

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAUN
KITOLOD (*Isotoma longiflora L*) TERHADAP BAKTERI
*Lactobacillus acidophilus***

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si) dalam Ilmu Kimia**



Oleh :

MAYA SUSILOWATI

NIM 1908036026

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO**

SEMARANG

2023

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAUN
KITOLOD (*Isotoma longiflora L*) TERHADAP BAKTERI
*Lactobacillus acidophilus***

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si) dalam Ilmu Kimia**

Oleh :

MAYA SUSILOWATI

NIM 1908036026

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Maya Susilowati

NIM : 1908036026

Jurusan : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kitolod
(*Isotoma longiflora L*) Terhadap Bakteri *Lactobacillus
acidophilus***

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian atau karya saya sendiri, kecuali bagian lain yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 26 September 2023

Pembuat pernyataan,

Maya Susilowati

NIM 1908036026

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun
Kitolod (*Isotoma longiflora L*) Terhadap
Bakteri *Lactobacillus acidophilus*
Penulis : **Maya Susilowati**
NIM : 1908036026
Jurusan : Kimia

Telah diajukan dalam sidang munaqasyah oleh Dewan Penguji
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat
diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana
dalam ilmu kimia.

Semarang, 30 Oktober 2023

DEWAN PENGUJI

Ketua sidang



Ana Mardiyah, M.Si

NIP: 19890525201903201

Sekretaris sidang

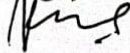


Dr. Ervin/Tri

Suryandari, S.Si., M.Si

197407162009122001

Penguji I



Dr. R. Arizal

Firmansyah, S.Pd., M.Si

NIP: 197908192009121001

Penguji II



Mulyatin, M.Si

NIP: 198305042011012008



Pembimbing I



Ana Mardiyah, M.Si

NIP 198905252019032019

NOTA DINAS

Semarang, 26 September 2023

Yth. Ketua Program Studi Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamualaikum wr.wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L) Terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus***

Nama : Maya Susilowati

NIM : 1908036026

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas UIN Walisongo Semarang untuk diajukan dalam sidang Munaqosyah.

Wassalamualaikum wr.wb.

Pembimbing I



Ana Mardliyah, M.Si

NIP 198905252019032019

Judul : **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora L*) Terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus***

Nama : Maya Susilowati

NIM : 1908036026

ABSTRAK

Kitolod (*Isotoma longiflora L*) merupakan salah satu tanaman herbal yang mengandung senyawa antibakteri. Senyawa metabolit yang terkandung antara lain alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kitolod (*Isotoma longiflora L*) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *Lactobacillus acidophilus* yang merupakan bakteri penyebab karies gigi. Metode pada penelitian ini yaitu uji daya hambat menggunakan metode kertas cakram dan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode dilusi cair menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol kitolod (*Isotoma longiflora L*) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi 25% tergolong lemah pada uji daya hambat karena terbentuk zona bening $3,495 \pm 1,348$ mm di sekitar kertas cakram dan nilai konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi 0,78% telah menghambat pertumbuhan bakteri.

Kata kunci: Kitolod, *Lactobacillus acidophilus*, Kertas cakram dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

TRANSLITERASI

Pedoman Transliterasi Arab-Latin yang digunakan dalam penulisan skripsi ini adalah pedoman transliterasi yang merupakan hasil Keputusan Bersama (SKB) Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia, Nomor: 158 Tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987. Di bawah ini daftar huruf-huruf Arab dan transliterasinya dengan huruf latin.

1. Konsonan

Huruf Arab	Nama	Huruf Latin	Nama
ا	Alif	Tidak dilambangkan	Tidak dilambangkan
ب	Ba	B	Be
ت	Ta	T	Te
ث	Ša	Š	Es (dengan titik diatas)
ج	Ja	J	Je
ح	Ĥa	Ĥ	Ha (dengan titik di bawah)
خ	Kha	Kh	Ka dan Ha
د	Dal	D	De

ذ	Žal	Ž	Zet (dengan titik diatas)
ر	Ra	R	Er
ز	Za	Z	Zet
س	Sa	S	Es
ش	Sya	SY	Es dan Ye
ص	Şa	Ş	Es (degan titik di bawah)
ض	Ḍat	Ḍ	De (dengan titik di bawah)
ط	Ṭa	Ṭ	Te (dengan titik di bawah)
ظ	Ẓa	Ẓ	Zet (dengan titik di bawah)
ع	‘Ain	‘	Apostrof terbalik
غ	Ga	G	Ge
ف	Fa	F	Ef
ق	Qa	Q	Qi
ك	Ka	K	Ka

ل	La	L	El
م	Ma	M	Em
ن	Na	N	En
و	Wa	W	We
هـ	Ha	H	Ha
ء	Hamzah	'	Apostrof
ي	Ya	Y	Ye

Hamzah (ء) yang terletak di awal kata mengikuti vokalnya tanpa diberi tanda apa pun. Jika hamzah (ء) terletak di tengah atau di akhir, maka ditulis dengan tanda (').

2. Vokal

Vokal bahasa Arab, seperti vokal bahasa Indonesia, terdiri atas vokal tunggal atau monoftong dan vokal rangkap atau diftong. Vokal tunggal bahasa Arab yang lambangnya berupa tanda atau harakat, transliterasinya sebagai berikut:

Huruf Arab	Nama	Huruf Latin	Nama
اَ	Fathah	A	A
اِ	Kasrah	I	I
اُ	Dammah	U	U

Vokal rangkap bahasa Arab yang lambangnya berupa gabungan antara harakat dan huruf, transliterasinya berupa gabungan huruf, yaitu:

Tanda	Nama	Huruf Latin	Nama
أَيّ	Fathah dan ya	Ai	A dan I
أَوْ	Fathah dan wau	Iu	A dan U

Contoh:

كَيْفَ : *kaifa*

هَوُلَ : *haula*

3. Maddah

Maddah atau vokal panjang yang lambangnya berupa harkat dan huruf, transliterasinya berupa huruf dan tanda, yaitu:

Huruf dan Harakat	Nama	Huruf dan Tanda	Nama
ا - اَ - اِ	Fathah dan alif atau ya	ā	a dan garis di atas
يَ	Kasrah dan ya	ī	i dan garis di atas

و	Dammah dan wau	ū	u dan garis di atas
---	-------------------	---	------------------------

Contoh:

مَاتَ : *māta*

رَمَى : *ramā*

قِيلَ : *qīla*

يَمُوتُ : *yamūtu*

4. Ta Marbūṭah

Transliterasi untuk ta marbūṭah ada dua, yaitu: ta 87 marbūṭah yang hidup atau mendapat harkat faṭḥah, kasrah, dan ḍammah, transliterasinya adalah [t], sedangkan ta marbūṭah yang mati atau mendapat harkat sukun, transliterasinya adalah [h]. Jika pada kata yang berakhir dengan ta marbūṭah diikuti oleh kata yang menggunakan kata sandang al- serta bacaan kedua kata itu terpisah, maka ta marbūṭah itu ditransliterasikan dengan ha (h). Contoh:

رَوْضَةُ الْأَطْفَالِ : *rauḍah al-atfal*

الْمَدِينَةُ الْفَضِيلَةُ : *al-madinah al-fadilah*

الْحِكْمَةُ : *al hikmah*

5. Syaddah (Tasydīd)

Syaddah atau tasydīd yang dalam sistem tulisan Arab dilambangkan dengan sebuah tanda tasydīd, dalam transliterasi ini dilambangkan dengan perulangan huruf (konsonan ganda) yang diberi tanda syaddah. Contoh:

رَبَّنَا	: rabbanā
نَجَّيْنَا	: najjainā
الْحَقُّ	: al-haqq
الْحَجُّ	: al-hajj
نُعَمُّ	: nu''ima
عَدُوٌّ	: 'aduwwun

Jika huruf ع ber- tasydīd di akhir sebuah kata dan didahului oleh huruf berharakat kasrah, maka ditransliterasi seperti huruf maddah (ī). Contoh:

عَلِيٍّ	: ' Alī (bukan 'Aliyy atau 'Aly)
عَرَبِيٍّ	: Arabī (bukan 'Arabiyy atau 'Araby)

6. Kata Sandang

Kata sandang dalam sistem tulisan Arab dilambangkan dengan huruf ال (alif lam ma'arifah). Dalam pedoman transliterasi ini, kata sandang ditransliterasi seperti biasa, al-, baik ketika ia diikuti oleh huruf syamsiah maupun

huruf qamariah. Kata sandang tidak mengikuti bunyi huruf langsung yang mengikutinya. Kata sandang ditulis terpisah dari kata yang mengikutinya dan dihubungkan dengan garis mendatar (-).

Contohnya:

الشَّمْسُ : *al-syamsu* (*bukan asy-syamsu*)

الزَّلْزَلَةُ : *al-zalzalalah* (*bukan az-zalzalalah*)

الفَلْسَفَةُ : *al-falsafah*

الْبِلَادُ : *al-biladu*

7. Hamzah

Aturan transliterasi huruf hamzah menjadi apostrof (') hanya berlaku bagi hamzah yang terletak di tengah dan akhir kata. Namun, bila hamzah terletak di awal kata, tidak dilambangkan, karena dalam tulisan Arab berupa alif.

Contohnya:

تَأْمُرُونَ : *ta'muruna*

النَّوْءُ : *al-nau'*

سَيِّئٌ : *syai'un*

أَمْرٌ : *umirtu*

8. Penulisan Kata Arab yang Lazim digunakan dalam Bahasa Indonesia

Aturan transliterasi huruf hamzah menjadi apostrof (') hanya berlaku bagi hamzah yang terletak di tengah dan

akhir kata. Namun, bila hamzah terletak di awal kata, tidak dilambangkan, karena dalam tulisan Arab berupa alif.

Contohnya:

Fī zilāl al-Qur'ān

Al-Sunnah qabl al-tadwīn

Al-'Ibārāt Fī 'Umūm al-Lafz lā bi khusūṣ al-sabab

9. Lafz al-Jalālah

Kata “Allah” yang didahului partikel seperti huruf jarr dan huruf lainnya atau berkedudukan sebagai muḍāf ilaih (frasa nominal), ditransliterasi tanpa huruf hamzah.

Contoh:

دِينُ اللَّهِ : *dīnullāh*

Adapun ta marbūṭah di akhir kata yang disandarkan kepada lafz al-jalālah, ditransliterasi dengan huruf [t].

Contoh:

هُمُ فِي رَحْمَةِ اللَّهِ : *hum fī raḥmatillāh*

10. Huruf Kapital

Walau sistem tulisan Arab tidak mengenal huruf kapital (*All Caps*), dalam transliterasinya huruf-huruf tersebut dikenai ketentuan tentang penggunaan huruf kapital berdasarkan Pedoman Umum Ejaan Bahasa Indonesia (PUEBI). Huruf kapital, misalnya, digunakan untuk menuliskan huruf awal nama diri (orang, tempat,

bulan) dan huruf pertama pada permulaan kalimat. Bila nama diri didahului oleh kata sandang (al-), maka yang ditulis dengan huruf kapital tetap huruf awal nama diri tersebut, bukan huruf awal kata sandangnya. Jika terletak pada awal kalimat, maka huruf A dari kata sandang tersebut menggunakan huruf kapital (Al-). Ketentuan yang sama juga berlaku untuk huruf awal dari judul referensi yang didahului oleh kata sandang al-, baik ketika ia ditulis dalam teks maupun dalam catatan rujukan (CK, DP, CDK, dan DR). Contoh:

Wa mā Muḥammadun illā rasūl

*Inna awwala baitin wuḍi'a linnāsi lallaẓī bi Bakkata
mubārakan*

Syahru Ramaḍān al-laẓī unzila fīh al-Qur'ān

Naṣīr al-Dīn al-Ṭūs

Abū Naṣr al-Farābī

Al-Gazālī

Al-Munqiz min al-Ḍalāl

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat, taufik, hidayah dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L) Terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus*” dengan segala kemudahan yang diberikannya. Shalawat dan salam semoga selalu tercurahkan pada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, para sahabat dan pengikutnya yang telah memberikan suri teladan pada kehidupan.

Selanjutnya penulis ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang sudah banyak membantu penulis hingga sanggup menyelesaikan skripsi ini. Penulis mengakui hanyalah sebatas manusia yang tidak luput dari kesalahan, sehingga dalam penulisan skripsi ini pun sangat terbantu atas bimbingan, arahan, motivasi dari beberapa pihak. Melalui penghantar ini, penulis ingin mengungkapkan rasa terima kasih kepada para pihak yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini terutama kepada :

1. Ibu Kholidah, M.Sc selaku dosen wali yang telah membimbing, meluangkan waktu dari semester awal hingga saat ini.

2. Ibu Ana Mardiyah, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan serta arahan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak dan Ibu dosen penguji munaqosah Dr. Ervin Tri Suryandari, S.Si., M.Si, Dr. R Arizal Firmansyah, S.Pd., M.Si, dan Mulyatun, M.Si, yang telah memberikan saran untuk perbaikan skripsi yang lebih baik.
4. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Kimia UIN Walisongo Semarang yang telah memberikan ilmu dan pengalaman kepada penulis, semoga ilmu yang diberikan dapat bermanfaat, berkah dan menjadi ladang pahala.
5. Bapak Juman dan Alm Ibu Sarwiyati tersayang yang selalu memberikan cinta dan kasih sayang, semangat, dukungan, doa yang tidak pernah putus dan nasehat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan penuh tanggung jawab.
6. Sahabat saya Rahma Dona, Sri Wulandari, Widia Setyawati, Sherly Oktaviani, Rara Novita Devitri dan Aliatun Ifani yang selalu mendukung dan mendengarkan keluh kesah saya selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
7. Sahabat seperjuangan Annisa, Audy, Hervintari, Titin dan Rian yang selalu menemani dari awal penelitian hingga selesai.

8. Teman-teman Kimia angkatan 2019 yang selalu memberikan semangat dan motivasi selama masa perkuliahan hingga akhir penelitian ini.
9. Johnny Suh yang selalu menemani saya dalam proses penelitian sampai selesainya skripsi ini dengan memberikan motivasi yang membuat saya tetap semangat.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan masih banyak yang perlu diperbaiki, sehingga penulis mengharap saran dan kritik konstruktif dari pembaca demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan para pembaca.

Semarang, 26 September 2023

Maya Susilowati
NIM 1908036026

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	iii
PENGESAHAN	v
NOTA DINAS	v
ABSTRAK	vii
TRANSLITERASI	viii
KATA PENGANTAR	xvii
DAFTAR ISI	xx
DAFTAR TABEL	xxii
DAFTAR GAMBAR	xxiii
DAFTAR LAMPIRAN	xxiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	8
C. Tujuan Penelitian.....	8
D. Manfaat Penelitian	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
A. Kitolod (<i>Isotoma longiflora L</i>)	10
B. Metabolit Sekunder pada Kitolod	12
C. Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	20
D. Karies Gigi.....	22
E. Antibakteri	25
F. Ekstraksi.....	31
G. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	35

H. Spektrofotometer UV-Vis.....	37
I. Penelitian Terdahulu.....	42
J. Hipotesis.....	51
BAB III METODE PENELITIAN.....	52
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	52
B. Alat dan Bahan.....	52
C. Cara Kerja	53
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	67
A. Ekstraksi <i>Isotoma longiflora</i> L.....	67
B. Uji Fitokimia	69
C. Uji Antibakteri.....	83
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	95
A. Kesimpulan	95
B. Saran.....	96
DAFTAR PUSTAKA	97
LAMPIRAN.....	108
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	126

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Range Daya Hambat.....	29
Tabel 2. 2 Ringkasan Penelitian Terdahulu.....	48
Tabel 3. 1 Pembuatan Variasi Konsentrasi.....	62
Tabel 4. 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kitolod	70
Tabel 4. 2 Hasil Uji Daya Hambat	88
Tabel 4. 4 Hasil Uji KHM.....	92

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tumbuhan Kitolod	11
Gambar 2. 2 Alkaloid Isolat <i>Lobelia chinensis</i> Lour.....	13
Gambar 2. 3 Flavonoid Isolat <i>Lobelia chinensis</i> Lour.....	15
Gambar 2. 4 Saponin <i>Platycodon grandiflorus</i>	16
Gambar 2. 5 Steroid Isolat <i>Lobelia chinensis</i> Lour	18
Gambar 2. 6 Tanin Isolat <i>Platycodon grandiflorum</i>	19
Gambar 2. 7 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	21
Gambar 2. 8 Spektrofotometer UV-Vis <i>Single Beam</i>	40
Gambar 2. 9 Spektrofotometer UV-Vis <i>Double Beam</i>	41
Gambar 4. 1 Ekstrak Kental <i>Isotoma longiflora</i> L	69
Gambar 4. 2 Hasil Uji Alkaloid.....	71
Gambar 4. 3 Reaksi Uji Alkaloid	72
Gambar 4. 4 Inti Piperidin	73
Gambar 4. 5 Hasil Uji Flavonoid	74
Gambar 4. 6 Reaksi Uji Flavonoid	74
Gambar 4. 7 Substituen pada Flavonoid	75
Gambar 4. 8 Hasil Uji Terpenoid/Steroid.....	77
Gambar 4. 9 Steroid <i>L. chinensis</i> Lour	77
Gambar 4. 10 Hasil Uji Tanin.....	78
Gambar 4. 11 Reaksi Uji Tanin	79
Gambar 4. 12 Reaksi tanin dengan Protein.....	80
Gambar 4. 13 Hasil Uji Saponin.....	81
Gambar 4. 14 Reaksi Uji Saponin	82
Gambar 4. 15 Aglikon Triterpenoid.....	83
Gambar 4. 16 Larutan Mc Farland dan Suspensi Bakteri.....	85
Gambar 4. 17 Hasil Uji Daya Hambat.....	87
Gambar 4. 18 Hasil Uji KHM	91

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan.....	108
Lampiran 2 Tabel Data Penelitian.....	115
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian	118

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Karies gigi telah menjadi permasalahan kesehatan utama yang dihadapi di Indonesia. Karies gigi dapat muncul akibat fermentasi karbohidrat oleh mikroba yang ada dalam mulut, hal ini menunjukkan keterkaitan erat antara penyakit mulut dan mikroorganisme dalam rongga mulut. Lebih dari 750 spesies bakteri yang hidup di dalam mulut, beberapa di antaranya terlibat dalam penyakit mulut (Misrulloh *et al.*, 2017). Bakteri utama yang memiliki peran penting dalam karies gigi adalah *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) dan *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) (Bilqis, Erlita & Putri, 2018).

Pengobatan karies gigi dapat dilakukan salah satunya dengan menggunakan obat kumur yang mengandung *chlorhexidine*. Penggunaan obat kumur yang mudah dan dapat digunakan sehari-hari untuk menjaga kebersihan mulut, tetapi penggunaan *chlorhexidine* secara terus menerus dapat menyebabkan perubahan warna gigi (Deus dan Ouanounou, 2022). Obat kumur *chlorhexidine* efek negatif yang ditimbulkan yaitu, perubahan warna selaput lendir dan gigi, peningkatan pembentukan kalkus, gangguan rasa dan sensasi terbakar, maka dari itu obat

kumur alternatif yang menggunakan bahan alam yang memiliki kandungan antibakteri diperlukan, memiliki efek yang minimal dan harga yang lebih terjangkau (Luthfiyani, Pujiastuti & Aris, 2019).

Penggunaan tumbuhan dalam pengobatan tradisional telah menjadi bagian integral dalam kehidupan masyarakat Indonesia selama berdekade-dekade. Ragam bagian tumbuhan termasuk obat telah dibuat dari akar, umbi, batang, daun, bunga, kulit kayu, dan biji dengan berbagai manfaat kesehatan (Hamidy *et al.*, 2016). Kitolod yang merupakan tanaman herbal, tersebar pada daerah subtropis maupun tropis. Kitolod mempunyai tinggi batang 9 – 35 cm dengan daun berwarna hijau dan bergerigi pada tepinya, memiliki bunga berwarna putih dengan biji di dalamnya yang berwarna coklat kemerahan (Paramita *et al.*, 2015).

Kitolod mempunyai manfaat seperti mengatasi gangguan katarak, mengobati kebutaan karena katarak, antivirus, antibakteri (Fazil *et al.*, 2017). Daun dan bunga digunakan untuk mengurangi peradangan dan infeksi, tanaman kitolod mengandung zat antibakteri seperti flavonoid, alkaloid dan saponin (Wardani, Nisa & Artini, 2022). Mengembangkan tanaman ini cukup mudah, dan reproduksi dapat dilakukan dengan biji-bijinya. Perawatan

tanaman ini juga tidak rumit, hanya dengan dilakukan penyiraman yang cukup untuk menjaga kelembaban (Herdianto, Hazar & Fitriyaningsih, 2016).

Pemanfaatan antibakteri merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk membatasi aktifitas *Lactobacillus acidophilus*. Zat antibakteri yang berbahan alami yang mudah diperoleh yaitu Kitolod (*Isotoma longiflora L.*), penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak kitolod telah banyak dilakukan. Ekstrak daun kitolod membatasi perkembangan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 14,3 mm sedangkan ekstrak bunga kitolod menghambat *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Angganawati dan Nisa, 2019; Aprilia, Sari & Nurhayati, 2022), kandungan ekstrak kitolod alkaloid dan flavonoid menghambat *Streptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis* pada ekstrak daun kitolod yang mengandung steroid, flavonoid, saponin dan alkaloid menghambat bakteri *Shigella sonnei* dimana zona hambat 20,50 mm (Fazil *et al.*, 2017; Rabbaniyyah, Estikomah & Artanti, 2021).

Penelitian pada tumbuhan yang masih satu famili dengan kitolod (Campanulaceae) diidentifikasi bahwa *Lobelia chinensis Lour* memiliki metabolit sekunder yaitu alkaloid piperiden, terpenoid dan flavonoid. Ekstrak

metanol akar, batang, daun dan biji *Platycodon grandiflorum* (Campanulaceae) diidentifikasi memiliki kandungan metabolit sekunder berupa triterpenoid, flavonoid, steroid, fenol, alkaloid dan tanin. *Campanula portenschlagiana* (Campanulaceae) yang mengandung triterpenoid, alkaloid dan saponin memiliki efek antibakteri yang sangat kuat terhadap berbagai jenis yaitu *Bacillus cereus* ($24,8 \pm 1,5$ mm), *Enterococcus faecalis* ($19,6 \pm 0,9$ mm), *Staphylococcus aureus* ($21,4 \pm 2,3$ mm), *Clostridium perfringens* ($21,8 \pm 3,2$ mm), *Listeria monocytogenes* ($22,8 \pm 0,9$ mm), *Escherichia coli* ($24,7 \pm 0,6$ mm), *Klebsiella pneumonia* ($27,9 \pm 1,7$ mm), *Pseudomonas aeruginosa* ($28,3 \pm 2,4$ mm). Alkaloid piperiden yang ditemukan dalam tanaman *piper nigrum* memiliki efek pada bakteri *Lactobacillus sp.*, *Platycodon grandiflorus* (Campanulaceae) mempunyai saponin teriterpenoid Platycodin D yang berperan sebagai agen antibakteri. (Folquitto *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2017; Politeo *et al.*, 2013; Jogaiah dan Abdelrahman, 2019; Xie *et al.*, 2023;).

Ekstrak kitolod dilihat dari penelitian (Angganawati dan Nisa, 2019; Aprilia, Sari & Nurhayati, 2022; Fazil *et al.*, 2017; Rabbaniyyah, Estikomah & Artanti, 2021) dimana ekstrak daun dan bunga kitolod telah menghambat berbagai bakteri dan didukung juga dengan

kajian satu famili (Politeo *et al.*, 2013) memiliki bioaktivitas yang kuat terhadap berbagai bakteri, tetapi dalam penelitian sebelumnya tidak menguji bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Walaupun aktivitas antibakterinya bervariasi dari aktivitas lemah hingga kuat dibandingkan kontrol positif, tidak menutup kemungkinan bahwa daun kitolod memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Lactobacillus acidophilus*. Aktivitas antibakteri pada kajian satu famili tersebut dan pada daun Kitolod sendiri dapat diketahui dengan melalui metode ekstraksi maserasi (Wardani, Nisa & Artini, 2022; Angganawati dan Nisa, 2019; Aprilia, Sari & Nurhayati, 2022; Fazil *et al.*, 2017; Rabbaniyyah, Estikomah & Artanti, 2021).

Oleh karena itu, langkah awal dalam penelusuran aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan maserasi. Pada metode maserasi, pemilihan pelarut sangat penting karena kepolaran pelarut erat kaitannya dengan kepolaran senyawa metabolit sekunder yang akan diekstrak. Penelitian Fazil *et al.*, (2017); Folquitto *et al.*, (2019); Wang *et al.*, (2017) mengestraksi menggunakan pelarut metanol untuk senyawa metabolit alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, fenol dan tanin. Dipilih pelarut metanol diharapkan senyawa metabolit yang lebih polar dapat terambil secara maksimal.

Setelah tahap maserasi dilakukan, maka selanjutnya dilakukan pengujian antibakteri. Pengujian antibakteri ini pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode cakram karena prosesnya persiapan mudah dan dapat dilakukan untuk banyak sampel (Nurhayati, Yahdiyani & Hidayatulloh, 2020) dan dilanjutkan dengan menentukan nilai Konsentrasi Hambat minimum (KHM) metode ini berguna untuk mengukur tingkat inhibisi yang dapat dicapai oleh senyawa atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Sari, Apridamayanti & Pratiwi, 2022).

Berdasarkan kajian aktivitas antibakteri pada satu famili dan daun kitolod dengan jenis bakteri yang berbeda, maka penelitian ini mengkaji tentang aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun Kitolod (*Isotoma longiflora L*) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*". Uji aktivitas antibakteri digunakan metode cakram (mengukur zona hambat) dan metode delusi (menentukan konsentrasi hambat minimum).

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, dapat dikatakan bahwa adanya bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang menyebabkan karies gigi, menstimulasi manusia untuk berupaya mencari solusi terhadap karies gigi. Pola

pandang yang seperti ini tersirat didalam Al-Qur`an Surat Al-Baqarah ayat 26 :

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۗ فَأَمَّا
 الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا
 فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۗ بَلْ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ
 كَثِيرًا ۗ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ۗ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini ?” dengan (perumpamaan) itu banyak orang disesatkan-Nya. Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik”.

B. Rumusan Masalah

1. Identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol daun kitolod (*Isotoma longiflora L*).
2. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kitolod (*Isotoma longiflora L*) terhadap *Lactobacillus acidophilus*.
3. Nilai konsentrasi hambat minimum ekstrak metanol daun kitolod (*Isotoma longiflora L*) terhadap *Lactobacillus acidophilus*.

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak metanol daun kitolod (*Isotoma longiflora L*).
2. Untuk mengetahui diameter zona hambat minimum ekstrak metanol daun kitolod (*Isotoma longiflora L*) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.
3. Untuk menentukan nilai konsentrasi hambat minimum ekstrak metanol kitolod (*Isotoma longiflora L*) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai potensi daun kitolod (*Isotoma longiflora L*) serta senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora L*) dan aktivitas terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kitolod (*Isotoma longiflora* L)

Penggunaan tumbuhan dalam pengobatan tradisional telah menjadi bagian integral dalam kehidupan masyarakat Indonesia selama berdekade-dekade. Ragam bagian tumbuhan termasuk obat telah dibuat dari akar, umbi, batang, daun, bunga, kulit kayu, dan biji dengan berbagai manfaat kesehatan. Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk lebih dari 30.000 spesies tanaman. Dari jumlah tersebut, sekitar 940 spesies diketahui memiliki potensi sebagai obat atau digunakan sebagai bahan dalam pengobatan. Indonesia memiliki keragaman hayati terbesar di dunia setelah Brazil, terutama tersebar di pulau-pulau besar. Potensi besar terdapat dalam pengembangan kekayaan hayati ini (Hamidy *et al.*, 2016).

Tanaman kitolod berasal dari wilayah Hindia Barat dan dapat dijumpai di pulau Jawa. Tanaman ini biasanya tumbuh didaerah yang lembab, di dataran rendah pada ketinggian hingga 110 meter di atas permukaan laut. Kitolod sering terdapat di daerah sekitar tanah pinggir, parit berawa dibawah pagar dan struktur bangunan tua (Herdianto, Hazar & Fitriainingsih, 2016).

Tanaman kitolod telah terbukti memiliki kegunaan dalam pengobatan tradisional, termasuk sebagai pengobatan anti kanker, obat mata, bronkitis, radang tenggorokan, luka, antineoplastik, anti inflamasi, hemostatik dan analgesik (Hariana, 2007). Menurut Hamidy *et al.*, (2016) tumbuhan kitolod secara taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)

Divisi : *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)

Kelas : *Magnoliopsida* (Berkeping dua/dikotil)

Sub Kelas : *Asteridae*

Ordo : *Campanulales*

Famili : *Campanulaceae*

Genus : *Isotoma*

Spesies : *Isotoma longiflora* (L) Presl



Gambar 2. 1 Tumbuhan Kitolod
(*Sumber : dokumen pribadi, 2022*)

Tanaman ini memiliki beberapa nama lain, seperti *ster ven Bethlehem* (Belanda), *Ma zui cao* (China), *pau hoku* (Hawaiian), *etoile de Bethleem* (Perancis), Daun tolod (Sunda), Daun kendali (Jawa), dan Lidah payau (Melayu) (Kusumawardhani, 2020). Kitolod adalah tanaman obat umum yang ditemukan di daerah tropis dan subtropis yang berasal dari Jamaika. Tanaman kitolod memiliki batang dengan tinggi berkisar antara 9 hingga 35 cm. Daunnya memiliki tepi yang tajam dan berwarna hijau dengan ukuran panjang sekitar 7 hingga 16 cm dan lebar 1 hingga 3,7 cm. Bunga kitolod memiliki mahkota berwarna putih, dan bijinya berwarna coklat kemerahan (Paramita, Yum & Teruna, 2015). Mengembangkan tanaman ini cukup mudah, dan reproduksi dapat dilakukan dengan biji-bijinya. Perawatan tanaman ini juga tidak rumit, hanya dengan dilakukan penyiraman yang cukup untuk menjaga kelembaban (Herdianto, Hazar & Fitriainingsih, 2016).

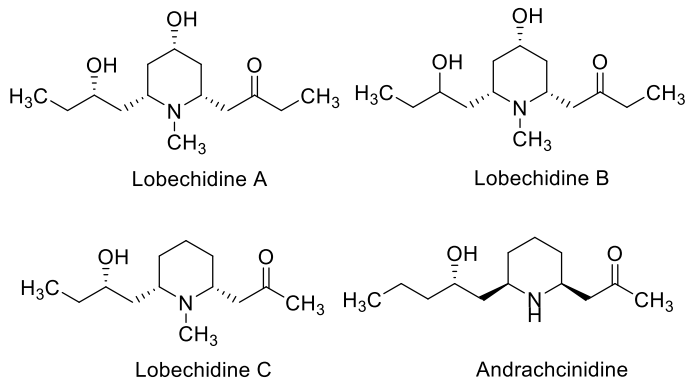
B. Metabolit Sekunder pada Kitolod

Berdasarkan kajian terdahulu ekstrak kitolod berdasarkan satu famili memiliki metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, terpenoid, fenol dan tanin (Wang *et al.*, 2017; Folquitto *et al.*, 2019). Pada penelitian sebelumnya tidak ada yang menyatakan

aktivitas antibakteri disebabkan oleh kelas metabolit sekunder tertentu, walaupun demikian penemilian ini mengkaji literatur secara SAR (*Structure-Activity Relationship*).

1. Alkaloid

Tumbuhan *Lobelia chinensis* Lour merupakan salah satu famili dari Campanulaceae sama dengan tumbuhan kitolod, tubuhan *Lobelia chinensis* Lour telah dilakukan isolat dan didapatkan yang berupa alkaloid piperidin **Gambar 2.2** (Folquitto *et al.*, 2019).



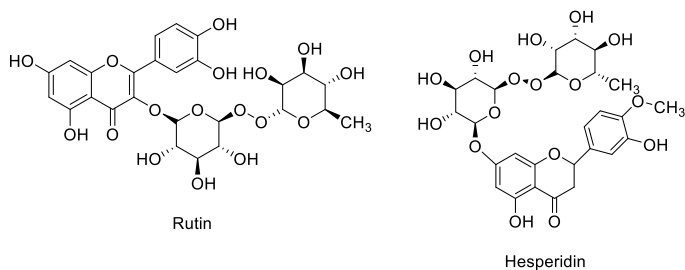
Gambar 2. 2 Struktur Alkaloid Isolat *Lobelia chinensis* Lour (Folquitto *et al.*, 2019)

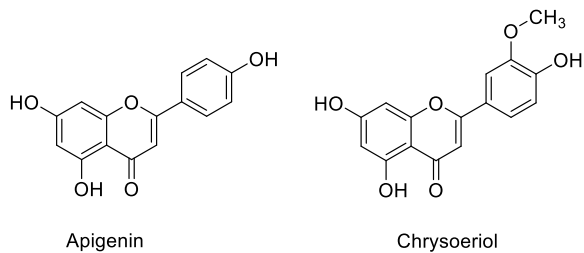
Kandungan alkaloid yang terdapat dalam tanaman memiliki banyak manfaat, termasuk dalam bidang obat-obatan. Tanaman telah lama diakui

sebagai sumber utama alkaloid, beberapa alkaloid yang sangat terkenal, seperti morfin, kina, *strychnine*, dan kokain ditemukan dalam tumbuhan (Rivai, 2020). Beberapa dekade terakhir, minat terhadap berbagai alkaloid alami yang berasal dari tumbuhan atau tanaman obat meningkat secara signifikan karena khasiatnya sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang sangat baik. Selain itu, dilaporkan bahwa alkaloid juga memiliki potensi dalam mengurangi peradangan (Peng *et al.*, 2019).

2. Flavonoid

Flavonoid dalam tumbuhan *Lobelia chinensis Lour* yang termasuk dalam famili campanulaceae yang juga family dari tanaman *Isotoma longiflora L* (kitolod). Flavanoid isolat yang ditemukan dalam *Lobelia chinensis Lour*, Seperti pada **Gambar 2.3** (Folquitto *et al.*, 2019).



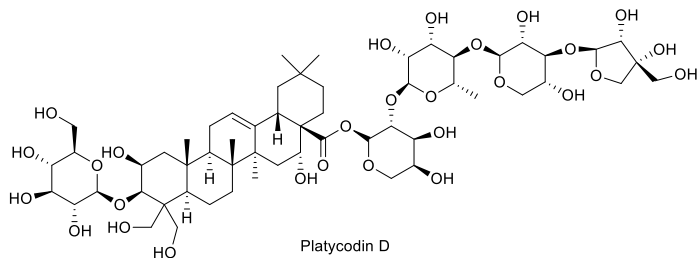


Gambar 2. 3 Struktur Flavonoid Isolat *Lobelia chinensis* Lour
(Folquitto *et al.*, 2019)

Flavonoid memiliki kemampuan yang luas dalam melawan berbagai jenis bakteri. Mekanisme kerjanya melibatkan pengurangan kekebalan atau resistensi pada organisme yang menjadi targetnya. Hal ini memungkinkan flavonoid untuk efektif dalam menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri (Naidu, 2000). Flavonoid memiliki kemampuan untuk mengganggu aktivitas enzim transpeptidase peptidoglikan, yang bertugas membangun dinding sel bakteri. Hal ini mengakibatkan gangguan dalam pengembangan dinding sel, yang mencegah bakteri menahan tekanan osmotik internal yang tinggi, yang dapat berkisar dari 5 hingga 20 atmosfer. Tekanan ini cukup untuk menyebabkan pecahnya sel bakteri jika dinding sel mengalami kerusakan (Cowan, 1999).

3. Saponin

Saponin dalam tumbuhan *Platycodon grandiflorus* yang termasuk dalam famili Campanulaceae yang juga family dari tanaman *Isotoma longiflora* L (kitolod). Saponin dalam *Platycodon grandiflorus* merupakan saponin triterpenoid **Gambar 2.4** (Majnooni *et al.*, 2023).



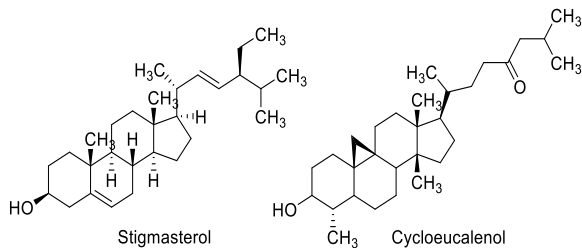
Gambar 2. 4 Struktur Saponin *Platycodon grandiflorus*
(Majnooni *et al.*, 2023)

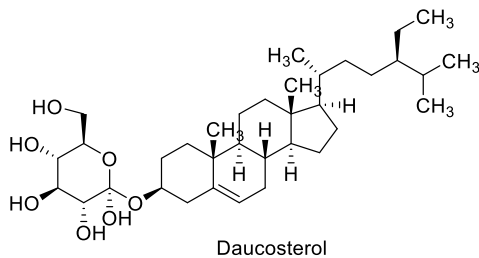
Saponin terbentuk dengan menggabungkan berbagai gula seperti xylose, glukosa, asam glukoronat, galaktosa, rhamnosa atau metilpentosa dengan *aglikon hydrophobic*. Aglikon ini dapat berupa triterpenoid atau steroid kemudian bergabung menjadi suatu senyawa glikosida. Saponin memiliki aglikon yang tersusun atas steroid dan terpenoid, dan komponen ini dikenal sebagai glikosida (Alfauzi *et al.*, 2021). Saponin

memiliki beragam aktivitas biologis dan dampak farmakologis yang berguna dalam obat-obatan. Senyawa ini dapat digunakan untuk pengobatan yang berhubungan dengan kadar kolesterol, antiinflamasi, antiparasit, antibakteri, dan antiviral. Selain itu, saponin juga memiliki potensi sebagai obat untuk melawan sel tumor dengan merangsang kematian sel tumor melalui mekanisme sinyal yang berbeda, seperti mengaktifkan reseptor kematian, mengincar mitokondria, dan memicu stres oksidatif (Rivai, 2020).

4. Terpenoid

Triterpenoid dalam tumbuhan *Lobelia chinensis Lour* yang termasuk dalam famili campanulaceae yang juga family dari tanaman *Isotoma longiflora L* (kitolod). Terpenoid isolat yang ditemukan dalam *Lobelia chinensis Lour*, termasuk kedalam steroid karena memiliki ikatan $3C_6$ dan $1C_5$ Seperti pada **Gambar 2.5** (Folquitto *et al.*, 2019).



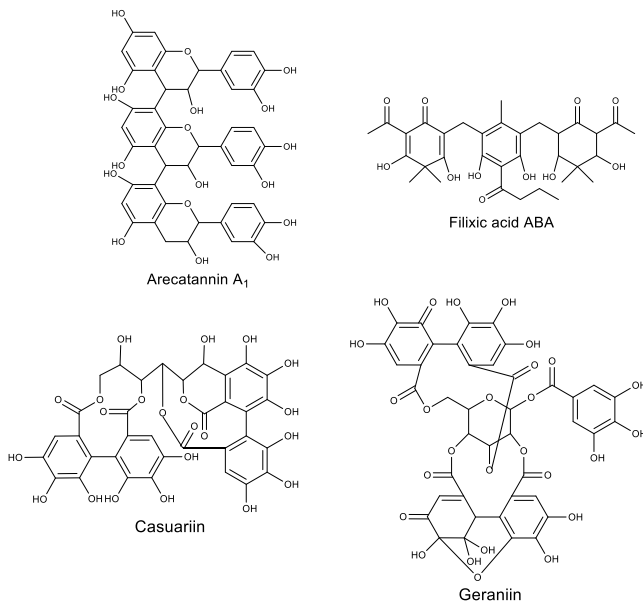


Gambar 2. 5 Struktur Steroid Isolat *Lobelia chinensis* Lour
(Folquitto *et al.*, 2019)

Terpenoid adalah senyawa kimia yang terbentuk melalui penggabungan unit-unit isoprena. Struktur kimia terpenoid dapat berubah-ubah, dapat terbentuk rantai terbuka atau berbentuk siklik, serta memiliki ikatan rangkap, gugus hidroksil, karbonil, atau berbagai gugus fungsi lainnya (Heliawati, 2018). Sebagian besar terpenoid yang terdapat di alam merupakan komponen dari minyak atsiri. Dalam pengobatan alternatif, kelompok molekul minyak esensial ini dianggap menawarkan manfaat terapeutik. Terpenoid adalah kelas zat yang memberi tanaman rasa, aroma, dan pigmentasi mereka. Tanaman tingkat tinggi seperti jeruk dan pinus memiliki terpenoid pada daun dan buahnya. Fraksi minyak atsiri, yang diperoleh selama distilasi, terdiri dari molekul terpenoid dengan 10 atau 15 atom karbon (Rachmawan dan Dalimunthe, 2017).

5. Tanin

Tanin dalam tumbuhan *Platycodon grandiflorum* yang termasuk dalam famili campanulaceae yang juga famili dari tanaman *Isotoma longiflora* L (kitolod). Tanin isolat yang ditemukan dalam *Platycodon grandiflorum*, antara lain Casuariin, Geraniin, Areatannin A₁ dan Filixic acid ABA seperti pada **Gambar 2.6** (Wang *et al.*, 2017).



Gambar 2. 6 Struktur Tanin Isolat *Platycodon grandiflorum* (Wang *et al.*, 2017)

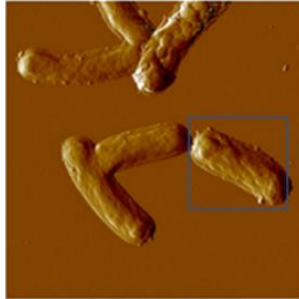
Senyawa fenol molekul besar dikenal sebagai tanin. Senyawa ini mengandung gugus hidroksil dan gugus terkait seperti karboksil, yang mampu

membentuk ikatan yang kuat dan efektif dengan protein serta molekul besar lainnya. Salah satu fungsi tanin pada tanaman adalah melindungi tanaman tersebut dari gangguan hewan lain. Kehadiran tanin menyebabkan beberapa jenis tanaman dan buah-buahan memiliki rasa sepat dan rasa pahit (Hidjrawan, 2018). Tanin memiliki peran biologis yang signifikan karena mampu mengendapkan protein dan membentuk kompleks dengan logam. Tanin memiliki kemungkinan sebagai antioksidan alami (Noer *et al.*, 2018).

C. Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Salah satu spesies probiotik dalam kelompok bakteri asam laktat (BAL) adalah *Lactobacillus acidophilus*. Bakteri ini dapat fermentasi karbohidrat seperti glukosa, galaktosa, laktosa, maltosa, dan sukrosa menghasilkan produksi asam laktat. Morfologi yang umum dari bakteri ini adalah berbentuk batang dengan panjang sekitar 2-10 μm . Bakteri ini tumbuh dengan optimal pada suhu 37°C dan pH 5,5-6,0. Mereka bersifat anaerob fakultatif, yang berarti dapat tumbuh baik dalam kondisi dengan atau tanpa oksigen, dan juga bersifat homofermentatif obligat, yang berarti menghasilkan produk fermentasi utama

berupa asam, **Gambar 2.7** merupakan gambar bakteri *Lactobacillus acidophilus* (Lestari, Claudya & Pramitasari, 2019).



Gambar 2. 7 *Lactobacillus acidophilus*
(Dean *et al.*, 2019)

Klasifikasi dari *Lactobacillus acidophilus* menurut Huang *et al.*, (2021) sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Firmicutes*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Lactobacillales*
Famili : *Lactobacillaceae*
Genus : *Lactobacillus*
Spesies : *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus adalah salah satu mikroorganisme pertama yang muncul dalam perkembangan karies gigi yang sudah berlanjut.

Lactobacillus acidophilus memiliki kapasitas untuk membuat asam organik yang dapat menurunkan pH mulut secara signifikan. Hal ini kemudian menyebabkan pembentukan koloni awal plak dan penempelan bakteri. Koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang menempel pada gigi dapat mengakibatkan kegagalan tumpatan gigi, yang pada gilirannya menyebabkan terjadinya karies gigi sekunder. (Khadafi, Nahzi & Wibowo, 2021). *Lactobacillus acidophilus* adalah spesies *Lactobacillus* yang paling dominan sebagai penyebab karies gigi dibandingkan dengan spesies *Lactobacillus* lainnya. Bakteri ini adalah bakteri gram positif yang mampu tumbuh dalam kondisi anaerobik, dan sering menjadi penyebab terjadinya lesi karies gigi sekunder. Bakteri ini juga dapat mempercepat karies gigi berkembang dan berlanjut sebagai akibat dari proses demineralisasi (Busman, Edrizal & Utami, 2021).

D. Karies Gigi

Kesehatan secara keseluruhan secara signifikan dipengaruhi oleh kesehatan gigi dan mulut dan kualitas hidup seseorang. Gangguan kesehatan dalam rongga mulut merupakan suatu permasalahan yang dapat menyebar dengan cepat dan memerlukan tindakan penanganan yang segera. Karies gigi salah satu masalah kesehatan gigi

yang mempengaruhi orang-orang di seluruh dunia, terutama di Indonesia (Busman, Edrizal & Utami, 2021).

Penyakit mulut di seluruh dunia, diperkirakan sekitar 3,5 miliar orang menderita penyakit ini. Sekitar 2,4 miliar atau sekitar 36% dari populasi global mengalami kerusakan gigi permanen dalam bentuk karies gigi. Karies gigi menyebabkan lebih dari 530 juta anak kehilangan gigi-gigi pertama mereka yang masih tempat. Berdasarkan hasil RISKESDAS tahun 2018, sekitar 57,6% penduduk Indonesia mengalami masalah kesehatan dalam rongga mulut dan gigi. Tingkat kejadian di Indonesia, 81,5% anak-anak berusia antara 3 dan 4 tahun memiliki karies gigi. Di Indonesia, di mana terdapat 75 juta anak balita, karies gigi mempengaruhi setengah dari populasi, dan prevalensinya meningkat setiap tahun (Bastari, Wijaya & Ismalayani, 2023).

Salah satu penyakit umum di kalangan orang Indonesia adalah karies gigi. Penyakit ini disebabkan oleh berbagai faktor yang saling berinteraksi, termasuk faktor permukaan gigi, substrat makanan, mikroorganisme dan faktor waktu. Makanan yang menempel pada gigi memiliki sifat yang lengket dan harus segera dibersihkan melalui menyikat gigi. Jika makanan yang menempel tidak dibersihkan dengan baik, hal tersebut dapat menyebabkan

pertumbuhan bakteri seperti *S. mutans* dan *L. acidophilus* (Gintu, Kristian & Martono, 2020). Plak gigi mengandung berbagai bakteri, termasuk *Lactobacillus acidophilus* dan memiliki peran dalam terjadinya karies gigi yang lebih parah. Asam laktat adalah produk sampingan dari fermentasi karbohidrat pada bakteri ini. Bakteri ini memainkan peran signifikan dalam mengubah metabolisme glukosa dengan menghasilkan asam organik di rongga mulut, bakteri menyebabkan pH di sana turun di bawah 5. Kondisi pH yang rendah ini akan menyebabkan proses dekalsifikasi mineral pada gigi (Halim, Samadi & Kunarti, 2019).

Minuman yang memiliki rasa manis dan bersifat asam, seperti minuman berkarbonasi, dapat meningkatkan pertumbuhan koloni bakteri karies dan aktivitasnya. Kemampuan saliva manusia tidak cukup untuk membersihkan gigi dari substrat yang menempel, menetralkan asam, dan menghambat pertumbuhan mikroba. Hal ini menyebabkan risiko tinggi terjadinya karies gigi ketika mengonsumsi makanan atau minuman dengan tingkat kemanisan dan keasaman yang tinggi. Karies gigi terbentuk melalui proses kimia ketika karbohidrat yang mengandung gugus sitrat (atau maleat dan tartrat) terpapar dengan suasana asam, yang

mengakibatkan erosi gigi dan pembentukan garam kalsium sitrat. Kemudian, kompleks garam kalsium tersebut dapat menempel pada enamel gigi. Plak gigi atau karies merupakan hasil dari aktivitas enzim bakteri yang berkembang biak di permukaan gigi yang tidak terjaga kebersihannya, terutama karena sisa-sisa makanan yang menjadi substrat nutrisi untuk bakteri tersebut. Karies gigi menyebabkan peningkatan ketebalan pada permukaan gigi yang terkena. Peningkatan ketebalan ini diikuti oleh penurunan kekuatan enamel gigi. Penurunan kekuatan yang berkelanjutan menyebabkan gigi menjadi rapuh dan rentan terhadap keropos (Gintu, Kristian & Martono, 2020).

E. Antibakteri

Antibakteri adalah substansi yang memiliki kapasitas untuk menghentikan perkembangan bakteri dan digunakan secara spesifik dalam terapi infeksi. Ada dua klasifikasi antibakteri berdasarkan mekanismenya, yakni agen antibakteri bakteriostatik (yang menghentikan pertumbuhan kuman) dan bakterisida (yang menghancurkan bakteri). Antibakteri bakteriostatik bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri, sementara antibakteri bakteriosidal memiliki efek

membunuh bakteri. Beberapa antibakteri dapat menunjukkan sifat menghambat pertumbuhan bakteri pada kadar yang rendah dan bersifat membunuh bakteri pada kadar yang tinggi. Antibakteri beroperasi dengan lima metode yang berbeda, yaitu menghentikan produksi dinding sel, mengubah permeabilitas sel, mempengaruhi molekul asam nukleat, mencegah aktivitas enzim, dan menghambat produksi asam nukleat serta protein (Wilapangga dan Syaputra, 2018).

Mempelajari aktivitas antibakteri dapat dicapai dengan menggunakan dua pendekatan umum pengenceran dan difusi sebagai berikut :

1. Metode Difusi

Metode penyebaran (difusi) sering digunakan dalam penilaian aktivitas antibiotik. Pendekatan pembubaran zona (sprinkle), zona disk, dan zona silinder adalah tiga teknik yang digunakan dalam proses ini. Bakteri uji telah diinokulasi ke dalam media padat, yang merupakan dasar dari operasi metode difusi. Selanjutnya, diamati Kehadiran area transparan yang muncul di sekitar cakram kertas mengindikasikan zona penghambatan pertumbuhan bakteri (Nurhayati, Yahdiyani & Hidayatulloh, 2020).

a. Metode Sumuran

Metode sumuran adalah metode di mana lubang-lubang dibangun secara vertikal pada media padat yang mengandung bakteri uji yang dimasukkan ke dalamnya. Banyaknya serta lokasi dari lubang-lubang tersebut disesuaikan dengan tujuan penelitian, dan kemudian sampel yang akan diuji diisikan ke dalam lubang-lubang tersebut. Setelah periode inkubasi, perkembangan bakteri diamati untuk menentukan apakah terdapat zona inhibisi disekitar lubang. Metode sumuran memiliki keunggulan dalam kemampuannya untuk menghitung area zona penghambatan yang terbentuk, karena media agar-agar mengandung bakteri aktif yang telah menyebar di dalamnya selain berada di permukaan. Namun, terdapat beberapa kendala dalam pembuatan sumuran. Salah satunya adalah kemungkinan adanya sisa agar yang masih tertinggal pada media yang digunakan untuk membuat lubang, yang dapat mempengaruhi proses penyerapan zat antibakteri ke dalam media. Selain itu, terdapat risiko retakan atau pecahnya media agar di sekitar lubang, yang dapat mengganggu difusi zat antibakteri masuknya

ke dalam medium tersebut dapat mempengaruhi pembentukan diameter zona transparan ketika menguji sensitivitas. Metode sumuran tetap menjadi metode yang sering digunakan dalam mengevaluasi aktivitas antibakteri. Kelebihannya dalam mengukur luas zona hambat membuatnya menjadi pilihan yang baik untuk mengevaluasi kemampuan senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Nurhayati, Yahdiyani & Hidayatulloh, 2020).

b. Metode Cakram

Menggunakan metode difusi cakram, agen antimikroba yang telah direndam dengan sampel uji ditempatkan pada kertas cakram untuk bertindak sebagai media penyerap. Setelah itu, kertas cakram tersebut ditempatkan pada permukaan agar padat yang terinfeksi yang mengandung mikroorganisme uji. Selanjutnya, sampel tersebut pada suhu 35 °C selama 18 hingga 24 jam diinkubasi. Tambalan atau zona yang jelas yang terbentuk di sekitar cakram kertas menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba telah terhambat. Diameter zona bening meningkat berbanding lurus dengan penambahan

mikroorganisme uji ke kertas cakram. Salah satu kelebihan metode cakram adalah kemampuannya untuk melakukan pengujian dengan lebih cepat dalam proses persiapan cakram (Nurhayati, Yahdiyani & Hidayatulloh, 2020). Zona bening yang terbentuk diameternya diukur menggunakan jangka sorong dan dilakukan penggolongan berdasarkan range daya hambat, penggolongan zona bening berdasarkan **Tabel 2.1** (Putrajaya, Hasanah and Kurlya, 2019) sebagai berikut :

Tabel 2. 1 Range Daya Hambat

Diameter Zona Bening (mm)	Kategori
< 5	Lemah
5-10	Sedang
10-20	Kuat
>20	Sangat kuat

Metode cakram digunakan dalam penyelidikan ini sebagai metode uji antibakteri. Pemilihan metode cakram karena dalam penyiapan cakram sangat efisien dan efektif dan dapat menghemat waktu dalam proses pengujian selain itu peneliti dapat dengan cepat melakukan

penelitian yang melibatkan banyak sampel atau variasi bahan uji.

c. Metode Silinder

Metode silinder melibatkan penempatan silinder berbahan kaca atau besi yang tahan terhadap karat pada permukaan agar yang telah memiliki inokulasi bakteri. Solusi uji dimasukkan ke dalam setiap silinder, yang diposisikan secara vertikal di atas media agar-agar. Setelah itu, media agar diinkubasi dalam kondisi yang sesuai, selama proses inkubasi pertumbuhan untuk menentukan apakah ada tempat penyumbatan, bakteri diamati yang terbentuk di sekitar silinder atau tidak (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

2. Metode Dilusi

Pengujian dengan menggunakan metode dilusi Ini adalah salah satu teknik yang digunakan untuk menguji keefektifan mikroorganisme. Metode ini menggunakan jenis media cair, seperti *Nutrient Broth* (NB) sebagai media uji. Salah satu teknik untuk menilai dampak senyawa pada aktivitas mikroorganisme adalah metode pengenceran.

Metode ini berguna untuk mengukur tingkat inhibisi yang dapat dicapai oleh senyawa atau membunuh mikroorganisme yang diuji. Parameter yang diukur meliputi nilai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode dilusi terbagi menjadi dua jenis, yaitu dilusi dalam bentuk cair dan padat. Metode dilusi dalam larutan digunakan untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) metode dilusi dalam medium padat digunakan. Manfaat dari metode ini yaitu beberapa jenis mikroorganisme dapat diuji hanya dengan menggunakan satu titik konsentrasi (Sari, Apridamayanti & Pratiwi, 2022).

F. Ekstraksi

1. Maserasi

Salah satu metode ekstraksi terbaik adalah prosedur maserasi karena sangat mudah. Dalam proses maserasi, serbuk bahan alami direndam dalam cairan ekstraksi. Larutan ekstraksi akan meresap ke dalam sel-sel dan memasuki area sel yang mengandung zat aktif, kemudian melarutkannya (Indraswari, 2008). Proses maserasi melibatkan perendaman sampel pada

suhu ruangan untuk mengekstraksi komponen yang diinginkan. Metode ini memiliki keunggulan praktis karena tidak memerlukan pemanasan, tetapi membutuhkan waktu cukup lama dan mengkonsumsi sejumlah besar pelarut (Putra *et al.*, 2014).

Metode maserasi adalah teknik ekstraksi yang sering digunakan. Metode ini memiliki sejumlah kelebihan, seperti prosedur yang mudah dilakukan dan penggunaan peralatan yang tidak memerlukan kompleksitas, biaya operasional yang relatif rendah, serta kemampuan untuk menjaga kestabilan senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas (Savitri, Suhendra & Wartini, 2017). Metode maserasi, digunakan untuk mengekstrak sampel yang memiliki tingkat ketahanan panas yang rendah. Proses ini melibatkan perendaman sampel dalam pelarut selama periode tertentu, biasanya 24 jam tanpa memerlukan pemanasan (Kiswandono, 2017). Metode maserasi merupakan metode pemisahan senyawa yang melibatkan perendaman bahan dalam pelarut organik pada suhu ruang. Selama proses perendaman, dinding sel dan membran sel akan mengalami pemecahan akibat perbedaan tekanan antara interior dan eksterior sel. Karena ini, setiap metabolit sekunder dalam

sitoplasma hancur dan larut dalam pelarut organik yang digunakan (Dewi *et al.*, 2018).

Langkah penting dalam pemilihan pelarut untuk ekstraksi yaitu pelarut dapat mengekstrak sebagian besar kandungan metabolit sekunder yang ada didalam simplisi. Kriteria pemilihan pelarut menurut Dewatisari, (2020) yaitu :

- a. Pelarut dipilih berdasarkan sifat kepolarannya.
- b. Pelarut dengan perbedaan jenis dan mutu akan mempengaruhi proses ekstraksi.
- c. Pelarut yang digunakan harus mampu melarutkan zat yang diinginkan.
- d. Pelarut memiliki titik didih yang rendah, harganya murah, tidak toksik dan mudah terbakar.

2. Refluks

Metode refluks umumnya digunakan untuk mengekstrak sampel yang memiliki tingkat ketahanan panas yang cukup tinggi. Proses ini melibatkan pemanasan sampel dalam suatu pelarut dalam sebuah wadah yang dilengkapi dengan kondensor, dengan durasi yang lebih singkat, biasanya antara 3 hingga 7 jam. Keunggulan metode ini terletak pada waktu yang

lebih singkat, adanya kontak yang terus-menerus antara sampel dan pelarut secara langsung, dan penggunaan pelarut yang lebih hemat sehingga metode ini menjadi efektif dan efisien (Kiswandono, 2017).

3. Soxhlet

Metode ekstraksi Soxhlet adalah teknik ekstraksi yang memanfaatkan perangkat Soxhlet dan cairan pelarut seperti etanol, alkohol, n-heksana, dan sejenisnya. Proses soxhletasi melibatkan ekstraksi padat-cair yang berjalan secara terus-menerus. Metode ini disebut ekstraksi padat-cair karena zat yang hendak diekstraksi berada dalam bentuk campuran padat dan dianggap kontinyu karena menggunakan pelarut yang sama digunakan berulang kali hingga proses ekstraksi selesai. Salah satu keunggulan metode ekstraksi lebih sedikit pelarut yang digunakan untuk soxhleting karena proses ekstraksi memungkinkan untuk beberapa penggunaan pelarut. Selain itu, dalam metode ini, uap panas tidak melewati serbuk simplisia, tetapi melalui pipa samping. Namun, metode ekstraksi Soxhlet juga memiliki beberapa kelemahan. Pertama, metode ini tidak efektif digunakan pada bahan dengan tekstur yang keras. Selain itu, prosesnya cenderung

rumit dan memakan waktu karena ekstrak yang lebih kental harus diuapkan menggunakan rotavapor (Triesty, 2017).

G. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

KHM merujuk pada jumlah terkecil zat antimikroba yang memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangan bakteri setelah menjalani proses inkubasi selama 24 jam, di mana hasilnya tidak akan menunjukkan adanya koloni bakteri yang dapat diamati sebagai tanda pertumbuhan. KHM juga berfungsi sebagai metode untuk mengidentifikasi jumlah terendah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu (Saputera, Marpaung & Ayuhecaria, 2019).

Metode Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan menggunakan teknik turbidimetri, di mana setelah medium dalam tabung perlakuan diinkubasi selama periode 24 jam, kekeruhan dari masing-masing tabung diamati secara visual. Jika kekeruhan dalam setiap tabung masih sebanding atau bahkan lebih tinggi daripada tabung yang memuat suspensi bakteri dengan tingkat kekeruhan sesuai dengan *McFarland* 0,5 ini menunjukkan bahwa bakteri masih memiliki potensi untuk tumbuh.

Namun, ketika larutan dalam tabung mulai menunjukkan kejernihan yang lebih besar daripada tabung suspensi standar, ini mengindikasikan adanya penghambatan dalam pertumbuhan bakteri, inilah aspek yang mengindikasikan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Setelah media dalam tabung perlakuan diinkubasi selama periode 24 jam, dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer. Absorbansi dari semua tabung eksperimen diukur ulang menggunakan spektrofotometer untuk mendapatkan nilai akhir absorbansi. Apabila nilai absorbansi akhir dari masing-masing tabung (setelah inkubasi) mengalami peningkatan dibandingkan dengan nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi), maka dapat disarankan bahwa pertumbuhan bakteri masih berlangsung. Perbedaan dalam absorbansi antara nilai akhir dan awal atau jika terjadi penurunan absorbansi pada nilai akhir dibandingkan dengan nilai awal, dapat disarankan bahwa pertumbuhan bakteri telah terhambat. Konsentrasi terendah dari ekstrak yang diterapkan pada tabung perlakuan dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (Makolit, Waworuntu & Leman, 2017)

H. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri adalah metode dalam analisis kimia yang memanfaatkan interaksi antara cahaya dan materi untuk mengevaluasi komposisi sampel, baik secara kuantitatif maupun kualitatif. Alat yang dipergunakan dalam spektrofotometri dikenal sebagai spektrofotometer. Cahaya yang dimaksud mencakup rentang cahaya terlihat, sedangkan materi yang sedang dipelajari meliputi atom dan molekul, radiasi ultraviolet dan inframerah, dengan peran utama yang dimiliki oleh elektron valensi. Teknik spektrofotometri UV-Vis adalah metode untuk mengukur penyerapan cahaya dalam rentang ultraviolet (200-400 nm) serta penyerapan cahaya dalam spektrum cahaya terlihat (400-800 nm) oleh suatu senyawa. Penyerapan cahaya ultraviolet (UV) atau cahaya tampak menghasilkan transfer elektronik adalah proses dimana elektron ditransfer dari orbital dasar dengan energi rendah ke orbital tereksitasi dengan energi lebih tinggi. Panjang gelombang dari cahaya ultraviolet (UV) atau cahaya tampak tergantung pada kemudahan dalam perpindahan elektron (Santhi, 2017).

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode untuk menentukan panjang gelombang dan intensitas cahaya yang diserap oleh sampel dalam kisaran ultraviolet dan

cahaya tampak. Energi cahaya tampak dan radiasi ultraviolet cukup untuk menaikkan elektron di lapisan terluar atom ke tingkat energi yang lebih tinggi. Umumnya, teknik spektrofotometri UV-Vis digunakan pada molekul serta larut dalam larutan ion anorganik atau kompleks. Sifat luas pola spektral UV-Vis dan kurangnya informasi struktural membuat mereka sangat membantu untuk penyelidikan kuantitatif. Panjang gelombang sinar ultraviolet berada dalam rentang 200-400 nm, sementara sinar tampak memiliki panjang gelombang antara 400-800 nm (Santhi, 2017).

Struktur molekul senyawa organik tersebut dapat ditentukan melalui interaksi molekul organik dengan ultraviolet dan cahaya tampak. Elektron yang berpartisipasi dalam ikatan dan elektron bebas yang bukan anggota ikatan adalah komponen molekul yang merespons paparan cahaya seperti itu yang terbaik. Radiasi ultraviolet dan sinar tampak berfungsi sebagai sumber energi yang, ketika berinteraksi dengan elektron-elektron, bisa mengangkat dari keadaan fundamentalnya ke tingkat energi yang lebih besar. Spektrum yang menunjukkan panjang gelombang dan tingkat absorbansi dari ras elektron ini berfungsi sebagai catatan efeknya. Fitur elektron yang ditemukan dalam molekul yang diselidiki

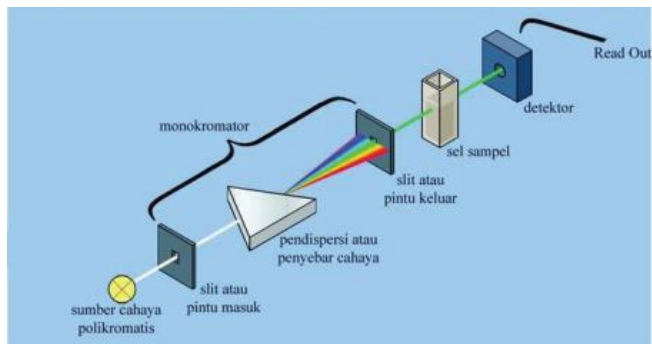
tercermin dalam spektrum ini. Panjang gelombang yang dapat diserap meningkat dengan seberapa mudah elektron dirangsang. Ketika lebih banyak elektron tereksitasi, absorban juga akan semakin tinggi (Suhartati, 2017).

Jenis-jenis Spektrofotometer UV-Vis

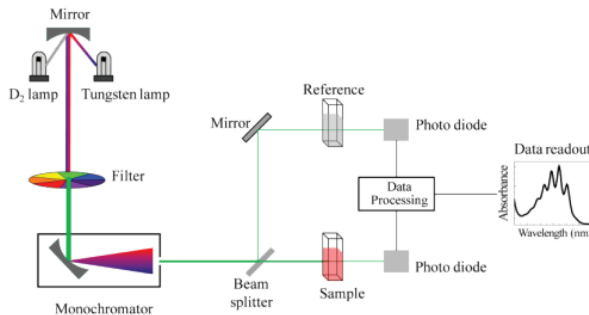
Biasanya, terdapat dua jenis peralatan spektrofotometer, yang pertama adalah tipe *single-beam* dan tipe *double-beam* (Suhartati, 2017). Tipe *single-beam* seperti yang terlihat pada **Gambar 2.8**, metode ini digunakan untuk analisis kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada satu panjang gelombang spesifik. Keuntungan tipe *single-beam* meliputi kesederhanaan, harga yang terjangkau, dan dampak pengurangan biaya, semuanya merupakan manfaat yang signifikan. Beberapa alat menghasilkan peralatan tipe *single-beam* yang digunakan untuk mengukur radiasi ultraviolet dan cahaya tampak. Rentang panjang gelombang terendah berkisar antara 190 hingga 210 nm, sementara yang tertinggi mencakup 800 hingga 1000 nm.

Tipe *Double-beam* dirancang untuk digunakan dalam jangkauan panjang gelombang dari 190 sampai 750 nm. Peralatan tipe *double-beam*, seperti yang terlihat pada **Gambar 2.9**, memiliki dua jalur cahaya terbentuk oleh reflektor berbentuk V yang dikenal sebagai pemisah sinar.

Cahaya pertama melewati medium kosong, sementara cahaya kedua melewati sampel secara bersama. Sumber cahaya yang polikromatik digunakan; lampu deuterium digunakan untuk sinar ultraviolet, sedangkan lampu wolfram digunakan untuk sinar tampak atau cahaya terlihat. Pada spektrometer UV-Vis, sampel ditempatkan dalam sel kuvet yang terbuat dari berbagai bahan, seperti kuarsa atau kaca, dengan lebar bervariasi, dan monokromator menggunakan kombinasi prisma lensa dan filter optik digunakan. Detektor, yang bisa berupa detektor fotolistrik, detektor termal, atau detektor dioda fotolistrik, berperan dalam merekam cahaya yang melewati sampel dan mengubahnya menjadi sinyal untuk arus listrik.



Gambar 2. 8 Spektrofotometer UV-Vis *Single Beam* (Suhartati, 2017)



Gambar 2. 9 Spektrofotometer UV-Vis Double Beam
(Suhartati, 2017)

Absorpsi dalam spektrofotometri UV-Vis merujuk pada fenomena di mana molekul yang sedang dianalisis menyerap radiasi ultraviolet dan cahaya tampak. Instrumen, salah satu dari sekian banyak peralatan yang sering digunakan untuk menganalisis zat kimia adalah spektrofotometer UV-Vis (*Ultraviolet-Visible*) (Santhi, 2017). Pada umumnya, spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk:

1. Mengidentifikasi senyawa organik yang mengandung kromofor, ikatan rangkap yang terkonjugasi, dan auksokrom.
2. Menguraikan informasi tentang struktur molekul dengan memeriksa panjang gelombang puncak dari suatu senyawa.

3. Dapat menggunakan prinsip hukum Lambert-Beer untuk melakukan analisis kuantitatif senyawa organik.

I. Penelitian Terdahulu

Kajian Folquitto *et al.*, (2019) mengenai genus *Lobelia L.* (Campanulaceae) dimana satu famili dengan *Isotoma longiflora L.* (kitolod). Ekstrak metanol *Lobelia L.* diidentifikasi memiliki metabolit sekunder berupa alkaloid piperidin, alkaloid isolat *L. chinensis Lour* (Lobechidine A, Lobechidine B, Lobechidine C dan Andrachcinidine). Terpenoid isolat *L. chinensis Lour* (Daucosterol, Stigmasterol dan Cycloeucalenol), Flavonoid isolat *L. chinensis Lour* (Rutin, Hesperidin, Apigenin dan Chrysoerisol). Aktivitas antibakteri *Lobelia chinensis* ekstrak alkohol penghambatan tinggi terhadap *A. fumigatus*. *Lobelia chinensis* ekstrak n-heksan penghambatan yang kuat terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*.

Sama seperti sebelumnya ekstrak metanol akar, batang, daun dan biji *Platycodon grandiflorum* (Campanulaceaea) penelitian Wang *et al.*, (2017) dianalisis memiliki kandungan metabolit sekunder berupa triterpenoid isolat (15 α -Hydroxy-ximicifugoside H₂, Genoderic acid H, Marstenacigenin A dan Oleanonic acid),

Flavonoid isolat (5,6,7,4'-Tetramethoxyflavone, Procyanidin B₁, Cyanidin 3-glucoside dan Gallocatechin), Steroid isolat (alfa-Spinasterol glucoside, Neotigogenin acetate, Tenasogenin dan Coronaric acid), Fenol isolat (cis-Osthenone, Curculigoside B, Chlorogenic acid dan Neociwujiaphenol), Alkaloid isolate (Redicamine A dan Kukoamine A) dan Tanin isolat (Casuariin, Geraniin, Arecatannin A₁ dan Filixic acid ABA).

Dari hasil isolat metabolit sekunder *tannic acid* penelitian Bossi *et al.*, (2007) diketahui berpengaruh dalam menghambat *Lactobacillus hilgardi* bakteri pembusuk anggur. Mekanisme tanin dalam menghambat bakteri dimana tanin akan berinteraksi dengan protein bakteri. Hasil master map analisis total protein menunjukkan bahwa 324 protein terdeteksi pada sampel yang tidak diberikan perlakuan, sampel yang ditambahkan *tannic acid* hanya 87 protein saja. Hal ini menunjukkan penurunan. *Tannic acid* memiliki keterlibatan pada enzim metabolic dan protein fungsional. Tanin berinteraksi dengan protein enzimatik menyebabkan penghambatan aktivitas katalitik, ikatan kovalen pada rantai polipeptida menghambat regulasi enzim metabolik (GAPDH dan triosephospate isomerase (TPI)).

Selain itu metabolit sekunder flavonoid dari berbagai jenis dalam penelitian Gutierrez-Venegas *et al.*, (2019) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab karies gigi *Lactobacillus casei*, morin ($1,03 \pm 0,03$ mm), naringin ($1,10 \pm 0,06$ mm) dan pada rutin ($0,9 \pm 0,06$ mm).

Metabolid sekunder lainnya alkaloid piperidin dari tanaman *Piper nigru* dalam kajian Jogaiah dan Abdelrahman, (2019) berfungsi sebagai anti bakteri dan antijamur, memiliki efek pada bakteri *Lactobacillus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Escherichia coli* dan *E. faecali*.

Isolasi metabolit sekunder saponin dari tumbuhan *Platycodon grandiflorus* (Campanulaceae) pda bagian akar penelitian Xie *et al.*, (2023) diidentifikasi bahwa *Platycodon grandiflorus* memiliki saponin triterpenoid Platycodin D, dimana triterpenoid sebagai aglikonnya dan glikonnya berupa cincin gula, memiliki manfaat seperti anti bakteri, anti leishmaniasis, anti oksidan, anti kolesterol, anti lipidemia, analgesik, efek anti-inflamasi, anti-diabetes, dan anti-koagulan.

Metabolit sekunder saponin dari 4 ekstrak penelitian Jyothi dan Seshagiri, (2012) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*, zona hambat yang terbentuk *Bauhinia purpurea* ($20,0 \pm 0,0$ mm),

Madhuca longifolia ($22,0 \pm 0,0$ mm), *Celastrus paniculatus* ($10,0 \pm 1,00$ mm) dan *Semecarpus anacardium* ($8,0 \pm 0,57$ mm).

Selain itu metabolid golongan alkaloid dan flavonoid dalam penelitian Fazil et al (2017) di dalam tumbuhan kitolod yang telah terkonfirmasi melalui hasil positif. Ekstrak daun kitolod menunjukkan sifat antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis*.

Kandungan metabolit sekunder minyak atsiri *Campanula portenschlagiana* (Campanulaceae) pengujian Politeo et al., (2013) mengandung metabolit berupa triterpenoids, alkaloid dan saponin yang memiliki efek terhadap antimikroba, antijamur, insektisida antikanker dan antioksidan. Minyak atsiri *Campanula portenschlagian* diuji antibakteri pada gram positif maupun negatif. Daya hambat pada bakteri gram positif *Bacillus cereus* ($24,8 \pm 1,5$ mm), *Enterococcus faecalis* ($19,6 \pm 0,9$ mm), *Staphylococcus aureus* ($21,4 \pm 2,3$ mm), *Clostridium perfringens* ($21,8 \pm 3,2$ mm), *Listeria monocytogenes* ($22,8 \pm 0,9$ mm) dan zona hambat pada bakteri gram negatif *Escherichia coli* ($24,7 \pm 0,6$ mm), *Klebsiella pneumoniae* ($27,9 \pm 1,7$ mm) dan *Pseudomonas aeruginosa* ($28,3 \pm 2,4$ mm). Dapat dilihat bahwa minyak atsiri *Campanula portenschlagian* memiliki

efek antibakteri yang tinggi baik bakteri gram positif maupun negatif.

Ekstrak etanol daun kitolod penelitian Rabbaniyyah, Estikomah & Artanti (2021), terjadi penghambatan Semua bagian pertumbuhan bakteri *Shigella sonnei*. sementara yang paling aktif ditemukan dalam fraksi etanol dengan konsentrasi 40% v/v, terdapat zona hambat terbesar sebesar 20,50 mm. Hasil pengujian skrining mengindikasikan bahwa ekstrak daun kitolod mengandung steroid, flavonoid, saponin, dan komponen alkaloid.

Selain itu ekstrak etanol dari bunga kitolod Aprilia, Sari & Nurhayati (2022), memiliki dampak penghambat pertumbuhan pada mikroorganisme *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Namun, buah kitolod hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* terhambat, namun pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tidak terpengaruh.

Sama seperti penelitian sebelumnya fraksi n-heksane herba kitolod penelitian Hazar, Putri & Fitriyaningsih (2017), *Bacillus cereus* tidak dapat berkembang dengan adanya etil asetat dan air tanaman kitolod. Fraksi superior di antara dua fraksi lainnya adalah fraksi etil asetat. Nilai KHM dari fraksi etil asetat yaitu

0,75%. Nilai kesetaraan antara fraksi etil asetat herba kitolod dengan antibiotik pembanding Ciprofloksasin adalah 266,15 µg/ml fraksi etil asetat herba kitolod setara dengan 1 µg/ml ciprofloksasin.

Uji aktivitas antibakteri pada ekstrak metanol kitolod Paramita, Yum & Teruna (2015) menunjukkan bahwa fraksi ke-10 dari kromatografi kolom memiliki aktivitas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) Mareintika (2021), telah menunjukkan kapasitas untuk menghentikan perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus*, terutama pada kasus konjungtivitis bakterial. Selain itu, hasil penelitian diamati bahwa daun kitolod memiliki dampak terhadap perkembangan *S. aureus*. Efek antibakteri ekstrak ditingkatkan oleh konsentrasi ekstraknya yang disebabkan oleh keberadaan zat aktif dalam ekstrak tersebut oleh daun kitolod.

Ekstrak kental daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) dalam penelitian Angganawati dan Nisa, (2019) telah menunjukkan kemampuan untuk membatasi perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus*, dengan zona penghambatan terbesar memiliki diameter 14,3 mm. ketika konsentrasi ekstrak adalah 300 mg/mL. Temuan ini

mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun kitolod memiliki daya hambat yang termasuk dalam kategori kuat terhadap bakteri tersebut.

Tabel 2. 2 Ringkasan Penelitian Terdahulu

Sumber	Hasil Penelitian
Folquitto <i>et al.</i> , (2019)	<i>Lobelia chinensis</i> Lour (Campanulaceae) metabolit sekunder yaitu alkaloid piperidin, terpenoid, flavonoid. Memiliki aktivitas antibakteri terhadap <i>A. fumigatus</i> dan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .
Wang <i>et al.</i> , (2017)	Ekstrak metanol akar, batang, daun dan biji <i>Platycodon grandiflorum</i> (Campanulaceaea) diidentifikasi memiliki kandungan metabolit sekunder berupa triterpenoid, flavonoid, steroid, fenol, alkaloid dan tanin.
Bossi <i>et al.</i> , (2007)	Pengaruh <i>tannic acid</i> dalam menghambat <i>Lactobacillus hilgardi</i> bakteri pembusuk anggur. Terjadi penurunan jumlah bakteri 324 ke 87.
Gutierrez-Venegas <i>et al.</i> , (2019)	Aktivitas berbagai jenis flavonoid terhadap bakteri <i>Lactobacillus casei</i> Morin ($1,03 \pm 0,03$ mm) Naringin ($1,10 \pm 0,06$ mm) Rutin ($0,9 \pm 0,06$ mm)
Jogaiah dan Abdelrahman, (2019)	Tanaman <i>Piper nigrum</i> mengandung alkaloid piperidin memiliki efek pada <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Micrococcus sp.</i> , <i>Escherichia coli</i> dan <i>E. faecali</i>

- Xie *et al.*, (2023) *Platycodon grandiflorus* (Campanulaceae) memiliki saponin triterpenoid Platycodin D yang berperan sebagai antibakteri
- yothi dan Seshagiri, (2012) Aktivitas saponin sebagai antibakteri
Bauhinia purpurea (20,0 ± 0,0 mm)
Madhuca longifolia (22,0 ± 0,0 mm)
Celastrus paniculatus (10,0 ± 1,00 mm)
Semecarpus anacardium (8,0 ± 0,57 mm)
- Politeo *et al.*, (2013) Minyak atsiri *Campanula portenschlagiana* (Campanulaceae), metabolit berupa triterpenoids, alkaloid dan saponin
Bacillus cereus (24,8 ± 1,5 mm)
Enterococcus faecalis (19,6 ± 0,9 mm)
Staphylococcus aureus (21,4 ± 2,3 mm)
Clostridium perfringens (21,8 ± 3,2 mm)
Listeria monocytogenes (22,8 ± 0,9 mm)
Escherichia coli (24,7 ± 0,6 mm)
Klebsiella pneumoniae (27,9 ± 1,7 mm)
Pseudomonas aeruginosa (28,3 ± 2,4 mm)
- Rabbaniyyah, Estikomah & Artanti (2021) Ekstrak daun kitolod mengandung steroid, flavonoid, saponin dan alkaloid, uji terhadap bakteri *Shigella sonnei* dengan zona hambat 20,50 mm.
- Aprilia, Sari & Nurhayati (2022) Ekstrak dari bunga kitolod menghambat *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Buah kitolod menghambat *Staphylococcus aureus*

- Hazar, Putri & Fitriyaningsih (2017) Ekstrak kitolod fraksi etil asetat nilai KHM pada 0,75% pada bakteri *Bacillus cereus*
- Paramita, Yum & Teruna (2015) Ekstrak metanol kitolod fraksi ke-10 dari kromatografi kolom memiliki aktivitas terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
- Fazil et al (2017) Ekstrak kitolod mengandung alkaloid dan flavonoid, antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis*.
- Mareintika (2021) Ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) menghentikan perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus*.
- Angganawati dan Nisa, (2019) Ekstrak kental daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) membatasi perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus*, zona penghambatan diameter 14,3 mm.
-

J. Hipotesis

Penelitian terdahulu tentang senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan famili Campanulaceae menunjukkan aktivitas terhadap berbagai bakteri termasuk *Lactobacillus sp.*, selain itu juga penelitian mengenai ekstrak tumbuhan kitolod juga memiliki aktivitas terhadap bakteri lain seperti *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Maka dalam penelitian ini ekstrak metanol daun kitolod dimungkinkan dapat dijadikan antibakteri khususnya untuk menguji efektivitas dalam menghambat perkembangan bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang bisa menyebabkan karies gigi.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Mikrobiologi UIN Walisongo Semarang. Penelitian dilakukan mulai bulan Maret - Agustus 2023.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan yaitu pipet tetes, gelas beker (Iwaki), Gelas ukur (Iwaki), erlenmeyer (Iwaki), pipet ukur (Iwaki), mikropipet (DLAB), pengaduk kaca, spatula, tabung reaksi (Iwaki), corong *glass*, jarum ose, pinset, cawan petri (Anumba), pembakar Bunsen, corong Buchner, plat tetes, *cotton Swab*, plastik *wrap*, *aluminium foil*, jangka sorong (krisbow), neraca analitik (Mettler Toledo), vakum, blender, satu set alat destilasi, *Laminary Air Flow* (ESCO), inkubator (Memmert), oven, autoklaf (Hirayama), *Ratory Evaporator* (DLAB), alat vortex (BIO-RAD BR-2000), *hotplate* (Benchmark) dan spektrofotometer UV-Vis (Thermoscientific).

2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu daun kitolod, Aquades, Metanol teknis, Kloroform EMSURE, Kloroform amoniak 0,05 N, H₂SO₄ 2N, Pereaksi Mayer Merck, Pereaksi Dragendorff Merck, Serbuk Mg Merck, HCl, FeCl₃ 1%, Asam Asetat anhidrat Merck, HCl 96% Merck, *Paper disk*, *Nutrien Agar* (NA) OXOID, Bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang diperoleh dari Klinik Permata Semarang, NaCl 0,9%, Asam Sulfat 1%, BaCl₂ 1%, Dimetil Sulfoksida (DMSO) Merck dan *Chlorohexidine* 0,2% Minosep.

C. Cara Kerja

1. Preparasi Sampel

Sampel daun kitolod diperoleh dari daerah Kelurahan Palebon, Kecamatan Pedurungan, Kota Semarang. Sebelum menggunakan daun kitolod, cuci dengan air terlebih dahulu. Daun kitolod dikeringkan pada suhu ruang, dimana tidak terjadi kontak dengan sinar matahari, agar tidak merusak kandungan senyawa di dalam daun kitolod (Gloriana, Sagita & Siswanto, 2021). Selanjutnya, untuk memastikan bahwa daun benar-benar kering, dijemur dengan mengangin-anginkan daun tanpa terkena sinar

matahari. Setelah daun kitolod kering, selanjutnya dihaluskan menggunakan blender.

2. Ekstraksi Sampel

Maserasi digunakan dalam penelitian ini sebagai teknik ekstraksi sampel. Daun kitolod sebanyak 300 gr yang sudah kering dan halus, direndam dalam pelarut metanol sampai terendam seluruhnya. Maserasi dilakukan 2 x 24 jam dilakukan pada wadah yang tertutup, dengan suhu kamar serta dijauhkan dari sinar matahari secara langsung dengan sesekali pengadukan. Proses ekstraksi dilakukan berulang sampai filtrat menjadi bening. Selanjutnya hasil maserasi disaring dengan corong Buchner dan vakum. Setelah didapatkan filtrat, selanjutnya pelarut di dalam filtrat dipisahkan dengan *Ratory Evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental, dimana tidak tercium lagi aroma alkohol pada ekstrak (Mardiyah, Rastuti & Handayani, 2021). Dihitung persen rendemen dari ekstrak kental daun kitolod yang diperoleh dengan persamaan berikut (Nur, Baitanu & Gani, 2019).

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{Berat ekstrak kental (g)}}{\text{Berat simplisia kering (g)}} \times 100\%$$

3. Analisa Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Mengidentifikasi alkaloid dengan metode Culvenor-Fitzgerald, sejumlah Sampel 4 gram daun kitolod dan beberapa butir pasir dihaluskan bersama. Kemudian, untuk bahan yang dihaluskan ditambahkan, 10 mL kloroform dan 10 mL larutan amonia dalam kloroform 0,05 N. Campuran kemudian disaring menggunakan kapas. Larutan yang terdapat dalam kapas kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, 10 tetes asam sulfat dengan konsentrasi 2 N dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan dalam satu menit, campuran dicampur dengan lembut dalam tabung reaksi untuk membuat lapisan yang berbeda. Lapisan yang mengandung asam sulfat kemudian dipindahkan ke tabung reaksi yang lain. Selanjutnya, ditambahkan 1-2 tetes pereaksi Mayer ke dalam tabung reaksi tersebut. Jika endapan putih, benjolan, atau kabut berkembang, alkaloid sampel telah menghasilkan respons yang menguntungkan (Sirumapea *et al.*, 2023).

b. Uji Flavonoid, Steroid, Tanin, Terpenoid dan Saponin

Teknik uji sianidin digunakan dalam penelitian ini. Sampel seberat 4 gram digerus dan kemudian dicampurkan dengan 5 ml campuran kloroform dan air suling dalam perbandingan 1:1. Campuran tersebut kemudian dikocok, dan selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung reaksi. Biarkan campuran dalam tabung reaksi hingga terbentuk dua lapisan yang terpisah (Sirumapea *et al.*, 2023).

Flavonoid

Ambil sebagian dari lapisan air yang terbentuk, kemudian tambahkan 2-3 tetes asam klorida dan 1-2 butir magnesium logam ke dalamnya. Jika terjadi perubahan warna menjadi kuning oranye hingga merah, hal tersebut menunjukkan adanya flavonoid dalam sampel yang diuji (Sirumapea *et al.*, 2023).

Steroid/Terpenoid

Ambil sejumlah kecil lapisan kloroform dan lewatkan melalui serbuk arang. Filtrat

kemudian diteteskan ke dalam plat tetes dan dibiarkan mengering. Tambahkan asam sulfat pekat dan asam asetat anhidrat setelah pengeringan. Jika warna merah berkembang, itu menunjukkan hasil positif terhadap terpenoid. Hasil positif terhadap steroid diindikasikan jika ternyata biru atau hijau (Sirumapea *et al.*, 2023).

Saponin

Ekstrak diambil ditambahkan dengan aquades dan dikocok secara intensif. Jika terbentuk busa yang tetap ada selama 15 menit, hal tersebut menunjukkan reaksi positif terhadap saponin dalam sampel yang diuji (Jati, Prasetya & Mursiti, 2019).

Tanin

Ekstrak yang sudah diencerkan diletakkan pada plat tetes, ditambahkan beberapa tetes pereaksi FeCl 1%. Jika terjadi perubahan warna menjadi biru kehitaman maka ekstrak positif mengandung tanin (Hafshah, Rohmah & Mardiyah, 2022).

4. Uji Antibakteri

Uji untuk bakteri dilakukan dengan berbagai cara. Penilaian kemanjuran agen antimikroba, peneliti menggunakan metode *disc diffusion*, umumnya dikenal sebagai metode difusi disk. Pada metode ini, media agar ditutupi dengan cakram yang mengandung agen antibakteri dan sudah ditanami dengan mikroorganisme yang akan diuji. Kemudian, agen antimikroba akan berdifusi melalui media Agar. Area di sekitar cakram yang terlihat jernih menunjukkan adanya agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri pada media agar (Kusumawati, Supriningrum & Rozadi, 2017).

a. Sterilisasi Alat

Sebelum digunakan, semua peralatan yang akan digunakan untuk menilai aktivitas antibakteri harus didesinfeksi. Sementara media dan gelas disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, jarum ose dan pinset dibakar langsung di atas api (Muljono, Fatimawali & Manampiring, 2016).

b. Pembuatan Media

1. Pembuatan Media Agar Miring

Sejumlah 0,46 gram *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dalam 20 ml aquades (23 gram /1000 ml) menggunakan erlenmeyer. Larutan ini kemudian dihomogenkan dengan menggunakan stirer di atas penangas air hingga mencapai titik didih. Selanjutnya, sebanyak 5 ml larutan tersebut dituangkan ke dalam masing-masing dari 3 tabung reaksi steril dan ditutup dengan *aluminium foil*. Media sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, media tersebut dibiarkan pada suhu ruang dengan toleransi waktu \pm 30 menit sampai media tersebut memadat dengan kemiringan sebesar 30°. Media agar miring yang telah memadat dapat digunakan untuk melakukan inokulasi bakteri (Muljono, Fatimawali & Manampiring, 2016).

2. Pembuatan Media Pengujian

Sebanyak 19,5 gram serbuk *Nutrient Agar* (NA) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer.

Kemudian, ditambahkan 500 ml aquades steril dan dididihkan. Setelah itu, media bakteri ditutup menggunakan kertas aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah proses sterilisasi selesai, media yang telah steril dituangkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 20 ml. Selanjutnya, media bakteri dibiarkan mengeras pada suhu ruang. Media dapat digunakan sebagai media pengujian (Azzahra, Almalik & Sari, 2019).

c. Inokulasi Bakteri pada Media Agar Miring

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* diambil dengan menggunakan jarum ose steril. Selanjutnya, bakteri tersebut ditanamkan pada media agar dengan cara menggores permukaan media. Media agar yang telah diinokulasi kemudian diletakkan di dalam inkubator dengan suhu 37°C dan diinkubasi selama 24 jam (Bilqis, Erlita & Putri, 2018).

d. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi dengan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung berisi 3 mL larutan NaCl 0,9% hingga

diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan *Mc. Farland*. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji (Kumakauw, Simbala & Mansauda, 2020).

e. Pembuatan Larutan Standar *Mc.Farland* 0,5

Larutan H_2SO_4 dengan konsentrasi 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan larutan $BaCl_2$ konsentrasi 1% sebanyak 0,05 mL dalam Erlenmeyer. Kemudian, larutan tersebut dikocok hingga terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan larutan ini digunakan sebagai pembanding kekeruhan suspensi bakteri, Larutan standar *Mc. Farland* 0,5 atau bakteri setara jumlah 3×10^8 CFU (Muljono, Fatimawali & Manampiring, 2016).

f. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Uji Daya Hambat (Metode Cakram)

Cawan petri yang telah disterilkan digunakan untuk menampung media *Nutrient Agar* (NA). Media NA dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai mengeras. Selanjutnya, suspensi *Lactobacillus acidophilus* di usapkan secara merata ke permukaan media menggunakan *cotton swab*.

Pembuatan Larutan Uji

Hasil Ekstrak yang didapatkan akan dilakukan pengujian terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* maka dari itu dilakukan beberapa variasi konsentrasi ekstrak untuk melihat efektifitas dalam menghambat bakteri *Lactobacillus acidophilus* menggunakan 4 variasi konsentrasi yaitu, 10%, 15%, 20% dan 25% (Faradina, Mastra & Karta, 2019).

Tabel 3. 1 Pembuatan Variasi Konsentrasi

No	Konsentrasi	Ekstrak Daun Kitolod	DMSO
1.	10 %	0,1 gr	1 mL
2.	15 %	0,15 gr	1 mL
3.	20 %	0,2 gr	1 mL
4.	25 %	0,25 gr	1 mL

Pembuatan Larutan Kontrol Positif dan Negatif

Larutan kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Chlorhexidine* 0,2%. Larutan *Chlorhexidine* 0,2% diambil sebanyak 1 mL dan gunakan sebagai pelarut perendam *paper disk*. Larutan yang digunakan sebagai

kontrol negatif yaitu pelarut DMSO (Zubaidah, Juniarti & Basalamah, 2019).

Setelah itu, kertas cakram yang telah dimasukkan ke dalam ekstrak dengan berbagai konsentrasi, kontrol positif dan negatif diambil menggunakan pinset steril, lalu diletakkan di atas permukaan media pada setiap cawan petri satu persatu. Setiap cawan petri kemudian ditempatkan dalam inkubator dengan suhu 37°C dan diinkubasi selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* diamati berdasarkan adanya area jernih di sekitar kertas cakram. Area jernih tersebut diukur menggunakan jangka sorong dan hasilnya dinyatakan dalam satuan milimeter (Kusumawati, Supriningrum & Rozadi, 2017). Pengukuran zona hambat bakteri dianalisis menggunakan rumus perhitungan sebagai berikut (Hasanah dan Novian, 2020).

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$$

dengan D_v adalah diameter vertikal, D_h adalah diameter horizontal dan D_c adalah diameter Cakram.

2. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Pembuatan Media NB (*Nutrient Broth*)

Sebanyak 3,25 gram *nutrient broth* ditimbang kemudian ditambahkan aquades sebanyak 250 mL. Media *nutrient broth* yang telah dibuat diambil sebanyak 30 mL lalu ditambahkan dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang disetarakan dengan kekeruhan larutan standar *Mc. Farland*, lalu dikocok dan divortex agar tercampur secara merata (Wahyuni, Nuryanti & Jura, 2017).

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Pengujian KHM dilakukan berdasarkan penelitian (Wuon, Pangemanan & Anindita, 2018). Sebanyak 11 tabung reaksi yang sudah steril disiapkan sebagai berikut :

- Tabung 1 larutan uji konsentrasi 25% diisi 0,5 gr ekstrak kental *Isotoma longiflora L* dan 2 mL media NB.
- Tabung 2 Larutan uji konsentrasi 12,5% diambil larutan dari tabung 1 sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL media NB.

- Tabung 3 Larutan uji konsentrasi 6,25 % diambil larutan dari tabung 2 sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL media NB.
- Tabung 4 Larutan uji konsentrasi 3,125% diambil larutan dari tabung 3 sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL media NB.
- Tabung 5 Larutan uji konsentrasi 1,5625% diambil larutan dari tabung 4 sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL media NB.
- Tabung 6 Larutan uji konsentrasi 0,7812% diambil larutan dari tabung 5 sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL media NB.
- Tabung 7 Larutan uji konsentrasi 0,3906% diambil larutan dari tabung 6 sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL media NB.
- Tabung 8 Larutan uji konsentrasi 0,1953% diambil larutan dari tabung 7 sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL media NB.
- Tabung 9 Larutan uji konsentrasi 0,0976% diambil larutan dari tabung 8

sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL media NB.

- Tabung kontrol (-) tabung reaksi yang berisi media NB dan bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang telah setara dengan kekeruhan larutan *Mc Farland*.

Pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mendapatkan hasil pengukuran kekeruhan secara kuantitatif. Nilai absorbansi merupakan nilai yang menunjukkan besarnya jumlah cahaya yang diserap oleh larutan yang terdapat di dalam masing-masing tabung. Pengukuran nilai absorbansi dilakukan pada tabung 1 hingga 9, kontrol negatif dan positif sebelum dan sesudah inkubasi 1 x 24 jam untuk melihat selisih nilai absorbansi. Panjang gelombang yang digunakan adalah 600 nm sesuai dengan panjang gelombang sinar tampak (Wuon, Pangemanan & Anindita, 2018). Pada spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 600 nm bertepatan dengan emisi berwarna jingga (Hidayat *et al.*, 2008).

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi *Isotoma longiflora* L

Daun kitolod (*Isotoma longiflora* L) yang didapatkan dari daerah Kelurahan Palebon, Kecamatan Pedurungan, Kota Semarang, dicuci menggunakan air hingga bersih dan kotoran yang melekat pada daun hilang. Daun kitolod yang sudah bersih selanjutnya dikeringkan dengan mengangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari hal ini dilakukan agar senyawa metabolit yang terkandung didalam daun kitolod tidak rusak karena terpapar sinar matahari. Daun kitolod yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender untuk memperkecil ukuran daun sehingga saat proses maserasi berlangsung mempermudah proses penyerapan pelarut untuk mengambil senyawa metabolit yang terdapat didalam daun lebih optimum (Maimuna, Sidoretno & Wardianati, 2023).

Simplisia kitolod kering akan di ekstraksi dengan metode maserasi, metode ini digunakan karena dapat dilakukan dengan mudah dan tanpa melalui proses pemanasan sehingga senyawa metabolit yang tidak tahan panas serta terurainya komponen kimia aktif dapat dihindari (Handoyo, 2020).

Simplisia kitolod kering sebanyak 300 gram dimaserasi dengan 2600 mL metanol selama 2x24 jam untuk satu kali proses maserasi dengan sesekali pengadukan yang bertujuan agar interaksi antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan, sehingga proses tersebut dapat berjalan secara efisien, dalam penelitian ini proses maserasi dilakukan sebanyak lima kali hingga larutan metanol yang didapatkan menjadi bening.

Pelarut metanol dipilih karena pelarut yang serba guna dimana memungkinkan untuk melarutkan analit baik yang bersifat polar maupun nonpolar, pelarut etanol juga efektif dalam mengekstraksi alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid dari bahan alam dan titik didihnya yang relatif rendah metanol memungkinkan mempercepat dalam proses ekstraksi (Labagu, Naiu and Yusuf, 2022). Metanol teknis yang digunakan sebelumnya sudah di destilasi, proses destilasi ini dilakukan untuk memurnikan metanol dimana kandungan air serta pengotor yang terdapat dalam metanol terpisah dan didapatkan metanol yang lebih murni.

Ekstrak kitolod (*Isotoma longiflora L*) diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C dan 55 rpm sampai terbentuk ekstrak kental, penggunaan *rotary evaporator* untuk memisahkan antara pelarut dan ekstrak

metanol kitolod. Suhu yang digunakan merupakan suhu yang mendekati titik didih pelarut sehingga pelarut dapat terpisah dengan ekstrak. Ekstrak metanol kitolod yang didapat memiliki tekstur seperti pasta, lengket dan berwarna hijau tua seperti pada **Gambar 4. 1**, rendemen ekstrak kental *Isotoma longiflora L* yang didapatkan sebesar 10,039% dengan berat 30,1172 gram.



Gambar 4. 1 Ekstrak Kental *Isotoma longiflora L*

B. Uji Fitokimia

Uji fitokimia yang telah dilakukan pada ekstrak *Isotoma longiflora L* dilakukan dengan menambahkan pereaksi ke dalam ekstrak sehingga terbentuk perubahan baik warna maupun adanya endapan. Hasil uji fitokimia *Isotoma longiflora L* menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 4. 1**.

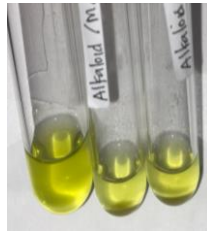
Tabel 4. 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kitolod

Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
Alkaloid	+	Endapan Putih
Flavonoid	+	oren
Terpenoid / Steroid	-	Hitam
Tanin	+	Coklat kehitaman
Saponin	+	Buih Stabil

1. Alkaloid

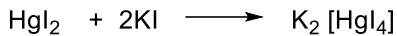
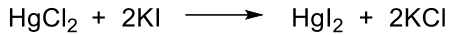
Pengujian senyawa alkaloid pada ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* hasil menunjukkan positif dimana menghasilkan endapan putih seperti **Gambar 4. 2** ketika ditambahkan asam sulfat dan pereaksi *Mayer*. Penggunaan asam sulfat dalam larutan hasil gerusan daun memiliki tujuan untuk meningkatkan daya larut alkaloid, dengan penambahan asam senyawa alkaloid cenderung berinteraksi lebih mudah dan membentuk garam yang mudah larut dalam air, alkaloid yang bersifat basa umumnya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam salah satunya asam sulfat. Pengendapan terjadi karena adanya pergantian ligan, dimana atom nitrogen di dalam molekul alkaloid

yang memiliki pasangan elektron bebas dapat digantikan dengan ion iodo yang ada dalam reagen (Ergina, Nurhayati & Pursitasari, 2014).

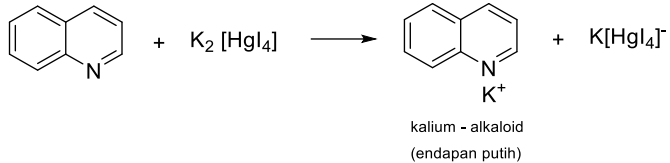


Gambar 4. 2 Hasil Uji Alkaloid

Pereaksi *Mayer* didalamnya terkandung kalium iodida dan merkuri klorida (Kalium tetraiodomerkurat(II)). Dalam uji *Mayer*, keberadaan alkaloid menunjukkan hasil positif dengan pembentukan endapan putih. Senyawa alkaloid mengandung nitrogen dengan elektron bebas, yang memungkinkan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Pengujian alkaloid menggunakan reagen *Mayer* terjadi saat nitrogen dalam molekul alkaloid akan berinteraksi dengan ion logam K^+ dari senyawa kalium tetraiodomerkurat(II), menghasilkan pengendapan kompleks kalium-alkaloid reaksi yang terjadi dapat dilihat pada **Gambar 4.3** (Ergina, Nurhayati and Pursitasari, 2014).



Kalium
tetraiodomerkurat(II)



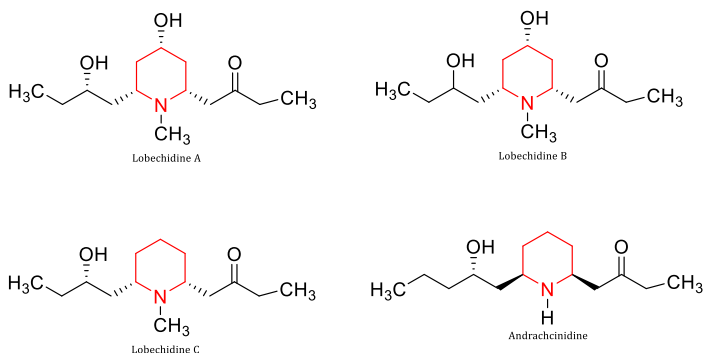
Gambar 4. 3 Reaksi Uji Alkaloid
(Ergina, Nurhayati & Pursitasari, 2014)

Senyawa alkaloid yang berperan sebagai antibakteri, alkaloid akan berinteraksi dengan dinding sel bakteri yang mengakibatkan kerusakan pada dinding sel. Selain itu alkaloid akan mengikat DNA bakteri yang mengakibatkan gangguan dalam sintesis protein sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Cahyaningtyas *et al.*, 2019).

a. Alkaloid dalam Famili Campanulaceae

Salah satu tumbuhan yang masih dalam satu famili Campanulaceae yaitu *L. chinensis Lour* diidentifikasi memiliki kandungan alkaloid piperidin, dalam senyawa alkaloid **Gambar 4.4**, cincin yang mengandung Nitrogen (bertanda merah) merupakan penanggung jawab dalam

penghambatan bakteri (Folquitto *et al.*, 2019). Piperidin merupakan salah satu bahan organik sebagai penyusun dan reagen dalam mensintesis senyawa organik dan turunan piperidin pada banyak penelitian memiliki potensi sebagai agen antikanker, antivirus, antimikroba, antimalarial dan antijamur (Abdelshaheed *et al.*, 2021). Kajian sebelumnya juga telah membuktikan bahwa alkaloid piperidin memiliki antibakteri terhadap *Lactobacillus sp.* (Jogaiah dan Abdelrahman, 2019).



Gambar 4. 4 Inti Piperidin
(Folquitto *et al.*, 2019)

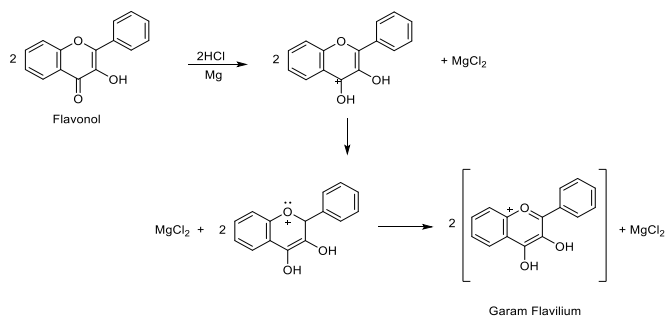
2. Flavonoid

Pengujian flavonoid gerusan daun *Isotoma longiflora L* menunjukkan hasil positif dimana berubah warna menjadi kuning seperti pada **Gambar 4.5** ketika

ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat. Penambahan logam Mg dan HCl pekat yaitu untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat didalam struktur flavonoid, sehingga menghasilkan pembentukan senyawa garam flavilium reaksi yang terjadi **Gambar 4.6** (Tandi *et al.*, 2020).



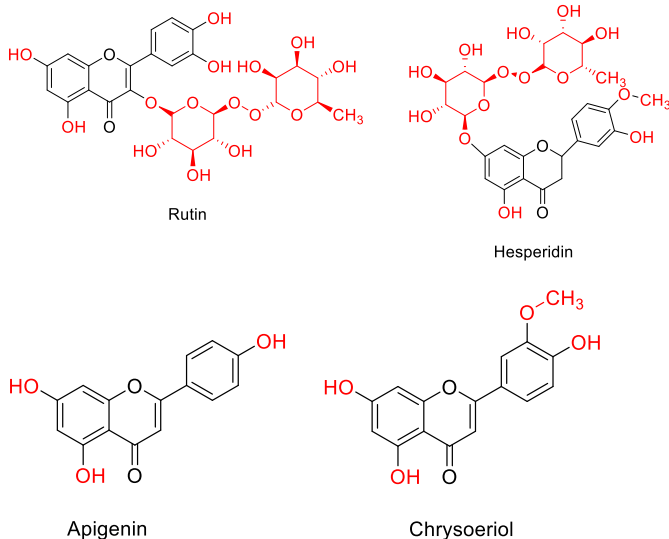
Gambar 4. 5 Hasil Uji Flavonoid



Gambar 4. 6 Reaksi Uji Flavonoid
(Tandi *et al.*, 2020)

b. Flavonoid dalam Famili Campanulaceae

Salah satu tumbuhan yang masih dalam satu famili Campanulaceae yaitu *L. chinensis Lour* diidentifikasi memiliki kandungan flavonoid, hasil isolat *L. chinensis Lour* berupa flavones (rutin, apigenin dan chrysoeriol) dan flavanones (hesperidin) (Folquitto *et al.*, 2019). Pada struktur flavonoid **Gambar 4.7** gugus hidroksil (OH) dan gugus *methoxy* yang terikat pada struktur flavonoid berfungsi sebagai agen antibakteri (Shamsudin *et al.*, 2022)



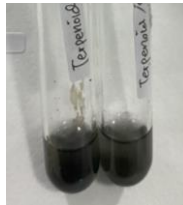
Gambar 4. 7 Substituen pada Flavonoid
(Folquitto *et al.*, 2019)

Flavonoid sebagai antibakteri dimana terjadi pembentukan senyawa kompleks antara flavonoid dengan protein yang berada di luar sel dimana hal ini menghasilkan kerusakan pada membran sel bakteri dan mengakibatkan pelepasan senyawa yang ada di dalam bakteri. Perannya juga menghambat sintesis DNA-RNA, dengan cara menyisipkan diri diantara basa-basa asam nukleat dan membentuk ikatan hidrogen melalui penumpukan basa. Flavonoid juga memiliki peran dalam menghambat proses metabolisme energi (Cahyaningtyas *et al.*, 2019).

3. Terpenoid/steroid

Uji identifikasi senyawa terpenoid/steroid ekstrak metanol kitolod, dengan menambahkan norit dalam larutan hasil gerusan daun, kemudian ditambahkan dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Jika membentuk warna merah maka positif terpenoid, positif steroid jika terbentuk warna biru atau hijau. Pada percobaan ini tidak terjadi pembentukan warna merah, biru maupun hijau pada percobaan didapatkan berubah menjadi hitam larutan berwarna hitam karena adanya serbuk arang yang terdapat dalam larutan seperti **Gambar 4. 8** maka

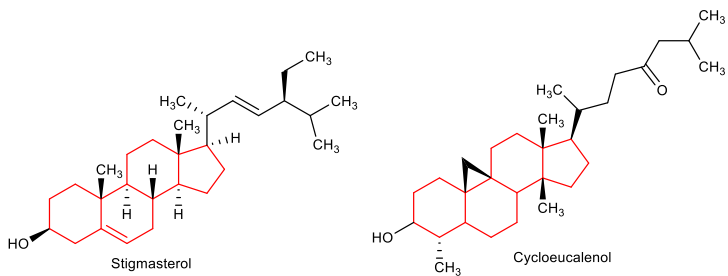
dapat disimpulkan ekstrak metanol kitolod tidak teridentifikasi mengandung senyawa terpenoid/steroid.



Gambar 4. 8 Hasil Uji Terpenoid/Steroid

c. Terpenoid/Steroid dalam Satu Famili

Tumbuhan yang masih dalam satu famili campanulaceae yaitu *L. chinensis* Lour di indenifikasi memiliki kandungan steroid (**Gambar 4.9**) (Folquitto *et al.*, 2019).



Gambar 4. 9 Steroid *L. chinensis* Lour
(Folquitto *et al.*, 2019)

4. Tanin

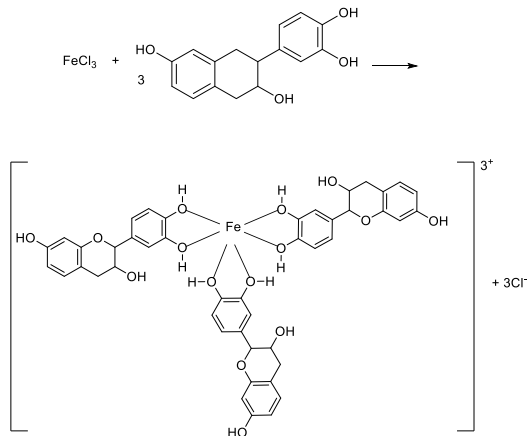
Pengujian senyawa tanin ekstrak *Isotoma longiflora L* menunjukkan hasil positif dimana larutan ekstrak berubah menjadi coklat kehitaman ketika ditambahkan pereaksi FeCl_3 1% seperti pada **Gambar 4. 10**.



Gambar 4. 10 Hasil Uji Tanin

Kedalam larutan ekstrak ditambahkan beberapa tetes pereaksi FeCl_3 1%. Penambahan FeCl_3 digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan gugus fenol yang ada di dalam sampel. Prinsipnya, jika sampel mengandung gugus fenol, maka saat ditambahkan FeCl_3 akan terjadi perubahan warna menjadi kehitaman, hal ini merupakan karakteristik untuk mengidentifikasi adanya senyawa fenolik dalam sampel dimana membentuk senyawa kompleks dengan ion besi (Fe^{3+}) dalam FeCl_3 . Maka dalam uji fitokimia menggunakan FeCl_3 hasil positif memungkinkan adanya senyawa fenol dalam sampel,

tanin merupakan salah satu senyawa polifenol (Ergina, Nurhayati & Pursitasari, 2014).

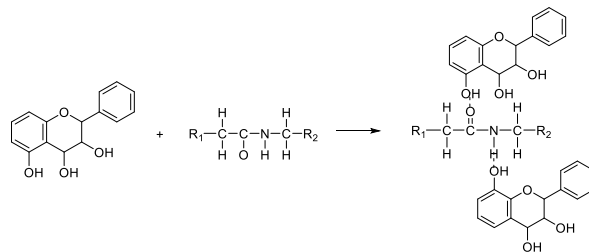


Gambar 4. 11 Reaksi Uji Tanin
(Ergina, Nurhayati & Pursitasari, 2014)

a. Tanin dalam Famili Campanulaceae

Tanin merupakan salah satu metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antibakteri dimana saat tanin berinteraksi dengan bakteri akan terjadi ikatan hidrogen dengan protein didalam bakteri **Gambar 4.12**. Ikatan hidrogen antara tanin dan protein akan menyebabkan denaturasi protein yang mengganggu metabolisme bakteri. ikatan hidrogen antara tanin dan protein menyebabkan perubahan konformasi pada molekul protein sehingga aktivitas biokimiawinya

berkurang. Tanin juga menghambat pertumbuhan bakteri dimana bereaksi dengan membrane sel, tanin yang termasuk senyawa polifenol menghambat bakteri dengan merusak membrane plasma bakteri. bakteri yang terdiri dari 60% protein dan 40% lipid (fosfolipid). Protein bakteri bereaksi dengan tanin membentuk ikatan hidrogen mengalami denaturasi dan tanin bereaksi dengan fosfolipid merusak membrane sel yang menyebabkan kematian pada bakteri (Mailoa *et al.*, 2014).



Gambar 4. 12 Reaksi tanin dengan Protein (Mailoa *et al.*, 2014).

5. Saponin

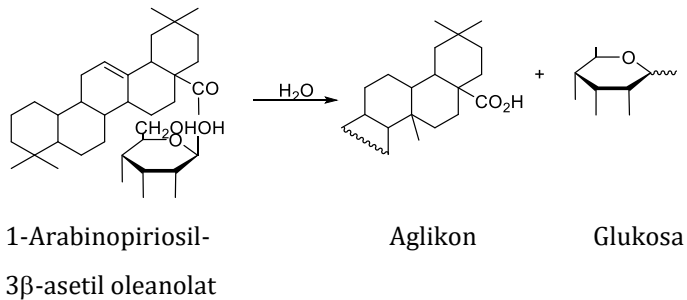
Pengujian senyawa saponin ekstrak *Isotoma longiflora L* menunjukkan hasil positif dimana terbentuk busa stabil diatas permukaan larutan seperti pada **Gambar 4. 13**.



Gambar 4. 13 Hasil Uji Saponin

Lapisan air yang telah dipisahkan dikocok secara intensif, dan terbentuk busa 0,5 cm yang stabil selama 15 menit hal ini menunjukkan ekstrak positif mengandung saponin. Saponin adalah jenis senyawa glikosida yang kompleks, terbentuknya melalui reaksi antara gula dengan senyawa hidroksil organik. jika mengalami proses hidrolisis hasilnya berupa gula dan non gula (Hadi and Permatasari, 2019). Saponin yang mempunyai gugus glikosil yang bersifat polar dan gugus steroid atau triterpenoid yang bersifat nonpolar. Hal ini yang menyebabkan saponin menjadi aktif di permukaan dan mampu membentuk struktur misel ketika dicampur dengan air dan dikocok. Misel ini bagian polar menghadap ke luar sedangkan bagian nonpolar menghadap kedalam dan kondisi ini menghasilkan tampilan seperti busa (Hadi dan Permatasari, 2019). Terbentuknya buih/busaa saat pengujian mengindikasikan glikosida yang memiliki

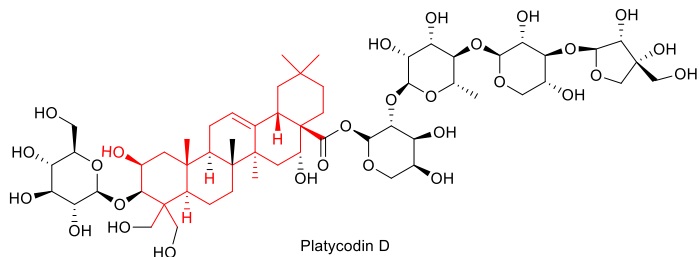
kapasitas untuk menghasilkan busa dalam air setelah mengalami hidrolisis menjadi glukosa dan komponen lainnya (Hadi dan Permatasari, 2019).



Gambar 4. 14 Reaksi Uji Saponin
(Hadi dan Permatasari, 2019)

b. Tanin dalam Satu Famili

Tumbuhan yang masih dalam satu famili campanulaceae yaitu *Platycodon grandiflorus* di indenifikasi memiliki kandungan saponin triterpenoid **Gambar 4.15** (Xie *et al.*, 2023). Pada jenis ini triterpenoid berperan sebagai aglikon dan berikatan dengan gugus gula. Aglikon memiliki peran penting dalam senyawa saponin sebagai agen antibakteri dimana aglikan berikatan dengan lipid dan proten dalam membrane sel yang mengakibatkan kematian pada sel (Majnooni *et al.*, 2023).



Gambar 4. 15 Aglikon Triterpenoid
(Majnooni *et al.*, 2023)

Saponin bekerja sebagai agen antibakteri melibatkan penurunan tegangan permukaan, yang menghasilkan peningkatan permeabilitas atau kebocoran pada sel. Akibatnya, senyawa-senyawa intraseluler memiliki kemungkinan untuk keluar dari sel, yang akan menyebabkan kematian pada sel (Pangestuti, Summardianto & Amalia, 2017).

Kandungan metabolid sekunder ekstrak metanol daun kitod yang berpotensi sebagai antibakteri antara lain, flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin.

C. Uji Antibakteri

1. Uji Daya Hambat (Metode Cakram)

Uji aktivitas antibakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan ekstrak metanol *Isotoma longiflora* L dengan mengukur daya hambat yang terbentuk

melalui metode cakram. Uji daya hambat dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram, metode ini merupakan metode yang umum digunakan dalam analisa aktivitas antibakteri. Prinsip dari metode difusi cakram yaitu kertas cakram yang telah dicelupkan dalam ekstrak akan ditempatkan di atas media agar padat yang telah dioleskan suspensi bakteri. Terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram yang telah diberi ekstrak menandakan bahwa ekstrak yang diuji memiliki daya hambat terhadap bakteri yang diuji.

Semua *glassware* yang akan digunakan dalam pengujian antibakteri akan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, hal ini dilakukan agar semua alat gelas yang digunakan steril dan mencegah kemungkinan terkontaminasi. Sedangkan alat besi seperti jarum ose dan pinset disteriliasi dengan disemprot alkohol 70% dan dibakar diatas bunsen hingga batangan besi berpijar.

Inokulasi bakteri dilakukan dengan mengkultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* murni yang dioleskan sebanyak satu loop jarum ose kedalam media agar miring, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pengkulturan bakteri ini

bertujuan untuk meregenerasi bakteri dan inkubasi dilakukan untuk mengembang biakkan bakteri.

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan dengan mengambil bakteri hasil inokulasi dengan jarum ose, kemudian dilarutkan kedalam larutan NaCl 0,9% kemudian di vortex untuk menghomogenkan bakteri. Pelarutan bakteri uji kedalam larutan NaCl 0,9% bertujuan untuk menjaga pertumbuhan bakteri berlebihan serta menjaga keseimbangan osmotik dan stabilitas sel mikroba, kekeruhan larutan suspensi bakteri disamakan dengan larutan standar kekeruhan *Mc Farland* 0,5. Larutan *Mc Farland* 0,5 dijadikan sebagai acuan visual yang memberikan konsistensi dalam kekeruhan untuk perbandingan konsentrasi bakteri, **Gambar 4.16**. Larutan McFarland diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

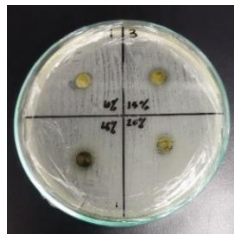


Gambar 4. 16 Perbandingan Larutan Mc Farland dan Suspensi Bakteri

Media pengujian yang digunakan adalah *nutrient agar* (NA). NA merupakan media pertumbuhan mikrobiologi yang paling umum karena komposisi yang terkandung pepton (protein) dan ekstrak daging, selain itu harga yang terjangkau dibanding media yang lain. NA dituang kedalam cawan petri dan dibiarkan hingga mengeras, selanjutnya suspensi yang telah disiapkan dioleskan secara merata menggunakan *cotton swab* dan ditunggu hingga mengering. Cawan petri yang berisi bakteri selanjutnya ditandai dengan membagi menjadi empat bagian pada bagian bawah cawan petri menggunakan spidol. Cawan petri yang sudah ditandai selanjutnya diletakkan *paper disk* (kertas cakram) yang sudah terdapat ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* dengan empat macam konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, kontrol negatif DMSO (Dimetil Sulfoksida) dan kontrol positif berupa larutan *Chlorhexidine* 0,2%. Pelarut DMSO dipilih karena memiliki sifat dapat melarutkan ekstrak yang bersifat polar maupun nonpolar. larutan *Chlorhexidine* 0,2% dipilih karena fungsinya sebagai obat kumur yang gunanya mengatur plak dan mikroorganisme dalam rongga mulut dan mendukung pencegahan gangguan gusi dan komplikasi kesehatan mulut

lainnya. Semua pengujian dilakukan di dalam LAF (*Laminary Air Flow*) untuk menjaga kesterilan agar tidak terjadi kontaminasi.

Pengujian dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator. Suhu 37°C merupakan suhu yang umum digunakan dalam pertumbuhan bakteri karena mendekati suhu tubuh manusia, dimana sebagian besar bakteri patogen pada manusia tumbuh dan berkembang dengan baik pada suhu ini, pada suhu ini juga optimal untuk metabolisme banyak jenis bakteri. Daya hambat antibakteri ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram seperti **Gambar 4. 17**.



Gambar 4. 17 Hasil Uji Daya Hambat

Daya hambat ekstrak *Isotoma longiflora L* terlihat dengan adanya zona bening yang terbentuk, zona bening yang dihasilkan diukur dengan jangka sorong. Uji daya hambat ekstrak *Isotoma longiflora L*

terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* terdapat dalam **Tabel 4. 2**

Tabel 4. 2 Hasil Uji Daya Hambat

Konsentrasi	Diameter Zona Bening (mm)	Kategori
Kontrol	6,312 ± 0,284	Sedang
10%	2,266 ± 0,600	Lemah
15%	2,713 ± 0,427	Lemah
20%	3,106 ± 0,745	Lemah
25%	3,495 ± 1,348	Lemah

Ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* pada konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% memiliki daya hambat yang lemah dengan diameter zona bening berturut-turut $2,266 \pm 0,600$, $2,713 \pm 0,427$, $3,106 \pm 0,745$ dan $3,495 \pm 1,348$. Sedangkan kontrol positif memiliki diameter zona bening $6,312 \pm 0,284$ dengan daya hambat sedang. Dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* semakin besar daya hambat bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Pada penelitian ini ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* memiliki daya hambat $3,495 \pm 1,348$ mm yang tergolong lemah juga, hal ini dimungkinkan

karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam ekstrak kitolod bersifat lemah salah satunya warna yang tidak pekat oleh uji flavonoid menunjukkan kandungan flavonoid dalam daun kitolod bersifat lemah, busa saponin yang dihasilkan juga hanya memiliki ketinggian 0,5 cm, dimana saponin semakin kuat akan semakin tinggi busa yang terbentuk dan stabil (Herawati, Yuniarti & Istikowati, 2022). Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun kitolod (*Isotoma longiflora L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening dengan kategori lemah.

Pengukuran daya hambat antibakteri dengan metode cakram ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar ekstrak yang diujikan. Metode cakram hanya mampu menunjukkan besar maupun kecil zona bening yang terbentuk, untuk melihat aktivitas antibakteri dilanjutkan dengan uji konsentrasi hambat minimum (KHM). Uji KHM bertujuan untuk melihat berapa konsentrasi minimal ekstrak yang diperlukan untuk menghambat bakteri, secara visual digambarkan dengan perubahan larutan yang lebih bening tetapi untuk hasil yang lebih akurat

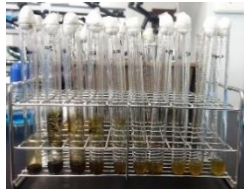
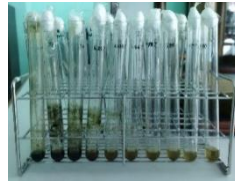
menggunakan UV-Vis dengan pengukuran absorbansi (Rahmawati, Sudjarwo & Widodo, 2014).

2. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (Metode UV-Vis)

Metode dilusi cair/*Broth dilution test* (pengenceran serial) digunakan untuk mengukur KHM, dengan pembuatan deretan pengenceran bertingkat dari ekstrak antibakteri dalam larutan cair yang dicampur dengan bakteri uji. Konsentrasi terkecil dari ekstrak pada tingkat pencegahan bakteri terendah hal ini yang diidentifikasi sebagai KHM (Pajan, Waworuntu & Leman, 2016).

Larutan ekstrak *Isotoma longiflora L* dilakukan pengenceran bertingkat dengan media NB (*Nutrient Broth*) dari konsentrasi 25% sampai 0,09%, kontrol positif menggunakan suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang sudah disamakan tingkat kekeruhannya dengan larutan *McFarland* 0,5, kontrol negatifnya yaitu ekstrak *Isotoma longiflora L* konsentrasi 25% tanpa penambahan bakteri. pengukuran uji KHM dilakukan sebanyak dua kali pengulangan. Pengukuran nilai KHM menggunakan spektrofotometer UV-Vis mengukur nilai absorbansi sebelum dan setelah proses inkubasi. Nilai absorbansi

sebelum inkubasi lebih tinggi dibandingkan dengan setelah inkubasi menandakan pertumbuhan terhambat dan sebaliknya. Larutan uji sebelum dan sesudah inkubasi **Gambar 4. 13.**

**a****b**

Gambar 4. 18 Hasil Uji KHM dari Kiri ke Kanan Konsentrasi 25% sampai 0,09% (a) Sebelum; (b) Setelah inkubasi

Larutan uji KHM secara visual setelah inkubasi memiliki warna yang lebih bening, menunjukkan koloni bakteri terhambat dengan penambahan ekstrak. Pengukuran nilai KHM yang lebih spesifik lagi diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji KHM ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada **Tabel 4. 4.**

Tabel 4. 3 Hasil Uji KHM

Kons.	Absorbansi		Ket
	Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi	
K (-)	2,461 ± 0,031	2,602 ± 0,002	Tidak terhambat
K (+)	0,055 ± 0,000	0,056 ± 0,0007	Tidak terhambat
25%	1,974 ± 0,021	1,475 ± 0,004	Terhambat
12,5%	1,911 ± 0,013	1,337 ± 0,006	Terhambat
6,25%	1,282 ± 0,001	0,631 ± 0,014	Terhambat
3,12%	0,813 ± 0,009	0,650 ± 0,007	Terhambat
1,56%	0,775 ± 0,007	0,653 ± 0,041	Terhambat
0,78%	0,791 ± 0,006	0,562 ± 0,001	Terhambat
0,39%	0,618 ± 0,001	0,675 ± 0,011	Tidak terhambat
0,19%	0,434 ± 0,0007	0,606 ± 0,001	Tidak terhambat
0,09%	0,254 ± 0,002	0,336 ± 0,001	Tidak terhambat

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi minimal suatu zat antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghitung jumlah koloni berdasarkan nilai absorbansinya. Nilai absorbansi diukur sebelum inkubasi dan setelah inkubasi selama 24 jam. Jika nilai absorbansi sebelum lebih tinggi dibandingkan sesudah inkubasi maka dapat dikatakan bahwa bakteri tidak terhambat pada konsentarsi yang diuji dan berlaku

juga sebaliknya. Penentuan nilai KHM ini untuk menentukan konsentrasi paling kecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak *Isotoma longiflora L* terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi 0,78%, dimana pada konsentasi ini terjadi penurunan nilai absorbansi sebelum inkubasi $0,791 \pm 0,006$ dan setelah inkubasi $0,562 \pm 0,001$ terjadi penurunan sebesar 0,229 menandakan bahwa bakteri sudah terhambat, sedangkan pada konsentrasi 0,39 nilai absorbansi sebelum inkubasi $0,618 \pm 0,001$ dan setelah inkubasi $0,675 \pm 0,011$ terjadi kenaikan nilai absorbansi sebesar 0,057 menandakan bakteri masih dapat berkebang.

Dapat dilihat pada **Tabel 4.4** bakteri sudah terhambat secara kontinyu pada konsentrasi terendah 0,78% hingga konsentasi 25% dimana nilai absorbansi sebelum dan sesudah terjadi penurunan, sedangkan pada konsentrasi 0,39% sampai 0,09% terjadi peningkatan nilai absorbansi. Maka dapat ditetapkan bahwa Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi 0,78%.

Berdasarkan uraian aktivitas antibakteri pada ekstrak metanol daun kitolod diatas bahwa aktivitas anibaktri pada daun kitolod ini termasuk dalam kategori lemah. Hal ini didasarkan pada ukuran zona hambat ekstrak metanol daun kitolod ($3,495 \pm 1,348$ mm) terhadap *Chlorohexidine* sebagai kontrol positif ($6,312 \pm 0,284$ mm) dan konsentasi hambat minimum pada 0,78%. Aktivitas antibakteri daun kitolod tersebut disebabkan oleh kelas metabolid sekunder alkaloid, falavanoid, saponin dan tanin. Walaupun demikian, aktivitas antibakteri pada daun kitolod ini dapat ditingkatkan melalu modifikasi molekul pada penelitian dimasa mendatang

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Hasil pengujian fitokimia kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.
2. Ekstrak metanol daun kitolod (*Isotoma longiflora L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening dengan kategori lemah dimana diameter zona bening yang terbentuk konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% secara berturut-turut yaitu $2,266 \pm 0,600$ mm, $2,713 \pm 0,427$ mm, $3,106 \pm 0,745$ mm dan $3,495 \pm 1,348$ mm.
3. Nilai uji Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak metanol *Isotoma longiflora L* terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi 0,78%.

B. Saran

1. Perlu uji antibakteri terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan ekstraksi *Isotoma longiflora L* menggunakan pelarut dan konsentrasi yang berbeda.
2. Perlu pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan fraksinasi dari ekstrak metanol *Isotoma longiflora L*.
3. Perlunya modifikasi molekul untuk meningkatkan aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelshaheed, M. M. *et al.* 2021. Piperidine nucleus in the field of drug discovery. *Future Journal of Pharmaveutical Sciences*. 1(188): 1–11.
- Alfauzi, R. A. *et al.* 2021. Potensi Kulit Jengkol sebagai Agen Penurun Kolesterol Daging Itik Magelang. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 16(1): 98–107.
- Angganawati, R. T. dan Nisa, T. C. N. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora* L.) C, Prest Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*) Dengan Kontrol Antibiotik Ofloxacin. *Jurnal FARMASINDO Politeknik Indonusa Surakarta*. 3(1): 3–6.
- Aprilia, L., Sari, A. N. & Nurhayati 2022. Uji Antibakteri Ekstrak Bunga dan Buah Kitolod (*Isotoma longiflora* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Health Research*. 5(2): 18–27.
- Azzahra, F., Almalik, E. A. & Sari, A. A. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Dan *Staphylococcus Aureus* Antibacterial Activity Of Ethanol Extract Of Avocado (*Persea Americana* Mill.) Leaf Against *Salmonella Typhi*. *Akfarindo*. 4(2): 1–10.
- Bastari, M., Wijaya, D. & Ismalayani. 2023. Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus Acidophilus*. *Jurnal Kesehat Gigi dan Mulut (JKGM)*. 4(2): 88–93.
- Bilqis, N. M., Erlita, I. & Putri, D. K. T. 2018. Daya Hambat Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *Dentin Jurnal Kedokteran Gig*. 2(1): 26–31.
- Bossi, A. *et al.* (2007). Effect of tannic acid on *Lactobacillus hilgardii* analysed by a proteomic approach. *Journal of*

- Applied Microbiology*. 102(3): 787–795.
- Busman, B., Edrizal, E. & Utami, D. W. P. 2021. Uji Efektivitas Ekstrak Buah Anggur Hijau (*Vitis Vinivera* L) Terhadap Daya Hambat Laju Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Dan *Lactobacillus Acidophilus*. *Ensiklopedia Sosial Review*. 2(3): 325–332.
- Cahyaningtyas, F. D. *et al.* 2019. Pemanfaatan Ekstrak Biji Teratai Sebagai Bahan Aktif Antibakteri Untuk Pembuatan Hand Sanitizer. *Indonesian Chemistry and Application Journal*. 3(1): 7.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564–582.
- Dean, S. N. *et al.* (2019). Isolation and characterization of *Lactobacillus*-derived membrane vesicles. *Scientific Reports*. 9(1): 1–11.
- Deus, F. P. dan Ouanounou, A. 2022. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *International Dental Journal*. 72(3): 269–277.
- Dewatisari, W. F. 2020. Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain.) Menggunakan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi Covid-19*. Gowa, 19 September 2020.
- Dewi, L. K. *et al.* 2018. Studi Perbandingan Metode Isolasi Ekstraksi Pelarut dan Destilasi Uap Minyak Atsiri Kemangi terhadap Komposisi Senyawa Aktif. *Jurnal Rekayasa Bahan Alam dan Energi Berkelanjutan*. 2(1): 13–19.
- Ergina, Nurhayati, S. & Pursitasari, I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kim.* 3(3): 165–172.
- 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*. *Meditory*. 7(5): 110–118.

- Fazil, M. *et al.* 2017. Analisis Senyawa Alkaloid Dan Flavonoid Dari Ekstrak Kitolod (*Isotoma longiflora*) Dan Uji Aktivitasnya Terhadap Bakteri Penyebab Karies Gigi. *Itekimia*. 2(1): 73–83.
- Folquitto, D. G. *et al.* 2019. Biological activity, phytochemistry and traditional uses of genus *Lobelia* (Campanulaceae): A systematic review. *Fitoterapia*. 134(2019): 23–38.
- Gintu, A. R., Kristian, E. B. E. & Martono, Y. 2020. Karakterisasi Pasta Gigi Berbahan Abrasif Hidroksiapatit (HAp). *Jurnal Kimia Riset*. 5(2): 120.
- Gloriana, E. M., Sagita, L. & Siswanto. 2021. Karakterisasi Flavonoid Daun Kitolod dengan Metode Maserasi dan Enkapsulasi. *Journal of Chemical and Process Engineering*. 2(2): 44–51.
- Gutierrez-Venegas, G. *et al.* 2019. Effect of flavonoids on antimicrobial activity of microorganisms present in dental plaque. *Heliyon* 5(12):1–6.
- Hadi, K. dan Permatasari, I. 2019. Uji Fitokimia Kersen (*Muntingia calabura* .L) dan Pemanfaatannya Sebagai Alternatif Penyembuhan Luka. *Prosiding SainsTeKes Semnas MIPAKes UMRi*. Riau Agustus 2019.
- Hafshah, M., Rohmah, A. & Mardiyah, A. 2022. Potential of Secang Wood (*Caesalpinia sappan* L.) Ethanol Extracts Anti-Oxidant and Sun-Protection. *Al-Kimia*. 10(2): 126–132.
- Halim, E. N., Samadi, K. & Kunarti, S. 2019. Efek Antibiofilm Glass Ionomer Cements dan Resin Modified Glass Ionomer Cements Terhadap *Lactobacillus acidophilus*. *Conservative Dentistry Journal*. 7(2): 120–129.
- Hamidy, M. yulis *et al.* 2016. Efek Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sapu Jagad (*Isotoma longifolia*) Terhadap *Escherichia coli*. *J. Sains Tek*. 12(4): 91–96.
- Handoyo, D. L. Y. 2020. Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle*). *Jurnal Farmasi Tinctura*. 2(1): 34–41.

- Hariana, A. (2007) *Tumbuhan obat dan khasiatnya*. 5th edn, Penebar Swadaya. Jakarta: Niaga Swadaya.
- Hasanah, N. dan Novian, D. R. 2020. Daya Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Propionibacterium acnes*). *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi*.9(1): 46.
- Hazar, S., Putri, D. D. & Fitriyaningsih, S. P. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Herba Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap *Bacillus cereus*. *Farmasi Galenika*. 4(2): 45–51.
- Heliawati, L. 2018. *Kimia Organik Bahan Alam*. Tesis. Bogor: Program Pascasarjana Universitas Pakuan .
- Herawati, Yuniarti & Istikowati. 2022. Phytochemical Test on Jungrahab (*Baekkea frutescens* L.) Medical Plants. *Jurnal Sylva Scienteeae*. 05(3): 412–419.
- Herdianto, F. A., Hazar, S. & Fitriyaningsih, S. P. 2016. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak dan Karakterisasi Fitokimia Herba Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl) terhadap *Candida albicans*'. *Prosiding Farmasi*. Bandung Agustus 2016.
- Hidayat, S. *et al.* 2008. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Pelarut Terhadap Kinerja Devais Organic Light Emitting Diode. *Jurnal Bionatura*. 10(1): 68–77.
- Hidjrawan, Y. 2018. Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Optimalisasi*. 4(2): 78–82.
- Huang, Z. *et al.* 2021. Comparative genomics and specific functional characteristics analysis of lactobacillus acidophilus. *Microorganisms*. 9(9): 1–23.
- Indraswari, A. 2008. *Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (Eugenia Uniflora L.) Menggunakan Metode Maserasi Dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik Dan Flavonoid*. Universitas Muhammadiyah: Surakarta.
- Jati, N. K., Prasetya, A. T. & Mursiti, S. 2019. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alkaloid pada

- Daun Pepaya. *Jurnal MIPA*. 42(1): 1–6.
- Jogaiah, S. dan Abdelrahman, M. 2019. *Bioactive Molecules in Plant Defense Signaling in Growth and Stress*. Spinger Nature : Switzerland.
- Jyothi, K. S. dan Seshagiri, M. 2012. In-vitro activity of saponins of bauhinia purpurea, madhuca longifolia, celastrus paniculatus and semecarpus anacardium on selected oral pathogens. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*. 9(4): 216–23.
- Khadafi, M. M., Nahzi, M. Y. I. & Wibowo, D. 2021. Pengaruh Aplikasi Bonding Antibakteri Terhadap Jumlah Bakteri Lactobacillus Acidophilus Yang Melekat Pada Tumpatan Resin Komposit Bioaktif. *Dentin (Jur.Ked.Gigi)*.5(1): 12–15.
- Kiswando, A. A. 2017. Skrining Senyawa Kimia Dan Pengaruh Metode Maserasi Dan Refluks Pada Biji Kelor (Moringa oleifera, Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak Yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural*. 1(2): 126.
- Kumakauw, V. V., Simbala, H. E. I. & Mansauda, K. L. R. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sesewanua (Clerodendron Squamatum Vahl.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Escherichia coli dan Salmonella typhi. *Jurnal MIPA*. 9(2): 86.
- Kusmiyati dan Agustini, N. W. S. 2007. Antibacterial activity assay from Porphyridium cruentum microalgae. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 8(1): 48–53.
- Kusumawardhani, E. (2020) *Pengaruh Ekstrak Etanol 96% Daun Kitolod (Isotoma Longiflora L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida pada Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus Strain Wistar)*. Disertasi. Semarang: Universitas Ngudi Waluyo.
- Kusumawati, E., Supriningrum, R. & Rozadi, R. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm Terhadap Salmonella typhi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(1): 1.

- Labagu, R. *et al.* 2022 Kadar Saponin Ekstrak Buah Mangrove (*Sonneratia alba*) Dan Daya Hambatnya Terhadap Radikal Bebas Dpph Levels Of Saponin In Mangrove Fruit (*Sonneratia alba*) Extract And Its Inhibition Against Dpph Free Radical. *Jambura Fish Processing Journal*. 4(1): 1–11.
- Lestari, D., Claudya, T. & Pramitasari, R. 2019. Stabilitas Mikro kapsul *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 Terhadap Pemanasan Dan Penyimpanan Dalam Selai Buah Nanas Rendah Gula. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 30(2): 27–132.
- Luthfiyani, A., Pujiastuti, P. & Aris, M. 2019. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap *Porphyromonas gingivalis* (Antibacterial Activity of Celery Leaves (*Apium graveolens* L.) against *Porphyromonas gingivalis*). *Jurnal Stomatoghatic*, 16(2): 53–58.
- Mailoa, M. N. *et al.* 2014. Antimicrobial Activities Of Tannins Extract From Guava Leaves (*Psidium Guajava* L) On Pathogens Microbial. *International Journal of Scientific & Technology Research*. 3(1) : 236–241.
- Maimuna, M., Sidoretno, W. M. & Wardianati, I. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Matoa (*Pometia Pinnata* J . r & g . Forst) Terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal JFARM (Jurnal Farmasi)*.1(1): 7–11.
- Majnooni, M. B. *et al.* 2023. Inhibiting Angiogenesis by Anti-Cancer Saponins: From Phytochemistry to Cellular Signaling Pathways. *Metabolites*. 13(3): 1–28.
- Makolit, J., Waworuntu, O. A. & Leman, M. A. 2017 Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-GIGI*. 5(2): 117–124.
- Mardiyah, A., Rastuti, U. & Handayani, S. N. 2021. The Toxicity Test on Larvae of Shrimp (*Artemia salina* L.) of Lindur

- Fruit Peel Extract (*Bruguiera gymnorhiza*) and Identification of Its Bioactive Compounds. *Stannum : Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 3(2): 56–63.
- Mareintika, R. 2021. Uji Efek Pemberian Antibakteri Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora* (L) Presl.) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Mediuka Hutama*.2(4): 1084–1088.
- Misrulloh, A. *et al.* 2017. *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Jambu Biji Putih dan Merah Terhadap Pertumbuhan Bakteri Karies Gigi (Lactobacillus acidophilus)*. Prosiding Seminar Sains Nasional dan Teknologi. Semarang 2017.
- Muljono, P., Fatimawali & Manampiring, A. E. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mayana Jantan (*Coleus atropurpureus* Benth) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus* Sp. dan *Pseudomonas* Sp. *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 4(1): 164–172.
- Naidu. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC press :pomana, california.
- Noer, S. *et al.* 2018. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin , Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Eksakta*. 18(1): 19–29.
- Nur, S., Baitanu, J. A. & Gani, S. A. 2019. Pengaruh Tempat Tumbuh dan Lama Penyulingan secara Hidrodestilasi terhadap Rendemen dan Profil Kandungan Kimia Minyak atsiri Daun Kemangi (*Ocimum canum* Sims L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 6(2): 363–367.
- 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): p. 41.
- Pajan, S. A., Waworuntu, O. & Leman, M. A. 2016. Potensi Antibakteri Air Perasan Bawang Putih (*Allium sativum* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

- Pharmacon*. 5(4): 77–89.
- Pangestuti, I. E., Summardianto & Amalia, U. 2017. Skrining senyawa fitokimia rumput laut *Sargassum* sp. dan aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST)*. 12(2): 98–102.
- Paramita, S., Yum, E. & Teruna, H. Y. 2015. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol tumbuhan Kitolod (*Isotoma longiflora* (wild.) presl) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jom Fmipa*. 2(2): 1–9.
- Peng, J. *et al.* 2019. Plant-derived alkaloids: The promising disease-modifying agents for inflammatory bowel disease. *Frontiers in Pharmacology*. 10: 1–15.
- Politeo, O. *et al.* 2013. *Campanula portenschlagiana* roem. et schult.: Chemical and antimicrobial activities. *Chemistry and Biodiversity*. 10(6): 1072–1080.
- Putra, anak agung bawa *et al.* 2014. Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa Paradiaciaca* L.) Dengan Metode Maserasi, Refluks dan Sokletasi. *Jurnal Kimia*. 8(1): 113–119.
- Putrajaya, F., Hasanah, N. & Kurlya, A. 2019. Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* l.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Jerawat (*Propionibacterium acnes*) Dengan Metode Sumur Agar. *Edu Masda Journal*. 3(2): 123.
- Rabbaniyyah, M., Estikomah, S. A. & Artanti, L. O. 2021. Uji Daya Hambat Fraksi N-Heksan, Kloroform, Dan Etanol Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* (Wild.) Presl.) Terhadap Bakteri *Shigella sonnei*. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*. 5(1): 9.
- Rachmawan, A. dan Dalimunthe, C. I. 2017. Prospek Pemanfaatan Metabolit Sekunder Tumbuhan Sebagai Pestisida Nabati Untuk Pengendalian Patogen Pada Tanaman Karet. *Warta Per karetan*. 36(1): 15–28.

- Rahmawati, N., Sudjarwo, E. & Widodo, E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan (Indonesian Journal of Animal Science)*. 24(3): 24–31.
- Rivai, A. T. O. 2020. Identifikasi Senyawa yang Terkandung pada Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesian Journal Of Funfamental Sciences (IJFS)*. 6(1): 63–70.
- Santhi, D. D. 2017. *Diklat Praktikum Kimia Klinik Erba ® Mannheim*. Denpasar: Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.
- Saputera, M. M. A., Marpaung, T. W. A. & Ayuchecaria, N. 2019. Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Kadar Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis Hassk*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* melalui metode sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 5(2): 167–173.
- Sari, R., Apridamayanti, P. & Pratiwi, L. 2022. Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melasthoma malabathricum*)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 7(2): 105–114.
- Savitri, I., Suhendra, L. & Wartini, N. M. 2017. Pengaruh jenis pelarut pada metode maserasi terhadap karakteristik ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 5(3): 93–101.
- Shamsudin, N. F. *et al.* 2022. Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation. *Molecules*. 27(4): 1–41.
- Sirumapea, L. *et al.* 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dan Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) Dengan Pereaksi DPPH. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*. 8(1): 17–23.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-VIS Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Strukur Senyawa*

- Organik*. Bandar Lampung: AURA CV. Anugerah Utama Raharja.
- Tandi, J. *et al.* 2020. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*. 6(1): 74–80.
- Triesty, I. 2017. Ekstraksi Minyak atsiri dari Gaharu (*Aquilaria Malaccensis*) dengan Menggunakan Metode Microwave Hydrodistillation dan Soxhlet Extraction. *Jurnal Teknik ITS*. 6(2): 392–395.
- Wahyuni, S., Nuryanti, S. & Jura, M. R. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Bawang Hutan (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dari Matantimali Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Akademika Kimia*. 5(2): 98.
- Wang, C. *et al.* 2017. Nontargeted metabolomic analysis of four different parts of *platycodon grandiflorum* grown in northeast China. *Molecules*. 22(8): 1–16.
- Wardani, T. S., Nisa, T. C. and Artini, K. S. 2022. Antibacterial Activity Test of N-Hexan, Ethyl Acetate and Water from Ethanol Extract of Kitolod Leaf (*Isotoma Longiflora* (L.) C. Presl.) AGAINST *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. in *Proceedings of the International Conference on Nursing and Health Sciences*. pp. 9–16.
- Wilapangga, A. dan Syaputra, S. 2018. Analisis Antibakteri Metode Agar Cakram Dan Uji Toksisitas Menggunakan BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 2(2): 50.
- Wuon, K. D., Pangemanan, D. H. C. & Anindita, P. S. 2018. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Getah Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa acuminata* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *e-GIGI*. 6(2): 112–117.
- Xie, L. *et al.* 2023. The pharmacology and mechanisms of platycodin D, an active triterpenoid saponin from

Platycodon grandiflorus. *Frontiers in Pharmacology*. 14(4): 1–17.

Zubaidah, N., Juniarti, D. E. & Basalamah, F. 2019. Perbedaan Daya Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) 3,125% dan Chlorhexidine 0,2% terhadap *Lactobacillus acidophilus*. *Conservative Dentistry Journa*. 8(1): 11.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan

A. Hasil Rendemen Ekstrak Metanol *Isotoma longiflora L*

Berat simplisia kering = 300 g

Berat ekstrak kental = 30,1172 g

$$\begin{aligned}\text{Rendemen \%} &= \frac{30,1172 \text{ g}}{300 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 10,039\%\end{aligned}$$

Ekstrak kental metanol *Isotoma longiflora L* yang diperoleh sebanyak 30,1172 gram dengan persen rendemen sebesar 10,039%.

B. Pembuatan Kloroform Amoniak 0,05N

Kloroform Amoniak 0,05 N dibuat dengan 1 mL amonia pekat ditambahkan dengan 250 mL kloroform.

C. Pembuatan Asam Sulfat (H₂SO₄) 2N

Membuat Asam Sulfat 2N dari Asam Sulfat Pekat.

$$\begin{aligned}N &= \frac{\% \times \text{Berat Jenis} \times 1000}{\text{BM/Val}} \\ &= \frac{98 \times 1,84 \times 1000}{98,08/2} \\ &= 36,78 \text{ N}\end{aligned}$$

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$36,76N \cdot V_1 = 2N \cdot 25\text{mL}$$

$$V_1 = \frac{2N \cdot 25\text{mL}}{36,76}$$

$$V_1 = 1,36 \text{ mL}$$

Asam Sulfat pekat diambil sebanyak 1,36 mL dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL, ditambahkan aquades hingga tanda batas.

D. Pembuatan Larutan Uji Metode Cakram

1. Ekstrak Metanol *Isotoma longiflora* L 10%

$$\% (b/v) = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (mL)}} \times 100\%$$

$$10\% = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{1 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$g = \frac{10\%}{100\%} \times 1$$

$$g = 0,1$$

Ekstrak metanol *Isotoma longiflora* L konsentrasi 10% dibuat dengan mencampurkan 0,1 gram ekstrak kedalam 1 mL DMSO.

2. Ekstrak Metanol *Isotoma longiflora* L 15%

$$\% (b/v) = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (mL)}} \times 100\%$$

$$15\% = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{1 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$g = \frac{15\%}{100\%} \times 1$$

$$g = 0,15$$

Ekstrak metanol *Isotoma longiflora* L konsentrasi 10% dibuat dengan mencampurkan 0,15 gram ekstrak kedalam 1 mL DMSO.

3. Ekstrak Metanol *Isotoma longiflora* L 20%

$$\% (b/v) = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (mL)}} \times 100\%$$

$$20\% = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{1 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$g = \frac{20\%}{100\%} \times 1$$

$$g = 0,2$$

Ekstrak metanol *Isotoma longiflora* L konsentrasi 10% dibuat dengan mencampurkan 0,2 gram ekstrak kedalam 1 mL DMSO.

4. Ekstrak Metanol *Isotoma longiflora* L 25%

$$\% (b/v) = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (mL)}} \times 100\%$$

$$25\% = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{1 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$g = \frac{25\%}{100\%} \times 1$$

$$g = 0,25$$

Ekstrak metanol *Isotoma longiflora* L konsentrasi 10% dibuat dengan mencampurkan 0,25 gram ekstrak kedalam 1 mL DMSO.

E. Pembuatan Larutan Uji Metode KHM

1. Tabung K(+) Ekstrak *Isotoma longiflora* L 25%

$$\% (b/v) = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (mL)}} \times 100\%$$

$$25\% = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{2 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$g = \frac{25\%}{100\%} \times$$

$$g = 0,5$$

Pembuatan ekstrak *Isotoma longiflora* L 25% dengan melarutkan 0,5 gram ekstrak kental ke dalam 4 mL DMSO.

2. Tabung 1 Larutan Uji Konsentrasi 25%

$$\% (b/v) = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (mL)}} \times 100\%$$

$$25\% = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{2 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$g = \frac{25\%}{100\%} \times 1$$

$$g = 0,5$$

Pembuatan ekstrak *Isotoma longiflora* L 25% dengan melarutkan 0,5 gram ekstrak kental ke dalam 2 mL media *Nutrient Broth* (NB).

3. Tabung 2 Larutan Uji Konsentrasi 12,5%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$25 \cdot V_1 = 12,5 \cdot 2$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Larutan Uji Konsentrasi 12,5% dibuat dengan melarutkan 1 mL larutan tabung 1 pada media NB sebanyak 1 mL.

4. Tabung 3 Larutan Uji Konsentrasi 6,25%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$12,5 \cdot V_1 = 6,25 \cdot 2$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Larutan Uji Konsentrasi 6,25% dibuat dengan melarutkan 1 mL larutan tabung 2 pada media NB sebanyak 1 mL.

5. Tabung 4 Larutan Uji Konsentrasi 3,12%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$6,25 \cdot V_1 = 3,12 \cdot 2$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Larutan Uji Konsentrasi 3,12% dibuat dengan melarutkan 1 mL larutan tabung 3 pada media NB sebanyak 1 mL.

6. Tabung 5 Larutan Uji Konsentrasi 1,56%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$3,12 \cdot V_1 = 1,56 \cdot 2$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Larutan Uji Konsentrasi 1,56% dibuat dengan melarutkan 1 mL larutan tabung 4 pada media NB sebanyak 1 mL.

7. Tabung 6 Larutan Uji Konsentrasi 0,78%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1,56 \cdot V_1 = 0,78 \cdot 2$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Larutan Uji Konsentrasi 0,78% dibuat dengan melarutkan 1 mL larutan tabung 5 pada media NB sebanyak 1 mL.

8. Tabung 7 Larutan Uji Konsentrasi 0,39%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$0,78 \cdot V_1 = 0,39 \cdot 2$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Larutan Uji Konsentrasi 0,39% dibuat dengan melarutkan 1 mL larutan tabung 6 pada media NB sebanyak 1 mL.

9. Tabung 8 Larutan Uji Konsentrasi 0,19%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$0,39 \cdot V_1 = 0,19 \cdot 2$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Larutan Uji Konsentrasi 0,19% dibuat dengan melarutkan 1 mL larutan tabung 7 pada media NB sebanyak 1 mL.

10. Tabung 9 Larutan Uji Konsentrasi 0,09%

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$0,19 \cdot V_1 = 0,09 \cdot 2$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Larutan Uji Konsentrasi 0,09% dibuat dengan melarutkan 1 mL larutan tabung 8 pada media NB sebanyak 1 mL.

Lampiran 2 Tabel Data Penelitian**A. Hasil Uji Fitokimia**

Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
Alkaloid	+	Endapan Putih (Mayer)
Flavonoid	+	Orange
Terpenoid / Steroid	-	Hitam
Tanin	+	Coklat kehitaman
Saponin	+	Buih Stabil

B. Hasil Uji Zona Hambat (Metode Cakram)




Kons.	Replikasi 1 (mm)	Replikasi 2 (mm)	Replikasi 3 (mm)	Replikasi 4 (mm)	Rata- Rata (mm)
K (-)	0	0	0	0	0
K (+)	6,485	6,565	6,27	5,93	6,3125
10%	2,17	1,525	2,39	2,98	2,2663
15%	2,598	2,835	3,22	2,2	2,7133
20%	2,4	2,65	3,31	4,065	3,1063
25%	2,55	2,3	3,915	5,215	3,495

C. Hasil Uji KHM (Metode *UV-Vis*)

Konsentrasi	Replikasi	Perlakuan		Keterangan
		Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi	
K (-)	1	2,439	2,604	
	2	2,483	2,600	Naik
	Rata-Rata	2,461	2,602	
K (+)	1	0,055	0,056	
	2	0,055	0,057	Naik
	Rata-Rata	0,055	0,0565	
25%	1	1,989	1,472	
	2	1,959	1,478	Turun
	Rata-Rata	1,974	1,475	
12,5%	1	1,921	1,342	
	2	1,902	1,333	Turun
	Rata-Rata	1,9115	1,3375	
6,25%	1	1,283	0,621	
	2	1,281	0,641	Turun
	Rata-Rata	1,282	0,631	
3,12%	1	0,806	0,656	
	2	0,820	0,645	Turun
	Rata-Rata	0,813	0,6505	
1,56%	1	0,770	0,683	
	2	0,780	0,624	Turun
	Rata-Rata	0,775	0,6535	
	1	0,787	0,561	

0,78%	2	0,796	0,563	Turun
	Rata-Rata	0,7915	0,562	
	1	0,617	0,683	
0,39%	2	0,619	0,667	Naik
	Rata-Rata	0,618	0,675	
	1	0,434	0,607	
0,19%	2	0,435	0,605	Naik
	Rata-Rata	0,4345	0,606	
	1	0,253	0,337	
0,09%	2	0,256	0,335	Naik
	Rata-Rata	0,2545	0,336	

Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian**A. Ekstraksi *Isotoma longiflora L***

Gambar	Keterangan
	Daun kitolod (<i>Isotoma longiflora L</i>) dari Kelurahan Palebon, Kecamatan Pedurungan, Kota Semarang
	Daun <i>Isotoma longiflora L</i> kering
	Bubuk daun <i>Isotoma longiflora L</i> kering



Hasil maserasi
menggunakan
metanol teknis


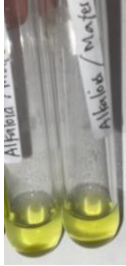






Proses penguapan
pelarut menggunakan
rotary evaporator



Ekstrak kental
Isotoma longiflora L

B. Uji Fitokimia

Gambar		Senyawa	Hasil Uji
Sebelum	Sesudah		
		Alkaloid	(+) Endapan Putih Menggunakan pereaksi Mayer
		Flavonoid	(+) Menjadi warna orange
		Terpenoid / Steroid	(-) Menjadi Larutan Hitam




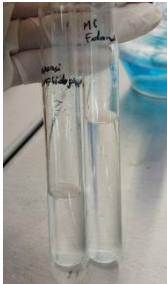

Tanin
(+)
Menjadi
Warna Coklat
kehitaman







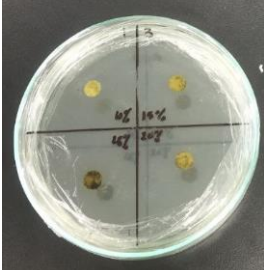

Saponin
(+)
Terbentuk
Buih stabil
Selama 15
menit

C. Uji Antibakteri

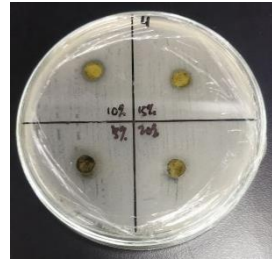
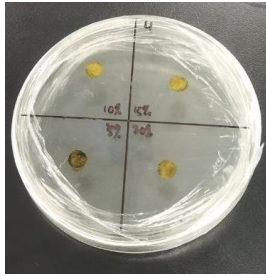
1. Uji Zona Hambat (Metode Cakram)

Gambar	Keterangan
	Biakan Murni Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Suspensi Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i> Dan Larutan <i>Mc. Farland</i>
	Hasil Inokulasi Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>

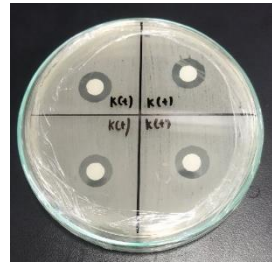
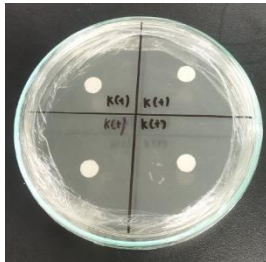
Hasil Uji Daya Hambat

Ket.	Sebelum inkubasi	Setelah inkubasi
Replikasi 1	 A petri dish with a white agar surface, divided into four quadrants by a vertical and a horizontal line. The quadrants are labeled with percentages: top-left 10%, top-right 15%, bottom-left 25%, and bottom-right 20%. Four small yellowish-brown spots are visible, one in each quadrant.	 The same petri dish after incubation. The spots have grown into larger, more irregular colonies. The top-right and bottom-right spots show significant expansion and some darkening.
Replikasi 2	 A petri dish with a white agar surface, divided into four quadrants by a vertical and a horizontal line. The quadrants are labeled with percentages: top-left 10%, top-right 15%, bottom-left 25%, and bottom-right 20%. Four small yellowish-brown spots are visible, one in each quadrant.	 The same petri dish after incubation. The spots have grown into larger, more irregular colonies. The top-right and bottom-right spots show significant expansion and some darkening.
Replikasi 3	 A petri dish with a white agar surface, divided into four quadrants by a vertical and a horizontal line. The quadrants are labeled with percentages: top-left 10%, top-right 15%, bottom-left 25%, and bottom-right 20%. Four small yellowish-brown spots are visible, one in each quadrant.	 The same petri dish after incubation. The spots have grown into larger, more irregular colonies. The top-right and bottom-right spots show significant expansion and some darkening.

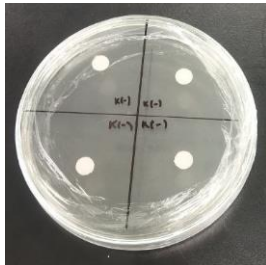
Replikasi
4



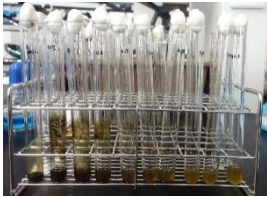


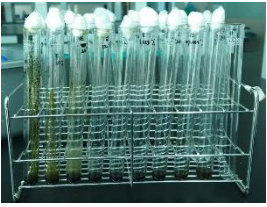
Kontrol
(+)



Kontrol
(-)



2. Uji KHM (Metode *UV-Vis*)

Ket	Sebelum inkubasi	Setelah inkubasi
Replikasi 1	 A rack of 12 microcentrifuge tubes, each with a white cap. The tubes are arranged in two rows of six. The liquid inside the tubes is clear and colorless.	 A rack of 12 microcentrifuge tubes, each with a white cap. The tubes are arranged in two rows of six. The liquid inside the tubes is a uniform yellowish-brown color.
Replikasi 2	 A rack of 12 microcentrifuge tubes, each with a white cap. The tubes are arranged in two rows of six. The liquid inside the tubes is clear and colorless.	 A rack of 12 microcentrifuge tubes, each with a white cap. The tubes are arranged in two rows of six. The liquid inside the tubes is a uniform yellowish-brown color.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

Nama Lengkap : Maya Susilowati
Tempat & Tanggal Lahir : Batam, 7 Desember 2000
Alamat Rumah : Kav. Sagulung Baru Blok
B2/85 RT 002 RW 008, Kel.
Sungai Binti, Kec. Sagulung,
Kota Batam, Kepulauan Riau
Nomor HP : 085161313911
Email : mayasusilowati07@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal :
 - a. TK Nurul Hidayah Batam (2006-2007)
 - b. SDIT Asy-Syura`a Batam (2007-2013)
 - c. SMP Negeri 9 Batam (2013-2016)
 - d. SMA Negeri 5 Batam (2016-2019)
 - e. UIN Walisongo Semarang (2019-2023)

Semarang, 26 September 2023

Maya Susilowati
NIM 1908036026