

**SKRINING FITOKIMIA DAN ANALISIS KUANTITATIF EKSTRAK  
DAUN RANDU DENGAN HPLC DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *P. aeruginosa* ATCC 27853**

**SKRIPSI**



**LUQYANA SALSABILA**

**1913206023**

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

**TULUNGAGUNG**

**JUNI 2023**

**SKRINING FITOKIMIA DAN ANALISIS KUANTITATIF EKSTRAK  
DAUN RANDU DENGAN HPLC DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *P. aeruginosa* ATCC 27853**

**SKRIPSI**

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

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



**LUQYANA SALSABILA**

**1913206023**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI**

**STIKES KARYA PUTRA BANGSA**

**TULUNGAGUNG**

**JUNI 2023**

SKRIPSI

SKRINING FITOKIMIA DAN ANALISIS KUANTITATIF EKSTRAK  
DAUN RANDU DENGAN HPLC DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *P. aeruginosa* ATCC 27853

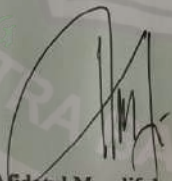
Yang diajukan oleh:

LUQYANA SALSABILA

1913206023

Telah disetujui oleh:

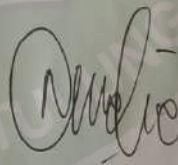
Pembimbing Utama,



Afdatul Muadifah, M.Si

NIDN. 07.08.03.91.02

Pembimbing Pendamping,



Apt. Amalia Eka Putri, M.Farm

NIDN. 07.28.12.92.01



SKRIPSI

SKRINING FITOKIMIA DAN ANALISIS KUANTITATIF EKSTRAK  
DAUN RANDU DENGAN HPLC DAN UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *P. aeruginosa* ATCC 27853

Oleh:

LUQYANA SALSABILA

1913206023

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji

Skripsi

Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal: 27 Juni 2023

Ketua Penguji : Afidatul Muadifah, M.Si

Anggota Penguji : 1. Apt. Amalia Eka Putri, M.Farm

2. Apt. Arif Santoso, M.Farm

3. Apt. Sulastri, M.Farm

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 diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Juni 2023

Luqyana Salsabila

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan karunia-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Skrining Fitokimia Dan Analisis Kuantitatif Ekstrak Daun Randu Dengan HPLC Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Pertumbuhan Bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853**”.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu. Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada :

1. Bapak apt. Arif Santoso, M.Farm selaku ketua Stikes karya putra bangsa.
2. Ibu apt. Dara Paranidya, M.Farm selaku ketua program studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Ibu Afidatul Muadifah, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang selalu memberikan bimbingan dalam penyelesaian proposal.
4. Ibu apt. Amalia Eka Putri, M.Farm selaku dosen pembimbing kedua yang selalu memberikan bimbingan dalam penyelesaian proposal.
5. Kedua orang tua saya, Bapak Cuk Heri Sudibyo, S.Pd dan Ibu Ernawati, S.Pd, dan seluruh anggota keluarga yang selalu memberikan do'a dan semangat.
6. Geng Bestai (Lazufa dan Ratih) yang menemani dan menyemangati dari awal hingga akhir.
7. Teman-teman angkatan 2019 prodi S1 farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang selalu memberikan semangat.
8. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kata sempurna. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penyusunan skripsi. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan khususnya untuk bidang ilmu Farmasi.

Tulungagung, Juni 2023

(Luqyana Salsabila)



**SKRINING FITOKIMIA DAN ANALISIS KUANTITATIF EKSTRAK DAUN  
*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. DENGAN HPLC DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *P. aeruginosa* ATCC 27853**

**LUQYANA SALSABILA**  
**Prodi S1 Farmasi**

**INTISARI**

Pneumonia nosokomial atau biasa dikenal dengan *hospital acquired pneumonia* (HAP) merupakan infeksi yang terjadi pada parenkim paru yang disebabkan oleh patogen di rumah sakit. Pneumonia nosokomial merupakan penyebab kematian ke 6 besar di rumah sakit Indonesia dengan angka kematian sebesar 20-50%. Pneumonia nosokomial disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pada terapi pengobatan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 yakni menggunakan antibakteri sudah banyak terjadi resistensi antibakteri sehingga menimbulkan permasalahan dalam pengobatannya. Adanya permasalahan tersebut membuat penelitian terkait obat antibakteri dari bahan alam semakin banyak dan berkembang salah satunya ialah daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.). Tanaman randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) dapat menjadi alternatif pengobatan antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 karena memiliki kandungan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar senyawa *quercetin* yang terkandung dari tanaman randu dengan HPLC serta mengetahui aktivitas antibakteri tanaman randu terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan melihat besar zona hambat yang terbentuk. Metode yang digunakan adalah analisis dengan HPLC dan metode difusi cakram untuk melihat aktivitas antibakteri. Metode analisis dengan HPLC merupakan metode pemisahan senyawa untuk menentukan kadar senyawa yang diinginkan. Metode difusi cakram ialah metode untuk melihat aktivitas antibakteri dari besar zona hambat yang dihasilkan yang kemudian dilanjutkan dengan uji analisis statistika menggunakan SPSS 27. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun randu memiliki kandungan senyawa *quercetin* yang termasuk dalam golongan senyawa flavonoid dengan kadar sebesar 2,075%. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram dengan konsentrasi 15%, 25% dan 35% dengan kontrol positif ciprofloxacin dan kontrol negatif DMSO 2,5%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun randu terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat, kontrol positif menghasilkan zona hambat sebesar 29,7 mm, pada konsentrasi 15%, 25% dan 35% menghasilkan zona hambat 13,3 mm, 14,6 mm dan 15,6 mm. Aktivitas antibakteri yang optimal berdasarkan analisis statistik terdapat pada konsentrasi 15%. Aktivitas antibakteri pada daun randu belum dapat menjadi alternatif pengobatan untuk penyakit pneumonia nosokomial karena zona hambat yang dihasilkan belum mampu menyamai ciprofloxacin sebagai kontrol positif.

Kata kunci : pneumonia nosokomial, daun randu, HPLC, *Pseudomonas aeruginosa*, zona hambat

**PHYTOCHEMICAL SCREENING AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF EXTRACTS  
*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. LEAF WITH HPLC AND ANTIBACTERIAL  
ACTIVITY TEST ON THE GROWTH OF *P. aeruginosa* ATCC 27853**

**LUQYANA SALSABILA**  
*Pharmacy S1 Study Program*

**ABSTRACT**

Nosocomial pneumonia or commonly known as hospital acquired pneumonia (HAP) is an infection that occurs in the lung parenchyma caused by pathogens in the hospital. Nosocomial pneumonia is the 6th leading cause of death in Indonesian hospitals with a mortality rate of 20-50%. Nosocomial pneumonia is caused by pathogenic microorganisms such as the gram-negative bacterium *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. In the treatment of *P. aeruginosa* ATCC 27853 bacteria, namely using antibacterials, there have been many antibacterial resistances that have caused problems in its treatment. The existence of these problems has made research related to antibacterial drugs from natural ingredients more and more developed, one of which is the leaves of randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.). Cotton plant (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) can be an alternative antibacterial treatment against *P. aeruginosa* ATCC 27853 because it contains compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. The purpose of this study was to determine the levels of quercetin compounds contained from poppy plants using HPLC and to determine the antibacterial activity of poppy plants against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 by looking at the size of the inhibition zone formed. The method used is HPLC analysis and disc diffusion method to see the antibacterial activity. The HPLC analysis method is a method of separating compounds to determine the desired compound content. The disc diffusion method is a method for observing the antibacterial activity of the resulting large inhibition zones which is then followed by a statistical analysis test using SPSS 27. The results of this study indicate that randu leaf extract contains the compound quercetin which is included in the class of flavonoid compounds with a concentration of 2.075%. Antibacterial activity testing was carried out using the disc diffusion method with concentrations of 15%, 25% and 35% with positive control of ciprofloxacin and negative control of 2.5% DMSO. The results of testing the antibacterial activity of randu leaf extract against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 in the negative control did not form an inhibition zone, the positive control produced an inhibition zone of 29.7 mm, at a concentration of 15%, 25% and 35% produced an inhibition zone of 13.3 mm, 14.6mm and 15.6mm. Optimal antibacterial activity based on statistical analysis is found at a concentration of 15%. Antibacterial activity in randu leaves cannot be used as an alternative treatment for nosocomial pneumonia because the resulting inhibition zone has not been able to match ciprofloxacin as a positive control.

Keywords: nosocomial pneumonia, randu leaf, HPLC, *Pseudomonas aeruginosa*, inhibition zone



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>INTISARI</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Relevansi Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Pneumonia Nosokomial .....	6
2.1.1 Etiologi Pneumonia Nosokomial .....	6
2.1.2 Patofisiologi Pneumonia Nosokomial .....	6
2.1.3 Pedoman Pengobatan Pneumonia Nosokomial .....	7
2.2 Tanaman Randu ( <i>Ceiba Pentandra</i> (L.) Gaertn.) .....	8
2.2.1 Klasifikasi .....	8
2.2.2 Morfologi .....	8
2.3 Kandungan Kimia .....	9
2.3.1 Alkaloid .....	10
2.3.2 Flavonoid .....	10
2.3.3 Saponin .....	11
2.3.4 Tanin .....	11
2.4 Simplisia .....	12
2.4.1 Jenis Simplisia .....	12
2.4.1.1 Simplisia Nabati .....	12
2.4.1.2 Simplisia Hewani .....	12

2.4.1.3 Simplisia Pelikan (Mineral) .....	12
2.4.2 Syarat Simplisia .....	13
2.4.3 Persiapan Simplisia .....	13
2.5 Ekstraksi .....	14
2.5.1 Jenis Metode Ekstraksi .....	14
2.5.1.1 Maserasi .....	14
2.5.1.2 <i>Ultrasound - Assisted Solvent Extraction</i> .....	15
2.5.1.3 Perkolasi .....	15
2.5.1.4 Soxhlet .....	15
2.5.1.5 Reflux .....	16
2.5.1.6 Destilasi Uap .....	16
2.6 Pelarut .....	16
2.6.1 Air .....	16
2.6.2 Aseton .....	17
2.6.3 DMSO .....	17
2.6.4 Etanol .....	17
2.6.5 Etil Asetat .....	18
2.6.6 Kloroform .....	18
2.6.7 Metanol .....	19
2.7 HPLC ( <i>High Performance Liquid Chromatography</i> ) .....	19
2.7.1 Komponen HPLC .....	20
2.7.1.1 Pompa (Pomp) .....	20
2.7.1.2 Injektor (Injector) .....	20
2.7.1.3 Kolom (Column) .....	21
2.7.1.4 Detektor (Detector) .....	22
2.7.1.5 Elusi Gradien .....	22
2.7.1.6 Fase Gerak .....	23
2.7.1.7 Fase Diam .....	24
2.7.2 Analisis Kualitatif Dengan HPLC .....	24
2.7.3 Analisis Kuantitatif Dengan HPLC .....	25
2.8 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	28
2.8.1 Klasifikasi .....	28
2.8.2 Morfologi .....	29
2.9 Antibakteri .....	29

2.9.1 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	30
2.9.1.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel.....	30
2.9.1.2 Menghambat Sintesis Protein.....	30
2.9.1.3 Menghambat Fungsi DNA.....	30
2.9.1.4 Menghambat <i>Tetrahydrofolic Acid</i> .....	30
2.10 Uji Aktivitas Antibakteri.....	30
2.10.1 Metode Difusi.....	31
2.10.1.1 Metode <i>Disk Diffusion</i> .....	31
2.10.1.2 Metode <i>E-Test</i> .....	31
2.10.1.3 Metode <i>Ditch-Plate Technique</i> .....	31
2.10.1.4 Metode <i>Cup-Plate Technique</i> .....	32
2.10.2 Metode Dilusi.....	32
2.10.2.1 Metode Dilusi Cair / <i>Broth Dilution Test (Serial Diution)</i> .....	32
2.10.2.2 Metode Dilusi Padat ( <i>Solid Dilution Test</i> ).....	33
2.11 Ciprofloxacin.....	33
2.12 Hipotesis.....	34
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>35</b>
3.1 Bahan.....	35
3.2 Alat.....	35
3.3 Populasi penelitian.....	35
3.4 Sampel Penelitian.....	35
3.5 Variabel Penelitian.....	36
3.5.1 Variabel Bebas.....	36
3.5.2 Variabel Kontrol.....	36
3.5.3 Variabel Terikat.....	36
3.6 Metode Penelitian.....	37
3.6.1 Determinasi Tanaman.....	37
3.6.2 Pembuatan Simplisia Daun Randu.....	37
3.6.3 Standarisasi Simplisia.....	37
3.6.3.1 Uji Susut Pengeringan.....	37
3.6.3.2 Uji Kadar Air Serbuk.....	38
3.6.4 Pembuatan Ekstrak.....	38
3.6.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak.....	39
3.6.5.1 Uji Bebas Etanol.....	39



3.6.5.2 Rendemen .....	39
3.6.6 Skrining Fitokimia.....	40
3.6.6.1 Uji Alkaloid .....	40
3.6.6.2 Uji Flavonoid .....	40
3.6.6.3 Uji Saponin .....	40
3.6.6.4 Uji Tanin.....	40
3.6.7 Penetapan Kadar Senyawa dengan HPLC .....	40
3.6.7.1 Penentuan Kondisi Analisis .....	41
3.6.7.2 Penetapan Kadar .....	41
3.6.8 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	41
3.6.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	41
3.6.8.2 Pembuatan Media .....	42
3.6.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	42
3.6.8.4 Pembuatan Larutan Uji.....	42
3.6.8.5 Pembuatan Larutan Kontrol.....	43
3.6.8.6 Identifikasi Bakteri Uji .....	43
3.6.8.7 Uji Aktivitas Antibakteri Eksrak Daun Randu .....	44
3.6.8.8 Pengukuran Zona Hambat .....	44
3.6.9 Analisis Statistika .....	45
3.6.9.1 Uji Normalitas Data .....	45
3.6.9.2 Uji Homogenitas .....	46
3.6.9.3 Uji <i>One Way Anova</i> .....	46
3.6.10 Kerangka Penelitian.....	47
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>48</b>
4.1 Determinasi Tanaman .....	48
4.2 Standarisasi Simplisia .....	48
4.2.1 Uji Susut Pengeringan .....	48
4.2.2 Uji Kadar Air Serbuk.....	49
4.3 Pengujian Karakteristik Ekstrak .....	49
4.3.1 Uji Bebas Etanol .....	49
4.3.2 Uji Rendemen Ekstrak.....	50
4.4 Skrining Fitokimia .....	51
4.4.1 Uji Alkaloid .....	52

4.4.2 Uji Flavonoid .....	53
4.4.3 Uji Saponin .....	53
4.4.4 Uji Tanin .....	53
4.5 Analisis Kuantitatif <i>Quarcetin</i> dalam Ekstrak Daun Randu .....	57
4.5.1 Preparasi Standar dan Sampel.....	53
4.5.1 Penentuan Kondisi Analisis .....	53
4.5.2 Penetapan Kadar Senyawa.....	54
4.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	57
4.6.1 Identifikasi Bakteri.....	57
4.6.2 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Randu Terhadap Bakteri <i>P. aeruginosa</i> .....	59
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	68
5.1 Kesimpulan.....	65
5.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	65
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	68

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b> Kandungan golongan senyawa ekstrak etanol 70% daun randu .....	9
<b>Tabel 2.2</b> Ilustrasi Hasil Waktu Retensi .....	25
<b>Tabel 2.3</b> Ilustrasi Nilai AUC .....	25
<b>Tabel 2.4</b> Ilustrasi Nilai AUC .....	27
<b>Tabel 2.5</b> Kategori Daya Hambat Bakteri .....	31
<b>Tabel 4.1</b> Hasil Uji Susut Pengerinan.....	47
<b>Tabel 4.2</b> Hasil Uji Kadar Air Serbuk Daun Randu.....	48
<b>Tabel 4.3</b> Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Randu .....	49
<b>Tabel 4.4</b> Hasil Uji Rendemen Ekstrak Daun Randu.....	49
<b>Tabel 4.5</b> Hasil Skrining Fitokimia Daun Randu.....	51
<b>Tabel 4.6</b> Data Analisis HPLC <i>Quarcerin</i> Standar .....	54
<b>Tabel 4.7</b> Hasil HPLC Ekstrak Daun Randu .....	56
<b>Tabel 4.8</b> Hasil pengujian Antibakteri Ekstrak Daun Randu Terhadap Bakteri <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	59



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Tanaman Randu ( <i>Ceiba Pentandra</i> (L.) Gaertn.) .....	7
<b>Gambar 2.2</b> Morfologi Tanaman Randu ( <i>Ceiba Pentandra</i> (L.) Gaertn.).....	8
<b>Gambar 2.4</b> Ilustrasi Instrumen HPLC .....	19
<b>Gambar 2.4</b> Ilustrasi Analisis kualitaitaif dengan HPLC .....	24
<b>Gambar 2.5</b> Ilustrasi hasil peak kromatogram .....	24
<b>Gambar 2.6</b> Ilustrasi kurva kalibrasi .....	26
<b>Gambar 2.7</b> Bakteri <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	27
<b>Gambar 3.1</b> Pengukuran diameter zona hambat .....	44
<b>Gambar 3.2</b> Skema Kerangka Penelitian .....	46
<b>Gambar 4.1</b> Hasil Pengamatan Uji Skrining Fitokimia.....	51
<b>Gambar 4.2</b> Kromatogram Standar <i>Quaracetin</i> .....	54
<b>Gambar 4.3</b> Kromatogram HPLC Ekstrak Daun Randu .....	55
<b>Gambar 4.4</b> Hasil Pewarnaan Gram Bakteri <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 ....	57
<b>Gambar 4.5</b> Hasil Uji Aktivitas Antibakteri .....	59

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Jadwal Penelitian .....	56
<b>Lampiran 2.</b> Perhitungan Bahan.....	57
<b>Lampiran 3.</b> Surat Determinasi Tanaman.....	58
<b>Lampiran 4.</b> Surat Pembelian Bakteri .....	58
<b>Lampiran 5.</b> Dokumentasi Penelitian .....	58
<b>Lampiran 6.</b> Analisis Statistika .....	58
<b>Lampiran 7.</b> Alur Kerja .....	58

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Infeksi ialah masalah kesehatan yang hingga saat ini masih menjadi sorotan di dunia kesehatan pada negara maju maupun negara berkembang. Infeksi merupakan keadaan adanya mikroorganisme maupun benda asing masuk ke dalam tubuh dan menimbulkan suatu penyakit (Aristatia & Yulyani, 2021). Salah satu jenis infeksi yaitu infeksi nosokomial yang merupakan infeksi yang terjadi di rumah sakit (Rahmatilah *et al.*, 2020). Infeksi nosokomial yang paling banyak terjadi di Indonesia ialah pneumonia nosokomial. Pneumonia nosokomial atau biasa dikenal dengan *hospital acquired pneumonia* (HAP) merupakan infeksi yang terjadi pada parenkim paru yang disebabkan oleh patogen di rumah sakit. HAP merupakan penyebab paling umum kedua dari infeksi diantara pasien di rumah sakit. HAP berkembang dengan masa inkubasi minimal 2 hari (Warganegara, 2017).

Survei terkait prevalensi infeksi nosokomial yang dilakukan oleh WHO pada tahun 2022 dihasilkan, pada 55 rumah sakit di 14 negara yang dibagi menjadi 4 wilayah yakni, Eropa, Mediteranian Timur, Asia Tenggara dan Pasifik Barat, menunjukkan bahwa sekitar 8,7% pasien di rumah sakit mengalami infeksi nosokomial, pada survei lain menyatakan lebih dari 1,4 juta pasien diseluruh dunia mengalami infeksi nosokomial. Frekuensi paling tinggi terjadi pada rumah sakit Mediteranian Timur sebesar 11,8 %, diikuti wilayah Asia Tenggara sebesar 11 %, kemudian wilayah Pasifik Bara 9,0 %, dan selanjutnya Eropa sebesar 7,7 %. Di indonesia sendiri infeksi nosokomial telah mencapai angka 15,74% yang mana itu jauh di atas negara maju yang hanya berkisar 4,8-15,5% (Zuraida *et al.*, 2021). Infeksi nosokomial yang paling banyak terjadi di Indonesia ialah pneumonia nosokomial yang dapat mencapai 33-50% per tahun dimana infeksi tersebut merupakan penyebab kematian ke 6 besar di rumah sakit Indonesia dengan angka kematian pada pneumonia nosokomial yaitu 20-50%. (Anita & Kardi, 2021).

Infeksi dapat meningkat maupun menurun bergantung pada imunitas dan pertumbuhan mikroorganisme pathogen (Husna, 2018). Patogen penyebab dari HAP ialah bakteri gram negatif (PDPI, 2003). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC



27853 (*P. aeruginosa* ATCC 27853) merupakan bakteri patogen oportunistik salah satu penyebab terjadinya HAP yang menyebabkan infeksi pneumonia. *P. aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri yang paling dominan menyebabkan HAP. Penelitian yang dilakukan oleh Asadullah *et al.*, 2015, menunjukkan bahwa ada tiga bakteri tersering menyebabkan HAP yaitu *P. aeruginosa* ATCC 27853 (24%), diikuti *Acinetobacter spp* (16%) dan *Acinetobacter baumannii* (12%). Hal tersebut juga didukung oleh penelitian Herdwiyantri *et al.*, 2021, yang menyatakan bahwa penyebab tertinggi dari HAP adalah *P. aeruginosa* ATCC 27853 (24%), disusul oleh *Klebsiella pneumoniae* (14,3%) dan *Acinetobacter baumannii* (9,5%). Sebagai patogen oportunistik, *P. aeruginosa* ATCC 27853 memiliki beberapa faktor yang mendukung yaitu kemampuan organisme tersebut untuk beradaptasi dengan lingkungan, memiliki mekanisme resisten innate terhadap berbagai macam antibiotik dan desinfektan (Zuraida *et al.*, 2021).

Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dilakukan dengan antibiotik, namun pemberian antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan resistensi atau kebalnya bakteri terhadap antibiotik (Zakiah *et al.*, 2021). Pada terapi pengobatan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 sudah banyak terjadi resistensi antibakteri sehingga menimbulkan permasalahan dalam pengobatannya (Guo *et al.*, 2020). Adanya permasalahan tersebut membuat penelitian terkait obat antibakteri dari bahan alam semakin banyak dan berkembang salah satunya ialah daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) yang biasanya dijuluki sebagai daun kapuk. Sejak dahulu daun randu sudah digunakan sebagai obat tradisional yaitu sebagai penutup luka, dan mengurangi infeksi kulit (Zakiah *et al.*, 2021).

Hasil dari skrining fitokimia daun randu dalam penelitian (Viswanathan *et al.*, 2018) dikatakan bahwa daun randu mengandung banyak sekali metabolit sekunder yang meliputi alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid, steroid, fenol, resin dan juga saponin. Pada penelitian (Zakiah *et al.*, 2021) ditunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun randu memiliki potensi sebagai antibakteri. Hasil dari penelitian (Njokuocha & Ewinike, 2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun randu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853, pada penelitian tersebut menggunakan ekstrak etanol daun randu dengan konsentrasi 6,25%, 12,5% dan 25% yang memiliki rata-rata daya hambat berturut-turut 12,12

mm, 13,06 mm dan 14 mm yang tergolong dalam kategori kuat. Pada penelitian sebelumnya hingga saat ini belum ada pengembangan penelitian daun randu untuk melihat kadar senyawa pada daun randu secara analisis kuantitatif dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). HPLC digunakan untuk mengetahui secara spesifik terkait kadar dari senyawa yang berperan menghambat bakteri pada daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.). Uji menggunakan Analisis dengan HPLC memiliki beberapa keunggulan meliputi waktu analisis relatif singkat, volume sampel yang digunakan sedikit, dapat menganalisis senyawa organik dan anorganik, serta kolom yang dapat digunakan Kembali (Rosydiati, 2019). Prinsip kerja HPLC adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap campuran yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Dimana jumlah peak menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas peak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran (Kusuma & Ismanto, 2016). Berdasarkan uraian permasalahan diatas peneliti merasa perlu untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 untuk membuktikan aktivitas antibakteri daun randu terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 serta peneliti ingin mengembangkan penelitian sebelumnya dengan penambahan analisis kuantitatif ekstrak daun randu dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) untuk menentukan kadar dari senyawa yang berperan sebagai antibakteri pada daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.).

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Berapakah kadar dari senyawa yang berperan menghambat bakteri pada pada daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) berdasarkan analisis dengan HPLC?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi optimum ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) yang memberi efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 berdasarkan analisis statistik?
- 1.2.3 Apakah aktivitas antibakteri pada ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) dapat menjadi alternatif pengobatan pneumonia nosokomial?

### 1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui kadar dari senyawa yang berperan menghambat bakteri pada daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) berdasarkan analisis dengan HPLC.
- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi optimum ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) yang memberi efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 berdasarkan analisis statistik.
- 1.3.3 Mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) sebagai alternatif pengobatan pneumonia nosokomial.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Bagi Peneliti

Dapat mengetahui dan mendapatkan data ilmiah tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan kadar senyawa tertinggi penyusun dalam ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.).

#### 1.4.2 Bagi instansi STIKes Karya Putra Bangsa

Penelitian ini diharapkan bisa memberikan informasi ilmiah mengenai kadar senyawa tertinggi yang terdapat di dalam ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) serta efektivitasnya sebagai antibakteri yang nantinya dapat disosialisasikan dan dikembangkan sehingga dapat mewujudkan Visi dan Misi dari STIKes Karya Putra Bangsa terkait pengembangan obat herbal.

#### 1.4.3 Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi ilmiah mengenai hasil ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) sebagai antibakteri, sehingga masyarakat dapat mengetahui kegunaan atau manfaat daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.).



## 1.5 Relevansi Penelitian

1.5.1 Tanaman randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) khususnya pada bagian daun memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin yang berperan sebagai antibakteri (Viswanathan *et al.*, 2018).

1.5.2 Daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) Memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. Aeuginosa* dengan konsentrasi ekstrak 6,25%, 12,5% dan 15% hasil zona hambat sebesar 12,12mm, 13mm dan 14mm (Njokuocha & Ewinike, 2020).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pneumonia Nosokomial

*Hospital-acquired Pneumonia* (HAP) atau dikenal dengan pneumonia nosokomial merupakan pneumonia yang muncul setelah 48 jam dirawat di rumah sakit atau fasilitas perawatan kesehatan lainnya, dengan tanpa pemberian inkubasi *tracheal*. Pneumonia terjadi karena ketidak seimbangan pertahanan host dan kemampuan kolonisasi bakteri sehingga menginvasi saluran pernafasan bagian bawah (Warganegara, 2017). HAP merupakan penyebab paling umum kedua dari infeksi diantara pasien di Rumah Sakit, dan sebagai penyebab utama kematian karena infeksi (mortalitas-rate sekitar 30-70%), dan diperkirakan 27-50% berhubungan langsung dengan pneumonia. HAP memperpanjang tinggal di Rumah Sakit 7-9 hari dan dihubungkan dengan biaya perawatan yang lebih tinggi. Faktor resiko umum untuk berkembangnya HAP adalah umur lebih tua dari 70 tahun, morbiditas yang serius, malnutrisi, penurunan kesadaran, berlama lama tinggal di rumah sakit, dan penyakit obstruksi paru yang khronis. HAP adalah infeksi yang paling umum terjadi pada pasien yang membutuhkan perawatan pada *Intensive Care Unit* dan hampir 25% dari infeksi nosokomial di *Intensive care unit*, dengan insiden rate 6-52% (Anita & Kardi, 2021).

##### 2.1.1 Etiologi Pneumonia Nosokomial

Pneumonia nosokomial disebabkan oleh patogen yang didominasi oleh bakteri gram negatif (Seyawati, 2018). Beberapa contoh bakteri penyebab pneumonia nosokomial ialah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter spp*, *S.pneumoniae*, *H. Influenzae* (PDPI, 2003).

##### 2.1.2 Patofisiologi Pneumonia Nosokomial

Pneumonia nosokomial disebabkan oleh masuknya partikel kecil pada saluran napas bagian bawah. Masuknya partikel tersebut dapat menyebabkan kerusakan paru-paru karena mengandung agen penyebab infeksi. Infeksi dapat disebarkan melalui udara ketika agen masih aktif dan kemudian masuk ke jaringan tempat partikel tersebut dapat menyebabkan infeksi. Jika partikel mempunyai

ukuran yang sangat kecil saat terhirup, maka partikel akan mudah masuk ke jalan napas dan alveolus. Rehidrasi dapat menyebabkan membesarnya ukuran partikel, sehingga dapat menghambat pernapasan. Infeksi saluran pernapasan juga bisa disebabkan oleh bakteri yang berada di dalam darah dari daerah lain di tubuh menyebar ke paru-paru. Patogen umumnya dikeluarkan melalui batuk yang kemudian ditangkap oleh sistem kekebalan tubuh. Jika organisme yang lolos berjumlah banyak melebihi dari sistem kekebalan tubuh maka terjadi aktivasi imun dan infiltrasi sel dalam sistem kekebalan tubuh. Sel akan menyebabkan rusaknya selaput lendir di dalam bronki dan selaput alveolo kapiler sehingga terjadi infeksi (Syamsudin, & Keban, 2013).

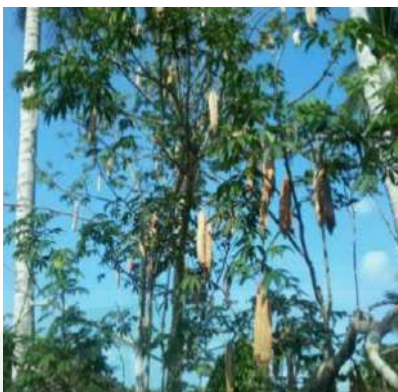
### **2.1.3 Pedoman Pengobatan Pneumonia Nosokomial**

Beberapa pedoman dalam pengobatan pneumonia nosokomial ialah :

1. Semua terapi awal antibiotik adalah empirik dengan pilihan antibiotik yang harus mampu mencakup sekurang-kurangnya 90% dari patogen yang mungkin sebagai penyebab, perhitungkan pola resistensi setempat,
2. Terapi awal antibiotik secara empiris pada kasus yang berat dibutuhkan dosis dan cara pemberian yang adekuat untuk menjamin efektiviti yang maksimal. Pemberian terapi empiris harus intravena dengan sulih terapi pada pasien yang terseleksi, dengan respons klinis dan fungsi saluran cerna yang baik,
3. Pemberian antibiotik secara de-eskalasi harus dipertimbangkan setelah ada hasil kultur yang berasal dari saluran napas bawah dan ada perbaikan respons klinis,
4. Kombinasi antibiotik diberikan pada pasien dengan kemungkinan terinfeksi kuman MDR,
5. Jangan mengganti antibiotik sebelum 72 jam, kecuali jika keadaan klinis memburuk,
6. Data mikroba dan sensitivitas dapat digunakan untuk mengubah pilihan empirik apabila respons klinis awal tidak memuaskan. Modifikasi pemberian antibiotik berdasarkan data mikrobial dan uji kepekaan tidak akan mengubah mortaliti apabila terapi empirik telah memberikan hasil yang memuaskan (PDPI, 2003).



## 2.2 Tanaman Randu (*Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn.)



**Gambar 2.1** Tanaman Randu (*Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn.)  
(Khalir *et al.*, 2020)

### 2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman randu (*Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn.) menurut (Chan *et al.*, 2022) :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Viridiplantae
Infra Kingdom	: Steptophyta
Super Divisi	: Embryophyta
Devisi	: Tracheophyta
Sub Divisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Super Ordo	: Rosanae
Ordo	: Malvales
Family	: Malvaceae
Genus	: <i>Ceiba</i> Mill
Spesies	: <i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn

### 2.2.2 Morfologi

Tanaman Kapuk randu (*C. pentandra* Gaertn.) mempunyai ketinggian yang dapat mencapai 8-30 m serta mempunyai batang pohon utama yang cukup besar yang dapat mencapai diameter 3 m. Pada batang tanaman randu terdapat duri-duri tempel besar yang berbentuk kerucut. Tumbuhan randu ini tahan terhadap kekurangan air sehingga dapat tumbuh di kawasan pinggir pantai serta lahan-lahan

dengan ketinggian 100-800 m di atas permukaan laut dengan hujan tahunan 1.000-2.500 mm dan suhu dari 20- 27°C (R. H. Pratiwi, 2014).

Tanaman randu mempunyai daun majemuk sekitar 5 sampai 9, berbentuk bulat, anak daunnya lanset, pangkalnya tumpul namun ujungnya runcing dan rata pada bagian tepinya. Bunga menggantung majemuk, bergerombol pada ranting, hermaprodit, keputih-putihan dan besar. Kelopak bunga berbentuk lonceng, panjang 1 cm dengan 5-10 tonjolan pendek, mahkota bunga 3-3,5 cm dengan 5 tonjolan. Bunga berwarna putih sampai merah muda, putik dengan bakal buah menumpang, dekat ujung panjang dan melengkung, kepala putik membesar. Buah randu berbentuk lonjong dan berwarna hijau menyerupai kulit batangnya, jika buah randu sudah tua maka akan berubah warna menjadi coklat kehitaman. Di dalam buah randu terdapat serat halus putih yang disebut kapas (Viswanathan *et al.*, 2018).



**Gambar 2.2** Morfologi Tanaman Randu (*Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn.) (A) Tanaman Randu; (B) Batang; (C) Daun; (D) Bunga; (E) Buah; (F) Buah Matang (Viswanathan *et al.*, 2018)

### 2.3 Kandungan Kimia

Tumbuhan pada umumnya memiliki senyawa metabolisme primer dan senyawa metabolisme sekunder. Senyawa metabolisme primer merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat esensial bagi proses metabolisme sel tersebut. Senyawa ini dikelompokkan menjadi 4 kelompok makromolekul yaitu karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat, sedangkan senyawa metabolisme sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung dari gangguan hama atau penyakit (Sinurat *et al.*, 2019). Berdasarkan pengujian fitokimia yang telah dilakukan oleh

(Njokuocha & Ewenike, 2020) khususnya pada daun randu disebutkan bahwa daun randu (*C. pentandra* Gaertn.) memiliki kandungan senyawa :

**Tabel 2.1** Kandungan golongan senyawa ekstrak etanol 70% daun randu (*Ceiba pentandra* Gaertn.) (Njokuocha & Ewenike, 2020).

Golongan Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+

Berikut adalah golongan senyawa daun randu (*Ceiba pentandra* Gaertn.) beserta mekanisme antibakterinya :

**2.3.1 Alkaloid**

Alkaloid merupakan salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang. Alkaloid memiliki kegunaan dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain lain (Aksara *et al.*, 2013). Alkaloid ialah senyawa yang bersifat polar (Muhammad Titis *et al.*, 2013).

Mekanisme senyawa alkaloid sebagai antibakteri ialah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Mekanisme penghambatan alkaloid yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel (Umboh *et al.*, 2018).

**2.3.2 Flavonoid**

Flavonoid ialah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa



heterosiklik yang mengandung oksigen (Prasetio, 2015). Flavonoid adalah senyawa polar, oleh karena itu flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetil sulfoksida (DMSO), dimetil formamida (DMF), air dan lain-lain (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016).

Golongan senyawa flavonoid sebagai senyawa antibakteri memiliki mekanisme kerja diantaranya merusak dinding sel dan mengganggu proses metabolisme. Mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi. Selain itu senyawa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri. (Rahayu *et al.*, 2022).

### 2.3.3 Saponin

Saponin merupakan jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin merupakan golongan senyawa alam yang rumit serta memiliki masa molekul besar yang terdiri dari aglikon baik steroid atau triterpenoid dengan satu atau lebih rantai gula/glikosida serta berdasarkan pada sifat kimiawinya, saponin dapat dibagi dalam dua kelompok yaitu: steroid dengan 27 atom C dan triterpenoids dengan 30 atom C (Gunawan, 2018). Senyawa saponin bersifat polar (Chairunnisa *et al.*, 2019).

Mekanisme penghambatan senyawa saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel. Saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri, mengakibatkan meningkatnya permeabilitas dinding sel serta menurunkan tegangan permukaan dinding sel sehingga ketika terjadi interaksi dinding sel tersebut akan pecah atau mengalami lisis dan membuat zat antibakteri akan masuk kedalam sel dengan mudah dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadi kematian bakteri (Umboh *et al.*, 2018).

### 2.3.4 Tanin

Tanin ialah senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Hidjrawan Yusi, 2018). Sifat utama tanin pada tumbuhan tergantung pada gugusan fenolik - OH yang terkandung dalam tanin, tanin akan

terurai menjadi *pyrogallol*, *pyrocatechol*, dan *phloroglucinol* bila dipanaskan sampai suhu 990 C - 1020 C, semua jenis tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton, dan pelarut organik lainnya (Ariana *et al.*, 2021).

Tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara memprepitasi protein. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Noventi & Carolia, 2016).

## **2.4 Simplisia**

Menurut (Matahari *et al.*, 2014) simplisia merupakan suatu bahan alamiah maupun bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali pengeringan dan perajangan. Suhu pengeringan simplisia ialah tidak lebih dari 60°C.

### **2.4.1 Jenis Simplisia**

Berdasarkan dari jenisnya, simplisia di bedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan juga simplisia pelican atau mineral.

#### **2.4.1.1 Simplisia Nabati**

Simplisia nabati didefinisikan sebagai simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia (Matahari *et al.*, 2014).

#### **2.4.1.2 Simplisia Hewani**

Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian dari hewan atau zat berguna yang dihasilkan oleh hewan, namun bukan berupa zat kimia murni (Matahari *et al.*, 2014).

#### **2.4.1.3 Simplisia Pelikan (Mineral)**

Simplisia pelikan atau biasa juga disebut simplisia mineral didefinisikan sebagai simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah secara sederhana belum berupa zat kimia murni (Matahari *et al.*, 2014).

#### 2.4.2 Syarat Simplisia

Simplisia dapat dikatakan memenuhi syarat mutu simplisia jika sudah memenuhi persyaratan mutu yang tertera dalam monografi simplisia. Monografi simplisia terdiri dari susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan kandungan kimia simplisia (Azizah & Salamah, 2013).

Dalam (BPOM, 2014) dipaparkan beberapa persyaratan mutu dari suatu simplisia yang meliputi:

1. Organoleptis : dilakukan dengan mengamati bentuk, bau, rasa dan warna dari simplisia.
2. Kandungan kadar air  $\leq 10\%$ .
3. Bebas dari cemaran mikroba serta cemaran logam berat.
4. Kandungan kadar aflatoksin total (aflatoxin B1, B2, G1 dan G2)  $\leq 20 \mu\text{g}/\text{kg}$ .
5. Tidak boleh mengandung pengawet, pengharum, dan pewarna yang tidak disarankan maupun melebihi dari takaran yang sudah ditetapkan oleh BPOM.

#### 2.4.3 Persiapan Simplisia

Tahapan penyiapan simplisia ialah sebagai berikut:

1. Pengumpulan bahan baku: kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti : umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.
2. Sortasi basah: Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya setelah dilakukan pencucian dan perajangan.
3. Pencucian: dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih.
4. Perajangan.
5. Pengeringan: mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia.



6. Sortasi kering: tujuannya untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.
7. Pengemasan.
8. Penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Gafur & Rizki, 2021).

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi ialah metode penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ningrum *et al.*, 2019). Tujuan ekstraksi ialah untuk menarik komponen kimia yang berada pada tanaman. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat terlarut ke dalam pelarut yang sesuai berdasarkan sifat like dissolves like, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar pelarut dan zat terlarut yaitu zat terlarut akan berdifusi masuk ke dalam pelarut. umumnya zat aktif dalam tanaman mudah larut dalam pelarut organik. Ekstraksi berakhir ketika tercapainya kesetimbangan antara konsentrasi metabolit dalam pelarut dengan bahan yang digunakan (Agustina, 2017).

### 2.5.1 Jenis Metode Ekstraksi

Terdapat lima jenis metode ekstraksi yang meliputi :

#### 2.5.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Maserasi dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan jika sudah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian dari metode maserasi ialah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja

sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Nurhasnawati *et al.*, 2017). Menurut Farmakope Indonesia Edisi III proses maserasi dilakukan selama 5 hari (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

#### **2.5.1.2 *Ultrasound - Assisted Solvent Extraction***

Metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan digunakannya bantuan ultrasound (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah ultrasonic dan ultrasound. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Ayu *et al.*, 2020).

#### **2.5.1.3 Perkolasi**

Metode perkolasi ialah metode ekstraksi dengan menggunakan alat yang diberi nama perkolator. Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode perkolasi yaitu sampel akan selalu dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Silviani & Nirwana, 2020).

#### **2.5.1.4 Soxhlet**

Metode soxhlet dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat

terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Ramluckan *et al.*, 2014).

#### **2.5.1.5 Reflux**

Refluks merupakan suatu ekstraksi dengan menggunakan pemanasan pada suhu 50°C. Kekurangan dari ekstraksi ini yaitu apabila senyawa bersifat termolabil maka tidak ada terdegradasi. Metode reflux diawali dengan memasukkan sampel bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Kapelle & Laratmase, 2015).

#### **2.5.1.6 Destilasi Uap**

Destilasi uap memiliki proses yang sama dengan reflux dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Kapelle & Laratmase, 2015).

### **2.6 Pelarut**

Pemilihan metode dan pelarut yang akan digunakan harus dengan tepat, agar mendapatkan hasil yang maksimal (Agustina, 2017). Pemilihan pelarut didasarkan pada jenis senyawa yang akan diambil dari tanaman dan polaritas pelarut serta mudah dipisahkan dan dimurnikan kembali. Polaritas dan titik didih pelarut merupakan faktor yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi. Senyawa polar akan larut pada pelarut yang polar begitu juga dengan senyawa non polar akan larut pada pelarut yang juga bersifat non polar (Damanik *et al.*, 2014).

#### **2.6.1 Air**

Air merupakan pelarut yang bersifat universal karena tidak beracun, tidak mudah terbakar, ramah lingkungan, melimpah serta murah (Sánchez-Gutiérrez *et al.*, 2021). Pemilihan pelarut air berdasarkan pada sifat air yang tidak beracun sehingga lebih aman (Agustina, 2017). Air sangat baik untuk menarik senyawa polar, namun dengan perkembangan metode ekstraksi pelarut organik lain memiliki



daya serap dan juga hasil antimikroba yang lebih konsisten dibandingkan dengan pelarut air (Sánchez-Gutiérrez *et al.*, 2021).

### 2.6.2 Aseton

Aseton merupakan pelarut *dipolar-aprotic*. Aseton memiliki proses dipol yang besar dan sebagai pendonor, aseton tidak memiliki proton asam. Pelarut aseton menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan etanol. Aseton juga lebih banyak melarutkan senyawa karotenoid dibandingkan dengan etanol dan methanol. Keuntungan dari pelarut aseton ini yaitu dapat bercampur dengan air, mudah menguap, dan memiliki toksisitas yang rendah. Aseton memiliki kandungan fitokimia seperti flavonoid dan karotenoid yang berpotensi besar sebagai antioksidan (Suryanto *et al.*, 2018).

### 2.6.3 DMSO

DMSO ialah salah satu pelarut organik paling kuat sehingga dapat melarutkan berbagai bahan organik dan polimer secara efektif (Fathanah *et al.*, 2021). DMSO larut dalam air dan berbagai cairan organik lainnya, seperti alkohol, ester, keton, pelarut terklorinasi, dan hidrokarbon aromatik (Pujiyanto *et al.*, 2019). Pada penelitian ini DMSO yang digunakan ialah DMSO 2,5%. DMSO 2,5% dipilih karena dapat digunakan sebagai pengencer larutan serta dapat melarutkan ekstrak daun randu dengan sempurna dan tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri, dengan demikian aktivitas inhibisi dapat dipastikan berasal dari ekstrak tumbuhan yang digunakan, bukan dari pengencer yang dipakai (Fransisca *et al.*, 2020).

### 2.6.4 Etanol

Etanol biasa dikenal dengan rumus kimia  $C_2H_6O$  merupakan pelarut organik yang sering digunakan untuk proses ekstraksi dan sudah sangat melimpah laporan atau artikel penelitian dari penggunaan etanol. Beberapa alasan penggunaan etanol yang sangat banyak antara lain karena etanol relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya murah, dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi, serta aman untuk ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan dan makanan. Alasan lainnya adalah karena etanol merupakan pelarut yang mudah didapatkan, efisien, aman untuk lingkungan, dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi. Penggunaan pelarut etanol dapat menjadi optimal jika faktor

konsentrasi, suhu, waktu dan pemilihan metode ekstraksi sesuai. (Hakim & Saputri, 2020).

Konsentrasi etanol mempengaruhi dalam jumlah rendemen ekstrak yang akan didapatkan. Konsentrasi dari etanol sangat menentukan kekuatan hidrofobik pada proses pelarutan serta kekuatan ikatan-ikatan hidrogen atau gaya *van der waals* dari komponen target dalam proses pelarutan dan penyarian dari komponen target. Semakin serupa polaritas pelarut dengan zat terlarut, semakin cepat pula pelarutan zat terlarut dari sel tumbuhan. Jika konsentrasi etanol lebih dari 70%, tingkat ekstraksi komponen target akan sedikit menurun, dikarenakan denaturasi protein meningkatkan resistensi difusi pada konsentrasi etanol yang lebih tinggi. Maka dengan konsentrasi etanol 70% tingkat perolehan rendemen akan lebih banyak disbanding dengan etanol dengan kadar lebih dari 70% (Hakim & Saputri, 2020). Etanol yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dari etanol 96% dan lebih non polar dari etanol 50% (Bagus *et al.*, 2022). Etanol 70% dipilih karena sifat dari etanol 70% adalah pelarut yang bersifat semi polar dapat menarik senyawa-senyawa baik polar maupun non polar seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Liling *et al.*, 2020). Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Ismiyati *et al.*, 2021).

#### **2.6.5 Etil Asetat**

Etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan. Etil asetat ialah pelarut berkarakteristik semipolar oleh karena itu secara selektif mampu menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid (Dangeubun *et al.*, 2022).

#### **2.6.6 Kloroform**

Kloroform atau biasa dikenal dengan triklorometana ( $\text{CHCl}_3$ ) memiliki sifat tidak larut dalam air tetapi merupakan pelarut yang efektif untuk senyawa organik. Kloroform juga mudah larut dalam alkohol dan eter. Sifat inilah yang menjadi alasan digunakannya kloroform sebagai pelarut untuk ekstraksi cair-cair dikarenakan etanol dan metanol merupakan senyawa alkohol. Pada suhu ruang kloroform memiliki wujud cairan bening, mudah menguap, serta memiliki bau yang khas. Kloroform merupakan pelarut yang bersifat semipolar dan biasa digunakan untuk menyari senyawa seperti tanin dan terpenoid (Yanti *et al.*, 2019).

### 2.6.7 Metanol

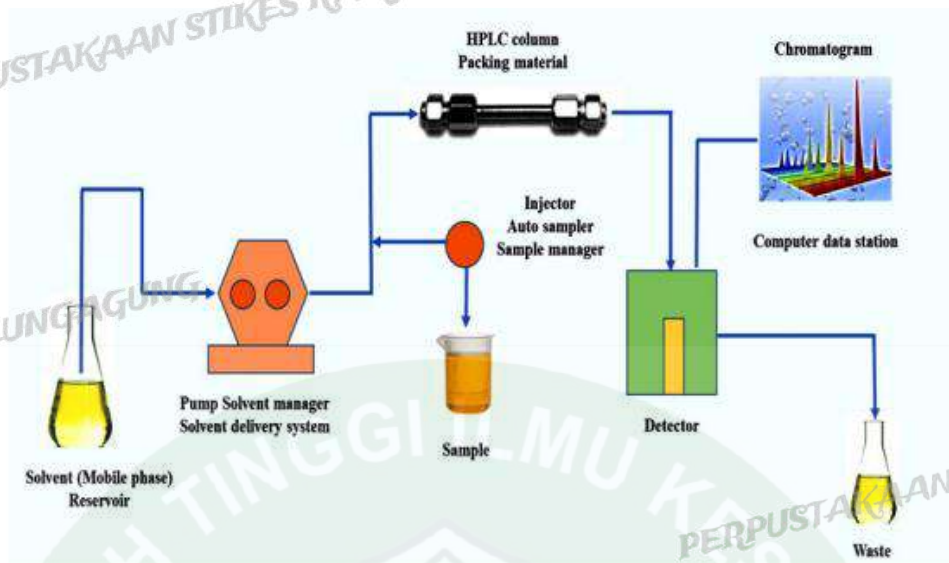
Metanol merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan etanol dan isopropil alkohol (Damanik *et al.*, 2014). Kepolaran dari pelarut metanol lebih rendah daripada pelarut air. Kepolaran yang lebih rendah dari pelarut air bermanfaat untuk melarutkan semua zat, baik bersifat polar maupun semipolar. (Agustina, 2017).

### 2.7 HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

HPLC atau dikenal dengan *High Performance Liquid Chromatography* atau terkadang juga disebut *Highpressure liquid chromatography* adalah metode analisis yang biasa digunakan untuk memisahkan senyawa secara kualitatif, kuantitatif, pemisahan/isolasi dan pemurnian (Revelliani *et al.*, 2022). Penggunaan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dipilih karena mempunyai kepekaan yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode KLT untuk menganalisis suatu senyawa dengan konsentrasi yang sangat kecil, jumlah sampel yang digunakan relatif sedikit, dan memiliki tingkat selektifitas yang tinggi. HPLC memiliki keuntungan antara lain metode yang sensitif, spesifik, dan akurasi yang lebih baik (Revelliani *et al.*, 2022).

HPLC merupakan jenis dari kromatografi kolom dimana kromatografi kolom merupakan teknik pemisahan suatu campuran zat memakai fase gerak dan fase diam. Pemisahan terjadi karena terdapat perbedaan kelarutan, daya adsorpsi, partisi, ukuran dari molekul, ukuran ion dan tekanan uap pada komponen dari fase tersebut. Terdapat dua jenis kromatografi partisi pada HPLC yaitu kromatografi fase terbalik dan fase normal (Khairun *et al.*, 2021). HPLC memiliki prinsip kerja dimana suatu molekul analit akan melewati celah berpori fase diam sehingga akan terjadi pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya. Pada HPLC digunakan tekanan tinggi untuk mengirim fase gerak ke dalam kolom sehingga laju dan efisiensi pemisahannya akan semakin efektif (Hudaya *et al.*, 2022).





**Gambar 2.3** Ilustrasi Instrumen HPLC (Bhati *et al.*, 2022)

## 2.7.1 Komponen HPLC

### 2.7.1.1 Pompa (Pomp)

Pompa yang cocok digunakan untuk HPLC adalah pompa yang mempunyai syarat sebagaimana syarat wadah pelarut, yakni : pompa harus inert terhadap fase gerak. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, Teflon, dan batu nilam. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3 ml/menit. Untuk tujuan preparative, pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 20 ml/menit.

Tujuan penggunaan pompa atau system penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan, dan bebas dari gangguan. ada 2 jenis pompa dalam HPLC yaitu : pompa dengan kecepatan konstan, dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan. Tipe pompa dengan aliran fase gerak yang konstan sejauh ini lebih umum digunakan dibandingkan dengan tipe pompa dengan tekanan konstan.

### 2.7.1.2 Injektor (Injector)

Terdapat tiga tipe dasar injektor yang dapat digunakan dalam metode HPLC yaitu :

1. Stop-Flow: Aliran pelarut dihentikan sementara, sambungan pada ujung kolom dibuka dan cuplikan disuntikkan langsung ke dalam ujung kolom. Setelah menyambungkan kembali kolom maka pelarut dialirkan kembali.
2. Septum: Septum yang digunakan pada HPLC sama dengan yang digunakan pada Kromatografi Gas. Injektor ini dapat digunakan pada kinerja sampai 60 - 70 atmosfer. Tetapi septum ini tidak tahan dengan semua pelarut-pelarut Kromatografi Cair. Partikel kecil dari septum yang terkoyak (akibat jarum injektor) dapat menyebabkan penyumbatan.
3. Loop Valve: Tipe injektor ini umumnya digunakan untuk menginjeksi volume lebih besar dari 10  $\mu$  dan dilakukan dengan cara otomatis (dengan menggunakan adaptor yang sesuai, volume yang lebih kecil dapat diinjeksikan secara manual). Tipe injector ini paling banyak digunakan. Untuk memasukkan cuplikan kedalam aliran fasa gerak perlu diperhatikan sebagai berikut : sejumlah volume cuplikan disuntikkan ke dalam loop dalam posisi 'Load' cuplikan masih dalam berada dalam loop, kran di putar untuk mengubah posisi 'Load' menjadi posisi 'Injeksi' dan fasa gerak membawa cuplikan ke dalam kolom. Loop dapat di ganti ganti-ganti dan tersedia berbagai ukuran volume dari 5  $\mu$ L hingga 500  $\mu$ L dan Loop tersedia mikro dengan volume 0,5  $\mu$ L hingga 5  $\mu$ L . Dengan system pemasukan cuplikan ini memungkinkan memasukkan cuplikan pada tekanan 7000 psi dengan ketelitian tinggi (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).

### 2.7.1.3 Kolom (Column)

Kolom HPLC biasanya terbuat dari stainless steel dan ada yang terbuat dari gelas berdinding tebal. Kolom utama berisi fasa diam, tempat terjadinya pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya. Selain kolom utama dikenal pula dengan kolom pengaman (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012). Kolom utama dimensi berbeda dengan kolom kromatografi gas, kolom utama untuk HPLC biasanya berukuran panjang berkisar antara 5 cm sampai 30 cm dan diameter dalam berkisar

antara 4 mm sampai 10 mm. dalam HPLC kolom utama diletakkan setelah system pemasukan cuplikan.

Kolom pengaman Kolom pengaman disebut juga pra-kolom karena diletakkan sebelum system pemasukan cuplikan. Kolom ini berukuran pendek 5 cm dengan diameter 4,6 mm dan biasanya dipacking dengan partikel silika berukuran lebih besar dari ukuran partikel kolom utama. Kolom pengaman mempunyai dua fungsi yaitu untuk menyaring kotoran yang terbawa dalam fasa diam dan untuk menjenuhkan fasa diam dalam rangka menghindarkan terjadinya erosi fasa diam oleh aliran pelarut. Dengan demikian, kerusakan kolom utama yang mahal dapat dihindarkan (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).

#### **2.7.1.4 Detektor (Detector)**

Detector pada HPLC dikelompokkan menjadi 2 golongan yaitu : detector universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak bersifat selektif) seperti detector indeks bias dan detector spektrofotometri massa, dan golongan detector yang spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detector UV-Vis, detector fluoresensi, dan elektrokimia (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).

Detektor memiliki beberapa persyaratan (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012) :

1. Cukup sensitif.
2. Stabilitas dan keterulangan tinggi.
3. Respon linear terhadap solute.
4. Waktu respon pendek sehingga tidak bergantung kecepatan alir.
5. Mudah digunakan dan tidak merusak cuplikan.

#### **2.7.1.5 Elusi Gradien**

Elusi Gradien didefinisikan sebagai penambahan kekuatan fasa gerak selama analisis kromatografi berlangsung. Efek dari Elusi Gradien adalah mempersingkat waktu retensi dari senyawa-senyawa yang tertahan kuat pada kolom (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).

Elusi Gradien memiliki beberapa keuntungan yaitu :

1. Total waktu analisis dapat direduksi
2. Resolusi persatuan waktu setiap senyawa dalam campuran bertambah
3. Ketajaman Peak bertambah (menghilangkan tailing)



4. Efek sensitivitas bertambah karena sedikit variasi pada peak

#### 2.7.1.6 Fase Gerak

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel. Untuk KCKT fase normal (fase diam KCKT lebih polar daripada fase gerak), kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut. Sementara untuk KCKT fase terbalik (fase diam kurang polar dibanding fase gerak), kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).

Pemilihan fase gerak di dasarkan pada kriteria berikut :

1. Viskositas : pelarut dengan viskositas rendah menghasilkan tekanan yang lebih rendah dibandingkan pelarut dengan viskositas tinggi pada suatu kecepatan alir tertentu. Viskositas rendah juga memungkinkan kromatografi yang lebih cepat karena perpindahan massa berlangsung lebih cepat.
2. Transparansi terhadap UV : jika detector UV yang digunakan maka fase gerak harus transparan secara sempurna pada panjang gelombang yang digunakan. Sebagai contoh etil asetat tidak sesuai untuk deteksi di 254 nm krena etil asetat tidak sepenuhnya transparan sampai panjang gelombang 275 nm (kurang dari 10% absorpsi). Transparansi garam-garam buffer, reagen-reagen pasangan ion, dan bahan-bahan tambahan lain juga harus dipertimbangkan.
3. Indeks bias : hal ini hanya penting jika detector indeks bias yang digunakan. Perbedaan indeks bias antara pelarut dengan sampel harus besar jika kita bekerja dengan batas-batas deteksi tertentu.
4. Titik didih : titik didih fase gerak yang rendah diperlukan jika eluat akan dilakukan pemrosesan lebih lanjut supaya memudahkan dalam penguapannya. Di dsatu sisi, pelarut pelrut dengan tekanan uap yang tinggi (yang berarti titik didinya tinggi pada suhu kamar cenderung menghasilkan gelembunggelembung uap dan dalam detector.

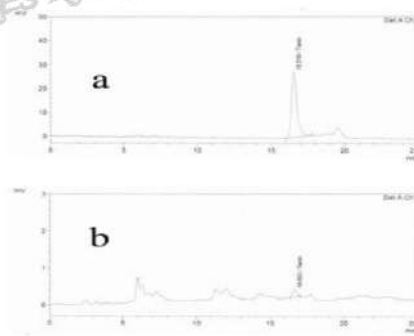
5. Kemurniaan : kriteria ini mempunyai makna yang berbeda tergantung pada penggunaan yang diinginkan, yakni tidak adanya senyawa yang mengganggu pada bentuk deteksi yang digunakan tidak adanya senyawa yang mengganggu elusi gradien, dan tidak adanya residu non-volatil dalam kasus pemisahan preparative.
6. Lambam (inert) terkait dengan senyawa-senyawa sampel : fase gerak harus tidak bereaksi sama sekali dengan campuran sampel. Jika sampel yang dianalisis sangat peka terhadap oksidasi, maka fase gerak dapat ditambah dengan senyawa-senyawa antioksidan seperti BHT dengan konsentrasi 0,05%. BHT dapat dihilangkan secara cepat dari eluen dengan penguapan, akan tetapi BHT menyerap di daerah UV di bawah 285 nm.
7. Toksisitas : seorang analisis harus menghindari penggunaan produk yang toksik semaksimal mungkin. Pelarut-pelarut terklorinasi dapat melepaskan gas fosgen yang sangat toksik. Toluene harus menggantikan benzene yang bersifat karsinogenik.
8. Harga (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).

#### 2.7.1.7 Fase Diam

Kebanyakan fase diam pada KCKT berupa silika yang dimodifikasi secara kimiawi, silika yang tidak dimodifikasi, atau polimer-polimer stiren dan divinil benzene. Permukaan silika adalah polar dan sedikit asam karena adanya residu gugus silanol (Si-OH). Silika dapat dimodifikasi secara kimiawi menggunakan reagen-reagen seperti klorosilan. Oktadesil silika (ODS atau C18) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang maupun tinggi (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).

#### 2.7.2 Analisis Kualitatif Dengan HPLC

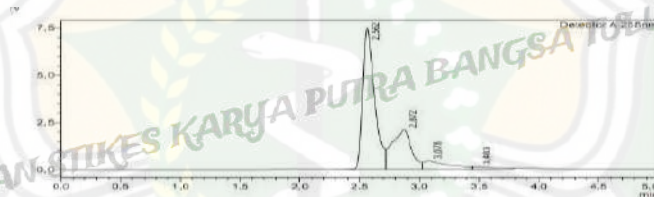
Analisa kualitatif pada HPLC dilakukan dengan cara melihat perbandingan kromatogram senyawa standar dengan ekstrak dan dilihat pada waktu retensi yang sama. (Utami *et al.*, 2017). Pada analisa kualitatif pada HPLC dilakukan dengan cara mencari kesamaan komponen sampel dengan standar (Kusuma & Rosalina, 2016).



**Gambar 2.4** Ilustrasi Analisis kualitatif dengan HPLC a. kromatogram standar  
b. kromatogram sampel (Wahid, 2020)

### 2.7.3 Analisis Kuantitatif Dengan HPLC

Analisis kuantitatif HPLC digunakan untuk menentukan kadar suatu senyawa. Hasil analisis dari HPLC akan diinterpretasikan dalam bentuk kromatogram, dimana terdapat peak dengan nilai AUC (*Area under curve*) yang telah tertera pada kromatogram (Wahid, 2020).



**Gambar 2.5** Ilustrasi hasil peak kromatogram (Wahid, 2020)

Berikut merupakan tahapan dari analisis kuantitatif menggunakan HPLC (Wahid, 2020) :

1. Preparasi sampel

Preparasi sampel meliputi pembuatan fase gerak dan penyiapan sampel.

2. Pembuatan larutan baku dan larutan seri konsentrasi

3. Penentuan panjang gelombang

Dilakukan dengan cara *scanning* panjang gelombang ( $\lambda$ ) larutan baku menggunakan spektrofotometer UV kemudian hasil akan digunakan untuk Analisa HPLC.

4. Pengamatan waktu retensi

Waktu retensi merupakan waktu yang dibutuhkan senyawa analit dari fase diam menuju detektor. Pengamatan waktu retensi dilakukan



dengan cara larutan baku diinjeksi pada HPLC dengan kecepatan alir fase gerak yang telah ditentukan. Hasil dari waktu retensi dapat dilihat dalam kromatogram

**Tabel 2.2** Ilustrasi hasil waktu retensi (Wahid, 2020)

Nama Sampel	Waktu retensi (menit)				
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata	± SD
M1	2,561	2,573	2,561	2,565	±0,033
M2	2,584	2,584	2,584	2,584	
M3	2,579	2,579	2,579	2,579	
M4	2,645	2,645	2,645	2,645	
M5	2,662	2,662	2,662	2,662	
M6	2,648	2,646	2,646	2,647	
M7	2,646	2,646	2,646	2,646	
M8	2,652	2,639	2,652	2,648	
M9	2,654	2,654	2,654	2,654	
M10	2,644	2,648	2,644	2,645	
M11	2,641	2,650	2,650	2,647	
M12	2,636	2,636	2,636	2,636	

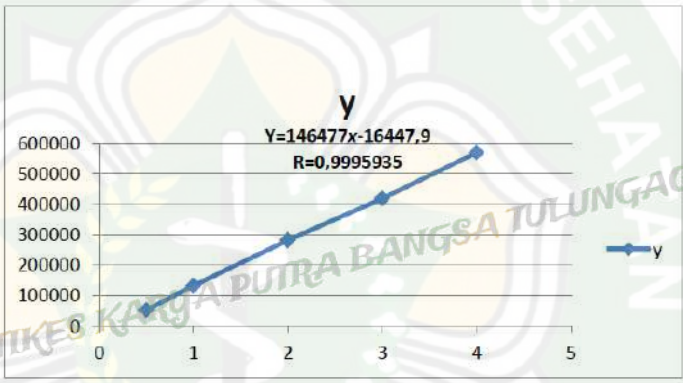
#### 5. Pembuatan kurva baku

Dilakukan dengan menginjeksikan larutan seri konsentrasi pada HPLC dan digunakan nilai AUC untuk mendapatkan persamaan regresi linier.

**Tabel 2.3** Ilustrasi nilai AUC (Wahid, 2020)

Nama Sampel	AUC			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata
M1	83965	75555	83781	81100,3333
M2	172863	172815	172743	172807
M3	158409	158340	158285	158344,667
M4	136162	158340	133623	135190,333
M5	508813	135786	507492	508197,667
M6	470309	508287	471086	470724,667
M7	321232	470779	323101	321787
M8	219194	321028	219627	216517,333
M9	362727	210731	368337	364897,667
M10	284668	363629	284487	284547,333
M11	214801	217324	217050	216391,667
M12	301088	303660	301416	302054,667

Hasil dari nilai AUC seri konsentrasi menentukan linieritas. Linieritas ditentukan dengan membuat sebuah kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi standar dan luas area puncak. Penilaian linieritas suatu metode analisis didasarkan pada nilai koefisien korelasi (r) dimana nilai (r) pada persyaratan harus lebih dari 0,990. Linieritas akan semakin baik jika nilai koefisien variasinya semakin mendekati satu. Dengan nilai (r) mendekati satu dapat dikatakan bahwa kurva memiliki kelinieran tinggi, sehingga metode yang digunakan telah memenuhi persyaratan linieritas untuk digunakan pada penetapan kadar dalam sampel.



**Gambar 2.6** Ilustrasi kurva kalibrasi (Wahid, 2020)

6. Penetapan kadar

Dilakukan dengan menginjeksikan larutan hasil penyiapan sampel pada HPLC kemudian ditentukan konsentrasi dengan cara nilai AUC dari sampel disubstitusikan dalam persamaan regresi linier dan selanjutnya dapat dihitung kadarnya. Kadar dikatakan baik apabila memiliki variasi data dengan nilai SD (standar deviasi) kecil.

**Tabel 2.4** Ilustrasi kadar senyawa dalam sampel (Wahid, 2020)

Nama Sampel	Waktu retensi (menit)			Rata-rata	±SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
M1	17,150	17,050	17,100	17,100	0,041
M2	32,300	32,300	32,300	32,300	0,000
M3	29,850	29,852	29,852	29,833	0,012
M4	26,050	25,625	25,625	25,883	0,185
M5	89,650	89,550	89,425	89,542	0,092
M6	83,075	83,150	83,200	83,142	0,051
M7	57,625	57,600	57,950	57,725	0,159
M8	40,225	38,775	40,300	39,767	0,702
M9	64,725	64,875	65,675	65,092	0,417
M10	51,400	51,350	51,350	51,367	0,024
M11	39,475	39,900	39,850	39,742	0,190
M12	54,200	54,625	54,250	54,358	0,190

## 2.8 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Bakteri yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang merupakan bakteri Gram negatif aerobik.



**Gambar 2.10** Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Fitri *et al.*, 2019)

### 2.8.1 Klasifikasi

Berdasarkan (Don, 2016), klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 meliputi :

Kingdom : Prokaryota

Divisi : Prothophyt

Subdivisi : Schizomycetae

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Pseudomonadales



Family : Pseudomonadaceae

Genus : Pseudomonas

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

### 2.8.2 Morfologi

Bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 berbentuk batang dengan ukuran 0,5-1,0 x 3,0-4,0 µm. umumnya bakteri ini memiliki flagel polar, dan kadang-kadang memiliki 2-3 flagel. Bila tumbuh pada pembenihan tanpa sakarosa terdapat lapisan lendir polisakarida ekstrasuler, strain yang diisolasi dari bahan klinik sering mempunyai pili untuk perlekatan pada pemakaian sel dan memegang pengaruh penting dalam resistensi terhadap fagositosis. *P. aeruginosa* ATCC 27853 adalah satu-satunya species yang menghasilkan Piosianin yaitu pigmen berwarna hijau kebiruan yang dapat larut dalam air dan kloroform, mempunyai antijasad renik, serta berfluoresensi. *P. aeruginosa* ATCC 27853 dapat terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda, kadangkadang dalam rantai pendek, membentuk koloni bulat dan halus. Beberapa galur menghasilkan pigmen merah gelap piorubin atau pigmen hitam piomelanin. Bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 sangat mudah beradaptasi dan dapat tumbuh dalam lingkungan yang sangat kekurangan sumber energi, bahkan dapat hidup dan tumbuh dalam air suling. Bakteri ini dapat menggunakan asetat sebagai sumber karbon dan ammonia sebagai sumber nitrogen. Suhu pertumbuhan optimum adalah 37°C, tetapi juga tumbuh pada suhu 42°C. *P. aeruginosa* ATCC 27853 merupakan satu-satunya bakteri yang menghasilkan pigmen piosianin, yang berwarna biru kehijauan dan dapat larut dalam kloroform, dan pigmen fluoresen, pioverdin, yang larut dalam air (Kirana, 2021).

### 2.9 Antibakteri

Antibakteri merupakan obat pemusnah bakteri khususnya bakteri yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan ada yang bersifat membunuh bakteri. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakterimasing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi

bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Meisani *et al.*, 2018).

### **2.9.1 Mekanisme Kerja Antibakteri**

Terdapat empat mekanisme kerja dari antibakteri sesuai dengan penelitian (Brooks, 2013).

#### **2.9.1.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel**

Struktur dinding sel dirusak dengan menghambat pembentukan atau mengubah dinding sel setelah terbentuk (Brooks, 2013).

#### **2.9.1.2 Menghambat Sintesis Protein**

Protein dalam keadaan tiga dimensi terlipat oleh interaksi nonkovalen intramolekuler seperti ikatan ionik, hidrofobik, dan hidrogen atau kovalen hubungan disulfida. Keadaan ini disebut struktur tersier protein; keadaan tersebut mudah terganggu oleh sejumlah aktivitas fisik (misalnya, panas) atau agen kimia (misalnya alkohol), menyebabkan protein tersebut menjadi tidak berfungsi. Gangguan struktur tersier protein disebut denaturasi protein (Brooks, 2013).

#### **2.9.1.3 Menghambat Fungsi DNA**

Agen fisik dan kimia bertindak dengan cara merusak DNA yang meliputi radiasi pengion, sinar ultraviolet, dan bahan kimia reaktif DNA. Zat alkilasi dan senyawa lainnya yang bereaksi secara kovalen dengan pangkal purin dan pirimidin membentuk DNA atau *interstrand cross-link*. Lesi DNA yang diinduksi radiasi dan diinduksi secara kimia membunuh sel terutama dengan mengganggu replikasi DNA (Brooks, 2013).

#### **2.9.1.4 Menghambat Tetrahydrofolic Acid**

Tetrahydrofolic acid (THF) merupakan co-enzyme di dalam sintesis dasar purin dan timidin yang merupakan penyusun DNA dan RNA yang diperlukan untuk pertumbuhan sel dan replikasi. Kurangnya THF menyebabkan penghambatan proliferasi sel. Pembentukan THF dari dihydrofolate (DHF) dikatalisis oleh enzim dihydrofolate reduktase. Antibiotik golongan ini contohnya adalah trimetropim, sulfonamid dan kotrimoksazol (Brooks, 2013).

### **2.10 Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas suatu antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri secara *in vitro*.

## 2.10.1 Metode Difusi

### 2.10.1.1 Metode *Disk Diffusion*

Prinsip metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur) ialah mengukur zona hambat dari pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat antibakteri di dalam media padat melalui pencadangan. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri adalah daerah jernih disekitar cakram. Luas daerah hambatan berbanding lurus dengan aktivitas antibakterinya maka semakin luas daerah hambatnya. Langkah kerjanya dimulai dengan sebuah cawan petri yang berisi media agar yang telah dimasukkan bakteri yang sudah sesuai standar di atas permukaannya, kemudian kertas cakram yang telah direndam di dalam senyawa antibakteri yang telah diketahui konsentrasinya diletakkan di atas permukaan agar yang sudah memadat, kemudian dilakukan inkubasi, senyawa antibakteri akan berdifusi dari kertas cakram ke media agar. Apabila senyawa antibakteri efektif maka zona hambat akan terbentuk disekitar cakram setelah inkubasi, diameter dari zona hambat tersebut kemudian diukur (Gen *et al.*, 2017).

### 2.10.1.2 Metode *E-Test*

Metode *E-test* sebagai pengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antibakteri dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Gen *et al.*, 2017).

### 2.10.1.3 Metode *Ditch-Plate Technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri tersebut (Gen *et al.*, 2017).



#### 2.10.1.4 Metode *Cup-Plate Technique*

Metode ini serupa dengan *disk diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganismenya dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji (Gen *et al.*, 2017)

**Tabel 2.5** Kategori Daya Hambat Bakteri (Bagus *et al.*, 2022)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
$\leq 5$ mm	Lemah
6- 10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
$\geq 21$ mm	Sangat Kuat

#### 2.10.2 Metode Dilusi

##### 2.10.2.1 Metode Dilusi Cair / *Broth Dilution Test (Serial Diution)*

Prinsip metode dilusi cair (pengenceran) ialah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9 % pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Arinda *et al.*, 2019).

### 2.10.2.2 Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Arinda *et al.*, 2019)

### 2.11 Ciprofloxacin

Antibakteri yang digunakan sebagai pembanding adalah ciprofloxacin yang berperan sebagai kontrol positif. Ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif karena dapat memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Faradina *et al.*, 2019). Selain itu ciprofloxacin dipilih karena merupakan frist line terapi terhadap pneumonia nosokomial (Wells, 2017). Ciprofloxacin adalah antibakteri statik berspektrum luas yang termasuk dalam golongan *quinolone* generasi kedua yang efektif untuk pengobatan infeksi bakteri yang disebabkan oleh bakteri gram negatif (Mpila *et al.*, 2012). Mekanisme kerja ciprofloxacin ialah dengan cara menghambat pembentukan enzim DNA gyrase dan topoisomerase IV yang memiliki peran penting dalam replikasi DNA bakteri (Dima, 2016). Mekanisme ciprofloxacin memiliki kesamaan dengan salah satu kandungan senyawa dalam daun randu yaitu tannin dan flavonoid yang bekerja dengan menghambat DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Noventi & Carolina, 2016). Ciprofloxacin yang digunakan dalam penelitian ini ialah Ciprofloxacin konsentrasi 5µg/ml atau 0,0005% karena konsentrasi tersebut sudah mampu untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Dhuha, 2016).

Karakteristik ciprofloxacin menurut Farmakope Edisi Ke III ialah :

Nama obat	: Ciprofloxacin
RM	: C17H18FN3O3
BM	: 331,436
Pemerian	: Serbuk hablur; berwarna putih atau kekuningan pucat; sedikit higroskopik.
Kelarutan	: Tidak larut dalam air, sangat mudah larut dalam alkohol terdehidrasi dan diklorometana.
Penyimpanan	: Wadah tertutup baik, terhindar dari cahaya.

Kegunaan : Antibakteri pembanding.

## 2.12 Hipotesis

Hipotesis adalah suatu dugaan sementara yang kebenarannya perlu dibuktikan dalam suatu penelitian. Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap rumusan masalah penelitian, dimana rumusan masalah penelitian telah dinyatakan didalam bentuk kalimat pertanyaan (Kartika *et al.*, 2019).

Hipotesis dari penelitian ini :

- 2.12.1 Senyawa *quercetin* merupakan senyawa yang berperan menghambat bakteri pada pada daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) yang berdasarkan analisis dengan HPLC memiliki kadar 2,075%.
- 2.12.2 Konsentrasi optimum ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) yang memberi efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 berdasarkan analisis statistik adalah 15%.
- 2.12.3 Aktivitas antibakteri ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) belum dapat menjadi alternatif pengobatan pneumonia nosokomial.



## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah daun randu (*Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn.) dan pelarut Etanol 70% (ONEMED) untuk pembuatan ekstrak. HCl (EMSURE®), Magnesium (Mg), NaOH (EMSURE®), FeCl<sub>3</sub> 10% (EMSURE®), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (EMSURE®), Aseton (EMSURE®), Pereaksi meyer untuk skrining fitokimia. *Nutrient agar* (MERCK), *Nutrient broth* (MERCK), *Aquadestilata* (ONEMED), Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Ciprofloxacin konsentrasi 0,0005% (kontrol positif), DMSO 2,5% (kontrol negatif) (MERCK) untuk pengujian antibakteri. Metanol (EMSURE®), Asetonitrile (MERCK), Asam asetat 1% (MERCK) untuk penentuan kadar dengan HPLC.

#### 3.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah Timbangan analitik (GOTO), Seperangkat alat gelas (PYREX®), *Magnetic stirrer with heater 79-1*, *Autoclave* (Gea model YX280B), LAF (ESCO), Inkubator (Model DNP Electro Thermal Incubator), Ose, Blender (Philips), Mesh ukuran 80, Botol maserasi, Kertas cakram, Pinset, *Rotary Evaporator* (Heidolph Laborata), Lemari pendingin, Bunsen, Jangka sorong, Kapas, HPLC (Shimadzu).

#### 3.3 Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun randu yang diperoleh dari pekarangan milik bapak sukimin yang berada di dusun Krenggan Rt.02/Rw.04, desa Ngebond, kecamatan Pakel, kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

#### 3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun randu sebanyak 2 kg yang diperoleh dari pekarangan milik bapak sukimin yang berada di dusun Krenggan Rt.02/Rw.04, desa Ngebond, kecamatan Pakel, kabupaten Tulungagung, Jawa Timur. Metode pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode *purposive sampling*, yakni pengambilan sampel penelitian berdasarkan ciri-ciri maupun pertimbangan tertentu.

Sampel yang digunakan dalam penelitian harus memiliki kriteria sebagai berikut:

- a. Merupakan tanaman randu dengan spesies *Ceiba Pentandra* (L.) Gaetrn.
- b. Daun hijau segar dan tidak berlubang.
- c. Pengambilan sampel pada waktu reaksi fotosintesis daun sedang pada waktu maksimal yaitu pada pukul 09.00-12.00.
- d. Tanaman randu sudah memiliki kuncup bunga atau dalam keadaan menjelang berbunga.

### **3.5 Variabel Penelitian**

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

#### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas merupakan suatu variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi penyebab perubahan terhadap variabel terikat (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi 15%, 30%, dan 60% ekstrak etanol 70% daun randu yang dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853.

#### **3.5.2 Variabel Kontrol**

Variabel control merupakan variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2013). Variabel kontrol dalam penelitian ini ialah bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 serta metode maserasi.

#### **3.5.3 Variabel Terikat**

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat ekstrak etanol 70% daun randu terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853.

### 3.6 Metode Penelitian

#### 3.6.1 Determinasi Tanaman

Sampel tanaman daun randu diidentifikasi Di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Tujuan dari dilakukannya determinasi tanaman ialah untuk mengetahui kebenaran dari jenis tanaman yang digunakan. Selain itu determinasi juga dilakukan untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan baku utama yang akan digunakan pada uji aktivitas antibakteri. Determinasi tanaman memiliki fungsi sebagai perbandingan tanaman yang satu dengan tanaman lain yang telah dikenal sebelumnya untuk menghindari kesalahan ketika pengumpulan bahan baku (Anisa Dwi Nuraeni *et al.*, 2021).

#### 3.6.2 Pembuatan Simplisia Daun Randu (*Ceiba Pentandra* (L.) Gaertn.)

Pengumpulan daun randu diambil pada bagian daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda dengan cara dipetik, kemudian disortasi basah daun yang telah dipetik dan dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya (DepKes RI, 1985). Pencucian dilakukan dengan air bersih yang mengalir dan berasal dari sumur untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan tiga kali, satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba, bila pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal. Pengeringan simplisia dilakukan dengan cara diangin-anginkan atau tidak terkena cahaya matahari langsung pada suhu kamar untuk mengatasi kerusakan senyawa yang tidak tahan panas. Simplisia kering dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya. Simplisia disimpan dalam wadah, kemudian dihaluskan menjadi serbuk (Lady Yunita Handoyo & Pranoto, 2020).

#### 3.6.3 Standarisasi Simplisia

Standarisasi simplisia dilakukan untuk melihat kualitas mutu simplisia agar memenuhi syarat mutu simplisia yang tertera dalam monografi simplisia (Azizah & Salamah, 2013). Standarisasi simplisia yang akan dilakukan meliputi uji susut pengeringan dan uji kadar air.

##### 3.6.3.1 Uji Susut Pengeringan

Uji susut pengeringan dilakukan dengan metode gravimetri dengan cara menimbang sampel basah kemudian sampel dikeringkan, setelah kering sampel



ditimbang kembali untuk mengetahui beratnya. Hasil yang diperoleh antara penimbangan pertama dan penimbangan kedua tidak lebih dari 10%. Tujuan dilakukan uji susut pengeringan yaitu untuk mengetahui batas maksimal atau rentang banyaknya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan berlangsung (S. Handayani *et al.*, 2017).

Perhitungan susut pengeringan :

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{(\text{berat awal daun (g)} - \text{berat akhir daun (g)})}{\text{berat awal daun (g)}} \times 100\%$$

(Persamaan 3.1 Depkes RI, 2000)

### 3.6.3.2 Uji Kadar Air Serbuk

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan metode gravimetri yaitu dengan menimbang sampel sebanyak 1g kemudian masukkan kedalam krus porselen. Dikeringkan selama 5 jam dengan suhu 105°C selanjutnya ditimbang kembali. Proses pengeringan dilanjutkan dan ditimbang kembali pada jarak 1 jam sampai didapatkan perbedaan antara 2 penimbangan berturut tidak lebih dari 0,25% (Wijanarko, 2020). Tujuan dari uji kadar air simplisia yaitu untuk mengetahui batasan maksimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan, penghilangan kadar air hingga jumlah tertentu berguna untuk memperpanjang ketahanan bahan selama penyimpanan (Wijanarko, 2020). Menurut Farmakope Herbal Indonesia kadar air yang baik ialah tidak lebih dari 10%.

Perhitungan kadar air :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{berat krus+sampel akhir (g)} - (\text{berat krus (g)}))}{\text{berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

(Persamaan 3.2 Depkes RI, 2000)

### 3.6.4 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun randu pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Metode maserasi dipilih karena metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga senyawa kimia yang bersifat termolabil yang akan diambil tidak terurai atau rusak salah satunya ialah flavonoid yang tidak tahan pada suhu lebih dari 60°C (Muiz *et al.*, 2021). Menurut Farmakope Herbal Indonesia tahapan maserasi ialah dengan memasukkan 10 bagian simplisia kedalam bejana kemudian dimasukkan 75 bagian cairan penyari yang kemudian ditutup

rapat dan dibiarkan selama 5 hari, maserasi tersebut harus sering kali dilakukan pengadukan, serta dilakukan remaserasi dengan cairan penyari baru secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Maserasi dalam penelitian ini dilakukan dengan menimbang simplisia halus daun randu sebanyak 500 gram selanjutnya direndam dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3750 ml hingga terendam di dalam botol maserasi yang tertutup rapat dan dibiarkan selama 5 hari pada temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari langsung. Sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi setelah 5 hari disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat ditampung dalam penampungan atau botol maserasi. Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak daun randu.

Berdasarkan penelitian Fathurrachman pada tahun 2014, Ekstrak etanol 70% menghasilkan persentase rendemen lebih tinggi dibanding ekstrak etanol 96%. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan polaritas antara pelarut etanol 96% dan 70%. Rendemen ialah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin besar nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan, disebabkan oleh faktor ekstraksi (Wijaya *et al.*, 2018).

### 3.6.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

#### 3.6.5.1 Uji Bebas Etanol

Pengujian bebas etanol dilakukan dengan metode kualitatif yaitu dilakukan dengan cara menambahkan 5 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 2 ml karutan kalium dikromat, dikatakan positif etanol apabila dalam ekstrak terjadi perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan (Ramadhani *et al.*, 2020).

#### 3.6.5.2 Rendemen

Rendemen ekstrak ialah perbandingan ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku. Semakin tinggi nilai hasil dari rendemen berarti nilai ekstrak yang dihasilkan semakin besar (Dewatisari *et al.*, 2018).

Perhitungan rendemen ekstrak :

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan (g)}}{\text{bobot simplisia awal yang digunakan (g)}} \times 100\%$$

(Persamaan 3.4 Depkes RI, 2000)

### 3.6.6 Skrining Fitokimia

#### 3.6.6.1 Uji Alkaloid

Ekstrak kurang lebih 2 ml ditambahkan dengan 2 ml HCl dan pereaksi meyer, diamati perubahan warna yang terjadi. Positif alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna putih. Endapan putih yang dihasilkan setelah ekstrak ditambahkan pereaksi Meyer ialah kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas dan akan beraksi dengan ion logam  $K^+$  dari pereaksi Meyer (Ramadhani *et al.*, 2020).

#### 3.6.6.2 Uji Flavonoid

Ekstrak kurang lebih 2 ml dicampur dengan 3 ml etanol 70%, selanjutnya dikocok, dipanaskan dan dikocok Kembali, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, ditambahkan dengan Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Positif flavonoid ditandai dengan warna merah. Adanya perubahan warna dikarenakan etanol dapat melarutkan senyawa senyawa flavonoid (Ramadhani *et al.*, 2020).

#### 3.6.6.3 Uji Saponin

Ekstrak kurang lebih 2 ml ditambahkan dengan 5 ml aquadest, dikocok hingga menghasilkan busa stabil, selanjutnya ditambahkan 1 tetes HCl 2N. positif saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil. Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama (Ramadhani *et al.*, 2020).

#### 3.6.6.4 Uji Tanin

Ekstrak kurang lebih 2 ml ditambahkan dengan  $FeCl_3$  1% kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Positif tanin ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman. Terbentuknya warna biru kehitaman dikarenakan tannin bereaksi dengan  $Fe^{3+}$  membentuk senyawa kompleks (Riwanti, 2019).



### 3.6.7 Penetapan Kadar Senyawa *Quarceetin* dalam Ekstrak Daun Randu dengan HPLC

Tahapan penetapan kadar pada penelitian ini meliputi :

#### 3.6.7.1 Penentuan Kondisi Analisis

1. Tipe HPLC : HPLC Pressure Gradien LC-2030C 3D (Shimadzu).
2. Kolom : Shimadzu Shimpack GIST C18.
3. Detektor : Spektrofotometer UV-Vis.
4. Panjang gelombang : 370.30 nm (Husnia, 2021).
5. Standar : *Quarceetin*.
6. Fase gerak : Metanol 90% dan air (59 : 41).
7. Konsentrasi sampel dan standar : 100 ppm.
8. Sampel dan standar yang diinjeksikan : 1  $\mu$ l
9. Laju alir : 0,5 ml/menit

#### 3.6.7.2 Penetapan Kadar

Penetapan kadar senyawa dilakukan dengan menginjeksikan sampel yang telah di preparasi ke dalam kolom dan dicatat waktu retensi puncak-puncak yang dihasilkan sampel. Jika puncak-puncak tersebut mempunyai waktu retensi yang kurang lebih sama dengan waktu retensi puncak larutan standar, maka dapat disimpulkan bahwa pada sampel secara kualitatif positif mengandung *quarceetin*. Kemudian dilakukan pencatatan area *quarceetin* ekstrak daun randu, area *quarceetin* standar dan konsentrasi standar yang digunakan selanjutnya dapat dihitung kadar *quarceetin* dari ekstrak daun randu (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).

$$\text{Rumus penentuan kadar (\%)} = \frac{\text{area analit}}{\text{area standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

(Persamaan 3.5)

### 3.6.8 Pengujian Aktivitas Antibakteri

#### 3.6.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi ialah proses menghilangkan, mematikan dan mentiadakan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, *mycoplasma* atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dengan wadah yang sesuai seperti erlenmeyer

dengan mulut erlenmeyer yang ditutup oleh kapas dan dibungkus aluminium foil (T. S. Pratiwi, 2008).

### **3.6.8.2 Pembuatan Media**

#### **1. Penmbuatan Media NB (*Nutrient Broth*)**

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 ml *aqua destilata*, kemudian dipanaskan hingga larut sempurna dan mendidih dengan menggunakan stirrer, kemudian media disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu media dituangkan dalam tabung reaksi (Maradou *et al.*, 2019).

#### **2. Pembuatan Media NA (*Nutrient Agar*)**

Serbuk NA sebanyak 0,4 gram dilarutkan dalam 20 ml aquades (20 g/1000 ml) menggunakan Erlenmeyer, setelah itu dihomogenkan dengan stirer diatas penangas air sampai mendidih, kemudian didinginkan sampai suhu  $\pm 45 - 50^{\circ}\text{C}$ . Media dasar digunakan dalam pembuatan media pengujian sebagai lapisan dasar (Mulyadi *et al.*, 2017).

### **3.6.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri**

Dua ose biakan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc.Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc.Farland mempunyai populasi  $1 \times 10^7$  CFU/ml -  $1 \times 10^8$  CFU/ml) (V. Handayani, 2015).

### **3.6.8.4 Pembuatan Larutan Uji**

Pembuatan larutan uji ekstrak daun randu ditentukan secara orientasi dari konsentrasi kecil, sedang hingga tinggi (Refriana, 2016). Konsentrasi tersebut meliputi 15%, 30% dan 60%. Konsentrasi dibuat dengan melarutkan ekstrak dengan pelarut DMSO 2,5%. Konsentrasi 15% dibuat dengan mengencerkan 0,75 g ekstrak dengan 5 ml DMSO 2,5%. Konsentrasi 30% dibuat dengan melarutkan 1,5 g ekstrak dalam 5 ml DMSO 2,5% dan pada konsentrasi 60% akan dibuat dengan melarutkan 3 g ekstrak dengan 5 ml DMSO 5%.

### 3.6.8.5 Pembuatan Larutan Kontrol

#### 1. Kontrol Positif

Kontrol positif menggunakan ciprofloxacin dibuat dengan obat ciprofloxacin murni. Ciprofloxacin diambil kemudian dihaluskan timbang serbuk sebanyak 2,5mg. Kemudian serbuk dilarutkan dalam DMSO 2,5% sebanyak 100 ml dan didapatkan larutan stok ciprofloxacin dengan konsentrasi 5 $\mu$ g/ml atau 0,0005% (Dhuha, 2016).

#### 2. Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 2,5%. DMSO diambil 5 ml kemudian ditambahkan dengan *aquadestilata* hingga volume larutan 100 ml. DMSO 2,5% digunakan karena DMSO 2,5% tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri daun randu dan DMSO 2,5% dapat melarutkan senyawa yang ada di dalam daun randu (Angelina *et al.*, 2015).

### 3.6.8.6 Identifikasi Bakteri Uji

Identifikasi bakteri uji dilakukan dengan menggunakan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat koloni bakteri, kemudian koloni bakteri yang sudah dibuat preparat diberi tetesan Gram A (kristal violet) kemudian didiamkan selama satu menit kemudian dibilas dengan air mengalir dan ditiriskan. Dilanjutkan dengan ditetesi Gram B (iodine), diamkan satu menit dan dibilas dengan air mengalir, ditiriskan. Selanjutnya ditetesi Gram C (alkohol- aseton), diamkan 15-30 detik setelah itu dibilas dengan air mengalir dan ditiriskan. Ditetesi Gram D (safranin) diamkan 45 detik kemudian dibilas dengan air mengalir dan ditiriskan. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 $\times$  menggunakan minyak imersi (Antarini *et al.*, 2021).

Hasil pewarnaan Gram dapat dikatakan bakteri tersebut adalah bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 yaitu apabila bakteri tersebut berwarna merah muda berbentuk batang tunggal dan ada juga yang berpasangan. *P. aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri Gram negatif, maka berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar 0,6 x 2  $\mu$ m, ditemukan tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung, serta mempunyai flagel. Namun bakteri ini kadang-kadang memiliki dua atau tiga flagel sehingga selalu bergerak (Bengi *et al.*, 2017).



### 3.6.8.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Randu

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu pada penelitian ini menggunakan metode difusi. Metode difusi memiliki waktu pengerjaan yang sederhana dan tidak memerlukan waktu yang lama berbeda dengan metode dilusi memerlukan pengerjaan yang rumit. Pada penelitian ini digunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram merupakan metode umum yang digunakan untuk mengetahui resistensi dan sensitivitas bakteri terhadap penggunaan obat. Metode difusi cakram dipilih karena metode difusi cakram memiliki kelebihan dibanding dengan difusi sumuran yaitu lebih praktis, tidak memerlukan peralatan khusus dan biayanya relatif murah (Nurhayati *et al.*, 2020).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan Menyiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. ditambahkan ekstrak daun randu dengan konsentrasi 15%, 30% dan 60% pada masing-masing cakram sejumlah 10 mikroliter. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan ekstrak daun randu ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam ciprofloxacin. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam DMSO 2,5%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diukur diameter zona hambat (Mulyadi *et al.*, 2017).

### 3.6.8.8 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mistar berskala dengan satuan millimeter, yaitu dengan cara mengukur total zona bening cakram. Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah disekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik maupun bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji. Zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur diukur diameter vertikal (DV) dan diameter horizontal (DH) dalam satuan milimeter (mm) dengan menggunakan jangka sorong. Untuk mendapatkan hasil yang akurat, tiap daerah hambat dilakukan 3 kali pengukuran dari arah yang berbeda (Lawani *et al.*, 2019).

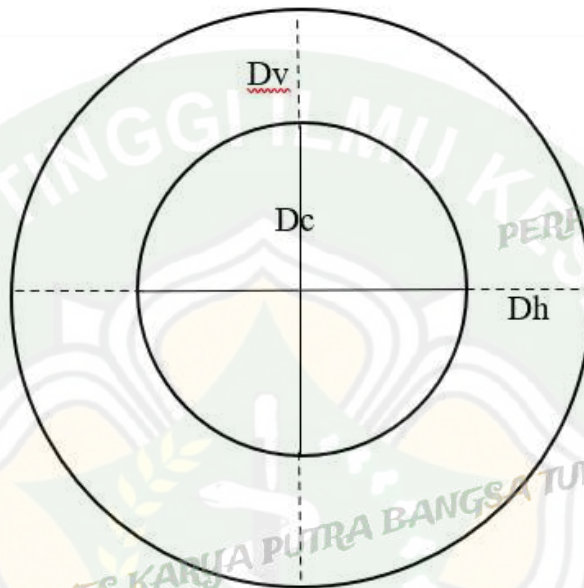
$$\text{Zona hambat} = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2} \quad (\text{Persamaan 3.6 Rimporok et al., 2015})$$

Dimana :

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal

Dc = Diameter cakram



**Gambar 3.1** Pengukuran diameter zona hambat (Rimporok *et al.*, 2015)

### 3.6.9 Analisis Statistika

Data hasil dari penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun randu terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 dianalisis dengan menggunakan program SPSS 27 dengan tujuan untuk melihat kemampuan ekstrak daun randu dalam menghambat bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853. Pengolahan data dilakukan dengan beberapa tahapan meliputi uji normalitas, uji homogenitas dan uji *one way anova* (Hamdani & Nurman, 2020).

#### 3.6.9.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas data merupakan uji yang digunakan untuk mengukur apakah data yang digunakan mempunyai distribusi yang normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik (Hamdani & Nurman, 2020). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

H0: Data berdistribusi normal.

H1: Data berdistribusi tidak normal.

Pengambilan keputusan :

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

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

### 3.6.9.2 Uji Homogenitas

Uji Homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel-sampel yang diambil dari populasi yang sama. Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic* (Hamdani & Nurman, 2020).

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:

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

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

### 3.6.9.3 Uji *One Way Anova*

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji (Hamdani & Nurman, 2020). Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak daun randu dengan variasi konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Perumusan hipotesis :

H0: Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun randu terhadap pertumbuhan *P. aeruginosa* ATCC 27853.

H1: Ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun randu terhadap pertumbuhan *P. aeruginosa* ATCC 27853.

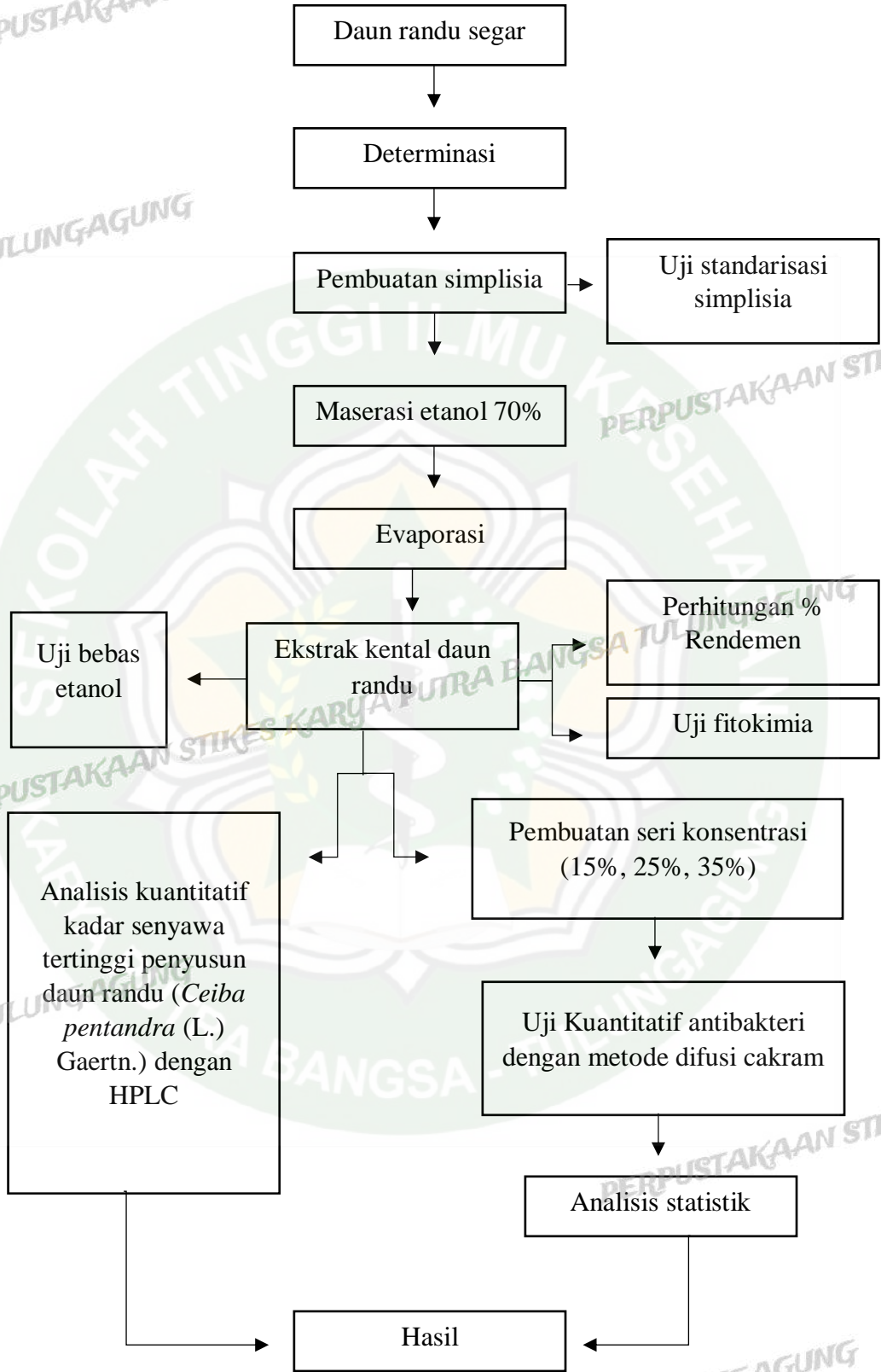
Pengambilan keputusan :

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

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



### 3.6.10 Kerangka Penelitian



Gambar 3.2 Skema Kerangka Penelitian

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman randu dilakukan di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Hasil determinasi menunjukkan sampel yang digunakan merupakan tanaman randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) yang memiliki kunci determinasi 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:*Bombacaceae-1a:Ceiba-1:C.pentandra*. Hasil determinasi dengan nomor determinasi 074/699/102.20-A/2022 dapat dilihat pada lampiran 3. Hasil determinasi menunjukkan bahwasanya sampel tanaman yang digunakan memiliki morfologi yang sesuai dengan tanaman randu, sehingga dapat disimpulkan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.).

#### 4.2 Standarisasi Simplisia

Standarisasi simplisia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengujian susut pengeringan dan pengujian kadar air serbuk simplisia.

##### 4.2.1 Uji Susut Pengeringan

Uji susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui batas maksimal atau rentang banyaknya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan berlangsung (S. Handayani *et al.*, 2017).

Tabel 4.1 Hasil Uji Susut Pengeringan

Sampel Daun	Replikasi			Rata – Rata ±	Rata-rata
	I	II	III	SD	% Hasil
Bobot Awal	2000 g	2000 g	2000 g	2000 g ± 0	6,6 %
Bobot Akhir	1,864 g	1,872 g	1,868 g	1,868 g ± 0,02	

Pengujian susut pengeringan pada penelitian ini dilakukan dengan metode gravimetri. Pada tabel 4.1 dapat dilihat hasil % susut pengeringan daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) sebesar 6,6%. Dapat disimpulkan bahwasanya hasil tersebut sesuai dengan acuan uji susut pengeringan serbuk daun randu menurut Farmakope Herbal Indonesia yakni tidak lebih dari 10%.

#### 4.2.2 Uji Kadar Air Serbuk

Uji kadar air serbuk simplisia bertujuan untuk mengetahui batasan maksimal atau rentang terkait besarnya kandungan air dalam bahan, penghilangan kadar air hingga jumlah tertentu berguna untuk memperpanjang ketahanan bahan selama penyimpanan (Wijanarko, 2020).

**Tabel 4.2** Hasil Uji Kadar Air Serbuk Daun Randu

Sampel Daun	Replikasi			Rata – Rata ± SD	Rata-rata % Hasil
	I	II	III		
<b>Bobot Awal</b>	10 g	10 g	10 g	10 g ± 0	1,8%
<b>Bobot Akhir</b>	9,82 g	9,84 g	9,79 g	9,82 g ± 0,02	

Pengujian kadar air pada penelitian ini dilakukan dengan metode gravimetri. Pada tabel 4.2 didapati hasil rata-rata % kadar air daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) sebesar 1,8%. Menurut Farmakope Herbal Indonesia kadar air yang baik ialah tidak lebih dari 10%. Dapat disimpulkan bahwa rata-rata hasil uji % kadar air serbuk daun randu sudah sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia. Tingginya kadar air pada serbuk simplisia menyebabkan serbuk simplisia mudah ditumbuhi mikroba, sehingga menurunkan stabilitas dan aktivitas farmakologi dari simplisia (Andini, 2021).

#### 4.3 Pengujian Karakteristik Ekstrak

Pengujian karakteristik ekstrak yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji bebas etanol ekstrak dan uji rendemen ekstrak.



#### 4.3.1 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol ekstrak daun randu bertujuan untuk melihat serta memastikan bahwasanya ekstrak yang digunakan terbebas dari pelarut yang digunakan yakni etanol 70% sehingga hasil yang didapatkan dari pengujian nantinya murni dari ekstrak tersebut, karena etanol sendiri memiliki aktivitas antibakteri serta antifungi (Kurniawati, 2017). Pengujian bebas etanol pada ekstrak daun randu dapat dikatakan bebas etanol yang ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna menjadi jingga hingga hijau kebiruan (Ramadhani *et al.*, 2020). Perlakuan serta hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun randu dapat dilihat pada tabel 4.3 dan lampiran 5.

**Tabel 4.3** Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Randu

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Ekstrak Daun Randu ( <i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat + Magnesium dikromat	+	Tidak terjadi perubahan warna (Bebas etanol)

Keterangan : (+) tidak terjadi perubahan warna dan (-) terjadi perubahan warna

#### 4.3.2 Uji Rendemen Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun randu pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Metode maserasi dipilih karena metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga senyawa kimia yang bersifat termolabil yang akan diambil tidak terurai atau rusak salah satunya ialah flavonoid yang tidak tahan pada suhu lebih dari 60°C (Muiz *et al.*, 2021). Selama proses maserasi berlangsung pada tiap harinya dilakukan penggojokan secara berkala. Penggojokan bertujuan untuk menyeimbangkan dan menjaga derajat konsentrasi antara pelarut yang berada di dalam maupun diluar sel dari simplisia (Syamsul *et al.*, 2020).

**Tabel 4.4** Hasil Uji Rendemen Ekstrak Daun Randu

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Ekstrak Daun Randu ( <i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.)	500 g	259,82 g	51,96%

Hasil yang tertera pada tabel 4.4 merupakan hasil uji rendemen ekstrak daun randu yakni sebesar 51,96%. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% (Apriani *et al.* 2023). Rendemen ialah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin besar nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Wijaya *et al.*, 2018). Hasil dalam penelitian ini menunjukkan hasil rendemen yang tergolong tinggi pada ekstrak daun randu, hal tersebut berarti pada proses ekstraksi yakni menggunakan metode maserasi pelarut yang digunakan mampu menyari senyawa metabolit sekunder cukup tinggi. Hasil rendemen yang tinggi menunjukkan kandungan bioaktif yang tersari pada ekstrak dalam jumlah yang banyak. Hasil penelitian ini selaras dengan penelitian (Harianto, 2021) yang menyatakan ekstrak daun randu yang dimaserasi dengan etanol 70% menghasilkan rendemen yang besar dengan kualitas rendemen yang baik yang artinya rendemen berisi senyawa bioaktif bukan residu simplisia. Hasil rendemen juga dipengaruhi oleh lamanya waktu perendaman dan juga penggojokan selama proses ekstraksi berlangsung, semakin lama interaksi simplisia dengan pelarut maka penetrasi pelarut akan semakin baik dan akan semakin banyak senyawa metabolit skunder yang terserap keluar (Wijaya *et al.*, 2018).

#### 4.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun randu bertujuan untuk memastikan ada tidaknya senyawa metabolit skunder yang terkandung di dalam ekstrak daun randu. Hasil dari skrining fitokimia daun randu dalam penelitian (Viswanathan *et al.*, 2018) dikatakan bahwa daun randu mengandung banyak sekali metabolit sekunder yang meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, fenol, resin dan juga saponin.

**Tabel 4.5** Hasil Skrining Fitokimia Daun Randu

Golongan Senyawa	Perlakuan	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	2 ml ekstrak + 2 ml HCl + pereaksi meyer	Endapan	+
Flavonoid	ekstrak + 5 ml etanol + 2 tetes HCl pekat + 0,1g Mg	Jingga	+
Saponin	2 ml ekstrak kental + 5 ml aquadest dikocok kuat + 1 tetes HCl 2 N	Busa stabil	+
Tanin	2 ml ekstrak + FeCl <sub>3</sub> 1%	Biru kehitaman	+

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

**Gambar 4.1** Hasil pengamatan uji skrining fitokimia

Keterangan : (A) Alkaloid, (B) Flavonoid, (C) Saponin, (D) Tanin

#### 4.4.1 Uji Alkaloid

Pengujian alkaloid pada ekstrak daun randu bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya senyawa alkaloid dalam ekstrak daun randu. Hasil pengujian pada tabel 4.5 menunjukkan hasil positif yakni terdapat senyawa alkaloid dalam ekstrak daun randu yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih setelah ditetesi dengan pereaksi meyer sebagaimana terdapat pada gambar 4.1 (A). Endapan putih yang dihasilkan setelah ekstrak ditambahkan pereaksi Meyer ialah kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas dan akan beraksi dengan ion logam K<sup>+</sup> dari pereaksi Meyer (Ramadhani *et al.*, 2020).



#### 4.4.2 Uji Flavonoid

Pengujian senyawa flavonoid bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya senyawa flavonoid dalam ekstrak daun randu. Hasil pengujian pada tabel 4.5 menunjukkan hasil positif yang mana terjadi perubahan warna menjadi jingga menuju orange sebagaimana terdapat pada gambar 4.1 (B). Perubahan warna tersebut dipengaruhi oleh penambahan logam Mg serta HCl yang dapat mereduksi inti dari benzopiron yang berada dalam struktur senyawa flavonoid sehingga membentuk garam flavylum berwarna merah hingga jingga (Ergina *et al.*, 2014).

#### 4.4.3 Uji Saponin

Pengujian senyawa saponin pada ekstrak daun randu berfungsi untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin dalam ekstrak daun randu. Hasil pengujian pada tabel 4.5 menunjukkan dalam daun randu terdapat senyawa saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa stabil sebagaimana terdapat pada gambar 4.1 (C). Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama (Ramadhani *et al.*, 2020).

#### 4.4.4 Uji Tanin

Pengujian senyawa tannin pada ekstrak daun randu bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya senyawa tannin pada ekstrak daun randu. Hasil pengujian pada tabel 4.5 menunjukkan pada ekstrak daun randu terdapat senyawa tannin yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman sebagaimana terdapat pada gambar 4.1 (D). Terbentuknya warna biru kehitaman dikarenakan tannin bereaksi dengan  $Fe^{3+}$  membentuk senyawa kompleks (Riwanti, 2019).

#### 4.5 Analisis Kuantitatif *Quercetin* dalam Ekstrak Daun Randu

Tahapan analisis kuantitatif *quercetin* pada penelitian ini meliputi preparasi standar, preparasi sampel dilanjutkan dengan penentuan kondisi analisis dan diakhiri dengan penetapan kadar senyawa yang diinginkan. Pada penelitian ini senyawa yang akan ditetapkan kadarnya ialah senyawa *quercetin* yang merupakan

senyawa yang memiliki mekanisme kerja yang serupa dengan antibiotik pembanding ciprofloxacin yakni mengkoagulasi protein dengan cara menghambat serta menonaktifkan enzim dan mengganggu dinding sel (Fauzan *et al.*, 2019). Senyawa *quercetin* termasuk dalam golongan senyawa flavonoid yakni flavonol yang termasuk dalam kelompok polifenol yang berotensi sebagai antibakteri (Alfaridz, 2018).

#### 4.5.1 Preparasi Standar dan Sampel

Preparasi standar dimulai dengan menimbang standar *quercetin* sebanyak 10 mg. Kemudian dilarutkan dengan metanol 90% dan *aquadest* (59 : 41) dalam labu takar 10 ml sampai tanda batas (Konsentrasi *quercetin* standar menjadi 1 mg/ml atau 1000 µg/ml). Kemudian larutan induk 1000 µg/ml diambil sebanyak 1 ml dilarutkan dengan metanol 90% dan *aquadest* (59 : 41) ke dalam labu takar 10 ml sampai tanda batas (konsentrasi *quercetin* menjadi 100 µg/ml atau 100 ppm). Larutan kemudian disaring dengan membrane filter 0,22 µm. Larutan diinjeksikan ke dalam sistem HPLC sebanyak 1 µl (Sukmawati *et al.*, 2019).

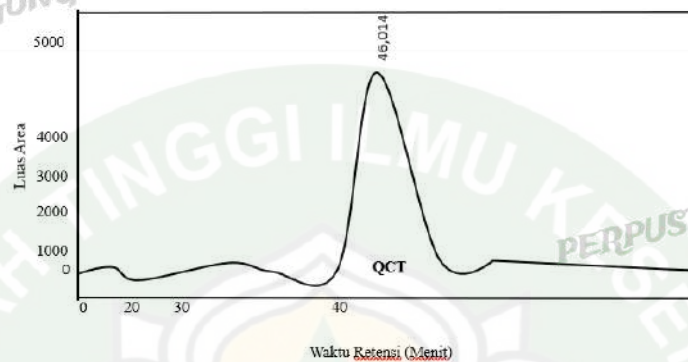
Sedangkan preparasi sampel dilakukan dengan menimbang ekstrak daun randu sebanyak 10 mg. Kemudian dilarutkan dengan metanol 90% dan *aquadest* (59 : 41) dalam labu takar 10 ml sampai tanda batas (Konsentrasi sampel menjadi 1 mg/ml atau 1000 µg/ml). Kemudian larutan induk 1000 µg/ml diambil sebanyak 1 ml dilarutkan dengan metanol 90% dan *aquadest* (59 : 41) ke dalam labu takar 10 ml sampai tanda batas (konsentrasi sampel menjadi 100 µg/ml atau 100 ppm). Larutan sampel kemudian disaring dengan membrane filter 0,45 µm dan disonikator selama 20 menit. Larutan diinjeksikan ke dalam sistem HPLC sebanyak 1 µl (Sukmawati *et al.*, 2019).

#### 4.5.2 Penentuan Kondisi Analisis

Setelah preparasi ekstrak dan sampel perlakuan selanjutnya adalah menentukan kondisi analisis HPLC. Kondisi analisis yang digunakan yakni :

1. Tipe HPLC : HPLC Pressure Gradien LC-2030C 3D (Shimadzu).
2. Kolom : Shimadzu Shimpack GIST C18.
3. Detektor : Spektrofotometer UV-Vis.
4. Panjang gelombang : 370.30 nm (Husnia, 2021).

5. Standar : *Quercetin*.
6. Fase gerak : Metanol 90% dan air (59 : 41).
7. Konsentrasi sampel dan standar : 100 ppm.
8. Sampel dan standar yang diinjeksikan : 1  $\mu$ l
9. Laju alir : 0,5 ml/menit



**Gambar 4.2** Kromatogram standar *quercetin*

**Tabel 4.6** Data Analisis HPLC *Quercetin* Standar

Peak	Waktu Retensi (Menit)	Luas Area
1	46,014	8180,1597

Panjang gelombang yang digunakan dalam penentuan kondisi analisis pada penelitian ini ialah 370.30 nm. Panjang gelombang tersebut dipilih karena merupakan panjang gelombang yang optimum pada kondisi analisis *quercetin* standar. Hal tersebut selaras dengan penelitian (Dwiyoga, 2012) yang menyatakan bahwa panjang gelombang maksimal *quercetin* adalah 370 nm. Panjang gelombang maksimal memiliki kepekaan maksimal karena terjadi perubahan absorbansi paling besar untuk tiap satuan konsentrasi (Gandjar & Rohman, 2012).

Fase gerak yang digunakan adalah campuran metanol dan air, campuran metanol dengan air dipilih karena campuran metanol dengan air memiliki sifat yang polar. Senyawa *quercetin* juga bersifat polar sehingga *quercetin* dapat terdistribusi dengan baik dalam fase gerak metanol dan air. Seperti pemaparan (Rosyidiati, 2019) Fungsi fase gerak itu sendiri ialah melarutkan campuran zat, mengangkat atau membawa komponen yang akan dipisahkan melewati sorben fase diam sehingga memiliki waktu retensi dalam rentang yang dipersyaratkan, memberikan

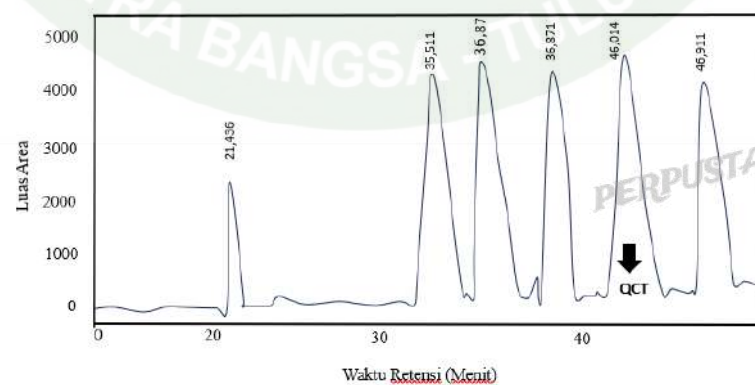


selektifitas yang memadai untuk campuran senyawa yang akan dipisahkan. Sedangkan perbandingan konsentrasi campuran metanol dan air yang digunakan adalah (59 : 41), perbandingan tersebut dipilih berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Sukmawati *et al.*, 2019) dengan fase gerak methanol air (59 : 41) menghasilkan area kromatogram terluas, waktu retensi tercepat dan tidak terjadi tailing. Hal tersebut juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Husnia, 2021) yakni setelah melakukan optimasi terhadap tiga perbandingan air dengan metanol dengan variasi perbandingan 36: 64, 41: 59 dan 46: 54 perbandingan 41:59 menghasilkan waktu retensi yang lebih cepat dan puncak yang lebih lebar. Sampel yang diinjeksikan pada penelitian ini sebesar 1 uL dengan laju alir 0,5 ml/menit.

Hasil kromatogram dan data *quercetin* standar dalam kondisi optimum dapat dilihat pada gambar 4.2 dan tabel 4.6. Pada panjang gelombang 370.30 nm menghasilkan luas area sebesar 8180,1597 dengan waktu retensi 46,014.

#### 4.5.3 Penetapan Kadar Senyawa

Penetapan kadar senyawa dilakukan dengan menginjeksikan sampel yang telah di preparasi ke dalam kolom dan dicatat waktu retensi puncak-puncak yang dihasilkan sampel. Jika puncak-puncak tersebut mempunyai waktu retensi yang kurang lebih sama dengan waktu retensi puncak larutan standar, maka dapat disimpulkan bahwa pada sampel secara kualitatif positif mengandung *quercetin*. Kemudian dilakukan pencatatan area *quercetin* ekstrak daun randu, area *quercetin* standar dan konsentrasi standar yang digunakan selanjutnya dapat dihitung kadar *quercetin* dari ekstrak daun randu (Gandjar, I. G. dan Rohman, 2012).



Gambar 4.3 Kromatogram HPLC ekstrak daun randu

Kondisi Analisis: Kolom C-18 250L×4,6MM; Laju alir 0,5 ml/menit; V. Sampel 1 µl; Fase gerak : Metanol 90% dan air (59 : 41);  $\lambda$  368 nm

**Tabel 4.7** Hasil HPLC Ekstrak Daun Randu

Peak	Waktu Retensi (Menit)	Luas Area
1	21,436	3612,88414
2	35,511	4325,81416
3	36,833	4682,50139
4	36,871	4385,12025
5	46,014	4682,91025
6	46,911	4365,98461
Total		26055,2148

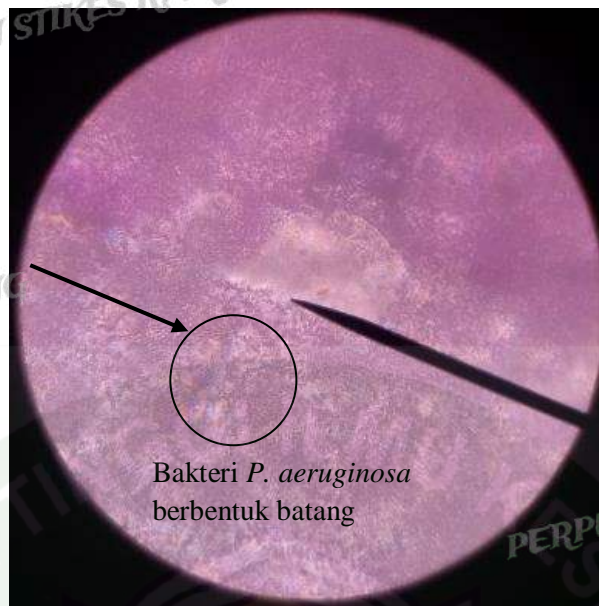
Pada gambar 4.3 dapat dilihat bahwasanya pada daun randu terdapat senyawa yang memiliki hasil peak yang sama dengan *quercetin* standar. Senyawa *quercetin* pada ekstrak daun randu dapat dilihat pada waktu retensi 46,014 menit waktu retensi tersebut sama dengan waktu retensi *quercetin* standar, maka dapat dikatakan bahwa pada ekstrak daun randu terbukti terdapat senyawa *quercetin*. Luas area yang dihasilkan oleh senyawa tersebut ialah sebesar 4682,91025. Setelah semua data terkumpul dilanjutkan dengan perhitungan kadar dari senyawa *quercetin* pada ekstrak daun randu dengan menggunakan rumus hitung pada persamaan 3.5 didapatkan hasil kadar senyawa *quercetin* pada ekstrak daun randu sebesar 2,075%.

#### 4.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas suatu antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Pengujian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, STIKes Karya Putra Bangsa, Tulungagung.

##### 4.6.1 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri yang digunakan dalam penelitian ini ialah dengan pewarnaan Gram. Bakteri yang digunakan pada pengujian yakni ialah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27853 yang merupakan bakteri Gram negatif aerobik (membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya).



**Gambar 4.4** Hasil pewarnaan Gram bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853

Pengujian pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat koloni bakteri, kemudian koloni bakteri yang sudah dibuat preparat diberi tetesan Gram A (kristal violet). Dilanjutkan dengan ditetesi Gram B (iodine). Selanjutnya ditetesi Gram C (alkohol-aseton) dan ditetesi Gram D (safranin) kemudian dibilas dengan air mengalir dan ditiriskan. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran  $1000\times$  menggunakan minyak imersi (Antarini *et al.*, 2021).

Bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 yang digunakan diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, Jawa Timur. Bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 yang digunakan memiliki kode ATCC 27853 yang disertai dengan lampiran sertifikat bakteri (Lampiran 4). Uji pewarnaan Gram bertujuan untuk memastikan kebenaran dari sertifikat yang telah tertera pada bakteri. Hasil pewarnaan menunjukkan bahwa bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 menghasilkan warna merah muda hal ini menunjukkan bahwasanya bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri Gram negatif. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian (Bengi *et al.*, 2017) Hasil pewarnaan Gram pada gambar 4.4 dapat dikatakan bakteri tersebut adalah bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 yaitu apabila bakteri tersebut berwarna merah muda berbentuk batang tunggal dan ada juga yang berpasangan yang ditunjukkan oleh anak panah dalam gambar 4.4. *P. aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri Gram negatif, maka berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ , ditemukan tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang



membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung, serta mempunyai flagel.

Perbedaan hasil pewarnaan pada jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif dikarenakan perbedaan dari dinding sel antar kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri dengan Gram positif dapat mempertahankan warna kristal violet karena dinding sel yang dimiliki bakteri jenis ini lebih tebal dibandingkan dengan bakteri dengan jenis Gram negatif. Pada bakteri Gram negatif pada saat pencucian dengan menggunakan alkohol warna kristal violet akan ikut luntur sehingga warna yang menempel pada dinding sel bakteri ialah warna merah yang dihasilkan dari safarin. Ketika pewarnaan terakhir (Nurhidayati *et al.*, 2015).

#### 4.6.2 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Randu Terhadap Bakteri *P.*

##### *aeruginosa* ATCC 27853

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak daun randu sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853. Pada pengujian ini digunakan kontrol positif berupa ciprofloxacin dengan konsentrasi 0,0005% (5µg/ml). Ciprofloxacin digunakan karena dapat memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 (Faradina *et al.*, 2019). Pemilihan konsentrasi ciprofloxacin sesuai dengan penelitian (Dhuha, 2016) yang mana konsentrasi ciprofloxacin 0,0005% (5µg/ml) digunakan sebagai kontrol positif karena konsentrasi tersebut sudah mampu untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan ialah DMSO dengan konsentrasi 2,5%, DMSO 2,5% dipilih karena dapat digunakan sebagai pengencer larutan serta dapat melarutkan ekstrak daun randu dengan sempurna dan tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri, dengan demikian aktivitas inhibisi dapat dipastikan berasal dari ekstrak tumbuhan yang digunakan, bukan dari pengencer yang dipakai (Fransisca *et al.*, 2020).

Sampel yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri ini ialah ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.). Pengujian dimulai dengan uji orientasi untuk menentukan konsentrasi awal daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) yang dapat memberikan zona penghambatan pada bakteri uji (Rakasiwi, 2014). Konsentrasi yang diorientasikan yakni konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35% dan 45%.

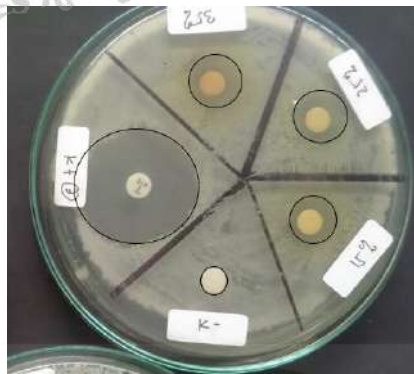
Hasil orientasi menunjukkan bahwa konsentrasi 5% menghasilkan zona hambat 9,7mm yang tergolong dalam kategori sedang, dikatakan sedang karena memiliki zona hambat 6-10mm (Bagus *et al.*, 2022). Pada konsentrasi 15%, 25%, 35% dan 45% menghasilkan zona hambat yang berada dalam satu kategori yakni 13mm, 14,5 mm, 15,2mm dan 15,8mm yang tergolong pada kategori yang sama yaitu kuat, dikatakan kuat karena menghasilkan zona hambat 11-20mm (Bagus *et al.*, 2022). Berdasarkan uji orientasi konsentrasi ekstrak daun randu yang digunakan dalam penelitian ini ialah konsentrasi 15%, 25% dan 35%.

**Tabel 4.8** Hasil pengujian Antibakteri Ekstrak Daun Randu Terhadap Bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata ± SD	Kekuatan hambat
		I	II	III		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	K+	30	29,5	29,7	29,7 ± 0,21*	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0 ± 0**	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	15%	14,5	13	12,5	13,3 ± 0,85***	Kuat
	25%	16	14,5	13,5	14,6 ± 1,03***	Kuat
	35%	16,5	16	14,5	15,6 ± 0,85***	Kuat

Keterangan : Bintang yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dan Bintang yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Tabel 4.8 merupakan tabel hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853. Hasil yang didapatkan dari uji aktivitas antibakteri tersebut membuktikan bahwa ekstrak daun randu memiliki aktivitas antibakteri.



**Gambar 4.5** Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853

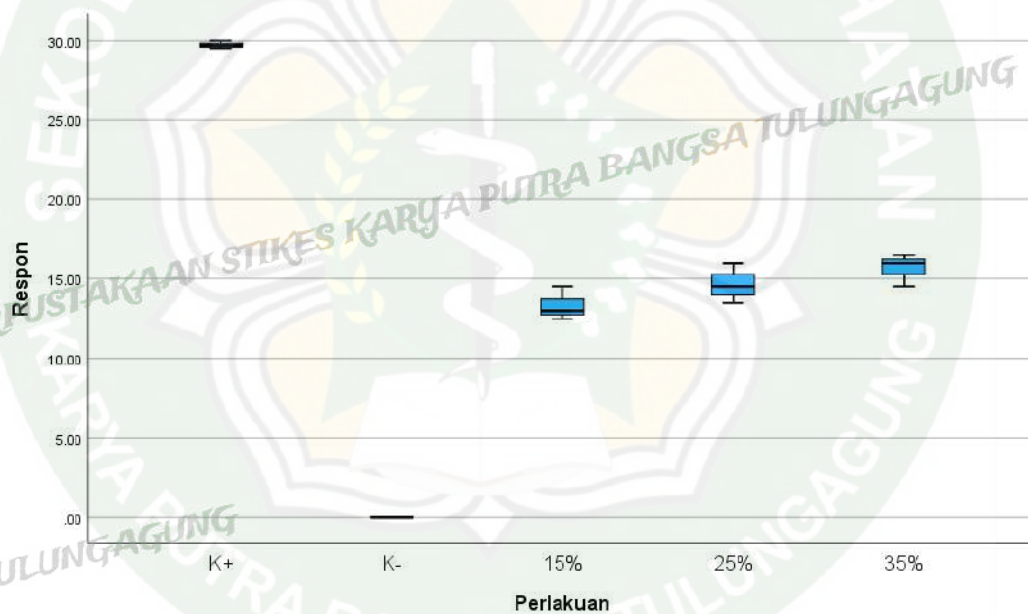
Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu pada gambar 4.5 menunjukkan adanya zona bening atau disebut dengan zona hambat. Setiap pengujian atau perlakuan dilakukan replikasi atau pengulangan sebanyak tiga kali. Pengujian terhadap kontrol positif yakni ciprofloxacin dengan konsentrasi 0,0005% (5 $\mu$ g/ml) setelah tiga kali replikasi menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 29,7mm. Menurut (Bagus et al., 2022) hasil zona hambat lebih dari 21 mm tergolong dalam kategori sangat kuat. Pengujian aktivitas antibakteri pada kontrol negatif yakni DMSO dengan konsentrasi 2,5% pada tiga kali replikasi tidak menghasilkan zona hambat sesuai dengan pernyataan (Angelina *et al.*, 2015) bahwasanya DMSO dengan konsentrasi dibawah 10% tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Pengujian antibakteri pada ekstrak daun randu yang telah dijadikan beberapa konsentrasi yakni 15%, 25% dan 35% menghasilkan zona hambat. Pada konsentrasi 15% setelah dilakukan pengujian dengan pengulangan sebanyak tiga kali menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 13,3 mm, sedangkan pada konsentrasi 25% menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 14,6 mm dan pada konsentrasi 35% memiliki hasil rata-rata zona hambat 15, mm. Ketiga hasil seri konsentrasi aktivitas antibakteri daun randu tersebut tergolong dalam kategori kuat karena memiliki diameter zona hambat antara 11 mm-20 mm (Bagus et al., 2022). Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun randu tersebut selaras dengan penelitian sebelumnya yakni dengan konsentrasi 6,25%, 12,5% dan 25% yang memiliki rata-rata daya hambat berturut-turut 12,12 mm, 13,06 mm dan 14 mm yang tergolong dalam kategori kuat (Njokuocha & Ewinike, 2020). Dapat



disimpulkan bahwasanya semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun randu maka akan semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan.

Data pengujian aktivitas antibakteri daun randu yang diperoleh pada pengujian kemudian diuji pada pengujian analisis data menggunakan SPSS 27. Pengujian ini bertujuan untuk membandingkan kemampuan ekstrak daun randu dengan variasi konsentrasi 15%, 25% dan 35% dalam menghambat bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 serta melihat ada maupun tidaknya perbedaan secara signifikan antara setiap variasi konsentrasi yang dibuat. Pengolahan data dilakukan dengan beberapa tahapan yang meliputi uji normalitas, uji homogenitas dan uji *one way anova* (Hamdani & Nurman, 2020). Grafik Analisis Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Randu Terhadap Bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada gambar 4.6.



**Gambar 4.6** Grafik Batang Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Randu Terhadap Bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini ialah ciprofloxacin 0,0005% (5µg/ml). Hasil pengujian analisis statistik pada lampiran 6 menunjukkan kontrol positif dengan seluruh kelompok lainnya memiliki perbedaan yang signifikan yang ditandai dengan hasil uji *post hock* dengan nilai  $p < 0,05$  artinya

kontrol positif dengan seluruh kelompok berbeda secara signifikan hal ini dikarenakan kontrol positif memiliki hasil zona hambat yang paling besar dibandingkan dengan kelompok lainnya, perbedaan besar zona hambat menunjukkan bahwa kontrol positif memberikan efek yang paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 (Maharani, 2015). Hal ini juga didukung dengan penelitian (Budiana, 2015) yang menyatakan ciprofloxacin merupakan antibiotik yang memiliki aktivitas antibakteri yang sangat kuat terhadap bakteri gram negatif *P. aeruginosa* ATCC 27853 dengan hasil zona hambat sebesar 23 mm. Menurut (Maharani, 2015) hal ini dapat juga disebabkan oleh mekanisme kerja ciprofloksasin yang lebih luas dibandingkan dengan antibiotik *quinolone* golongan pertama. Mekanisme kerja ciprofloxacin ialah dengan cara menghambat pembentukan enzim DNA gyrase dan topoisomerase IV yang memiliki peran penting dalam replikasi DNA bakteri (Dima, 2016).

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO 2,5%. Hasil analisis statistik pada lampiran 6 menunjukkan kontrol negatif dengan seluruh kelompok lainnya memiliki perbedaan yang signifikan yang ditandai dengan hasil uji *post hock* dengan nilai  $p < 0,05$  artinya kontrol negatif dengan seluruh kelompok berbeda secara signifikan hal ini dikarenakan kontrol negatif tidak memiliki hasil zona hambat yang artinya kontrol negatif tidak memberikan efek terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853, hal ini sesuai dengan fungsi dari kontrol negatif yakni digunakan sebagai pembanding dan pelarut untuk pembuatan larutan kontrol positif dan pembuatan larutan uji (Manawan, 2014). Pernyataan tersebut selaras dengan penelitian (Angelina *et al.*, 2015) yang menyatakan DMSO 2,5% tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri daun randu dan DMSO 2,5% dapat melarutkan senyawa yang ada di dalam daun randu.

Ekstrak daun randu konsentrasi 15% dan 25% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif dan kontrol negatif hal ini ditandai dengan nilai  $p < 0,05$ , namun ekstrak daun randu konsentrasi 15% dengan ekstrak daun randu konsentrasi 25% dan 35% tidak memiliki perbedaan yang signifikan yang ditandai dengan nilai  $p > 0,05$ . Hal tersebut serupa dengan ekstrak daun randu konsentrasi

25% dengan ekstrak daun randu konsentrasi 15% dan 35% tidak memiliki perbedaan yang signifikan yang ditandai dengan nilai  $p > 0,05$ . Tidak signifikannya hasil analisis statistik ini disebabkan hasil zona hambat yang tidak jauh berbeda sehingga tidak ada perbedaan yang signifikan diantara variasi konsentrasi tersebut. Ekstrak daun randu dengan konsentrasi 15% dan 25% menghasilkan zona hambat sebesar 13,3 mm dan 14,6 mm yang tergolong dalam kategori kuat karena memiliki diameter zona hambat antara 11 mm-20 mm (Bagus *et al.*, 2022).

Ekstrak daun randu konsentrasi 35% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif dan kontrol negatif hal ini ditandai dengan nilai  $p < 0,05$ , sedangkan ekstrak daun randu konsentrasi 35% dengan ekstrak daun randu konsentrasi 15% dan 25% tidak memiliki perbedaan yang signifikan yang ditandai dengan nilai  $p > 0,05$ . Tidak signifikannya hasil analisis statistik ini disebabkan hasil zona hambat yang tidak jauh berbeda sehingga tidak ada perbedaan yang signifikan diantara variasi konsentrasi tersebut. Ekstrak daun randu dengan konsentrasi 35% menghasilkan zona hambat yang paling mendekati dengan kontrol positif yakni sebesar 15 mm yang tergolong dalam kategori kuat karena memiliki diameter zona hambat antara 11 mm-20 mm (Bagus *et al.*, 2022). Semakin tinggi perbandingan yang dilakukan maka hasil zona hambat yang terbentuk semakin besar pula (Esterina and Zuraida, 2017). Perbedaan aktivitas hambatan bakteri juga dipengaruhi oleh senyawa aktif, konsentrasi yang tersaring dan adanya bahan organik asing dapat menurunkan keefektifan zat kimia antimikrobal dengan cara menonaktifkan bahan kimia tersebut (Radji *et al.*, 2013). Menurut (Viswanathan *et al.*, 2018) hal ini juga dapat disebabkan karena adanya metabolit sekunder pada daun randu yang meliputi alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin. Mekanisme senyawa alkaloid sebagai antibakteri ialah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Umboh *et al.*, 2018). Flavonoid sebagai antibakteri bekerja dengan cara tiga macam, yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi (Rahayu *et al.*, 2022). Saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel (Umboh *et al.*, 2018). Tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara memprepitasi protein (Noventi & Carolia, 2016).



Hasil pengujian analisis statistik diatas dapat disimpulkan bahwa perbedaan konsentrasi 15%, 25% dan 35% tidak memiliki perbedaan yang signifikan yang artinya dengan variasi konsentrasi tersebut hasil yang didapatkan tidak jauh berbeda yang mana semuanya tergolong dalam kategori kuat. Pada penelitian ini konsentrasi optimum berada pada konsentrasi 15% sesuai dengan hasil uji *tukey subset* pada lampiran 6 dari data tersebut konsentrasi yang mendekati kolom subset kontrol positif ialah konsentrasi 25% dan 35% yang mana keduanya berada pada kolom subset yang sama namun konsentrasi 15% dengan konsentrasi 25% juga terletak pada kolom subset yang sama yang artinya kedua konsentrasi tersebut tidak berbeda secara signifikan, hal ini diperkuat dengan pemaparan (Maharani et al., 2017) bahwasanya konsentrasi optimum merupakan konsentrasi dengan jumlah kecil konsentrasi tersebut dapat menghasilkan rata-rata zona hambat yang besar olehkarenanya konsentrasi 15% merupakan konsentrasi optimum daun randu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian (Njokuocha & Ewinike, 2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun randu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853, pada penelitian tersebut menggunakan ekstrak etanol daun randu dengan konsentrasi 6,25%, 12,5% dan 25% yang memiliki rata-rata daya hambat berturut-turut 12,12 mm, 13,06 mm dan 14 mm yang tergolong dalam kategori kuat yang mana perbedaan variasi konsentrasi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap hasil zona hambat yang terbentuk.

Pemaparan hasil pengujian pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun randu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853. . Senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun randu yakni Alkaloid, Flavonoid, Saponin dan juga Tanin telah terbukti dengan perlakuan uji skrining fitokimia yang selanjutnya dilakukan pengujian dengan analisis kuantitatif *quercetin* menggunakan metode HPLC. Senyawa *quercetin* merupakan senyawa yang memiliki mekanisme kerja yang serupa dengan antibiotik pembanding ciprofloxacin yakni mengkoagulasi protein dengan cara menghambat serta menonaktifkan enzim dan mengganggu dinding sel (Fauzan et al., 2019). Senyawa *quercetin* termasuk dalam golongan senyawa flavonoid yakni flavonol yang termasuk dalam kelompok polifenol yang berpotensi sebagai antibakteri



## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Kadar dari senyawa *quercetin* yang merupakan senyawa yang berperan menghambat bakteri pada pada daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) berdasarkan analisis dengan HPLC ialah sebesar 2,075%.
2. Ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) memiliki aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang kuat dan konsentrasi yang optimum berdasarkan analisis statistik terdapat pada konsentrasi 15% yang menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 13,3 mm.
3. Aktivitas antibakteri pada ekstrak daun randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) belum dapat menjadi alternatif pengobatan pneumonia nosokomial karena zona hambat yang dihasilkan oleh variasi konsentrasi belum mampu menyamai ciprofloxacin sebagai kontrol positif.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dapat ditarik beberapa saran seperti:

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu dengan metode ekstraksi yang lain agar didapatkan zona hambat yang lebih baik.
2. Perlu dilakukan pengkombinasian daun randu dengan tanaman lain yang memiliki aktivitas antibakteri supaya dapat terbentuk zona hambat yang lebih baik sehingga dapat menjadi alternatif pengobatan untuk penyakit pneumonia nosokomial.
3. Perlu dilakukan pengembangan di bidang teknologi untuk menghasilkan suatu sediaan yang dapat diaplikasikan dan dikonsumsi oleh masyarakat.



## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E. (2017). Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Daun Tiin (Ficus Carica Linn) Dengan Pelarut Air, Metanol Dan Campuran Metanol-Air. *Klorofil : Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan*, 1(1), 38–47.
- Aksara, R., Musa, W. J. A., & Alio, L. (2013). Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (Mangifera Indica L). *Jurnal Entropi*, 8(1), 514–519.  
[https://Repository.Ung.Ac.Id/Get/Simlit\\_Res/1/477/Identifikasi-Senyawa-Alkaloid-Dari-Ekstrak-Metanol-Kulit-Batang-Mangga-Mangifera-Indica-L-Penulis2.Pdf](https://Repository.Ung.Ac.Id/Get/Simlit_Res/1/477/Identifikasi-Senyawa-Alkaloid-Dari-Ekstrak-Metanol-Kulit-Batang-Mangga-Mangifera-Indica-L-Penulis2.Pdf)
- Alfaridz, F. (2018). Review jurnal: Klasifikasi dan aktivitas farmakologi dari senyawa aktif flavonoid. *Farmaka*, 16(3).
- Andini, A., & Putri, C. F. (2021). Standardization of Mango (Mangifera Indica L.) Peel Simplisia of Gadung Variety. *PHARMADEMICA: Jurnal Kefarmasian dan Gizi*, 1(1), 1-8.
- Angelina, M., Turnip, M., Khotimah, S., Biologi, P. S., & Tanjungpura, U. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum Sanctum L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus. 4, 184–189.
- Anisa Dwi Nuraeni, Lukmayani, Y., & Kodir, R. A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Propionibacterium Acnes Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Karuk (Piper Sarmetosum Roxb. Ex. Hunter) Serta Analisis Klt Bioautografi. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 9–15.  
<https://doi.org/10.29313/jrf.v1i1.26>
- Anita, D. C., & Kardi. (2021). Faktor Yang Berkontribusi Pada Kejadian Pneumonia Nosokomial. The 13th University Research Colloquium 2021, 864–871.
- Antarini, I., Puspawati, N., Budi Nugroho, R., Kesehatan, A., Ilmu Kesehatan, F., Setia Budi, U., Studi, P. D., & Author, C. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kelor (Moringa Oleifera Lamk. Jurnal Labora Medika, 5, 48–56.
- Apriani, P., Marcellia, S., & Nofita, N. (2023). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Kulit Buah Mahoni (Swietenia Mahagoni L.) Terhadap Candida Albicans. *Analit: Analytical And Environmental Chemistry*, 8(1), 1-10.
- Ariana, D., Kartikorini, N., & Mardiyah, S. (2021). Profil Tanin Pada Teh Seduh Dengan Paparan Suhu Penyeduhan Yang Berbeda. *The Journal Of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 4(1), 111.  
<https://doi.org/10.30651/jmlt.v4i1.7605>
- Arinda, Y., Fitriana, N., Arfiana, V., Fatimah, N., & Shabrina, A. (2019). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih : Uji Ekstrak Khm ( Kadar Hambat Minimum ) Dan Kbm ( Kadar Bakterisidal Minimum ). 16(2), 101–108.
- Aristatia, N., & Yulyani, V. (2021). Analisis Faktor - Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Infeksi Saluran Pernafasan Akut ( Ispa ) Pada Balita Di Puskesmas Panjang. *Indonesian Journal Of Health And Medical*, 1(4), 508–535.

- Asadullah, Isbandiyah, & N, S. A. (2015). Pola Bakteri Penyebab Pneumonia Nosokomial Di Rs Dr Soetomo Surabaya Periode Januari 2011 - Maret 2012. *Saintika Medika*, 8(2), 64–68. <https://doi.org/10.22219/Sm.V8i2.4112>
- Ayu, H. R., Suryono, S., & Suseno, E. (2020). Rancang Bangun Sistem Ultrasound Assisted Extraction ( Uae ) Dengan Otomasi Pengaturan Suhu Dan Volume Pelarut. 10(1), 56–64.
- Azizah, B., & Salamah, N. (2013). Standarisasi Parameter Non Spesifik Dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Pharmaciana*, 3(1). <https://doi.org/10.12928/Pharmaciana.V3i1.416>
- Bagus, I., Suyasa, O., Bekt, H. S., Rinawati, L. P., & Laksmi, L. P. (2022). Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus. 1(5).
- Bani, F., Serang, Y., & Safitri. (2016). Kajian Efektivitas Filtrat Perasan, Minyak Atsiri Dan Ekstrak Etanol Daun Ketumbar ( Coriandrum Sativum L.). *Jurnal Farmasi Dan Sains Indonesia*, 1(1), 39–47.
- Bengi, W. T. M., Erina, & Darniati. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Pseudomonas Aeruginosa Pada Kasus Ear Mites Kucing Domestik (Felis Domesticus) Di Kecamatan Syiah Kuala, Banda Aceh. *Jimvet*, 01(2), 161–168.
- Bhati, C., Minocha, N., Purohit, D., Kumar, S., Makhija, M., Saini, S., Kaushik, D., & Pandey, P. (2022). High Performance Liquid Chromatography : Recent Patents And Advancement. 15(June), 729–746.
- Bpom. (2014). Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Badan Pengawas Obat Dan Makanan, 1–25.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu Dan Waktu Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (Ziziphus Mauritiana L.) Sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/Jrma.2019.V07.I04.P07>
- Chan, E. W. C., Yeong, S. W., Wong, C. W., Soo, O. Y. M., Phua, A. C. Y., & Ng, Y. K. (2022). Ceiba Pentandra (L.) Gaertn.: An Overview Of Its Botany, Uses, Reproductive Biology, Pharmacological Properties, And Industrial Potentials. *Journal Of Applied Biology & Biotechnology*, X(Xx), 1–7. <https://doi.org/10.7324/Jabb.2023.110101>
- Dangeubun, E. J., Katja, D. G., & Kumaunang, M. (2022). Sifat Toksisitas Dan Kemampuan Penghambatan Enzim A-Amilase Dari Ekstrak Biji Buah Matoa (Pometia Pinnata J. R & G. Forst). *Chemistry Progress*, 15(1), 1–8.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia (Iii)*. Depkes Ri.
- Desta Donna Putri Damanik, Nurhayati Surbakti, & Rosdanelli Hasibuan. (2014). Ekstraksi Katekin Dari Daun Gambir (Uncaria Gambir Roxb) Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Teknik Kimia Usu*, 3(2), 10–14. <https://doi.org/10.32734/Jtk.V3i2.1606>
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen Dan Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun Sansevieria Sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197. <https://doi.org/10.25181/Jppt.V17i3.336>



- Dhuha, S. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun lamun (*Syringodium isoetifolium*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmacon*, 5(1).
- Dima, L. R. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, 5(2).
- Don, L. G. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus*. 9(2).
- Dwiyoga, A. R. H., 2012, Optimasi Dan Validasi Metode Penetapan Ptimasi Dan Validasi Metode Penetapan Kadar Kuersetin Menggunakan Kromatografi Adar Kuersetin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Fase Terbalik Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Fase Terbalik Dalam Teh Hijau
- Faradina, A. S., Mastra, N., & Karta, I. W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Encok (*Plumbago Zeylanica* L.) Terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas Aeruginosa* Secara In Vitro. *Jurnal Portelkes*, 7(2).
- Fathanah, U., Lubis, M. R., Mahyuddin, Z., Muchtar, S., Yusuf, M., Rosnelly, C. M., Mulyati, S., Hazliani, R., Rahmanda, D., Kamaruzzaman, S., & Busthan, M. (2021). Sintesis, Karakterisasi Dan Kinerja Membran Hidrofobik Menggunakan Polyvinyl Pyrrolidone (Pvp) Sebagai Aditif. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 17(2), 140. <https://doi.org/10.20961/Alchemy.17.2.48435.140-150>
- Fathurrachman, D. A. (2014). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph. *Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi*, November, 20–21.
- Fauzan, A., Dewi, S. S., & Wilson, W. (2019). Efektifitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Bawang Daun (*Aliium fistulosum*. L) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Labora Medika*, 3(2), 54-57.
- Fitri, I., Budi, S., & Fauzul, M. (2019). Environmental Technology & Innovation Potential Of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated From Aluminium-Contaminated Site In Aluminium Removal And Recovery From Wastewater. *Environmental Technology & Innovation*, 15, 100422. <https://doi.org/10.1016/J.Eti.2019.100422>
- Fransisca, D., Kahanjak, D. N., & Frethernety, A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack ) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer. 4(1), 460–470.
- Gafur, A., & Rizki, M. I. (2021). Penerapan Teknologi Modified Sortation Untuk Standarisasi Mutu Produk Kelompok Mitra “ Rumah Herbal ” Banjarbaru. *Pro Sejahtera*, 3(1), 9.
- Gandjar, I. G. Dan Rohman, A. (2012). Analisis Obat Secara Spektrofotometri Dan Kromatografi. *Pustaka Pelajar* (Anggota Ikapi).
- Gen, S. E. A., Otensial, A. N. P., & Epan, M. A. S. A. D. (2017). E Valuasi P Igmien K Arotenoid K Arang L Unak S Arcophyton S P . 2(1), 28–36.
- Gunawan, H. D. (2018). Decreasing Saponin Compounds On Aloe Vera Gelwith Boiling And Steaming. *Jurnal Teknologi Pangan*, 9(1), 411–436.



- Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., & Wang, Y. (2020). Prevalence And Therapies Of Antibiotic-Resistance In Staphylococcus Aureus. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*, 10(March), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00107>
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid Dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Hamdani, I., & Nurman, S. (2020). Ekstrak Etanol Kopi Hijau Arabika ( Coffea Arabica L .) Sebagai Antihiperqlikemi Pada Mencit ( Mus Musculus ) Ethanol Extract Of Arabica ( Coffea Arabica L .) Green Coffee Diabetes Mellitus Merupakan Penyakit Metabolik Yang Ditandai Dengan Kadar Global St. Dose I, 140–147. <https://doi.org/10.22435/jki.v10i2.2122>
- Handayani, S., Wirasutisna, K. R., & Insanu, M. (2017). Penapisan Fitokimia Dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar. 5(3), 10.
- Handayani, V. (2015). Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia Calabura L.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1), 94–96.
- Harianto, S., Prasetyaningsih, A., & Prakasita, V. C. (2021). Uji Efektivitas Salep Kulit Batang Kapuk Randu (Ceiba pentandra) Sebagai Obat Anti-Inflamasi. *EduMatSains: Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains*, 6(1), 47-60.
- Herdwiyanti, M., Alisjahbana, B., & Santoso, P. (2021). Pola Dan Kepekaan Kuman Biakan Sputum Serta Karakteristik Pasien Pneumonia Di Rsup Dr. Hasan Sadikin Bandung. *Tunas Med J Ked & Kes*, 7(1).
- Hidjrawan Yusi. (2018). Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.) No Title. *Jurusan Teknik Industri*, 4(2), 78–82.
- Hudaya, I. R., Hasna, V. L., Valensia, R., Hermawan, K. A., Hartati, H., Hasanah, F. F., & Aida, F. (2022). Metode Validasi Analisis Metamfetamin Dalam Sampel Biologis. *Syntax Admiration*, 3(4).
- Husna, C. A. (2018). Peranan Protein Adhesi Matriks Ekstraselular Dalam Patogenitas Bakteri Staphylococcus Aureus. *Averrous: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikus Saleh*, 4(2), 99. <https://doi.org/10.29103/averrous.v4i2.1041>
- Ihsan, H., & Rahmi, N. (2017). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Dari Daun Bamban ( Donax Canniformis ) Untuk Formulasi Obat Dari Bahan Alam. 29–40.
- Ismiyati, N., Mardiyaningsih, A., Herdianti, S., Kesehatan, P., & Setya, B. (2021). Efek Antibakteri Fraksi Kloroform Dari Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi ( Pandanus Amaryllifolius Roxb ). *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*, 6(1), 37-43. Issn: 2579-938x.
- Kapelle, I. B. D., & Laratmase, M. S. (2015). Trimyristin Isolation From Nutmeg And Synthesis Of Methylester Using Heterogen Catalyst Isolasi Trimiristin Dari Biji Pala Dan Sintesis Metilester Menggunakan Katalis Heterogen. M, 160–165.
- Kartika, S., Husni, H., & Millah, S. (2019). Pengaruh Kualitas Sarana Dan Prasarana Terhadap Minat Belajar Siswa Dalam Pembelajaran Pendidikan

- Agama Islam. *Jurnal Penelitian Pendidikan Islam*, 7(1), 113. <https://doi.org/10.36667/jppi.v7i1.360>
- Khairun, M., Andriansyah, I., Emmawati, E., Kencana, U. B., No, J. S., Kidul, C., Panyileukan, K., & Barat, J. (2021). Review Jurnal : Analisis Kafein Pada Kopi Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi ( Kckt ) *Review Journal : Analysis Of Caffeine In Coffee Using Hplc Method*. 6(1), 26–33.
- Khalir, W. K. A. W. M., Shamel, K., Jazayeri, S. D., Othman, N. A., Jusoh, N. W. C., & Hassan, N. M. (2020). In-Situ Biofabrication Of Silver Nanoparticles In Ceiba Pentandra Natural Fiber Using Entada Spiralis Extract With Their Antibacterial And Catalytic Dye Reduction Properties. *Nanomaterials*, 10(6), 1–25. <https://doi.org/10.3390/nano10061104>
- Kirana, B. C. (1995). Bida Cincin Kirana Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Ekstrak Teraktif Daun Jengkol ( *Pithecollobium Labatum Benth*) Terhadap *Pseudomonas Aeruginosa* Atcc 27853. 43. 43–54.
- Kurniawati, E. (2017). Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan*, 2(2), 193-199.
- Kusuma, A. S. W., & Ismanto, R. M. H. (2016). Penggunaan Instrumen High-Performance Liquid Chromatography Sebagai Metode Penentuan Kadar Kapsaisin Pada Bumbu Masak Kemasan “Bumbu Marinade Ayam Special” Merek Sasa. *Jurnal Farmaka*, 14(2), 41–46.
- Kusuma, A. S. W., & Rosalina, G. (2016). Analisis Kadar Kapsaisin Dari Ekstrak “Bon Cabe” Dengan Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt). *Farmaka*, 14(2), 11–18.
- Lady Yunita Handoyo, D., & Pranoto, M. E. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54. <https://doi.org/10.35316/tinctura.v1i2.988>
- Lawani, V. C., Simbala, H. E. I., & Rotinsulu, H. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Dan Fraksi Alga *Turbinaria Ornata* ( Turner ) J . Argadh Dari Perairan Desa Tumbak , Minahasa Tenggara Terhadap *Staphylococcus Aureus* , *Escherichia Coli* Dan *Candida Albicans*. 8(November), 791–800.
- Liling, V. V., Lengkey, Y. K., Sambou, C. N., & Palandi, R. R. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Pepaya *Carica Papaya L.* Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium Acnes*. *Biofarmasetikal Tropis*, 3(1), 112–121. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i1.266>
- Loing. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Karang Lunak *Lobophytum Sp.* Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmacon*, 5(1), 1–10.
- Manawan, F. (2014). Aktivitas antibakteri dan karakterisasi senyawa *Spons Haliclona sp.* yang diperoleh dari Teluk Manado. *Pharmacon*, 3(4).
- Maradou, R. B., Losung, F., Mangindaan, R. E., Lintang, R. A., Pelle, W. E., & Sambali, H. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Spons Dari Perairan Salibabu Kepulauan Talaud. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 7(3), 234. <https://doi.org/10.35800/jplt.7.3.2019.24511>
- Matahari, C., Terhadap, L., & Simplisia, M. (2014). *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 6, No. 2, 2014. 6(2).



- Meisani, S., Aulia, N. H., Medica, P., Husada, F., & Medicine, T. (2008). : 2548 - 6365. 68–79.
- Mpila, D., Fatimawali, F., & Wiyono, W. (2012). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara in-vitro. *Pharmacon*, 1(1).
- Muhammad Titis B.M. , Dra. Enny Fachriyah, M.Si Dan Dra. Dewi Kusriani, M. S. (2013). Isolasi, Identifikasi Dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chem Info Journal*, 1(1), 196–201. [Http://Ejournal-S1.Undip.Ac.Id/Index.Php/Kimia/Article/View/1875](http://Ejournal-S1.Undip.Ac.Id/Index.Php/Kimia/Article/View/1875)
- Muiz, H. A., Wulandari, S., & Primadiamanti, A. (2021). Ethanol Extract Against *Staphylococcus Aureus* By Disc Diffusion Method. *Jurnal Analisis Farmasi*, 6(2), 84–89.
- Mulyadi, M., Wuryanti, W., & Sarjono, P. R. (2017). Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata Cylindrica*) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), 130–135. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.3.130-135>
- Nengsih, E. W., Oktavia, B., & Sri Benti Etika. (2013). Optimasi Analisa Kadar  $\beta$  Karoten Dalam Jagung (*Zea Mays* . L ) Dengan Metoda Hplc Terhadap Pengaruh Lama. 2(2), 59–64.
- Ningrum, J. P., Susilowati, F., & Artanti, L. O. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus* Benth ) Terhadap Kadar Kalium. 3(1).
- Njokuocha, R. C., & Ewenike, A. E. (2020). Antibacterial And Phytochemical Properties Of Crude Leaf Extracts Of *Moringa Oleifera* Lam., *Pterocarpus Santalinoides* L'herit De And *Ceiba Pentandra* L. On Some Clinical Bacterial Isolates In Nigeria. *Journal Of Complementary And Alternative Medical Research*, September, 1–15. <https://doi.org/10.9734/jocamr/2020/v10i430168>
- Noventi, W. R.-4272-2-P. Pdfa., & Carolia, N. (2016). Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L .) Sebagai Alternatif Terapi Acne Vulgaris The Potential Of Green Sirih Leaf (*Piper Betle* L .) For Alternative Therapy Acne Vulgaris. *Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, Vol. 5(1), Hal. 140.
- Nugroho, H. P., Fauziah, P. N., & Alislam, M. A. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L .) Pada Bakteri *Salmonella Typhi* Atcc 14028 Kolonisasi Bakteri Pada Epitel Kandung Kemih Dan Ureter Oleh *Staphylococcus Saprophyticus* Terjadi Melalui Beberapa Jenis Adhesin Yang Berb. *Open Journal System : Journal.Thamrin.Ac.Id*, 8(1), 88–101.
- Nurhasnawati, H., Handayani, F., & Samarinda, A. F. (2017). Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol (*Syzygium Malaccense* L .). 3(1), 91–95.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi



- Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Nurhidayati, S., Faturrahman, F., & Ghazali, M. (2015). DETEKSI BAKTERI PATOGEN YANG BERASOSIASI DENGAN *Kappaphycus alvarezii* (Doty) BERGEJALA PENYAKIT ICE-ICE. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(2), 24–30. <https://doi.org/10.29303/jstl.v1i2.53>
- Pdpi. (2003). *Pedoman Diagnosis & Penatalaksanaan Pneumonia Nosokomial Di Indonesia*. 1–16.
- Prasetyo, J. N. (2015). Potential Red Guava Juice In Patients With Dengue Hemorrhagic Fever. *J Majority*, 4(2), 25–29.
- Pratiwi, R. H. (2014). Potensi Kapuk Randu Dalam Penyediaan Obat Herbal. *Kesehatan Lingkungan*, 1(1), 53–60.
- Pratiwi, T. S. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga.
- Pujiyanto, S., Wijanarka, W., Raharjo, B., & Anggraeni, V. (2019). Aktivitas Inhibitor A-Amilase Ekstrak Etanol Tanaman Brotowali (*Tinospora Crispa* L.). *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 21(2), 91–99. <https://doi.org/10.14710/Bioma.21.2.91-99>
- Rahayu, S., Amaliah, N., & Patimah, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tabat Barito (*Ficus Deltoidea*) Terhadap Bakteri *Bacillus Substillis* Dengan Tingkatan Polaritas Pelarut. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(1), 34–45. <http://jurnalfarmasi.or.id/index.php/jrki/article/view/229>
- Rahmatilah, S., Asriwati, & Jamaluddin. (2020). Associated Nurser Behaviour And Compliance With The Use Of Self- Protective Equipment In Prevention Of Nosocomial Infections In Inpatient Room Dr. R. M Djoelham Binjai In 2020. *Journal Of Healthcare Technology And Medicine*, 6(2), 1142–1157.
- Rakasiwi, B. L., & Soegihardjo, C. J. (2014). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daging buah buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 dan *Escherichia coli* ATCC 25923. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas (Journal of Pharmaceutical Sciences and Community)*, 11(1).
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia Diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %. *Indonesian Journal Of Pharmacy And Natural Product*, 3(1), 8–18. <https://doi.org/10.35473/Ijpn.v3i1.481>
- Ramluckan, K., Moodley, K. G., & Bux, F. (2014). An Evaluation Of The Efficacy Of Using Selected Solvents For The Extraction Of Lipids From Algal Biomass By The Soxhlet Extraction Method. *Fuel*, 116, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.07.118>
- Refriana Setya Pratiwi, Tjiptasurasa Tjiptasurasa, R. W. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Nangka (*Artocarpus Heterophylla* Lmk.) Terhadap *Bacillus Subtilis* Dan *Escherichia Coli*. 08(03), 1–10.
- Revelliani, A., Nisrina, H., & Sari, L. K. (2022). Metode Validasi Golongan Obat Beta Blocker Dalam Plasma Darah Manusia Menggunakan Metode Hplc. 2(1), 13–19. <https://doi.org/10.36418/Comserva.v2i1.205>
- Rimporok, S., Kepel, B. J., & Siagian, K. V. (2015). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Binahong ( *Anredera Cordifolia* Steenis ) Terhadap Pertumbuhan

- Streptococcus Mutans Secara In Vitro. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi – Unsrat*, 4(4), 15–21.
- Riwanti, P., & Izazih, F. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% *Sargassum polycystum* dan Profile dengan Spektrofotometri Infrared. *Acta Holistica Pharmacia*, 2(1), 34–41.
- Rosydiati. (2019). Karakterisasi Puncak Kromatogram Dalam High Performance Liquid Chromatography (Hplc) Terhadap Perbedaan Fase Gerak, Laju Alir, Dan Penambahan Asam Dalam Analisis Indole Acetic Acid (Iaa). *Kandaga*, 1(2), 65–73.
- Sánchez-Gutiérrez, M., Bascón-Villegas, I., Rodríguez, A., Pérez-Rodríguez, F., Fernández-Prior, Á., Rosal, A., & Carrasco, E. (2021). Article Valorisation Of *Olea Europaea* L. Olive Leaves Through The Evaluation Of Their Extracts: Antioxidant And Antimicrobial Activity. *Foods*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/Foods10050966>
- Seyawati, A. (2018). Tata Laksana Kasus Batuk Dan Atau Kesulitan Bernafas : Literature Review. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 2008, 30–52.
- Silviani, Y., & Nirwana, A. P. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun ( *Artocarpus Altilis* ) Metode Perkolasi Terhadap *Pseudomonas* Telah Dilakukan Penelitian Untuk Mengetahui Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun Metode Perkolasi Dan Konsentrasi Optimal Ekstrak Daun . 7–12.
- Sinurat, A. A. P., Renta, P. P., Herliany, N. E., Negara, B. F., & Purnama, D. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumpun Laut *Gracilaria Edulis* Terhadap Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. *Jurnal Enggano*, 4(1), 105–114. <https://doi.org/10.31186/Jenggano.4.1.105-114>
- Sugiyono. (2013). Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif Dan R&D. Alfabeta.
- Sukmawati, S., Widiastuti, H., & Miftahuljanna, M. (2019). Analisis kadar kuersetin pada ekstrak etanol daun miana (*plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.) secara HPLC (High Performance Liquid Chromatography). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 11(1), 38-44.
- Suryanto, E., Irma Momuat, L., & Wehantouw, F. (2018). Phytochemical Composition And Antioxidant Activity Of Composite Flour From Banana, Corn And Sago. *International Journal Of Chemtech Research*, 11(8), 257–266. <https://doi.org/10.20902/Ijctr.2018.110832>
- Syamsudin, & Keban, S. A. (2013). Buku Ajar Farmakoterapi Gangguansaluran Pernapasan. Salemba Medika.
- Syamsul, E. S., Anugerah, O., & Supriningrum, R. (2020). Penetapan Rendamen Ekstrak daun Jambu Mawar Determination of Mawar Jambu Leaf Extract *Syzygium*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 147–157. Ergina, Nuryanti, S. dan Pursitasari, I.D., 2014. Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), pp.165-72.
- Umboh, P. M., Wewengkang, D. S., & Yamlean, P. V. Y. (2018). Aktivitas Antibakteri Fraksi Teripang Laut *Holothuria Atra* Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmakon*, 7(4), 88–97.
- Utami, R., Fernando, A., Sari, I. P., & Furi, M. (2017). Penetapan Kadar Berberin Dari Ekstrak Etanol Akar Dan Batang Sekunyit (*Fibraurea Tinctoria* Lour)



- Dengan Metode Kckt. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(2), 115.  
<https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.3.2.84>
- Viswanathan, M. B., Ananthi, J. J., & Venkateshan, N. (2018). Pharmacognostical Studies On The Leaves Of *Jatropha Tanjorensis*. *Research Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry*, 10(4), 291.  
<https://doi.org/10.5958/0975-4385.2018.00047.X>
- Wahid, R. A. H. (2020). Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Tanin Ekstrak Kulit Buah Delima Putih (*Punica Granatum L.*) Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt). *Indonesian Journal Of Pharmacy And Natural Product*, 3(2). <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v3i2.538>
- Warganegara, E. (2017). Pneumonia Nosokomial: Hospital-Acquired, Ventilator-Associated, Dan Health Care-Associated. *Jurnal Kedokteran Unila*, 1(3), 612–618.  
<http://jke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/jk/article/view/1729>
- Wells, B. G., DiPiro, J. T., Schwinghammer, T. L., & DiPiro, C. V. (2017). *Pharmacotherapy Handbook, Tenth Edition*. In McGraw-Hill Companies.
- Wijanarko, A. (2020). Standardisasi Simplisia Daun Ciplukan. *Jurnal Farmasetis*, 9(1), 31–40.
- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia Caseolaris L. Engl.*) *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79–83.
- Yanti, A., Mursiti, S., Widiarti, N., Nurcahyo, B., & Alauhdin, M. (2019). Optimalisasi Metode Penentuan Kadar Etanol Dan Metanol Pada Minuman Keras Oplosan Menggunakan Kromatografi Gas ( Kg ). *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 8(1), 54–59.  
<http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs%0aoptimalisasi>
- Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. (2016). Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*). *Jurnal Teknik Kimia*, 10, 58–64.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.annemergmed.2013.08.024>
- Zakiah, N., Meliyani, F., & Farmasi Poltekkes Kemenkes Aceh, J. (2021). Aktivitas Antibakteri Perasan Daun Randu (*Ceiba Pentandra (L.) Gaertn.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia*, Juni, 2021(1), 62–67.
- Zuraida, Lestari, E., Feby Fadillah, A., Prodi, A., Kesehatan, F., Kesehatan, U., Mohammad, H., & Thamrin, J. (2021). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amarylliaefolius Roxb*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa Atcc 27853*. *Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 7(2), 165–176.



## LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal Penelitian

JADWAL KEGIATAN		Bulan Ke-					TEMPAT
		1	2	3	4	5	
1.	Tahap Persiapan						
	a.	Persiapan Bahan	√				Laboratorium Botani KPB
	b.	Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	√				Komisi Etik Penelitian
2.	Tahap Penelitian						
	a.	Determinasi Tanaman	√				Laboratorium Materia Medika
	b.	Pembuatan Ekstrak	√				Laboratorium Botani KPB
	c.	Penentuan Kadar Dengan HPLC		√			Laboratorium LIPI
	d.	Pembuatan Larutan Uji dan Seri Konsentrasi Ekstrak		√			Laboratorium Botani KPB
	e.	Pengujian Pada Bakteri		√			Laboratorium Mikrobiologi KPB
3.	Tahap Penyelesaian						
	a.	Analisis dan Pengolahan Data		√	√		Laboratorium Botani KPB
	b.	Penyusunan Laporan Akhir			√	√	Laboratorium Botani KPB
	c.	Pengumpulan Laporan Akhir					√ Prodi S1 Farmasi KPB

## Lampiran 2. Perhitungan Bahan

**a. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji**

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 15\%} &= \frac{15 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 5 \text{ ml} \\ &= 0,75 \text{ g (dilarutkan dengan DMSO 2,5\% 5 ml)}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 25\%} &= \frac{25 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 5 \text{ ml} \\ &= 1,25 \text{ g (dilarutkan dengan DMSO 2,5\% 5 ml)}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 35\%} &= \frac{35 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 5 \text{ ml} \\ &= 1,75 \text{ g (dilarutkan dengan DMSO 2,5\% 5 ml)}\end{aligned}$$

**b. Perhitungan Pembuatan Kontrol Positif**

Kontrol positif menggunakan ciprofloxacin konsentrasi 0,0005% (5 $\mu$ g/ml)

$$5\mu\text{g} = 0,005 \text{ mg} = \text{Ciprofloxacin}$$

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

Kontrol positif yang akan dibuat sebanyak 5ml maka ciprofloxacin yang dibutuhkan ialah sebanyak 0,025 mg

**c. Perhitungan Pembuatan Kontrol Negatif**

Kontrol negatif menggunakan DMSO 2,5% sebanyak 100 ml dibuat dari DMSO 100%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

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

$$V_1 = 250\% \text{ ml} / 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

**d. Perhitungan Pembuatan Media**

**Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)**

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

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

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

**Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)**

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

$$= \frac{20}{1000} \times 500 \text{ ml}$$

$$= 10 \text{ g}$$

Lampiran 3. Surat Determinasi Tanaman



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 : LUQYANA SALSABILA  
NIM : 1913206023  
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 : Habitus: Pohon, tinggi dapat mencapai 60 m. Batang: Bulat, pangkal pokok batang 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 ± 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: Tunggal, 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

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
 KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL  
 MATERIA MEDICA BATU  
 UPT LABORATORIUM HERBAL  
 MATERIA MEDICA BATU  
 DINAS KESEHATAN  
 ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes  
 PEMBINA  
 NIP. 19680203 199203 1 004



## Lampiran 4. Surat Pembelian 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 : bblksurabaya.id; Surat elektronik : bblksurabaya@yahoo.co.id



Surabaya, 15 Februari 2023

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Luqyana Salsabila  
 Institusi : Prodi S1 Farmasi Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung  
 Tanggal surat permintaan : 02 Februari 2022  
 Keperluan : Penelitian skripsi

**Keterangan jenis strain**

Bakteri : *Pseudomonas aeruginosa*  
 ATCC : ATCC 27853  
 Passage : #4

Hasil Uji Biokimia bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 :

No	Jenis Uji	Hasil
1	Pengecatan Gram	Gram negatif batang
2	KIA	Alkali - Alkali Gas : Negatif (-) H2S : Negatif (-)
3	Glukosa	Negatif (-)
4	Laktosa	Negatif (-)
5	Sukrosa	Negatif (-)
6	Maltosa	Negatif (-)
7	Mannosa	Negatif (-)
8	Indol	Negatif (-)
9	Methyl Red	Negatif (-)
10	Voges Proskauer	Negatif (-)
11	Simon Citrat	Positif (+)
12	Urease	Positif (+)
13	Motility	Positif (+)
14	Lysin	Positif (+)
15	Oksidase Test	Positif (+)

Manajer Teknis

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



## Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



## a. Pembuatan simplisia

Gambar Awal	Gambar Akhir	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Daun randu awal : 2 kg</li> <li>• Susut pengeringan : 6,6%</li> <li>• % kadar air daun : 1,8%</li> </ul>

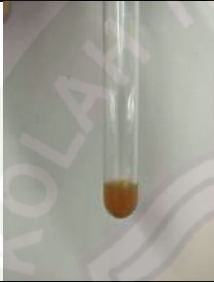
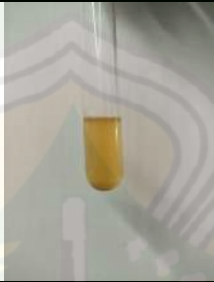



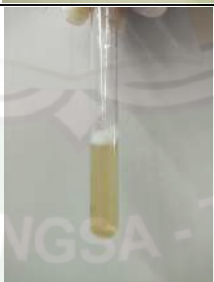


## b. Pembuatan ekstrak

Gambar Awal	Gambar Akhir	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tahap maserasi</li> <li>• Simplisia yang digunakan : 500g</li> <li>• Pelarut yang digunakan : 3750 ml etanol 70%</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tahap evaporasi</li> <li>• Total maserasi : 3680 ml</li> <li>• Hasil ekstrak : 259,82 g</li> </ul>

**c. Pemeriksaan karakteristik ekstrak**


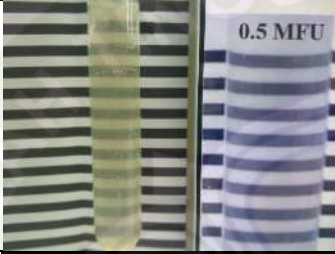
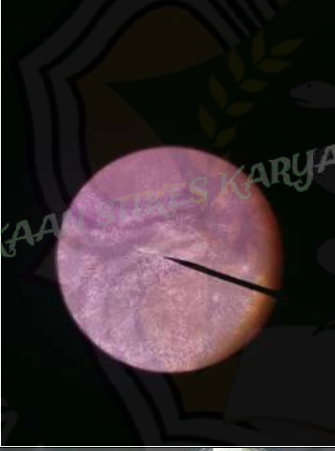
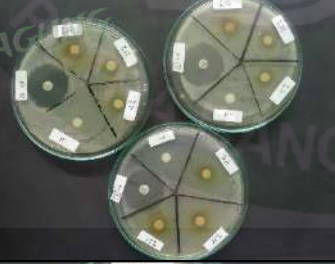
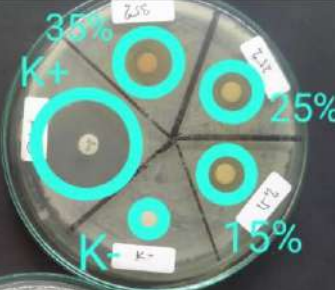
Gambar Awal	Gambar Akhir	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"><li>• Uji bebas etanol</li><li>• Hasil pengujian ekstrak bebas etanol karena hasil tidak terjadi perubahan warna</li></ul>

**d. Skrining fitokimia**

Gambar Awal	Gambar Akhir	Keterangan
		<ul style="list-style-type: none"><li>• Uji alkaloid</li><li>• Hasil +</li></ul>
		<ul style="list-style-type: none"><li>• Uji flavonoid</li><li>• Hasil +</li></ul>
		<ul style="list-style-type: none"><li>• Uji saponin</li><li>• Hasil +</li></ul>
		<ul style="list-style-type: none"><li>• Uji tannin</li><li>• Hasil +</li></ul>



## e. Pengujian aktivitas antibakteri

Gambar	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sterilisasi alat dan bahan</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pembuatan suspensi bakteri</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pewarnaan gram</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun randu</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hasil pengukuran zona hambat</li> </ul>

## Lampiran 6. Analisis Statistika

## a. Uji Normalitas

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Respon	K+	.219	3	.	.987	3	.780
	K-	.	3	.	.	3	.
	15%	.292	3	.	.923	3	.463
	25%	.219	3	.	.987	3	.780
	35%	.292	3	.	.923	3	.463

## b. Uji Homogenitas

Tests of Homogeneity of Variances					
		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
Respon	Based on Mean	3.214	4	10	.061
	Based on Median	1.104	4	10	.406
	Based on Median and with adjusted df	1.104	4	6.158	.432
	Based on trimmed mean	3.023	4	10	.071

## c. Uji Anova

ANOVA						
Respon		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between	Groups	1334.677	4	333.669	437.503	<,001
Within	Groups	7.627	10	.763		
Total		1342.304	14			

#### d. Uji Tukey Subset

		Respon				
		N	Subset			
Perlakuan			1	2	3	4
K-		3	.0000			
15%		3		13.3333		
Tukey	25%	3		14.6667	14.6667	
HSD <sup>a,b</sup>	35%	3			15.6667	
K+		3				29.7333
Sig.			1.000	.142	.339	1.000

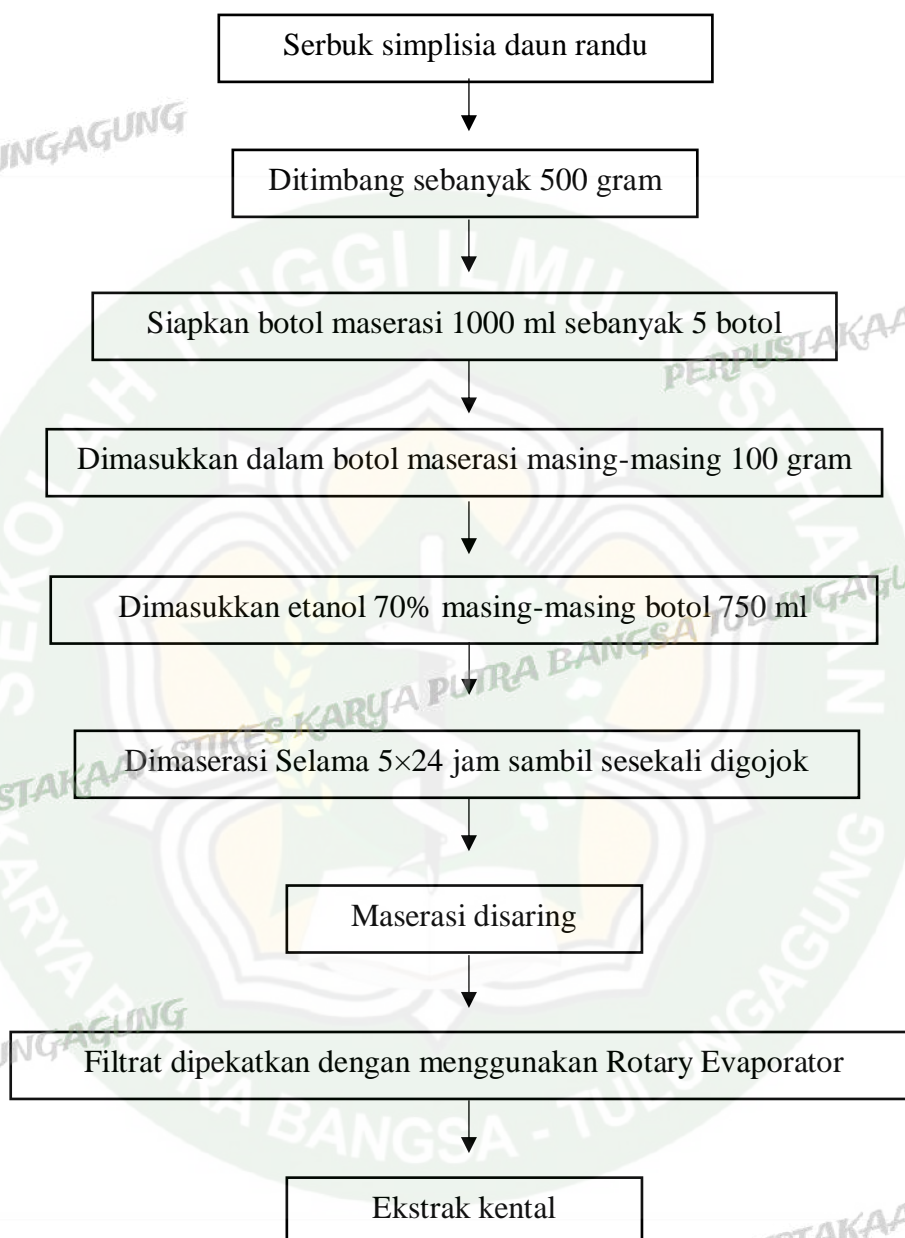
#### e. Uji Post Hock

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Respon						
Tukey HSD						
		Mean	95% Confidence Interval			
(I)	(J)	Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
K+	K-	29.7333*	.49621	<,001	28.0191	31.4476
	15%	16.4000*	.49621	<,001	14.6857	18.1143
	25%	15.0667*	.49621	<,001	13.3524	16.7809
	35%	14.0667*	.49621	<,001	12.3524	15.7809
K-	K+	-29.7333*	.49621	<,001	-31.4476	-28.0191
	15%	-13.3333*	.49621	<,001	-15.0476	-11.6191
	25%	-14.6667*	.49621	<,001	-16.3809	-12.9524
	35%	-15.6667*	.49621	<,001	-17.3809	-13.9524
15%	K+	-16.4000*	.49621	<,001	-18.1143	-14.6857
	K-	13.3333*	.49621	<,001	11.6191	15.0476
	25%	-1.3333	.49621	.142	-3.0476	.3809
	35%	-2.3333*	.49621	.010	-4.0476	-.6191
25%	K+	-15.0667*	.49621	<,001	-16.7809	-13.3524
	K-	14.6667*	.49621	<,001	12.9524	16.3809
	15%	1.3333	.49621	.142	-.3809	3.0476
	35%	-1.0000	.49621	.339	-2.7143	.7143
35%	K+	-14.0667*	.49621	<,001	-15.7809	-12.3524
	K-	15.6667*	.49621	<,001	13.9524	17.3809
	15%	2.3333*	.49621	.010	.6191	4.0476
	25%	1.0000	.49621	.339	-.7143	2.7143

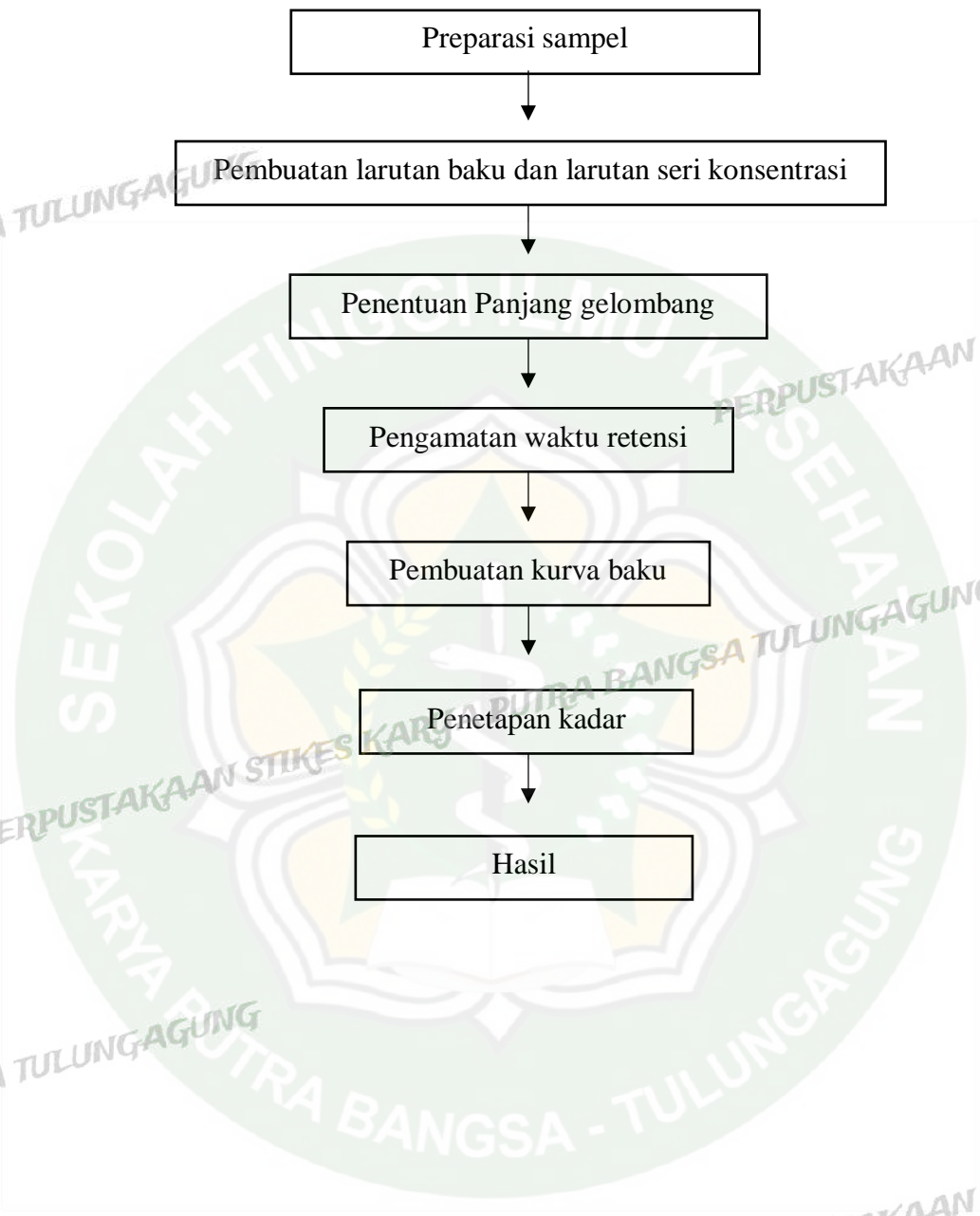


Lampiran 7. Alur Kerja

**a. Pembuatan Ekstrak Dengan Metode Maserasi**



### b. Pengujian Kadar Dengan HPLC



### c. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Randu

