinyalakan hingga mencapai suhu $121^{\circ}C$ dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Yudianti *et al.*, 2015).

3.7.2 Nutrient broth (NB)

Pembuatan media NB dengan menimbang 0,65 gram dan dilarutkan ke dalam 50 ml aquadestilata panaskan hingga mendidih dan larut. Media selanjutnya ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil dan disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi. Media dituang ke dalam tabung reaksi (Kumalasari *et al.*, 2019).

3.7.3 Nutrient agar (NA)

Pembuatan media NA dibuat dengan menggunakan 1,68 gram serbuk NA dilarutkan dengan 60 ml air suling lalu dipanaskan dan diaduk diatas *hot plate* hingga homogen. Selanjutnya erlenmeyer berisi media ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil. Masukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 1 jam untuk mengurangi resiko pertumbuhan mikroba yang tidak diharapkan, setelah selesai disterilisasi media dibiarkan hingga suhunya turun. Siapkan cawan petri yang telah steril dan tuangkan secara aseptis sekitar 15-20 ml tiap cawannya, biarkan pada suhu ruang hingga media memadat sempurna (Dilak *et al.*, 2022).

3.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pengambilan bakteri *Staphylococcus aureus* disuspensikan ke dalam tabung media NB 5 ml kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu optimum yaitu 37°C. Suspensi bakteri yang telah diinkubasi kemudian diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai mendapat kekeruhan yang sesuai standar kekeruhan larutan 0,5 Mc. Farland yang diartikan bahwa suatu biakan cair mempunyai populasi 1×10^7 CFU/ml hingga 1×10^8 CFU/ml (Kurniawan *et al.*, 2019).

3.8 Identifikasi Bakteri

3.8.1 Pewarnaan Gram

Tujuan pewarnaan gram adalah untuk mengetahui morfologi suatu bakteri *Staphylococcus aureus* serta kemurniannya. Ambil sebagian bakteri menggunakan ose steril secara aseptis, kemudian diletakkan di tengah objek glass yang telah disterilkan. Teteskan NaCl yang berfungsi untuk sel bakteri tidak rusak oleh perubahan pH lingkungan. Buat preparat apus setipis mungkin kemudian warnai dengan larutan kristal violet, keringkan selama 1 menit dan cuci dengan air. Tetesi menggunakan lugol selama 1 menit dan lunturkan menggunakan alkohol 95%

selama 10 detik. Alkohol kemudian dicuci kembali dengan air mengalir selanjutnya beri warna kedua pada preparat menggunakan larutan safranin selama 30 detik. Tahap akhir cuci dengan air kemudian keringkan dan amati dibawah mikroskop morfologi sel serta warna yang dihasilkan (Riski *et al.*, 2017).

3.9 Uji Aktivitas Antibakteri

3.9.1 Pembuatan Larutan Uji Kloramfenikol

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif. Kadar yang sensitif terhadap bakteri uji yaitu 30 µg/ml (Widiastuti *et al.*, 2014). Pada penelitian ini, digunakan kloramfenikol disk sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 3×10^{-5} g/ml (Widiastuti *et al.*, 2014).

3.9.2 Pembuatan Larutan Uji DMSO 2,5%

DMSO 2,5% dibuat dengan cara mengencerkan DMSO 100% sebanyak 2,5 ml dengan *aquadestilata* sebanyak 97,5 ml. DMSO 2,5% digunakan sebagai kontrol negatif karena larutan ini tidak dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri dari daun randu dan merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar (Rahmi & Hilda Putri, 2020).

3.9.3 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Antibakteri Daun Randu

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara variasi seri konsentrasi dengan mengencerkan ekstrak daun randu menggunakan DMSO 2,5%, alasan DMSO digunakan sebagai pelarut karena DMSO tidak bersifat bakterisidal sehingga dapat dipastikan bahwa aktivitas antibakteri murni dari ekstrak daun randu tanpa pengaruh pelarutnya (Huda *et al.*, 2019). Volume masing masing seri yaitu 5 ml. Pada konsentrasi 20% dibuat dengan mengencerkan 1 ml ekstrak daun randu ke dalam 4 ml DMSO 2,5%, pada seri konsentrasi 40% dibuat dengan mengencerkan ekstrak daun randu sebanyak 2 ml ke dalam DMSO 2,5% 3 ml, dan pada seri konsentrasi 60% diencerkan ekstrak daun randu 3 ml ke dalam DMSO 5% 2 ml.

3.9.4 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Media yang telah diinokulasi dengan bakteri dan kertas cakram berukuran diameter 6 mm yang telah steril disiapkan, kertas cakram ditetaskan dengan mikropipet 50 µl ke ekstrak daun randu dengan berbagai seri konsentrasi 20%, 40%, dan 60% (b/v), larutan DMSO 2,5% sebagai kontrol negatif dan kloramfenikol disk dengan konstrasi 30 µl sebagai kontrol positif. Kertas cakram

ditempatkan pada masing masing media yang telah diutandai dengan menggunakan pinset steril dan ditekan lembut kebawah untuk memastikan kertas cakram telah menempel pada permukaan media. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Ukur diameter zona hambat yang terbentuk dan lakukan klasifikasi kekuatan daya antibakteri (Nuria, 2010).

Tabel 3.1 Kategori Antibakteri (Nuria, 2010)

Diameter Zona Hambat (mm)	Aktivitas Anti Bakteri
2-5	Sangat Lemah
5-10	Sedang
10-20	Kuat
≥20	Sangat Kuat

3.9.5 Pengukuran Zona Hambat

Diameter zona hambat bakteri yang telah terbentuk diukur menggunakan jangka sorong maka diperoleh hasil diameter dalam satuan mm pada daerah hambatan pertumbuhan mikroba termasuk kertas cakram. Untuk hasil yang akurat ulangi pengukuran dari sisi yang berbeda sebanyak 3 kali (Mulyatni *et al.*, 2012). Perhitungan diameter zona hambat menurut Tampongangoy *et al.*, tahun 2019 yaitu sebagai berikut:

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{\text{diameter vertikal} + \text{diameter horizontal}}{2} \quad (\text{Persamaan 3.4})$$

3.10 Analisis LC-MS (*Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry*)

3.10.1 Persiapan Sampel

Menimbang 1 mg ekstrak daun randu diencerkan menggunakan metanol pro analisa sebanyak 10 ml metanol hingga mencapai konsentrasi 100 ppm dengan perbandingan sampel yaitu 1:10. larutan disaring menggunakan saringan milipore 0,22 mikron, kemudian dilakukan proses degassing untuk menghilangkan gas dalam sampel (Fatimah *et al.*, 2020).

3.10.2 Analisis LCMS

Analisis dilakukan di Universitas Muhammadiyah Malang dengan kondisi alat LC-MS Shimadzu LCMS-8040. Larutan diambil 1 µl dimasukkan ke dalam vial 2 ml dan diinjeksikan ke sistem LC-MS-8040 (Pathiassana *et al.*, 2020). Fase

gerak menggunakan metanol, asetonitrile dan air dengan perbandingan berturut-turut 40:15:45 (v/v/v). Laju aliran fase gerak 0,5 ml/min dengan rentang waktu analisis selama 60 menit dengan suhu kapiler 350°C dan gas penggabut 60 ml/hr dengan sumber tegangan 5,0 V. Fase diam yang digunakan yaitu kolom Shimadzu Shim Pack FC-ODS (2 mm x 150 mm, 3µm) dengan mode ionisasi positif. Rentang m/z full scan dari 10-1000 (Fatimah *et al.*, 2020).

3.11 Analisis Statistika

Untuk mengetahui tingkat signifikansi perbedaan antar variasi konsentrasi ekstrak daun randu terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* yang dianalisis menggunakan LC-MS, data hasil dianalisis menggunakan program SPSS 22. Pengolahan data dilakukan dengan beberapa uji berikut:

3.11.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas digunakan untuk menguji suatu model regresi, variabel ataupun residual memiliki distribusi yang normal (Pratama & Permatasari, 2021). Pada penelitian ini menggunakan uji *Shapiro Wilk* sebagai uji normalitas data. Pengambilan keputusan kesimpulan hasil uji dapat dilihat:

Perumusan hipotesis:

H₀ : data terdistribusi normal

H₁ : data terdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan:

a. Jika $p > 0,05$: maka H₀ diterima

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

3.11.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas digunakan untuk acuan memutuskan suatu uji statistik (Pratama & Permatasari, 2021). 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

3.11.3 Uji *One Way Anova*

Uji ini bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji (Pratama & Permatasari, 2021). Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak daun randu dengan variasi seri konsentrasi ekstrak berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : tidak ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun randu terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

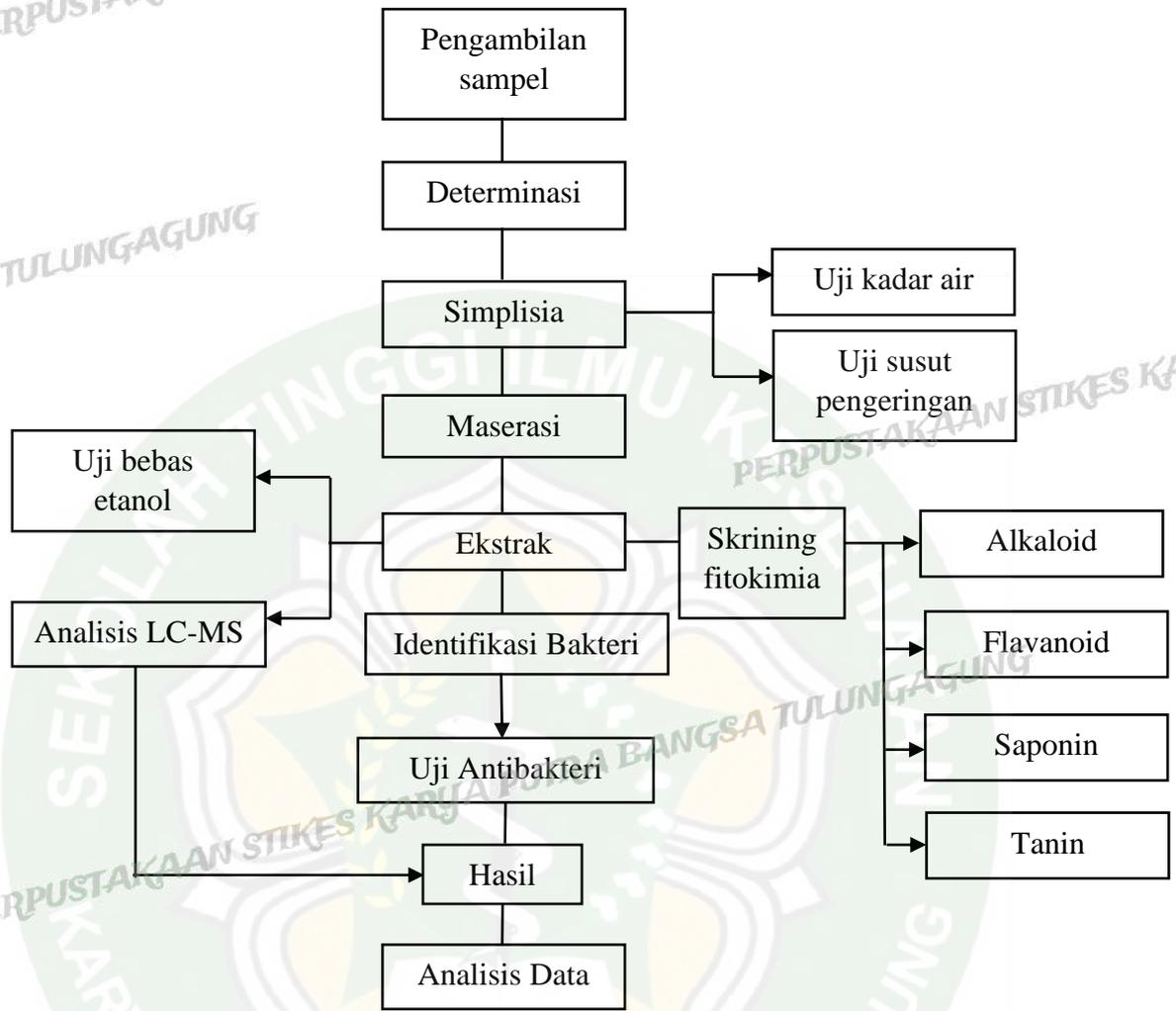
H_1 : ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun randu terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Pengambilan keputusan:

a. Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

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

3.12 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman randu dilakukan untuk mengetahui jenis tanaman yang digunakan dengan cara mengidentifikasi berdasarkan klasifikasi ilmiahnya (Ratnawati, 2011). Determinasi ini dilakukan di UPT Materia Medika Batu, Malang dengan hasil menunjukan kunci determinasi tanaman randu yaitu 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-120b-128b-129b-135b-136b-139b-140b-142b-143a-144b-145a: Bombaceae-1a: Ceiba-1: *C. pentandra* yang dapat diketahui bahwa sampel yang digunakan terbukti adalah tanaman randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) dengan ciri-ciri morfologi berdasarkan kunci dikotominya yaitu tinggi pohon dapat tumbuh hingga 60 m, memiliki batang bulat dengan pangkal pokok batang terdapat tonjolan yang berukuran kecil. Memiliki daun tunggal dengan diameter ± 15 cm dan pada waktu tertentu daun akan meranggas, mempunyai bunga tunggal berwarna putih dipucuk pohon dan buah mirip kapsul berwarna hijau saat muda dan coklat ketika tua. Hasil determinasi sesuai dengan surat pengesahan nomor 074/699/102.20-A/2022 dari UPT Materia Medika Malang yang telah dilampirkan pada Lampiran 1.

4.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia menggunakan daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) yaitu dengan cara yang pertama pengumpulan bahan baku dipanen di desa Ngebong, kecamatan Pakel, kabupaten Tulungagung. Pemanenan dipilih dari daun segar yang tidak berlubang, diambil pada bagian tengah antara pangkal dan ujung ranting pohon, dimaksudkan untuk memperoleh daun dengan pertumbuhan yang telah maksimal yang diharapkan memiliki zat aktif berkhasiat yang paling banyak. Daun randu selanjutnya melalui proses sortasi basah untuk memisahkan daun dari dahannya dan bagian yang tidak diperlukan lainnya kemudian dicuci. Setelah pencucian selesai daun dikeringkan dibawah sinar matahari tidak langsung agar kandungan kimia dalam daun tidak terjadi kerusakan (Prasetyo, 2013).

Simplisia kering kemudian dilakukan sortasi kering untuk mengurangi partikel asing selama proses pengeringan. Simplisia yang telah kering kemudian dibuat menjadi serbuk simplisia. Serbuk simplisia terbuat dari simplisia utuh ataupun rajang kering yang telah melalui proses pengecilan ukuran dengan alat tanpa menghilangkan senyawa sekunder yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Derajat kehalusan yang digunakan pada serbuk untuk ekstrak daun randu adalah dengan nomer pengayak 80 dengan lebar nominal lubang 0,105 mm dan garis tengahnya 0,064 (Depkes RI, 2017).

Derajat kehalusan serbuk simplisia daun mempengaruhi rendemen yang dihasilkan. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas kontak pelarut dengan seluruh bagian simplisia hal ini sesuai dengan penelitian Sapri *et al.*, pada tahun 2014, dari pengayak 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh hasil rendemen ekstrak tertinggi ditunjukkan pada pengayak mesh 80. Hal ini dikarenakan, serbuk yang lebih halus akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Serbuk simplisia dengan ukuran 40 mesh menghasilkan rendemen terendah hal ini dikarenakan semakin kasar serbuk simplisia semakin banyak sel yang harus ditembus oleh pelarut (Sapri *et al.*, 2014).

4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.3.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan pengenalan awal yang sederhana seobjektif mungkin. Uji organoleptik dilakukan dengan pengamatan terhadap bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 2017). Uji organoleptik pada daun randu merupakan simplisia serbuk berwarna hijau keabuan serta rasa sepat, hasil serbuk dapat dilihat pada lampiran 3.

4.3.2 Uji Susut Pengeringan

Tabel 4.1 Uji Susut Pengeringan Daun Randu

Sampel	Bobot Awal (g)	Bobot Akhir (g)	Hasil (%)
Replikasi 1	2	1,96	2
Replikasi 2	2	1,90	5
Replikasi 3	2	1,91	4,5

Tabel 4.2 Lanjutan

Rata-rata ± SD	3,83 ± 1,60
-----------------------	-------------

Susut pengeringan menggunakan metode Gravimetri sesuai dengan yang tertera pada Farmakope Herbal edisi 2 tahun 2017. Bertujuan untuk syarat suatu simplisia memenuhi standarisasi tanaman dengan batas rentang tertentu dari jumlah besar senyawa yang hilang didalam daun randu selama proses pengeringan berlangsung (Depkes RI, 2017). Berdasarkan Tabel 4.1 di atas, persentase susut pengeringan menggunakan, dihasilkan sebesar 3,83±1,60% dengan batas maksimum sesuai literatur Farmakope Herbal yakni kurang dari 11%. Pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa daun randu yang digunakan hanya kehilangan 3,83% senyawa setelah proses pengeringan.

4.3.3 Uji Kadar Air

Tabel 4.3 Uji Kadar Air Daun Randu

Sampel	Bobot Awal (g)	Bobot Akhir (g)	Hasil (%)
Replikasi 1	10	9,82	1,8
Replikasi 2	10	9,84	1,6
Replikasi 3	10	9,79	2,1
Rata-rata ± SD			1,83 ± 0,25

Uji kadar air menggunakan metode Gravimetri sesuai dengan yang tertera pada Farmakope Herbal edisi 2 tahun 2017. Berdasarkan Tabel 4.2 di atas, dihasilkan uji kadar air rata-rata sebesar 1,8±0,25% dengan batas maksimum kurang dari 10% yang artinya kadar air simplisia daun randu sudah memenuhi persyaratan hal ini dapat mencegah potensi terjadinya reaksi enzimatik pada simplisia dan dapat mencegah penurunan mutu serbuk simplisia. Uji kadar air menunjukkan kandungan air pada serbuk simplisia daun randu harus tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2017).

4.4 Pembuatan Ekstrak Daun Randu

Metode maserasi dipilih untuk pembuatan ekstrak daun randu karena selain menggunakan peralatan yang sederhana dan murah, metode maserasi menggunakan teknik tanpa pemanasan sehingga dapat meminimalisir resiko

terjadinya penguapan senyawa atau terdapatnya senyawa tidak tahan panas di dalam simplisia randu. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut semi polar etanol 70% karena dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non polar di dalam serbuk simplisia daun randu (Mukhtarini, 2014). Selain itu etanol juga memiliki titik didih yang rendah yaitu 78°C sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan dan mengurangi hilangnya kadar senyawa di dalam ekstrak (Farida, *et al.*, 2012).

Langkah awal metode maserasi yaitu dengan menimbang 500 gram serbuk simplisia ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5 bagian penyari. Digojok setiap hari selama 5 hari, karena setelah waktu tersebut keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai (Depkes, RI, 2017). Maserat kemudian disaring dan dilakukan replikasi hingga memperoleh larutan bening agar senyawa di dalam ekstrak dapat tersari seluruhnya, hasil ampas diulangi dengan perlakuan yang sama dalam jumlah penyari yang sama (Depkes, RI., 2017).

Proses pemekatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental atau rendemen. Prinsip penggunaan *rotary evaporator* ini bekerja dengan memutar dengan kecepatan konstan pada suhu dan tekanan tertentu yang berfungsi mempercepat pemisahan suatu senyawa, proses pemanasan dilakukan tidak langsung. Pemekatan bertujuan untuk memisahkan sebuah larutan pada suhu tertentu agar diperoleh ekstrak dengan konsentrasi kandungan yang lebih pekat. Pemekatan dilakukan pada suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm, suhu diatur stabil agar mengurangi kerusakan zat aktif yang akan diambil (Depkes RI, 1979).

4.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Daun Randu

4.5.1 Organoleptik

Organoleptis ekstrak daun randu berwarna hijau kecoklatan, bermassa kental dan lengket, memiliki bau khas daun randu. Uji organoleptis merupakan cara pengujian menggunakan 5 panca indra yang dimiliki manusia sebagai penerapan mutu awal suatu simplisia atau ekstrak dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 2017). Uji organoleptik pada daun randu

ekstrak cair daun randu berwarna coklat kemerahan dengan bau khas daun randu seperti pada Lampiran 3.

4.5.2 Uji Susut Pengeringan Ekstrak

Tabel 4.4 Uji Susut Pengeringan Ekstrak Daun Randu

Sampel	Bobot Awal (g)	Bobot Akhir (g)	Hasil (%)
Replikasi 1	2	1,95	2,5
Replikasi 2	2	1,94	3
Replikasi 3	2	1,90	5
Rata-rata ± SD			3,5 ± 1,32

Berdasarkan Tabel 4.3 di atas, persentase susut pengeringan ekstrak menggunakan metode yang sama seperti pada susut pengeringan daun, yaitu metode Gravimetri sesuai dengan yang tertera pada Farmakope Herbal edisi 2 tahun 2017, dihasilkan susut kering ekstrak sebesar $3,5 \pm 1,32\%$ dengan batas maksimum yakni kurang dari 11%. Susut pengeringan bertujuan untuk syarat suatu simplisia/ekstrak memenuhi standarisasi tanaman dengan batas rentang tertentu dari jumlah besar senyawa yang hilang didalam daun randu selama proses pengeringan berlangsung (Depkes RI, 2017). Pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa daun randu yang digunakan hanya kehilangan 3,5% senyawa setelah proses pengeringan.

4.5.3 Uji Kadar Air Ekstrak

Tabel 4.5 Uji Kadar Air Daun Randu

Sampel	Bobot Awal (g)	Bobot Akhir (g)	Hasil (%)
Replikasi 1	10	9,18	8,2
Replikasi 2	10	8,97	10,3
Replikasi 3	10	8,96	10,4
Rata-rata ± SD			9,35 ± 1,24

Berdasarkan Tabel 4.4 di atas, persentase uji kadar air menggunakan metode Gravimetri sesuai dengan yang tertera pada Farmakope Herbal edisi 2 tahun 2017, ekstrak kental memiliki batas kadar air yaitu antara 5-30% dihasilkan uji kadar air pada penelitian ini adalah rata-rata sebesar $9,35 \pm 1,24\%$ artinya kadar air ekstrak

daun randu sudah memenuhi persyaratan hal ini dapat mencegah potensi terjadinya reaksi enzimatik pada simplisia dan dapat mencegah penurunan mutu serbuk simplisia (Depkes RI, 2017).

4.5.4 Rendemen Ekstrak

Tabel 4.6 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Randu

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Randu	500 gram	255,68 gram	51,13 %

Persentase rendemen yang dihasilkan oleh ekstrak daun randu yaitu sebesar 51,13%. Hasil dari tabel 4.3 menunjukkan nilai rendemen yang tinggi terkandung pada ekstrak, artinya pada proses maserasi pelarut mampu melarutkan senyawa metabolit sekunder cukup tinggi. Rendemen yang tinggi menunjukkan kandungan bioaktif dalam ekstrak terdapat dalam jumlah yang banyak. Selain itu waktu dan penggojokan selama proses ekstraksi juga mempengaruhi kadar rendemen, semakin tinggi interaksi bahan dan pelarut maka penetrasi pelarut semakin baik dan menyebabkan banyak senyawa berdifusi keluar (Senduk *et al.*, 2020). Rendemen yang ideal adalah 100%, jika rendemen suatu senyawa diatas 90% maka disebut *excellent*, untuk nilai rendemen diatas 80% disebut *very good*, selanjutnya jika didapat nilai rendemen sebanyak 70% maka disebut *good*, di atas 50% disebut *fair*, dan dibawah 40% disebut *poor* (Wiboyo, A. E., dkk, 2018).

4.5.5 Uji Bebas Etanol

Tabel 4.7 Hasil Uji Bebas Etanol dari Daun Randu

Sampel	Perlakuan	Perubahan	Hasil
Daun Randu	1 ml CH ₃ COOH +1 ml H ₂ SO ₄	Tidak berbau khas ester	-

Uji bebas etanol digunakan untuk mendapatkan ekstrak murni tanpa adanya sisa pelarut etanol didalamnya, etanol bersifat antiseptik dan antifungi yang dapat menghasilkan nilai positif palsu saat dilakukan skrining fitokimia atau pengujian antibakteri. Penambahan 1 ml CH₃COOH dan H₂SO₄ kemudian dipanaskan diatas api bunsen, ekstrak terbukti bebas dari senyawa etanol jika tidak mengeluarkan aroma khas ester (Klau *et al.*, 2021).

Cara lainnya dengan menggunakan penambahan 2 tetes H_2SO_4 pekat dan 1 ml $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, apabila ada perubahan dari jingga menuju hijau kebiruan maka hasil dinyatakan positif mengandung etanol (Klau *et al.*, 2021). Hasil pengujian pada Tabel 4.5 menunjukkan bahwa ekstrak etanol yang dibuktikan dengan warna jingga sesuai dengan Lampiran 7.c setelah sampel ekstrak ditambah $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dan H_2SO_4 pekat menunjukkan bahwa ekstrak daun randu bebas etanol.

Tabel 4.8 Hasil Uji Bebas Etanol Daun Randu

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Ekstrak Daun Randu	H_2SO_4 pekat + $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	Bebas etanol	Berwarna jingga

4.6 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Randu

Skrining fitokimia ekstrak daun randu digunakan untuk mengetahui senyawa yang terkandung di dalam daun randu. Sesuai dengan penelitian Asare dan Oseni, (2012), daun randu mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin yang berpotensi sebagai antibakteri. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun randu dapat dilihat pada Tabel 4.5 di bawah berikut ini.

Tabel 4.9 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Randu

Kandungan senyawa kimia	Pereaksi	Keterangan	Hasil
Flavonoid	Serbuk Mg+HCl pekat	Perubahan warna jingga	+
Saponin	aquadestilata	Terdapat busa stabil	+
Tanin	Etanol 70%+FeCl 1%	Perubahan warna hitam kebiruan	+
Alkaloid	HCl 2M+Aquadestilata +Pereaksi Mayer	Terdapat endapan putih	+

Keterangan: (+) Terdapat senyawa (-) Tidak terdapat senyawa

4.6.1 Uji Flavonoid

Hasil uji senyawa flavonoid pada ekstrak daun randu menunjukkan hasil positif berwarna jingga yang disebabkan oleh adanya reaksi dari penambahan HCl yang berfungsi untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu O-glisol. Glisol diganti menjadi H^+ karena sifat elektrofilik dari asam. Penambahan logam Mg dan HCl mereduksi inti benzopiron pada flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna jingga (Setyowati *et al.*, 2014)



(A)



(B)

Gambar 4.1 Hasil Pengamatan Uji Flavonoid Berwarna Jingga. (A) Sebelum Perlakuan (B) Sesudah Perlakuan

4.6.2 Uji Saponin

Hasil uji saponin pada penelitian ekstrak daun randu menunjukkan hasil positif dimana ekstrak menunjukkan busa yang stabil setelah ditambahkan air panas. Hal ini disebabkan saponin merupakan senyawa aktif yang dapat bersifat seperti sabun yang dapat membentuk busa. Busa yang dihasilkan oleh senyawa saponin dikarenakan terdapat glikosida yang dapat membentuk busa di dalam air dan terhidrolisis glukosa dan senyawa lain (Ningsih dkk., 2016).



(A)



(B)

Gambar 4.2 Hasil Pengamatan Uji Saponin Terbentuk Busa Stabil. (A) Sebelum Perlakuan (B) Sesudah Perlakuan

4.6.3 Uji Tanin

Hasil pengujian tanin pada ekstrak daun randu terbukti menunjukkan hasil positif hitam kebiruan dikarenakan terbentuknya senyawa kompleks oleh tanin dan Fe^{3+} bernama trisianoferitikaliumFerri (III) (Setyowati *et al.*, 2014).



(A)



(B)

Gambar 4.3 Hasil Pengamatan Uji Tanin Terbentuk Endapan Hitam. (A) Sebelum Perlakuan (B) Sesudah Perlakuan

4.6.4 Uji Alkaloid

Hasil uji alkaloid pada ekstrak daun randu juga menunjukkan hasil positif berupa endapan putih yang disebabkan oleh pereaksi Mayer dengan terbentuknya endapan kalium dan alkaloida. Larutan merkuriem (II) klorida jika ditambahkan dengan kalium iodida akan menghasilkan endapan merag merkuriem (II) iodida dan sifat alkaloid yang memiliki atom nitrogen dapat membentuk ikatan dengan ion logam yang jika penambahan kalium tetraiodomerkurat (II) berlebihan akan membentuk endapan kalium-alkaloid yang terjadi karena nitrogen dan ion K^+ (Setyowati *et al.*, 2014).



(A)



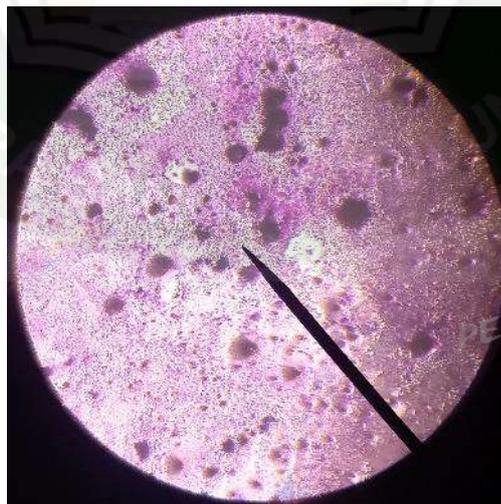
(B)

Gambar 4.4 Hasil Pengamatan Uji Alkaloid Terdapat Endapan Putih. (A) Sebelum Perlakuan (B) Sesudah Perlakuan

4.7 Uji Identifikasi Bakteri

Uji identifikasi bakteri untuk mengetahui bakteri yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Bakteri ini berasal dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya yang sudah tersertifikasi dalam Lampiran 2 dengan hasil uji biokimia berupa pengecatan gram, glukose, sukrose, manitol, katalase, koagulase, DNase, dan Haemolisa. Tujuan Pewarnaan Gram adalah untuk mengetahui morfologi suatu bakteri serta kemurniannya.

Pewarnaan Gram dilakukan dengan meletakkan bakteri pada objek glass yang telah steril menggunakan ose secara aseptis. Ditambahkan tetesan NaCl agar sel bakteri tidak rusak oleh adanya perubahan pH lingkungan. Preparat diwarnai menggunakan larutan kristal violet dan dicuci menggunakan air mengalir. Selanjutnya preparat diberikan cairan lugol dan dilunturkan menggunakan alkohol 95% dan cuci menggunakan air mengalir. Terakhir tambahkan larutan safranin, cuci dan keringkan kemudian amati di bawah mikroskop. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* akan menunjukkan warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Warna ungu pada bakteri terjadi karena pada bakteri gram positif memiliki kandungan peptidoglikan yang tebal sehingga dapat mempertahankan warna ungu violet meskipun telah dicuci menggunakan alkohol 95% (Nurhidayati *et al.*, 2015).



Gambar 4.5 Uji Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram

4.8 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Randu

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu dilakukan pengujian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan pelarut DMSO 2,5% sebagai pengencer ekstrak dan juga digunakan sebagai kontrol negatif, karena sifat DMSO yang tidak mempengaruhi hasil uji dan tidak terdapat reaksi apapun terhadap bakteri atau ekstrak sampel (Rahmi & Hilda Putri, 2020). Sedangkan kontrol positif menggunakan Kloramfenikol disk 30 μ g karena memiliki mekanisme yang sama dengan senyawa yang terkandung di dalam daun randu yaitu senyawa flavonoid dimana keduanya bekerja dengan menghambat sintesis protein pada bakteri (Xie *et al.*, 2014).

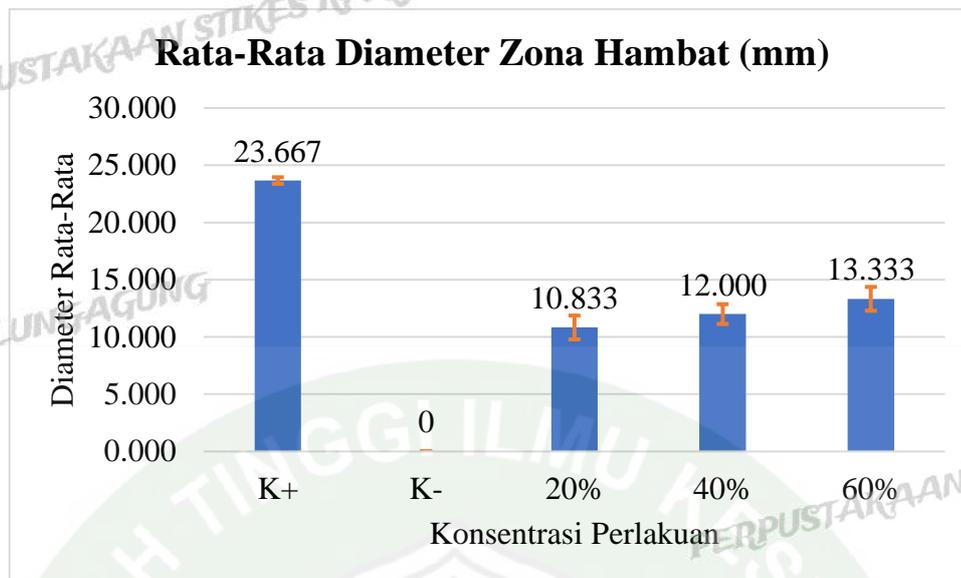
Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi cakram pada suhu inkubasi 37°C selama 24 jam. Menurut Susanto *et al* (2012) zona hambat dikatakan sangat kuat apabila memiliki diameter ≥ 21 mm, apabila diameter antara 10-20 mm maka zona hambat bakteri dapat dikatakan kuat, dikatakan sedang bila diameternya 5-10 mm, dan dikatakan lemah kurang dari 5 mm. Pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun randu dapat dilihat pada Tabel 4.7 menunjukkan ekstrak daun randu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada kategori kuat.

Tabel 4.10 Diameter zona hambat antibakteri ekstrak daun randu (*Ceiba Pentandra (L.) gaertn*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Replikasi (mm)			Rata-rata $\bar{x} \pm SD$ (mm)	Ket
	1	2	3		
K+	23,5	23,5	24	23,67 \pm 0,29	Sangat kuat
K-	0	0	0	0 \pm 0	Sangat lemah
20%	12	10,5	10	10,83 \pm 1,04 ^a	Kuat
40%	12,5	12,5	11	12 \pm 0,87	Kuat
60%	13	14,5	12,5	13,33 \pm 1,04 ^b	Kuat

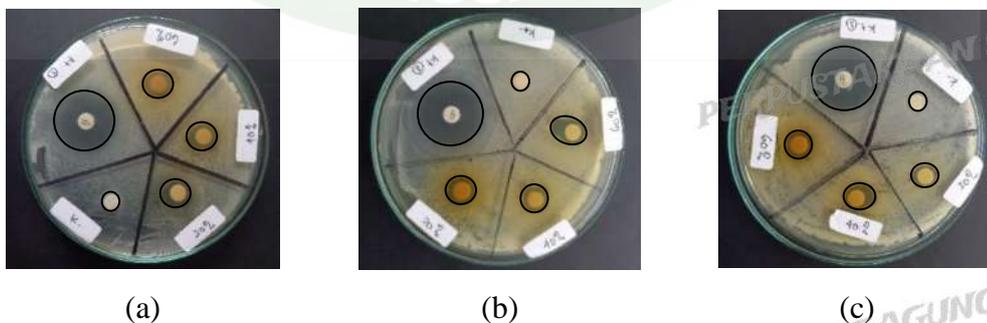
Ket: ^a Tidak beda signifikan dengan konsentrasi 40%

^b Tidak beda signifikan dengan konsentrasi 40%



Gambar 4. 6 Grafik Rata-Rata Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pada Tabel 4.8 menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak daun randu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram pada ekstrak dengan konsentrasi 20%, 40%, dan 60%. Rata-rata pada kontrol positif kloramfenikol menunjukkan diameter zona hambat pada kategori sangat kuat yaitu $23,67 \pm 0,29$ mm, sedangkan pada kontrol negatif DMSO 2,5% sama sekali tidak terbentuk zona bening disekitar cakram dengan hasil rata-rata yaitu 0 ± 0 mm. Pada ekstrak daun randu dengan konsentrasi 20% terbentuk rata-rata diameter zona bening yaitu $10,83 \pm 1,04$ mm dengan kategori kuat, konsentrasi 40% dikatakan kuat dengan menunjukkan rata-rata diameter zona bening yaitu $12 \pm 0,87$ mm, dan pada konsentrasi 60% ekstrak daun randu membentuk zona bening dengan rata-rata diameter $13,33 \pm 1,04$ mm dengan kategori kuat.



Gambar 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Randu (a) Replikasi 1 (b) Replikasi 2 (c) Replikasi 3

Berdasarkan hasil tersebut dapat menunjukkan bahwa ekstrak daun randu pada konsentrasi 20% merupakan konsentrasi dengan aktivitas antibakteri paling optimum dengan rata-rata $10,83 \pm 1,87$ mm sebab dengan hasil konsentrasi ekstrak tersebut telah dapat menghambat aktivitas antibakteri dengan menunjukkan zona bening disekitar cakram.

Senyawa yang teridentifikasi diduga lebih banyak mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu senyawa quersetin dan isoflavon. Quersetin sebagai antimikroba bertindak sebagai bakteriostatik dengan menghambat ligasi dalam sel bakteri dengan menghambat D-alanin dan mencegah pertumbuhan bakteri (Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S. A., 2019). Isoflavon sebagai antibakteri akan membentuk kompleks dengan protein pada bakteri dan melisis membran bakteri tersebut (Alfaridz, F., & Amalia, R., 2018). Menurut Xie *et al.*, 2014 mekanisme kerja golongan senyawa flavonoid dalam menekan bakteri diantaranya adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, metabolisme energi, pembentukan biofilm dan menghambat porin di membran sel serta mengubah permeabilitas dinding selnya.

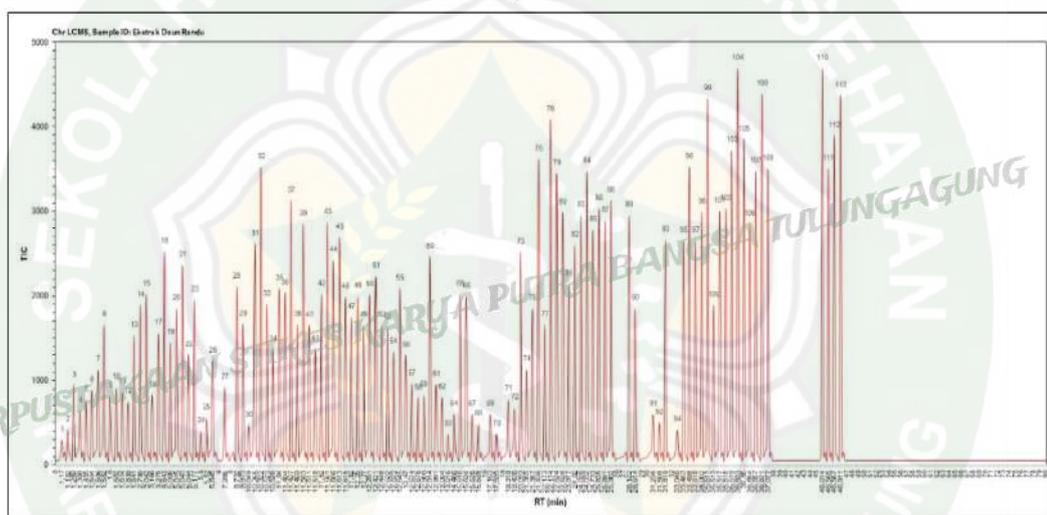
4.9 Analisis LC-MS Ekstrak Daun Randu

Analisis dilakukan di Laboratorium Universitas Muhammadiyah Malang dengan alat Shimadzu LCMS – 8040 LC/MS. Menggunakan fase gerak 90% metanol dengan air dan fase diam menggunakan kolom Shimadzu Shim Pack FC-ODS (2 mm x 150 mm, 3 μ m). Laju aliran fase gerak 0,5 ml per menit dengan rentang waktu analisis selama 60 menit dengan suhu kapiler 350°C. Rentang m/z full scan dari 10 hingga 1000 dengan waktu scan 0,6 detik per scan.

Liquid Chromatography atau kromatografi cair adalah pemisahan komponen campuran menggunakan fase gerak cair dan fase diam padat. *Mass Spectrometri* atau spektrometri massa adalah teknik analisis berdasarkan pengukuran rasio massa terhadap muatan spesies ion yang terkait dengan analit yang diteliti. Sedangkan LCMS adalah kombinasi dari kedua teknik analisis tersebut (Pratima & Gadikar, 2018). Identifikasi LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometri*) digunakan untuk menganalisis senyawa baik organik maupun anorganik di dalam suatu sampel ekstrak etanol daun randu

dengan hasil berupa kromatogram yang telah dipisahkan berdasarkan polaritasnya (Fajri A. I., 2022).

Mekanisme kerja dari LC-MS sendiri adalah penyuntikan sampel yang mengalir bersama fase gerak dan terjadi pemisahan campuran di dalam kolom, karena perbedaan kekuatan interaksi dengan fase diam. Larutan yang dapat berinteraksi akan keluar dari kolom dan menuju detektor kemudian selanjutnya direkam menjadi kromatogram. Hasil kromatogram berupa alur tinggi peak yang disertai informasi dari senyawa di dalam ekstrak. Data dari LC-MS dapat memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu (Mangurana dkk., 2019).



Gambar 4.8 Hasil Kromatogram Analisis LCMS Daun Randu

Hasil identifikasi pada Gambar 4.8 diketahui bahwa senyawa dalam ekstrak etanol daun randu menggunakan skrining LCMS ditemukan sebanyak 113 senyawa. Senyawa yang teridentifikasi diduga lebih banyak mengandung senyawa golongan flavonoid. Lamanya waktu analisis sampel tergantung pada kepolaran suatu zat. Pada fase terbalik zat yang lebih polar akan terelusi lebih dulu dan memiliki waktu retensi yang lebih cepat dibanding non polar.

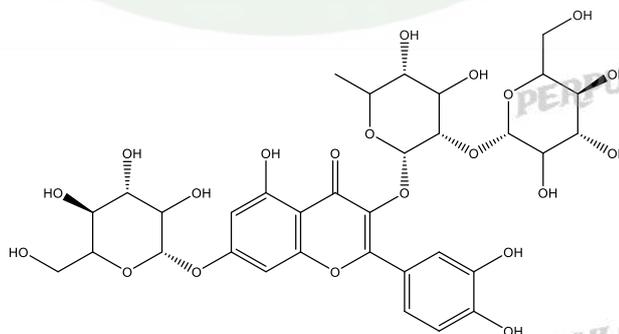
Tabel 4.11 Hasil Deteksi dan Identifikasi Senyawa Menggunakan LCMS

No	Nama Senyawa	Waktu retensi (menit)	Komposisi (%)	Analisis
1.	<i>quercetin 3-glucosyl-(1→2) rhamnoside-7-glucoside</i>	46,014	2,07582	Rumus kimia: C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁ Berat molekul: 772,6620 m/z: 772.2062
2.	<i>5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside</i>	36,833	2,07564	Rumus kimia: C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆ Berat molekul: 624,5480 m/z: 624.1690
3.	<i>quercetin-3-glucoside-7rhamnoside</i>	35,511	1,91753	Rumus kimia: C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ Berat molekul: 610,5210 m/z: 610.1524
4.	<i>quercetin-3-diglucoside</i>	36,871	1,94382	Rumus kimia: C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇ Berat molekul: 626,5200 m/z: 626.1483

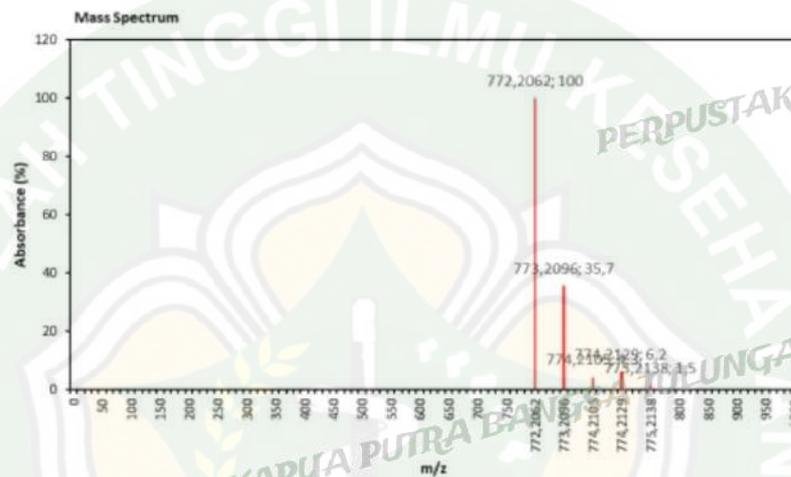
Pada Tabel 4.8 ditunjukkan 4 senyawa dengan puncak tertinggi berdasarkan hasil kromatogram yang ditunjukkan pada Gambar 4.8 yaitu pada puncak nomer 110, 104, 99, dan 108. Pada senyawa dengan puncak nomer 110, 99, dan 108 diketahui ketiga senyawa tersebut berupa senyawa quersetin dimana senyawa ini termasuk dalam golongan flavonoid. Sedangkan pada senyawa nomer 104 adalah senyawa isoflavon yang juga termasuk dalam golongan flavonoid.

4.9.1 *Quercetin 3-glucosyl-(1→2) rhamnoside-7-glucoside*

(110)

**Gambar 4.9** Senyawa *Quercetin 3-glucosyl-(1→2) rhamnoside-7-glucoside*

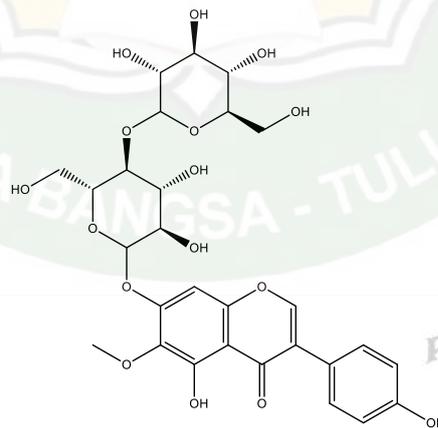
Quercetin 3-glucosyl-(1→2) rhamnoside-7-glucoside adalah senyawa turunan dari quersetin senyawa ini terdeteksi pada waktu retensi 46,014 menit dengan komposisi 2,07582% memiliki nilai m/z 772.2062. Senyawa terdeteksi dengan puncak peak tertinggi pada nomer 110. Senyawa yang memiliki rumus kimia $C_{33}H_{40}O_{21}$ ini bekerja sebagai antibakteri dengan bertindak sebagai bakteriostatik dengan menghambat ligasi dalam sel bakteri dengan menghambat D-alanin dan mencegah pertumbuhan bakteri (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019).



Gambar 4.10 Mass Spektra *Quercetin 3-glucosyl-(1→2) rhamnoside-7-glucoside*

4.9.2 *5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside*

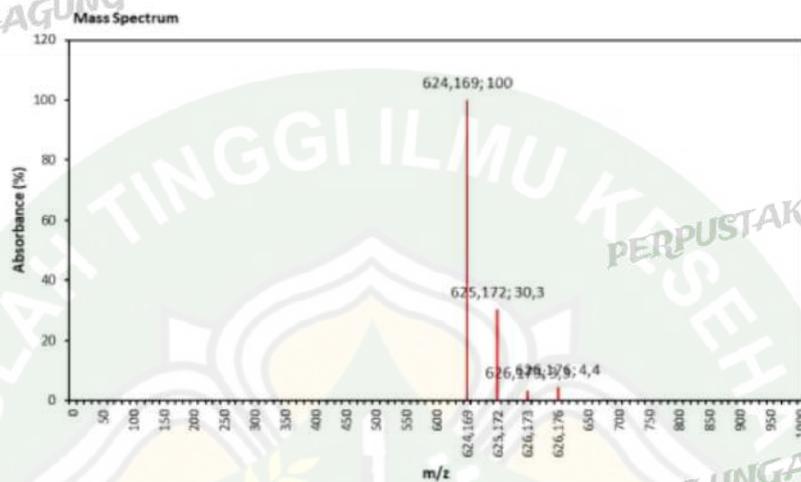
(104)



Gambar 4.11 Senyawa *5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside*

5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside senyawa yang merupakan turunan dari isoflavon ini bekerja sebagai antibakteri dengan

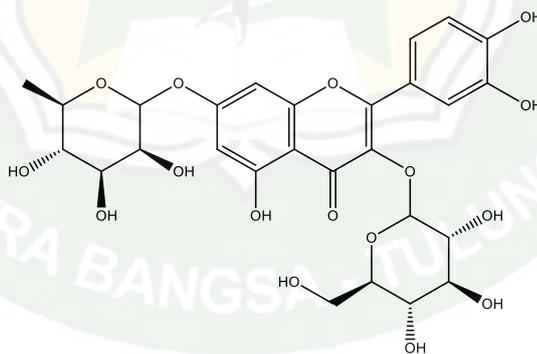
membentuk kompleks dengan protein pada bakteri dan melisis membran bakteri tersebut (Alfaridz & Amalia, 2018). Senyawa ini termasuk dalam golongan senyawa flavonoid. Senyawa nomer 104 ini terdeteksi pada waktu retensi 36,833 menit yang artinya senyawa ini lebih polar dari pada senyawa sebelumnya. Memiliki rumus kimia $C_{28}H_{32}O_{16}$ dengan nilai m/z 624,169.



Gambar 4. 12 Mass Spektra 5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O-glucoside-4'-O-glucoside

4.9.3 Quercetin-3-glucoside-7 rhamnoside

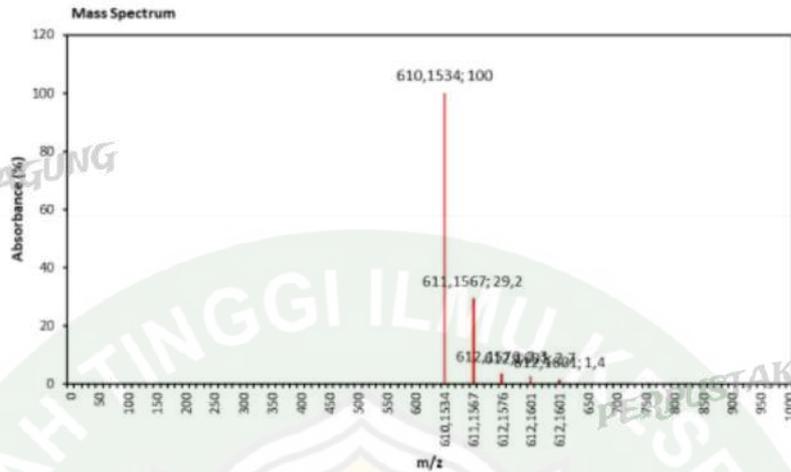
(99)



Gambar 4.13 Senyawa Quercetin-3-glucoside-7 rhamnoside

Quercetin-3-glucoside-7 rhamnoside juga termasuk senyawa quersetin yang tergolong dalam golongan senyawa flavonoid, bekerja menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat ligasi dan D-alanin dalam sel bakteri sehingga mencegah pertumbuhannya (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019). Senyawa tersebut memiliki komposisi 1,917% pada waktu retensi 35,511 dengan nomer peak ke 99

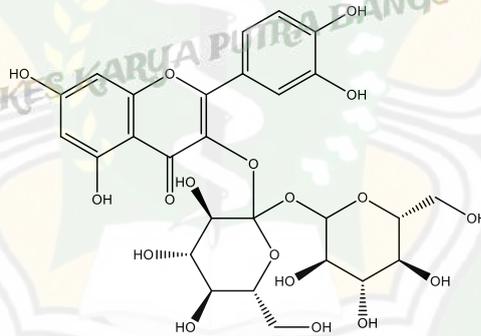
diketahui nilai m/z 610,1534. Senyawa ini lebih polar dari pada ketiga senyawa dengan puncak peak tertinggi lainnya.



Gambar 4.14 Mass Spectra *Quercetin-3-glucoside-7 rhamnoside*

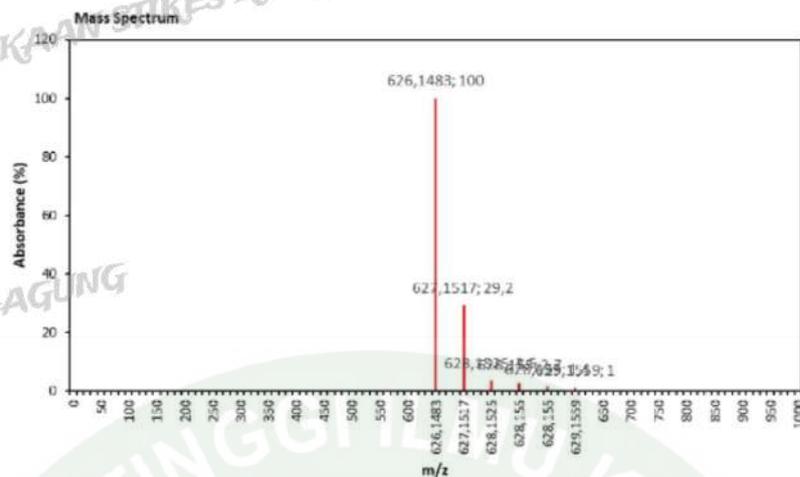
4.9.4 *Quercetin-3-diglucoside*

(108)



Gambar 4.15 Senyawa *Quercetin-3-diglucoside*

Senyawa nomer 108 dengan nama *quercetin-3-diglucoside* ini bekerja seperti senyawa quercetin yang lain yaitu dengan menghambat pertumbuhan bakteri melalui ligasi dan D-alanin dalam sel bakteri (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019). Senyawa dengan rumus molekul $C_{27}H_{30}O_{17}$ terdeteksi pada waktu retensi 36,871 dengan nilai m/z 626,1483.



Gambar 4.16 Mass Spectra *quercetin-3-diglucoside*

4.10 Analisis Statistika

Perhitungan analisis statistika menggunakan program SPSS 22 dengan uji *one way ANOVA* digunakan untuk membandingkan data hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun randu (*Ceiba pentandra (L.) gaertn.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan variasi konsentrasi 20%, 40%, dan 60%.

4.10.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas data pada penelitian ini menggunakan analisis *Kolmogorov Smirnov* untuk mengetahui apakah data terdistribusi dengan normal atau tidak, sehingga data dapat digunakan dalam statistik parametrik. Berdasarkan perhitungan dengan analisis *Shapiro Wilk* sebagai uji normalitas data pengambilan keputusan kesimpulan dapat diterima jika $p > 0,05$. Pada Lampiran 13.a menunjukkan hasil terdistribusi normal dengan nilai signifikansi pada semua perlakuan lebih besar dari 0,05, dengan kesimpulan bahwa data terdistribusi normal dan dapat dilakukan uji *one way ANOVA*.

4.10.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas data pada penelitian ini menggunakan *Levene statistic* digunakan untuk memutuskan acuan suatu uji statistik. Berdasarkan perhitungan dengan *Levene statistic* sebagai uji homogenitas pengambilan keputusan kesimpulan dapat diterima jika $p > 0,05$. Lampiran 13.b menunjukkan hasil data yang homogen dengan nilai signifikansi 0,113 yang berarti nilai tersebut lebih

besar dari 0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa hasil data memiliki varian yang homogen.

4.10.3 Uji *One Way Anova*

Uji *one way anova* digunakan untuk membedakan rata-rata pada suatu sampel, uji ini dapat dilakukan jika uji homogenitas dan uji normalitas telah terpenuhi. Uji ANOVA dapat diterima jika nilai signifikansi berada kurang dari 0,005. Berdasarkan perhitungan ANOVA didapatkan nilai signifikansi dengan hasil 0,000 yang berarti nilai tersebut kurang dari 0,005 dan dapat ditarik kesimpulan bahwa hasil data tersebut terdapat pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun randu terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada uji lanjutan digunakan uji Post Hoc-Tukey HSD dikarenakan uji tersebut dapat lebih mudah dalam pembacaan kesimpulan. Berdasarkan hasil data pada uji Tukey, yang terdapat pada Lampiran 13.d diketahui bahwa variasi konsentrasi antara 20% dan 40% tidak berbeda signifikan dan konsentrasi antara 40% dan 60% tidak berbeda signifikan. Hal ini berarti ekstrak daun randu pada konsentrasi 20% hingga 60% tidak berpengaruh signifikan terhadap diameter zona hambat pada bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*, walaupun ekstrak daun randu ini menunjukkan daya hambat pertumbuhan dengan adanya daerah terang disekitar cakram. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa hanya dengan konsentrasi 20% saja ekstrak sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Tidak adanya perbedaan signifikan antar perlakuan dapat disebabkan oleh kecilnya perbedaan konsentrasi antara perlakuan. Hal ini didukung oleh hasil penelitian sebelumnya oleh Busman *et al.*, tahun 2018 menggunakan ekstrak daun randu pada konsentrasi 40% hingga 50% tidak menunjukkan hasil yang signifikan pada bakteri Gram positif *Streptococcus mutans* (Busman *et al.*, 2018).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

5.1.1 Ekstrak etanol daun randu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* karena terdapat kandungan metabolit sekunder golongan senyawa flavonoid di dalam ekstrak etanol daun randu berdasarkan uji analisis LCMS.

5.1.2 Konsentrasi optimum ekstrak etanol daun randu sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 20% dengan rata-rata diameter zona hambat 10,83 mm pada kategori kuat karena dengan konsentrasi tersebut sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

5.1.3 Berdasarkan analisis LCMS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) pada ekstrak etanol daun randu terdapat senyawa *quercetin 3-glucosyl(1→2)-rhamnoside-7-glucoside*, *5,7,4'-trihydroxy-6methoxy-isoflavone 7-Oglucoside-4'-O-glucoside*, *quercetin-3-glucoside-7 rhamnoside*, dan *quercetin-3-diglucoside* yang semuanya termasuk dalam golongan senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antibakteri.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut:

5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri dari apusan luka.

5.2.2 Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri lainnya seperti menggunakan metode dilusi dan dengan perbedaan konsentrasi cukup jauh.

5.2.3 Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut secara praklinis pada hewan coba untuk mengetahui khasiat daun randu (*Ceiba pentandra (L.) gaertn.*).

5.2.4 Dokumentasi berlatar belakang hitam/putih dengan terfokus pada objek penelitian.

5.2.5 Peneliti selanjutnya dapat mengembangkan ekstrak etanol daun randu memformulasikan menjadi sediaan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Ruslan, & Wiraningtyas, A. (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 4(1), 71–76.
- Alfaridz, F. (2018). Review Jurnal: Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka*, 16(3)
- Amelia, R., & Burhanuddin, N. (2018). Identifikasi Bakteri Staphylococcus Aureus Dengan Infeksi Nosokomial Pada Sprei Di Ruang Perawatan Pascabedah RSUD Labuang Baji Kota Makassar. *Jurnal Public Health*, 1(9–10), 272–278.
- Anda, F. E. P., Hine, T. M., Uly, K., & Nalley, W. M. (2019). Pengaruh Konsentrasi dimethyl sulfoxide dalam Pengencer Air Kelapa Muda dan Estrak Daun Kelor Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*, 1(4), 629–637. <https://medium.com/@arifwicaksanaa/pengertian-use-case-a7e576e1b6bf>
- Asare, P., & Oseni, L. A. (2012). Comparative evaluation of Ceiba pentandra ethanolic leaf extract, stem bark extract and the combination thereof for in vitro bacterial growth inhibition. *Journal of Natural Sciences Research*, 2(5), 44–50.
- Busman, B., Edrizal, E., & Saputra, D. E. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kapuk randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *B-Dent, Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 2(1), 10–15. <https://doi.org/10.33854/jbdjbd.8>
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377–386. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665. <https://doi.org/10.1128/aem.22.4.659-665.1971>
- Depkes RI. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta: Departemen

- Kesehatan Republik Indonesia Hal. XXX-XXXV, 9
- Depkes RI. (1986). *Sediaan Galenika*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Hal : 2-8
- Depkes RI. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia Hal. li-lii
- Depkes RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia Hal. 171-175
- Depkes RI. (2014). *Farmakope Indonesia Edisi Kelima*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia Hal. 684-685
- Depkes, R. (2017). *Farmakope herbal indonesia edisi II*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI (2nd ed.). Indonesia. <https://doi.org/10.1201/b12934-13>
- Dilak, H. I., Eryah, H. P., & Alves, L. F. P. (2022). Uji Antibakteri Ekstrak Daun Gwang (*Corypha utan Lamk .*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biologi Dan Pembelajaran Biologi*, 7(2), 160–171. <https://doi.org/10.32528/bioma.v7i2.7473>
- Diyantika, D., Mufida, D. C., & Misnawi. (2017). Perubahan Morfologi *Staphylococcus aureus* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) secara In Vitro. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 3(1), 25–33.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, L. (2018). Uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *Holothuria atra* sebagai antibakteri *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan & Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 15–24.
- Fajri, A. I. (2022). Analisis Liquid Chromatography-Mass Spectrometer (LC-MS) Senyawa Hasil Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. Doctoral dissertation, Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
- Farida, Y. P. S., Wahyudi, S., Wahono, M., Hanafi, (2012). Flavonoid Glycoside from The Ethyl Acetate Extract of Keladi Tikus *Typhonium flagelliforme*, 1 (4): 16-21.
- Fatimah, Martha, rahma diyan, & Kusumawati, A. (2020). *Deteksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Tanaman*

- Majapahit (Crescentia cujete) dengan LCMS. 3(2), 88–98.*
- Fauzia, F. E. A., Salsabila, A., & Asyhari, A. (2020). Keanekaragaman Tanaman Terrestrial Di Pulau Panjang Jepara. *Journal Of Biology Education, 3(1)*, 73. <https://doi.org/10.21043/job.v3i1.7438>
- Friday, E. T., James, O., Olusegun, O., & Gabriel, A. (2011). Investigations on the nutritional and medicinal potentials of Ceiba pentandra leaf: A common vegetable in Nigeria. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 3(6)*, 95–101.
- Grubben, G. J. H., (2004). *Plant Resources of Tropical Afrika 2 Vegetables*. PROTA Foundation. Belanda
- Harborne, J.B. (2006). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi ke-2. Bandung: ITB
- Hidayah, N. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia, 11(2)*, 89–98. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.11.2.89-98>
- Huda, C., Putri, A. E., & Sari, D. W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat Zibethinus folium Terhadap Escherichia coli. *Jurnal SainHealth, 3(1)*, 9–12.
- Joshi, L. R., Tiwari, A., Devkota, S. P., Khatiwada, S., Paudyal, S., & Pande, K. R. (2014). Prevalence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Dairy Farms of Pokhara, Nepal. *International Journal of Veterinary Science, 3((2))*, 87–90.
- Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S. A. (2019). Peran Flavonoid pada Berbagai Aktivitas Farmakologi. *Farmaka. 17(2)*, 131-142.
- Klau, maria luz clarita, Indriarini, D., & Nurina, R. listyawati. (2021). Uji aktivitas ekstrak etanol daun kemangi (Ocimum sactum L.) terhadap pertumbuhan bakteri eschericia coli secara in vitro. *Cendana Medical Journal, Edisi 21(1)*, 102–112.
- Kumalasari, A., Handayani, W., & Siswoyo, tri agus. (2019). Screening Fitokimia dan Studi Aktivitas Ekstrak Daun Sintok (Cinnamomum sintoc Bl .) Sebagai Antioksidan dan Antihiperlipidemia. *Berkala Saintek, VII(1)*, 24–

- 27.
- Kurniawan, E., Jekti, D. S. D., & Zulkifli, L. (2019). Jurnal Biologi Tropis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, *19*(1), 61–69. <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i1.1040>
- Mangurana, wa ode I., Yusnaini, & Sahidin. (2019). Analisis LC-MS/MS (liquid crhomatograph mass spectrometry) dan metabolit sekunder serta potensi antibakteri ekstrak n-heksana spons *callyspongia aerizusa* yang diambil pada kondisi tutupan terumbu karang yang berbeda di perairan teluk staring. *Jurnal Biologi Tropis*, *19*((2)), 131–141. <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1126>
- Markham KR. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB. Hal 58-60
- Meliawaty, F. (2012). Efisiensi Sterilisasi Alat Bedah Mulut melalui Inovasi Oven dengan Ozon dan Infrared. *JKM*, *11*(No.2), 147–167.
- Mukhtarini. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J. Kesehat.*, *VII*(2), 361. <https://doi.org/10.1007/s11293-018-9601-y>
- Mulyatni, Agustin Sri, Budiani, A., & Taniwiryono, D. (2012). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. *Menara Perkebunan*, *80*(2), 77–84.
- National Center for Biotechnology Information. (2022). PubChem Compound Summary for CID 702, Ethanol.
- National Center for Biotechnology Information. (2022). PubChem Compound Summary for CID 702, Flavonols.
- National Center for Biotechnology Information. (2022). PubChem Compound Summary for CID 702, Tannin Acid.
- Negara, K. surya. (2014). Analisis implementasi kebijakan penggunaan antibiotika rasional untuk mencegah resistensi antibiotika di RSUP sanglah Denpasar: studi kasus infeksi Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Administrasi Kebijakan Kesehatan*, *1*(1), 43–50.
- Nguyen-Hai N, Hwan-Mook K, Ki-Hwan B, & Byung-Zun A. (2001). Inhibitory

effects of Vietnamese Medicinal Plants on Tubelike Formation of Human Umbilical Venous Cells. *Phytotherapy Research* 7(2).

Ningrum, R., Purwanti, E., & Sukarsono. (2016). Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa*) Sebagai Bahan Ajar Biologi Retno Ningrum *et al .*, Identifikasi Senyawa Alkaloid Indonesia merupakan Negara dengan kekayaan alam yang melimpah . Hampir segala jenis tumbuhan da. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3), 231–236. <https://media.neliti.com/media/publications/118168-ID-none.pdf%0Ahttp://eprints.umm.ac.id/20887/>

Ningsih. D.R., Zufahair, Dwi Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri, *Molekul*. 11(1):101-111

Ninulia, P. P., Sidharta, B. B. R., & Pranata, F. S. (2017). *Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun randu (Ceiba pentandra (L.) gaertn) terhadap Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. 1–15.

Nurhidayati, S., Faturrahman, & Ghazali, M. (2015). Deteksi bakteri patogen yang berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) bergejala penyakit ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(2), 24–30.

Nuria, M. C. (2010). Antibacterial Activities From Jangkang (*Homalocladium platycladum* (F. Muell) Bailey) Leaves. *Mediagro*, 6(2), 9–15.

Pathiassana, mega trishuta, Mariani, D., & Nurlaila. (2020). Analisis senyawa 6-gingerol terhadap rimpang jahe yang diekstraksi dengan metode Liquid Chromatography Massa Spectrometry (LCMS). *Agritepa*, VII(2), 144–149.

Peraturan BPOM RI nomor 12 tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional, (2014).

Peraturan BPOM nomor 20 tahun 2020 tentang bahan penolong dalam pengolahan pangan, 1 (2020).

Prasetyo. (2013). *Pengelolaan Tanaman Obat* (p. 155). Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.

Pratama, S. A., & Permatasari, R. I. (2021). Pengaruh Penerapan Standar Operasional Prosedur Dan Kompetensi Terhadap Produktivitas Kerja Karyawan Divisi Ekspor Pt. Dua Kuda Indonesia. *Jurnal Ilmiah M-Progress*,

- 11(1), 38–47.
- Pratima, N. A., & Gadikar, R. (2018). Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and Its Applications: A Brief Review. *Archives of Organic and Inorganic Chemical Sciences*, 1(1), 26–34. <https://doi.org/10.32474/aoics.2018.01.000103>
- Pratiwi, R. H. (2014). Potensi kapuk randu (*Ceiba Pentandra Gaertn.*) dalam penyediaan obat herbal. *WIDYA Kesehatan Dan Lingkungan*, 1(1), 53–60. <https://media.neliti.com/media/publications/36809-ID-potensi-kapuk-randu-ceiba-pentandra-gaertn-dalam-penyediaan-obat-herbal.pdf>
- Pratiwi, S. T., (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta. Erlangga. 17-18
- Purwanto, S. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum L*) Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, 2(2), 84–92.
- Rahmi, M., & Hilda Putri, D. (2020). Aktivitas Antimikroba DMSO sebagai Pelarut Ekstrak Alami. *Serambi Biologi*, 5(2), 56–58.
- Ratnawati, D. (2011). Preliminary test of determination of alkaloid and steroid compounds and bioassay on some vegetable plant extract. *Jurnal Gradien*, 7(2), 692–696.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlin*, 9(2), 196–202. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-1-7>
- Rini, C. setiyo, & Rochmah, J. (2020). *Bakteriologi dasar*. 1–108.
- Riski, K., Fakhurrrazi, & Abrar, M. (2017). Isolasi bakteri staphylococcus aureus pada ikan asin talang-talang (*Scomberoides commersonianus*) di kecamatan leupung kabupaten aceh besar. *JIMVET*, 01(3), 366–374.
- Rollando. (2019). *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit* (S. R. Wicaksono (ed.); Edisi pert). CV. Seribu Bintang.
- Santosa, H., Sari, W., & Handayani, N. A. (2018). Ekstraksi Saponin Dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik Suatu Usaha Untuk Mendapatkan Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(2), 12–16. <https://doi.org/10.31942/inteka.v3i2.2484>
- Sapri, Fitriani, A., & Narulita, R. (2014). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia

- Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia, HKI-Kaltim*, 1–4.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen ekstrak air rebusan daun tua mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9–15.
- Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashadi, Mulyani, B., & Rahmawati, C. P. (2014). Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI*, 271–280.
- Simaremare, E. susanty. (2014). Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, 11(01), 98–107.
- Soedarto. (2015). *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Sagung Seto, Hal. 194-195
- Sonfack, G., Fossi Tchinda, C., Simo, I. K., Bitchagno, G. T. M., Nganou, B. K., Çelik, İ., Tene, M., Funda Görkem, S., Opatz, T., Penlap Beng, V., Kuete, V., & Tane, P. (2021). Saponin with antibacterial activity from the roots of *Albizia adianthifolia*. *Natural Product Research*, 35(17), 2831–2839. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1672689>
- Susanty, & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Konversi*, 5(No. 2), 87–93.
- Suyasa, I. B. O., & Mastra, N. (2020). Gambaran Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Pada Petugas Kesehatan RSUD Wangaya Kota Denpasar. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 8(1), 46–52. <https://doi.org/10.33992/m.v8i1.1074>
- Tampongangoy, D., Maarisit, W., Ginting, A. R., Tumbel, S., & Tulandi, S. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kayu Kapur *Melanolepis multiglandulosa* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 2(1), 107–114.
- Tomiyama, K., Mukai, Y., Saito, M., Watanabe, K., Kumada, H., Nihei, T., Hamada, N., & Teranaka, T. (2016). Antibacterial Action of a Condensed Tannin Extracted from Astringent Persimmon as a Component of Food

- Addictive Pancil PS-M on Oral Polymicrobial Biofilms. *BioMed Research International*, 2016, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/5730748>
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
- Ulfa, R. (2020). Variabel penelitian dalam penelitian pendidikan. *Jurnal Pendidikan Dan Keislaman*, 6115, 342–351.
- Utami, lucky indrati. (2009). Pembuatan etanol dari buah mengkudu. *Jurnal Teknik Kimia*, 4(No. 1), 255–259.
- Van Steenis, (2008). *Flora: Untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: Pradnya Paramita. CGGJ.
- Widiastuti, R., Nurhaeni, F., Marfuah, D. L., & Wibowo, G. S. (2014). Potensi Antibakteri dan Anticandida Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica*). *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*, 4(L), 23–30.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2014). Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132–149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>
- Yudianti, I., Suprapti, & Hupitoyo. (2015). Perbandingan Efektifitas Sterilisasi Panas Kering dan Desinfeksi Tingkat Tinggi Teknik Rebus terhadap Pertumbuhan Escherichia Coli. *IJEMC*, 2(1), 8–14.
- Yulinar, F., & Suharti, P. H. (2022). Seleksi Proses Ekstraksi Daun Sirih Pada Pra Rancangan Pabrik Hand Sanitizer Daun Sirih Dengan Kapasitas Produksi 480 Ton/Tahun. *Distilat: Jurnal Teknologi Separasi*, 8(1), 146–153. <https://doi.org/10.33795/distilat.v8i1.305>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Daun Randu



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/ 699/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Randu

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : DINDA AMANAH KUSUMA DEWI
NIM : 1913206011
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA

1. Perihal determinasi tanaman kapuk randu

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Dilleniidae
Ordo : Malvales
Famili : Bombacaceae
Genus : Ceiba
Spesies : *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.
Nama umum : Randu, kapuk, kapuk randu.
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-128b-129b-135b-136b-139b-140b-142b-143a-144b-145a: Bombacaceae-1a: Ceiba-1: *C. pentandra*.

2. Morfologi

terdapat tonjolan yang berukuran kecil, terdapat kulit yang berwarna putih kelabu. Pada spesies tertentu kulit-kulit tersebut ditutupi oleh duri-duri yang bulat, cabang-cabang tumbuh secara horizontal. Daun: Tunggal, diameter \pm 15 cm, waktu-waktu tertentu daun akan gugur dengan sendirinya. Bunga: Bunga tunggal, berwarna putih, muncul di pucuk pohon yang cukup tinggi, terletak bergerombol, diameter dapat mencapai 20 cm. Buah: Bentuk seperti kapsul, buah masih muda warna buahnya hijau, sudah tua warnanya berubah menjadi cokelat, buah tanaman kapuk jika dibelah terdapat biji-biji kecil berwarna hitam yang letaknya berkerumun yang ditutupi oleh kapuk tebal berwarna putih serupa kapas. Akar: Tunggang, coklat.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

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

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

Batu, 27 Oktober 2022

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

Lampiran 2. Sertifikat Strain Bakteri



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN

BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286

Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388

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



Surabaya, 15 Februari 2023

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Dinda Amanah K. D.
Institusi : Prodi S1 Farmasi Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung
Tanggal surat permintaan : 02 Februari 2022
Keperluan : Penelitian skripsi

Keterangan jenis strain

Bakteri : *Staphylococcus aureus*
ATCC : ATCC 25923
Passage : #3

Hasil Uji Biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

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

Manajer Teknis

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



Management System
ISO 9001:2015



www.tuv.com
ID 910002957

Lampiran 3. Preparasi Sampel

	
<p>Pengambilan sampel</p>	<p>Sortasi basah</p>
	
<p>Pengeringan</p>	<p>Pengecilan partikel</p>
	
<p>Simplisia serbuk</p>	<p>Ekstrak kental</p>

Lampiran 4. Perhitungan Bahan

1. Pelarut Maserasi

Perbandingan → 1:7,5 bagian penyari

Randu yang digunakan: 500 gram

$$\text{Pelarut yang dibutuhkan: } \frac{1}{7,5} = \frac{500}{x}$$

$$X = 500 \times 7,5$$

$$= 3750 \text{ ml}$$

$$= 3,75 \text{ liter}$$

2. Perhitungan Media

a. Pembuatan Media *Nutrient broth* (NB)

$$\text{NB} = \frac{Mr}{1000} \times \text{volume}$$

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

$$= 0,16 \text{ gram} \rightarrow \text{aquadest } 19,84 \text{ ml}$$

b. Pembuatan Media *Nutrient agar* (NA)

$$\text{NB} = \frac{Mr}{1000} \times \text{volume}$$

$$x = \frac{20}{1000 \text{ ml}} \times 60 \text{ ml}$$

$$= 0,12 \text{ gram} \rightarrow \text{aquadest } 59,88 \text{ ml}$$

3. Pengenceran DMSO

DMSO 100% dibuat menjadi DMSO 2,5% sebanyak 100 ml.

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml} \times 2,5\%$$

$$V_1 = \frac{250 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$$

$$= 2,5 \text{ ml} \rightarrow \text{Aquadest } 97,5 \text{ ml}$$

4. Pengenceran Ekstrak Kental

a. Pengenceran 20%

$$\text{Ekstrak kental} = \frac{20 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{x \text{ gram}}{5 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{20 \text{ g} \times 5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$$

$$= \frac{100 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$$

$$= 1 \text{ gram} \rightarrow \text{DMSO } 2,5\% \text{ } 4 \text{ ml}$$

b. Pengenceran 40%

$$\text{Ekstrak kental} = \frac{40 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{x \text{ gram}}{5 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{40 \text{ g} \times 5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$$

$$= \frac{200 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$$

$$= 2 \text{ gram} \rightarrow \text{DMSO } 2,5\% \text{ } 3 \text{ ml}$$

c. Pengenceran 60%

$$\text{Ekstrak kental} = \frac{60 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{x \text{ gram}}{5 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{60 \text{ g} \times 5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$$

$$= \frac{300 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$$

$$= 3 \text{ gram} \rightarrow \text{DMSO } 2,5\% \text{ } 2 \text{ ml}$$

5. Pengenceran Sampel LC-MS

Dibuat menjadi larutan sampel 10 ml

$$\text{Sampel } 100 \text{ ppm} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{100 \text{ mg} \times 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 1 \text{ mg ekstrak dalam } 10 \text{ ml metanol pro analisa}$$

Lampiran 5. Komposisi Cat Gram

1. Larutan Kristal Violet

Kristal Violet 2 g

Etil Alkohol 95% 20 ml

Ammonium oksalat 0,8 g

Aquadest 80 ml

2. Cairan Lugol

Yodium 1 g

Kalium Iodida 2 g

Aquadest 300 ml

3. Larutan Safranin

Safranin 0,25 g

Etil Alkohol 95% 10 ml

Aquadest 90 ml

Lampiran 6. Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

a. Susut pengeringan

Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
-------------------	-------------------	------------

		Berat cawan kosong
		Berat awal: 2 gram Berat akhir: 1.96 gram % susut pengeringan=2% (Sesuai, kurang dari 11%)

Lampiran 7. Maserasi dan Evaporasi

a. Maserasi

Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
		Proses maserasi Simplisia yang digunakan: 500 gram Pelarut yang digunakan: 3,75 liter etanol 70%
		Bobot meserat: 3655 ml

b. Evaporasi

Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
-------------------	-------------------	------------

		Bobot ekstrak: 255,68 g
Rotary evaporator	Ekstrak kental	
		Bobot ekstrak: 255,68 g % rendemen = 51,13% (Baik)

Lampiran 8. Uji bebas etanol

Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
		Ekstrak berubah warna menjadi jingga menunjukkan ekstrak bebas etanol

Lampiran 9. Skrining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
		Berwarna jingga (+ flavonoid)

		Berwarna jingga (+ flavonoid)
--	---	----------------------------------

b. Uji Saponin

Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
		Terbentuk busa stabil (+ saponin)
		Terbentuk busa stabil (+ saponin)

c. Uji Tanin

Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
		Berwarna hitam kehijauan (+ tanin)

		Berwarna hitam kehijauan (+ tanin)
--	---	------------------------------------

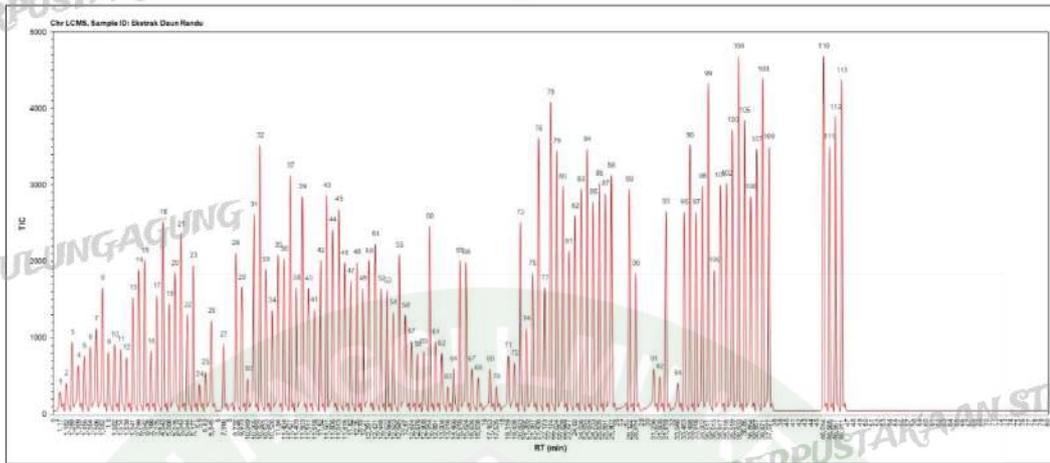
d. Uji alkaloid

Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
		Dengan pereaksi meyer terbentuk endapan putih (+ alkaloid)
		Dengan pereaksi meyer terbentuk endapan putih (+ alkaloid)

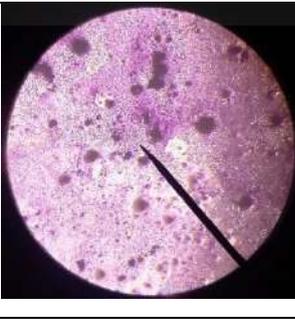
Lampiran 10. Analisis LCMS daun randu

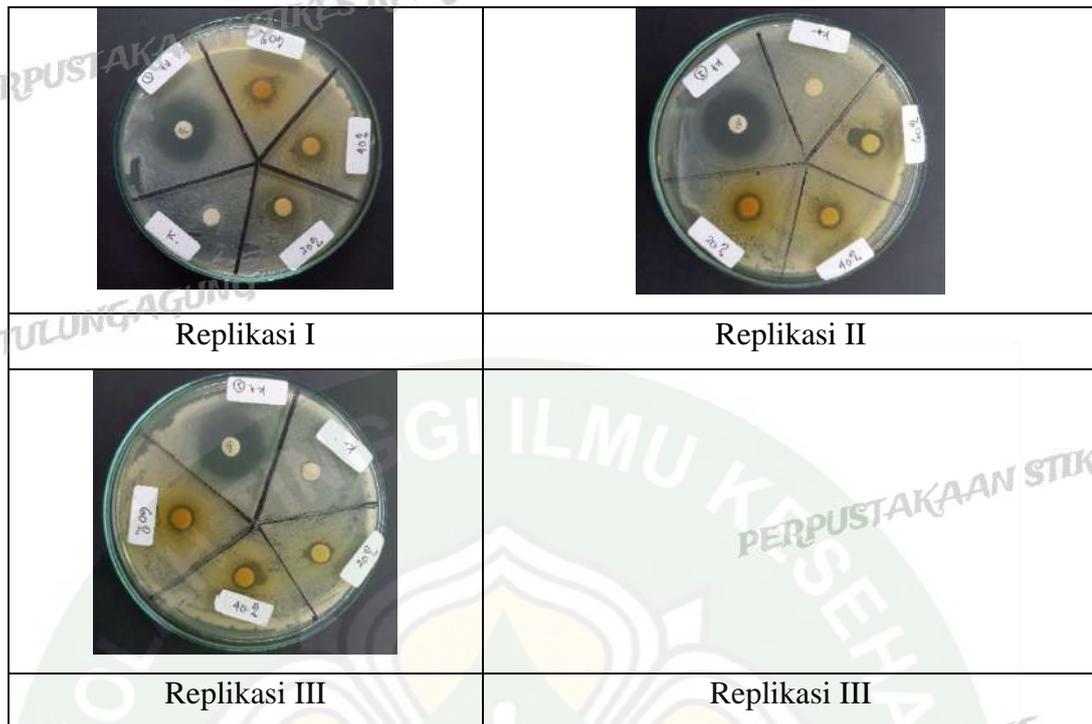
Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	Keterangan
 Sampel	 Pengiriman	Bobot sampel: 1 gram Lokasi LCMS: UMM Vol. injeksi: 1 µl Fase diam: kolom shimadzu shim pack FC (2mm x 150mm, 3 µm) Fase gerak: metanol 90% dan air Rentang m/z: 10-1000 Rentang waktu: 60 menit

Lampiran 11. Hasil Kromatogram Analisis LCMS Daun Randu



Lampiran 12. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Randu

	
<p>Sterilisasi alat dan bahan</p>	<p>Pembuatan media agar</p>
	
<p>Pembuatan suspensi bakteri</p>	<p>Pembuatan larutan uji dengan pelarut DMSO 2,5%</p>
	
<p>Pengecatan gram</p>	<p>Kloramfenikol disk 30µg</p>



Lampiran 13. Hasil Analisis SPSS 22

a. Hasil uji normalitas

Tests of Normality^b

Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter K+	.253	3	.	.964	3	.637
zona 20%	.292	3	.	.923	3	.463
hambat 40%	.292	3	.	.923	3	.463
60%	.292	3	.	.923	3	.463

a. Lilliefors Significance Correction

b. Diameter zona hambat is constant when Konsentrasi = K-. It has been omitted.

Nilai signifikansi = 0,112 (terdistribusi normal >0,05)

b. Hasil uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.737	3	8	.113

Nilai homogenitas = 0,113 (homogen > 0,05)

c. Hasil uji one way anova

ANOVA

Diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	849.733	4	212.433	354.056	.000
Within Groups	6.000	10	.600		
Total	855.733	14			

Nilai uji one way anova = 0,000 (Ada pengaruh signifikan dari variasi konsentrasi ekstrak $\leq 0,05$)

d. Hasil uji Tukey

Diameter zona hambat

Tukey HSD^a

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K-	3	.0000			
20%	3		10.8333		
40%	3		12.000	12.000	
60%	3			13.3333	
K+	3				23.6667
Sig.		1.000	.095	.061	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Nilai uji Duncan = perbedaan data tidak signifikan

Lampiran 14. Alur Prosedur Kerja

a. Pembuatan simplisia

Daun Randu

- Pemanenan daun randu
- Pencucian dengan air mengalir
- Pengeringan
- Sortasi kering
- Pengecilan ukuran partikel dengan cara diblender
- Ayak dengan ayakan no 80 mesh

Serbuk simplisia daun randu

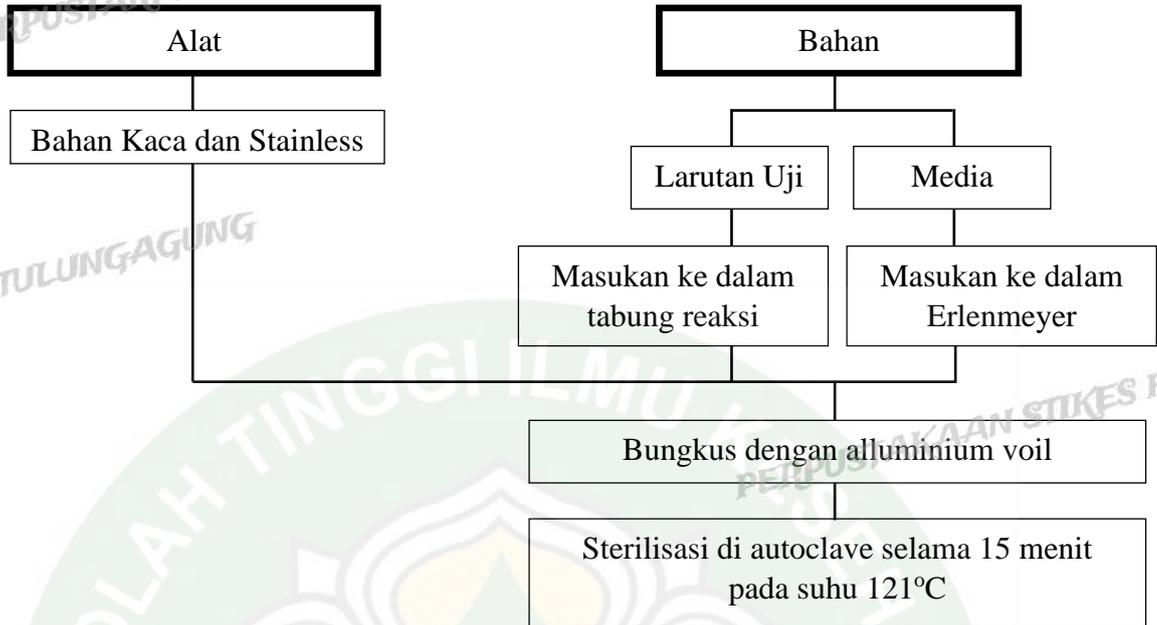
b. Pembuatan ekstrak

Serbuk simplisia daun randu

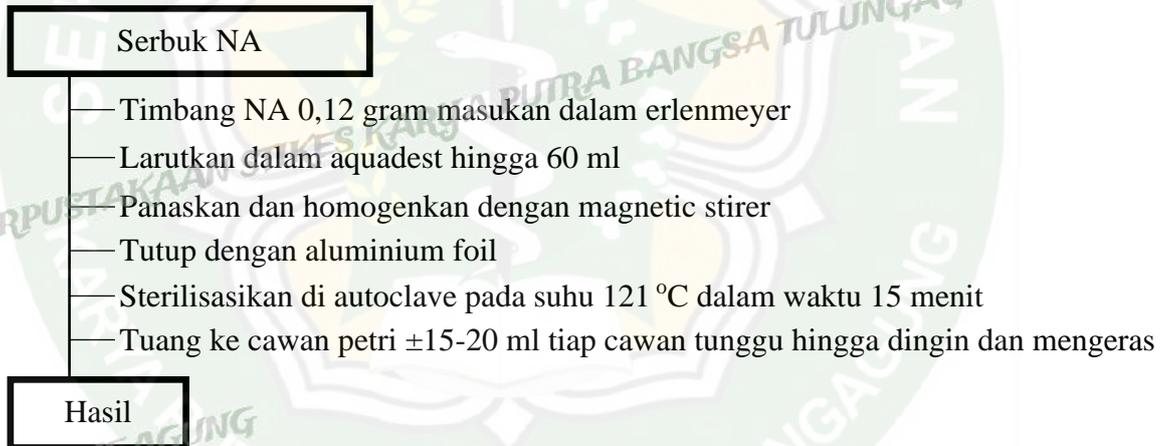
- Timbang 500 g serbuk
- Masukkan ke bejana maserasi
- Tambahkan pelarut etanol 70%
- Gojok hingga terbasahi
- Simpan dalam ruang kedap cahaya selama 5 hari sambil diaduk secara berkala
- Saring meserat, dan ulangi tahap remaserasi
- Lakukan proses pemekatan di alat rotary evaporator
- Pekatkan dengan suhu 50°C hingga ekstrak menjadi kental

Ekstrak etanol daun randu

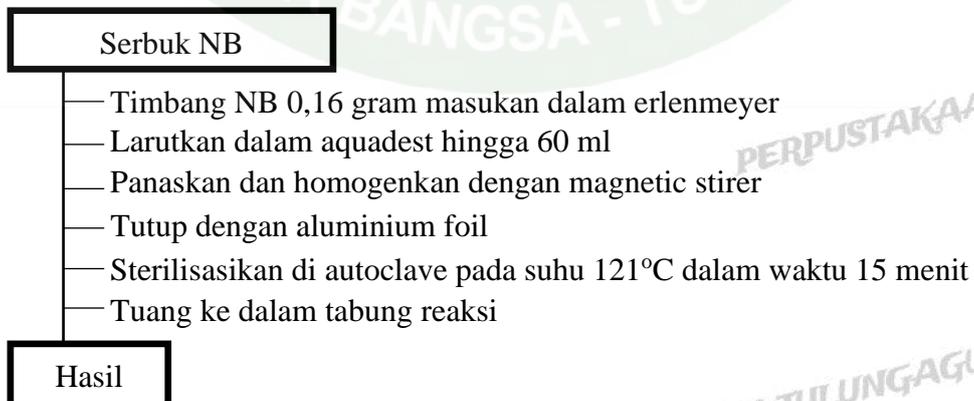
c. Sterilisasi alat dan bahan



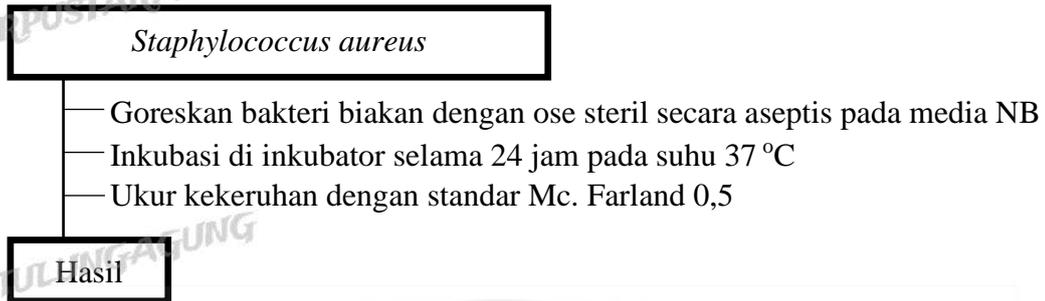
d. Pembuatan media NA



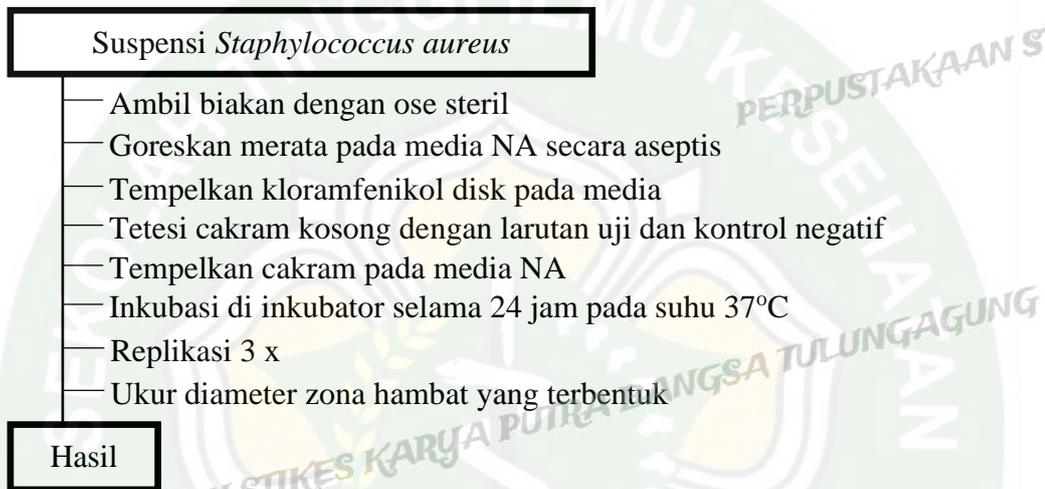
e. Pembuatan media NB



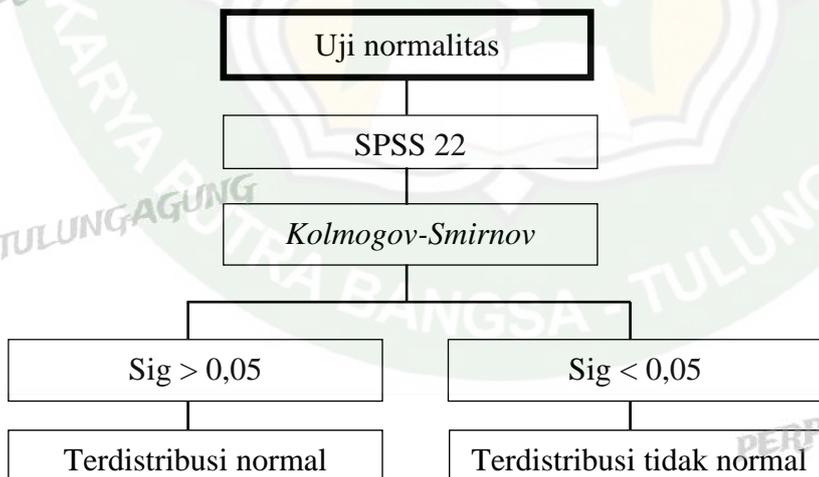
f. Pembuatan suspensi bakteri



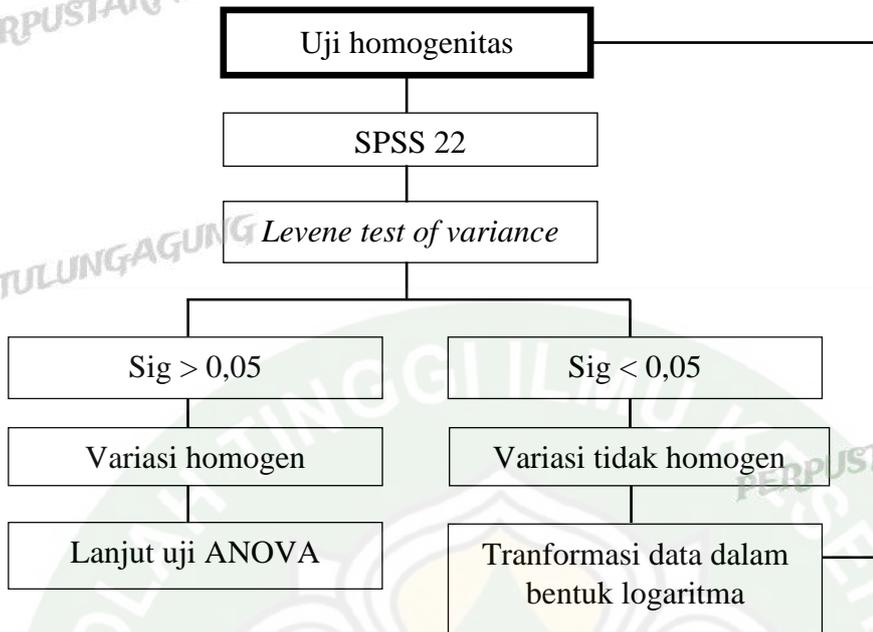
g. Uji aktivitas antibakteri



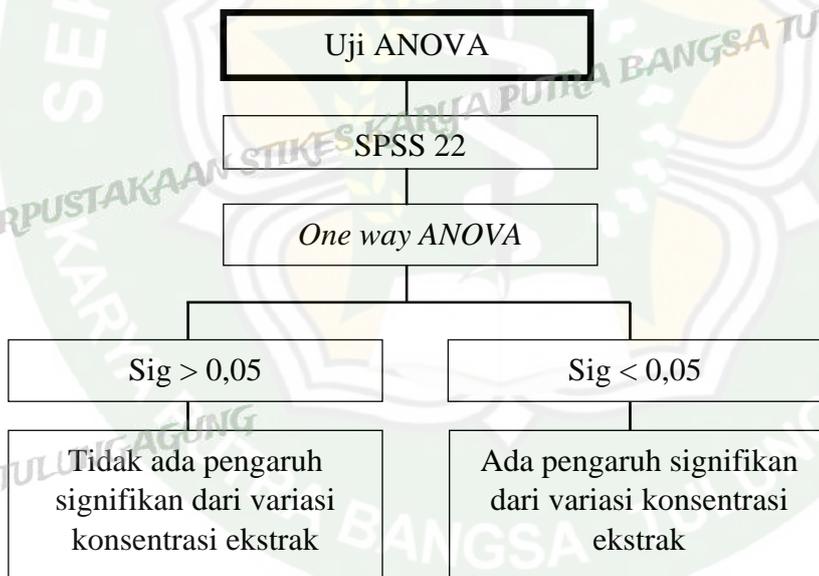
h. Uji normalitas data



i. Uji homogenitas



j. Uji one way anova



Lampiran 15. Jadwal Kegiatan

Tabel 5.1 Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan										Lokasi	
		09	10	11	12	01	02	03	04	05	06		07
1	Persiapan	√	√										
2	Pembuatan Proposal		√	√	√								
3	Seminar Proposal					√							Aula STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
4	Pengambilan sampel				√	√							Dusun Krenggan, Desa Ngebong, Kecamatan Pakel, Kabupaten Tulungagung
5	Determinasi					√							UPT Materia Medika Batu, Malang
6	Pembuatan Simplisia					√							Laboratorium Botani STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
7	Proses Maserasi						√						Laboratorium Botani STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
8	Proses Ekstraksi						√						UPT Materia Medika Batu, Malang
9	Analisis LCMS							√					Universitas Muhammadiyah Malang
10	Identifikasi Bakteri							√					Laboratorium Mikrobiologi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung

11	Uji Aktivitas Antibakteri							√					Laboratorium Mikrobiologi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
12	Analisis Data								√				
13	Pembuatan Draft Skripsi								√	√			
14	Seminar Hasil Penelitian										√	√	Aula STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG



PERPUSTAKAAN STIKES KARYA P

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA P

PERPUSTAKAAN STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG