

**SKRINING AKTIVITAS ANTI BAKTERI BERBAGAI EKSTRAK BUAH
JAMBU WER (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) TERHADAP BAKTERI
*Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh :

MUHAMMAD ZULKHAQ VADLIYANTO

13670004



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

**SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI BERBAGAI EKSTRAK BUAH
JAMBU WER (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) TERHADAP BAKTERI
*Escherichia coli***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

JURUSAN FARMASI

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**

MALANG

2017

**SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI BERBAGAI EKSTRAK BUAH
JAMBU WER (*Prunus Persica* Zieb&Zucc.) TERHADAP *Escherichia Coli***

SKRIPSI

Oleh :
MUHAMMAD ZULKHAQ VADLIYANTO
NIM. 13670004

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: Desember 2017

Pembimbing I

Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt
NIDT. 19881124 20160801 1 085

Pembimbing II

Hajar Sugihantoro, M.P.H, Apt
NIP. 19851216 20160801 1 083

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Roihatul Mu'tiah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

**SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI BERBAGAI EKSTRAK BUAH
JAMBU WER (*Prunus Persica* Zieb&Zucc.) TERHADAP *Escherichia Coli***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ZULKHAQ VADLIYANTO
NIM. 13670004

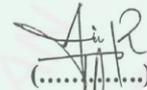
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: Desember 2017

Ketua Penguji : Hajar Sugihantoro, M.P.H, Apt
NIP. 19851216 20160801 1 083

Anggota Penguji : 1. Drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort
NIP. 19850720 200912 1 003

2. Abdul Hakim, M.P.I, M. Farm, Apt
NIP. 19761214 200912 1 002

3. Weka Sidha Bhagawan, M.Farm.,Apt (.....)
NIDT. 19881124 20160801 1 085


(.....)


(.....)


(.....)


(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Farmasi




Dr. Rohatul Mu'tiah, M.Kes.,Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Zulkhaq Vadliyanto

NIM : 13670004

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan

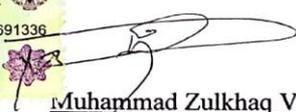
Judul Penelitian : "Skrining Aktivitas Antibakteri Berbagai Ekstrak Buah
Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) Terhadap Bakteri
Escherichia coli"

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar rujukan. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 Desember 2017

Yang membuat pernyataan,




Muhammad Zulkhaq Vadliyanto
NIM. 13670004

MOTTO

“Baik belum tentu bagus. Jelek belum tentu buruk.

Allah maha mengetahui apa yang tidak kita ketahui”



LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil aalamiin, Puji dan Syukur senantiasa dipanjatkan ke hadirat Allah SWT beserta salawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW. Dengan rasa syukur yang mendalam, penulis persembahkan karya tulisan ini kepada:

Kedua orang tua, Muryanta dan Novariyani yang selalu mendoakan, membimbing, dan mendukung sehingga penulis dapat menyelesaikan studi. Adik-adik, Latifah Mawardiah Aspriyani, Lailaturrahmah, Septiandi Nur Fadillah, dan Aisyah Aqillah yang selalu mendoakan dan memberi semangat untuk menyelesaikan studi. Terimakasih sudah menjadi pendukung utama, penyemangat diri, dan penyenang hati.

Bapak Weka Sidha Bhagawan, M. Farm., Apt, bapak Hajar Sugihantoro, M.P.H., Apt dan bapak Abdul Wafi, M.Si yang telah membimbing dan mendukung sehingga dapat terselesaikan tugas akhir ini. Kepada bapak Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm., Apt yang telah membimbing dari segi keagamaan. Terimakasih sebanyak-banyaknya telah membimbing dan mendukung hingga terselesaikan tugas akhir ini.

Kepada orang-orang disekitar penulis yang telah mendoakan dan mendukung serta memberi semangat. Tak cukup kata-kata untuk menggambarkan rasa terima kasih kepada semua orang yang telah mendoakan dan memberi dukungan kepada penulis, harapan penulis hanyalah semoga semua yang telah mendukung diberikan kesehatan dan rezeki oleh Allah SWT.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikumWarahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam bidang farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan serta arahan dari berbagai pihak. Untuk itu ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan terutama kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Dr. Bambang Pardjianto, Sp. B, Sp. BP- RE(K), selaku dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt, selaku ketua Jurusan Farmasi,Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan,Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Weka Sidha Bhagawan, M.Farm, Apt selaku dosen pembimbing utama yang banyak memberikan arahan, nasihat, motivasi, dan berbagai pengalaman yang berharga kepada penulis.

5. Hajar Sugihantoro, M.P.H., Apt selaku konsultan yang selalu meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan solusi kepada penulis.
6. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., Apt selaku pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan dan banyak nasehat agama kepada penulis.
7. Segenap sivitas akademika Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang terutama seluruh dosen, terima kasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
8. Ayah dan ibu tercinta yang telah mencurahkan cinta kasih, doa, bimbingan, dan motivasi hingga selesainya skripsi ini.
9. Adik-adik tersayang yang telah memberikan semangat kepada penulis.
10. Seluruh teman-teman di Jurusan Farmasi angkatan 2013 “GOLFY” yang berjuang bersama-sama untuk meraih mimpi dan terima kasih untuk setiap kenangan indah yang dirajut bersama dalam menggapai impian.
11. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik moril maupun materil.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Malang, 27 Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
ABSTRAK	xviii
ABSTRACT	xix
المخلص	xx
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Etnofarmasi	8
2.2 <i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.	10
2.3 Ekstraksi	13
2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	22
2.5 Diare	27
2.6 <i>Escherichia coli</i>	29
2.7 Uji Aktivitas Antibakteri	34
2.8 Analisis Statistika	36
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	40
3.1 Bagan Kerangka Konseptual	40
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	41
3.3 Hipotesa Penelitian	42
BAB IV METODE PENELITIAN	43
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	43
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	43
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	43
4.4 Alat dan Bahan Penelitian	44
4.5 Prosedur Pengumpulan Data	46
4.6 Analisis Statistika	53

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	55
5.1 Determinasi Tumbuhan	59
5.2 Pembuatan Simplisia	59
5.3 Pembuatan Ekstrak	60
5.4 Uji Mikrobiologi terhadap Bakteri Escherichia coli	62
5.5 Uji Kandungan Golongan Senyawa Ekstrak	68
5.6 Analisis Statistika	76
BAB VI PENUTUP	81
6.1 Simpulan	81
6.2 Saran	81
DAFTAR PUSTAKA	82
LAMPIRAN	89



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Konstanta dielektrikum pelarut.....	19
Tabel 5.1	Persentase kadar air serbuk simplisia Buah Jambu Wer	60
Tabel 5.2	Persentase rendemen ekstrak.....	61
Tabel 5.3	Zona hambat ekstrak etanol buah Jambu Wer.....	63
Tabel 5.4	Zona hambat ekstrak kloroform buah Jambu Wer	64
Tabel 5.5	Zona hambat ekstrak etil asetat buah Jambu Wer	64
Tabel 5.6	Zona hambat ekstrak n-heksan buah Jambu Wer.....	65
Tabel 5.7	Zona hambat kloramfenikol	65
Tabel 5.8	Zona hambat DMSO.....	66
Tabel 5.9	Respon hambatan pertumbuhan bakteri <i>E. coli</i>	66
Tabel 5.10	Nilai Rf berbagai ekstrak Jambu Wer dalam uji alkaloid	70
Tabel 5.11	Nilai Rf berbagai ekstrak Jambu Wer dalam uji flavonoid.....	72
Tabel 5.12	Hasil Uji Normalitas.....	77
Tabel 5.13	Hasil Uji Homogenitas	78
Tabel 5.14	Hasil Uji ANOVA	78
Tabel 5.15	Hasil Uji Tukey HSD	79

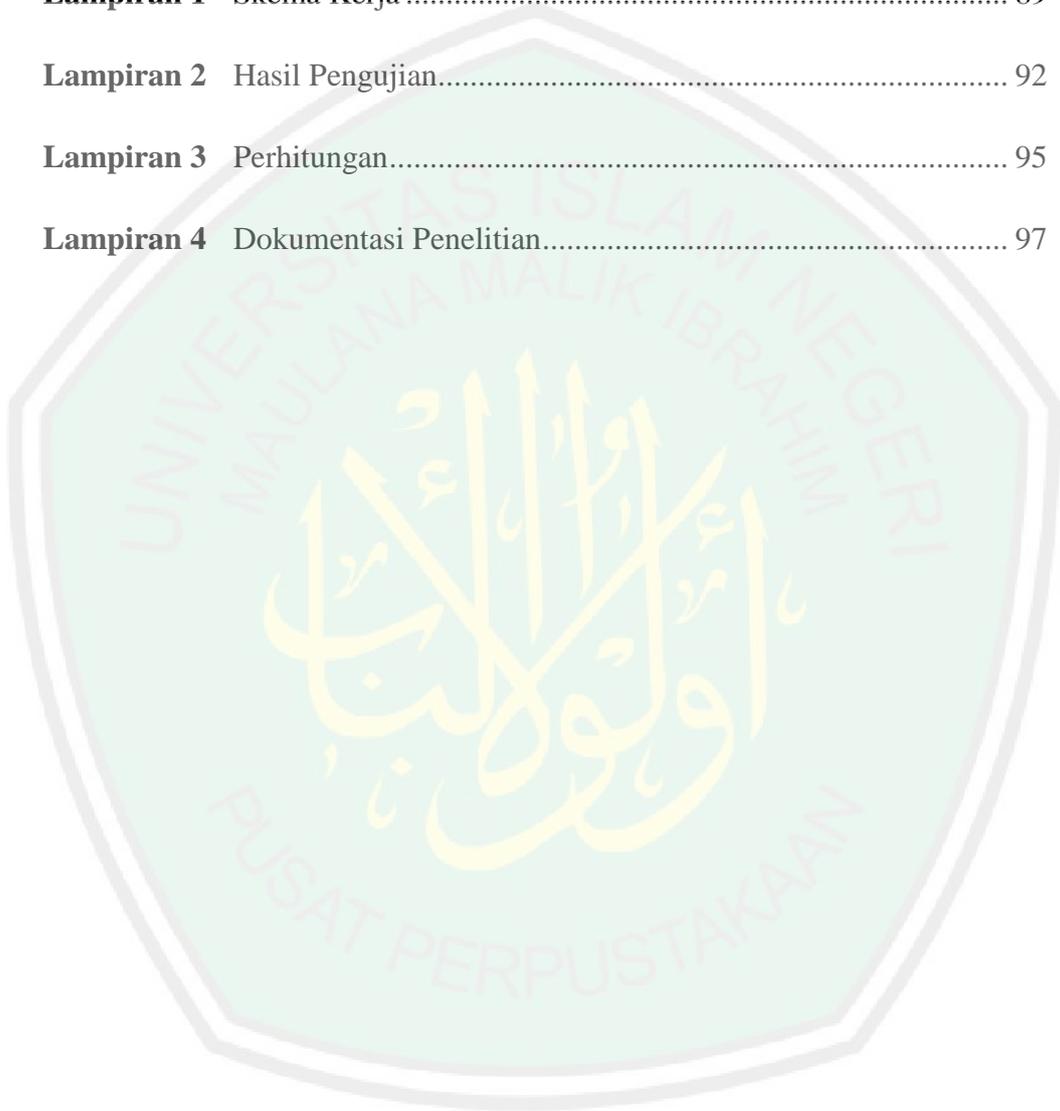
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Grafik Nilai <i>UV</i> dan <i>ICF</i> Jambu Wer.....	11
Gambar 2.2	Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.) muda berumur ±2 minggu.....	12
Gambar 2.3	Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.) matang berumur 1-2 bulan.....	12
Gambar 2.4	Struktur kimia etanol.....	20
Gambar 2.5	Struktur kimia n-Heksan.....	21
Gambar 2.6	Struktur kimia kloroform.....	21
Gambar 2.7	Struktur kimia etil asetat.....	22
Gambar 2.8	Struktur Kimia flavonoid.....	25
Gambar 2.9	Struktur kimia alkaloid.....	26
Gambar 2.10	Struktur kimia polifenol.....	27
Gambar 2.11	<i>E. coli</i> perbesaran 100x menggunakan mikroskop.....	29
Gambar 5.1	Zona hambat ekstrak etanol buah Jambu Wer.....	63
Gambar 5.2	Zona hambat ekstrak kloroform buah Jambu Wer	64
Gambar 5.3	Zona hambat ekstrak etil asetat buah Jambu Wer	64
Gambar 5.4	Zona hambat ekstrak n-Heksan buah Jambu Wer	65
Gambar 5.5	Zona hambat kloramfenikol	65
Gambar 5.6	Zona hambat DMSO.....	66

Gambar 5.7	Uji kandungan golongan senyawa alkaloid berbagai ekstrak Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.). 1 adalah etanol, 2 adalah kloroform, 3 adalah n-Heksan, dan 4 adalah etil asetat.....	71
Gambar 5.8	Uji kandungan golongan senyawa flavonoid berbagai ekstrak Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.). 1 adalah etanol, 2 adalah kloroform, 3 adalah n-Heksan, dan 4 adalah etil asetat.	72
Gambar 5.9	Uji kandungan golongan senyawa polofenol berbagai ekstrak Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.). 1 adalah etanol, 2 adalah kloroform, 3 adalah n-Heksan, dan 4 adalah etil asetat.....	74
Gambar 5.10	. Grafik nilai Rf berbagai ekstrak.....	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema Kerja	89
Lampiran 2	Hasil Pengujian.....	92
Lampiran 3	Perhitungan.....	95
Lampiran 4	Dokumentasi Penelitian.....	97



DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of variance</i>
C	: <i>Celcius</i>
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EAEC	: <i>E. coli</i> Enteroagregatif
EHEK	: <i>E. coli</i> Enterohemoragik
EIEC	: <i>E. coli</i> Enteroinvasif
EPEC	: <i>Escherichia coli</i> Enteropatogenik
ETEC	: <i>Escherichia coli</i> Enterotoksigenik
g	: Gram
ICF	: <i>Informant Concensus Factor</i>
KHM	: Kadar Hambat Minimum
KLT	: Kromatografi lapis tipis
L	: Liter
mg	: miligram
mL	: mililiter
µg	: mikrogram
NA	: <i>Nutrien Agar</i>
nm	: nanometer.
pH	: <i>power of hydrogen</i>

P. persica : *Prunus persica*
SD : Standar deviasi
WHO : World Health Organization



ABSTRAK

Zulkhaq Vadliyanto, Muhammad. 2017. Skrining Aktivitas Antibakteri Berbagai Ekstrak Buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) terhadap *Escherichia coli*. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing: (1) Weka Sidha Bhagawan, M.Farm.,Apt.

(2) Hajar Sugihantor, M.P.H., Apt.

Kata Kunci: Etnofarmasi, Buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*), Diare, Antibakteri, *Escherichia coli*.

Studi etnofarmasi pada Suku Tengger merekomendasikan buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) untuk diteliti khasiatnya secara ilmiah sebagai antidiare dan kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada didalamnya. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, ekstrak kloroform, dan ekstrak n-heksan buah Jambu Wer terhadap bakteri penyebab diare *Escherichia coli*. Pengujian anti bakteri menggunakan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dengan metode difusi sumuran. Hasil yang diperoleh dari berbagai ekstrak menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Masing-masing zona hambat untuk *E. coli* adalah ekstrak etanol: 4,4 mm, ekstrak kloroform: 3,78 mm, ekstrak etil asetat: 4,63 mm, dan ekstrak n-Heksan: 5, 15 mm. Ekstrak n-Heksan memiliki daya hambat terbesar terhadap bakteri *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Zulkhaq Vadliyanto, Muhammad. 2017. Screening of Antibacterial Activities of Various Guava (*Prunus Persica Zieb&Zucc.*) Extracts Against *Escherichia coli*. Thesis. Department Of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Of Malang.

Advisor: (1) Weka Sidha Bhagawan, M.Farm.,Apt.
(2) Hajar Sugihantor, M.P.H., Apt.

Keywords: Ethnopharmaceutical, Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) Fruit, Diarrhea, Antibacterial, *Escherichia coli*.

Ethnopharmaceutical studies on the Tengger Tribe recommends Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) fruit for scientifically researched benefits as antidiarrhoeal and secondary metabolite compounds contained in it. The pupose of this research is to know the activity of etanol extract, ethyl acetate extract, chlorofom extract, and n-hexan of jambu Wer fruit against bacteria that cause diarrhea *Escherichia coli*. For antibacterial testing used Mueller-Hinton Agar (MHA) medium with diffusions method of wells. Results obtained from various extracts showed inhibitory zones against bacteria *Escherichia coli*. Each inhibit zone for *E. coli* is an ethanol extract: 4,4 mm, chloroform extract: 3,78 mm, ethyl acetate extract: 4,63 mm, and n-hexane extract: 5,15 mm. N-hexane extract has te gratest inhibitory effect on bacteria *Escherichia coli*.

ملخص البحث

زولخاق فادليانتو، محمد. 2017. الكشف عن الانشطة المضاد للجراثيم من مقتطفات مختلفة الجوافة وير (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) ضد البكتيريا الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*). البحث العلمي. قسم الصيدلية. كلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج.

المشرف الأول: ويكا سيدها بهغاوان، الماجستير.، المشرف الثاني: حجر سوغيجحتتور، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: إتنوفارماسيو ، الجوافة وير (*Prunus persica Zieb&Zucc.*)، الإسهال، المضاد للجراثيم، البكتيريا الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*).

أن يكون (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) دراسات إتنوفارماسيو على قبيلة تنغر يوصي الجوافة وير علميا التحقيق فوائده كم مضاد الإسهال ومحتوى المركبات الأيضية الثانوية الموجودة فيه. والأهداف من هذا البحث العلمي هي معرفة نشاط مستخلص الإيتانول، ومستخلص أسيتات الإيتيل، ومستخلص كلوفورم، ضد البكتيريا (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) مستخلص ن-هيكسان من الجوافة وير الجوافة وير . الحتبار مضاد للجراثيم باستخدام (*Escherichia coli*) التي تسبب الإسهال البكتيريا الإشريكية القولونية مع طريقة نشر جيد. وظهرت النتائج (*Mueller-Hinton Agar*) وسائل الإعلام مولو هينتون أجار (*Escherichia coli*) التي تم الحصول عليها من مقتطفات مختلفة منطقة تشبيط ضد البكتيريا الإشريكية القولونية هو مستخلص (*Escherichia coli*). وكانت كل منطقة مشبطة للبكتيريا الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) ومستخلص ن-؛ مستخلص إيتيل أسيتات: 63,4 مم; مستخلص الكلوفورم: 78,3 مم; الإيتانول: 4,4 مم هيكسان: 15,5 مم. ومستخلص ن-هيكسان له أكبر تأثير مثبط على البكتيريا الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit diare masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang penting karena merupakan penyumbang utama ketiga angka kesakitan dan kematian anak diberbagai negara termasuk Indonesia. Diperkirakan lebih dari 1,3 miliar serangan dan 3,2 juta kematian per tahun pada balita disebabkan oleh diare. Setiap anak mengalami episode serangan diare rata-rata 3,3 kali setiap tahun. Lebih kurang 80% kematian terjadi pada anak berusia kurang dari dua tahun (Widoyono, 2008).

Diare adalah perubahan frekuensi dan konsistensi tinja (Widoyono, 2008). WHO pada tahun 1984 mendefinisikan diare sebagai berak cair tiga kali atau lebih dalam sehari semalam (24 jam). Etiologi diare ada berbagai macam, salah satunya dapat disebabkan oleh mikroba jenis bakteri yang ada dilingkungan sekitar kita. Diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri seperti *Vibrio*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Aeromonas* dan sebagainya (Kliegman, 2006).

Islam sebagai agama yang sempurna juga memperhatikan masalah kesehatan. Rasulullah S.A.W sebagai sari tauladan yang baik kepada umat manusia, telah memberikan petunjuk melalui sabdanya bahwa setiap penyakit tentulah ada obatnya dan setiap orang yang beriman wajib mempercayainya. Sabda tersebut tercantum dalam hadist berikut:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: Dari Abu Hurairah radliallahu ‘anhu dari Nabu shallallahu ‘alaihi wasallam beliau bersabda: “Allah tidak menurunkan penyakit melainkan menurunkan obatnya juga” (H.R. Bukhari)

Sebagai manusia yang mengimani setiap apa yang diperintahkan Allah dan Rasulnya tentunya dalam sebuah masalah kehidupan khususnya masalah kesehatan selalu merujuk kepada tuntunan Allah dan Rasulnya yang berupa Al-Qur’an dan Hadist. Al-Qur’an sebagai pedoman hidup manusia didalamnya memuat banyak hal dalam kehidupan ini, mulai dari urusan yang kecil hingga dalam pengaturan suatu urusan yang besar, termasuk didalamnya adalah mengenai ilmu pengobatan dan kefarmasian. Menurut Al Biruni, farmasi merupakan suatu seni untuk mengenali jenis, bentuk dan sifat-sifat fisika dari suatu bahan, serta seni mengetahui bagaimana mengolahnya untuk dijadikan sebagai obat (Wasito dan Herawati, 2008).

Ilmu pengetahuan dan teknologi menjadi bagian yang penting bagi umat Islam sebagai pengembangan Al-Qur’an yang memerlukan pengkajian dan pembuktian ilmiah. Dengan mengkaji secara mendalam dan membuktikan secara ilmiah maka kita akan menemukan misteri yang luar biasa dari Al-Qur’an. Seseorang yang mendalami, meneliti dan mengembangkan Al-Qur’an dengan sarana ilmu pengetahuan dan teknologi akan mengakui kebesaran Allah SWT (Wasito dan Herawati, 2008).

Allah SWT telah mengkaruniakan kepada kita kekayaan alam untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya demi kebaikan umat di muka bumi ini. Hal itu tecantum dalam surah Asy-Syuaraa ayat 7 berikut ini:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

(Asy-Syu'araa :7)

Kata *karim* digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Dalam tafsir ini diartikan bahwa tumbuhan yang baik itu paling tidak adalah tumbuhan yang subur dan memiliki manfaat (Shihab, 2002).

Pengaruh lingkungan dalam menimbulkan penyakit pada manusia telah lama disadari. Akan tetapi, tidak dipungkiri juga bahwa peran lingkungan dalam meningkatkan derajat kesehatan sangat besar. Sebagaimana dikemukakan Blum (1974) dalam *planning for health, development and application of social change theory*, bahwa faktor lingkungan berperan sangat besar dalam meningkatkan derajat kesehatan masyarakat. Besarnya peran lingkungan dalam meningkatkan derajat kesehatan tidak lepas dari peranan sumber daya alam seperti tumbuhan, yang terdapat pada lingkungan tersebut.

Indonesia merupakan negara yang memiliki sumber daya alam berupa keanekaragaman hayati yang tinggi. Indonesia merupakan salah satu negara tropis dan termasuk ke dalam delapan negara biodiversity di dunia, memiliki hutan tropika yang kaya akan tumbuhan obat, terdapat 20.000 jenis tumbuhan obat,

1.000 jenis yang sudah didata, dan 300 jenis dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Hal ini membuktikan bahwa di Indonesia masih banyak tumbuhan yang dapat berpotensi sebagai obat. Sampai tahun 2001 Laboratorium Konservasi Tumbuhan Fakultas Kehutanan IPB telah mendata dari berbagai laporan penelitian dan literatur, tidak kurang dari 2039 spesies tumbuhan obat yang berasal dari hutan Indonesia (Zuhud, 2008).

Menyikapi potensi yang dimiliki Indonesia terkait tumbuhan obat, telah banyak dilakukan penelitian-penelitian terhadap tumbuhan seperti penemuan tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Adapun cara yang dapat dilakukan untuk menemukan tumbuhan khasiat obat adalah dengan mengeksplorasi kebudayaan dan pengetahuan komunitas tertentu mengenai pemanfaatan tumbuhan disekitarnya. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk mengeksplorasi dalam hal pemanfaatan tumbuhan obat adalah etnofarmasi (Pieroni *et al.*, 2002).

Etnofarmasi merupakan gabungan disiplin ilmu yang mempelajari tentang hubungan antara kebiasaan kultur dalam suatu kelompok masyarakat ditinjau dari sisi farmasetisnya. Pendekatan tersebut melibatkan faktor-faktor penentu budaya, pengelompokan, identifikasi, klasifikasi, pengkategorian bahan alam yang digunakan sebagai obat tradisional (etnobiologi), persiapan bentuk sediaan farmasi (etnofarmasitika) dan interaksi obat alam dalam tubuh (etnofarmakologi), dan aspek sosial medis dalam masyarakat (etnomedisin) (Pieroni *et al.*, 2002).

Melalui studi etnofarmasi tersebut, Bhagawan (2011) melakukan penelitian pada suku Tengger yang berada di Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang. Hasil dari penelitian tersebut didapat bagian tumbuhan yang berpotensi

sebagai antimikroba penyebab diare adalah buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dengan nilai *use value* 0,61 dan nilai *ICF* (*Informant Concensus Factor*) 0,83. Buah *P.persica* merupakan bagian dari tumbuhan *P. persica* yang merupakan pohon gugur dari family *Rosaceae* dengan ketinggian 5 sampai 10 m (Aziz dan Rehman, 2013). Hasil penelitian Edrah *et al.* (2013) menyebutkan bagian daun tumbuhan *P. persica* memiliki kandungan kimia tannin, phlobatanin, saponin dan falavonoid. Selain itu juga ekstrak bagian kulit *P. persica* memiliki aktivitaas terhadap antibakteri seperti bakteri *E. coli* dan *Stapilococcus aureus* (Aziz dan Rehman, 2013). Hasil penelitian lain, tumbuhan *Pyrus malus* yang berasal dari family yang sama dengan *P. persica*, memiliki kandungan polifenol yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* (Alberto *et al.*, 2006).

Berdasarkan Nilai *use value* dan *ICF* yang tinggi tersebut, serta kemungkinan kemiripan senyawa yang terkandung antara bagian buah *P. persica* dengan bagian *P. persica* lainnya dan beberapa tumbuhan dengan famili yang sama sehingga sangat direkomendasikan untuk dilanjutkan studi aktivitas antidiarenya. Diketahui, belum banyak literatur tentang buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) baik aktivitasnya maupun kandungan senyawa metabolit sekundernya. Walaupun demikian, atas dasar penelitian etnofarmasi yang dilakukan Bhagawan (2011) di suku Tengger, maka penting untuk dilakukan penelitian pendahuluan padapenyarian atau ekstraksi buah Jambu Wer menggunakan berbagai tingkat kepolaran pelarut dengan teknik ekstraksi kombinasi yaitu maserasi-sonikasi, sehingga mendapatkan ekstrak senyawa

metabolit sekunder yang optimal dari buah Jambu Wer dan memberikan aktivitas paling efektif terhadap mikroba (bakteri) penyebab diare.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) memberikan aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli*?
2. Apakah pelarut yang sesuai dalam ekstrak buah Jambu Wer yang memiliki aktivitas tertinggi terhadap bakteri *E. coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas ekstrak etanol, etil asetat, kloroform dan n-heksan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) terhadap bakteri *Escherichia coli*.
2. Mengetahui pelarut yang sesuai dalam ekstrak buah Jambu Wer yang memiliki aktivitas tertinggi terhadap bakteri *E. coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini merupakan pendahuluan atau dasar untuk ditemukannya obat antidiare baru dari bahan alam. Kedepannya diharapkan

mampu tercipta fitofarmaka atau isolat aktif yang dapat digunakan sebagai antidiare.

1.5 Batasan Masalah

- Ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) muda berumur \pm 2 minggu, berasal dari suku Tengger yang berada di Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang dan Kecamatan Poncokusumo Kabupaten Malang Jawa Timur.
- Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah etanol 96%, etil asetat, kloroform, dan n-heksan.
- Uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri ekstrak buah Jambu Wer terhadap bakteri penyebab diare yaitu *Escherichia coli*.
- Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media media *Mueller-Hinton Agar* (MHA).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Etnofarmasi

Tumbuh-tumbuhan yang berada di muka bumi ini diciptakan oleh Allah SWT memiliki beberapa manfaat untuk kemaslahatan makhluk-Nya. Sebagaimana yang telah disebutkan dalam Al-Quran surat Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِيَ
أَنْوَاجًا مِنْ تَنْبَاتٍ شَتَّى

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”. (QS. Thaha:53)

Allah SWT menurunkan air hujan dan menumbuhkan berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam. Lafadz تَنْبَاتٍ شَتَّى memiliki makna yakni tumbuhan yang diciptakan bermacam-macam jenis, bentuk, warna, rasa, dan manfaat (Shihab, 2002).

Sebagian besar peneliti di berbagai negara di dunia menyadari bahwa suku-suku terasing memiliki berbagai kearifan, pengetahuan, dan pengalaman yang bermakna besar bagi manusia dalam masyarakat modern (Bhagawan, 2011). Kedekatan mereka dengan alam, pengetahuan mengenai tumbuhan yang bergizi atau mengandung berbagai zat yang dapat mengobati berbagai penyakit dan keberhasilan masyarakat untuk mempertahankan eksistensinya dari generasi ke

generasi merupakan sesuatu yang mengandung banyak pelajaran bagi manusia dan masyarakat modern (Rosita et al., 2007).

Secara *etnografi* masyarakat Indonesia terdiri dari beberapa ratus suku yang masing masing mempunyai kebudayaan yang berbeda-beda. Hal itu tampak dari bahasa, adat-istiadatnya dan pengetahuan lokal tradisional dalam memanfaatkan tumbuhan obat (Bhagawan, 2011). Pengetahuan tumbuhan obat ini spesifik bagi setiap etnis, sesuai dengan kondisi lingkungan tempat tinggal masing-masing suku atau etnis (Muktiningsih *et al.*, 2001).

Sebagai langkah awal yang sangat membantu untuk mengetahui suatu tumbuhan berkhasiat obat adalah dari pengetahuan masyarakat tradisional secara turun temurun (Dharma, 2001). Salah satu metode pendekatan pengetahuan masyarakat tentang tumbuhan obat ialah Etnofarmasi (Pieroni *et al.*, 2002). Menurut Pieroni *et al.*, (2002), Etnofarmasi adalah sebuah ilmu interdisiplin yang mempelajari tentang bahan-bahan obat, dalam kaitannya dengan penggunaan bahan-bahan obat tersebut sebagai penciri budaya dalam suatu kelompok masyarakat. Etnofarmasi meliputi studi tentang: identifikasi, klasifikasi dan kategorisasi pengetahuan bahan alam yang dimanfaatkan sebagai obat (etnobiologi), preparasi sediaan obat (etnofarmasetika), efek yang diklaim berasal dari sediaan obat tersebut (etnofarmakologi) dan aspek sosial pengobatan yang berpengaruh pada penggunaan sediaan obat tersebut (etnomedisin).

Penelitian dari Etnofarmasi difokuskan pada sebuah komunitas kecil yang terisolasi untuk menemukan kembali “Resep” tradisional dan mencoba mengevaluasinya baik secara biologis maupun secara kultural (Pieroni *et al.*,

2002). Dalam pendekatannya dengan masyarakat, etnofarmasi sama dengan Etnografi yang menjadikan pengamat terlibat dalam kebudayaan yang sedang diteliti (Haviland, 1999). Oleh sebab itu akan didapatkan referensi untuk pengembangan atau penemuan obat baru yang berasal dari komunitas atau etnis tertentu. Pieroni *et al.*, (2002) telah melakukan penelitian mengenai Etnofarmasi pada Etnis Albanian di utara Basilicata Italia dan ditemukan lima puluh empat tumbuhan yang digunakan sebagai obat, dari tumbuhan yang didapatkan terdapat bermacam-macam cara penggunaan dan kegunaannya, sehingga dapat digunakan sebagai referensi obat baru.

Di Indonesia telah dilakukan penelitian pemanfaatan tumbuhan obat oleh suku atau masyarakat lokal. Bhagaawan (2011) melakukan penelitian, didapat 12 tumbuhan terpilih untuk mengobati 8 jenis penyakit yang berpotensi untuk dilakukan penelitian yang lebih mendalam dari Suku Tengger Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang. Salah satu dari 12 spesies tumbuhan tersebut adalah Jambu Wer (*Prunus Persica* Zieb&Zucc.).

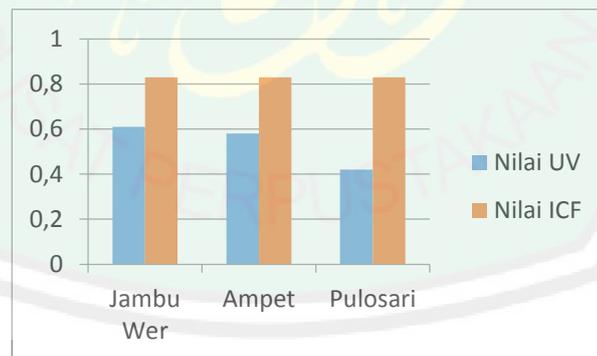
2.2 *Prunus persica* Zieb&Zucc.

P. persica adalah pohon gugur dari family *Rosaceae* dengan ketinggian 5 sampai 10 m dan umumnya dibudidayakan di Asia Barat, Eropa, Himalaya dan India hingga ketinggian 1000 kaki. Ada sekitar 100 marga dan 3.000 spesies dalam keluarga *Rosaceae* (Aziz dan Rehman, 2013). Pada masyarakat suku Tengger tumbuhan *P. persica* disebut dengan Jambu Wer (Pamungkas, 2010).

Berikut merupakan klasifikasi (taksonomi) dari Jambu Wer (van Steenis, 1972) :

Genus : *Prunus*
 Species : *Prunus persica*Zieb&Zucc.
 Divisio : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Subclass : *Rosidae*
 Ordo : *Rosales*
 Family : *Rosaceae*

Bhagawan (2011) menyatakan dalam Studi etnofarmasi yang dilakukan bahwa buah Jambu Wer berpotensi sebagai antimikroba penyebab diare. Hal ini, berdasarkan dari nilai value yang didapat dari Jambu Wer, yakni:



Gambar2.1. Grafik Nilai *UV* dan *ICF* Jambu Wer

Gambar diatas menunjukkan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) untuk pengobatan Diare Nilai *Use Value* 0,61 dan Nilai *Informant Concensus Factor* 0,83.

Buah adalah organ atau bagian pada tumbuhan berbunga yang merupakan perkembangan lanjutan dari bakal buah (*ovarium*). Buah biasanya membungkus dan melindungi biji. Aneka rupa dan bentuk buah tidak terlepas kaitannya dengan fungsi utama buah, yakni sebagai pemencar biji tumbuhan (Campbell *et al.*, 2003). Berikut merupakan gambar buah *P. persica*:



(2.2)



(2.3)

Gambar 2.2. Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) muda berumur ± 2 minggu

Gambar 2.3. Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) matang berumur 1-2 bulan

Hasil penelitian Edrah *et al.* (2013) daun *P. Persica* memiliki kandungan kimia tannin, phlobatanin, saponin dan flavonoid. Selain itu juga ekstrak kulit *Prunus Persica* memiliki aktivitas terhadap antibakteri seperti bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Aziz dan Rehman, 2013).

Manfaat dan kandungan senyawa pada tumbuhan dijelaskan dalam Quran surat Al-An'aam ayat 95.

إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ فَآتَا
تُؤَفِّكُونَ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (Yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?*” (Al-An’aam: 95)

Maksud dari kalimat “*Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup*” adalah hanya Allah yang dapat menciptakan kejadian ini. Hanya Allah yang dapat menyiapkan makhluk hidup untuk mengubah atom-atom mati menjadi sel-sel hidup. Hanya Allah yang mengubah sel-sel hidup sekali lagi menjadi atom-atom mati. Hal itu terjadi dalam siklus yang tidak ada seorang pun mengetahuinya sejak kapan dimulai dan bagaimana bisa terjadi. Sementara yang dapat disimpulkan manusia hanyalah hipotesis teoridan probabilitas semata (Quthb, 2001)

2.3 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan padat yang diperoleh dari menyari zat aktif dari tanaman atau hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai kemudian dilakukan penguapan terhadap pelarut tersebut sedemikian hingga tersisa massa serbuk atau ekstrak sesuai baku yang ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Ekstraksi adalah suatu proses untuk mendapatkan kandungan kimia dari suatu tanaman dan hewan dengan menggunakan pelarut atau penyari yang sesuai. Pelarut yang biasa digunakan adalah air, etanol, atau campuran dari keduanya (Depkes RI, 1995). Secara garis besar ada 2 macam proses ekstraksi yaitu cara dingin dan cara panas.

2.3.1 Cara Dingin

Ekstraksi dengan metode ini memiliki keuntungan yaitu meminimalkan kerusakan kandungan yang bersifat termolabil (Istiqomah, 2013).

a. Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerace* yang berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi adalah salah satu dari metode ekstraksi cara dingin dengan cara merendam simplisia tanaman dengan menggunakan pelarut di dalam wadah tertutup selama kurun waktu tertentu dengan diselingi pengadukan dan dilakukan pada suhu kamar (Istiqomah, 2013).

Prinsip dari metode ini adalah diperolehnya kesetimbangan antara konsentrasi di dalam dan luar sel tanaman sehingga mampu melarutkan atau mengeluarkan konstituen aktif dari dalam sel tanaman melalui mekanisme difusi (Istiqomah, 2013).

Keunggulan dari metode ini adalah pengerjaan yang cukup mudah serta dengan peralatan yang sederhana dan murah, namun metode ini juga memiliki kekurangan yaitu pengerjaannya cukup lama dan membutuhkan banyak pelarut (Istiqomah, 2013).

b. Perkolasi

Perkolasi berasal dari kata *percolare* yang berarti penetesan. Perkolasi merupakan proses penyarian dengan menggunakan prinsip mengalirkan pelarut di dalam benjana *percolator* yang telah berisi serbuk simplisia secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang beratnya 1-5 kali bahan (Istiqomah, 2013).

c. Sonikasi (Ultrasonik)

Ultrasonik merupakan energi yang dihasilkan gelombang suara dengan frekuensi di atas deteksi telinga manusia, yaitu 20 kHz sampai 500 MHz (Thompson & Doraiswamy, 1999 dalam Teddy, 2011). Ultrasonik pada intensitas rendah dan frekuensi tinggi biasanya diaplikasikan untuk evaluasi non-destruktif, sebaliknya pada intensitas tinggi dan frekuensi rendah merupakan jenis ultrasonik untuk aplikasi sonokimia (Thompson & Doraiswamy, 1999 dalam Teddy, 2011). Ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik dapat menyebabkan gangguan fisik pada dinding maupun membran sel biologis serta penurunan ukuran partikel. Efek tersebut menyebabkan penetrasi pelarut lebih baik ke dalam sel dan meningkatkan laju perpindahan massa pada jaringan serta memfasilitasi perpindahan senyawa aktif ke pelarut (Novak *et al.*, 2008 dalam Teddy, 2011).

2.3.2 Cara Panas

a. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada titik didihnya selama beberapa waktu tertentu dan berulang-ulang tanpa mengganti atau menambah pelarut, hal ini bisa dilakukan karena terdapat mekanisme pendinginan balik sehingga pelarut yang menguap akan kembali mengembun dan masuk ke dalam wadah untuk diuapkan lagi (Istiqomah, 2013).

b. Digesti

Merupakan jenis maserasi kinetik (menggunakan pengadukan) namun tidak dilakukan pada suhu ruangan melainkan pada suhu 40-50° C (Istiqomah, 2013).

c. Infusa

Merupakan jenis ekstraksi yang cocok digunakan untuk bahan tanaman yang lunak. Metodenya adalah dengan memanaskan benjana infusa yang berisi air dan simplisia di atas penangas air yang mendidih selama 15 menit (Istiqomah, 2013).

d. Dekokta

Secara prinsip mirip dengan infusa hanya saja waktu yang digunakan untuk menyari lebih lama yaitu 30 menit. Metode ini cocok digunakan untuk simplisia tanaman yang keras seperti akar atau batang tanaman (Istiqomah, 2013).

e. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan suatu metode penyarian cara panas dengan prinsip menyerupai refluks hanya saja dengan menggunakan suatu alat khusus yaitu ekstraktor soxhlet. Metode ini menggunakan suhu yang lebih rendah dibandingkan refluks dan memungkinkan penggunaan pelarut yang lebih sedikit (Istiqomah, 2013).

2.3.3 Kombinasi Teknik Ekstraksi

Kombinasi teknik ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik maserasi dengan sonikasi. Metode ekstraksi yang ditetapkan oleh BPOM

sebagai standar mutu ekstrak tanaman obat dengan menggunakan metode maserasi selama 72 jam tidak efisien dalam waktu ekstraksi. Oleh karena itu, perlu dikembangkan metode ekstraksi lain yang bertujuan menjadikan proses ekstraksi lebih efisien dan mempersingkat waktu ekstraksi, salah satunya adalah ekstraksi sonikasi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik (Melecchi *et al.*, 2006).

Metode ekstraksi maserasi dilakukan selama 24 jam tanpa menggunakan pemanas. Kelebihan metode ini diantaranya sederhana dan bisa menghindari kerusakan komponen senyawa. Kelemahan metode ini ditinjau dari segi waktu dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien karena jumlah pelarut yang digunakan relatif banyak sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama (Meloan, 1999).

Ekstraksi sonikasi merupakan metode non thermal yang digunakan dalam proses peningkatan rendemen ekstraksi dan pengurangan waktu ekstraksi senyawa-senyawa polifenol, antosianin, aromatik, polisakarida, dan senyawa fungsional lainnya (Vilkhu *et al.*, 2006). Metode ini menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 20 kHz (Suslick *et al.*, 1986). Alat yang digunakan pada metode ini disebut dengan sonikator.

Sonikator bersifat non-*destructive* (tidak merusak senyawa akibat panas) sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (McClements, 1995). Menurut Kuldiloke (2002), salah satu manfaat metode ekstraksi sonikasi adalah mempercepat proses ekstraksi. Hal ini dibuktikan dengan penelitian Cameron dan Wang (2006) tentang ekstraksi pati jagung yang menyebutkan

bahwa rendemen pati jagung yang didapat dari proses ekstraksi sonikasi selama 2 menit sebesar 55,2-67,8% hampir sama dengan rendemen yang didapat dari pemanasan dengan air selama 1 jam yaitu 53,4%. Dengan penggunaan metode ekstraksi sonikasi, ekstraksi senyawa organik tanaman dan biji-bijian dapat berlangsung lebih cepat

karena dinding sel bahan dipecah oleh getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat berdifusi dengan mudah (Mason *et al.*, 1996).

Prinsip kerja ekstraksi sonikasi adalah perambatan gelombang ultrasonik dari sumber getaran sonikator dalam medium pelarut secara longitudinal. Gelombang tersebut jika merambat melalui medium cair menyebabkan molekul air mengalami peregangan dan membentuk gelembung-gelembung mikro yang jika terus menerus menerima energi dari gelombang ultrasonik akan pecah sambil melepaskan energi yang besar yang disebut kavitasi. Kavitasi dengan energi besar akan menumbuk dinding sel bahan yang akan diekstrak dan memperbesar diameter pori. Akibat dari pori bahan yang membesar, pelarut akan dengan mudah melarutkan senyawa yang terdapat pada bahan dengan proses difusi (Santos *et al.*, 2009).

2.3.4 Pelarut

Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektrikum dapat dibedakan menjadi dua yaitu pelarut polar dan pelarut non-polar. Konstanta dielektrikum dinyatakan sebagai gaya tolak menolak antara dua partikel yang bermuatan

listrik dalam suatu molekul. Semakin tinggi konstanta dielektrikunya maka pelarut bersifat semakin polar (Sudarmadji *et al.*,1989). Konstanta dielektrikum dari beberapa pelarut yang dapat dilihat pada Tabel 2.1:

Pelarut	Besarnya konstanta
n-heksan	2,0
Etil Asetat	6,0
Khloroform	4,8
Asam asetat	6,2
Benzen	2,3
Etanol	24,3
Metanol	33,1
Air	80,4

Tabel 2.1.Konstanta dielektrikum pelarut

Sumber : Sudarmadji *et al.* (1989)

Ekstraksi dapat menggunakan pelarut tunggal dan pelarut campuran. Pelarut campuran yang biasa digunakan yaitu campuran air dan etanol, campuran air dan metanol, campuran air dan eter. Syarat pelarut yang digunakan pertama harus bersifat selektif artinya pelarut harus dapat melarutkan semua senyawa dengan cepat. Syarat kedua harus mempunyai titik didih yang cukup rendah. Hal ini supaya pelarut mudah dapat diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi, namun titik didih pelarut tidak boleh terlalu rendah karena akan mengakibatkan kehilangan akibat penguapan. Syarat ketiga bersifat *inert* artinya pelarut tidak bereaksi dengan komponen minyak. Syarat keempat carilah pelarut yang murah dan mudah didapatkan (Agoes, 2007). Adapun pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

a. Etanol

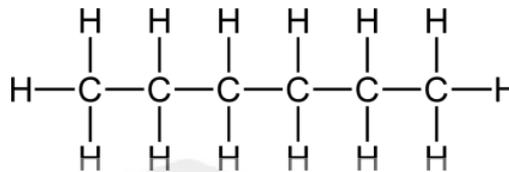
Etanol termasuk dalam alkohol primer, yang berarti bahwa karbon yang berikatan dengan gugus hidroksil paling tidak memiliki dua atom hidrogen yang terikat dengannya juga. Reaksi kimia yang dijalankan oleh etanol kebanyakan berkuat pada gugus hidroksilnya (Lei *et al.*, 2002). Etanol termasuk dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia C_2H_5OH dan rumus empiris C_2H_6O . Etanol merupakan isomer konstitusional dari dimetil eter. Etanol sering disingkat menjadi EtOH, dengan "Et" merupakan singkatan dari gugus etil (C_2H_5) (Lei *et al.*, 2002)



Gambar 2.4. Struktur kimia etanol

b. N-Heksana

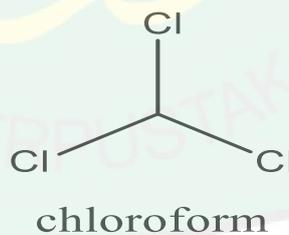
N-Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama n-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$). N-Heksana merupakan jenis pelarut non-polar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010). N-Heksana dapat digunakan untuk mengekstraksi minyak nilam yang dapat digunakan sebagai minyak atsiri (Maulida dan Zulkarnaen, 2010).



Gambar 2.5. Struktur kimia n-Heksan

c. Kloroform

Kloroform adalah nama umum untuk triklorometana (CHCl_3). Kloroform merupakan obat anestetik tertua, berupa cairan dengan bau spesifik, rasanya manis-manisan pedas, tak dapat terbakar atau eksplosif. Khasiat anestetiknya amat kuat. Tetapi karena terlalu toksik bagi hati dan jantung kini kloroform hampir tidak digunakan lagi (Keenan, 1999). Selain itu kloroform juga mudah berubah menjadi fosgen yang sangat toksik yang terjadi di bawah pengaruh cahaya dan oksigen yang terjadi dengan pembentukan dietil karbonat (Riawan, 1990).

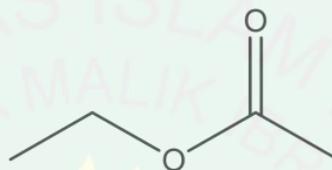


Gambar 2.6. Struktur kimia kloroform

d. Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat diproduksi dalam skala besar

sebagai pelarut. Etil asetat adalah pelarut polar menengah atau semi-polar yang volatil (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat yang juga dikenal dengan nama acetic ether adalah pelarut yang banyak digunakan pada industri cat, thinner, tinta, plastik, farmasi, dan industri kimia organik (Bambang, 2006).



Gambar 2.7. Struktur kimia etil asetat

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gas, logam, atau lapisan yang cocok, campuran yang dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak. Setelah plat atau lapisan diletakkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi). Untuk campuran yang tidak diketahui, lapisan pemisah (sifat penyerap) dan sistem larutan pengembang harus dipilih dengan tepat karena keduanya bekerjasama untuk mencapai pemisahan. Prinsip kerjanya memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut atau eluen yang digunakan. Selain itu hal yang harus diperhatikan adalah memilih kondisi kerja yang

optimum yang meliputi sifat pengembang, atmosfer bejana dan lain-lain(Stahl, 1985). Harga Rf dapat dicari dengan rumus :

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh solute}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

2.4.1 Fase Diam dan Fase Gerak

Fase diam merupakan lapisan penyerap, lapisan dibuat dari salah satu penyerap yang khusus digunakan untuk KLT. Sebelum digunakan, lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas dari uap laboratorium. Penyerap yang umum digunakan adalah silica gel, aluminium oksida, selulosa, dan poliamida. Yang sering digunakan Silica gel(Stahl, 1985).

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Pelarut bergerak dalam fase diam, yaitu satu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, sistem pelarut multi komponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen. Contoh pelarut yang sering digunakan untuk kromatografi lapis tipis adalah n-heksan, heptana, sikloheksana, benzene, kloroform, eter, etil asetat, aseton, etanol, methanol, dan air (Stahl, 1985).

2.4.2 Skrining Fitokimia

Metabolit sekunder dalam tumbuhan dapat dianalisis menggunakan KLT. Disebutkan dalam penelitian Marlina *et al.*, (2005) kromatografi lapis tipis secara

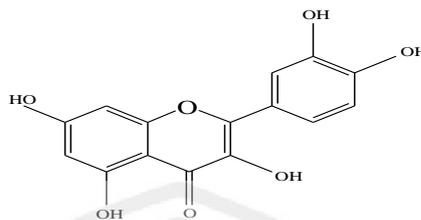
kualitatif juga dapat digunakan untuk analisis senyawa flavonoid, alkaloid dan polifenol.

a. Uji Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil, sehingga flavonoid larut dalam pelarut polar (Harbone, 1996). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga terjadi denaturasi protein. Semakin lipofilik suatu flavonoid, maka kemampuannya dalam merusak dinding sel bakteri semakin kuat. Bagi manusia, flavonoid berguna sebagai antioksidan, antimikroba, antibakteri, antivirus, anti-inflamasi, anti alergi, anti mutagenik, anti klastogenik, anti-platelet, dan lain-lain (Setyawan dan Darusman, 2008).

Pemisahan senyawa flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan cara sederhana untuk pemisahan senyawa flavonoid berdasarkan perbedaan distribusifasa diam dan fasa gerak sehingga akan didapatkan fraksi aktif senyawa flavonoid (Gandjar dan Rohman, 2007).

Eluen-eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa flavonoid adalah butanol-asam asetat-air (3:1:1) (Marliana *et al.*, 2005) menghasilkan bercak biru, metanol-kloroform (1:39) dan (1:9) (Milyasari, 2011) menghasilkan bercak lembayung gelap, fase gerak petroleum eter-etil asetat (5:1) menghasilkan bercak coklat-merah dan fase gerak kloroform-metanol-air (9,7:0,2:0,1) (Fitriyani, 2011) menghasilkan bercak kuning setelah disemprot penampak bercak amonia.



Gambar 2.8. Struktur Kimia flavonoid

b. Uji Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang banyak ditemukan di alam. Senyawa alkaloid banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Achmad, 1986). Alkaloid telah dikenal pemakaiannya dalam bidang farmasi salah satunya sebagai antibakteri, mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun sel peptidoglikan bakteri sehingga dinding sel yang terbentuk tidak utuh sehingga pembentukan sel tidak sempurna (Cowan, 1999)

Pengujian alkaloid dilakukan dengan kromatografi lapis tipis. Alkaloid dapat tertarik pada pelarut etanol karena senyawa alkaloid bersifat polar. Reaksi positif yang terjadi pada uji alkaloid adalah endapan pada pereaksi Mayer (Padmasari *et al.*, 2013). Endapan yang terjadi pada pereaksi Mayer terjadi ikatan kompleks antara kalium dengan alkaloid, pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuri (II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri (II) iodida (Marliana *et al.*, 2005). Prinsip uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi

Dragendorff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarenakan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Sirait, 2007).



Gambar 2.9. Struktur kimia alkaloid

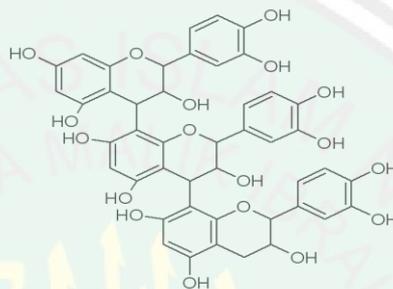
c. Uji Polifenol

Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yaitu memiliki banyak gugus phenol dalam molekulnya. Polifenol sering terdapat dalam bentuk glikosida polar dan mudah larut dalam pelarut polar (Hosttetmanet *al.*, 1985).

Polifenol banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran serta biji-bijian polifenol memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen (Cowan, 1999). Polifenol juga memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri misalnya *Staphylococcus aureus*, *E coli* (Cowan, 1999). Mekanisme toksisitas polifenol terhadap mikroba terkait dengan penghambatan hidrolitik enzim (*protease* dan *carbohydrolases*) atau interaksi untuk menonaktifkan adhesins mikroba, sel transport protein, interaksi non spesifik dengan karbohidrat (Cowan, 1999).

Uji kromatografi lapis tipis untuk mengidentifikasi senyawa tannin dengan mereaksikan ekstrak yang telah ditambah NaCl 10% dengan FeCl₃. Tanin termasuk dalam golongan fenolik yang mengandung kerangka cincin aromatik yang

mengandung gugus hidroksil (-OH). Perubahan warna terjadi ketika penambahan FeCl_3 yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin, penambahan FeCl_3 pada ekstrak ujimenghasilkan warna hijau kehitamanyang menunjukkan mengandung senyawa polifenol (Dewi *et al.*, 2013).



Gambar 2.10. Struktur kimia polifenol

2.5 Diare

Menurut *World Health Organization* (WHO), penyakit diare adalah suatu penyakit yang ditandai dengan perubahan bentuk dan konsistensi tinja yang lembek sampai mencair dan bertambahnya frekuensi buang air besar yang lebih dari biasa, yaitu 3 kali atau lebih dalam sehari yang mungkin dapat disertai dengan muntah atau tinja yang berdarah. Penyakit ini paling sering dijumpai pada anak balita, terutama pada 3 tahun pertama kehidupan, dimana seorang anak bisa mengalami 1-3 episode diare berat (Simatupang, 2004).

Di Bagian Ilmu Kesehatan Anak FKUI, diare diartikan sebagai buang air besar yang tidak normal atau bentuk tinja yang encer dengan frekuensi lebih banyak dari biasanya. Neonatus dinyatakan diare bila frekuensi buang air besar sudah lebih dari 4 kali, sedangkan untuk bayi berumur lebih dari 1 bulan dan anak, frekuensinya lebih dari 3 kali (Simatupang, 2004).

2.5.1 Klasifikasi Diare

Menurut WHO (2005) diare dapat diklasifikasikan kepada:

1. Diare akut, yaitu diare yang berlangsung kurang dari 14 hari.
2. Disentri, yaitu diare yang disertai dengan darah.
3. Diare persisten, yaitu diare yang berlangsung lebih dari 14 hari.
4. Diare yang disertai dengan malnutrisi berat (Simatupang, 2004).

Menurut Ahlquist dan Camilleri (2005), diare dibagi menjadi akut apabila kurang dari 2 minggu, persisten jika berlangsung selama 2-4 minggu, dan kronik jika berlangsung lebih dari 4 minggu. Lebih dari 90% penyebab diare akut adalah agen penyebab infeksi dan akan disertai dengan muntah, demam dan nyeri pada abdomen. 10% lagi disebabkan oleh pengobatan, intoksikasi, iskemia dan kondisi lain. Berbeda dengan diare akut, penyebab diare yang kronik lazim disebabkan oleh penyebab non infeksi seperti alergi dan lain-lain.

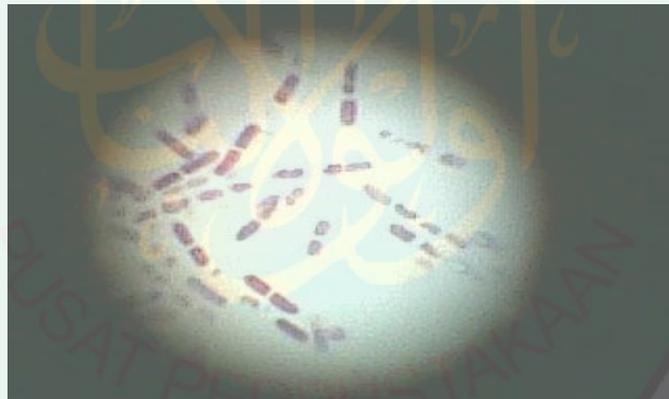
2.5.2 Etiologi Diare

Lebih dari 90% kasus diare akut adalah disebabkan oleh agen infeksius (Ahlquist dan Camilleri, 2005). Diare dapat disebabkan oleh infeksi virus seperti Enterovirus (Virus ECHO, *Coxsackie*, *Poliomyelitis*), Adenovirus, Rotavirus, Astrovirus dan lain-lain; infeksi bakteri seperti *Vibrio*, *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Aeromonas* dan sebagainya; infeksi parasit seperti cacing (*Ascaris*, *Trichiuris*), (*Strongyloides*), Protozoa (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Trichomonas hominis*), jamur (*Candida albicans*) (Kliegman, 2006).

Diare dapat juga disebabkan oleh intoleransi laktosa, alergi protein susu sapi namun tetap sebagian besar diare disebabkan oleh infeksi. Di Indonesia, penyebab utama diare adalah *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli*, dan *Entamoeba histolytica* (Depkes RI, 2000).

2.6 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Brooks *et al.*, 2007).



Gambar 2.11. *E. coli* perbesaran 100x menggunakan mikroskop

2.6.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi (taksonomi) *E. coli* menurut (Brooks *et al.*, 2007) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Prokaryotae
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria

Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

2.6.2 Manfaat dan Patogenesitas

E. coli adalah anggota flora normal usus. *E. coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *E. coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral. Di dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Jawetz *et al.*, 1995).

E. coli menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *E. coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Jawetz *et al.*, 1995).

Manifestasi klinik infeksi oleh *E. coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Jawetz *et al.*, 1995). Penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* yaitu :

1. Infeksi saluran kemih

Escherichia coli merupakan penyebab infeksi saluran kemih pada kira-kira 90 % wanita muda. Gejala dan tandanya antara lain sering kencing, disuria, hematuria, dan piuria. Nyeri pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas.

2. Diare

Escherichia coli yang menyebabkan diare banyak ditemukan di seluruh dunia. *E. coli* diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensinya, dan setiap kelompok menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda. Ada lima kelompok galur *E. coli* yang patogen, yaitu:

a. *E. coli* Enteropatogenik (EPEC)

Jenis ini merupakan penyebab utama diare pada bayi. EPEC memiliki fimbria, toksin yang tahan terhadap panas (ST), dan toksin yang tidak tahan panas (LT), serta menggunakan *adhesin*, yang dikenal dengan *intimin*, untuk melekat pada sel mukosa usus. Infeksi EPEC mengakibatkan diare berair yang biasanya dapat sembuh sendiri, tetapi ada juga yang menjadi kronik. Lama diare yang disebabkan oleh EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik. EPEC penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC sebelumnya dikaitkan dengan wabah diare pada anak-anak di negara maju. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil.

b. *E. coli* Enterotoksigenik (ETEC)

Penyebab yang sering dari “diare wisatawan” dan sangat penting menyebabkan diare pada bayi di Negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil. Lumen usus terengang oleh cairan dan mengakibatkan hipermotilitas serta diare, dan berlangsung selama beberapa hari. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotosin tidak tahan panas. Profilaksis antimikroba dapat efektif tetapi bisa menimbulkan peningkatan resistensi antibiotik pada bakteri, mungkin sebaiknya tidak dianjurkan secara umum. Ketika timbul diare, pemberian antibiotic dapat secara efektif mempersingkat lamanya penyakit. Diare tanpa disertai demam ini terjadi pada manusia, babi, domba, kambing, kuda, anjing, dan sapi. ETEC menggunakan fimbrial adhesi (penonjolan dari dinding sel bakteri) untuk mengikat sel – sel enterosit di usus halus. ETEC dapat memproduksi 2 proteinous enterotoksin: dua protein yang lebih besar, LT enterotoksin sama pada struktur dan fungsi toksin kolera hanya lebih kecil, ST enterotoksin menyebabkan akumulasi cGMP pada sel target dan elektrolit dan cairan sekresi berikutnya ke lumen usus. ETEC strains tidak invasive dan tidak tinggal pada lumen usus.

c. *E. coli* Enteroinvasif (EIEC).

Mekanisme patogenik EIEC mirip dengan patogenesis infeksi yang disebabkan oleh *Shigella*. EIEC masuk dan berkembang dalam epitel sel-sel kolon sehingga menyebabkan kerusakan pada sel kolon. Gejala klinis yang ditimbulkan oleh infeksi EIEC mirip dengan gejala diare yang disebabkan oleh *Shigella*. Gejala diare biasanya disertai dengan demam. EIEC menimbulkan

penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit yang paling sering pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju negara tersebut. Galur EIEC bersifat non-laktosa atau melakukan fermentasi laktosa dengan lambat serta bersifat tidak dapat bergerak. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus.

d. *E. coli* Enterohemoragik (EHEK)

Jenis bakteri ini menghasilkan suatu toksin yang dikenal dengan verotoksin. Nama verotoksin sesuai dengan efek sitotoksik toksin ini pada sel *vero*, yaitu sel ginjal yang diperoleh dari ginjal monyet afrika (*African green monkey*). EHEK dapat menyebabkan kolitis berdarah (yakni diare berat yang disertai pendarahan) dan sindrom uremik hemolitik (yakni gagal ginjal akut yang disertai anemia hemolitik mikroangiopatik dan trombositopenia). Banyak kasus kolitik berdarah dan komplikasinya dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang sebelum dikonsumsi.

e. *E. coli* Enteroagregatif (EAEC)

Bakteri ini menimbulkan diare akut dan kronis dan merupakan penyebab utama diare pada masyarakat di negara berkembang. EAEC melekat pada sel manusia dengan pola khas dan menyebabkan diare yang tidak berdarah, tidak menginvasi, dan tidak menyebabkan inflamasi pada mukosa intestin. EAEC diperkirakan memproduksi EAST (*entero aggregative ST toksin*), yang merupakan suatu enterotoksin yang tidak tahan panas. Di samping itu, EAEC juga memproduksi hemolisin yang diperkirakan mirip dengan hemolisin yang diproduksi oleh galur *E.coli* yang dapat menginfeksi saluran kemih. Peranan

toksinn dan hemolisin dalam virulensi EAEC belum diketahui dengan jelas. Demikian juga, peranan galur EAEC sebagai penyebab penyakit pada manusia masih kontroversi.

3. Sepsis

Bila pertahanan inang normal tidak mencukupi, *Escherichia coli* dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan sepsis.

4. Meningitis

Escherichia coli dan *Streptokokus* adalah penyebab utama meningitis pada bayi. *E. coli* merupakan penyebab pada sekitar 40% kasus meningitis neonatal (Jawetz *et al.*, 1995).

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode pengenceran (dilusi) atau metode perembesan (difusi) (Jawetz *et al.*, 2005).

2.7.1 Metode Dilusi

a. Dilusi Tabung

Metode dilusi menggunakan satu set tabung reaksi yang diisi dengan media cair dan sejumlah mikroba. Lalu masing-masing tabung diuji dengan zat antimikroba yang telah diencerkan. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu kurang lebih 36° C selama 18-24 jam, kemudian diamati koloni bakteri yang berkembang. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat

minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari suatu zat (Jawetz *et al.*, 2005).

KHM ditentukan dari konsentrasi terendah zat yang menunjukkan hasil biakan mulai tampak jernih. Sedangkan KBM ditentukan dari konsentrasi terendah dari zat yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri dalam tabung dibuktikan dengan penampakan tabung yang jernih. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan adalah 10^5 - 10^8 CFU/mL (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Dilusi Agar

Metode ini dilakukan dengan menggunakan agar padat. Caranya dengan mencampurkan zat antimikroba dengan agar yang masih cair dan tidak terlalu panas sampai homogen kemudian dibiarkan sampai campuran tersebut memadat. Bakteri yang akan diuji dioleskan di atas media tersebut. Syarat jumlah bakteri adalah 10^5 - 10^8 CFU/mL, setelah itu diinkubasi pada suhu 35° C selama 24 jam. Interpretasinya adalah konsentrasi terendah yang mengandung kurang dari tiga koloni disebut sebagai KHM (Jawetz *et al.*, 2005).

2.7.2 Metode Difusi

a. Difusi Cakram

Merupakan salah satu metode uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan. Prinsip metode ini adalah zat antibakteri dari cakram akan berpindah ke dalam media agar melalui mekanisme perembesan atau difusi sehingga menghasilkan area hambatan yang bebas dari koloni bakteri. Semakin bagus aktivitas antibakterinya maka semakin besar pula area hambatannya (Pratiwi, 2009).

Metodenya adalah dengan meratakan bakteri pada permukaan agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama semalaman. Cakram yang sudah diberi zat uji diletakkan di atas media agar lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama sehari. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 10⁵-10⁸ CFU/mL (Pratiwi, 2009).

b. Difusi Epsilometer Test (E-Test)

Metode ini menggunakan satu set strip plastik yang sudah diberi agen antimikroba dari konsentrasi terendah hingga tinggi, kemudian diletakkan diatas media agar yang sudah ditanami bakteri lalu diinkubasi. Interpretasinya adalah diukur area jernih pada media agar yang menunjukkan adanya daya hambat bakteri pada media agar. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 10⁵-10⁸ CFU/mL (Pratiwi, 2009).

c. Difusi Sumuran

Metode Ini diawali dengan membuat sumur (lubang) secara membujur pada media agar, kemudian zat antimikroba diletakkan pada sumur tersebut. Bakteri uji dioleskan kearah sumur (lubang) yang sudah berisi agen antimikroba. Syarat jumlah bakteri untuk metode ini adalah 10⁵-10⁸ CFU/mL (Pratiwi, 2009).

2.8 Analisis Statistik

Analisis varians (*analysis of variance*, ANOVA) adalah suatu metode analisis statistika yang termasuk ke dalam cabang statistika inferensi. Dalam literatur Indonesia metode ini dikenal dengan berbagai nama lain, seperti analisis ragam, sidik ragam, dan analisis variansi. Ia merupakan pengembangan dari

masalah Behrens-Fisher, sehingga uji-F juga dipakai dalam pengambilan keputusan. Analisis varians pertama kali diperkenalkan oleh Sir Ronald Fisher, bapak statistika modern. Dalam praktik, analisis varians dapat merupakan uji hipotesis (lebih sering dipakai) maupun pendugaan (*estimation*, khususnya di bidang genetika terapan). Analisis of variance atau ANOVA merupakan salah satu teknik analisis multivariate yang berfungsi untuk membedakan rerata lebih dari dua kelompok data dengan cara membandingkan variansinya (Ghozali, 2009).

Uji Anova sering pula disebut uji F. Uji Anova ini merupakan salah satu uji statistik parametrik. Beberapa persyaratan yang harus dipenuhi dalam melakukan uji Anova adalah sebagai berikut (Ghozali, 2009):

- a. Sampel diambil secara acak dari masing-masing populasi.
- b. Jika sampel mendapat perlakuan yang berbeda, maka penetapan jenis perlakuan dilakukan dengan cara randomisasi.
- c. Populasi-populasi asal sampel mempunyai distribusi normal.
- d. Setiap populasi mempunyai varian sama.
- e. Data yang diambil dalam skala data ratio atau interval.

Jenis uji anova yang digunakan pada penelitian ini adalah anova Satu Jalur (*One Way Anova*). Analisis varians satu jalur merupakan teknik statistika parametrik yang digunakan untuk pengujian perbedaan beberapa kelompok rata-rata, di mana hanya terdapat satu variabel bebas atau independen yang dibagi dalam beberapa kelompok dan satu variabel terikat atau dependen. Analisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) satu jalur, digunakan untuk membandingkan 3 atau lebih rata-rata, ANOVA dapat digunakan untuk

memisahkan variasi apapun yang disebabkan oleh perubahan faktor yang dikendalikan dari variasi yang disebabkan oleh kesalahan random (Rohman, 2014). Dalam teknik Anova satu jalur biasanya digunakan dalam penelitian eksperimen atau pun *Ex-Post-Facto* (Widiyanto, 2013). Asumsi yang digunakan adalah :

- Sampel diambil dari distribusi normal, sehingga sampel juga berdistribusi normal. Kenormalan ini dapat diatasi dengan memperbesar jumlah sampel.
- Masing-masing kelompok mempunyai variabel yang sama.
- Sampel diambil secara acak.

Hipotesis dalam ANOVA akan membandingkan rata-rata dari beberapa populasi yang diwakili oleh beberapa kelompok sampel secara bersama, sehingga hipotesis matematikanya adalah (Widiyanto, 2013) :

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 \dots = \mu_k$$

- Seluruh mean populasi adalah sama
- Tak ada efek treatment (tak ada keragaman mean dalam grup)

H_1 : tidak seluruh mean populasi adalah sama

- Minimal ada 1 mean populasi yang berbeda
- Terdapat sebuah efek treatment
- Tidak seluruh mean populasi berbeda (beberapa pasang mungkin sama)

Bunyi hipotesis alternatif seperti tersebut diatas, merupakan hipotesis yang fleksibel, karena tidak menyebutkan secara pasti μ mana yang berbeda dengan yang lainnya. Hal ini mempunyai arti bahwa μ mana yang tidak sama bukan merupakan masalah dalam penolakan hipotesis nol.

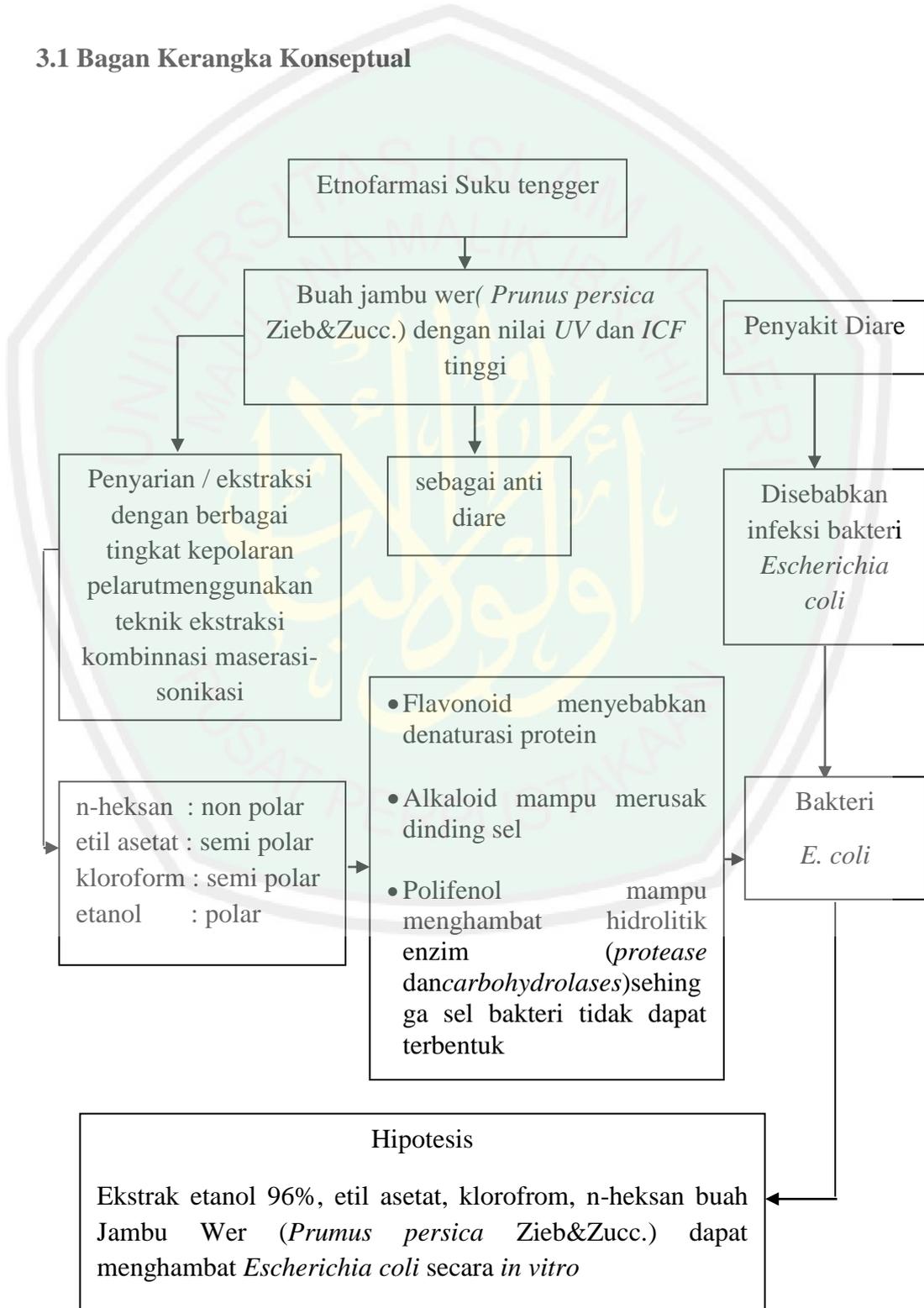
H_0 pada One Way ANOVA adalah tidak ada perbedaan signifikan rata-rata sampel yang ada. Bila H_0 ditolak, maka analisisnya belum selesai sehingga perlu analisis lanjutan. Analisis lanjutan setelah ANOVA sering disebut Post Hoc atau pasca-ANOVA, salah satu uji yang bisa digunakan adalah Tukey (HSD : Honestly Significant Difference), uji ini disebut uji beda nyata yang merupakan perbaikan dari LSD karena uji ini untuk membandingkan mean tanpa perencanaan terlebih dahulu. Uji Tukey digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan lainnya (Kusriningrum, 2010).



BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi dan memiliki hutan tropika yang kaya akan tanaman obat. Penelitian dan penemuan tanaman obat dilakukan dengan mengeksplorasi kebudayaan dan pengetahuan komunitas tertentu mengenai pemanfaatan tumbuhan disekitarnya. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk mengeksplorasi dalam hal pemanfaatan tumbuhan obat adalah etnofarmasi. Etnofarmasi merupakan gabungan disiplin ilmu yang mempelajari tentang hubungan antara kebiasaan kultur dalam suatu kelompok masyarakat ditinjau dari sisi farmasetisnya.

Studi etnofarmasi pada suku Tengger yang berada di Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang mendapatkan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) sebagai anti diare dengan nilai *use value* 0,61 dan nilai *ICF* (*Informant Concensus Factor*) 0,83. Akan tetapi belum banyak diteliti kandungan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan tersebut.

Sebagai penelitian pendahuluan dilakukan penyarian atau ekstraksi dengan berbagai tingkat kepolaran pelarut hingga senyawa metabolit sekunder dapat tersari sepenuhnya. Pelarut yang digunakan adalah pelarut non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), semi polar (kloroform), dan polar (etanol). Metode ekstraksi menggunakan ekstraksi maserasi dengan kombinasi gelombang ultrasonik.

Selanjutnya dilakukan uji fitokimia menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) secara kualitatif untuk menguji adanya alkaloid, flavonoid dan

polifenol Ketiga golongan senyawa tersebut telah terbukti sebagai antibakteri. Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga terjadi denaturasi protein (Sjahid, 2008). Selain flavonoid, golongan senyawa yang berguna sebagai antibakteri adalah polifenol. Golongan senyawa polifenol mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan penghambatan hidrolitik enzim (*protease* dan *carbohydrolases*) sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Cowan, 1999). Alkaloid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun sel peptidoglikan bakteri sehingga dinding sel yang terbentuk tidak utuh selanjutnya pembentukan sel tidak sempurna (Cowan, 1999).

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas daya hambat ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat, ekstrak kloroform dan ekstrak etanol buah Jambu Wer terhadap bakteri penyebab diare yaitu *E. coli* secara *in vitro*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol 96%, etil asetat, kloroform, n-heksan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zcc.) dapat menghambat *Escherichia coli* secara *in vitro*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental post test control design*, yang bertujuan untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri dari empat macam ekstrak buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dengan pelarut yang berbeda terhadap bakteri penyebab diare.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini direncanakan akan berlangsung dalam pada bulan April sampai dengan Mei 2017, bertempat di:

- a. Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- b. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Negeri Malang.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini dibagi menjadi dua, yaitu variabel bebas dan variabel terikat.

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah empat macam ekstrak buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dengan pelarut yang berbeda.

b. Variable terikat

Variable terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat empat macam ekstrak buah Jambu Wer dengan pelarut yang berbeda terhadap bakteri *Escherichia coli*.

c. Definisi Operasional

- Studi etnofarmasi pada suku Tengger yang berada di Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang mendapatkan hasil buah Jambu Wer sebagai anti diare.
- Buah Jambu Wer yang digunakan adalah buah muda berumur ± 2 minggu.
- Ekstrak buah Jambu Wer: berupa cairan yang kental, diperoleh dari cara maserasi dengan pelarut yang kemudian diRotavapor.
- Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), semi polar (kloroform), dan polar (etanol).
- Uji aktivitas dilakukan secara *in vitro* terhadap salah satu bakteri penyebab diare yaitu *E. coli*.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ose kolong, kapas lidi, kertas saring, tabung reaksi, erlenmayer, cawan petri, lampu spiritus, thermometer, mikro pipet, *Petry disc*, pipet ukur, rak tabung, penjepit, beaker

glass, *Ultrasonicator*, *Autoclave* (Memert), corong *Buchner*, *Rotary evaporator* (IKA), oven (Memert), incubator, alat timbang, kertas perkamen, *siever* No. 125, *blender*, *moisture content analyzer* (Mettler Toledo).

4.4.2 Bahan

a. Bahan Tumbuhan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah Jambu Wer yang diperoleh dari suku Tengger yang berada di Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang dan Kecamatan Poncokusumo Kabupaten Malang Provinsi Jawa Timur. Bahan Kimia dan Bahan lain

b. Bahan penyari

- Etanol 96% *pharmaceutical grade*.
- Etil Asetat *pharmaceutical grade*.
- Kloroform *pharmaceutical grade*.
- N-heksan *pharmaceutical grade*.

c. Bahan uji aktivitas bakteri:

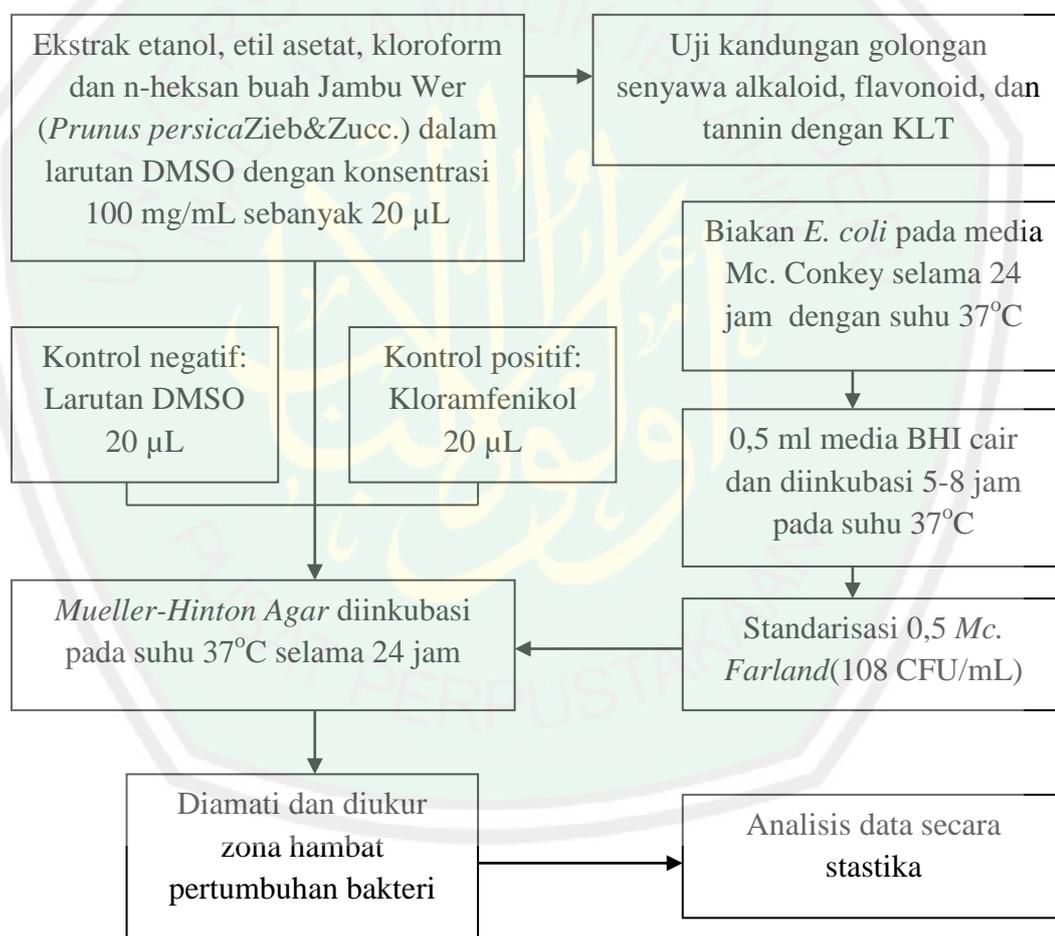
- Media: *Mc. Conkey Agar*, *Mueller-Hinton Agar* (MHA), dan *Brain Heart Infusion* (BHI) broth.
- *Standart Mc. Farland* $0,5(10^8)$
- Aqudest steril
- Kaldu pepton NaCl fisiologis
- Antibiotik Kloramfenikol $20\mu\text{g}$
- DMSO 0,5% (*Dimethyl sulfoxide*)

d. Biakan bakteri:

Bakteri *E. coli* ATCC 11229 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas NegeriMalang.

4.5 Prosedur Pengumpulan Data

4.5.1 Skema Kerja



4.5.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan menggunakan buku acuan *Flora of Java*, karangan C.A Backer dan R.C. Bakhuizen van de Brink jr (1963), untuk mendapat kepastian bahwa tanaman yang digunakan adalah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.).

4.5.3 Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah bagian buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.). Buah Jambu Wer kemudian dicuci, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 100°C selama \pm 5 jam. Selanjutnya buah diblender hingga terbentuk serbuk, diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh agar diperoleh serbuk yang kecil-kecil dan seragam. Serbuk halus yang diperoleh dianalisis kadar airnya, dan selanjutnya diekstraksi.

4.5.4 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.)

Analisis kadar air dalam serbuk simplisia digunakan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Serbuk simplisia diukur kadar airnya menggunakan *Moisture Analyzer*. Setelah alat *Moisture Analyzer* dinyalakan dan layar menunjukkan tampilan 0,000 g, penutup alat dibuka dan *sample pan* kosong dimasukkan ke dalam *sample pan handler*. Penutup alat diturunkan dan secara otomatis alat akan menara atau

menunjukkan tampilan 0,000 pada layar. Kemudian sejumlah $\pm 0,500$ gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam *sample pan* dan penutup alat diturunkan. Secara otomatis, alat akan memulai pengukuran hingga terbaca hasil pengukuran %MC pada layar.

Untuk proses ini kadar air yang dimiliki dalam simplisia harus di bawah 10% (Menteri Kesehatan RI, 1994). Proses di atas dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

4.5.5 Ekstraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.)

Teknik yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah teknik ekstraksi kombinasi maserasi dengan sonikasi. Tujuannya adalah untuk menyari atau mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dengan optimal dengan waktu yang cepat. Pembuatan ekstrak dimulai dengan metode maserasi dengan berbagai tingkat kepolaran pelarut mulai dari pelarut polar sampai non polar selama 24 jam. Pelarut yang dipilih adalah pelarut non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), semi polar (kloroform), polar (etanol). Metode maserasi ini dipilih karena cara pengerjaan yang digunakan sederhana dan alat yang digunakan mudah untuk diusahakan, serta tidak perlu pengawasan intensif. Sedangkan pemilihan berbagai pelarut dengan tingkat kepolaran bertujuan untuk mendapatkan pelarut yang tepat untuk menyari atau mengekstraksi buah Jambu Wer.

Kemudian dilanjutkan dengan sonikasi dengan merendam larutan selama 20 menit di dalam sonikator (Handayani *et al.*, 2016). Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring Wattman no 1. Setelah selesai diekstraksi, filtrat

ekstrak kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat.

4.5.6 Pembuatan stok ekstraksi

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO dengan tujuan agar ekstrak dapat terdistribusi dengan rata pada pelarutnya. Masing-masing ekstrak dilarutkan dengan larutan DMSO dengan konsentrasi 100mg/mL.

4.5.7 Uji Kualitatif Kandungan Golongan Senyawa Ekstrak

Uji kandungan golongan senyawa ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. KLT adalah metode pemisahan fitokimia. Prinsip kerjanya memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut atau eluen yang digunakan.

Data yang diperoleh dari KLT adalah nilai Rf yang berguna untuk identifikasi senyawa. Nilai Rf dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal. Oleh karena itu bilangan Rf selalu lebih kecil dari 1,0. Harga Rf dapat dicari dengan rumus :

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh solute}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

a. Uji Alkaloid

Ekstrak ditambah NH₄OH pekat 28% sampai larutan menjadi basa, kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform (dalam tabung reaksi). Filtrat (Fase

CHCl₃) di upayakan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol (1 mL) dan siap untuk pemeriksaan dengan KLT. Fase diam yang digunakan adalah Kiesel gel GF254, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah CHCl₃ – Etil asetat (1:1). Selanjutnya, direndam pada penampak noda yaitu Pereaksi Dragendorf. Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak.

b. Uji Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dengan n-heksan, residu yang dihasilkan ditambahkan sedikit etanol, lalu ditotolkan pada fase diam. Uji kromatografi lapis tipis ini menggunakan fase diam yaitu lapisan tipis selulosa (di ganti KieselGel254) sedangkan fase gerak yaitu Kloroform:Aseton:Asam formiat(6:6:1). Selanjutnya, direndam pada penampak noda yaitu Pereaksi sitrat borat atau Uap amonia atau Asamsulfat10%. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning intensif.

c. Uji Polifenol

Sebanyak 0,3 gram ekstrak ditambah 10 mL aquadest panas, diaduk dan di biarkan sampai temperatur kamar, lalu tambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk dan di saring. Filtrat di gunakan untuk pemeriksaan dengan KLT. Fase diam yang digunakan adalah Kiesel Gel 254 sedangkan fase gerak adalah Kloroform-Etil esetat-Asam formiat (0,5:9:0,5). Jika timbul warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam sampel.

4.5.8 Uji Mikrobiologi

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat gelas, cawan petri, dan ose yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan, selanjutnya dibungkus dengan kain dan disterilkan dengan oven pada suhu 160-180° C selama 1 jam. Bahan-bahan yang akan digunakan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121° C selama 20 menit.

b. Pembiakan bakteri

Mikroorganisme yang digunakan adalah bakteri Gram positif yaitu *Escherichia coli* ATCC 11229. bakteri dipelihara pada Biakan *E. coli* pada media *Mc. Conkey* selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Untuk pembuatan suspensi bakteri dengan menggunakan media BHI cair dengan cara mengambil satu ose bakteri dari media *Mc. Conkey* kemudian ditanam pada 0,5 mL media BHI cair kemudian diinkubasi selama 5 jam pada suhu 37°C pada tabung reaksi. Ambil beberapa ose bakteri *E. coli* yang ditanam pada BHI cair lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian meneteskan larutan NaCl fisiologis sampai dengan mencapai standarisasi 0,5 *Mc. Farland* (108 CFU/mL).

c. Uji aktivitas antibakteri

- Persiapan kontrol positif dan control negatif

Untuk kontrol positif penelitian ini digunakan kloramfenikol 20 µg, sedangkan untuk kontrol negatif pada penelitian adalah larutan DMSO 20 µL.

- Pembuatan *Mueller-Hinton Agar* (MHA)

Timbang 3,8 gram *Muller Hinton Agar* (38 gr/L) dengan komposisi medium (*Beef Infusion* 300 gr, *Casamino acid* 17,5 gr, Agar 17 gr) kemudian

dilarutkan dalam 100 ml aquades. Panaskan hingga mendidih, sterilkan selama 15 menit di autoklaf dengan tekanan udara 1 atm dan suhu 121°C (Dewi, 2010).

- **Persiapan Sumuran**

Pembuatan sumuran dilakukan dengan meletakkan pipet steril pada cawan petri steril dengan menggunakan pinset sebelum agar dan bakteri dimasukkan. Setelah agar dan bakteri dimasukkan, ditunggu sampai memadat. Ketika agar sudah memadat dan pipet yang telah kita taruh pada cawan kita angkat menggunakan pinset steril sehingga membentuk suatu sumuran dan diberikan label (Dewi, 2010).

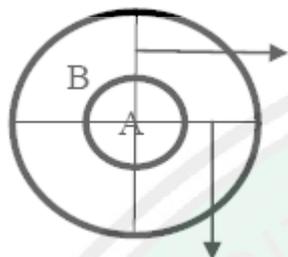
- **Uji aktivitas anti bakteri**

Untuk pengujian antibakteri disini media yang digunakan yaitu media *Mueller-Hinton Agar* (MHA). Bakteri yang telah distandarisasi 0,5 Mc. Farland (10^8 CFU/mL) masing-masing dioleskan dan diratakan pada media *Muller Hinton*. Kemudian pada masing-masing cawan petri yang berisikan (MHA) ditetesi dengan 20 µL stok ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, ekstrak klorofom, dan ekstrak n-heksan serta diberikan kontrol positif kloramfenikol 20 µg dan negatif larutan DMSO 20 µL pada masing-masing sumuran dalam cawan petri menggunakan mikro pipet. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dengan menggunakan penggaris satuan mm.

- **Pengukuran Zona Hambat**

Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dalam mm dengan cara mengukur zona hambat vertikal dan zona hambat horizontal yang

ditambahkan dan dibagi 2. Perhitungan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 cm.



Ket = A = lubang sumuran

B = zona hambat

a = D.vertikal

b = D.horizontal

perhitungan = $a+b:2$

4.6 Analisis Statistika

Analisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) satu jalan, digunakan untuk membandingkan 3 atau lebih rata-rata, ANOVA dapat digunakan untuk memisahkan variasi apapun yang disebabkan oleh perubahan faktor yang dikendalikan dari variasi yang disebabkan oleh kesalahan random (Rohman, 2014). Kemudian bila terjadi perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (*Tukey test*) untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan lainnya (Kusriningrum, 2010). Perangkat lunak yang digunakan untuk analisis data adalah *Statistical Program for Social Science* (SPSS).

Pengujian analisa data dilakukan pada ekstrak n-heksan, kloform, ertil astat, dan etanol buah Jambu Wer (*Prunus persica* (L) Batsch) terhadap daya hambat bakteri *Esecherichia coli*.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua yang terjadi di muka bumi ini tidak lepas dari kekuasaan Allah, termasuk dengan segala ciptaannya yang memberikan manfaat bagi umat manusia. Allah telah mengingatkan akan kesempurnaan kekuasaan-Nya dalam menciptakan segala perkara dengan berbeda dan variatif dari bahan yang satu, yaitu air yang diturunkan dari langit. Air hujan dapat mengeluarkan buah-buahan yang beraneka macam jenisnya (Ar-rifa'i, 1999). Hal ini sebagaimana firman Allah:

اللَّهُ الَّذِي خَلَقَ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضَ وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَ بِهِ مِنَ الثَّمَرَاتِ رِزْقًا لَكُمْ
وَسَخَّرَ لَكُمْ الْفُلُوكَ لِتَجْرِيَ فِي الْبَحْرِ بِأَمْرِهِ وَسَخَّرَ لَكُمْ الْأنْهَارَ

Artinya: "Allah-lah yang telah menciptakan langit dan bumi dan menurunkan air hujan dari langit, kemudian Dia mengeluarkan dengan air hujan itu berbagai buah-buahan menjadi rezeki untukmu; dan Dia telah menundukkan bahtera bagimu supaya bahtera itu, berlayar di lautan dengan kehendak-Nya, dan Dia telah menundukkan (pula) bagimu sungai-sungai" (Ibrahim:32)

Allah SWT telah mengkaruniakan kepada kita kekayaan alam untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya demi kebaikan umat di muka bumi ini. Disisi lain, manusia juga diberikan akal untuk selalu mengkaji dan mempelajari sehingga bisa mempelajari, memahami dan menerapkan ayat-ayat Allah. Hal tersebut sebagaimana firman Allah SWT berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَرُكُوعًا

وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi serta silih bergantinya siang dan malam terdapat tanda-tanda bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi seraya berkata: ‘Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka’*”. (Q.S. Ali Imran: 190-191).

Dalam ayat 190 menjelaskan bahwa sesungguhnya dalam tatanan langit dan bumi serta keindahan perkiraan dan keajaiban ciptaan-Nya juga dalam silih bergantinya siang dan malam secara teratur sepanjang tahun yang dapat kita rasakan langsung pengaruhnya pada tubuh kita dan cara berpikir kita karena pengaruh panas matahari, dinginnya malam, dan pengaruhnya yang ada pada dunia flora dan fauna merupakan tanda dan bukti yang menunjukkan keesaan Allah, kesempurnaan pengetahuan dan kekuasaan-Nya. Silih bergantinya malam dan siang, besar pengaruhnya atas hidup kita dan segala yang bernyawa. Kadang-kadang malam terasa panjang dan sebaliknya. Musim pun silih berganti, musim dingin, panas, gugur, dan semi. Demikian juga hujan dan panas. Semua ini menjadi tanda-tanda kebesaran dan keagungan Allah bagi orang yang berpikir. Bahwa tidaklah semuanya terjadi dengan sendirinya. Pasti ada yang menciptakan yaitu Allah SWT.

Pada ayat 191 mendefinisikan orang-orang yang mendalam pemahamannya dan berpikir tajam (Ulul Albab), yaitu orang yang berakal, orang-orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah, hidayah, dan menggambarkan keagungan Allah. Ia selalu mengingat Allah (berdzikir) di setiap waktu dan keadaan, baik di waktu ia berdiri, duduk atau berbaring. Jadi dijelaskan dalam ayat ini bahwa ulul albab yaitu orang-orang baik lelaki maupun perempuan yang terus menerus mengingat Allah dengan ucapan atau hati dalam seluruh situasi dan kondisi.

Keterangan diatas dapat disimpulkan bahwa objek dzikir adalah Allah, sedangkan objek pikir adalah makhluk-makhluk Allah berupa fenomena alam. Hal ini berarti pengenalan kepada Allah lebih banyak didasarkan kepada kalbu, sedang pengenalan alam raya oleh penggunaan akal, yakni berpikir. Akal memiliki kebebasan seluas-luasnya untuk memikirkan fenomena alam, tetapi ia memiliki keterbatasan dalam memikirkan Dzat Allah. Hal tersebut berarti sesudah dzikir dan pikir, yang dilakukan yaitu tawakkal dan ridha, berserah dan mengakui kelemahan diri. Karena, makin bertambah tinggi ilmu seseorang, seyogyanya bertambah pula dia mengingat Allah. Sebagai tanda pengakuan atas kelemahan diri itu, dihadapan kebesaran Tuhan.

Pada QS. Ali-Imran ayat 190-191 di dalamnya memiliki kandungan hukum yaitu Allah mewajibkan kepada umatnya untuk menuntut ilmu dan memerintahkan untuk mempergunakan pikiran kita untuk merenungkan alam, langit dan bumi (yakni memahami ketetapan-ketetapan yang menunjukkan kepada kebesaran Al-Khaliq, pengetahuan) serta pergantian siang dan malam. Yang

demikian ini menjadi tanda-tanda bagi orang yang berpikir, bahwa semua ini tidaklah terjadi dengan sendirinya. Kemudian dari hasil berpikir tersebut, manusia hendaknya merenungkan dan menganalisa semua yang ada di alam semesta ini, sehingga akan tercipta ilmu pengetahuan.

Ilmu pengetahuan dan teknologi menjadi bagian yang penting bagi umat Islam sebagai pengembangan Al-Qur'an yang memerlukan pengkajian dan pembuktian ilmiah. Dengan mengkaji secara mendalam dan membuktikan secara ilmiah maka kita akan menemukan misteri yang luar biasa dari Al-Qur'an. Seseorang yang mendalami, meneliti dan mengembangkan Al-Qur'an dengan sarana ilmu pengetahuan dan teknologi akan mengakui kebesaran Allah SWT.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri berbagai ekstrak buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *E. coli* adalah salah satu bakteri penyebab diare yang sering terjadi di masyarakat. Jambu Wer adalah buah endemik suku Tengger yang telah lama digunakan sebagai obat antidiare.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah Jambu Wer muda. Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yakni determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak menggunakan teknik remaserasi yang dikombinasikan dengan sonikasi, uji mikrobiologi, dan selanjutnya dilakukan pengujian kandungan senyawa dari berbagai ekstrak buah Jambu Wer.

5.1 Determinasi Tumbuhan

Berdasarkan disertasi yang dilakukan oleh Batoro (2012) di wilayah Bromo Tengger Semeru terhadap masyarakat suku Tengger, tumbuhan Jambu Wer memiliki nama ilmiah *Prunus persica* Zieb&Zucc. dengan klasifikasi (Taksonomi) sebagai berikut (van Steenis, 2008):

Genus	: <i>Prunus</i>
Species	: <i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Rosales</i>

5.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia meliputi pencucian, pengeringan, dan penyerbukan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian buah Jambu Wer muda yang berumur \pm 2 minggu sebanyak 4 kg. Sampel yang telah terkumpul dicuci dengan air untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada buah. Kemudian buah tersebut dicincang atau dipotong menjadi bagian kecil. Selanjutnya potongan buah dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 70°C selama 5 hari. Simplisia yang telah kering disortasi kembali dari kotoran-kotoran yang tertinggal yang kemudian diblender menjadi serbuk halus dan didapat serbuk simplisia kering buah jambu Wer sebanyak 900 gram.

Serbuk simplisia kering kemudian diuji kadar kandungan airnya untuk mengetahui kandungan air di dalam bahan. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan instrumen *Moisture Analyzer* yang diulang sebanyak 3 kali. Hasil yang didapatkan adalah sebagai berikut:

Uji Kadar Air	Persentase (%)
Uji 1	7,28 %
Uji 2	3,04 %
Uji 3	2,56 %
Rata-rata	4,29 %

Tabel 5.1. Persentase kadar air serbuk simplisia Buah Jambu Wer

Hasil rerata uji kadar air dari 3 kali pengulangan adalah 4,29 %. Berdasarkan hasil yang didapatkan, persentase kadar air serbuk simplisia buah Jambu Wer tidak melebihi batas maksimal persentase kadar air simplisia yang ditetapkan Menteri Kesehatan (1994) yaitu 10%. Hasil uji kadar air juga memenuhi persyaratan yang ditetapkan BPOM yakni dibawah atau sama dengan 10% (BPOM, 2014).

5.3 Pembuatan Ekstrak

Teknik ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik remaserasi yang dikombinai dengan sonikasi. Tujuan dari kombaini teknik remaserasi dengan sonikasi adalah untuk mengoptimalkan proses penyarian senyawa metabolit sekunder dari serbuk simplisia buah Jambu Wer dengan dengan berbagai macam pelarut. Pelarut yang dipilih adalah pelarut non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat), semi polar (kloroform), polar (etanol).

Ekstraksi dilakukan selama 3 hari dan mendapatkan hasil yang berbeda dari berbagai pelarut yang digunakan. Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut:

Jenis Ekstrak	Berat Simplisia serbuk	Berat Ekstrak	Rendemen
Ekstrak Etanol	100 gram	16,6 gram	16,6 %
Ekstrak Kloroform	100 gram	5,8 gram	5,8 %
Ekstrak Etil Asetat	100 gram	5,3 gram	5,3 %
Ekstrak n-Heksan	100 gram	2,2 gram	2,2 %

Tabel 5.2. Persentase rendemen ekstrak

Serbuk simplisia buah Jambu Wer sebanyak 100 gram, diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96 % menghasilkan ekstrak hijau pekat kental dan menghasilkan rendemen 16,6 %. Serbuk simplisia buah Jambu Wer sebanyak 100 gram, diekstraksi menggunakan pelarut kloroform menghasilkan ekstrak hijau pekat kental dan menghasilkan rendemen 5,8 %. Serbuk simplisia buah Jambu Wer sebanyak 100 gram, diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak hijau pekat kental dan menghasilkan rendemen 5,3 %. Serbuk simplisia buah Jambu Wer sebanyak 100 gram, diekstraksi menggunakan pelarut n-Heksan menghasilkan ekstrak hijau muda kental dan menghasilkan rendemen 2,2 %.

Rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) minyak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Rendemen menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai minyak asiri yang dihasilkan semakin banyak. Rendemen merujuk pada jumlah produk reaksi yang dihasilkan pada reaksi kimia (Vogel, 1996).

5.4 Uji Mikrobiologi terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Uji mikrobiologi yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri berbagai ekstrak buah Jambu Wer (*P. persica* Zieb&Zucc.) terhadap bakteri *E. coli*. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran yang direplikasi sebanyak 3 kali dan proses ini berlangsung selama 1 x 24 jam. Terdapat dua kontrol yang digunakan untuk membandingkan hasil uji aktivitas antibakteri berbagai ekstrak buah Jambu Wer. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif yang merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme-organisme aerobik dan anaerobik Gram positif maupun Gram negatif. Pelarut DMSO digunakan sebagai kontrol negatif yang merupakan pelarut yang cepat meresap di dalam epitel ekstrak tanpa merusak sel-sel tersebut. DMSO adalah salah satu pelarut organik paling kuat yang dapat melarutkan berbagai bahan organik dan polimer secara efektif (Gaylord Chemical Company, 2007).

Hasil uji mikrobiologi didapatkan dengan mengukur diameter zona hambat. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong pada zona bening sebagai tanda zona hambat bakteri. Kemudian dihitung rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri dari berbagai ekstrak antibakteri Jambu Wer dari 3 kali replikasi dan dihitung standar deviasinya. Standar Deviasi merupakan cerminan dari rata-rata penyimpangan data dari *mean*. SD dapat menggambarkan seberapa jauh bervariasi data. Jika nilai SD jauh lebih besar dibandingkan nilai *mean*, maka nilai *mean* merupakan representasi yang buruk dari keseluruhan data.

Sedangkan jika nilai SD sangat kecil dibandingkan nilai *mean*, maka nilai *mean* dapat digunakan sebagai representasi dari keseluruhan data. Jadi dapat dikatakan bahwa Standar deviasi adalah sebuah ukuran penyebaran yang menunjukkan standar penyimpangan atau deviasi data terhadap penyimpangan rata-ratanya (Pangestu, 2008).

Menurut Lathifah (2008) tentang kategori penghambatan antibakteri berdasarkan zona bening yaitu zona bening dengan diameter <5 mm dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-20 mm dikategorikan kuat, sedangkan zona bening dengan diameter >20 mm dikategorikan sangat kuat.

Hasil uji mikrobiologi untuk mengetahui aktivitas antibakteri berbagai ekstrak Jambu Wer terhadap *E. coli* adalah sebagai berikut:

A. Ekstrak Etanol



Gambar 5.1. Zona hambat ekstrak etanol buah Jambu Wer

Tabel 5.3. Zona hambat ekstrak etanol buah Jambu Wer

Ekstrak Etanol	Zona Hambat
Replikasi 1	3,85 mm
Replikasi 2	4,15 mm
Replikasi 3	5,20 mm
Rata-rata ± SD	4,4 mm ± 0,71

B. Ekstrak Kloroform



Gambar 5.2. Zona hambat ekstrak kloroform buah Jambu Wer

Tabel 5.4. Zona hambat ekstrak kloroform buah Jambu Wer

Ekstrak Kloroform	Zona Hambat
Replikasi 1	4 mm
Replikasi 2	3,80 mm
Replikasi 3	3,55 mm
Rata-rata \pm SD	3,78 mm \pm 0,23

C. Ekstrak Etil Asetat



Gambar 5.3. Zona hambat ekstrak etil asetat buah Jambu Wer

Tabel 5.5. Zona hambat ekstrak etil asetat buah Jambu Wer

Ekstrak Etil Asetat	Zona Hambat
Replikasi 1	4,50 mm
Replikasi 2	4,85 mm
Replikasi 3	4,55 mm
Rata-rata \pm SD	4,63 mm \pm 0,19

D. Ekstrak n-Heksan



Gambar 5.4. Zona hambat ekstrak n-Heksan buah Jambu Wer

Tabel 5.6. Zona hambat ekstrak n-Heksan buah Jambu Wer

Kloramfenikol	Zona Hambat
Replikasi 1	15,15 mm
Replikasi 2	14 mm
Replikasi 3	16,20 mm
Rata-rata \pm SD	15,11 mm \pm 1,10

E. Kontrol Positif (Kloramfenikol)



Gambar 5.5. Zona hambat kloramfenikol

Tabel 5.7. Zona hambat kloramfenikol

Ekstrak n-Heksan	Zona Hambat
Replikasi 1	5,25 mm
Replikasi 2	5,15 mm
Replikasi 3	5,05 mm
Rata-rata \pm SD	5,15 mm \pm 0,38

F. Kontrol Negatif (DMSO)



Gambar 5.6. Zona hambat DMSO

Tabel 5.8. Zona hambat DMSO

DMSO	Zona Hambat
Replikasi 1	-
Replikasi 2	-
Replikasi 3	-
Rata-rata \pm SD	-

Berdasarkan rerata pengukuran zona hambat pada uji aktivitas antibakteri berbagai ekstrak Jambu Wer terhadap *E. coli* yang dikaitkan dengan kategori penghambatan antibakteri maka didapatkan hasil sebagai berikut:

Perlakuan	Rata-rata (mm)	Respon
Ekstrak Etanol	4,4 mm	Lemah
Ekstrak Kloroform	3,78 mm	Lemah
Ekstrak Etil Asetat	4,63 mm	Lemah
Ekstrak n-Heksan	5,15 mm	Sedang
Kontrol Positif (Kloramfenikol)	15,11 mm	Kuat
Kontrol Negatif (DMSO)	-	-

Tabel 5.9. Respon hambatan pertumbuhan bakteri *E. coli*

Perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol buah Jambu Wer mendapatkan hasil rerata 4,4 mm yang menunjukkan respon lemah terhadap

penghambatan bakteri *E. coli*. Perlakuan dengan menggunakan ekstrak kloroform buah Jambu Wer mendapatkan hasil rerata 3,78 mm yang menunjukkan respon lemah terhadap penghambatan bakteri *E. coli*. Perlakuan dengan menggunakan ekstrak etil asetat buah Jambu Wer mendapatkan hasil rerata 4,63 mm yang menunjukkan respon lemah terhadap penghambatan bakteri *E. coli*. Perlakuan dengan menggunakan ekstrak n-Heksan buah Jambu Wer mendapatkan hasil rerata 5,15 mm yang menunjukkan respon sedang terhadap penghambatan bakteri *E. coli*. Perlakuan dengan menggunakan kontrol positif kloramfenikol mendapatkan hasil rerata 15,11 mm yang menunjukkan respon kuat terhadap penghambatan bakteri *E. coli*. Perlakuan dengan menggunakan kontrol negatif DMSO tidak menunjukkan respon terhadap penghambatan bakteri *E. coli*.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Dian *et al.*, (2016) mengatakan bahwa ekstrak n-Heksan, kloroform dan etil asetat daun *Annona mucirata.L* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dengan zona hambat berturut-turut 3,52 mm, 8,34 mm dan 3 mm, sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Made (2015) mengatakan bahwa ekstrak etanol daun *Annona mucirata.L* tidak memberikan aktivitas antibakteri. Hasil berbeda didapat dari penelitian oleh Nitria *et al.*, (2009) yang menyebutkan bahwa ekstrak n-Heksan buah *Acrhras zapota.L* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dengan zona hambat 5,62 mm. Perbedaan yang didapatkan dari setiap penelitian atau uji antibakteri bisa disebabkan beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri tersebut. Faktor tersebut adalah pH, suhu stabilitas senyawa tersebut, jumlah bakteri yang ada, lamanya inkubasi, dan aktivitas metabolisme bakteri (Madigan, 2005).

Menurut Jawet *et al.*, (1976), jika suatu zat antibakteri hanya bersifat bakteriostatik atau hanya mampu menghambat maka ketika diinkubasi lebih lama maka bakteri mempunyai kesempatan untuk terus bertumbuh secara perlahan atau antibakteri bakteriostatik bekerja dengan cara menghambat perbanyakan populasi bakteri dan tidak mematikan, namun jika zat yang terkandung didalamnya bersifat bakterisidal atau membunuh bakteri maka pertumbuhan bakteri akan terhenti. Beberapa antibakteri yang bersifat bakteriostatik dapat berubah menjadi bakterisidal jika digunakan dengan konsentrasi tinggi dan diinkubasi lebih lama. pada umumnya tumbuhan obat memiliki kedua sifat ini (Darwis, 1992).

5.5 Uji Kandungan Golongan Senyawa Ekstrak

Tujuan dilakukannya uji kandungan golongan senyawa untuk mengetahui kandungan senyawa golongan berbagai ekstrak buah Jambu Wer (*P. persica Zieb&Zucc.*). Uji kandungan golongan senyawa disebut uji fitokimia dilakukan untuk menguji adanya alkaloid, flavonoid dan polifenol dalam ekstrak. Senyawa tersebut bertanggung jawab atas penghambatan pertumbuhan bakteri dan kematian bakteri (Sjahid, 2008). Uji fitokimia untuk tanaman obat sangat diperlukan, biasanya uji tersebut digunakan untuk merujuk pada senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan yang tidak digunakan atau dibutuhkan pada fungsi normal tubuh. Namun memiliki efek yang menguntungkan bagi kesehatan atau memiliki peranan aktif bagi pencegahan penyakit (Sudarma, 2010).

Pengujian kandungan golongan senyawa dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) secara kualitatif. Pada dasarnya KLT adalah metode pemisahan senyawa dengan menggunakan fase diam dan fase gerak. Prinsip kerjanya yaitu memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut atau eluen yang digunakan. Selain itu hal yang harus diperhatikan adalah memilih kondisi kerja yang optimum yang meliputi sifat pengembang, atmosfer bejana dan lain-lain (Stahl, 1985). Data yang didapat dari KLT berupa nilai R_f diperoleh dari jarak penotolan dengan noda yang tampak, untuk menampakkan noda pada plat KLT biasanya menggunakan reagen penampak noda tertentu sesuai dengan identifikasi senyawa yang diharapkan dan juga menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Pada pengujian ini golongan senyawa yang diidentifikasi adalah alkaloid, flavonoid, dan polifenol (Marliana *et al.*, 2005).

5.5.1 Uji Alkaloid

Pengujian alkaloid bertujuan untuk mengetahui keberadaan golongan senyawa alkaloid di dalam ekstrak. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang banyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Achmad, 1986). Alkaloid telah dikenal pemakaiannya dalam bidang farmasi salah satunya sebagai antibakteri, mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun sel

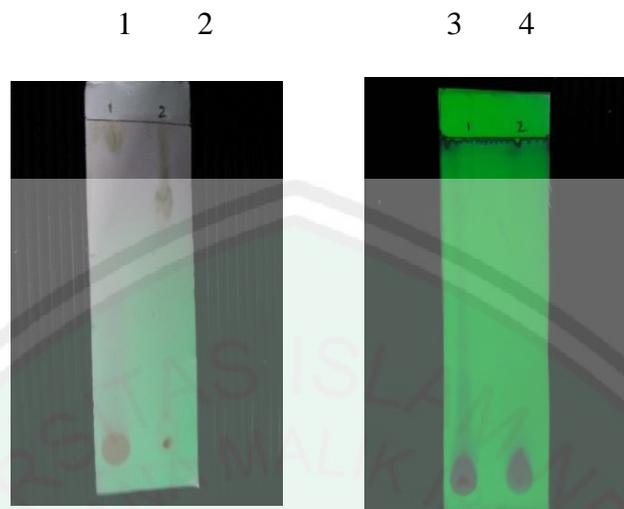
peptidoglikan bakteri sehingga dinding sel yang terbentuk tidak utuh sehingga pembentukan sel tidak sempurna (Cowan, 1999).

Uji alkaloid dilakukan pada semua ekstrak. Pada uji alkaloid masing-masing ekstrak dilarutkan dengan dengan NH_4OH pekat 28 % supaya ekstrak bersifat basa setelah larut diekstraksi kembali dengan penambahan kloroform sebanyak 5 ml dan selanjutnya didiamkan sampai mendapatkan residu. Selanjutnya residu tersebut dilarutkan dengan metanol hingga larut. Kemudian sampel ditotolkan pada plat yang merupakan fase diam, fase diam yang digunakan adalah kiesel gel GF254 dan penotolan dibuat dengan jarak 8 cm antara titik penotolan dengan tanda batas kemudian dielusi dengan eluen yang merupakan campuran kloroform dan etil asetat dengan perbandingan 1:1 dan didiamkan hingga jenuh, kemudian setelah plat dielusi disemprot dengan penampak noda H_2SO_4 10% kemudian diamati pada pancaran sinar UV dengan panjang 254, jika dalam pengamatan tampak noda berwarna jingga maka menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid di dalam ekstrak.

Hasil pengujian alkaloid pada keempat ekstrak menunjukkan hasil yang beragam. Kandungan senyawa golongan alkaloid pada penilitan ini terdapat dalam ekstrak etanol, kloroform, dan n-Heksan karena tampak adanya noda jingga pada pengujian ekstrak tersebut. Adapun nilai Rf yang didapat adalah sebagai berikut:

No	Ekstrak	Hasil	Nilai Rf
1	Etanol	+	0,8125
2	Kloroform	+	0,9357
3	n-Heksan	+	0,875
4	Etil Asetat	-	-

Tabel 5.10. Nilai Rf berbagai ekstrak Jambu Wer dalam uji alkaloid



Gambar 5.7. Uji kandungan golongan senyawa alkaloid berbagai ekstrak Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.). 1 adalah etanol, 2 adalah kloroform, 3 adalah n-Heksan, dan 4 adalah etil asetat.

5.5.2 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa golongan flavonoid pada berbagai ekstrak buah Jambu Wer. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga terjadi denaturasi protein pada bakteri. Kemungkinan lain adalah flavonoid berperan secara langsung dengan mengganggu fungsi sel mikroorganisme dan penghambatan siklus sel mikroba (Cowan, 1999).

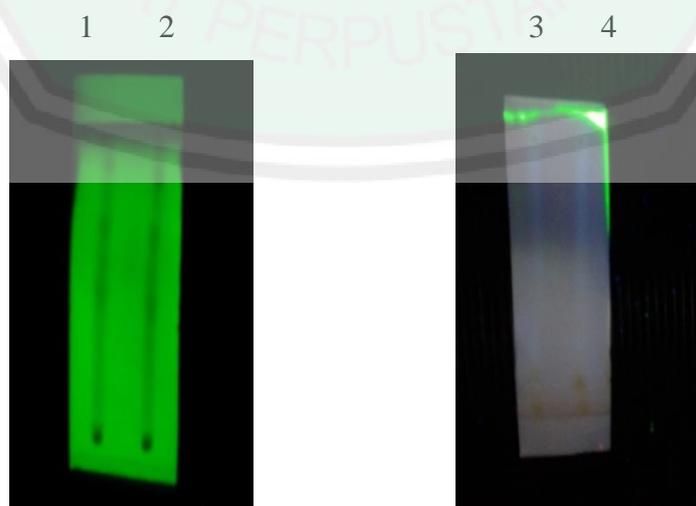
Perlakuan yang dilakukan pada uji flavonoid adalah masing-masing ekstrak dilarutkan dengan n-heksan yang kemudian membentuk dua fase yaitu fase cair dan residu, setelah itu diambil residu larutan n-heksan tersebut kemudian dilarutkan kembali menggunakan etanol dan kemudian ditotolkan pada plat kiesel gel GF254. Penotolan dibuat dengan jarak 8 cm antara titik penotolan dengan

tanda batas. Setelah ditotolkan plat dielusi dengan campuran kloroform, aseton dan asam formiat dengan perbandingan masing-masing 6:6:1, selanjutnya plat di semprot dengan penampak noda H_2SO_4 10 % dan diamatai pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Jika tampak noda berwarna kuning maka menunjukkan ekstrak mengandung senyawa golongan flavonoid.

Hasil pengujian flavonoid adalah keempat ekstrak yang diduga mengandung senyawa flavonoid adalah ekstrak etanol 96%, ekstrak kloroform dan ekstrak etil asetat. Hal ini ditunjukkan pada pengamatan di bawah sinar UV terdapat bercak noda dan setelah pemberian penampak noda tampak noda berwarna kuning yang menandakan adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak dari noda yang tampak didapatkan nilai Rf sebagai berikut:

No	Ekstrak	Hasil	Nilai Rf
1	Etanol	+	0,9357
2	Kloroform	+	0,9357
3	n-Heksan	-	-
4	Etil Asetat	+	0,3125

Tabel 5.11. Nilai Rf berbagai ekstrak Jambu Wer dalam uji flavonoid



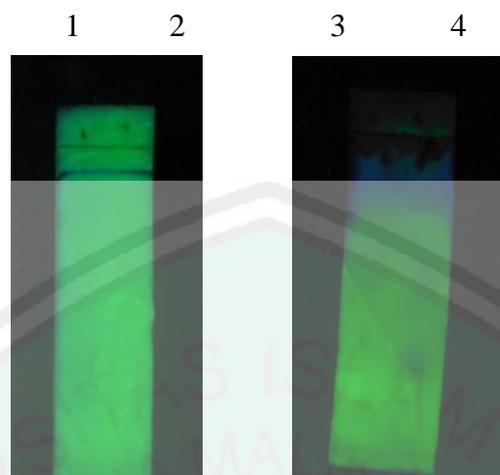
Gambar 5.8. Uji kandungan golongan senyawa flavonoid berbagai ekstrak Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.). 1 adalah etanol, 2 adalah kloroform, 3 adalah n-Heksan, dan 4 adalah etil asetat.

5.5.3 Uji Polifenol

Pengujian polifenol bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa polifenol dalam berbagai ekstrak buah Jambu Wer. Polifenol juga memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri misalnya *Staphylococcus aureus*, *E coli* (Cowan,1999). Mekanisme toksisitas polifenol terhadap mikroba terkait dengan penghambatan hidrolitik enzim (*protease* dan *carbohydrolases*) atau interaksi untuk menonaktifkan adhesins mikroba,sel transport protein, interaksi non spesifik dengan karbohidrat (Cowan, 1999).

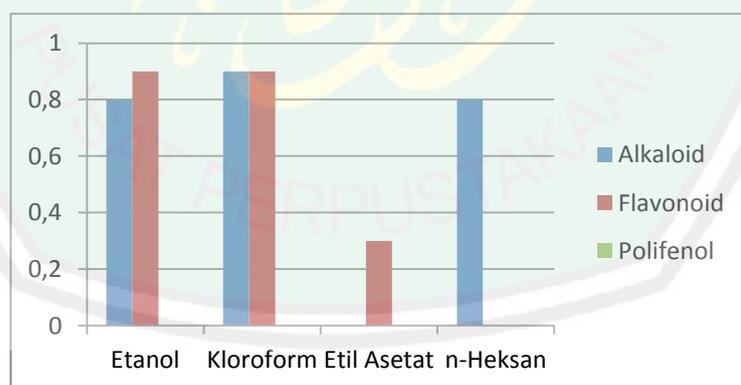
Langkah identifikasi kandungan polifnol adalah dengan cara pelarutan ekstrak dengan aquades panas. Masing-masing ekstrak yaitu ekstrak etanol, etil asetat, kloroform dan n-heksan diambil sekitar 0,3 mg dan dilarutkan dalam aquades panas hingga terlarut namun pada ekstrak kloroform dan n-heksan tidak dapat terlarut sempurna. Setelah ekstrak larut kemudian ditambahkan dengan 3-4 tetes NaCl 10%, setelah ditambahkan NaCl 10% sampel ditotolkan pada plat KLT yang merupakan fase diam (kiesel gel GF254). Selanjutnya dielusi dengan eluen dengan campuran kloroform, etil asetat dan asam formiat dengan perbandingan 0,5:9:0,5. Setelah itu diamati dengan UV pada gelombang 254 nm, keberadaan polifenol ditunjukkan dengan adanya noda hitam yang terbentuk.

Hasil uji polifnol pada ekstrak etanol, etil asetat, kloroform dan n-heksan menunjukkan bahwa keempat ekstrak tersebut tidak mengandung senyawa polifenol dikarenakan tidak ada noda hitam yang tampak setelah elusi maupun dalam pengamatan dibawah sinar UV.



Gambar 5.9. Uji kandungan golongan senyawa polifenol berbagai ekstrak Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.). 1 adalah etanol, 2 adalah kloroform, 3 adalah n-Heksan, dan 4 adalah etil asetat.

Berdasarkan hasil uji kandungan senyawa berbagai ekstrak buah Jambu Wer, maka didapatkan karakteristik keberadaan senyawa yang ditunjukkan dengan nilai Rf pada grafik berikut:



Gambar 5.10. Grafik nilai Rf berbagai ekstrak

Uji KLT dilakukan secara kualitatif yang berarti hanya mengetahui ada dan tidaknya senyawa yang dicari dalam setiap ekstrak tumbuhan, indikasi yang menunjukkan hal tersebut adalah dengan mengacu pada harga Rf yang dihitung

berdasarkan jarak noda yang timbul pada plat KLT. Nilai Rf sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah. Rf KLT yang bagus berkisar antara 0,2 - 0,8. Jika Rf terlalu tinggi, yang harus dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya (Gandjar,2007).

Jenis senyawa yang dihasilkan dan keberadaan senyawa pada suatu tumbuhan berbeda-beda. Putra (2007) menyatakan bahwa perbedaan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang sama seringkali terjadi karena pengaruh lingkungan sekitar. Kandungan metabolit sekunder yang disekresikan oleh tanaman tergantung pada variasi genetik individual dan kondisi geografis tempat tumbuh. Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh tanaman antara lain suhu, cahaya, curah hujan dan ketersediaan air, ketinggian di atas permukaan laut, iklim, angin, keadaan tanah, kandungan nutrisi termasuk kandungan mineral, jamur, dan bakteri, keberadaan serangga, adanya hewan herbivora, kerapatan tanaman, kompetisi dengan tanaman lain (Harborne, 1987).

Uji fitokim pada penelitian yang dilakukan Dian *et al.*, (2016) menyebutkan ekstrak kloroform daun *Annona mucirata.L* positif mengandung alkaloid dan negatif terhadap flavonoid. Penelitian lain oleh Nanik *et al.*, (2012) menyebutkan

ekstrak etil asetat daun *Anredera scandens* menunjukkan hasil positif terhadap polifenol dan negatif terhadap alkaloida dan flavonoid. Uji yang dilakuakn Fajar (2011) menyebutkan ekstrak etanol *Psidium guajava* positif mengandung flavonoid dan tanin, sedangkan untuk uji alkaloid mendapatkan hasil yang negatif.

Senyawa yang dihasilkan tidak selalu memberikan efek farmakologis yang diharapkan. Salah satu kelemahan simplisia adalah kandungannya tidak selalu bisa sama sehingga khasiatnya dapat berbeda. Kelemahan simplisia berpengaruh pada kinerja farmakologisnya yakni mekanisme kerja bahan aktifnya. Tidak seperti obat kimia yang cenderung memiliki satu bahan aktif saja, simplisia tanaman terkadang memiliki lebih dari satu bahan aktif atau *multicompound*. Pada senyawa *multicompound* ada yang bekerja secara sinergis (saling menguatkan) atau justru bersifat antagonis. Apabila senyawa-senyawa tersebut bekerja secara antagonis, khasiatnya akan berkurang atau bahkan tidak ada. simplisia tanaman terkadang memiliki lebih dari satu bahan aktif atau *multicompound*. Pada senyawa *multicompound* ada yang bekerja secara sinergis (saling menguatkan) atau justru bersifat antagonis. Apabila senyawa-senyawa tersebut bekerja secara antagonis, khasiatnya akan berkurang atau bahkan tidak ada (Harborne, 1987).

5.6 Analisis Statistika

Analisis data statistik dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai antibakteri dari masing-masing ekstrak yang telah diuji. Data dari masing-masing ekstrak dianalisis statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) software SPSS 23 untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan

aktivitas antibakteri dari berbagai jenis ekstrak Jambu Wer. Jenis uji anova yang digunakan pada penelitian ini adalah Anova Satu Jalur (*One Way Anova*). Analisis varians satu jalur merupakan teknik statistika parametrik yang digunakan untuk pengujian perbedaan beberapa kelompok rata-rata, di mana hanya terdapat satu variabel bebas atau independen yang dibagi dalam beberapa kelompok dan satu variabel terikat atau dependen. Analisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) satu jalur, digunakan untuk membandingkan 3 atau lebih rata-rata, ANOVA dapat digunakan untuk memisahkan variasi apapun yang disebabkan oleh perubahan faktor yang dikendalikan dari variasi yang disebabkan oleh kesalahan random (Rohman, 2014). Adapun tahapan dari pengujian tersebut adalah uji Normalitas, uji Homogenitas, Uji One Way Anova, dan uji lanjutan menggunakan uji Tukey HSD.

Uji normalitas antibakteri berbagai ekstrak buah Jambu Wer menggunakan *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas tersebut dianggap normal apabila nilai p -value > 0.05 . Berikut merupakan hasil uji normalitas aktivitas antibakteri berbagai ekstrak buah Jambu Wer:

Sampel	<i>P-value Shapiro-Wilk</i>	Keterangan
Ekstrak Etanol	0.407	Normal
Ekstrak Kloroform	0.878	Normal
Ekstrak Etil Asetat	0.253	Normal
Ekstrak n-Heksan	1.000	Normal
Kloramfenikol	0.950	Normal

* Antibakteri is constant when Sampel = 6.00. It has been omitted.

Tabel 5.12. Hasil Uji Normalitas

Berdasarkan table 5.12 didapatkan $p\text{-value} > 0,05$, maka nilai aktivitas antibakteri berbagai ekstrak buah Jambu Wer normal. Setelah dinyatakan normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene's test*. Nilai dinyatakan homogen apabila memiliki $p\text{-value} > 0,05$. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada table 5.13:

Sampel	$P\text{-value Levene's test}$	Keterangan
Ekstrak Etanol	0.90	Homogen
Ekstrak Kloroform		
Ekstrak Etil Asetat		
Ekstrak n-Heksan		
Kloramfenikol		
DMSO		

Tabel 5.13. Hasil Uji Homogenitas

Berdasarkan tabel 5.13 nilai aktivitas antibakteri berbagai ekstrak buah Jambu Wer $p\text{-value Levene's test} > 0,05$ yang berarti data tersebut homogen. Analisis selanjutnya yaitu dilakukan uji One-Way ANOVA.

Sampel	$P\text{-value One Way Anova}$	Keterangan
Ekstrak Etanol	0.000	Berbeda Signifikan
Ekstrak Kloroform		
Ekstrak Etil Asetat		
Ekstrak n-Heksan		
Kloroform		
DMSO		

Tabel 5.14. Hasil Uji ANOVA

Berdasarkan hasil analisis, terdapat perbedaan signifikan yang ditunjukkan dengan $P < 0,05$ yaitu 0.000 sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. Apabila H_0 ditolak, maka analisisnya belum selesai sehingga perlu analisis lanjutan.

Kebermaknaan signifikan dilihat dari nilai P yang dihasilkan. Jika nilai $P < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang membuktikan bahwa ada perbedaan signifikan aktivitas antibakteri dari berbagai jenis ekstrak Jambu Wer dan sebaliknya jika nilai $P > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak yang membuktikan bahwa tidak ada perbedaan signifikan aktivitas dari berbagai jenis ekstrak Jambu Wer (Rohman, 2014).

Analisis lanjutan setelah ANOVA sering disebut Post Hoc atau pasca-ANOVA, uji lanjutan yang dipilih pada analisis ini adalah Tukey (HSD : Honestly Significant Difference), uji ini disebut uji beda nyata yang merupakan perbaikan dari LSD karena uji ini untuk membandingkan mean tanpa perencanaan terlebih dahulu. Uji Tukey digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan lainnya (Kusriningrum, 2010).

Sampel	1	2	3	4	K+	K-
1		0.740*	0.994*	0.572*	0.00**	0.00**
2	0.740*		0.449*	0.84*	0.00**	0.00**
3	0.994*	0.449*		0.850*	0.00**	0.00**
4	0.572*	0.84*	0.850*		0.00**	0.00**
K+	0.00**	0.00**	0.00**	0.00**		0.00**
K-	0.00**	0.00**	0.00**	0.00**	0.00**	

Tabel 5.15. Hasil Uji Tukey HSD

Keterangan:

* = Tidak Berbeda Signifikan

** = Berbeda Signifikan

1 = Ekstrak etanol

2 = Ekstrak kloroform

3 = Ekstrak etil asetat

4 = Ekstrak n-heksan

K+ = Kloramfenikol

K- = DMSO

Pada data Tukey HSD antibakteri berbagai ekstrak buah Jambu Wer terhadap *E. coli* terdapat hasil tidak berbeda bermakna signifikan dari ekstrak etanol – ekstrak kloroform, ekstrak etanol – etil asetat, ekstrak etanol – ekstrak n-Heksan, ekstrak kloroform – ekstrak etil asetat, ekstrak kloroform- ekstrak n-Heksan, ekstrak etil asetat- ekstrak n-heksan sehingga dapat diketahui semua ekstrak memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini diperkuat dengan hasil antara semua ekstrak dengan kontrol negatif yaitu berbeda bermakna signifikan sehingga dapat disimpulkan bahwa semua ekstrak memiliki aktivitas anti bakteri yang terbukti pada zona hambat pada uji mikrobiologi terhadap *E. coli*.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Simpulan

1. Ekstrak etanol, kloroform, etil asetat, dan n-Heksan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) memberikan daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.
2. Ekstrak n-Heksan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dengan nilai zona hambat 5,15 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*.

6.2 Saran

1. Dilanjutkan pengujian antibakteri dengan metode MIC (Minimum Inhibitor Concentration) untuk mengetahui konsentrasi ekstrak minimum yang mampu memberikan aktivitas terhadap bakteri *E. coli*.
2. Dilakukan pengujian fraksi ekstrak aktif terhadap bakteri *E. coli*.
3. Dilanjutkan pengujian ekstrak-ekstrak Jambu Wer (*P. persica* Zieb&Zucc.) terhadap bakteri gram positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 1986. *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Universitas Terbuka, Depdikbud.
- Agoes. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : ITB.
- Ahluquist, D.A & Camilleri, M. 2005. *Diarreha and Constipation*. In. Kasper, D.L., Fauci, A.S., Longgo, D.L., braunwald, E., Hauser, S.L., Jameson, J.L., eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. USA. McGraw-Hill.
- Alberto *et al.* 2006. *Antimicrobial Effect of Polyphenols From Apple Skins on Human Bacterial Phatogens*. Chile: Pontificia Universidad Catolica de Valparasio.
- Aziz, S. & Habib-ur-Rahman, 2013. *Biological activities of Prunus persica L. batch*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(15), pp.947–951.
- Bambang. 2006. *Parameter Pengendalian Untuk Sistem Destilasi Reaktif Etil Asetat Menggunakan Model Pengendali Prediktif*. Semarang: UNDIP.
- Batoro, J. 2012. *Etnobiologi Masyarakat Tengger Di Bromo Tengger Semeru Jawa Timur*. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor.
- Bhagawan Weka.S. 2011. *Etnofarmasi Suku TenggerKecamatan Senduro Kabupaten Lumajang*. *Skripsi*. S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember: tidak diterbitkan.
- Blum, Hendrik L. 1974. *Planning Health Development and Applicaffon of social change theory*. New York : Human Sciences Press.
- BPOM RI. 2014. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat IndonesiaVol 1*. Jakarta: BPOM.
- Brooks G.F, Butel J.S, Morse S.A. 2008. *Mikrobiologi kedokteran*, Edisi 23. Jakarta: EGC.
- Campbell *et al.* 2003. *Biologi*. Jakarta: Erlangga.
- Cameron, D.K., dan J.Y. Wang. 2006. *Application of Protease and High Intensity Ultrasound in Corn Starch Isolation from Degermed Corn Flour*. *Journal Food Sience University Of Arkansas* : Volume 83 (5). Hlm 505-509.

- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*.
- Darwis. 1992. *Potensi Sirih (Piper betle Linn.) Sebagai Tanaman Obat*. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 1(1):9–11.
- De Lux Putra, E. 2007. *Dasar-dasar Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Medan: Fakultas. Farmasi USU.
- Departemen Kesehatan Nasional. 1994. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional. Jakarta.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Herbal Edisi Pertama*, Jakarta : Depkes RI.
- Depkes RI. 2000. *Buku Pedoman Pelaksanaan P2 Diare*. Jakarta : Depkes RI.
- Dewi, F.K., 2010, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret: tidak diterbitkan.
- Dewi, I. D. A. D. Y., Astuti, K. W. 1, Warditiani, N. K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana Bali: tidak diterbitkan.
- Dharma, A. 2001. Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder. *Makalah Workshop Peningkatan Sumberdaya Alam Hayati dan Rekayasa Bioteknologi*. FMIPA UNAND, Padang.
- Dian *et al.*, 2016. *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri*. *Molekul*, Vol. 11. No. 1.
- Edrah, S., Fouzy Alafid & Kumar, A., 2015. *Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Pistacia atlantica and Prunus persica Plants of Libyan Origin.* , 4(2), pp.2013–2016.
- Fajar *et al.*, 2011. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*) Berdaging Buah Putih. ISSN:2089-3582.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S. dan Nuri. 2011. *Uji Anti inflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (Piper crocatumruiz & Pav) pada Tikus Putih*. *Majalah Obat Tradisional*: 16 (1), 34-42.

- Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gaylord Chemical Company. 2007. *Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Health and Safety Information*. Buletin GGC.
- I Made Agus Sunadi Putra. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annonae muricata L.) dengan Metode Difusi Agar Cakram Terhadap Escherichia coli*. Medicamento Vol. 1 No.1.
- Imam Ghozali. 2009. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS*. Semarang : BP UNDIP.
- Handayani, Hana., Sriherfyna, Feronika H., dan Yunianta. 2016. *Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi)*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 4, Nomor 1: 262-272.
- Harborne, J. B., 1996, *Metode Fitokimi: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuha*. Bandung: ITB.
- Haviland, W. A. 1999. *Antropology Edisi Keempat Jilid I*. Diterjemahkan Soekadijo. Jakarta: Airlangga.
- Hostettmann *et al.*, 1985. *Cara Kromatografi Preparatif : Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam*. Bandung: ITB.
- Istiqomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)*. *Skripsi*. S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta: tidak diterbitkan.
- Jawetz, E. et al., 1995. *Review of Medical Microbiology*. Los Altos. California : Lange Medical Publication. Pages 227-230.
- Keenan, W. C. 1999. *Ilmu Kimia Untuk Universitas*. Edisi Keenam. Jilid 2. Jakarta: Erlangga.
- Kliegman, R.M., Marcadante, K.J., Jenson, H.B., Behrman, R.E., 2006. *Nelson Essential of Pediatrics*. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Kuldiloke, J. 2002. *Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices*. *Dissertationder Technischen*. Jerman : University of Berlin.

- Kusriningrum. R.S, 2010. *Perancangan Percobaan Cetakan Kedua*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Lei, Z., Wang, H and Zhou, R. 2002. *Influence of Salt Added to Solvent on Extractive Distillation*, *The Chemical Engineering Journal*, 43.
- Madigan M. 2005. *Brock Biology of Microorganism*. London: PrenticeHall.
- Marliana *et al.*, 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. Surakarta: FMIPA UNS.
- Mason, J., L. Paniwinyk dan P. Lorimer. 1996. *The Use Of Ultrasound In Food Technology. Ultrasonics Sonochemistry*. 3. Hlm S253–S260.
- Maulida, D dan Zulkarnaen, N. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran n-Heksana, Aseton dan Etanol. *Skripsi Fakultas Teknik, Universitas Dipenogoro*: tidak diterbitkan.
- McClements, D.J. 1995. *Advances in The Application of Ultrasound in Food Analysis and Processing. Trends Food Science Technology*. 6. Hlm 293-299.
- Melecchi *et al.* 2006. *Optimization of The Sonication Extraction Method of Hibiscus tiliaceus L. Flowers*. *Ultrasonics Sonochemistry* 13: 242-250.
- Meloan CE. 1999. *Chemical Separation*. New York: J Willey.
- Milyasari, C. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Staphylococcus aureus dan E.coli dari Ekstrak Buah Blimbing Wuluh (Averrhoa blimbi. L). *Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang*: tidak diterbitkan.
- Muhammad Nasib Ar-Rifa'I. 1999. *Kemudahan Dari Allah; Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta :Gema Insani Press.
- Muktiningsih, S. R., Syahrul, M., Harsana, I. W., Bhudi, M., dan Panjaitan, P. 2001. *Review Tanaman Obat Yang Digunakan Oleh Pengobat Tradisional Di Sumatra Utara, Sumatra Selatan, Bali dan Sulawesi Selatan*. *Media Litbang Kesehatan*. 11 (4) 25.
- Nanik *et al.*, 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (Anredera Scandens (L.) Moq.) Terhadap Shigella Flexneri Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis*. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Vol. 2, No. 1, 2012 : 1-16.

- Nitria *et al.*, 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Sawo (*Acrhas zapota* L.) dengan n-Heksan dan Metanol sebagai Ekstraktan terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. Tesis. Fakultas MIPA UNIB.
- Novak *et al.*, 2008. *Ultrasound Extracted Flavonoids from Four Varieties of Portuguese Red Grape Skins Determined by Reverse-phase High-performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection*. *Analytica Chimica Acta* Volume 630: 107–115.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. *Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas L) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, dan Salmonella typhi ATCC 1408*. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 – 37.
- Pamungkas, Rizky. T. P. 2010. Etnofarmasi Suku Tengger Kecamatan Poncokusumo Kabupaten Malang. *Skripsi*. S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember: tidak diterbitkan.
- Padmasari *et al.*, 2013. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (Zingiber purpureum Roxb.)*. *Jurnal Farmasi Udayana* 1-7.
- Pieroni, A., Quave, C., Nebel, S., dan Henrich, M. 2002. *Ethnopharmacy of the Ethnic Albanians (Arbereshe) of Northern Basilicata, Italy*. *Fitoterapia*. 72 (2002): 217- 241.
- Pratiwi, I. 2009. *Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Acalypha Indica terhadap Bakteri Salmonella choleraesuis dan Salmonella typhimurim*. Surakarta : Jurusan Biologi FMIPA UNS.
- Riawan, S. 1990. *Kimia Organik Edisi 1*. Jakarta: Binarupa.
- Rohman, Abdul. 2014. *STASTIKA DAN KEMOMETRIKA DASAR DALAM ANALISIS FARMASI*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Rosita, Rostiana, Pribadi, dan Hernani. 2007. *Penggalian IPTEK Etnomedisin di Gunung Gede Pangrango*. *Bul. Littro*.18 (1) : 13- 28.
- Santos, H.M., C. Lodeiro, J.L. Capelo-Martinez. 2009. *The Power of Ultrasound In : J.L. Capelo-Martinez (Ed). Ultrasound in Chemistry: Analytical Applications*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinhei, p. Hlm 1-16.
- Sayyid Quthb. 2001. *Tafsir Fi Zhilali* ; halaman 124. Jakarta : GIP.

- Setyawan, A.D dan Darusman, L. K. 2008. *Senyawa Biflavonoid pada Salginella Pal. Beauv dan Pemanfaatannya*. BIODIVERSITAS ISSN: 1412-033X Volume 9, Nomor 1 Januari 2008 Halaman: 64-81. Bogor: Departemen Kimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor (IPB).
- Simatupang, M. 2004. *Analisis Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Diare Pada Balita Di Kota Sibolga Tahun 2003*. Program Pascasarjana. Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Sirait M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an)*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sjahid, L.R. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) *Skripsi*. Diterbitkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopik*. Bandung: ITB.
- Subagyo Pangestu. 2008. *Statistik Deskriptif* Yogyakarta: BPF.
- Sudarma, Made. 2010. *Uji Fitokimia, Ekstraksi, Isolasi dan Transpormasi Senyawa Bahan Alam*. Fakultas MIPA. Universitas Mataram.
- Sudarmadji, et.al., 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Penerbit Liberty.
- Suslick, K.S., R.E. Cline dan D.A. Hammerton. 1986. *Journal of the American Chemical Society*. Hlm 108.
- Teddy, Budi Suwandny. 2011. *Pemodelan Proses Ekstraksi Ultrasonik Oleresin dan Cinnamaldehyde dari Kayu Manis*. *Thesis*. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Tidak diterbitkan.
- Thompson, L. H., and L. K. Doraiswamy. 1999. Sonochemistry: Science and Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research* Volume 38: 1215–1249.
- Van Steenis. 2008. *Flora*. Jakarta : Pradnya Pramita.
- Vilkhu, K., R. Mawson, L. Simons dan D. Bates. 2006. *Application and Opportunities For Ultrasound Assisted Extraction In The Food Industry (A Review)*. *Food innovation: Emerging Science, Technologies & Application(FIESTA)*. Australia.

Vogel, A.I., Tatchell, A.R., Furnis, B.S., Hannaford, A.J. and Smith. 1996. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5th Edition. Prentice Hall.

Widiyanto, M.A. 2013. *Statistika Terapan*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.

Widoyono. 2008. *Penyakit Tropis, Epidemiologi, Penularan, Pencegahan, dan Pemberantasannya*. Jakarta : Erlangga.

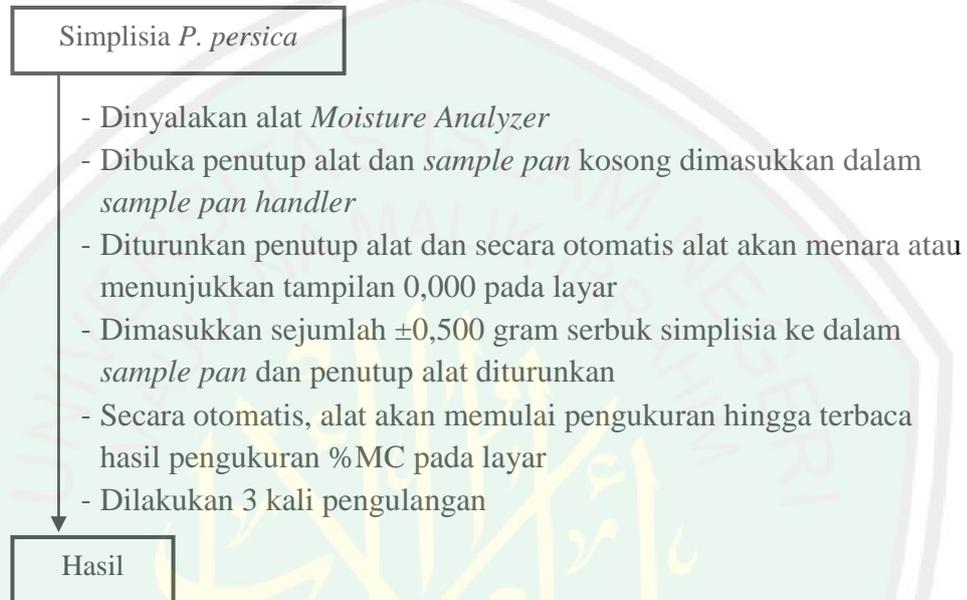
Zuhud, E.A.M. 2008. *Potensi Hutan Tropika Indonesia Sebagai Penyangga Bahan Obat Alam untuk Kesehatan Bangsa*. Bogor. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.



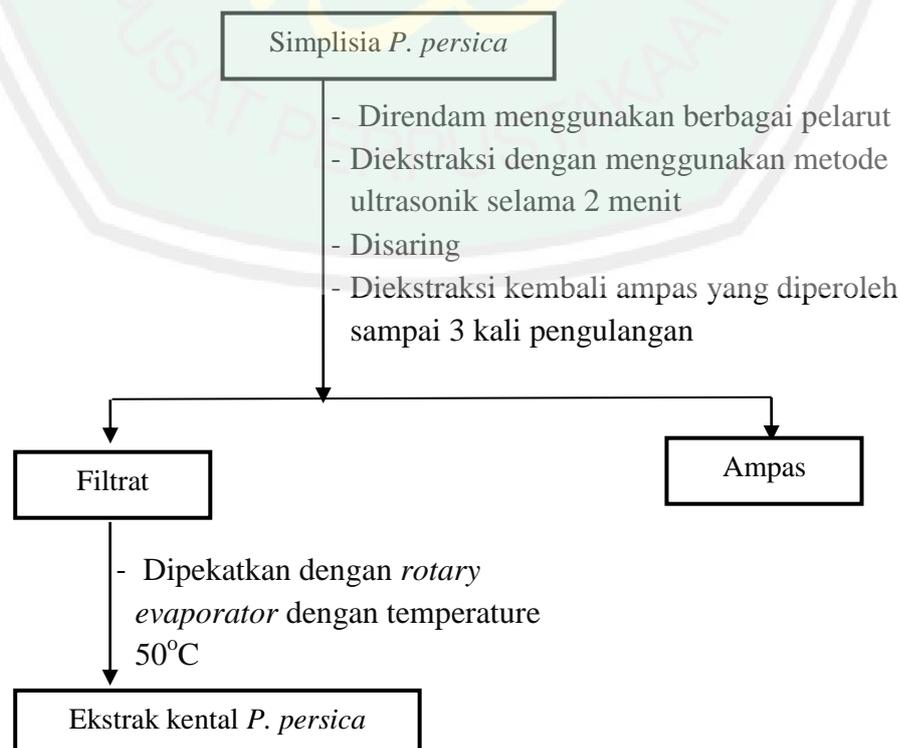
LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja

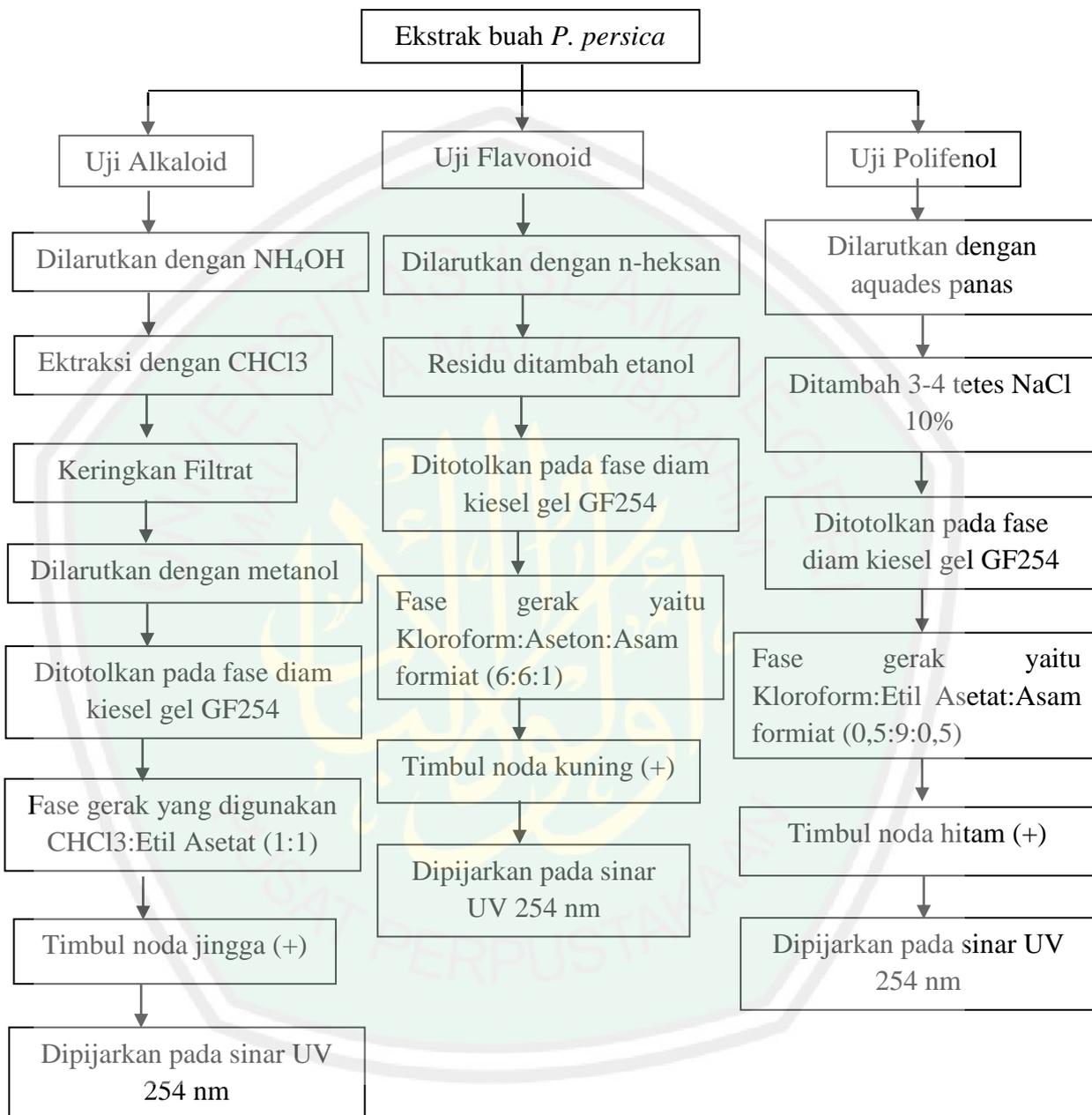
L.1.1 Analisis Kadar Air



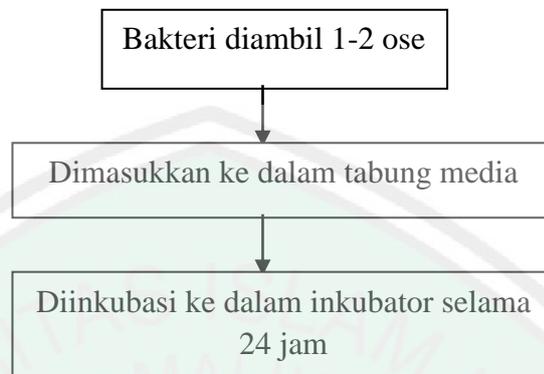
L.1.2 Ekstraksi *P. persica*



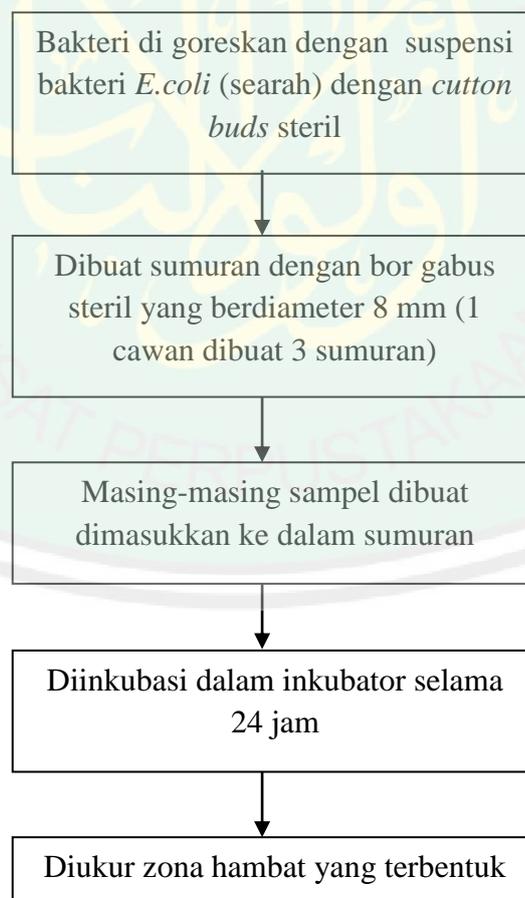
L.1.3 Skrining Fitokimia Berbagai Ekstrak Buah *P. persica*



L.1.4 Inokulasi Bakteri *Escherichia coli*



L.1.4 Uji Difusi Sumuran Berbagai Ekstrak Buah *P. persica* terhadap Bakteri *E. coli*



LAMPIRAN 2 HASIL PENGUJIAN

L.2.1 Hasil Pengujian Uji Mikrobiologi


KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS NEGERI MALANG (UM)
 FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
 Jalan Semarang 5, Malang, 65145 Telp: 0341-562180 Laman: www.um.ac.id

Skrining Aktivitas Antibakteri Berbagai Ekstrak Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

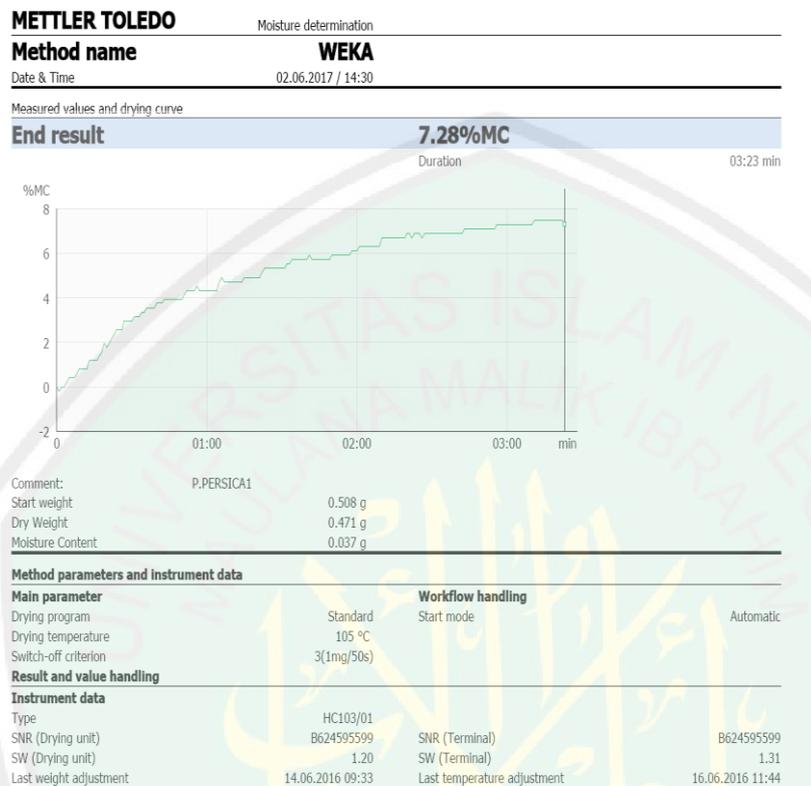
Pengirim Sampel : Muhammad Zulkhaq Vadliyanto
 Instansi/Lembaga : Farmasi - UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
 Jenis Sampel : Ekstrak buah jambu wer

No	Perlakuan	Ulangan (cm)			Rerata
		1	2	3	
1.	Kloroform	0,400	0,380	0,355	0,378
2.	Ethanol	0,385	0,415	0,520	0,440
3.	N-heksana	0,525	0,515	0,505	0,515
4.	Etil asetat	0,450	0,485	0,455	0,463
5.	Kontrol + (Kloramfenikol)	1,515	1,400	1,620	1,512
6.	Kontrol - (DMSO)	0	0	0	0

Malang, 26 Juli 2017

Kepala Laboratorium Mikrobiologi, Kepala Laboratorium Biologi,
 
(Sitoroesmi Prabaningtyas, S.Si., M.Si.) (Agung Witjoro, S.Pd., M.Kes.)
 NIP. 19700402 199503 2 001 NIP. 19730323 200501 1 001

L.2.1 Uji Kadar Air Simplisia



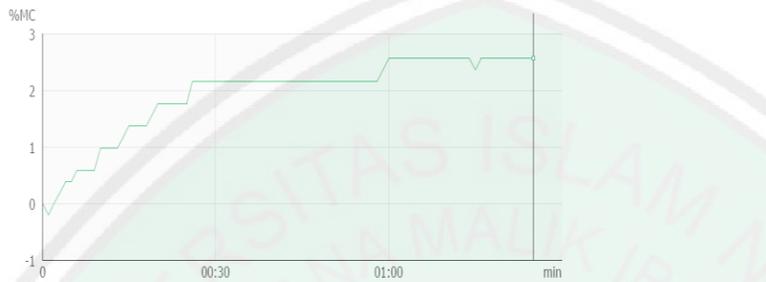
Uji kadar air kedua



Uji kadar air ketiga

METTLER TOLEDO Moisture determination
Method name WEKA
 Date & Time 02.06.2017 / 14:36

Measured values and drying curve
End result 2.56%MC
 Duration 01:25 min



Comment: P.PERSICA3
 Start weight 0.508 g
 Dry Weight 0.495 g
 Moisture Content 0.013 g

Method parameters and instrument data		Workflow handling	
Main parameter		Start mode	Automatic
Drying program	Standard		
Drying temperature	105 °C		
Switch-off criterion	3(1mg/50s)		
Result and value handling			
Instrument data			
Type	HC103/01		
SNR (Drying unit)	B624595599	SNR (Terminal)	B624595599
SW (Drying unit)	1.20	SW (Terminal)	1.31
Last weight adjustment	14.06.2016 09:33	Last temperature adjustment	16.06.2016 11:44

LAMPIRAN 3 PERHITUNGAN

L.3.1 Perhitungan Rendemen

L.3.1.1 Ekstrak Etanol

Berat simplisia buah *P. persica* = 100 gram

Berat ekstrak kental buah *P. persica* = 16,6 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% = \frac{16,6 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 16,6\%$$

L.3.1.2 Ekstrak Kloroform

Berat simplisia buah *P. persica* = 100 gram

Berat ekstrak kental buah *P. persica* = 5,8 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% = \frac{5,8 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 5,8\%$$

L.3.1.3 Ekstrak Etil Asetat

Berat simplisia buah *P. persica* = 100 gram

Berat ekstrak kental buah *P. persica* = 5,3 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% = \frac{5,3 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 5,3\%$$

L.3.1.4 Ekstrak n-Heksan

Berat simplisia buah *P. persica* = 100 gram

Berat ekstrak kental buah *P. persica* = 2,2 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% = \frac{2,2 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% = 2,2\%$$

L.3.2 Perhitungan Nilai Rf

$$R_f = \frac{\text{jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}} = \frac{n}{8}$$

L.3.2.1 Nilai Rf Alkaloid

Etanol = $6,5/8 = 0,8125$

Kloroform = $7,5/8 = 0,9357$

n-Heksan = $7/8 = 0,875$

Etil Asetat = -

L.3.2.2 Nilai Rf Flavonoid

Etanol = $7,5/8 = 0,9357$

Kloroform = $7,5/8 = 0,9357$

n-Heksan = -

Etil Asetat = $2,5/8 = 0,3125$

L.3.2.1 Nilai Rf Polifenol

Etanol = -

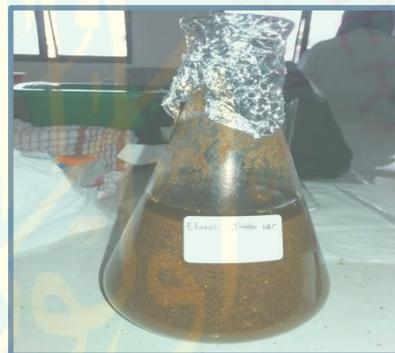
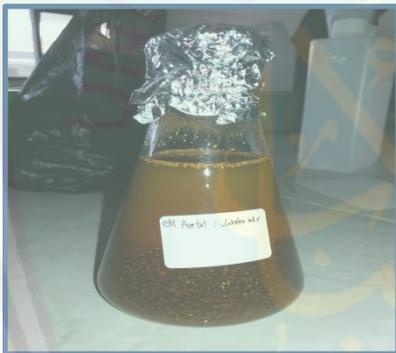
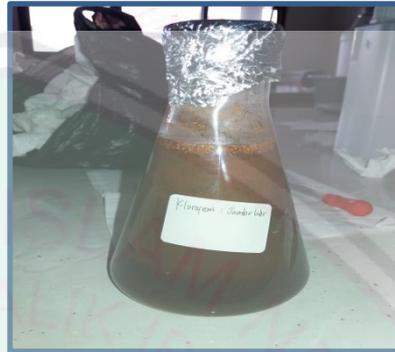
Kloroform = -

n-Heksan = -

Etil Asetat = -

Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian

L.4.1 Ekstraksi



L.4.2 Uji Mikrobiologi

