

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
ETANOL DAUN KETAPANG GUGUR (*Treminalia
catappa* L) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan
Metode Kirby-Bauer**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Sains dalam Ilmu Kimia



Oleh:

ANNISA FADHILAH

NIM : 1508036013

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2020**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Annisa Fadhilah

NIM : 1508036013

Jurusan/Program Studi: Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN KETAPANG GUGUR (*Treminalia catappa* L)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan
Escherichia coli Menggunakan Metode Kirby-
Bauer**

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 6 Juli 2020

Pembuat Pernyataan



Annisa Fadhilah

NIM.1508036013

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang
Gugur (*Terminalia catappa L*) terhadap Bakteri
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli*
Menggunakan Metode Kirby-Bauer

Nama : Annisa Fadhliah

NIM : 1500036013

Jurusan/Program Studi: Kimia

Telah diujikan dalam sidang munaqosah oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan
Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh
gelar sarjana sains dalam bidang Ilmu Kimia

Semarang, 6 Juli 2020

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang,

Atik Rahmawati, S.Pd., M.Si.
NIP : 197505162006042002

Sekretaris Sidang,

Wirda Udaibah, M.Si.
NIP : 198501042009122003

Penguji I,

HJ. Malkhatul Hidayah, S.T. M.Pd.
NIP : 198304152009122006

Penguji II,

Anissa Adhweni Putri
NIP : 198504052011012015

Pembimbing I,

Ratih Rizqi Nirwana, S.Si., M.Pd.
NIP. 19810414 200501 2 003

Pembimbing II,

Mutista Hafisah, M.Si.
NIP. 19940102 201903 2 015

NOTA DINAS

Semarang, 10 Juni 2020

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo
di Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb

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

Judul : **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang Gugur (*Terminalia catappa L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Kirby-Bauer**

Nama : **Annisa Fadhilah**

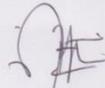
NIM : 1508036013

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam Sidang Munaqosah.

Wassalamualaikum wr.wb

Pembimbing I



Ratih Rizqi Nirwana, S.Si.,M.Pd.

NIP. 19810414 200501 2 003

NOTA DINAS

Semarang, 10 Juni 2020

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo
di Semarang

Assalamu'alaikum wr:wb

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

Judul : **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang Gugur (*Terminalia catappa L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Kirby-Bauer**

Nama : **Annisa Fadhilah**

NIM : 1508036013

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam Sidang Munaqosah.

Wassalamualaikum wr:wb

Pembimbing II



Mutista Hafsah, M.Si.
NIP. 19940102 201903 2 015

ABSTRAK

Nama : Annisa Fadhilah

NIM : 150036013

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang Gugur (*Terminalia catappa L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Kirby-Bauer

Daun ketapang gugur (*Terminalia catappa L*) biasa dimanfaatkan masyarakat untuk budidaya ikan cupang. Daun ketapang gugur mengandung senyawa flavonoid dan saponin yang mempunyai efek antibakteri. Antibakteri merupakan suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli* menggunakan metode Kirby-Bauer dengan memanfaatkan ekstrak etanol daun ketapang gugur. Ekstrak daun ketapang didapat dari maserasi dengan pelarut alkohol. Metode yang digunakan dalam uji daya hambat yaitu menggunakan metode Kirby-Bauer. Ekstrak dibagi menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 5% (b/v), 10% (b/v), 15% (b/v) dan 20% (b/v). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setiap konsentrasi dapat

menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dimana semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan. Analisis data menggunakan Uji T-Test menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat yang signifikan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata Kunci: *Terminalia catappa L*, antibakteri, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul **“Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang Gugur (*Terminalia catappa L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Kirby-Bauer”** di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang dengan baik. Tidak lupa penulis sampaikan shalawat serta salam kepada baginda Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat, dengan harapan semoga mendapat syafaatnya kelak di hari kiamat.

Tugas akhir ini merupakan suatu mata kuliah wajib yang harus dilaksanakan, guna untuk memenuhi syarat sarjana pada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.

Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada semua pihak

yang telah memberikan kontribusinya berupa ilmu pengetahuan, moral, maupun bentuk materi baik secara langsung maupun tidak langsung selama pelaksanaan penelitian dan penyelesaian laporan tugas akhir ini. Ucapan terimakasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ismail, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
2. Hj. Malikhatul Hidayah, S.T., M.Pd., selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
3. Ratih Rizqi Nirwana, M.Pd., dan Mutista Hafisah, M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang senantiasa bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberi pengarahan tugas akhir kepada penulis.
4. Anita Kurnia Z, S.Si., Ahmad Mughis, S.Pd., dan segenap Asisten Laboratorium Kimia (angkatan 2015 dan 2016) yang telah membantu dalam proses penelitian dan memberi semangat.
5. Segenap Bapak/Ibu Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Semarang

Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang yang telah membekali serta memberikan ilmu pengetahuan.

6. Bu Etik, selaku Asisten Laboratorium Terpadu Mikrobiologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
7. Kedua Malaikat hidupku, Bapak Masrur dan Ibu Rostinah, yang senantiasa selalu mendoakan, memberikan motivasi dan nasehat dengan ikhlas untuk kesuksesan penulis.
8. Panutanku kakak satu-satunya, Mas Muhammad Mardiansyah S.D.s., dan adik sepupu Yola Ayu Wardani yang senantiasa selalu mendoakan serta memberikan semangat.
9. Roudlotul Jannah S.Pd., Dinda Haba Kamalya, S.Pd., Dyah Puji Astuti, S.Si., Lulu Ni'matul Maulida S.Si., Maula Febriyanti, Nelly J yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan pengalaman.
10. Tim tugas akhir Ketapang Squad (Maulia, Shilfi, Aji, dan Udin) yang selalu memberikan semangat, motivasi, dalam penyelesaian skripsi.
11. Elya dkk, yang sudah memberikan tempat tinggal selama penelitian di Yogya.

12. Teman-teman Prodi Kimia 2015, serta adik-adik angkatan 2016 yang telah memberikan berbagai pengalaman, motivasi, semangat, selama belajar di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
13. Semua pihak yang meberikan dukungan dan doa yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan pada penulisan berikutnya. Serta semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan Ilmu Kimia pada khususnya. Amin.

Semarang, 11

April 2020

Penulis

Annisa

Fadhilah

1508036013

DAFTAR ISI

COVER	
PERNYATAAN KEASLIAN.....	i
PENGESAHAN.....	ii
NOTA DINAS PEMBIMBING.....	iii
ABSTRAK.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAS ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I: PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	8
C. Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	8
BAB II: TINJAUAN PUSTAKA.....	10
A. Ketapang.....	10
B. Ekstraksi.....	13
C. Senyawa Pada Daun Ketapang.....	17
D. Morfologi dan Struktur Bakteri.....	24
E. Antibakteri.....	34
F. Metode Pengujian Antibakteri.....	38
G. Kajian Pustaka.....	42
BAB III: METODE PENELITIAN.....	45

A. Jenis Pendekatan Penelitian.....	45
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	45
C. Alat.....	45
D. Bahan.....	45
E. Prosedur Kerja.....	46
BAB IV: HASIL DAN PEMBAHASAN.....	50
A. Hasil Penelitian.....	50
B. Pembahasan.....	54
BAB V: PENUTUP.....	64
A. Kesimpulan.....	64
B. Saran.....	64
DAFTAR PUSTAKA.....	65
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	71
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	84

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1.** Pohon Ketapang
- Gambar 2.2.** Daun dan Buah Ketapang
- Gambar 2.3.** Proses dan Alat Maserasi
- Gambar 2.4.** Gradient Pelarut
- Gambar 2.5.** Klasifikasi Fitokimia
- Gambar 2.6.** Klasifikasi Polifenol
- Gambar 2.7.** Struktur Flavonoid
- Gambar 2.8.** Struktur Saponin
- Gambar 2.9.** Bentuk-bentuk Bakteri
- Gambar 2.10.** Struktur Dinding Sel Bakteri
- Gambar 2.11.** Struktur Utama Dinding Sel
- Gambar 2.12.** Struktur *Staphylococcus aureus*
- Gambar 2.13.** *Escherichia coli*
- Gambar 2.14.** Diagram bagaimana sel membrane, sel dinding dan membrane luar gram negative dan gram positif.
- Gambar 2.15.** Spektrum Antibakteri untuk Kloramfenikol
- Gambar 2.16.** *Kirby-Bauer Test to Measure Antibiotic Sensitivity*
- Gambar 3.1.** Letak Kertas Cakram pada Petri

DAFTAR TABEL

- Tabel 2.1.** Perbedaan Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif
- Tabel 2.2.** Fungsi Struktur Permukaan Sel
- Tabel 2.3.** Standar Acuan Resistensi dan Kerentanan pada Antibiotik
- Tabel 3.1.** Uji Aktivitas Antibakteri
- Tabel 4.1.** Diameter Zona Hambat pada Bakteri *Staphylococcus aureus*
- Tabel 4.2.** Diameter zona hambat (mm) pada bakteri *Escherichia coli*
- Tabel 4.3.** Uji Antibakteri pada Kontrol Positif
- Tabel 4.4.** Hasil Uji T-Test pada Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Gugur
- Tabel 4.5.** Hasil uji antibakteri pada ekstrak daun ketapang gugur terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Diameter zona hambat pada bakteri
Staphylococcus aureus
- Lampiran 2.** Diameter zona hambat (mm) pada
bakteri *Escherichia coli*
- Lampiran 3.** Uji Antibakteri pada Kontrol Positif
- Lampiran 4.** Hasil Uji T-Test Independent Sampel
Test
- Lampiran 5.** Dokumentasi Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Sekarang ini banyak penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Penyebaran bakteri dilingkungan sekitar juga sangat meluas. Pada tahun 2011 artikel Nature Reviews Microbiology mengatakan bahwa 16 juta orang diseluruh dunia meninggal karena penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Seperti contoh bakteri Clostridium botulinum menghasilkan racun yang sangat kuat, sehingga dalam jumlah 3 gram akan cukup untuk membunuh populasi Inggris. Dan dalam jumlah 400 gram akan dapat membunuh semua orang di planet ini. Bakteri sendiri merupakan makhluk hidup mikroorganisme yang tidak dapat dilihat secara langsung oleh indra penglihat. Mikroorganisme tersebut terbagi menjadi dua yaitu jenis yang berbahaya dan jenis yang tidak berbahaya. Tidak hanya menyerang manusia, bakteri juga dapat menyerang tumbuh-tumbuhan. Contohnya seperti peristiwa busuknya bawang

merah yang disebabkan oleh mikroba (bakteri/jamur) mengakibatkan terjadinya gagal panen pada usia muda.

Adanya permasalahan-permasalahan seperti itu, peran antibakteri sangatlah dibutuhkan. Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau menghancurkan pertumbuhan mikroorganisme (bakteri/jamur), terutama bakteri patogen. Adapun jenis antimikroba yang aktif dapat melawan bakteri dan merupakan suatu agen antibakteri yang paling penting untuk melawan jenis infeksi bakteri yaitu antibiotik. Secara umum, antibakteri dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis tindakannya yaitu bakteristatik dan bakterisida (Ullah, 2017).

Antibakteri yang menghancurkan bakteri dengan menargetkan dinding sel atau membrane sel bakteri disebut bakterisida, sedangkan yang memperlambat atau menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteristatik (Ullah, 2017). Antibiotik sendiri merupakan zat kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan atau perkembangan bakteri serta organisme lain.

Antibiotik yang tergolong bakterisida yaitu penisilin, sefalosporin, aminoglikosida (dosis besar), kotrimoksazol, rifampisin, isoniazid, dan lain-lain. Antibiotik yang tergolong bakteriostatik, dimana penggunaannya tergantung pada status imunologi pasien yaitu tetrasiklin, klindamisin, sulfonamid, asam paraamino salisilat, dan lain-lain (Utami, 2011). Seperti antibiotik kloramfenikol bersifat bakteriostatik yang bekerja pada sintesis protein. Mekanisme kerjanya akan menghambat reaksi transfer antara donor dengan aseptor atau menghambat translokasi t-RNA peptidil dari situs aseptor ke situs donor yang menyebabkan sintesis protein terhenti.

Penggunaan antibiotik tidak jarang terjadi resistensi pada bakteri. Karena adanya faktor-faktor tertentu seperti banyaknya jenis klasifikasi, pola kepekaan bakteri, pembagian, serta penemuan antibiotika baru yang dapat menyulitkan klinisi ketika menentukan pilihan antibiotik yang tepat dalam menangani suatu penyakit. Resistensi sendiri merupakan tidak terhambatnya perkembangan atau pertumbuhan bakteri pada pemberian antibiotik secara sistemik dalam dosis normal yang

seharusnya. Resisten dapat terjadi apabila bakteri dapat berubah dalam satu atau hal lain yang bisa menyebabkan hilangnya efektivitas dari obat, zat kimia atau bahan lain yang digunakan untuk mencegah infeksi. Bakteri yang dapat bertahan hidup dan berkembang biak akan menimbulkan banyak bahaya (Utami, 2011).

Tidak semua bakteri gram positif dan negatif dapat rentan terhadap antibiotik, seperti bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dimana kedua bakteri ini dilaporkan dari tahun ke tahun semakin resisten terhadap beberapa antibiotik. Maka kedua bakteri inilah yang dipilih untuk digunakan pada penelitian kali ini yaitu *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang ditemukan sebagai komensal pada manusia. Infeksi nosokomial *S.aureus* menjadi perhatian utama karena komplikasinya yang serius, seperti bakteremia (infeksi darah), pneumonia endocarditis, osteomyelitis (infeksi tulang), infeksi kulit dan jaringan lunak. Hampir 120.000 infeksi

darah yang disebabkan bakteri *S.aureus* dan 20.000 merupakan angka kematian. Ini terjadi di Amerika Serikat pada tahun 2008 – 2017 (Kourtis, et al., 2019). *Staphylococcus aureus* adalah salah satu penyebab utama infeksi yang terjadi di masyarakat, bahkan juga setelah kegiatan operasi di rumah sakit. Sekitar 30% manusia membawa bakteri *S.aureus* yang terletak di hidung, faring, tenggorokan, dan di kulit mereka. (Mandai, 2019).

Escherichia coli merupakan bakteri anggota mikrobiota kolon yang keberadaannya ada dimana-mana, tetapi hampir tidak berbahaya (Estrada, 2013). Ciri-ciri virulensi *E.coli* yaitu mampu menyebabkan berbagai sindrom penyakit melalui berbagai mekanisme dan menunjukkan adanya perbedaan genetik yang luas di dalam dan di antara patotipe. Bakteri ini juga penyebab umum penyakit diare. Serta menyebabkan infeksi saluran kemih dan penyebab utama bakteremia dan meningitis neonatal (Poolman, 2017). Mereka dikenal sebagai patogen di negara-negara berpenghasilan tinggi. WHO menyatakan bahwa diare merupakan penyebab kematian pada balita di Negara berkembang. Setiap tahunnya sekitar 2,5 miliar

merupakan angka kejadian diare yang terjadi pada anak. Asia Selatan dan Afrika adalah wilayah menjadi lebih dari setengahnya. Kematian balita secara global setiap tahunnya sebesar 1,6 juta (Bakri, dkk., 2015).

Antibakteri melawan bakteri, bukan virus. Penggunaan antibakteri harus dengan bijak, jika penghentian antibakteri secara dini akan mengakibatkan bakteri menjadi resistansi. Pemanfaatan antibakteri dapat diambil dari *medical plant* atau tanaman obat. Dengan adanya senyawa metabolit sekunder yang ada didalamnya, sehingga berpotensi sebagai antibakteri. Maka tanaman tersebut dapat dimanfaatkan untuk alternatif sebagai antibakteri. Salah satu tanaman obat yang diduga berpotensi sebagai antibakteri adalah ketapang atau *Terminalia catappa*.

Tumbuhan Ketapang atau biasa disebut dengan kacang almond tropis, yang banyak ditemukan di daerah tropis ini ternyata memiliki banyak sekali manfaat yang dapat diambil. Pohon ketapang juga biasa disebut *Umbrella tree*, karena bentuknya yang menyerupai payung sehingga sering digunakan

sebagai peneduh. Bagian-bagian dari pohon ini seperti daun, biji, bunga, batang, dan kulit batangnya memiliki kandungan serta manfaat tersendiri bagi kehidupan. Kandungan dari pohon multi-guna dapat dimanfaatkan untuk sediaan makanan, obat-obatan serta komoditas lainnya. Masyarakat biasa memanfaatkan biji ketapang sebagai olahan jajanan. Batang kayunya biasa dibuat untuk property pada pengusaha-pengusaha mebel. Kulit batangnya juga dapat dijadikan pewarna tekstil.

Terminalia catappa telah dikenal karena fitokonstituennya yang penting secara medis, seperti kandungan fenol, flavonoid, dan karotenoidnya. Sejumlah penelitian farmakologi telah mengkonfirmasi kemampuan tanaman ini terkait aktivitas antimikroba, anti-inflamasi, antidiabetes, antioksidan, hepatoprotektif, dan antikanker, yang semuanya mendukung penggunaan (Arumugam, 2014).

Penelitian sebelumnya oleh Rahayu dkk, (2009) dengan judul “Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang

(*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH)” menyatakan bahwa daun ketapang segar mengandung senyawa fitokimia flavonoid, tannin, saponin, kuinon, dan fenolik, yang menggunakan etanol sebagai pelarut, serta memanfaatkannya untuk aktivitas antioksidan dan antibakteri. Zuhrotun dkk, (2010), menyatakan dalam penelitiannya pada kulit batang pohon ketapang mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tannin, saponin, kuinon, dan mono/sesquiterpen dengan menggunakan metode reflux, fraksinasi, serta kromatografi lapis tipis. Nia dkk, (2017) juga pernah meneliti kulit batang pohon ketapang tentang “Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Batang Ketapang (*Terminalia catappa* L) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Streptozotocin dan Pakan Tinggi Kolesterol”. Bahwa ekstrak etanol kulit batang ketapang dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan hiperkolesterolemia diabetes serta dengan dosis 120 mg/kg ekstrak etanol kulit batang ketapang memiliki efek paling efektif dalam

menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan.

Penelitian dilakukan pada buah atau biji ketapang dari Marjenah (2017) dirangkum dalam jurnalnya yang berjudul “Pengaruh Elevasi Terhadap Produksi Buah Ketapang (*Terminalia catappa L*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Biodiesel” bahwa ukuran biji ketapang yang bervariasi dari satu tempat ke tempat lain dari elevasi rendah ke tinggi. Jumlah biji antara 22-69 biji/kg atau 40 ± 11 biji/kg. Hasilnya diperoleh pada seluruh elevasi adalah 100 gram bubuk biji ketapang yang menghasilkan 49-65 minyak ketapang dan 58-80% crude biodiesel. Akar dari pohon ketapang juga pernah diteliti oleh Pawar (2002) dalam jurnalnya “Antimicrobial Activity of Extracts of *Terminalia catappa* Root. Ia menyatakan bahwa ekstrak methanol dan kloroform dari akar ketapang menunjukkan aktivitas antimikroba yang menonjol terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dibandingkan dengan mikroorganisme uji yang lain.

Flavonoid dikenal sebagai agen antibakteri terhadap mikroorganisme patogen. Dengan prevalensi infeksi yang tidak dapat diobati yang disebabkan oleh bakteri resisten terhadap antibiotik, flavonoid telah menarik banyak perhatian karena berpotensi untuk menjadi pengganti antibiotik (Xie, 2015). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri sendiri yaitu dapat menghentikan metabolisme sel bakteri dengan cara mendenaturasikan protein dari bakteri (Ernawati,2015).

Tidak hanya flavonoid yang diketahui berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa metabolit sekunder saponin diyakini sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya tidak berbeda jauh dengan flavonoid, dimana saponin dapat merusak membran sel bakteri karena adanya interaksi dengan dinding sel bakteri akibat terjadinya peningkatan permeabilitas membran (Novaryatiin, 2018). Secara teori, aktivitas ini memfasilitasi masuknya antibiotik melalui membrane dinding sel bakteri (Michal, 2012).

Daun ketapang yang sudah gugur biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat sejak dulu untuk budidaya ikan cupang untuk mengobati atau mencegah infeksi jamur, serta digunakan untuk pengobatan tradisional penyakit kulit seperti kudis dan kurap (Sukandar, 2006). Daun ketapang yang mengering mampu melepaskan asam organik seperti hummik dan tannin yang menurunkan pH air (Pauly, 2001). Pada penelitian kali ini, peneliti akan mengambil satu bagian dari pohon ketapang yaitu daunnya yang telah gugur, dikarenakan masih jarang diteliti. Mengingat daun ketapang gugur mempunyai kandungan fitokimia seperti flavonoid, tannin, saponin, dll, dimana mereka dapat berpotensi untuk dijadikan agen antibakteri.

Pada penelitian sebelumnya mengenai aktivitas antibakteri pada daun ketapang segar, dinyatakan oleh Kankia tahun 2014 tentang skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri pada ekstrak daun ketapang. Hasil penelitiannya menunjukkan daun ketapang mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid, kardiak glikosida. Hasil ujinya menyebutkan bahwa aktivitas antibakteri terlihat begitu signifikan pada

ekstrak etanol-air, kloroform, serta heksana terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus viridians*.

Penelitian lainnya juga ditunjukkan oleh Putricia tahun 2016 tentang aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang segar pada bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* dengan menggunakan pelarut etanol, menyatakan bahwa penambahan ekstrak daun ketapang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B.amyloliquefaciens* karena adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung didalam daun ketapang. Adapun pada penelitian dari Sukandar, pada tahun 2006 menyatakan bahwa daun gugur ketapang mengandung senyawa flavonoid, steroid/terpenoid, tannin katekat, dan tannin galat. Senyawa tersebut dimanfaatkan sebagai antijamur yang diujikan pada seekor kelinci.

Daun ketapang gugur yang akan dipakai diambil di lingkungan kampus 2 Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Pemilihan daun ketapang gugur ini disebabkan karena sudah banyak pemanfaatan untuk daun ketapang segar

jika dibandingkan dengan daun yang gugur. Kemudian pengolahan daun ketapang gugur pada area kampus 2 UIN Walisongo Semarang hanya dilakukan proses pembakaran, dimana hasil pembakaran tersebut akan menghasilkan asap yang tentu akan merusak atau mengganggu kualitas udara dan menyebabkan polusi. Maka dengan adanya hal tersebut, pemilihan daun ketapang gugur pada penelitian ini dianggap dapat membantu mengurangi limbah serta mengurangi polusi udara yang dihasilkan dari pembakaran. Didukung dengan kandungan senyawa fitokimia yang ada didalamnya yang berpotensi sebagai antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri pathogen, seperti *S.aureus* dan *E.coli*.

. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang akan diujikan. Pengujian antibakteri dapat dilakukan dalam berbagai metode. Metode yang digunakan untuk penelitian ini yaitu metode difusi cakram Kirby-Bauer yang memakai Mueller Hinton Agar sebagai medianya. Metode ini umumnya digunakan untuk pengujian kerentanan antibiotik. Kirby-bauer memanfaatkan *disk antibiotic* yang ditempatkan di piring yang

diinokulasi dengan organisme uji. Setelah inkubasi untuk waktu yang dibutuhkan, zona hambatan diukur untuk pengujian antibiotik. Tergantung pada diameter zona penghambatan, organisme dapat dikatakan sensitif atau resisten. Bisa dikatakan bahwa metode ini bertujuan untuk mengetahui kesensitivitas atau resistensi dari bakteri patogen aerob atau anaerob fakultatif terhadap bahan kimia tertentu, dimana biasanya digunakan oleh dokter untuk perawatan pasien yang terkena infeksi bakteri. Ada atau tidaknya daerah hambat di sekitar *disk* mengidentifikasi dari kepekaan bakteri terhadap obat. (Vineetha, 2015).

B. Rumusan Masalah

Adanya senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun ketapang, yang diketahui berpotensi sebagai antibakteri. Maka dalam penelitian ini, peneliti ingin mengetahui bagaimana aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun ketapang kering (*Terminalia catappa L*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negative menggunakan metode Kirby-Bauer.

C. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan Penelitian:

Tujuan dari adanya penelitian yaitu peneliti ingin mengetahui daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli* menggunakan metode Kirby-Bauer dengan memanfaatkan ekstrak etanol daun ketapang.

Manfaat Penelitian:

1. Dapat memberikan informasi tentang manfaat dari daun ketapang gugur (*Terminalia catappa* L) untuk kesehatan.
2. Mengangkat nilai sampah dari daun ketapang gugur, serta mendukung pengembangan antibakteri dari bahan alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Ketapang

Ketapang (*Terminalia catappa*) atau biasa disebut dengan kacang Almond tropis merupakan pohon yang berukuran besar dan persebarannya sekarang sangat luas diseluruh daerah tropis, terutama dilingkungan pesisir. Ketapang dapat bertahan terhadap angin kencang, *saltspray* (semburan air garam), dan salinitas yang cukup tinggi pada area akarnya (Lex, A. 2006). Pohon ini memiliki tinggi mencapai 35 meter, tumbuh dengan tegak lurus, puncak yang simetris, dan cabang dengan arah horizontal. Daunnya yang tergolong besar dengan ukuran panjang 15 – 25 cm dan lebar 10 – 14 cm, bentuknya seperti telur, serta berwarna hijau gelap mengkilap, dan permukaanya yang kasar. Mereka akan mengering dan gugur, sebelum daun jatuh atau gugur, warna daun akan berubah menjadi merah jambu – kemerahan atau kuning – coklat yang disebabkan dari beberapa pigmen violaxanthin, lutein, zeaxanthin. Bunganya tergolong dalam monoecious, yaitu memiliki perbedaan dimana bunga jantan dan bunga betina ada

dalam satu pohon yang sama. Keduanya memiliki diameter 1 cm, berwarna putih kehijauan yang tidak mencolok (Jagessar, 2011). Kayu pohon ketapang dimanfaatkan menjadi bahan untuk dekoratif serta cocok untuk kebutuhan furniture dan kayu interior bangunan (Lex A, 2006). Bentuk dari pohon ketapang akan ditunjukkan pada **gambar 2.1**.

A.1. Deskripsi Botanika

Nama Ilmiah : Terminalia catappa

Nama umum : Almond Tropis, India Almond

Keluarga : Combretaceae

Domain : Eukaryota

Kingdom : Plantae

Kelas : Dicotyledonae

Ukuran : Kacang almond tropis merupakan kategori pohon yang sedang hingga besar, dengan panjang 25 – 40 m, tinggi (82 – 130 kaki) dan dengan puncak daun yang menyebar terbuka. Pada saat tua, batang pohon mencapai

diameter setinggi dada dari 50 - 150
cm.



Gambar 2.1. Pohon Ketapang



Gambar.2.2. Daun dan Buah Ketapang

A.2. Kandungan Kimia

Suatu penelitian dari Sukandar pada tahun 2006 tentang pemanfaatan daun ketapang gugur sebagai antijamur mengungkapkan bahwa daun ketapang gugur dalam penapisan fitokimia menunjukkan adanya senyawa flavonoid, steroid, tannin katekat, dan tannin galat. Ia juga mengungkapkan bahwa daun ketapang gugur memiliki aktivitas antijamur dan antibakteri lebih besar dibandingkan dengan daun yang masih berada di pohon.

Penelitian sebelumnya juga dilakukan oleh Wahjuningrum yang memanfaatkan daun ketapang gugur untuk pencegahan serta pengobatan ikan patin terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada tahun 2008. Ia menyatakan bahwa pada daun ketapang gugur mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, tannin yang berpotensi sebagai antibakteri. Hasil dari penelitiannya pada in vitro menunjukkan bahwa ekstrak daun ketapang gugur dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *A. hydrophila*.

B. Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan bagian aktif tanaman obat menggunakan pelarut selektif melalui prosedur standard (Azwanida, 2015). Tujuan dari prosedur ekstraksi standard untuk obat-obatan sederhana adalah untuk mencapai bagian yang diinginkan untuk menghilangkan bahan yang tidak aktif dengan pengobatan dengan pelarut selektif yang dikenal sebagai menstrum. Esktrak yang diperoleh siap untuk digunakan sebagai agen obat dalam bentuk tincture dan ekstrak fluida, bisa diproses lebih lanjut untuk kemudian dimasukkan dalam bentuk sediaan apapun seperti tablet atau kapsul, atau dapat difraksinasi untuk

mengisolasi masing-masing bahan kimia. Dengan demikian, standarisasi prosedur ekstraksi memberikan kontribusi yang signifikan terhadap kualitas akhir dari obat herbal (Handa, et al., 2008). Tujuan dari semua ekstraksi adalah untuk memisahkan metabolit tanaman larut, dan meninggalkan yang tidak larut (residu) (Azwanida, 2015).

Tanaman adalah ahli biokimia yang kuat dan telah menjadi komponen fitomedis sejak zaman dahulu. Manusia dapat memperoleh dari tanaman bermacam-macam bahan kimia industri yang menakjubkan. Konstituen alami berbasis tanaman dapat berasal dari bagian tanaman seperti kulit kayu, daun, bunga, akar, buah-buahan, biji-bijian, dll, yaitu setiap bagian tanaman dapat mengandung komponen aktif. Penyaringan sistematis spesies tanaman dengan tujuan menemukan senyawa bioaktif baru yang merupakan kegiatan rutin di banyak laboratorium. Analisis ilmiah komponen tanaman mengikuti jalur logis. Tanaman dikumpulkan baik secara acak atau dengan mengikuti arahan yang dipasok oleh ahli setempat di wilayah geografis dimana tanaman tersebut ditemukan. Bahan tanaman segar atau kering dapat digunakan sebagai

sumber untuk ekstraksi komponen tanaman sekunder (Tiwari, 2011).

Sampel segar atau kering dapat digunakan pada studi tanaman obat. Dalam berbagai kasus, sampel kering lebih disukai karena mempertimbangkan waktu yang dibutuhkan untuk suatu desain eksperimen. Pada suatu percobaan yang membatasi interval antara panen dan kerja eksperimental pada periode maksimum 3 jam untuk menjaga kesegaran dari sampel. Sampel segar kemudian rapuh dan cenderung lebih cepat memburuk daripada sampel kering. seperti pada perbandingan antara daun kelor segar dan kering menunjukkan tidak adanya efek signifikan pada total fenolat, tetapi tidak pada kandungan flavonoidnya yang lebih tinggi ditunjukkan pada sampel kering (Azwanida, 2015).

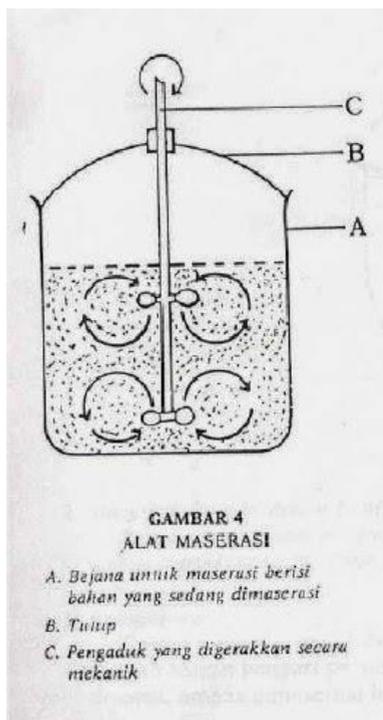
Bahan tanaman segar atau kering dapat digunakan sebagai sumber untuk ekstraksi komponen tanaman sekunder. Banyak penulis telah melaporkan tentang persiapan ekstrak tanaman dari jaringan tanaman segar. Logika yang melatarbelakangi ini berasal dari penggunaan obat etno bahan tanaman segar diantara orang-orang tradisional dan suku. Tetapi karena banyak tanaman digunakan dalam bentuk kering (atau sebagai

ekstrak air) untuk penyembuhan tradisional dan karena perbedaan kadar air di dalam jaringan tanaman yang berbeda. Tanaman biasanya dikeringkan di udara dengan berat konstan sebelum ekstraksi. Peneliti lain mengeringkan tanaman dalam oven pada sekitar 40°C selama 72 jam. Bagian-bagian atas tanaman sering digunakan dibandingkan dengan bagian bawah tanah (akar, umbi, rimpang, dll) untuk mencari senyawa bioaktif yang memiliki sifat antimikroba (Tiwari, 2011).

B.1. Maserasi

Metode yang akan digunakan untuk pengambilan ekstrak daun ketapang gugur adalah maserasi. Di Negara-negara maju, maserasi biasanya digunakan untuk membuat wine (anggur). Metode ini dan diadaptasi dan banyak digunakan untuk penelitian tanaman obat (Azwanida, 2015). Maserasi sendiri merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut yang dikerjakan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (Depkes, 2000), minimum selama 3 hari. Proses ini dimaksudkan untuk melunakkan dan menghancurkan dinding sel tanaman serta melepaskan senyawa

fitokimia terlarut (Azwanida, 2015) ditunjukkan pada **gambar 2.3**.



Gambar 2.3. Proses dan Alat Maserasi

Maserasi tergolong jenis ekstraksi dengan cara dingin, dimana simplisianya direndam beberapa hari dengan suatu pelarut tertentu. Pelarut yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu etanol. Dikenal sebagai pelarut yang sifatnya polar, dipercaya kuat dapat menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder

polar yang terdapat pada daun ketapang gugur seperti flavonoid, tannin, saponin, dll (Luly, 2016). Proses maserasi pada umumnya dalam skala kecil yaitu menempatkan simplisia yang telah dihancurkan atau diserbukkan kedalam suatu wadah yang ditambahkan suatu pelarut hingga serbuk terendam. Kemudian wadah ditutup dan dibiarkan beberapa hari. Pengocokan sesekali dapat membantu difusi dan juga memastikan penyebaran larutan pekat yang terakumulasi disekitar permukaan partikel, sehingga membawa pelarut segar ke permukaan partikel untuk ekstraksi lebih lanjut (Handa, et, al., 2008).

B.2. Pemilihan Pelarut

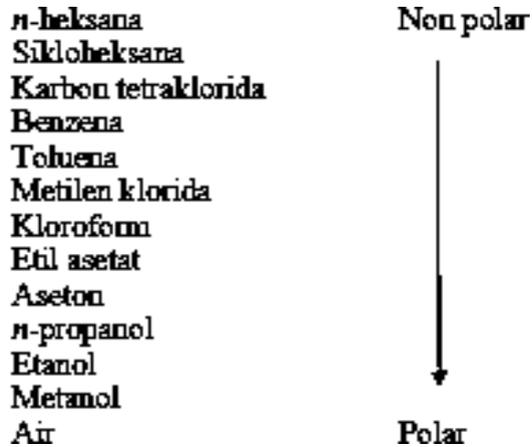
Pemilihan jenis pelarut secara biologis akan menentukan suatu senyawa aktif dari tanaman dalam prosedur ekstraksi. Sifat pelarut baik yang termasuk dalam ekstraksi tanaman adalah toksisitas rendah, kemudahan penguapan pada panas rendah, promosi penyerapan fisiologis yang cepat dari ekstrak, tindakan pengawet, ketidakmampuan untuk menyebabkan ekstrak ke kompleks atau dipisahkan. Sedangkan faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah dari jumlah fitokimia untuk diekstraksi, tingkat

ekstraksi, keragaman berbeda senyawa yang diekstraksi, keanekaragaman penghambatan senyawa diekstraksi, kemudahan penanganan ekstrak selanjutnya, toksisitas pelarut dalam proses bioassay, potensi bahaya kesehatan dari ekstrak (Eloff, 1998). Pemilihan pelarut dipengaruhi oleh apa yang dimaksudkan dengan ekstrak. Karena produk akhir akan mengandung jejak residu pelarut, pelarut harus tidak beracun dan tidak boleh mengganggu bioassay. Pemilihan itu juga akan mempengaruhi pada senyawa yang akan ditargetkan. Perbedaan tingkat pelarut akan ditampilkan pada **gambar 2.4**.

B.2.1. Etanol

Aktivitas dari ekstrak alkohol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air. Ekstrak alkohol menghasilkan polifenol yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak air. Ini berarti bahwa etanol lebih efisien di dinding sel dan mendegradasi biji yang memiliki karakter polar serta menyebabkan polifenol akan dikeluarkan dari sel. Penjelasan yang lebih bermanfaat untuk penurunan aktivitas ekstrak air dapat dianggap mengaktifkan dari enzim polifenol oksidase, yang menurunkan polifenol dalam ekstrak air, sedangkan

jika etanol dan methanol mereka tidak dapat. Selain itu media air dianggap lebih baik pada terjadinya mikroorganismenya jika dibandingkan dengan etanol. Konsentrasi flavonoid paling tinggi dari senyawa bioaktif flavonoid terdeteksi dengan etanol 70% karena polaritasnya lebih tinggi daripada etanol murni. Penambahan air ke etanol murni hingga 30% untuk menyiapkan etanol 70% menyebabkan polaritas pelarut meningkat. Selain itu, etanol ditemukan lebih mudah menembus membran seluler untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Karena hampir semua komponen yang diidentifikasi dari tanaman aktif terhadap mikroorganismenya bersifat aromatik atau senyawa organik jenuh, mereka sering ditemukan melalui etanol atau ekstrak metanol (Tiwari, 2011).

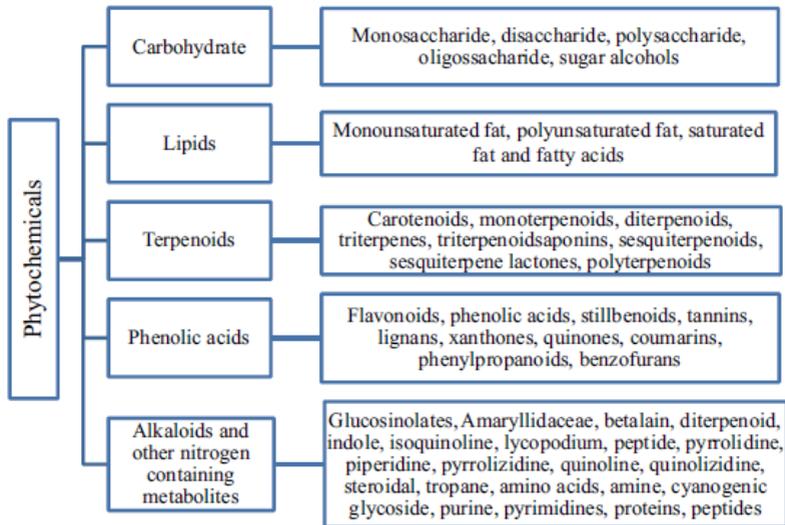


Gambar. 2.4. Gradient Pelarut

C. Beberapa Senyawa yang Ada Dalam Daun Ketapang Gugur

Senyawa bioaktif dapat didefinisikan sebagai senyawa yang memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan satu atau lebih komponen dari jaringan hidup yang menghadirkan berbagai kemungkinan efek. Secara umum, fitokimia telah diklasifikasikan ke dalam enam kategori utama berdasarkan struktur dan karakteristik kimianya. Kategori-kategori ini termasuk karbohidrat, lipid, fenolik, terpenoid dan alkaloid, dan senyawa yang mengandung nitrogen lainnya (Huang, 2016) (**gambar 2.5.**). Sejumlah fitokimia ini diakui sebagai komponen bioaktif dalam obat-obatan herbal tradisional (misalnya

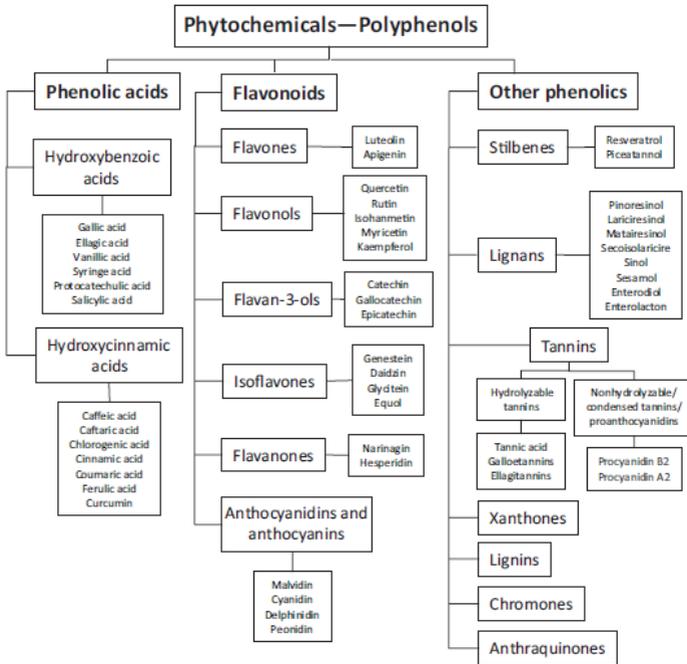
salisilat (aspirin) yang ditemukan dalam kulit pohon willow yang digunakan untuk mengurangi peradangan, kulit kina dalam kulit pohon kina yang digunakan untuk mengobati malaria, dan proanthocyanidins dalam cranberry yang digunakan untuk mengobati infeksi saluran kemih). Polifenol mewakili kategori terbesar fitokimia dan berfungsi sebagai antioksidan kuat karena beberapa kelompok hidroksil mereka (Martinez, 2017)



Gambar 2.5. Klasifikasi Fitokimia

C.1. Polifenol

Polifenol atau senyawa yang mengandung banyak struktur cincin fenol mewakili setidaknya 4000 tanaman yang diketahui memiliki bahan kimia yang sangat berlimpah seperti dalam buah-buahan, sayuran, serta dalam minuman yang terbuat dari buah-buahan. Mereka didefinisikan berdasarkan sifat kerangka karbonnya, pola hidrosilasi, keberadaan stereoisomer, dan keadaan oksidasi, glikosilasi (flavonoid), dan asilasi (asam fenolik) dari cincin heterosiklik. Kandungan polifenol dalam tanaman bervariasi antara 1 dan 3 mg/kg dan dipengaruhi oleh kultivar, kematangan, bagian dari pabrik, kondisi pertumbuhan, pemrosesan, dan penyimpanan. Ada tiga kelas utama polifenol: (1) fenolik asam (misal, asam hidroksibenzoat dan asam hidroksisinat), (2) flavonoid (misal, flavon, flavonol, flavan-3-ols, isoflavon, flavanon, dan antosianidin atau antosianin), dan (3) fenolik lainnya (misal, stiben, lignan, tannin, xanthone, lignin, kromon, dan antrakuinon). Klasifikasi polifenol disajikan pada **gambar 2.6**.

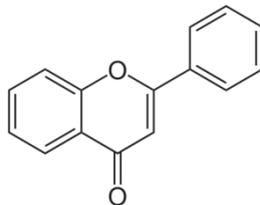


Gambar 2.6. Klasifikasi Polifenol

C.2. Flavonoid

Secara struktural, semua flavonoid berasal dari zat induk flavon yang terjadi sebagai tepung putih farina pada tanaman *Primula*. Struktur flavonoid ditunjukkan pada **gambar 2.7**. Flavonoid merupakan senyawa yang dapat larut dalam air. Mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap berada di lapisan berair, mengikuti partisi ekstrak dengan petroleum eter.

Flavonoid bersifat fenolik dan akan berubah warna ketika diperlakukan dengan basa atau dengan ammonia, sehingga mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Flavonoid mengandung sistem aromatik terkonjugasi dan menunjukkan pita serapan yang kuat dalam UV dan daerah spektrum yang terlihat. Flavonoid umumnya terdapat pada tanaman yang terikat gula sebagai glikosida dan flavonoid aglikon apapun dapat terjadi pada satu tanaman dalam beberapa kombinasi glikosidik. Untuk sebab ini, ketika menganalisis flavonoid, biasanya lebih baik untuk memeriksa aglikon yang ada dalam ekstrak tanaman terhidrolisis sebelum mempertimbangkan kompleksitas glikosida yang mungkin ekstrak asli (Harbone, 1984).



Gambar 2.7. Struktur Flavonoid

Dari penelitian Neilson, tahun 2017 tentang “Bioavailabilitas dan Metabolisme Senyawa Bioaktif Dari Makanan. Nutrisi dalam Pencegahan dan

Pengobatan Penyakit” pada implikasi metabolisme dari mikroba, bahwa flavonoid dan fenolik lainnya telah diidentifikasi sebagai bioaktif *dietary* dengan potensial aktivitas perlindungan kesehatan. Banyak dari flavonoid ini memiliki ketersediaan hayati sistemik yang sangat rendah. Oleh karena itu, konsentrasi yang beredar biasanya mewakili sebagian kecil dari dosis yang dicerna, sedangkan mayoritas yang mencapai usus besar akan tidak terserap. Contoh flavonoid bioavailabilitas yang rendah termasuk quercetin dan procyanidins. Meskipun bioavailabilitasnya rendah, banyak senyawa diantaranya tampak efektif dalam mencegah atau memperbaiki penyakit kronis *in vivo*, bahkan pada dosis rendah. Hal ini menunjukkan tiga kemungkinan: (1) flavonoid ini mengerahkan aktivitas di lumen usus dan epitel, (2) flavonoid ini mengerahkan aktivitasnya di jaringan perifer bahkan pada kadar sirkulasi rendah, atau (3) metabolit mikroba diantaranya flavonoid mencapai sirkulasi dan berkontribusi secara signifikan pada aktivitas yang diamati dalam jaringan perifer.

C.2.1. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri

Aktivitas antibakteri dari flavonoid tergantung pada struktur, yaitu substitusi pada cincin aromatik. Dengan banyaknya aktivitas antibakteri pada ekstrak tanaman, maka semakin banyak pula senyawa flavonoid terbukti telah menjadi agen antibakteri, terutama dengan substituent hidrofobik seperti kelompok prenil (Xie, 2015).

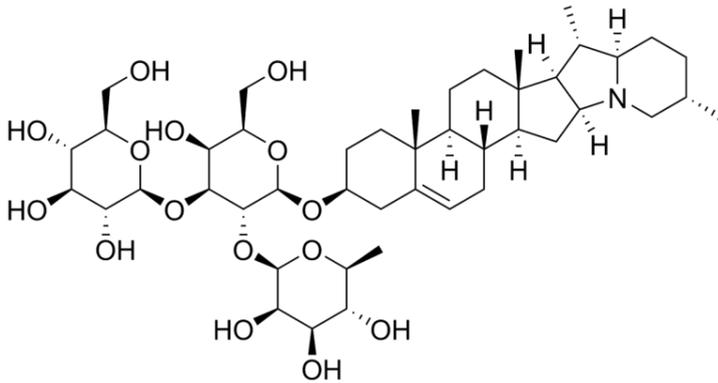
Aktivitas antibakteri dari flavonoid banyak didokumentasikan. Ekstrak kasar dari tanaman dengan sejarah penggunaan dalam pengobatan tradisional telah disaring secara *in vitro* aktivitas antibakteri oleh banyak kelompok penelitian. Ekstrak tumbuhan Flavonoidrich dari spesies *Hypericum*, *Capsella*, dan *Chromolaena* telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Banyak persiapan phytochemical lainnya dengan kandungan flavonoid yang tinggi juga telah dilaporkan untuk menunjukkan aktivitas antibakteri. Propolis telah dianalisis pada banyak kesempatan juga, dan sampel yang mengandung tinggi konsentrasi flavonoid sering dilaporkan menunjukkan aktivitas antibakteri (Cushnie, 2005).

Adapun penelitian tentang isolasi senyawa flavonoid sebagai antibakteri dilakukan oleh Nugraha dkk, (2017) dalam jurnal “Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri Dari Daun Mangga”. Ia menyatakan bahwa isolat flavonoid berperan aktif dalam menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Penelitian lainnya juga dilakukan oleh Sukadana (2010) tentang Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-awar (*Ficus septica Burm F*). Hasilnya menunjukkan bahwa isolat flavonoid yang diisolasi adalah golongan flavanon. Dimana hasil uji antibakteri isolate flavanon menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan menghambat pertumbuhan dari bakteri *Vibrio Cholera* dan *E.coli*.

Mekanisme antibakteri flavonoid diringkas sebagai berikut: penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma, penghambatan metabolisme energi, penghambatan perlekatan dan pembentukan biofilm, penghambatan porin pada membran sel, perubahan dari permeabilitas membran, dan atenuasi patogenisitas. Meskipun pengetahuan saat ini tentang aktivitas antibakteri (Xie, 2015).

C.3. Saponin

Saponin adalah kelompok glikosida heterogen yang didistribusikan secara luas di tanaman-tanaman yang memiliki kepentingan pertanian, terutama kacang-kacangan. Struktur saponin ditunjukkan **gambar 2.8**. Banyak dari kacang-kacangan ini adalah makanan pokok dari makanan manusia. Makanan yang sangat kaya akan saponin adalah kacang kedelai (*Glycine max*), buncis (*Cicer arietinum*), dan kacang yang berasal dari *Phaseolus vulgaris*. Ketika saponin diaduk dalam air, mereka membentuk busa sabun. Sifat-sifat lain yang umumnya berasal dari kelompok senyawa yang luas ini adalah efek hemolitik pada sel darah merah, sifat pengikat kolesterol, dan rasa pahit. Sifat-sifat ini mencirikan jenis saponin tertentu dan tidak harus dibagi bersama oleh semua anggota kelompok (Savage, 2003).



Gambar 2.8. Struktur Senyawa Saponin

Saponin terdiri dari aglikon dengan gugus karbohidrat. Aglikon dapat berupa triterpen atau steroid dan dapat memiliki sejumlah substituen yang berbeda (-H, -COOH, -CH₃). Jumlah dan jenis karbohidrat moieties menghasilkan keragaman struktural yang cukup dari saponin. Sebagian besar karbohidrat dalam saponin adalah heksosa (misal, glukosa, galaktosa), 6-deoksiheksosis (rhamnosa), pentose (arabinose, xilosa), asam uronat (asam glukuronat), atau karbohidrat dengan fungsi amino (glukosamin). Melalui glikosilasi aglikon hidrofobik, mereka dapat bertindak sebagai deterjen biologis dan ketika diaduk dalam air akan membentuk busa, yang

memunculkan nama saponin untuk kelompok senyawa ini (Boysen, 2010).

C.3.1. Mekanisme Saponin sebagai Antibakteri

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Zahro (2013) dalam jurnal “Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih. Menyatakan bahwa ekstrak kasar saponin dari jamur tiram putih pada konsentrasi tinggi yaitu 300 mg/ml memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Ia juga mengatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin besar diameter zona hambat yang diperoleh. Penelitian lain tentang isolate saponin untuk uji aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan Katuri (*Mangifera casturi*) oleh Rosyidah (2010). Hasilnya menunjukkan bahwa Fraksi A dari ekstrak saponin kulit batang tumbuhan kasturi dapat menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Cara kerja saponin sebagai antibakteri adalah ia dapat merusak membrane sel bakteri karena adanya interaksi dengan dinding sel bakteri akibat terjadinya peningkatan permeabilitas membrane (Ernawati, 2015).

D. Morfologi dan Struktur Bakteri

Sel bakteri amat beragam panjangnya; sel beberapa spesies dapat berukuran 100 kali lebih panjang daripada sel spesies yang lain.

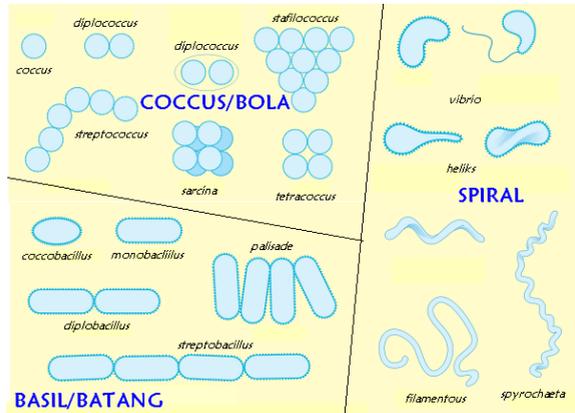
a. Ukuran

Satuan ukuran bakteri ialah mikrometer (μm), yang setara dengan $1/1000$ mm atau 10^{-3} mm. Bakteri yang paling umum dipelajari di dalam praktikum mikrobiologi dasar berukuran kira-kira $0,5 - 1,0 \times 2,0 - 5,0 \mu\text{m}$. Sebagai contoh bakteri *Staphylococcus* dan *Streptococcus* yang berbentuk bola mempunyai diameter yang berkisar dari $0,75$ sampai $1,25 \mu\text{m}$. Bentuk batang yang berukuran rata-rata seperti bakteri tifoid dan disentri mempunyai lebar $0,5$ sampai $1 \mu\text{m}$ dan panjang 2 sampai $3 \mu\text{m}$. Beberapa spesies sel bakteri amat panjang; panjangnya dapat melebihi $100 \mu\text{m}$ dan diameternya berkisar dari $0,1$ sampai $0,2 \mu\text{m}$. Sekelompok bakteri yang dikenal sebagai mikoplasma, ukurannya khas sangat kecil. Demikian kecilnya sehingga hampir tidak terlihat dibawah mikroskop cahaya. Bakteri-bakteri tersebut juga

pleomorfik ; yaitu morfologinya sangat beragam. Ukurannya berkisar dari 0,1 sampai 0,3 μm .

b. Bentuk

Sel-sel individu bakteri dapat berbentuk seperti elips, bola, batang (silindris), atau spiral (heliks). Masing-masing ciri ini penting dalam mencirikan morfologi suatu spesies. Sel bakteri berbentuk bola atau elips dinamakan *kokus*. Sel berbentuk silindris atau seperti batang dinamakan *basilus*. Bakteri berbentuk spiral, atau spirillum, terutama dijumpai sebagai individu-individu sel yang tidak saling melekat. Tercakup di dalam kelompok morfologis ini ialah spiroketa, beberapa diantaranya menyebabkan penyakit yang gawat pada manusia.



Gambar 2.9. Bentuk-bentuk Bakteri

c. Struktur di luar dinding sel

Adapun bagian-bagian yang terdapat pada struktur luar dinding sel (ditunjukkan gambar 2.9.) pada bakteri yaitu:

Flagelum. Seperti rambut yang sangat tipis mencuat menembus dinding sel dan bermula dari tubuh dasar, suatu struktur granular tepat dibawah membran sel di dalam sitoplasma. Menyebabkan motilitas (pergerakan) pada sel bakteri. Terdiri dari tubuh dasar, struktur seperti kait, dan sehelai filamenpanjang di luar dinding sel.

Pili. Banyak bakteri gram negatif mempunyai bentuk-bentuk seperti filamen yang bukan flagella. Ukurannya lebih kecil, lebih

pendek, dan lebih banyak daripada flagella. Berfungsi sebagai pintu gerbang bagi masuknya bahan genetik selama berlangsungnya perkawinan antara bakteri.

Kapsul. Beberapa sel bakteri, seperti misalnya pneumokokus yang menyebabkan pneumonia, dikelilingi oleh suatu lapisan bahan kental yang disebut kapsul atau lapisan lendir. Bagi bakteri, kapsul merupakan penutup lindung dan juga berfungsi sebagai gudang makanan cadangan. Kapsul bakteri-bakteri penyebab penyakit tertentu menambah kemampuan bakteri tersebut untuk menginfeksi.

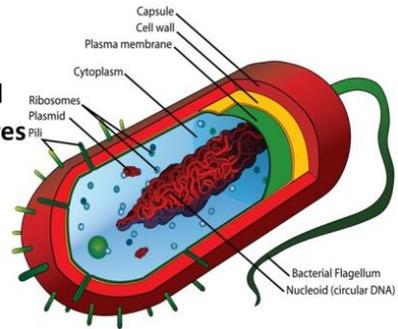
Selongsong. Terdapat dari lingkungan air tawar atau marin. Terdiri dari senyawa logam tak larut, seperti Fe dan MgO.

Essential structure

- Cell wall
- cell membrane
- Cytoplasm
- Nuclear material

Particular structures

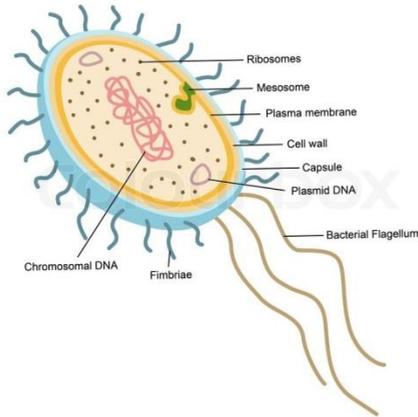
- Capsule
- flagella
- pili
- Spore



Gambar 2.10. Struktur Dinding Sel Bakteri

d. Dinding sel

Tebal dinding sel pada umumnya bakteru yaitu berkisar dari 10 sampai 35 nm. Dinding sel bakteri penting artinya bagi pertumbuhan dan pembelahan. Struktur-struktur yang terdapat dalam dinding sel antara lain seperti yang ditunjukkan pada **gambar 2.10**, dan struktur utama dalam dinding sel ditunjukkan pada **gambar 2.11**.



Gambar 2.11. Struktur utama dalam dinding sel

Table 2.1. menyoroti perbedaan-perbedaan nyata dalam komposisi dan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif, Tabel 2.2. untuk fungsi struktur permukaan sel bakteri Perbedaan-perbedaan ini penting untuk dipahami karena diyakini bahwa dinding sel itulah yang menyebabkan kedua kelompok bakteri ini memberikan respon sebagaimana yang kita lihat terhadap berbagai perlakuan dan bahan, seperti pewarnaan gram dan antibiotik-antibiotik tertentu.

Tabel2.1. Beberapa ciri bakteri gram positif dan gram negatif:

Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15 – 80 nm) Berlapis tunggal (mono)	Tipis (10 – 15 nm) Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1 – 4%) Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel	Kandungan lipid tinggi (11 – 22%) Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam; jumlahnya sedikit, merupakan sekitar 10% berat kering Tidak ada

	bakteri Asam tekoat	asam tekoat
Kerentanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Kurang rentan
Pertumbuhan dihambat oleh zat-zat warna dasar, misalnya ungu Kristal	Pertumbuhan dihambat dengan nyata	Pertumbuhan tidak begitu dihambat
Persyaratan nutrisi	Relative rumit pada banyak spesies	Relative sederhana
Resistensi terhadap gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten

Tabel 2.2. Fungsi struktur permukaan sel bakteri

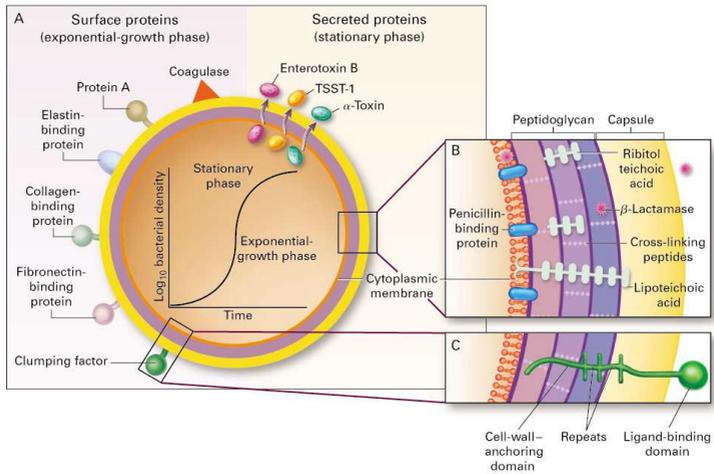
STRUKTUR	FUNGSI	KOMPOSISI KIMIAWI
Flagela	Lokomosi	Protein
Pili	Tabung	Protein

	konjugasi Peletakan sel	
Kapsul dan bahan ekstra selular	Penutup lindung Peletakan sel Makanan cadangan	Polisakarida, polipeptide
Dinding sel	Penutup lindung Permeabilitas	Peptidoglikan, asam tekoat, polisakarida, lipid, dan protein
Membrane sitoplasma dan mesosom	Penutup semipermeable Mekanisme transport Pembelahan sel Sintesis makromolekul biologis	Lipid, protein

(Michael, 2012)

D.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah anggota keluarga *Micrococcaceae* (sel tunggal yang berbentuk bola). Struktur bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada **gambar 2.12**. Pada pemeriksaan mikroskopis, organisme muncul sebagai *cocci* gram positif dalam kelompok. *S.aureus* dibedakan dari spesies stafilokokus lainnya berdasarkan pigmentasi emas koloni dan hasil positif uji koagulase, manitolfermentasi, dan deoksiribonuklease (Dwidjoseputro, 1987).



Gambar 2.12. Struktur *Staphylococcus aureus*

D.1.1. Dinding sel

Dinding sel stafilocokus adalah peptidoglikan 50 persen berat. Peptidoglikan terdiri dari sub-unit polisakarida bergantian dari n-asetilglukosamin dan asam n-asetillamatamat dengan ikatan 1,4-b. Rantai peptidoglikan dihubungkan secara silang oleh rantai tetrapeptida yang diikat dengan asam n-asetilmuramat dan oleh jembatan pentaglikin khusus untuk *S.aureus*. Peptidoglikan mungkin memiliki aktivitas seperti endotoksin, merangsang pelepasan sitokin oleh makrofag, aktivitas komplemen, dan agregasi trombosit. Perbedaan dalam struktur peptidoglikan *strain staphylococcus* dapat berkontribusi pada variasi dalam kapasitas mereka untuk menyebabkan koagulasi intravaskular diseminata. Asam teikoikribitol, terikat secara kovalen dengan peptidoglikan, merupakan konstituen utama dari dinding sel. Asam lipoteikoat adalah polimer gliserol fosfat yang terkait dengan terminal glikolipid yang berlabuh di selaput sitoplasma (Lowy, 1998).

D.1.2. Dasar Genetik Untuk Virulensi

S.aureus dicirikan oleh struktur yang sangat klonal. Meskipun keragamannya sangat besar, klon *S.aureus*

telah dijelaskan sejumlah pandemik atau regional terbatas klon kompleks mendominasi isolat yang pulih dari spesimen klinis dari koloni dan pasien yang terinfeksi. Genom *S.aureus* memiliki ukuran mulai dari a. 2,8 hingga 2,9 Mb. Inti genom *S.aureus* yang dilestarikan diantara garis keturunan klon yang berbeda, terdiri hingga tiga seperempat sumber daya genetiknya. Selain gen *housekeeping*, itu juga mengandung gen yang ada penting untuk virulensi pathogen dan diproduksi oleh sebagian besar dari semua strain seperti yang diilustrasikan oleh pengkodean gen, misal, aurolysin (*aur*), faktor penggumpalan A dan B (*clfA*, *clfB*), koagulase (*coa*), protein kepatuhan ekstraseluler (*eap*), protein pengikat protein matriks ekstraseluler (*emp*), protein pengikat fibronektin A (*fnbPA*), α -hemolisin (*hla*), lipase (*bibir*), fenol modulins larut (gen *psms*, *hld*), protein A (*spa*), dan protein pengikat faktor von Willebrand (*vWbp*). Namun, beberapa gen dan atau gen varian ini juga dibawa oleh elemen genetik bergerak (MGEs) seperti plasmid, bacteriophage, patogenesisis island *S.aureus* (*SaPI*), kromosom cassetes, dan transposon.

Selain genom inti ini, *S.aureus* memiliki genom tambahan (bantu) yang relatif luas keragaman

intraspesies. Genom tambahan ini sebagian besar ditempati oleh MGE yang berkontribusi besar untuk plastisitas fenotipik dan genetik yang luas dari *S.aureus*. Unsur-unsur genetik seluler atau yang dulu seluler ini dapat membawa banyak gen yang berbeda yang terlibat virulensi di dalamnya dan resistensi terhadap agen antimikroba, biosida, logam berat, metalloid. Jadi transfer gen horizontal tampaknya menjadi kunci adaptasi pathogen terhadap inang dan lingkungan yang berbeda dan untuk keberhasilan epidemiologisnya, dan dampak plastisitas genomic yang sangat besar secara signifikan pada virulensi *S.aureus*. Fakta ini ditambah dengan adanya regulasi system yang sangat kompleks dicerminkan oleh heterogenitas ekstrim dari exoproteome pathogen (Fetcsh, 2018).

D.1.3. Mekanisme dari Resistansi Agen Antimikrobal

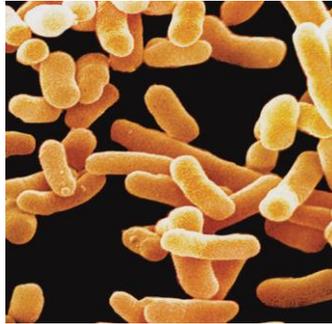
Penisilin diinaktivasi oleh β -laktamase, serin protease yang menghidrolisis cincin β -laktam. Kurang dari 5% isolat tetap sensitif terhadap penisilin. Resistensi terhadap metisilin memberikan resistensi pada semua penisilin dan sefalosporin yang resisten terhadap penisilinase. Level resistensi yang tinggi ini

memerlukan kehadiran gen *mec* yang mengkode protein pengikat penisilin 2a. Gen *mec* mungkin berasal dari spesies stafilokokus yang berbeda. Meskipun banyak strain yang resisten, metisilin tampaknya merupakan keturunan dari sejumlah klon yang beberapa tampaknya berasal dari multiklonal menunjukkan transfer horizontal dari *mec* DNA. Gen stafilokokus lainnya, termasuk *bla* (untuk β -laktamase) dan *fem* (untuk faktor penting resistensi metisilin), mempengaruhi ekspresi resistensinya. Ekspresi resistensi terhadap metisilin sering kali heterogen, dan presentasinya dari populasi bakteri yang mengekspresikannya fenotip resistensi bervariasi sesuai dengan kondisi lingkungan. Uji sensitivitas antimikroba telah dimodifikasi untuk meningkatkan deteksi resistensi fenotip.

Ada kekhawatiran yang meningkat tentang kemungkinan munculnya *S.aureus* yang resistan terhadap vankomisin strain. Resistansi terhadap vankomisin telah dilaporkan pada isolat klinis *S.haemolyticus*, jenis koagulase-negatif. Gen yang mengandung plasmid enterococcal untuk resistensi terhadap vankomisin telah ditransfer oleh konjugasi ke *S.aureus* in vitro (Lowy, 1998).

D.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah salah satu organisme model utama yang digunakan dalam studi bakteri genetika, fisiologi, biokimia, dan sebagainya. Studi tentang motilitas dan kemotaksis bakteri yang dimiliki paling aktif dilakukan dengan *E.coli strain*, sedangkan belum ada banyak penelitian pada struktur flagellar dengan *Salmonella strain*. *Escherichia coli* lebih banyak menghasilkan flagella di medium rendah garam daripada medium tinggi garam seperti ditunjukkan oleh gambar 2.13. Adanya glukosa, flagellasi ditekan karena represi katabolit. Flagellum *E.coli* mirip dengan flagellum *Salmonella* dalam berbagai aspek. Dan flagel mereka dapat dipertukarkan. Ada perbedaan kecil diantara keduanya, filamen *E.coli* lebih sensitif terhadap asam atau panas daripada *Filamen Salmonella*. Filamen *Salmonella* dimetilasi, sedangkan filament *E.coli* tidak (Estrada, 2013).



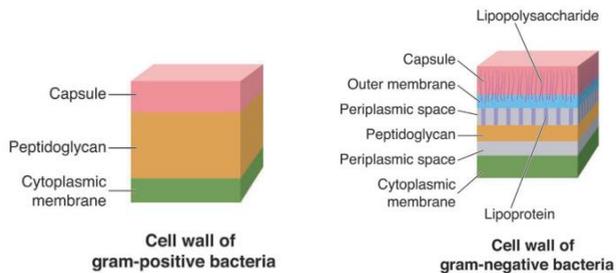
Gambar 2.13. Escherichia Coli

E.coli seperti semua sel bakteri, yaitu membawa informasi sendiri yang dibutuhkan untuk bertahan hidup dan tumbuh. Setiap sel kecil dan terdiri dari banyak struktur. Di dalam sel itu seperti bahan gel cair yang disebut sitoplasma. Sitoplasma mengandung satu molekul asam deoksiribonukleat (DNA) melingkar. DNA merupakan sebuah molekul berantai ganda yang mengkodekan materi genetik unik untuk setiap organisme. Pada manusia, perbedaan komposisi DNA dapat menyebabkan satu orang memiliki rambut cokelat dan satu orang lagi memiliki rambut pirang. Meskipun bakteri memiliki perbedaan dalam komposisi DNA mereka juga, perbedaan ini sering tidak terlihat.

Dalam sel bakteri, DNA membuat salinannya sendiri secara berurutan untuk memproduksi dan

membuat sel baru, yang disebut sebagai *daughter* sel. Teknik ini disebut pembelahan sel, dan itu bisa dilakukan. Sebenarnya bakteri diperkirakan dapat membelah setiap 20 menit sekali. *Daughter* sel pada awalnya identik dengan bakteri sel asli kecuali mutasi genetik - perubahan atau perubahan dalam materi genetik sel - terjadi selama pembelahan.

Selaput sel tipis membungkus sel bakteri. Di luar membran sel bakteri, dinding sel yang sangat kaku bekerja sebagai penghalang pelindung. Sedangkan kekakuan menyebabkan bakteri menjadi seperti tidak fleksibel, itu juga membuat sel lebih kuat dan memberikan perlindungan dari lingkungan yang berbahaya. Sel dinding terdiri dari dua struktur: area berisi cairan yang disebut gel periplasmik yang mengandung lapisan peptidoglikan dan membran luar. Membran dinding sel ditunjukkan pada gambar 2.14.



Gambar 2.14. Diagram ini menunjukkan bagaimana sel membrane, sel dinding dan membrane luar gram negative dan gram positif.

Membran luar terdiri dari protein dan zat asam lemak yang disebut fosfolipid dan lipopolisakarida.

Membran luar terdiri dari protein dan zat asam lemak yang disebut fosfolipid dan lipopolisakarida. *Lipopolysaccharides* meluas keluar dari dinding sel bakteri dan bertindak sebagai endotoksin, yang bertanggung jawab atas banyak kerusakan efek bakteri gram negatif. Komponen membran luar bekerja bersama untuk meningkatkan kelangsungan hidup bakteri dan memfasilitasi perkembangan penyakit.

Selain komponen membrane luar, *E.coli* banyak juga memiliki flagella, atau pelengkap menyerupai ekor yang panjang dari membran. Flagella dapat mendorong bakteri ke lingkungan yang sesuai, dan penting untuk kelangsungan hidup bakteri (Manning, 2004).

E. Antibakteri

Agen antibakteri merupakan sekelompok bahan yang melawan bakteri pathogen, dengan cara membunuh atau mengurangi aktivitas metabolisme

bakteri, serta efek patogeniknya di lingkungan biologis akan diminimalkan (Pirmoradian, 2019). Menurut Vardanyan pada tahun 2016, agen antibakteri yang diindikasikan untuk penggunaan klinis adalah agen yang secara selektif menghancurkan bakteri dengan mengganggu pertumbuhan atau kelangsungan hidup bakteri. Penghambatan pertumbuhan atau hilangnya viabilitas bakteri yang lengkap sering kali terjadi akibat dari rangkaian kejadian pada pengobatan dengan agen antibakteri yang biasanya bekerja dengan cara melibatkan lebih dari satu target tunggal.

Obat antibakteri saat ini digunakan target konstituen seluler yang berbeda, seperti membrane RNA, DNA, enzim, dan substrat enzim. Kematian sel yang disebabkan oleh bakteri atau penghambatan pertumbuhan melibatkan banyak hal seperti pada jalur biokimia dan genetic yang tidak dipahami. Perkembangan antibiotic memberikan bukti tentang manfaatnya yang tidak hanya dengan membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri pathogen, tetapi secara juga tidak langsung imunomodulasi. Agen antibakteri digunakan untuk pengobatan atau pencegahan infeksi bakteri. Diantara agen bakteri yang ada, antibiotik dapat didefinisikan secara informal

sebagai senyawa yang diproduksi oleh organisme hidup; berasal dari bakteri, jamur, jamur tanaman, dan sumber hewani; digunakan untuk mengobati infeksi bakteri dan merupakan salah satu obat terlaris di seluruh dunia.

E.1. Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa yang disintesis secara alami dan artifisial yang memiliki penghambatan aksi pada mikroorganisme lainnya. Penisilin adalah antibiotik yang diidentifikasi pertama dari jamur yang dikenal sebagai *Penicillium notatum*. Sejak saat itu, banyak antibiotik yang telah diidentifikasi serta diuji. Antibiotik yang baik harus selektif melawan berbagai mikroba, memiliki efek samping lebih sedikit, harus sangat stabil dan harus mudah diserap oleh jaringan tubuh. Antibiotik diklasifikasikan berdasarkan dengan cara:

1. Inhibitor dinding sel: UDP-NAM-Pentapeptida dan UDP-NAG disintesis dalam sitosol. Mereka adalah prekursor untuk sintesis dinding sel. Molekul prekursor dipindahkan ke *undercaprenyl alcohol* terfosforilasi, yang merupakan pembawa lipid ke dalam membran sitoplasma dan diangkut

ke luar permukaan. Transglukosilase dan unit peptidoglikan reticulate. Rangkaian peptidoglikan yang baru disintesis merupakan ikatan silang untuk membentuk molekul akhir. Misalnya: Bacitracin berinteraksi dengan molekul pembawa dan mencegah transportasi prekursor.

2. Penghambat membran sel: Agen antimikroba ini menyebabkan disorganisasi selaput. *Polymixin B* dan *colistin* berinteraksi dengan lipid bermuatan negatif pada sel membran mikroorganisme gram negatif dan dikarenakan membuat pori-pori di atasnya. Asam nukleat dan kation yang lolos atau keluar dari sel, menyebabkan terjadinya kematian pada sel. Antibiotik poliena berkaitan dengan sterol dan membuat pori-pori di membran. Imidazole berfungsi untuk menghambat ergosterol perpaduan.
3. Asam nukleat menyintesis inhibitor: Kuinon menghambat replikasi DNA dengan memblokir aksi dari DNA girase dan DNA topoisomerase IV. Rifamisin mengikat β -subunit dari RNA Polimerases dan mencegah inisiasi transkripsi DNA. Asiklovir menghambat virus dengan

dikonversi ke trifosfat dan menghambat timidin kinase serta DNA polymerase dari virus Herpes.

4. Protein menyintesis inhibitor: Antibiotik Aminoglikosida seperti streptomisin, gentamisin berikatan dengan protein ribosom spesifik dan juga ke alur utama di rRna. Antibiotik tetrasiklin menghambat pengikatan aminoasil-t RNA ke situs -A dari ribosom. Antibiotik Markolida, Ketolida memiliki cincin lakton yang besar, nerikatan dengan situs peptidil dari subunit 50S. Mereka juga mengganggu transferase peptidil dan mengganggu translokasi peptide dari A ke P satu ribosom. Kloramfenikol merupakan bakteriostatik, obat yang menghentikan pertumbuhan bakteri dengan menghambat peptidil pada aktivitas transferase dari ribosom bakteri.
5. Inhibitor metabolik: Blok antibiotik Sulfonamida biosintesis tertrahidrofolat yang diperlukan untuk sintesis DNA, RNA dan dinding sel.
(Vineetha, 2015)

E.2. Mekanisme Kerja Antibakteri

E.2.1. Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibakteri pertama dengan spektrum luas yang dikembangkan. Semula diisolasi dari *Streptomyces venezuelae*, sekarang dapat diproduksi secara sintetis.

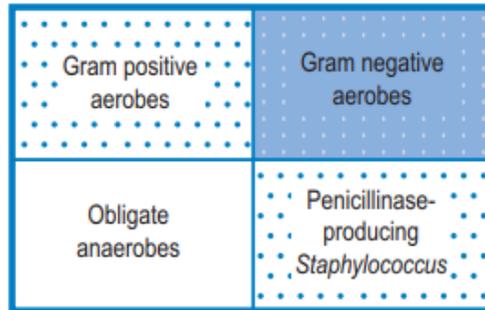
E.2.2. Mekanisme Aksi

Kloramfenikol termasuk senyawa nonionisasi yang sangat lipofilik. Memasuki sel bakteri dengan pasif atau difasilitasi difusi dan berikatan dengan subunit ribosom 50S tetapi juga dapat mengikat ke subunit 30S. Hasil dari sintesis protein bakteri terhambat. Kloramfenikol juga dapat berikatan dengan mamalia ribosom (70S) yang menyerupai ribosom dan bakteri mengganggu sintesis dari mitokondria protein. Hal ini sangat relevan dalam sel eritropoietik.

E.2.3. Resistansi

Resistansi umumnya dimediasi oleh plasmid dan terjadi sebagai akibat dari inaktivasi enzimatis oleh beberapa jenis kloramfenikol transasetilase.

Spektrum Antibakteri



+ *Chlamydomphila*, *Rickettsia* are susceptible

Gambar.2.15. Spektrum Antibakteri untuk Kloramfenikol

- Kloramfenikol bersifat bakteriostatik untuk sebagian besar bakteri aerob Gram-negatif dan Gram-positif, tetapi dapat bersifat bakterisidal terhadap beberapa bakteri yang sangat sensitif.
- Resistensi yang diperoleh banyak terjadi pada spesies, terutama saat kloramfenikol biasa digunakan. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Entrobacter*, *Salmonella*, dan *Proteus* yang sekarang muncul pola resistansi yang dimediasi oleh plasmid. Namun, tingkat resistansi yang diperoleh saat ini sulit untuk diprediksi, karena kloramfenikol tidak digunakan dalam

makanan hewan di berbagai negara dan sekarang digunakan lebih sedikit daripada sebelumnya pada hewan kecil.

- c. Semua bakteri anaerob dihambat oleh kloramfenikol pada konsentrasi terapeutik yang biasa.
- d. Kloramfenikol menekan pertumbuhan *Rickettsia* dan Klamifilia, tetapi efikasi klinis terhadap infeksi Mikoplasma sering mengecewakan meskipun Mikoplasma sering terlihat rentan in vitro.
- e. Mikobakterium dan Nokardia adalah resistan.

(Maddison, 2008)

F. Metode Pengujian Antibakteri

Metode uji kerentanan antibiotik. Metode pengujian kerentanan antimikroba dibagi menjadi beberapa macam berdasarkan prinsip pengujiannya:

1. Difusi: Metode guratan, metode Kirby-Bauer
2. Pengenceran: Pengenceran kaldu, Pengenceran agar
3. Difusi dan Pengenceran: Metode uji-E

(Vineetha, 2015)

Metode *susceptibility disk* in vitro standard Kirby-Bauer, ketika dilakukan dan dievaluasi dengan benar, sangat berguna sebagai panduan dalam memilih agen antimikroba yang paling cocok untuk terapi infeksi in vivo karena bakteri gram negatif dan stafilokokus. *The Food and Drug Administration* merekomendasikan teknik Kirby-Bauer sebagai prosedur standar untuk *susceptibility disk* antimikroba. Spesifikasinya sudah termasuk standarisasi ukuran dan metode inokulasi, standarisasi jenis dan kedalaman agar, dan penggunaan jenis cawan petri tertentu. Pada sebuah penelitian di laboratorium yang memeriksa kemampuan berbagai pewarna tetrazolium untuk meningkatkan perbedaan antara area pertumbuhan bakteri dan zona penghambatan yang dihasilkan oleh agen antimikroba. Mereka memeriksa kerentanan sejumlah bakteri gram-negatif dan stafilokokus dengan metode *disk susceptibility* Kirby-Bauer yang cepat dan termodifikasi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kerentanan bakteri yang ditentukan oleh metode yang dimodifikasi berkorelasi sangat baik diperoleh dengan metode standard Kirby-Bauer (Boyle, 1972).

F.1. Metode Difusi

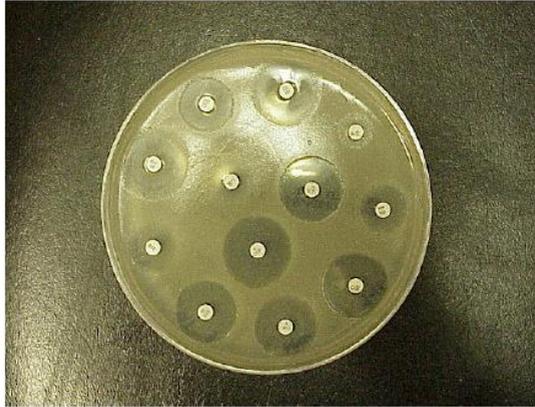
Metode difusi cakram Kirby-Bauer bertujuan untuk menentukan sensitivitas atau resistansi bakteri aerob pathogen atau anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa antimikroba. Organisme pathogen tumbuh pada lempeng Muller-Hinton Agar di hadapan cakram antimikroba. Ada atau tidaknya pertumbuhan di sekitar cakram antimikroba ialah dengan ukuran tidak langsung dari kemampuan antibiotik untuk menghambat organisme. Ketika cakram antimikroba 6 mm ditempatkan pada pelat agar Muller-Hinton, segera air diserap ke dalam cakram dari agar. Antimikroba dalam cakram berdifusi ke dalam agar-agar di sekitarnya.

Laju difusi melalui agar tidak secepat laju ekstraksi antimikroba dari cakram, oleh karena itu konsentrasi antimikroba paling dekat dengan piringan dan penurunan konsentrasi logaritmik terjadi ketika jarak dari cakram meningkat. Laju difusi antimikroba melalui agar tergantung pada sifat difusi dan kelarutan sampel dalam Agar Muller-Hinton, dan berat molekul senyawa antimikroba. Molekul yang lebih besar berdifusi pada tingkat yang lebih lambat daripada senyawa dengan

berat lebih rendah. Faktor-faktor ini dalam kombinasi menghasilkan bahwa setiap antimikroba memiliki ukuran zona *breakpoint* unik yang menunjukkan kerentanan terhadap senyawa antimikroba tersebut.

Jika pelat agar telah diinokulasi dengan suspensi pathogen yang akan diuji sebelum penempatan cakram pada permukaan agar, pertumbuhan simultan bakteri dan difusi antimikroba terjadi. Pertumbuhan terjadi dengan adanya senyawa antimikroba ketika bakteri mencapai massa kritis dan dapat mengalahkan efek penghambatan senyawa antimikroba. Standar acuan resistensi bakteri pada antibiotik disajikan pada table 2.3. Perkiraan waktu suspense bakteri mencapai massa kritis adalah 4 hingga 10 jam untuk pathogen yang paling umum kembali pulih, tetapi itu merupakan karakteristik dari masing-masing spesies dan tergantung pada media yang digunakan serta suhu inkubasi. Ukuran zona hambatan pertumbuhan dalam *fluenced* oleh kedalaman agar, karena antimikroba berdifusi dalam tiga dimensi, sehingga lapisan dangkal yang jika agar akan menghasilkan zona hambat lebih besar dibandingkan lapisan yang lebih dalam.

Titik di masa massa kritis tercapai ditunjukkan adanya lingkaran pertumbuhan bakteri yang tajam di sekitar cakram. Konsentrasi senyawa antimikroba pada batas ini disebut penghambatan minimum yang diperoleh dalam uji kerentanan pengenceran kaldu. Ukuran zona yang diamati dalam tes difusi cakram tidak memiliki arti dalam dan dari dirinya sendiri. Interpretasi resistensi dan kerentanan terhadap antimikroba ditentukan melalui tes *in vivo* darah dan urin untuk menghitung tingkat yang diperoleh dari antimikroba tertentu yang menghasilkan standar interpretatif. Standar insterpretasi saat ini dapat ditemukan dalam *Clinical Laboratory Standards Institute Performance Standards dor Antimicrobial Disc Susceptibility Test Approved Standard 9th Edition* (Vineetha, 2015)



Gambar.2.16. *Kirby-Bauer Test to Measure Antibiotic Sensitivity*

Dasar-dasarnya mudah yaitu bakteri diseka pada agar-agar dan cakram antibiotik diletakkan di atas. Antibiotik berdifusi dari *disk* ke agar-agar dalam jumlah yang semakin jauh dari *disk*. Jika organisme dibunuh atau dihambat oleh konsentrasi antibiotik, tidak akan ada pertumbuhan di daerah sekitar *disk*. Hal ini disebut zona penghambatan (Gambar 2.16.). ukuran zona dilihat pada bagan standard untuk memberikan hasil sensitif, tahan, atau mencegah. Banyak grafik memiliki kolom yang sesuai juga memberikan MIC (Konsentrasi Penghambatan Minimal) untuk obat tersebut. MIC saat ini merupakan tes standard menjalankan pengujian

sensitivitas antibiotik karena menghasilkan relevan pada dosis minimal.

Tabel.2.3. Standar acuan Resistensi dan Kerentanan pada Antibiotik

Antibiotik (Antibacterial Agent)	DISC CODE	Resiste nsi	Interme diate	Kerentan an
		(< or = mm)		(= or > mm)
Amoxicillin (other)	AMC	<13	14-17	>18
Amoxicillin (Staph)	AMC	19		20
Ampicillin (other)	AM	11	12-13	14
Ampicillin (Staph)	AM	28		29
Carbenicillin (Other)	CB	17	18-22	23
Carbenicillin (pseudomona s)	CB	13	14-16	17
Cefoxitin	FOX	14	15-17	18
Cephalotin	CF	14	15-17	18

Chloramphenicol	C	12	13-17	18
Ciprofloxacin	CIP-5	15	16-20	21
Clindamycin	CC-2	14	15-20	21
Enoxacin (fluoroquinolone, 2 nd gen)	ENX-10	14	15-17	18
Erythromycin	E	13	14-22	23
Gentamycin	GM	12	13-14	15
Kanamycin	K-30	13	14-17	18
Methicillin (Staph)	M(or DP)	9	10-13	14
Oxacillin (Staph)	OX	10	11-12	13
Penicillin G (Enterococcus)	P	14		15
Penicillin G (Staph)	P	28		29
Streptomycin	S-10	14	15-20	21
Sulfamethoxazole-trimethoprim	SXT	10	11-15	16
Tetracycline	Te-30	14	15-18	19

Tobramycin	NN-10	12	13-14	15
Vancomycin	Ve-30	9	10-11	12

(Sumber: Reynolds, 2019)

G. Kajian Pustaka

Daun ketapang (*Terminalia catappa* L) mengandung flavonoid, saponin, tannin, steroid dan terpenoid (Wahjuningrum, 2008). Senyawa fitokimia flavonoid dan saponin dinilai dapat berpotensi sebagai agen antibakteri (Sukandar, 2006). Adapun penelitian tentang isolasi senyawa flavonoid sebagai antibakteri dilakukan oleh Nugraha dkk, (2017) dalam jurnal “Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri Dari Daun Mangga”. Ia menyatakan bahwa isolat flavonoid berperan aktif dalam menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Penelitian lainnya juga dilakukan oleh Sukadana (2010) tentang Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-awar (*Ficus septica* *Burm F*). Hasilnya menunjukkan bahwa isolat flavonoid yang diisolasi adalah golongan flavanon. Dimana hasil uji antibakteri isolate flavanon menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan menghambat pertumbuhan dari bakteri *Vibrio Cholera* dan *E.coli*.

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Zahro (2013) dalam jurnal "Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih. Menyatakan bahwa ekstrak kasar saponin dari jamur tiram putih pada konsentrasi tinggi yaitu 300 mg/ml memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Ia juga mengatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin besar diameter zona hambat yang diperoleh. Penelitian lain juga dilakukan oleh Kankia (2014) yang dimuat dalam jurnal "Phytochemical Screening and Antibacterial Activities of Leaf Extract of *Terminalia catappa* (Umbrella Tree)" Vol.3 Issue 12, melaporkan bahwa daun ketapang mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid, kardiak glikosida. Serta menyebutkan bahwa aktivitas antibakteri terlihat begitu signifikan pada ekstrak etanol-air, kloroform, serta heksana terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus viridians*.

Aktivitas antibakteri pada daun ketapang segar juga dilakukan oleh Tampemawa (2016) dalam "Efektivitas Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) terhadap Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*" Vol.5 No.1, dimana daun ketapang dapat menghambat pertumbuhan

bakteri *B.amyloliquefaciens* karena adanya senyawa-senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri.

Penelitian lain juga dilakukan oleh Sukandar (2006) dituangkan dalam jurnal "Uji Aktivitas Antijamur Salep dan Krim Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) pada Kulit Kelinci. Vol.17, No.3, menyatakan bahwa daun ketapang gugur mengandung senyawa flavonoid, steroid/terpenoid, tanin katekat, dan tannin galat. Senyawa tersebut dimanfaatkan sebagai antijamur yang diujikan pada seekor kelinci.

Pemanfaatan daun ketapang gugur juga dilakukan oleh Wahjuningrum (2008) bahwa daun ketapang gugur dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *A.hydrophila*. Hal ini dikatakan dalam penelitiannya "Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) Untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*".

Berdasarkan kajian pustaka yang telah dipaparkan, serta kandungan senyawa fitokimia dari daun ketapang gugur yang berpotensi sebagai antibakteri. Serta belum adanya kajian tentang aktivitas antibakteri yang menggunakan ekstrak etanol dari daun ketapang gugur

terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* ini, maka penulis melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun ketapang gugur (*Terminali catappa L*) menggunakan metode Kirby-Bauer. Oleh karena itu ekstrak etanol daun ketapang gugur mempunyai senyawa fitokimia yang diduga berpotensi sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri yang dimiliki ekstrak etanol daun ketapang gugur ini diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* seperti halnya antibiotik yang aman.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium. Untuk mencapai tujuan penelitian ini, maka dilakukan beberapa tahapan penelitian yaitu tahap penyiapan simplisia, maserasi, uji aktivitas antibakteri.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2019 hingga Maret 2020. Lokasi pengambilan sampel daun ketapang gugur dilakukan pada area kampus 2 UIN Walisongo Semarang. Tempat penelitian tahap ekstraksi simplisia hingga uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang. Adapun uji aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang gugur dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Mikrobiologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

C. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian yaitu, beaker glass, glass pengaduk, vacum evaporator, cawan petri, tabung reaksi, penangas, pembakar spirtus, Erlenmeyer, aluminium foil, kertas saring, autoklaf, tabung reaksi, , inkubator, jangka sorong, kertas cakram, magnetic stirrer.

D. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian yaitu, simplisia daun ketapang yang telah diserbukkan, etanol teknis, aquades, medium *Mueller Hinton Agar*, HCl pekat, serbuk magnesium, HCl 2N, Antibiotik, Nutrient Broth, pelarut DMSO, sumbatan tabung.

E. Prosedur Kerja

E.1. Preparasi Sampel Daun Ketapang Gugur

Preparasi daun ketapang diawali dengan mengumpulkan daun ketapang gugur yang berada di lingkungan Kampus 2 UIN Walisongo Semarang. Daun dicuci untuk menghilangkan kotoran, kemudian dikeringkan dalam ruangan tanpa terkena sinar matahari langsung selama kurang lebih 7 hari. Daun

yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender, lalu serbuk simplisia disimpan pada suhu ruang tanpa terpapar sinar matahari.

E.2. Ekstraksi Daun Ketapang Gugur

Serbuk daun ketapang sebanyak 200 gram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol sebanyak 1750 ml. maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan. Setelah proses maserasi, kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dengan residu. Filtrat diuapkan menggunakan *vacum rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental.

E.3. Uji Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak simplisia ditambah serbuk magnesium secukupnya dan 10 tetes HCl pekat. Hasil positif apabila terbentuk larutan berwarna merah jingga hingga merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna yang dihasilkan kuning hingga jingga maka menunjukkan adanya flavon, auron, dan kalkon (Nuraina, 2015).

2. Uji Saponin

1 ml ekstrak simplisia ditambahkan dengan 10 ml aquades. Campuran dididihkan selama 5 menit, kemudian dikocok selama 10 menit. Hasil positif apabila busa stabil selama 10 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N (Nuraina, 2015).

E.4. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang Gugur

1. Larutan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA). Peralatan yang akan digunakan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. MHA dibuat sebanyak 4 gram dalam aquades 120 mL yang dibuat dalam Erlenmeyer. (Handayani, 2016).

Larutan MHA kemudian dipanaskan menggunakan hot plate dengan bantuan magnetic stirrer hingga homogen. Erlenmyer ditutup dengan sumbatan yang terbuat dari kapas dank ain kasa. (Tampemawa, dkk. 2016).

2. Inokulasi bakteri pada Nutrien Broth

Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* masing-masing dipindahkan secara aseptis ke dalam larutan Nutrien Broth yang sudah disiapkan. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3. Sterilisasi Media MHA dan Inokulum Bakteri

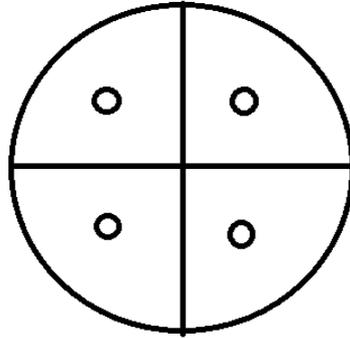
Larutan MHA dan inokulum bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dalam NB, disterilisasi dalam autoklaf selama ± 15 menit pada suhu 121°C. (Dwidjoseputro, 1987).

4. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Kirby-Bauer terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Kertas cakram disiapkan yang kemudian direndamkan untuk setiap konsentrasi (5% b/v, 10% b/v, 15% b/v, 20% b/v) dan antibiotik konsentrasi 5%.

Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dalam keadaan cair dipindahkan secara aseptis sebanyak ± 2 ml dengan perlahan-lahan kedalam cawan petri. Selanjutnya media MHA dituangkan kan secara aspetis kedalam cawan petri yang berisi bakteri sebanyak ± 6 ml. setelah cawan ditutup, kemudian cawan diputar-putar dengan tidak mengangkatnya dari meja. Tunggu hingga media

memadat. Kertas cakram yang sudah terendam dari masing-masing konsentrasi, diangkat menggunakan pinset steril lalu diletakkan diatas media (Dwidjoseputro, 1987).



Gambar 3.1. Letak Kertas Cakram pada Petri

Pengulangan dilakukan sebanyak 5 kali pada setiap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Handayani, 2015)

E.5. Analisis Data

Tabel.3.1. Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri	Diameter zona hambat (mm)				Kontrol Positif
	5%	10%	15%	20%	
<i>Staphylococcus aureus</i>					

<i>Escherichia coli</i>					

1. Uji Statistik T-Test

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan diameter zona hambat per-konsentrasi antara bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Escherichia coli*, maka harus membuat hipotesis (dugaan) terlebih dahulu:

- a. H_0 : Tidak ada perbedaan rata-rata antara diameter zona hambat per-konsentrasi bakteri *S.aureus* dengan *E.coli*
- b. H_a : Ada perbedaan rata-rata antara diameter zona hambat per-konsentrasi bakteri *S.aureus* dengan *E.coli*

Dasar pengambilan Keputusan : Independent sample T-Test

Langkah pertama yang harus dilakukan sebelum menafsirkan hasil output pada Independent sample t-test untuk mengambil keputusan yaitu:

- a. Jika nilai Sig. (2-tailed) $> 0,05$ maka H_0 diterima dan H_a ditolak, yang artinya tidak ada perbedaan antara diameter zona hambat bakteri S.aureus dengan E.coli
- b. Jika nilai Sig. (2-tailed) $< 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_a diterima, yang artinya adanya perbedaan pada diameter zona hambat bakteri S.aureus dengan E.coli.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

A.1. Hasil ekstraksi daun ketapang gugur

Daun ketapang gugur sebanyak 200 gram diekstraksi dengan etanol sebanyak 1750 ml menggunakan metode maserasi. Hasil yang diperoleh yaitu filtrat sebanyak 1200 ml. Filtrat dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak kental yang didapatkan sebanyak 15 ml.

A.2. Hasil Uji Fitokimia

Ekstrak kental daun ketapang gugur setelah dilakukan uji fitokimia, diketahui mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Kedua senyawa tersebut dianggap berpotensi sebagai antibakteri. Berikut hasil yang diperoleh pada uji fitokimia disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Uji Fitokimia pada ekstrak daun ketapang gugur

Sampel	Perlakuan	
	Flavonoid	Saponin
Ekstrak daun ketapang gugur	1 ml sampel + serbuk Mg + 10 tetes HCl pekat	1 ml sampel + 10 ml aquades, (dipanaskan selama 5 menit), (dikocok selama 10 menit) hingga timbul buih + 1 tetes HCl 2N
Keterangan	Larutan warna kuning coklat (+)	Buih/busanya stabil setelah penambahan HCl 2N (+)

Keterangan:

(+) = positif adanya senyawa fitokimia

A.3. Hasil Uji Antibakteri

Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* diinokulasi terlebih dahulu dengan larutan Nutrient Broth yang diinkubasi

selama 24 jam pada inkubaktor. Ekstrak dibagi menjadi 4 yaitu 5% (b/v), 10% (b/v), 15% (b/v), dan 20% (b/v), serta menggunakan antibiotik sebagai kontrol positif atau pembanding untuk hasil uji. Uji antibakteri ekstrak daun ketapang gugur terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode kertas cakram kirby-bauer dengan medium *Mueller Hinton Agar*. Hasil uji antibakteri dapat dilihat pada **tabel 4.2.** , **tabel 4.3.** , **tabel 4.4.** dan **tabel 4.5** untuk hasil efektivitas antibakteri.

Tabel 4.2. Diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Diameter zona hambat (mm)			
	5%	10%	15%	20%
<i>S.aureus</i>	18,32	20,5	20,75	23
	18,123	19,5	20,5	21
	18,135	20,5	19	21,5
	18,426	19,5	21,25	23,5
	18,742	21	21,75	21,5
Rata-rata ±	18,35 ±	20,2 ±	20,65 ±	22,1 ±
Stdev	0,25	0,67	1,04	1,08

Tabel 4.3. Diameter zona hambat (mm) pada bakteri *Escherichia coli*

Bakteri	Diameter zona hambat (mm)			
	5%	10%	15%	20%
<i>E. coli</i>	15,22	18	19,5	21,25
	16,5	18,5	19,75	21,25
	16,615	18,25	20,5	21,25
	16,15	17,5	19,75	20
	16,01	17,75	19,25	20,25
Rata-rata	16,10 ±	18 ±	19,75 ±	20,8 ±
± Stdev	0,55	0,39	0,47	0,62

Tabel 4.4. Uji Antibakteri pada Kontrol Positif

	d zona hambat (mm)	
	S.aureus	E.coli
Kontrol Positif 5%	51,25	41,75
	57,25	34,75
	52,25	37
	56	32,75
	60	39,5
RATA-RATA		
± stdev	55,35 ± 3,61	37,15 ± 3,6

A.4. Hasil Analisis Uji T-Test

Analisis uji statistic penelitian ini menggunakan uji T-Test pada diameter zona hambat ekstrak daun ketapang gugur. Analisis dilakukan di Lab. Matematika UIN Walisongo Semarang. Hasil uji T-Test disajikan pada table 4.5.

Tabel 4.5. Hasil Uji T-Test pada Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Gugur

		Independent Samples Test									
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper		
5%	Equal variances assumed	1.480	.258	8.259	8	.000	2.24672	.27204	1.61940	2.87404	
	Equal variances not assumed			8.259	5.617	.000	2.24672	.27204	1.56993	2.92351	
10%	Equal variances assumed	.946	.359	12.929	8	.000	2.67000	.20652	2.19377	3.14623	
	Equal variances not assumed			12.929	6.576	.000	2.67000	.20652	2.17520	3.16480	
15%	Equal variances assumed	.615	.455	3.873	8	.005	1.50000	.38730	.60689	2.39311	
	Equal variances not assumed			3.873	6.817	.006	1.50000	.38730	.57917	2.42083	
20%	Equal variances assumed	9.013	.017	7.431	8	.000	2.35000	.31623	1.62078	3.07922	
	Equal variances not assumed			7.431	6.142	.000	2.35000	.31623	1.58054	3.11946	

Analisis data uji T-Test:

1. Pada kolom Levenes Test for Equality of Variances, diperoleh nilai sig. = 0,258. Karena sig. 0,258 \geq 0,05, maka H_0 DITERIMA, artinya kedua varians rata-rata diameter zona hambat

konsentrasi 5% bakteri S.aureus dan E.coli adalah identik.

2. Karena identiknya varians rata-rata diameter zona hambat konsentrasi 5% bakteri S.aureus dan E.coli, maka untuk membandingkan rata-rata diameter zona hambat konsentrasi 5% bakteri S.aureus dan E.coli dengan menggunakan t-test adalah menggunakan dasar nilai t_{hitung} pada baris pertama (Equal variances assumed), yaitu $t_{hitung} = 8,259$ atau menggunakan Sig (2-tailed)
3. Nilai Sig = 0,000 (two tail). Berarti nilai Sig = $0,000 < 0,05$ hal ini berarti H_0 DITOLAK, artinya : Ada perbedaan rata-rata diameter zona hambat konsentrasi 5% bakteri S.aureus dan E.coli

B. Pembahasan

Sampel yang digunakan berupa daun gugur dari pohon ketapang, yang diambil pada area kampus 2 Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Daun yang telah dikumpulkan, terlebih dahulu dicuci dengan air mengalir sebelum diolah. Tujuan pencucian ini agar menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada sisi permukaan daun seperti tanah atau debu. Setelah

bersih, kemudian diangin-anginkan pada suhu ruang kurang lebih selama tujuh hari tanpa terpapar sinar matahari. Hal ini bertujuan untuk menjaga agar simplisia tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lama.

Simplisia yang sudah dikeringkan, dihaluskan menggunakan blender agar didapatkan luas permukaan yang kecil. Serbuk simplisia diekstraksi dengan metode maserasi, dimana ekstraksi ini merupakan ekstraksi cara dingin dan tanpa pemanasan. Tujuan digunakannya maserasi agar menghindari kerusakan zat-zat yang terkandung pada simplisia. Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi ini yaitu etanol. Etanol dikenal sebagai pelarut dengan kepolaran yang cukup tinggi ketiga dari air dan methanol, maka dipercaya akan dapat menarik dengan mudah senyawa-senyawa fitokimia yang juga bersifat polar pada sampel seperti flavonoid dan saponin. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan pada campuran. Hal ini bertujuan untuk mengeluarkan senyawa fitokimia yang masih ada dalam sampel. Filtrat yang didapat sebanyak 1200 ml, yang kemudian dilakukan evaporasi menggunakan vakum evaporator. Tujuan dilakukannya evaporasi yaitu untuk

menguapkan pelarut pada filtrat, dan didapatkan ekstrak kental.

Pada penelitian ini, senyawa fitokimia yang diujikan yaitu flavonoid dan saponin. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun ketapang gugur positif (mengandung) kedua senyawa tersebut. Untuk uji flavonoid, sampel ditambah dengan serbuk Magnesium dan larutan HCl pekat sebanyak 10 tetes. Hasil menunjukkan warna kuning coklat, dimana menurut Nuraina (2015) jika uji flavonoid menghasilkan warna kuning hingga jingga maka sampel tersebut mengandung senyawa flavonoid. Pada proses penambahan kedua bahan (Mg dan HCl pekat), terjadi suatu reaksi eksoterm (melepaskan panas) yang ditandai gelembung-gelembung gas yang terbentuk serta kalor yang dilepaskan ke permukaan tabung reaksi. Adapun Gas yang terbentuk ialah gas H_2 . Reaksi ketika proses penambahan:

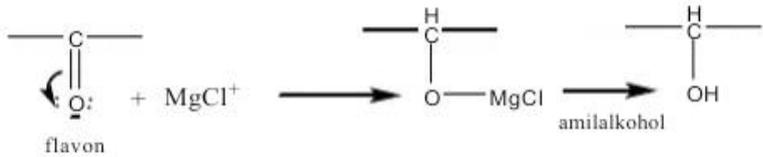


Reaksi diatas menghasilkan suatu produk $MgCl_2$ dan gas H_2 , dimana $MgCl_2$ berada pada kesetimbangan. Adapun reaksi yang

$$MgCl_2(aq) \rightleftharpoons MgCl^+(aq) + Cl^-(aq)$$

MgCl⁺ akan bereaksi dengan suatu gugus karbonil pada flavon yang telah mengalami resonansi, maka akan terbentuklah ikatan baru yaitu suatu ikatan rangkap serta pembentukan gugus hidroksil.

Adapun reaksi yang terjadi:



Uji saponin, dimana sampel ditambahkan 10 ml aquades kemudian dipanaskan selama 10 menit, setelah itu dikocok selama 5 menit. Proses ini akan menghasilkan busa pada campuran. Hasil positif ditandai dengan stabilnya busa ketika ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Ekstrak daun ketapang gugur terbukti mengandung saponin ditandai dengan stabilnya busa pada campuran setelah ditetesi HCl 2 N.

Saponin merupakan glikoksida yang terdapat pada gugus hidroksil pada molekulnya dengan rumus C₃₂H₁₈O₇. Saponin merupakan senyawa yang memiliki sifat seperti sabun, dimana ketika ia dilarutkan dalam air akan membentuk buih atau busa (Savage, 2013). Pemanasan campuran ekstrak dan air, bertujuan untuk memperbesar kelarutan saponin didalam air. Campuran tersebut dikocok hingga terbentuk buih,

saponin merupakan senyawa yang mempunyai sifat seperti sabun, bahwa ia memiliki gugus hidrofob serta hidrofil yang bisa bertindak sebagai permukaan aktif pada pembentukan busa.

Penambahan larutan HCl untuk menguji kestabilan buih, dilakukan dalam jumlah sedikit, karena jika pada jumlah yang banyak akan dapat menurunkan permukaan aktif sabun. Hal ini terjadi pada ekstrak daun ketapang gugur, dimana buih yang dihasilkan masih tetap stabil ketika ditambahkan larutan HCl.

Proses selanjutnya yaitu uji antibakteri pada ekstrak daun ketapang gugur, yang bertujuan untuk mengetahui apakah daun ketapang gugur mempunyai sifat antibakteri atau tidak. Bakteri yang digunakan ada dua macam yaitu *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif. Bakteri *S.aureus* memiliki sifat patogen, banyak penyakit yang dapat disebabkan oleh bakteri tersebut seperti bakteremia (infeksi darah), endocarditis, osteomyelitis (infeksi tulang), infeksi kulit dan jaringan lunak, dan lain-lain. Bakteri *E.coli* merupakan bakteri yang sudah tidak asing lagi ditengah kalangan masyarakat. Penyakit yang sering disebabkan oleh bakteri ini ialah diare. Kedua bakteri ini dari tahun

ke tahun dilaporkan semakin resisten terhadap antibiotik.

Uji antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode Kirby-bauer dengan medium Mueller Hinton Agar (MHA). Pemilihan metode Kirby-bauer ini karena memudahkan untuk mengetahui penghambatan antibiotik terhadap bakteri yang ditumbuhkan pada medium MHA dengan terbentuknya zona bening disekitar area kertas cakram. Medium MHA sendiri merupakan medium terbaik untuk pertumbuhan bakteri, dimana MHA dapat menunjukkan reproduktifitas batch-to-batch yang dapat diterima untuk uji kerentanan serta menjadi media terbaik pada hasil pertumbuhan dari sebagian besar bakteri patogen *nonfastidious* (Hudzicki, 2009). Medium MHA sebanyak 4 gram dilarutkan pada aquades 120 ml dalam Erlenmeyer, kemudian ditutup dengan sumbatan.

Selanjutnya proses inokulasi bakteri ke Nutrient Broth (NB). Inokulasi atau penanaman bakteri merupakan suatu pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan ketelitian penuh (Dwidjoseputro, 1987). Bakteri *S.aureus* yang berbentuk cair diambil sebanyak 2 ml diinokulasi ke larutan NB secara aseptis menggunakan

mikropipet. Selanjutnya bakteri *E.coli* diambil dari tabung biakan agar miring dengan cara di goreskan melalui kawat nikrom pada permukaan searah. Kemudian diinokulasi kedalam larutan NB secara aseptis. Setelah inokulasi selesai, suspensi bakteri diinkubasi pada inkubator selama 24 jam dengan suhu optimum 37°C. Nutrient Broth merupakan media biakan bakteri yang umum digunakan. Komposisinya terdiri dari pepton, ekstrak daging, dan sodium klorida. Ekstrak daging dan pepton merupakan sumber dari karbon, nitrogen dan vitamin, dan beberapa bahan penyusun lainnya untuk organisme non-fastidious. Sodium klorida bekerja untuk mempertahankan keseimbangan medium osmotik (Himedia, 2015). Hal ini memenuhi syarat untuk penyiapan medium agar dapat tumbuh dengan baik, karena mengandung nutrisi yang mudah digunakan oleh bakteri.

Peralatan yang akan dipakai, medium MHA yang telah dibuat, serta suspensi bakteri *S.aureus* dan *E.coli* disterilkan dalam autoklaf selama 30 menit pada suhu optimum 121°C. Ekstrak kental daun ketapang gugur dibagi menjadi 4 (empat) variasi konsentrasi yaitu 5% b/v, 10% b/v, 15% b/v dan 20% b/v. Tujuan pembagian ini untuk mengetahui perbedaan aktivitas

antibakteri pada konsentrasi rendah dan tinggi. Cawan petri yang steril disiapkan serta ditandai bawahnya untuk membagi tempat kertas cakram.

Suspensi bakteri *S.aureus* dan *E.coli* masing-masing diambil sebanyak 2 ml dipindahkan secara aseptis pada ruang *Laminar Air Flow* (LAF) ke dalam masing-masing cawan petri steril menggunakan mikropipet. Kemudian medium MHA dituangkan ke dalam masing-masing cawan petri yang sudah berisi suspensi bakteri. Proses ini menggunakan metode *biakan adukan* atau *pour plate* yaitu bakteri yang digunakan untuk membuat biakan adukan dapat diperoleh dari biakan dalam medium cair, atau dari suatu koloni pada medium padat. Biakan ini dilakukan dengan cara menuangkan atau meneteskan suspensi bakteri ke dalam cawan petri, kemudian medium agar yang belum membeku dituangkan kedalam cawan petri, sehingga tuangan tersebut mencampuri suspensi. Setelah cawan petri ditutup, maka cawan diputar-putar membentuk angka 8 dengan tidak diangkat dari meja. Dengan demikian suspensi bercampur rata dengan medium. Bakteri yang sudah tumbuh merupakan suatu koloni-koloni, maka akan menampakkan pada permukaan medium (Dwidjoseputro, 1987). Metode biakan adukan ini cocok

untuk bakteri anaerob fakultatif, sifat bakteri ini ialah ia dapat hidup dengan baik dengan atau tanpa oksigen.

Ekstrak kental yang dibagi menjadi berbagai variasi konsentrasi (5%, 10%, 15%, 20%), pembagian konsentrasi dari yang terendah hingga tinggi bertujuan mengetahui daya antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Masing-masing dilarutkan pada pelarut DMSO (dimethyl sulfonamida). DMSO dipilih untuk melarutkan ekstrak karena mempunyai daya pelarut yang baik untuk senyawa polar ataupun nonpolar. Pelarut DMSO sering digunakan untuk melarutkan ekstrak untuk uji antibakteri karena dapat tidak memberikan suatu daya hambat pada proses pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil uji aktivitas antibakteri (Fadlila et al. 2015). Kertas cakram yang telah disiapkan, kemudian direndam dalam larutan ekstrak sebelum diletakkan pada medium. Kertas cakram yang sudah terendam, diambil satu persatu diletakkan pada medium MHA yang telah memadat. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada inkubator. Ketika proses ini, ekstrak daun ketapang gugur akan berdifusi ke permukaan untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri *S.aureus* dan *E.coli*, ditandai dengan terbentuknya zona bening disekeliling kertas

cakram. Zona inilah yang disebut zona hambat yang kemudian diukur diameternya. Hasil dari uji antibakteri pada ekstrak daun ketapang gugur disajikan pada table 4.6 :

Tabel 4.6. Hasil uji antibakteri pada ekstrak daun ketapang gugur terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*

Bakteri	Diameter zona hambat (mm)			
	5%	10%	15%	20%
<i>S.aureus</i>	18,32	20,5	20,75	23
	18,123	19,5	20,5	21
	18,135	20,5	19	21,5
	18,426	19,5	21,25	23,5
	18,742	21	21,75	21,5
Rata-rata	18,35	20,2	20,65	22,1
<i>E.coli</i>	15,22	18	19,5	21,25
	16,5	18,5	19,75	21,25
	16,615	18,25	20,5	21,25
	16,15	17,5	19,75	20
	16,01	17,75	19,25	20,25
Rata-rata	16,10	18	19,75	20,8

Hasil uji terhadap bakteri *S.aureus* memiliki rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 5% yaitu 18,35 mm, konsentrasi 10% yaitu 20,2 mm, konsentrasi

15% yaitu 20,65, dan konsentrasi 20% yaitu 22,1 mm. Sedangkan terhadap bakteri *E.coli* memiliki rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 5% yaitu 16,10 mm, konsentrasi 10% yaitu 18 mm, konsentrasi 15% yaitu 19,75 mm, dan konsentrasi 20,8 mm. Untuk membandingkan aktivitas antibakteri pada ekstrak daun ketapang gugur, diperlukan antibiotik sebagai kontrol positifnya. Antibiotik dengan konsentrasi 5% untuk uji antibakterinya. Didapatkan diameter zona hambat antibiotik terhadap bakteri *S.aureus* sebesar 60 mm, sedangkan untuk bakteri *E.coli* sebesar 39,5 mm. Hal ini menunjukkan aktivitas antibakteri pada daun ketapang gugur dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Menurut Nurhayati (2015) dari Mutscler tahun 1991 menyatakan bahwa adanya suatu perbedaan pada diameter zona hambat bisa disebabkan karena dipengaruhi oleh jenis bakteri uji yang dipakai. Dimana setiap bakteri mempunyai kepekaan yang berbeda-beda terhadap sampel, dalam hal ini suatu bakteri akan membentuk sebuah resistensi didalam dirinya terhadap senyawa antibakteri yang menjadi sifat alamiah untuk mempertahankan hidupnya. Selain dari jenis bakteri, adanya perbedaan diameter juga dapat disebabkan

karena konsentrasi sampel yang berbeda. Hal ini jelas terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka akan semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan. Dari data yang telah disajikan, dapat dilihat bahwa ekstrak daun ketapang dalam konsentrasi terkecil yaitu 5% sudah dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri.

Ekstrak daun ketapang gugur dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini dapat disebabkan karena senyawa yang terdapat pada daun ketapang gugur yang bertindak sebagai antibakteri atau antimikroba. Seperti yang diketahui, bahwa daun ketapang gugur mengandung senyawa fitokimia flavonoid dan saponin. Senyawa flavonoid dikenal sebagai antibakteri terhadap mikroorganisme patogen (Xie, 2015). Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghentikan metabolisme sel bakteri dengan cara mendenaturasikan protein dari bakteri (Ernawati, 2015).

Tidak jauh berbeda dengan flavonoid, senyawa fitokimia saponin juga dapat bertindak sebagai antibakteri. Cara kerja senyawa ini yaitu dengan merusak membran sel bakteri karena adanya interaksi dengan dinding sel bakteri akibat terjadinya

peningkatan permeabilitas membran, ketika proses berlangsung, aktivitas ini memfasilitasi masuknya antibiotik melalui membrane dinding sel bakteri (Michal, 2012).

Tabel 4.7. Klasifikasi zona hambat aktivitas antibakteri menurut *Davis and Stout* (1971) ada 4 kategori.

Diameter zona hambat	Kategori
< 5 mm	Lemah
5 - 10 mm	Sedang
16 - 20 mm	Kuat
> 20 mm	Sangat kuat

Berdasarkan klasifikasi yang disajikan pada tabel 4.7, zona hambat pada bakteri *S.aureus* untuk konsentrasi 5% dan 10% masuk dalam kategori kuat dan untuk konsentrasi 15% dan 20% masuk dalam kategori sangat kuat. Sedangkan pada bakteri *E.coli* untuk konsentrasi 5%, 10%, 15% masuk dalam kategori kuat, dan konsentrasi 20% masuk kategori sangat kuat.

Analisi uji statistik pada penelitian ini adalah dengan menggunakan Uji T-Test. Berdasarkan pada output *Independent Sample Test*, diketahui nilai Sig. (2-tailed) menunjukkan angka 0,000 untuk ke empat

konsentrasi. Artinya nilai $0,000 < 0,05$. maka dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima. Jadi pada semua konsentrasi dinyatakan adanya perbedaan yang signifikan (nyata) antara rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *S.aureus* dengan *E.coli*.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang dapat resisten terhadap antibiotik, dengan melakukan transfer gen atau pertukaran plasmid antar bakteri yang sama jenis maka ia akan memperoleh gen mutasi. Sedangkan bakteri *Escherichia coli* yaitu bakteri yang resisten terhadap ampisilin. Karena termasuk resistensi didapat yang relatif yaitu antibiotik tertentu dapat meningkat secara bertahap. Resistensi yang mutlak terjadi ketika terdapat suatu mutasi genetik selama atau setelah terapi antibiotik.

Penghambatan senyawa antibakteri terhadap suatu mikroorganisme dapat disebabkan karena komponen penyusun sel bakteri. Komposisi dinding sel pada gram positif mengandung lipid rendah (1-4%), peptidoglikan sebagai lapisan tunggal, serta asam tekoat. Sementara pada gram negatif mengandung lipid yang tinggi (11-22%), peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam, serta tidak adanya asam tekoat. Gram positif lebih rentan terhadap penisilin dibandingkan gram

negatif. Tetapi bakteri gram negatif lebih rentan terhadap antibiotik-antibiotik seperti streptomisin dibandingkan gram positif (Pelczar, 1986).

Perbedaan ini juga terjadi pada permeabilitas di antara kedua kelompok dinding sel. Dinding sel gram negatif mengandung lebih sedikit peptidoglikan, dan peptidoglikan ini mempunyai ikatan silang yang jauh kurang ekstensif dibandingkan pada dinding gram positif. Karena itu, pori-pori peptidoglikan bakteri gram negatif tetap cukup besar sekalipun setelah perlakuan etanol pada pewarnaan bakteri. Perbedaan-perbedaan ini penting untuk dipahami karena diyakini bahwa itulah yang menyebabkan kedua kelompok bakteri ini memberikan respon sebagaimana terhadap berbagai perlakuan dan bahan, seperti pewarnaan gram dan antibiotik-antibiotik tertentu.

Bakteri gram positif lebih rentan oleh senyawa antibakteri ekstrak etanol daun ketapang daripada bakteri gram negatif. Hal ini dipengaruhi perbedaan struktur dinding sel, membran plasma, dan endospore pada bakteri gram positif dan gram negatif, yang menentukan penetrasi, ikatan, dan aktivitas senyawa antibakteri (Jawetz, dkk., 2005). Bakteri gram positif terdiri atas banyak lapisan peptidoglikan dan dinding

sel yang mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar masuk zat. Sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif lebih bersifat polar. Ekstrak etanol daun ketapang gugur mengandung senyawa flavonoid yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar pada dinding sel bakteri. Senyawa antibakteri yang masuk tersebut akan mengakibatkan tekanan osmotik di dalam sel lebih besar, sehingga menyebabkan lisis (Jannata, dkk., 2014).

Menurut Zaenab dkk, (2004), bakteri gram negatif memperlihatkan tiga lapis pembungkus sel yaitu membran bagian luar (OM / Outer Membrane), lapisan tengah yang merupakan dinding sel atau lapisan murein dan membrane plasma dalam. Bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan (membran luar berupa bilayer), serta dikelilingi lipoprotein, lipopolisakarida, fosfolipid dan beberapa protein (Altas, 1984). Dengan demikian, karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri

gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri masuk ke dalam sel bakteri gram positif.

Ketika senyawa flavonoid dan saponin pada ekstrak etanol daun ketapang gugur ini bekerja pada gram positif, senyawa antibakteri akan berikatan dengan peptidoglikan sehingga mampu merusak dinding sel dan pertumbuhan bakteri gram positif dapat dihambat. Perbedaan ketahanan bakteri dapat disebabkan adanya perbedaan dinding sel antara kedua golongan bakteri. Menurut Gorman (2001), pada bakteri gram negatif terdapat sisi hidrofilik yaitu gugus karboksil, amino, fosfat, dan hidroksil yang peka terhadap senyawa polar sedangkan kepekaan bakteri gram positif disebabkan tidak terdapatnya molekul reseptor spesifik untuk penetrasi antimikrobia dan susunan matriksnya yang lebih terbuka (Russel, 1991).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak daun ketapang gugur dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Diameter zona hambat pada kedua bakteri terlihat berbeda, dimana ekstrak daun ketapang gugur daya hambatnya pada bakteri *S.aureus* lebih baik dibandingkan pada bakteri *E.coli*. Serta berdasarkan hasil uji statistik menggunakan uji T-Test, menunjukkan adanya

perbedaan yang signifikan pada diameter zona hambat dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan klasifikasi menurut Davis Stout, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun ketapang gugur terhadap bakteri *S.aureus* pada konsentrasi 5% dan 10% tergolong kuat dan konsentrasi 15% dan 20% tergolong sangat kuat. Sedangkan terhadap bakteri *E.coli* pada konsentrasi 5,10,15% tergolong kuat dan konsentrasi 20% sangat kuat. Hal ini dapat dipercaya bahwa semakin besar atau tinggi konsentrasi ekstrak daun ketapang gugur pada aktivitas antibakteri maka akan semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam tahap fraksinasi dari ekstrak daun ketapang gugur. Sehingga dapat diketahui fraksi-fraksi manakah yang berpotensi sebagai antibakteri.

2. Perlu dilakukan Uji Antibakteri ekstrak daun ketapang gugur terhadap bakteri yang lain.
3. Perlu dilakukan Uji Antibakteri pada bakteri lain, menggunakan ekstrak pelarut lain.
4. Perlu dilakukan isolasi senyawa flavonoid dan saponin untuk memperkuat sebagai agen antibakteri pada ekstrak etanol daun ketapang gugur.

DAFTAR PUSTAKA

- Aizawa, S.-I. 2014. *Escherichia coli* — The Representative of the Gram-Negative Bacteria. *The Flagellar World*, 36–39. doi:10.1016/b978-0-12-417234-0.00010-4.
- Arabski M., Wegierek-Ciuk A., Czerwonka G., Lankoff A., Kaca W. 2011. Effects of Saponin Against Clinical E.coli Strains and Eukaryotic Cell Line. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Volume 2012.
- Arumugam Vijaya Anand, Natarajan Divya¹, Pannerselvam Punniya Kotti. 2015. An updated review of *Terminalia catappa*. *Pharmacognosy Reviews*. July-December 2015. Vol 9 .Issue 18.
- Azwanida N.N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants* 2015, 4:3. MAP. Volume 4 Issue 3.

- Bakri, Zakia, Hatta M., Massi M. N. 2015. Deteksi Keberadaan Bakteri Escherichia coli O157:H7 pada Feses Penderita Diare dengan Metode Kultur dan PCR. JST Kesehatan. Vol. 5, No. 2 : 184 – 192. April 2015.
- Boyle James V., Fancher M.E., Richard W. Ross J.R. 1972. Rapid, Modified Kirby-Bauer Susceptibility Test with single, High-Concentration Antimicrobial Disks. Antimicrobial Agents And Chemotherapy. Vol. 3, No. 3. Page 418-424. Mar. 1973.
- Boysen, R. I., & Hearn, M. T. W. 2010. High Performance Liquid Chromatographic Separation Methods. *Comprehensive Natural Products II*, 5–49. doi:10.1016/b978-008045382-8.00183-0 .
- Cushnie Tim. T.P., Lamb A.J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents 26 (2005) 343–356. doi:10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Diktorat Jenderal POM-DepKes RI.

Dwidjoseputro D. 1987. *Dasar-dasar Mikrobiologi*.
Malang: Djambatan.

Ernawati, Sari Kumala. 2015. Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* P.Mill) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Jurnal Kajian Veteriner. ISSN: 2356 – 4113. Vol. 3 No. 2: 203 – 211.

Estrada-Garcia, T., Hodges, K., Hecht, G. A., & Tarr, P. I. 2013. Escherichia coli. Foodborne Infections and Intoxications, 129–164. doi:10.1016/b978-0-12-416041-5.00008-1.

Fetsch Alexandra. 2018. Staphylococcus aureus. Academic Press. ISBN: 978-0-12-809671-0 . United Kingdom.

Gorman, M. J. 2001. Serine Proteases as Mediators of Mosquito Immune Response. Insect Biochemical Molecular Biology. 31: 257-262.

Huang Y., Xiao D., Bruton-Freeman B.M., Edirisinghe I. 2016. Chemical Changes of Bioactive Phytochemicals during Thermal Processing. Center for Nutrition Research, Institute for

Food Safety and Health. Doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.03055-9.

Harborne J.B. 1984. *Phytochemical Method: A Guide To Modern Techniques Of Plant Analysis Second Edition*. Chapman and Hall. New York, USA.

Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre For Science and High Technology. ICS-UNIDO, Italy.

Jagessar R.C., Alleyne R. 2011. Antimicrobial Potency of The Aqueous Extract of Leaves of *Terminalia catappa*. Academic Research International. Volume 1, Issue 3, November 2011.

Jannata, Rabbani Hafidata. Achmad Gunadi, Tantin Ermawati. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. e-Jurnal Pustaka Kesehatan. Vol. 2, No. 1: 23 – 28.

Jawetz E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., Brooks, G. F., Butel, J. S. and Ornston, L. N. 1995. Medical

Microbiology. University of California, San Francisco. Halaman: 37 – 40 .

Kankia H.I. 2014. Phytochemical Screening and Antibacterial Activities of Leaf Extract of *Terminalia catappa* (Umbrella Tree). International Journal of Science and Research (IJSR). Volume 3 Issue 12, December 2014.

Kourtis, A.P., et al. 2019. *Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus Bloodstream Infections – United States. Morbidity and Mortality Weekly Report. Vol. 68, No. 9. March 2019.*

Lex A. J. Thomson and Barry Evans. 2006. *Terminalia catappa* (tropical almond). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry.

Lowy, F. D. 1998. Staphylococcus aureus Infections. *New England Journal of Medicine, 339(8), 520–532. doi:10.1056/nejm199808203390806 .*

Lully, H.E, M.Farm, Apt. 2016. *Farmakognosi dan Fitokimia*. Jakarta Selatan: Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan.

- Maddison, J. E., Watson, A. D. J., & Elliott, J. 2008. *Antibacterial drugs. Small Animal Clinical Pharmacology*, 148–185. doi:10.1016/b978-070202858-8.50010-5
- Manimozhi, Sankaranarayanan, Sampathkumar. 2012. Evaluating The Antibacterial activity of Flavonoids Extracted From *Ficus Benghalensis*. International Journal of Pharmaceutical and Biological Research (IJPBR). Vol 3 Issue 1 Feb-Mar 2012.
- Manning, Shannon D. 2004. Deadly Diseases And Epidemics: Escherichia coli Infections. Chelsea House Publishers. ISBN 0-7910-7949-X (hardcover) — ISBN 0-7910-8343-8 (pbk.).
- Marjenah Putri N.P. 2017. Pengaruh Elevasi Terhadap Produksi Buah Ketapang (*Terminalia catappa L*) sebagai Bahan Baku Pembuatan Biodiesel. Jurnal Hutan Tropis. Vol. 5. No. 3.
- Martinez K.B., Mackert J.D., McIntosh M.K. 2017. Polyphenol and Intestinal Health. Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging. Doi: 10.1016/B978-0-12-805376-8.00018-6.

Microbiology by numbers. 2019. Nature Reviews Microbiology.

<http://www.nature.com/articles/nrmicro2644>

Munira. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang Warna Hijau dan Warna Merah Serta Kombinasinya. Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product.

Nia Helin, Tibe F., dan Puspita N. 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Batang Ketapang (*Terminalia catappa L*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Streptozotocin dan Pakan Tinggi Kolesterol. Farmakologi Jurnal Farmasi. Vol XIV. No. 2.

Neilson A.P., Goodrich K.M., Ferruzi M.G. 2017. Bioavailability and Metabolism of Bioactive Compounds From Foods. Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease. Doi: 10.1016/B978-0-12-802928-2.00015-1.

Novaryatiin Susi, Pratomo Guntur S., Yunari C. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Jerangau

Hijau terhadap *Staphylococcus aureus*. Borneo Journal of Pharmacy. Vol. 1 Issue I. May 2018. 11-15.

Nugraha, C.A., Prasetya A.T., dan Mursiti Sri. 2017. Identifikasi Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. Indonesian Journal of Chemical Science. Vol.6. No. 2.

Pawar S.P., et al. 2002. Antimicrobial Activity of Extracts of *Terminalia catappa* Root. Indian J Med Sci. Vol. 56. No. 6:276-8.

Poolman, J. T. 2017. *Escherichia coli*. *International Encyclopedia of Public Health*, 585–593. doi:10.1016/b978-0-12-803678-5.00504-x

Pelczar, Jr. Michael J., Chan E.C.S. 2008. Dasar-dasar Mikrobiologi 1 Terjemahan. UI-Press. Jakarta.

Rahayu, D.S, Dra. Dewi Kusriani M.Si, Dra. Enny Fachriyah M.Si. 2009. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*) dengan

Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH).
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.

Reynold Jackie. 2019. Kirby-Bauer (Antibiotic Sensitivity). Libre Texts Biology.

Rosa A. de la., Alvarez-Parilla E., Gonzales-Aguilar G.A. 2010. Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value, and Stability. Wiley-Blackwell. U.S. Library of Congress.

Rosyidah K., Nurmuhaimina S.A., Komari N., Astuti. 2010. Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*). Alchemy. Vol.1. No. 2: 53-103.

Russel, A. D. 1991. Mechanism of Bacterial Resistance to Non Antibiotic: Food Additive and Pharmaceutical Preservatives. Journal Application Bacteriol. 71:191.

Sukadana I.M. 2010. Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Awar-awar (*Ficus septica Burm F*). Jurnal Kimia. Vol. 4. No.1: 63-70.

Sukandar Elin Y., Suganda A.G. Pertiwi G. U. 2006. Uji Aktivitas Antijamur Salep dan Krim Ekstrak

- Daun Ketapang *Terminalia catappa* L. pada Kulit Kelinci. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(3), 2006.
- Savage, G. P. 2003. SAPONINS. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 5095–5098. doi:10.1016/b0-12-227055-x/01050-6 .
- Tampemawa, Putricia V., Peleau J.J., Kandou, Feby E.F. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 5, No. 1. Februari 2016.
- Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G., Kaur H. 2011. Phytochemical Screening And Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. Jan – March 2011. Vol. 1 Issue 1.
- Ullah H., and Ali S. 2017. Clasification of Anti-Bacterial Agents and Their Functions Intech. Department of Chemistry, Faculty of Arts and Basic Sciences, Balochistan University of Information Technology, Engineering and Management Science (BUTTEMS), Quetta, Pakistan.

- Utami E.R. 2011. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas, Terapi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malik Ibrahim Malang. Vol. 1. No.4.
- Vineetha N., Vignesh R.A., Sridhar D. 2015. Preparation, Standarization of Antibiotic Discs and Study of Resistance Pattern for First-Lime Antibiotics in Isolates from Clinical Samples. International Journal of Applied Research 2015; 1(11): 624-631.
- Vardanyan, R., & Hruby, V. 2016. *Antibiotics. Synthesis of Best-Seller Drugs*, 573–643. doi:10.1016/b978-0-12-411492-0.00030-4.
- Wahjuningrum D., Ashry N., Nuryati S. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia catappa* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Patin *Pangasionodon hypophthalmus* yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Akuakultur Indonesia. 7(1): 79-94 (2008). Bogor.

- Xie Yixi, Yang W., Tang F., Chen X., Ren L. 2015. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure- Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 2015, 22, 132-149. Vol. 22, No. 1. September 2015.
- Zaenab, Mardiasuti, H. W., Anny, N. P., dan Logawa, B. 2004. Uji Antibakteri Siwak (*Salvadora persica Linn*) Terhadap *Streptococcus mutans* (ATC31987) dan *Bacteriodes melaninogenicus*. *Makara Kesehatan*. Vol. 8, No. 2: 37-40.
- Zahro L dan Agustini R. 2013. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih. *UNESA Journal of Chemistry*. Vol. 2. No.3.
- Zuhrotun Ade, Asep G.S, As'ari N. 2010. Phytochemical Study Of Ketapang Bark (*Terminalia Catappa L.*). *Proceedings of International Conference on Medicinal Plants - Surabaya, Indonesia 21-21 July 2010*. ISBM of Volume 2: 978-602-96839-3-6.

LAMPIRAN - LAMPIRAN

Lampiran 1. Diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Diameter zona hambat (mm)			
	5%	10%	15%	20%
<i>S.aureus</i>	18,32	20,5	20,75	23
	18,123	19,5	20,5	21
	18,135	20,5	19	21,5
	18,426	19,5	21,25	23,5
	18,742	21	21,75	21,5
Rata-rata ± Stdev	18,35 ± 0,25	20,2 ± 0,67	20,65 ± 1,04	22,1 ± 1,08

Lampiran 2. Diameter zona hambat (mm) pada bakteri *Escherichia coli*

Bakteri	Diameter zona hambat (mm)			
	5%	10%	15%	20%
<i>E.coli</i>	15,22	18	19,5	21,25
	16,5	18,5	19,75	21,25
	16,615	18,25	20,5	21,25
	16,15	17,5	19,75	20
	16,01	17,75	19,25	20,25

Rata-rata ± Stdev	16,10 ± 0,55	18 ± 0,39	19,75 ± 0,47	20,8 ± 0,62
----------------------	-----------------	-----------	-----------------	----------------

Lampiran 3. Uji Antibakteri pada Kontrol Positif

	d zona hambat (mm)	
	S.aureus	E.coli
Kontrol Positif 5%	51,25	41,75
	57,25	34,75
	52,25	37
	56	32,75
	60	39,5
RATA-RATA ± stdev	55,35 ± 3,61	37,15 ± 3,6

Lampiran 4. Hasil Uji T-Test Independent Sampel Test

Independent Samples Test		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
5%	Equal variances assumed	1.480	.258	8.259	8	.000	2.24672	.27204	1.61940	2.87404
	Equal variances not assumed			8.259	5.617	.000	2.24672	.27204	1.56993	2.92351
10%	Equal variances assumed	.946	.359	12.929	8	.000	2.67000	.20652	2.19377	3.14623
	Equal variances not assumed			12.929	6.576	.000	2.67000	.20652	2.17520	3.16480
15%	Equal variances assumed	.615	.455	3.873	8	.005	1.50000	.38730	.60689	2.39311
	Equal variances not assumed			3.873	6.817	.006	1.50000	.38730	.57917	2.42083
20%	Equal variances assumed	9.013	.017	7.431	8	.000	2.35000	.31623	1.62078	3.07922
	Equal variances not assumed			7.431	6.142	.000	2.35000	.31623	1.58054	3.11946

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

a. Ekstraksi



Gambar Lampiran 1. Serbuk kering daun ketapang gugur



Gambar Lampiran 2. Maserasi

b. Uji Fitokimia

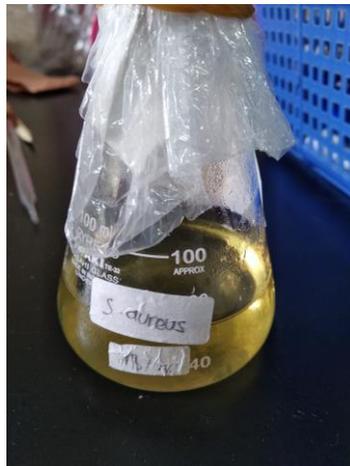


Gambar Lampiran 3. Uji Flavonoid



Gambar Lampiran 4. Uji Saponin

c. Uji Antibakteri



Gambar Lampiran 5. Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar Lampiran 6. Bakteri *Escherichia coli*



Gambar Lampiran 7. Medium MHA



Gambar Lampiran 8. Nutrient Broth



Gambar Lampiran 9. Proses Inokulasi bakteri ke NB



Gambar Lampiran 10. Inkubasi Biakan Bakteri



Gambar Lampiran 11. Cawan Petri yang sudah disterilkan



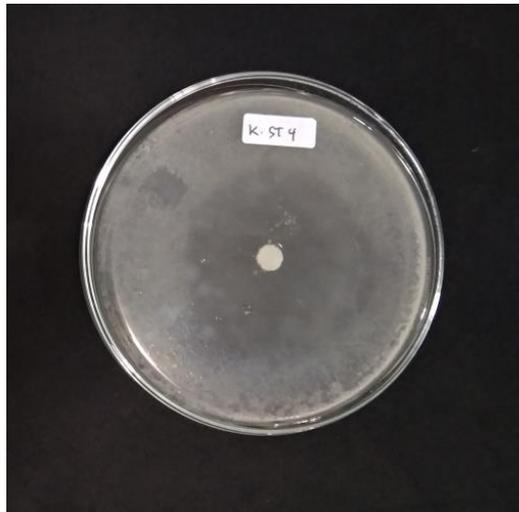
Gambar Lampiran 12. Kertas cakram



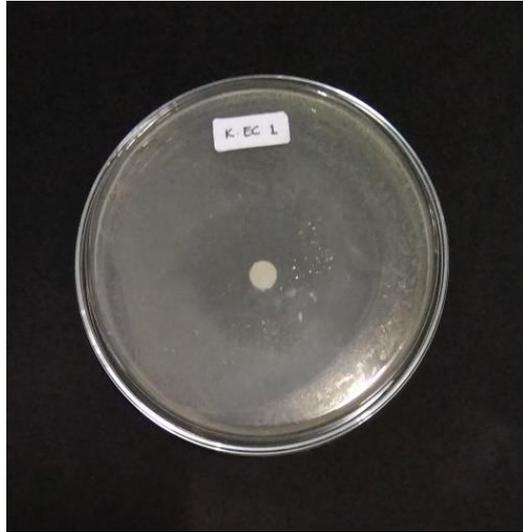
Gambar Lampiran 13. Variasi Konsentrasi dan Kontrol Positif



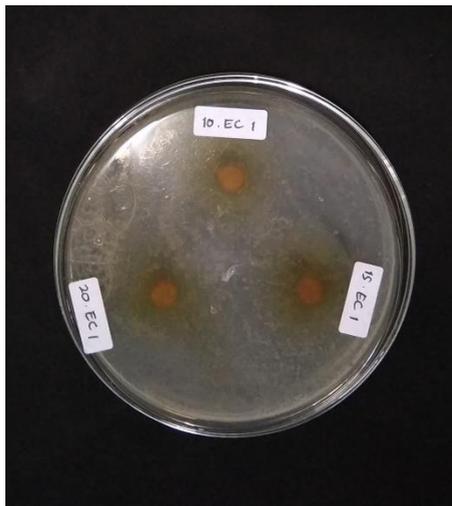
Gambar Lampiran 14. Penanaman Bakteri pada medium MHA



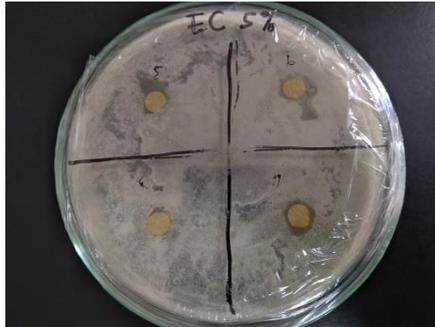
Gambar Lampiran 15. Kontrol Positif Bakteri *Staphylococcus aureus*



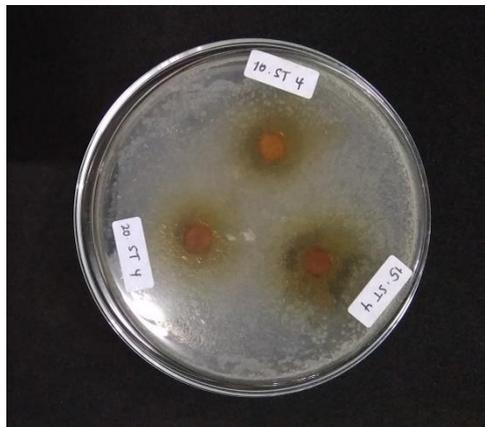
Gambar Lampiran 16. Kontrol Positif Bakteri
Escherichia coli



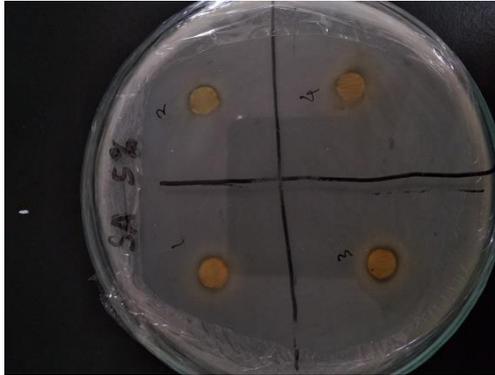
Gambar Lampiran 17. Ekstrak konsentrasi 10%, 15%, 20% terhadap bakteri *E.coli*



Gambar Lampiran 18. Ekstrak konsentrasi 5% terhadap bakteri *E.coli*

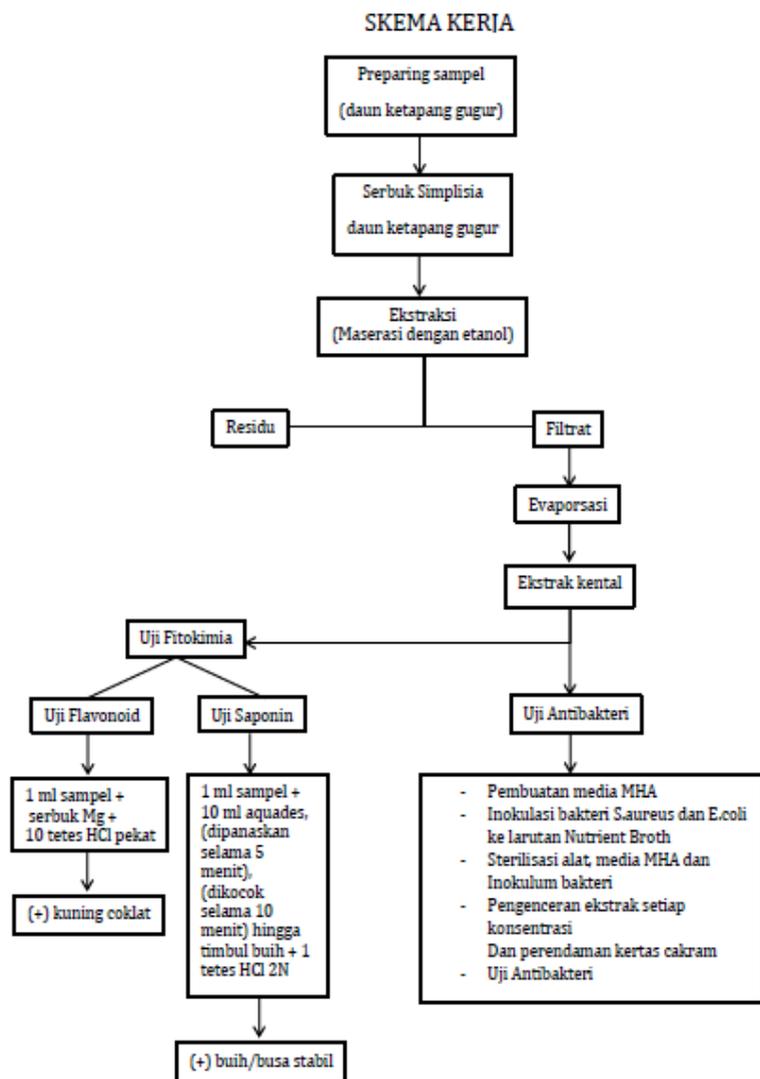


Gambar Lampiran 19. Ekstrak Konsentrasi 10%, 15%, 20% terhadap bakteri *S.aureus*



Gambar Lampiran 20. Ekstrak Konsentrasi 5%
terhadap bakteri *S.aureus*

Lampiran 6. Skema Kerja



DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama : Annisa Fadhilah
2. Tempat, Tanggal Lahir : Semarang, 22
November 1996
3. Alamat Rumah : Jl. Wonoharjo
RT 08 RW11,
Kembangarum,
Semarang Barat
4. No. Telepon / HP : 089510778411
5. Email :
annisafadhilah98@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. TK Yayasan Kristen Hanura (2001 – 2002)
 - b. SDN Karangayu 03 Semarang (2003 – 2009)
 - c. SMP Negeri 19 Semarang (2009 – 2012)
 - d. SMK Yayasan Farmasi Semarang (2012 –
2015)