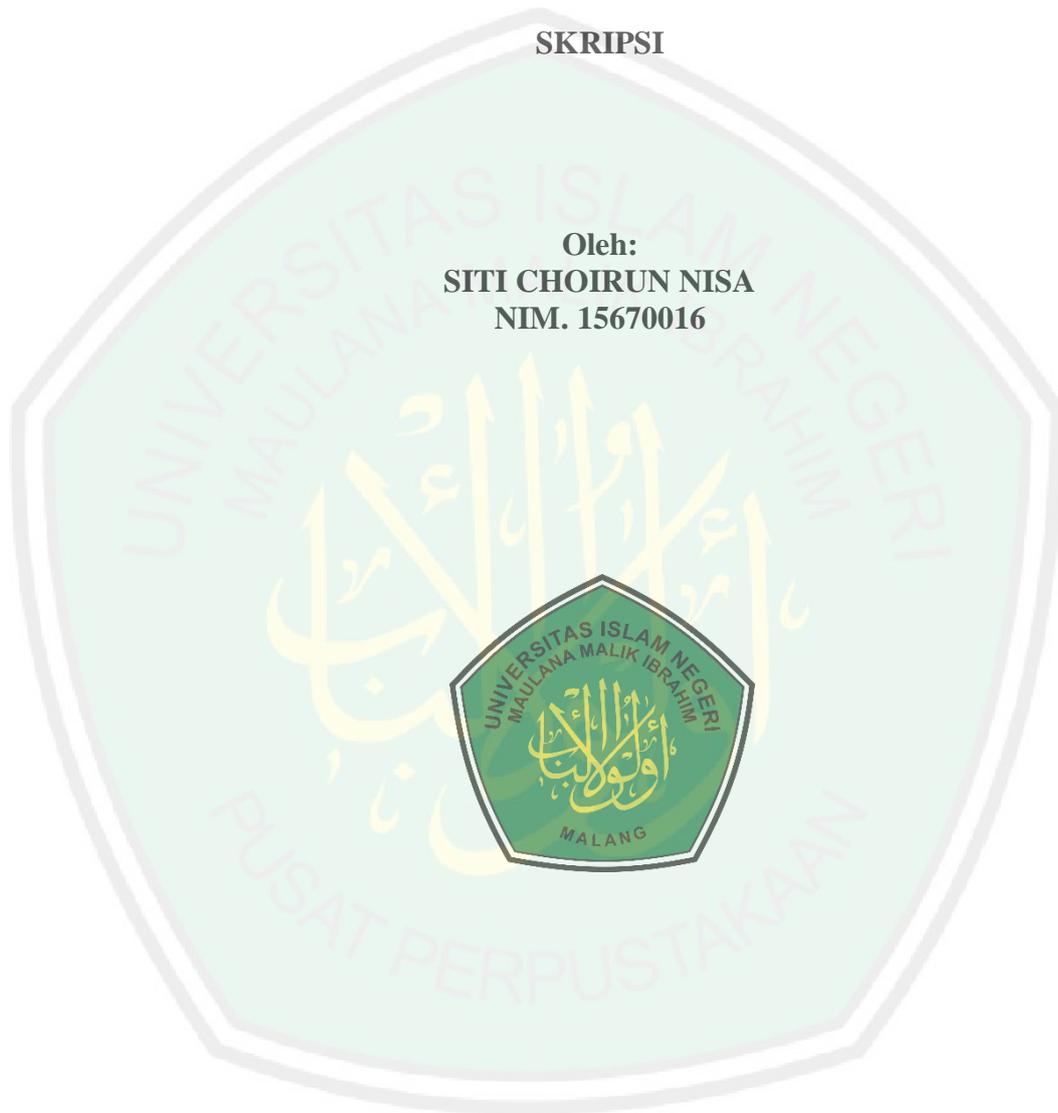


**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH BLEWAH
(*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
SITI CHOIRUN NISA
NIM. 15670016



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH BLEWAH
(*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Escherichia coli***

SKRIPSI

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

Oleh:

SITI CHOIRUN NISA

NIM. 15670016

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH BLEWAH
(*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Escherichia coli***

SKRIPSI

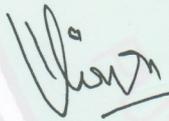
Oleh:

SITI CHOIRUN NISA

NIM. 15670016

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 07 Agustus 2019**

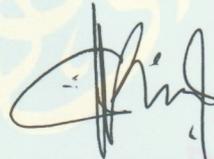
Pembimbing I



Wirda Anggraini, M.Farm., Apt.

NIDT. 19930718 20180201 2 205

Pembimbing II



Ria Ramadhani D.A., S.Kep., Ns., M.Kep.

NIP. 19850617 200912 2 005

**Mengetahui,
Ketua Program studi Farmasi**



Dr. Rohatul Muti'ah, M.Kes., Apt.

NIP. 19800203 200912 2 003

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH BLEWAH
(*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:

SITI CHOIRUN NISA

NIM. 15670016

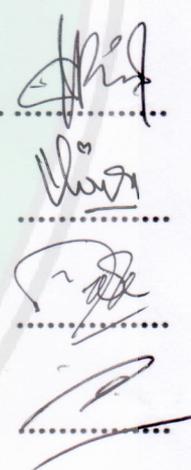
**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S. Farm)
Tanggal: 07 Agustus 2019**

**Ketua Penguji : Ria Ramadhani D.A., S.Kep., Ns., M.Kep.
NIP. 19850617 200912 2 005**

**Anggota Penguji : Wirda Anggraini, M.Farm., Apt.
NIDT. 19930718 20180201 2 205**

**: Burhan Ma'arif ZA, M. Farm., Apt.
NIP. 19900221 201801 1 001**

**: Achmad Nashichuddin, MA.
NIP. 197307052000031000**



**Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi**



**Dr. Rohatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Choirun Nisa

NIM : 15670016

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

menyatakan dengan sebenar-benarnya 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, 05 Agustus 2019

Yang membuat pernyataan,



Siti Choirun Nisa
NIM.15670016

MOTTO

“Jadilah Pribadi yang bermanfaat, suka menolong, dan memberi”

Rasulullah Shallallahu 'alaihi Wasallam bersabda:

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”

(HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni. Hadits ini dihasankan oleh al-Albani di dalam Shahihul Jami' no:3289).

إِنْ أَحْسَنْتُمْ أَحْسَنْتُمْ لِأَنْفُسِكُمْ ۖ وَإِنْ أَسَأْتُمْ فَلَهَا ۗ

“Jika kamu berbuat baik (berarti) kamu berbuat baik bagi dirimu sendiri dan jika kamu berbuat jahat, maka (kejahatan) itu bagi dirimu sendiri.”

(QS. Al-Isra' Ayat 7)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamiin

Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT beserta shalawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW sehingga bisa terselesaikannya skripsi ini. Dengan rasa syukur yang mendalam, penulis persembahkan tulisan karya sederhana ini kepada:

Kedua orang tua, bapak tercinta Harto dan ibu tercinta Lastri yang senantiasa menyebut nama penulis dalam setiap doa yang dipanjatkan, memberi motivasi, semangat dan kasih sayang yang tak pernah putus sehingga penulis dapat menempuh pendidikan sarjana dengan lancar. Kakak Abdul Rokhim dan adik Kamilatuz Ziyyanah yang telah mendo'akan, mendukung dan menyemangati selama ini. Om Kholisun dan Tante Wahyudiana yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan dalam menuntut ilmu. Keluarga besar "*Bani Rameli*" atas barokah do'a dan semangatnya. Terima kasih juga kepada Dony Wibisono dan keluarga yang selama ini mau direpotkan dalam proses penyusunan skripsi ini.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Bapak Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp. B., Sp. BP (RE-K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt. selaku ketua program studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Wirda Anggraini, M.Farm., Apt. dan Ibu Ria Ramadhani D.A., S.Kep., Ns., M.Kep. selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Bapak Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt. selaku dosen penguji utama yang juga banyak memberikan pengarahan dan solusi.
6. Bapak Achmad Nashichuddin, MA. selaku dosen penguji agama yang memberikan bimbingan agama yang baik.
7. Seluruh dosen pengajar dan staf di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

8. Terima kasih bapak Harto dan ibu Lastri tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
9. Kakak Abdul Rokhim dan adik Kamilatuz Ziyyanah yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Terima kasih Om Kholisun dan Tante Wahyudiana yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan dalam menuntut ilmu.
11. Keluarga besar “Bani Rameli” atas barokah do’a dan semangatnya.
12. Terima kasih kepada sahabat Dony Wibisono yang telah mendukung dan mensupport dalam menyusun skripsi ini.
13. Terima kasih kepada teman-teman farmasi angkatan 2015 “PharmaJelly”, “teman main” (Renza, Kharisma, Beta, Misnem dan Ika), “Dyah-didii” sebagai teman ghibah teman pulang teman bingung pilih makan sekaligus teman mokel, dan “Boy-Ifa” temen julid tapi juga baik. Terimakasih semuanya yang selama ini sudah berjuang bersama dalam suka maupun duka.
14. Terima kasih pada semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamiin Yaa Rabbal ‘Alamiin.*

Wassalamu’alaikum Wr. Wb.

Malang, 05 Agustus 2019

Penulis

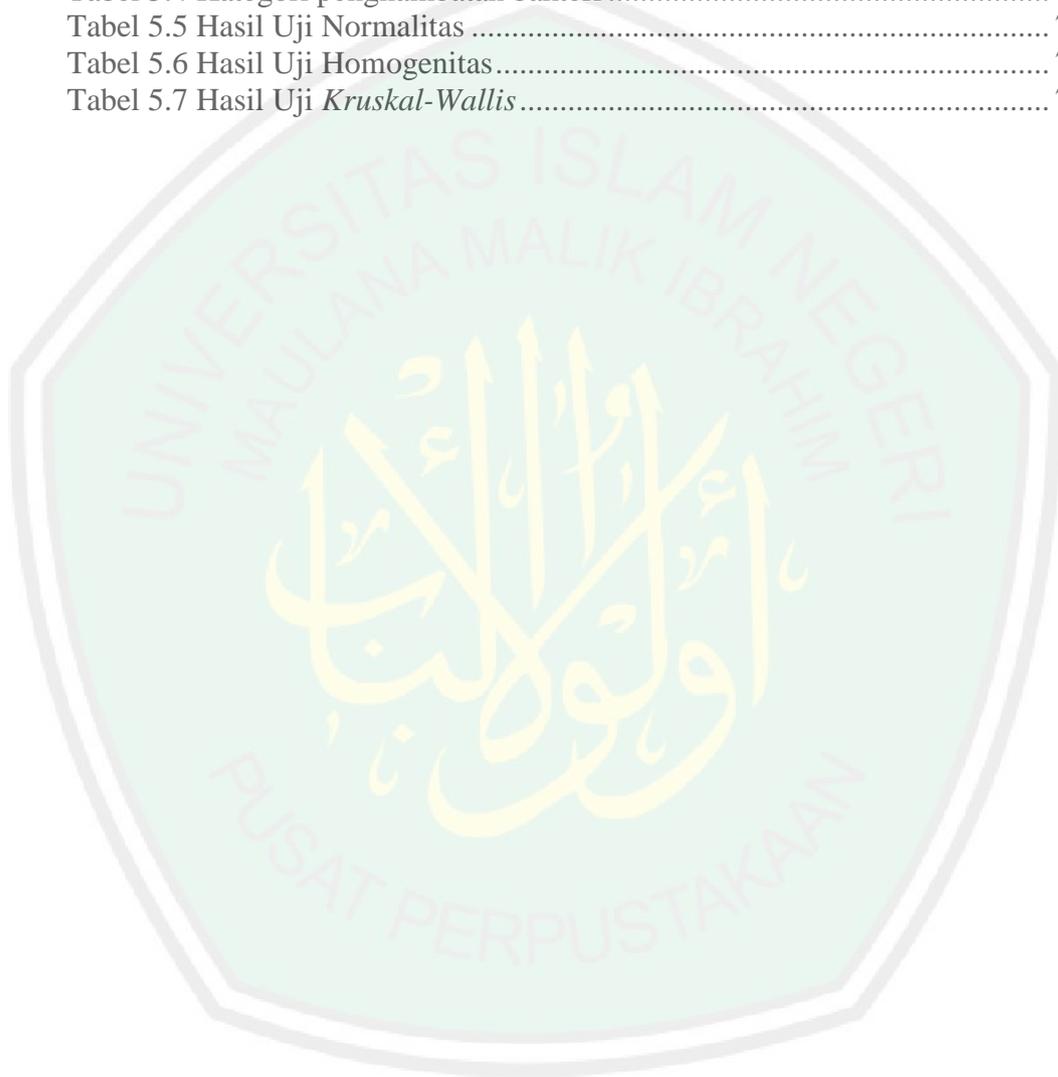
DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iv |
| LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN | vi |
| MOTTO | v |
| LEMBAR PERSEMBAHAN | vi |
| KATA PENGANTAR | vii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| DAFTAR SINGKATAN | xiv |
| ABSTRAK | xv |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 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 | |
| 2.1 Tumbuhan dalam Prespektif Islam | 8 |
| 2.2 Tinjauan Tentang Buah Blewah..... | 9 |
| 2.2.1 Klasifikasi Tanaman Blewah | 10 |
| 2.2.2 Khasiat Buah Blewah | 10 |
| 2.2.3 Kandungan Buah Blewah..... | 11 |
| 2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi | 13 |
| 2.3.1 Ekstraksi Cara Panas | 13 |
| 2.3.2 Ekstraksi Cara Dingin | 15 |
| 2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis..... | 17 |
| 2.4.1 Fasa Diam Fasa Gerak | 19 |
| 2.4.2 Skrining Fitokimia..... | 20 |
| 2.5 Tinjauan Tentang Diare | 22 |
| 2.5.1 Etiologi Diare | 23 |
| 2.5.2 Gejala Diare | 24 |
| 2.5.3 Patofisiologi Diare | 25 |
| 2.5.4 Penatalaksanaan Diare | 27 |
| 2.6 Tinjauan Tentang bakteri <i>Escherichia coli</i> | 27 |
| 2.7 Tinjauan Tentang Antibakteri | 29 |
| 2.7.1 Tinjauan Tentang Mekanisme Kerja Antibakteri..... | 29 |
| 2.7.2 Tinjauan Tentang Kloramfenikol | 31 |
| 2.8 Tinjauan Tentang Metode Pengujian Antibakteri | 32 |
| BAB III KERANGKA KONSEPTUAL | |
| 3.1 Bagan Kerangka Konseptual | 36 |

| | | |
|------------------------------------|--|-----------|
| 3.2 | Uraian Kerangka Konseptual | 37 |
| 3.3 | Hipotesis Penelitian | 38 |
| BAB IV METODE PENELITIAN | | |
| 4.1 | Jenis dan Rancangan Penelitian | 39 |
| 4.2 | Waktu dan Tempat Penelitian | 39 |
| 4.3 | Variabel Penelitian | 39 |
| 4.4 | Definisi Operasional | 40 |
| 4.5 | Alat dan Bahan Penelitian | 41 |
| 4.5.1 | Alat | 41 |
| 4.5.2 | Bahan | 42 |
| 4.6 | Prosedur Penelitian | 42 |
| 4.6.1 | Skema kerja ekstraksi sampel | 42 |
| 4.6.2 | Skema uji <i>in-vitro</i> | 43 |
| 4.6.3 | Determinasi | 43 |
| 4.6.4 | Persiapan sampel | 43 |
| 4.6.5 | Analisis kadar air serbuk simplisia buah blewah | 44 |
| 4.6.6 | Ekstraksi buah blewah | 44 |
| 4.6.7 | Uji kualitatif golongan senyawa secara umum | 45 |
| 4.6.8 | Uji mikrobiologi | 46 |
| 4.7 | Analisis Data | 49 |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN | | |
| 5.1 | Determinasi | 51 |
| 5.2 | Pembuatan Simplisia | 51 |
| 5.3 | Analisis kadar air serbuk simplisia buah blewah | 53 |
| 5.4 | Pembuatan ekstrak etanol 96% buah blewah | 54 |
| 5.5 | Uji kualitatif golongan senyawa | 56 |
| 5.6 | Uji aktivitas antibakteri | 60 |
| 5.7 | Analisis data statistika | 70 |
| 5.7.1 | Uji Normalitas | 70 |
| 5.7.2 | Uji Homogenitas | 71 |
| 5.7.3 | Uji Kruskal-Wallis | 71 |
| 5.8 | Aktivitas Antibakteri Buah Blewah dalam Prespektif Islam | 72 |
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN | | |
| 6.1 | Kesimpulan | 75 |
| 6.2 | Saran | 75 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 76 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 5.1 Hasil Pengujian kadar air | 54 |
| Tabel 5.2 Hasil Uji Reaksi Warna Skrining Fitokimia | 57 |
| Tabel 5.3 Diameter zona hambat ekstrak etanol 96% buah blewah | 66 |
| Tabel 5.4 Kategori penghambatan bakteri | 68 |
| Tabel 5.5 Hasil Uji Normalitas | 70 |
| Tabel 5.6 Hasil Uji Homogenitas | 71 |
| Tabel 5.7 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> | 71 |



DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Buah Blewah | 9 |
| Gambar 2.2 Struktur bakteri <i>E. coli</i> | 27 |
| Gambar 2.3 Rumus bangun kloramfenikol | 32 |
| Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual | 36 |
| Gambar 4.1 Skema Kerja Ekstraksi Sampel | 42 |
| Gambar 4.2 Skema Uji <i>In Vitro</i> | 43 |
| Gambar 5.1 Irisan buah blewah | 52 |
| Gambar 5.2 Serbuk simplisia buah blewah..... | 53 |
| Gambar 5.3 Ekstrak kental buah blewah..... | 56 |
| Gambar 5.4 Hasil uji kualitatif golongan senyawa pada ekstrak | 57 |
| Gambar 5.5 Visualisasi Skrining Fitokimia dengan <i>TLC Visualizer</i> | 59 |
| Gambar 5.6 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 1 | 64 |
| Gambar 5.7 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 2 | 65 |
| Gambar 5.8 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 3 | 65 |
| Gambar 5.9 Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol positif..... | 66 |
| Gambar 5.10 Kategori penghambatan bakteri | 69 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1. Skema Kerja | 84 |
| Lampiran 2. Perhitungan..... | 85 |
| Lampiran 3. Dokumentasi Proses Penelitian | 88 |
| Lampiran 4. Determinasi Tanaman..... | 93 |
| Lampiran 5. Hasil analisis kadar air simplisia buah blewah..... | 94 |
| Lampiran 6. Hasil <i>Ethical Clearance</i> | 96 |
| Lampiran 7. Hasil diameter zona hambat | 97 |
| Lampiran 8. Hasil Analisis Data | 98 |
| Lampiran 9. Lembar Persetujuan Perbaikan (REVISI) Ujian Skripsi | 99 |



DAFTAR SINGKATAN

| | |
|--------------------------------|---|
| Anova | : <i>Analysis of Variance</i> |
| BAB | : Buang Air Besar |
| CFR | : <i>Case Fatality Rate</i> |
| CFU | : <i>Colony Forming Unit</i> |
| CHCl ₃ | : Klorofom |
| CRO | : Cairan Rehidrasi Oral |
| DMSO | : Dimetil sulfoksida |
| EHEC | : <i>Enterohemorrhagic Escherichia coli</i> |
| <i>E. coli</i> | : <i>Escherichia coli</i> |
| FeCl ₃ | : Feri Klorida |
| HCl | : Hidrogen Klorida |
| H ₂ SO ₄ | : Asam sulfat |
| KHM | : Konsentrasi Hambat Minimum |
| KLB | : Kejadian Luar Biasa |
| KLT | : Kromatografi Lapis Tipis |
| NA | : <i>Nutrient Agar</i> |
| NaCl | : Natrium klorida |
| NH ₄ OH | : Larutan amonium hidroksida |
| PPM | : <i>Part Per Million</i> |
| Psi | : <i>Pounds per square inch</i> |
| SiOH ₂ | : Silanol |
| SPSS | : <i>Statistical Program for Social Science</i> |
| SWT | : Subhanahu Wa Ta'ala |
| UAE | : <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> |
| UPT | : Unit Pelaksanaan Teknis |

ABSTRAK

Nisa, S. C. 2019. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.** Skripsi. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. Pembimbing I: Wirda Anggraini, M.Farm., Apt; Pembimbing II: Ria Ramadhani D. A., S. Kep., Ns., M. Kep.,

Blewah (*Cucumis melo var. cantalupensis*) merupakan tumbuhan penghasil buah yang banyak ditemukan di Indonesia. Buah blewah diketahui memiliki kandungan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui diameter zona hambat ekstrak etanol 96% buah blewah dan mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Metode dalam pembuatan ekstrak yaitu ekstraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96%. Selanjutnya dilakukan uji kualitatif golongan senyawa yaitu uji reaksi warna dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT), lalu dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi kertas cakram. Analisis data statistika yang digunakan dalam penelitian ini yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Hasil penelitian ini mengandung golongan senyawa alkaloid, steroid dan terpenoid. Hasil rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol 96% buah blewah terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 100 ppm sebesar 0,91 mm; 200 ppm sebesar 1,01 mm; 300 ppm sebesar 1,19 mm; dan 400 ppm sebesar 1,44 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% buah blewah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

Kata Kunci: Antibakteri, *Cucumis melo L. var. cantalupensis*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Nisa, S. C. 2019. **Antibacterial Activity of 96% Ethanol Extract Cantaloupe Fruit (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) to the growth of *Escherichia coli* bacteria.** Essay. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences Islamic State University Maulana Malik Ibrahim. Malang. Advisor I: Wirda Angraini, M.Farm., Apt; Advisor II: Ria Ramadhani D. A., S. Kep., Ns., M. Kep.

Cantaloupe (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) a fruit producing plant that is found commonly in Indonesia. The cantaloupe is known to have antibacterial properties. The aim of this study were to determine the inhibitory zone diameter of 96% ethanol extract of cantaloupe fruit and find out the antibacterial activity against *Escherichia coli* bacteria. The method in making extracts is extraction using the Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) using 96% ethanol solvent. Furthermore, a qualitative test was carried out by the compound groups, namely the color reaction test and the Thin Layer Chromatography (TLC) test, then the antibacterial activity test was carried out using the paper disk diffusion method. The statistical data analysis in this study used *Kruskal-Wallis* test. The results of phytochemical screening 96% ethanol extract of cantaloupe contain groups of alkaloids, steroids and terpenoid compounds. Based on the results of the average inhibition zone diameter of 96% ethanol extract of cantaloupe fruit on the growth of *Escherichia coli* bacteria at a concentration of 100 ppm of 0.91 mm; 200 ppm of 1.01 mm; 300 ppm of 1.19 mm; and 400 ppm of 1.44 mm. This shows that 96% ethanol extract cantaloupe fruit has antibacterial activity against *Escherichia coli*.

Keywords: Antibacterial, *Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*, *Escherichia coli*.

مستخلص البحث

نساء، س. ج.، نشاط مضادة الجراثيم من مستخرجة الإيثانول 96% فاكهة الشمام (*Cucumis melo L.* var. *cantalupensis*) على نمو البكتيريا الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*). البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: وردة أنغريبي، الماجستير. المشرف الثاني: ريا رضاني، الماجستير.

الكلمة الرئيسية: مضادة الجراثيم، فاكهة الشمام، البكتيريا الإشريكية القولونية.

فاكهة الشمام (*Cucumis melo var. cantalupensis*) هي نبات مثمر موجود عادة في إندونيسيا. ومن المعروف أن هذه الفاكهة لديها محتوى مضادة الجراثيم. يهدف هذا البحث إلى معرفة قطر مشبطة مستخرجة الإيثانول 96% من فاكهة الشمام ومعرفة نشاط مضادة الجراثيم على البكتيريا الإشريكية القولونية. الطريقة المستخدمة في صناعة المستخرجة هي طريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية (*Ultrasonic Assisted Extraction*) مع مذيبات الإيثانول 96%. وعلاوة على ذلك، فإن الاختبار النوعي للفئة المركبة هو اختبار تفاعل اللون واختبار الكروماتوغرافيا في الطبقة الرقيقة، ثم أجري اختبار نشاط مضادة الجراثيم باستخدام طريقة انتشار ورقة القرص. وكان تحليل البيانات الإحصائية المستخدمة في هذا البحث هو اختبار كروسكال ووالس (*Kruskal Wallis Test*). وشملت نتائج هذا البحث مركبات قلوي، ستيريوي و تيرينويد. الدرجة الوسيطة لقطر مشبطة مستخرجة الإيثانول 96% من فاكهة الشمام على نمو البكتيريا الإشريكية القولونية في تركيز 100 ففم بقيمة 0.91 المليمتر؛ 200 ففم بقيمة 1.01 المليمتر؛ 300 ففم بقيمة 1.19 المليمتر؛ و 400 ففم بقيمة 1.44 المليمتر.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut data WHO (2013), diare merupakan penyakit yang terjadi hampir di seluruh daerah geografis di dunia. Pada tahun 2010 dilaporkan 2,5 juta kasus diare pada anak di seluruh dunia. Secara global terdapat 1,5 juta kematian dan 1,7 miliar kasus diare yang terjadi setiap tahun (Risikesdas, 2013). Angka kejadian diare di Indonesia berdasarkan data profil kesehatan Indonesia, pada tahun 2013 terjadi 8 Kejadian Luar Biasa (KLB) dengan jumlah penderita 646 orang dan kematian 7 orang, *Case Fatality Rate* (CFR) 1,08 %. Sedangkan pada tahun 2014 terjadi 6 KLB diare dengan jumlah penderita 2.549 orang dan kematian 29 orang (CFR 1,14 %) (Soewito, 2017). Menurut profil kesehatan Jawa Timur tahun 2014, penyakit diare dalam kurun waktu 6 tahun terakhir cenderung meningkat, dimana pada tahun 2013 mencapai 118,39%, dan sedikit menurun pada tahun 2014 menjadi 106%. Kualitas tata laksana program diare dari sisi pelaporan dalam kurun waktu 6 tahun terakhir belum seluruhnya mencapai target karena angka penggunaan oralit kurang dari 100% dan angka penggunaan infus lebih besar dari 1% (Dinkes Provinsi Jawa Timur, 2014).

Diare adalah suatu penyakit yang ditandai dengan perubahan bentuk dan konsistensi feses yang lunak sampai cair dan bertambahnya frekuensi Buang Air Besar (BAB) lebih dari 3 kali atau lebih dalam sehari yang mungkin dapat disertai dengan muntah atau feses yang berdarah (Rohmah dan Fariani, 2017). Faktor yang dapat menyebabkan diare diantaranya yaitu faktor psikologis, makanan,

malabsorpsi dan infeksi. Faktor psikologis yang menyebabkan diare, seperti cemas dan tegang. Faktor makanan biasanya makan-makanan yang tercemar, basi, beracun dan kurang matang. Faktor malabsorpsi karbohidrat, lemak, protein dan vitamin (Widjaja, 2002). Diare infeksi dapat disebabkan oleh parasit, virus dan bakteri (Friedman, *et al.*, 2003). Adapun bakteri yang menyebabkan diare diantaranya adalah *Shigella sp*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* dan *Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC)* (Zein *et al.*, 2004).

Resiko akibat diare dapat dikurangi dengan terapi yang tepat. Terapi non-infeksi bagi penderita diare khususnya pada pasien dehidrasi ringan-sedang, dan dehidrasi berat adalah dengan pemberian Cairan Rehidrasi Oral (CRO) contohnya yaitu oralit. Pemberian CRO yang tepat dengan jumlah yang memadai merupakan modal yang utama mencegah dehidrasi. Terapi lain yang dapat diberikan adalah *adsorben* (attapulgit dan pektin), dan antiemetik (metoklopramid, domperidon, dan ondansentron). Terapi untuk penderita diare yang terindikasi infeksi patogen adalah dengan pemberian antibiotik (siprofloksasin dan metronidazol) (Siswidiyanti *et al.*, 2014).

Pemberian antibiotik merupakan pengobatan utama dalam penatalaksanaan penyakit infeksi. Adapun manfaat penggunaan antibiotik tidak perlu diragukan lagi, akan tetapi dalam penggunaannya yang berlebihan akan segera diikuti dengan munculnya kuman kebal antibiotik atau disebut dengan resistensi, sehingga manfaatnya akan berkurang. Resistensi merupakan masalah yang sulit diatasi dalam pengobatan pasien. Hal ini muncul sebagai akibat pemakaian

antibiotik yang kurang tepat dosis, macam dan lama pemberian sehingga kuman berubah menjadi resisten (Negara, 2014), maka dalam penggunaan antibiotik harus tepat. Dalam mengatasi infeksi bakteri dapat diberikan terapi herbal seperti tanaman-tanaman yang berkhasiat sebagai pendukung dalam mengatasi diare.

Islam sebagai agama yang sempurna sangat memperhatikan masalah kesehatan. Hal yang harus diketahui oleh seorang muslim adalah Allah tidak menciptakan suatu penyakit kecuali Dia juga menciptakan penawarnya. Hal ini sebagaimana yang disabdakan Rasulullah ﷺ:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

“Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya.” (HR Bukhari).

Imam Muslim mendengar sebuah hadits dari Jabir bin ‘Abdullah *radhiyallahu ‘anhu*, dari Rasulullah ﷺ, bahwasannya beliau bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ، دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَ جَلَّ

“Setiap penyakit ada obatnya. Apabila obat itu tepat untuk suatu penyakit, penyakit itu akan sembuh dengan seizin Allah ‘Azza wa Jalla”.

Sebagaimana manusia khususnya umat muslim yang mengimani setiap apa yang diperintahkan Allah dan Rasulnya tentunya dalam sebuah masalah kehidupan. Salah satunya masalah kesehatan yang harus selalu merujuk pada tuntunan Allah dan Rasulnya yang berupa Al-Qur’an dan Hadits. Al- Qur’an sebagai pedoman hidup manusia yang didalamnya memuat banyak hal mengenai kehidupan, baik dari urusan yang kecil hingga yang besar, termasuk didalamnya

adalah mengenai ilmu pengobatan dan kefarmasian. Menurut Al-Biruni, farmasi merupakan suatu seni mengenali jenis, bentuk dan sifat-sifat fisika dari suatu bahan, serta seni mengetahui bagaimana mengolahnya untuk dijadikan sebagai obat (Wasito dan Herawati, 2008). Allah SWT telah mengkaruniakan kepada manusia kekayaan alam untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya demi kebaikan manusia di muka bumi. Hal ini tercantum dalam surat Asy Syu'ara' ayat 7 berikut ini:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ 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?” (QS:Asy-Syu'ara':7).

Arti dari tumbuh-tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan dapat memberikan manfaat. Salah satu diantaranya yaitu tanaman blewah (*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) yang dapat memberi nilai lebih.

Blewah merupakan salah satu tanaman yang termasuk dalam famili *Cucurbitaceae* (Ratu *et al.*, 2017). Blewah mengandung golongan senyawa polifenol dan saponin (Krishnamachari dan Nithyalakshmi, 2017). Saponin berperan sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak permeabilitas dinding sel sehingga dapat menimbulkan kematian sel (Cannell, 1998). Mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel (Heyne, 1987).

Pada pengujian tanaman blewah yang dilakukan oleh Ratu *et al.*, (2017) menunjukkan hasil positif mengandung golongan senyawa alkaloid dan terpenoid pada bagian kulit dan daging buah. Menurut Robinson (1995) alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Golongan senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif (Compean dan Ynalvez, 2014). Mekanisme kerja dari golongan senyawa terpenoid mampu bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga akan terjadi kerusakan (Cowan, 1999).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 96% buah blewah terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* penyebab diare. Penelitian ini dimulai dari proses ekstraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96% yang bersifat polar, karena dengan pelarut yang polar dapat menunjukkan golongan senyawa yang optimal dari buah blewah. Selanjutnya dilakukan pengujian antibakteri ekstrak etanol 96% buah blewah menggunakan metode kertas cakram karena mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi seberapa besar daya hambat ekstrak etanol 96% buah blewah. Daya hambat sendiri adalah kemampuan suatu zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri, untuk mengetahui daya hambat bakteri dengan dilihat dari zona bening cakram menggunakan jangka sorong.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol 96% buah blewah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*?
2. Berapa diameter zona hambat ekstrak etanol 96% buah blewah terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan ekstrak etanol 96% buah blewah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.
2. Mengetahui diameter zona hambat ekstrak etanol 96% buah blewah terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Mahasiswa

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah pengetahuan mahasiswa tentang manfaat buah blewah sebagai antibakteri khususnya bakteri yang patogen dan membantu mahasiswa memahami potensi tanaman sebagai antibakteri.

2. Bagi Lembaga Farmasi

Penelitian ini merupakan dasar ditemukannya obat baru untuk diare dari bahan alam. Untuk kedepannya diharapkan mampu tercipta sediaan fitofarmaka yang dapat digunakan sebagai antibakteri pada diare.

3. Bagi Lembaga dan Masyarakat

Penelitian ini dapat memberikan pengetahuan dan pemahaman kepada masyarakat terhadap pengembangan buah blewah sebagai terapi herbal antibakteri, sehingga masyarakat dapat memanfaatkan buah blewah sebagai obat alternatif untuk penyakit diare atau penyakit lain yang disebabkan oleh *Escherichia coli*.

1.5 Batasan Masalah

1. Ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% yang meliputi bagian kulit dan daging.
2. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%.
3. Metode yang digunakan untuk ekstraksi adalah menggunakan teknik ekstraksi maserasi bantuan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE).
4. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Nutrient Agar* (NA).
5. Metode yang digunakan untuk menentukan daya hambat adalah metode difusi kertas cakram (*paper disc*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan dalam Prespektif Islam

Allah SWT berfirman dalam al-Qur'an surat Al-An'am ayat 99 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman."

Menurut tafsir Quraish Shihab (2002) telah dijelaskan bahwa Allah SWT telah menurunkan air hujan dari awan untuk menumbuhkan berbagai jenis tanaman serta terdapat fase yang sedemikian rupa untuk tumbuhan tersebut dapat menghasilkan buah yang matang. Kemajuan ilmu pengetahuan telah dapat membuktikan kemahaesaan Allah SWT. Zat-zat yang diperlukan manusia dan sejumlah besar jenis hewan sangat berkaitan erat dengan zat-zat yang terdapat dalam tumbuhan, sehingga banyak sekali manfaat tumbuhan dalam bidang

kesehatan yang perlu dikembangkan. Buah blewah adalah salah satu buah yang bermanfaat bagi manusia. Pemanfaatannya tidak sebatas sebagai pengonsumsi saja, tetapi juga sebagai tumbuhan yang mampu mengobati penyakit atas izin Allah SWT.

2.2 Tinjauan Tentang Buah Blewah (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*)



Gambar 2.1 Buah Blewah
(Sumber: USDA, 2019)

Blewah (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) berasal dari Afrika selatan kemudian menyebar dan menetap di China, dan karena bangsa Eropa sangat menyukai buah Blewah maka penyebaran Blewah turut campur tangan bangsa Eropa yang gemar melaut dan menyebarkan blewah hingga tiba di Indonesia. Blewah merupakan salah satu tanaman yang termasuk dalam famili *Cucurbitaceae*. Blewah adalah tumbuhan penghasil buah yang banyak digunakan sebagai minuman penyegar di Indonesia (Ratu *et al.*, 2017). Blewah termasuk salah satu jenis buah-buahan yang disukai oleh masyarakat Indonesia karena memiliki cita rasa yang manis, beraroma wangi dan khas, serta menyegarkan (Rajagukguk *et al.*, 2017).

Blewah sejenis dengan melon namun berbeda kelompok budidaya. Blewah umumnya berbentuk bulat lonjong, dengan kulit berwarna jingga terang dengan bercak kehijauan, di balik kulit buah yang tipis, terdapat buahnya yang segar dan daging buah yang lembut serta ukuran dan bentuk buah yang bervariasi. Komoditas ini juga mempunyai nilai ekonomi dan prospek yang menjanjikan, baik dalam pemasaran buah maupun benihnya (Yuniastin *et al.*, 2018).

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Blewah

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Cucurbitales

Famili : Cucurbitaceae (suku labu-labuan)

Genus : *Cucumis*

Spesies : *Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*

(Sumber: USDA, 2019).

2.2.2 Khasiat buah blewah

Buah blewah memiliki beberapa manfaat diantaranya yaitu adanya kandungan potassium dalam buah blewah dapat menurunkan tekanan darah tinggi, mengurangi pembentukan plak di arteri, serta sebagai pencahar alami. Vitamin A yang terkandung didalamnya dapat menjaga kesehatan mata dan tulang serta baik dikonsumsi bagi perokok aktif maupun pasif. Kalium yang terdapat di dalam blewah mampu mengendalikan tekanan darah, cocok bagi penderita hipertensi (Kristianto, 2016).

Blewah merupakan sumber vitamin A dan betakaroten yang sangat baik. Kandungan betakarotennya merupakan jenis antioksidan yang dapat berperan penting dalam mengurangi konsentrasi radikal peroksil atau radikal bebas yang dapat mencegah penuaan dini ataupun mencegah kanker (Ratu *et al.*, 2017). Blewah dapat meningkatkan daya tahan tubuh, menyetatkan fungsi ginjal dan limpa, dan menurunkan tekanan darah karena kaya kandungan mineral kalium dan provitamin A serta serat makanan (Kusbandari dan Hari, 2017).

2.2.3 Kandungan Buah Blewah

Blewah mengandung kadar air lebih dari 90% selain itu juga mengandung serat, vitamin C, kalium dan pro-vitamin A. Blewah mengandung beta-karoten 2,029 mg/100 g, kalium 267 mg/100 g dan vitamin C 36,7 mg/100 g, serat 0,9 g/100 g. Beta-karoten yang terkandung dalam blewah akan dirubah menjadi provitamin A. Data ilmiah tentang analisis kandungan blewah masih terbatas. Kandungan blewah dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan daya tahan tubuh (Kusbandari dan Hari, 2017), dengan adanya manfaat vitamin A yang dapat mendukung sistem imunitas tubuh bekerja lebih optimal dalam menghalau infeksi (Villamor dan Fawzi, 2005), selain itu manfaat vitamin C sendiri memiliki peran dimana dapat memacu sel darah putih melawan infeksi, membunuh bakteri dan virus (Winarsi, 2007).

Berdasarkan penelitian Krishnamachari dan Nithyalakshmi (2017) menunjukkan bahwa hasil pengujian tanaman blewah positif mengandung golongan senyawa polifenol dan saponin. Saponin berperan sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak permeabilitas dinding sel sehingga dapat

menimbulkan kematian sel (Cannell, 1998). Mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel (Heyne, 1987).

Pada pengujian tanaman blewah yang dilakukan oleh Ratu *et al.*, (2017) menunjukkan hasil positif mengandung golongan senyawa alkaloid dan terpenoid pada bagian kulit dan daging buah. Tanaman yang mengandung alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif (Compean dan Ynalvez, 2014), golongan senyawa alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri (Robinson, 1995). Mekanisme kerja dari senyawa terpenoid bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga akan terjadi kerusakan. Rusaknya protein transmembran yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Kristanti *et al.*, 2008). Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapainya kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dapat dipisahkan dari sampel dengan proses penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

2.3.1 Ekstraksi Cara Panas

Metode ini melibatkan panas dalam prosesnya. Dengan adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan cara dingin. Metode ekstraksi cara panas menurut Depkes RI, (2000) diantaranya yaitu :

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali pengulangan proses pada residu pertama agar proses ekstraksinya sempurna. Prosedur dari metode ini yaitu pertama bahan atau sampel ditambah pelarut kemudian dipanaskan lalu pelarut akan menguap, pelarut yang menguap didinginkan oleh kondensor kemudian akan jatuh dan menguap lagi karena panas dan seterusnya. Proses ini umumnya dilakukan selama 1 jam.

2. Soxhlet

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biomasa ditempatkan dalam wadah soklet yang dibuat dengan kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus direfluks. Alat soxhlet akan mengkosongkan isinya ke dalam labu dasar bulat setelah pelarut mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melawati alat ini melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomasa secara efektif ditarik ke dalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut.

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4. Infus

Adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (suhu lebih dari 90°C) dan temperatur sampai titik didih air selama 30 menit.

2.3.2 Ekstraksi Cara Dingin

Ekstraksi cara dingin memiliki keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel. Sebagian besar senyawa dapat terekstraksi dengan ekstraksi cara dingin, walaupun ada beberapa senyawa yang memiliki keterbatasan kelarutan terhadap pelarut pada suhu ruangan. Keuntungan cara ini merupakan metode ekstraksi yang mudah karena ekstrak tidak dipanaskan sehingga kemungkinan kecil bahan alam menjadi terurai. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki pelarut ekstraksi pada suhu kamar (Heinrich *et al.*, 2004). Macam-macam ekstraksi dingin diantaranya yaitu :

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan cara merendam sampel dengan sekali-kali dilakukan pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau kamar (Depkes RI, 2000). Pengocokan dapat dilakukan dengan menggunakan alat *rotary shaker* dengan kecepatan sekitar 150 rpm. Umumnya perendaman dilakukan 24 jam dan selanjutnya pelarut diganti dengan pelarut baru. Namun dari beberapa penelitian melakukan perendama hingga 72 jam. Selama proses perendaman, cairan akan

menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Kemudian zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar (Agoes, 2007).

Maserasi berasal dari bahasa latin *Macerace* berarti mengairi dan melunakan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selam maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh, 1994).

Kerugiannya metode maserasi adalah pengerjaanya lama dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 1995). Keuntungan cara ekstraksi dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana. Namun metode ini juga

memiliki kekurangan, yaitu cara pengerjaannya yang lama dan ekstraksi yang kurang sempurna (Agoes, 2007).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*Exhaustiva extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Metode perkolasi dilakukan dengan mengalirkan pelarut melalui bahan sehingga komponen dalam bahan tersebut tertarik ke dalam pelarut. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

Pada metode perkolasi kekuatan yang berperan antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosis, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi). Kelemahan dari metode ini yaitu diperlukan banyak pelarut dan waktu yang lama, sedangkan komponen yang didapat relatif tidak banyak. Keuntungannya adalah tidak memerlukan pemanasan sehingga teknik ini baik untuk substansi termolabil (yang tidak tahan terhadap panas) (Agoes, 2007).

2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu metode fisik untuk pemisahan yang didasarkan atas perbedaan afinitas senyawa-senyawa yang sedang dianalisis terhadap dua fasa yaitu fasa stasioner atau fasa diam dan fasa mobil atau fasa gerak. Jadi campuran

senyawa-senyawa dapat mengalami adsorpsi dan desorpsi oleh fasa diam secara berturut-turut sehingga secara berurutan fasa gerak juga akan melarutkan senyawa-senyawa tersebut dan proses pemisahan dapat terjadi atau pemisahan juga dapat terjadi karena campuran senyawa memiliki kelarutan yang berbeda di antara dua fasa tersebut. Metode pemisahan yang sering digunakan dalam Kimia Organik Bahan Alam adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Kristanti *et al.*, 2008).

Fenomena yang terjadi pada KLT adalah berdasar pada prinsip adsorpsi. Setelah sampel ditotolkan di atas fasa diam, senyawa-senyawa dalam sampel akan terelusi dengan kecepatan yang sangat bergantung pada sifat senyawa-senyawa tersebut, sifat fasa diam dan sifat fasa gerak. Pada KLT, secara umum senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran rendah akan terelusi lebih cepat daripada senyawa-senyawa polar karena senyawa polar terikat lebih kuat pada bahan silika yang mengandung silanol (SiOH_2) yang pada dasarnya memiliki afinitas yang kuat terhadap senyawa polar (Kristanti *et al.*, 2008).

Pada hakikatnya KLT melibatkan dua peubah, yakni sifat fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap. Penjerap pada KLT yang paling umum dipakai adalah silika gel, alumina, kiselgur dan selulosa. Fasa gerak dapat berupa segala macam pelarut atau campuran pelarut. Lapisan tipis sering mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak warna pada lapisan yang telah dikembangkan. Indikator fluoresensi ialah senyawa yang memancarkan sinar tampak jika disinari dengan sinar berpanjang gelombang lain, biasanya sinar

ultraviolet sehingga lapisan yang mengandung indikator fluoresensi akan bersinar jika disinari pada panjang gelombang yang tepat (Gritter *et al.*, 1991).

2.4.1 Fasa Diam dan Fasa Gerak

Fasa diam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan pelat KLT yang biasanya tersedia secara komersial, dengan ukuran partikel standar yang bervariasi untuk meningkatkan reproduibilitas. Pelat KLT disiapkan dengan mencampur *adsorben*, seperti silika gel, dengan sejumlah kecil pengikat inert seperti kalsium sulfat (gypsum) dan air. Campuran ini tersebar sebagai bubuk tebal pada lembaran pembawa yang tidak reaktif, biasanya kaca, aluminium foil tebal, atau plastik. Pelat yang dihasilkan kemudian dikeringkan dan diaktivasi dengan memanaskannya pada oven selama 30 menit pada 110°C. Ketebalan lapisan *adsorben* berkisar antara 0,1-0,25 mm untuk keperluan KLT analitik, dan sekitar 0,5-2,0 mm untuk KLT preparatif (Soebagio, 2003).

Fasa gerak KLT yaitu menggunakan eluen. Pertimbangan untuk memilih pelarut pengembang (eluen) umumnya sama dengan pemilihan eluen untuk kromatografi adsorpsi pengelusi eluen naik sejalan dengan polaritas misal (heksana, aseton, alkohol dan air). Eluen pengembang dapat berupa pelarut tunggal atau campuran pelarut dengan susunan tertentu. Pelarut-pelarut pengembang harus mempunyai kemurnian yang tinggi. Terdapatnya sejumlah kecil air atau zat pengotor lainnya dapat menghasilkan kromatografi yang tidak diharapkan (Soebagio, 2003).

Deteksi terhadap noda yang timbul pada KLT kadang-kadang lebih mudah dibandingkan kromatografi kertas karena dapat dipakai cara-cara yang lebih

umum. Untuk senyawa organik dipakai cara menyemprot lempeng dengan asam sulfat kemudian dipanaskan sampai senyawa seperti orang dan timbul noda-noda hitam. Cara ini adalah cara kualitatif. Data yang diperoleh dari KLT adalah nilai RF yang berguna untuk identifikasi senyawa. Nilai RF untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai RF dari senyawa standar. Nilai Rf dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa (Day, 2002).

2.4.2 Skrining Fitokimia

Metabolit sekunder dalam tumbuhan dapat dianalisis menggunakan KLT. Kromatografi Lapis Tipis secara kualitatif juga dapat digunakan untuk analisa senyawa alkaloid, terpenoid, saponin dan polifenol.

a. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik (batasan ini tidak terlalu tepat karena banyak senyawa heterosiklik nitrogen lain yang ditemukan di alam yang bukan tergolong alkaloid) (Kristanti *et al.*, 2008).

Sampai saat ini lebih dari 5000 senyawa alkaloid yang telah ditemukan dan hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan fisiologis tertentu. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan, tetapi sering kali kadar alkaloid dalam jaringan tumbuhan ini kurang dari 1%. Penetapan struktur alkaloid juga memakan banyak waktu karena kerumitannya,

di samping mudahnya molekul mengalami reaksi penataan ulang (Kristanti *et al.*, 2008).

Alkaloid dapat dipisahkan dari sebagian besar komponen tumbuhan yang lain berdasarkan sifat basanya. Oleh karena itu, senyawa golongan ini sering diisolasi dari bentuk garamnya dengan HCl atau H₂SO₄. Garam ini atau alkaloid bebasnya berbentuk padat membentuk kristal yang tidak berwarna. Banyak alkaloid yang bersifat optis aktif dan biasanya hanya satu isomer optik yang dijumpai di alam, meskipun dikenal juga campuran rasemat alkaloid (Kristanti *et al.*, 2008).

b. Terpenoid

Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terbesar, dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya terpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester dan iridoid (Kristanti *et al.*, 2008).

c. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan akan menimbulkan busa jika dilakukan pengocokan dalam air (Robinson, 1995). Menurut Hasan *et al.*, (2010) Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Beberapa tahun terakhir ini, saponin tertentu menjadi penting karena dapat digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan

dalam bidang kesehatan ketika diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik. Saponin dibedakan atas dua jenis, yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson, 1995).

d. Polifenol

Polifenol memiliki tanda khas yaitu memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Senyawa polifenol merupakan senyawa yang tersebar luas sebagai zat warna alam yang menyebabkan warna pada bunga, kayu, buah. Mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel (Heyne, 1987).

2.5 Tinjauan Tentang Diare

Diare adalah buang air besar (defekasi) dengan tinja berbentuk cair atau setengah cair (setengah padat), kandungan air tinja lebih banyak dari biasanya lebih dari 200 g atau 200 ml/24 jam. Definisi lain memakai kriteria frekuensi, yaitu buang air besar encer lebih dari 3 kali per hari. Buang air besar encer tersebut dapat/tanpa disertai lendir dan darah (Guerrant *et al.*, 2001).

Diare akut adalah diare yang onset gejalanya tiba-tiba dan berlangsung kurang dari 14 hari, sedang diare kronik yaitu diare yang berlangsung lebih dari 14 hari. Diare dapat disebabkan infeksi maupun non infeksi. Dari penyebab diare yang terbanyak adalah diare infeksi. Diare infeksi dapat disebabkan Virus, Bakteri, dan Parasit (Friedman *et al.*, 2003).

2.5.1 Etiologi Diare

Menurut Widoyono (2008) penyebab diare dapat dikelompokkan menjadi :

- a. Virus: *Rotavirus* (40-60%), *Adenovirus*
- b. Bakteri: *Escherichia coli* (20-30%), *Shigella* sp. (1-2%), *Vibrio cholera*, dan lain-lain
- c. Parasit: *Entamoeba histolytica* (<1%), *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* (4-11%).
- d. Keracunan makanan
- e. Malabsorpsi: Karbohidrat, lemak, dan protein
- f. Alergi: makanan, susu sapi.
- g. Imunodefisiensi: AIDS

Menurut Suriadi (2006), faktor penyebab gastroenteritis adalah:

1. Faktor Infeksi
 - a. Bakteri: *Enteropathogenic*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*
 - b. Virus: *Enterovirus echoviruses*, *Adenovirus*, *Human Retrovirus*
 - c. Jamur: *Candida Enteritis*
 - d. Parasit: *Giardia clambia*, *Crytosporidium*
 - e. Protozoa

2. Bukan Faktor Infeksi

- a. Alergi makanan seperti susu, protein, keracunan makanan
- b. Gangguan metabolik atau malabsorpsi
- c. Iritasi langsung pada saluran pencernaan oleh makanan
- d. Obat-obatan seperti antibiotik
- e. Emosional atau stress
- f. Obstruksi usus

3. Penyakit Infeksi

Otitis Media, Infeksi saluran nafas atas, infeksi saluran kemih.

2.5.2 Gejala Diare

Menurut Hidayat (2006), tanda dan gejala diare yaitu ditandai dengan frekuensi buang air besar lebih dari 3 kali sehari dan pada neonatus lebih dari 4 kali sehari, bentuk cair pada buang air besarnya kadang-kadang disertai lendir dan darah, nafsu makan menurun, warnanya lama-lama menjadi kehijauan karena bercampur empedu, muntah, rasa haus, malaise. Adanya lecet pada daerah sekitar anus, feses bersifat banyak asam laktat yang berasal dari laktosa yang tidak dapat diserap oleh usus. Adanya tanda dehidrasi, kemudian dapat terjadi diuresis yang berkurang (oliguria sampai dengan anuria) atau sampai dengan terjadi asidosis metabolik seperti tampak pucat dengan pernafasan kussmaul.

Menurut Sodikin (2012), beberapa tanda dan gejala pada kasus gastroenteritis, antara lain :

- a. Bayi atau anak menjadi cengeng, rewel, gelisah
- b. Suhu badan meningkat

- c. Nafsu makan berkurang atau tidak ada
- d. Timbul diare
- e. Feses semakin cair, mungkin mengandung darah dan atau lendir
- f. Warna feses berubah menjadi kehijau-hijauan karena bercampur empedu.
- g. Muntah baik sebelum maupun sesudah diare
- h. Terdapat gejala dan tanda dehidrasi yaitu ubun-ubun besar cekung pada bayi, tonus otot dan turgor kulit berkurang, selaput lendir pada mulut dan bibir terlihat kering, berat badan menurun, pucat, lemah

2.5.3 Patofisiologi Diare

Menurut Mutaqqin dan Sari (2011), peradangan pada gastroenteritis disebabkan oleh infeksi dengan melakukan invasi pada mukosa, memproduksi enterotoksin dan atau memproduksi sitotoksin. Mekanisme ini menghasilkan peningkatan sekresi cairan dan menurunkan absorpsi cairan sehingga terjadi dehidrasi dan hilangnya nutrisi dan elektrolit.

Menurut Mutaqqin dan Sari (2011) adapun mekanisme dasar yang menyebabkan diare, meliputi hal-hal sebagai berikut :

- a. Gangguan osmotik, dimana asupan makanan atau zat yang sukar diserap oleh mukosa intestinal menyebabkan tekanan osmotik dalam rongga usus meningkat sehingga terjadi pergeseran air dan elektrolit ke dalam rongga usus. Isi rongga usus yang berlebihan ini merangsang usus untuk mengeluarkannya sehingga timbul diare.
- b. Respon inflamasi mukosa, pada seluruh permukaan intestinal akibat produksi enterotoksin dari agen infeksi memberikan respons peningkatan aktivitas

sekresi air dan elektrolit oleh dinding usus ke dalam rongga usus, selanjutnya diare timbul karena terdapat peningkatan isi rongga usus.

- c. Gangguan motilitas usus, terjadinya hiperperistaltik mengakibatkan berkurangnya kesempatan usus untuk menyerap makanan sehingga timbul diare, sebaliknya bila peristaltik usus menurun mengakibatkan bakteri timbul berlebihan yang selanjutnya dapat menimbulkan diare pula.

Dari ketiga mekanisme diatas menyebabkan :

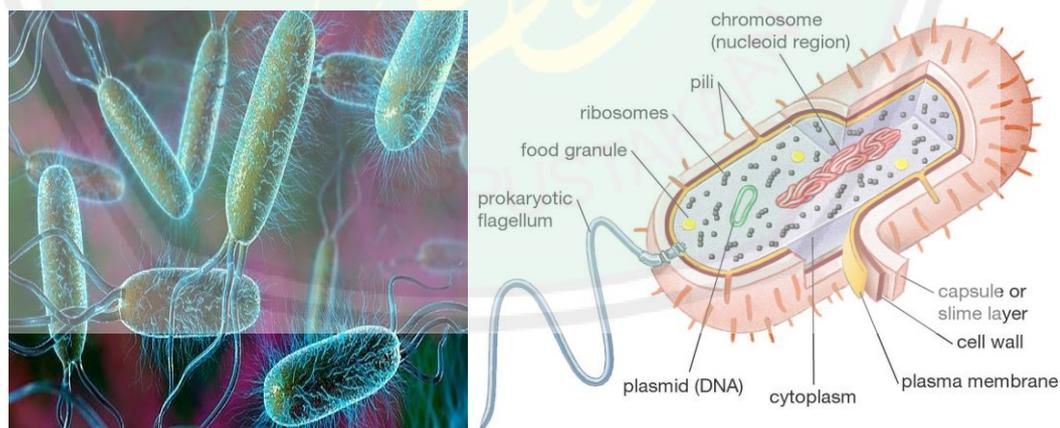
- a. Kehilangan air dan elektrolit (terjadi dehidrasi yang mengakibatkan gangguan keseimbangan asam basa (asidosis metabolik, hipokalemia).
- b. Gangguan gizi akibat kelaparan (masuk makanan kurang, pengeluaran bertambah).
- c. Hipoglikemia
- d. gangguan sirkulasi darah.

Pendapat lain menurut Mutaqqin dan Sari (2011), diare juga dapat terjadi akibat masuknya mikroorganisme hidup ke dalam usus setelah berhasil melewati rintangan asam lambung. Mikroorganisme tersebut berkembangbiak, kemudian mengeluarkan toksin dan akibat toksin tersebut terjadi hipersekresi yang selanjutnya menimbulkan diare. Mikroorganisme memproduksi toksin enterotoksin yang diproduksi agen bakteri (*E. coli* dan *Vibrio cholera*) memberikan efek langsung dalam peningkatan pengeluaran sekresi air ke dalam lumen gastrointestinal.

2.5.4 Penatalaksanaan Diare

Penatalaksanaan diare dapat dibagi menjadi 2, yaitu terapi farmakologi dan non farmakologi. Terapi farmakologi, umumnya diare nonspesifik dapat sembuh dengan sendirinya, namun untuk mengurangi gejala diare dapat digunakan beberapa obat, antara lain *adsorben* (attapulgit dan pektin), dan antiemetik (metoklopramid, domperidon, dan ondansentron). Terapi infeksi pada penderita diare yang terindikasi infeksi patogen adalah dengan pemberian antibiotik (siprofloksasin dan metronidazol) (Siswidiyasari *et al.*, 2014). Terapi non farmakologi, dapat dilakukan dengan cara pemberian *oral rehidration* atau memperbanyak intake cairan seperti air mineral, sup atau jus buah, dengan tujuan untuk mengembalikan komposisi cairan dan elektrolit tubuh yang sebelumnya mengalami dehidrasi akibat diare (Berarrdi *et al.*, 2009).

2.6 Tinjauan Tentang bakteri *Escherichia coli*



Gambar 2.2 Struktur bakteri *Escherichia coli* (CDC, 2018).

Domain : Bacteria

Kingdom : Eubacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

(Sumber: CDC, 2018).

Bakteri *E. coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya (Carter dan Wise, 2004). Nama *Escherichia* diberikan pada tahun 1920 sebagai penghargaan terhadap Theodor Escherich (Berg, 2004). *E. coli* memiliki ukuran sel dengan panjang 2,0-6,0 μm dan lebar 1,1-1,5 μm serta berat sel *E. coli* 2×10^{-12} gram. Bakteri ini berbentuk batang, lurus, tunggal, berpasangan atau rantai pendek, termasuk Gram (-) dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob (Carter dan Wise, 2004).

Pada umumnya, bakteri ini dapat ditemukan dalam usus besar manusia. Kebanyakan *E. coli* tidak berbahaya, tetapi ada yang dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius pada manusia yaitu diare berdarah karena eksotoksin yang dihasilkan. Sumber bakteri ini contohnya adalah daging yang belum masak, seperti daging *burger* yang belum matang (Sutiknowati, 2016). Menurut Perna *et al.*, (2001), *Escherichia coli* memiliki ciri-ciri kondisi

lingkungan yang berbeda dengan *E. coli* lain yang berjenis O157:H7, dimana *E. coli* tidak dapat bertahan hidup pada kondisi suhu rendah dan dalam kondisi pH asam. Hal ini tidak terjadi pada *E. coli* jenis O157:H7 yang dapat bertahan hidup pada kondisi suhu yang rendah dan dalam kondisi asam (Madigan *et al.*, 2009).

2.7 Tinjauan Tentang Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang sifatnya merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971).

2.7.1 Tinjauan Tentang Mekanisme Kerja Antibakteri

Mekanisme kerja dalam penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteriostatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

Menurut Madigan *et al.*, (2000), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antimikrobia mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan mikrobia yaitu :

1. Bakteriostatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakterostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.
2. Bakteriosidal memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.
3. Bakteriolitik menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antimikrobia. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik, jumlah sel total maupun jumlah sel hidup menurun.

Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu (Sulistyo, 1971) :

1. Menghambat sintesis dinding sel mikrobia
2. Merusak keutuhan dinding sel mikrobia

3. Menghambat sintesis protein sel mikrobia
4. Menghambat sintesis asam nukleat
5. Merusak asam nukleat sel mikrobia

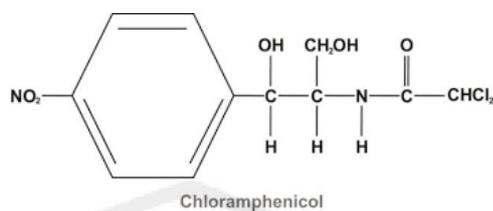
Daya antimikrobia diukur secara *In-vitro* agar dapat ditentukan kemampuan suatu zat antimikrobia (Jawetz dan Adelberg's, 2001). Adanya fenomena ketahanan tumbuhan secara alami terhadap mikrobia menyebabkan pengembangan sejumlah senyawa yang berasal dari tanaman yang mempunyai kandungan antibakteri dan antifungi (Griffin, 1981).

2.7.2 Tinjauan Tentang Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik berspektrum luas yang berasal dari beberapa jenis streptomyces misalnya *S. Venezuelae*, *S. phaeochromogenes* var. *chloromycetius* dan *S. omiyanensis*. Setelah para ahli berhasil mengelucidasi strukturnya, maka sejak tahun 1950 kloramfenikol sudah dapat di sintesis secaratotal. *S. Venezuelae* pertama kali diisolasi oleh Burkholder pada tahun 1947 dari contoh tanah yang diambil di Venezuela. Filtrat kultur cair organisme menunjukkan aktivitas terhadap bakteri gram negatif dan rikestia. Bentuk kristal antibiotik ini diisolasi oleh Bartz pada tahun 1948 dan dinamakan kloromisetin karena adanya ion klorida dan didapat dari suatu aktinomisetes (Wattimena *et al.*, 1991).

Menurut Dirjen POM (1995), kloramfenikol memiliki sifat fisikokimia yaitu:

Rumus bangun:



Gambar 2.3 Rumus bangun kloramfenikol

| | |
|---------------|---|
| Rumus Molekul | : $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ |
| Nama Umum | : Kloramfenikol |
| Berat molekul | : 323,13 |
| Pemerian | : Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam. |
| Kelarutan | : Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilenglikol, dalam aseton dan dalam etil asetat. |
| Persyaratan | : Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. |

2.8 Tinjauan Tentang Metode Pengujian Antibakteri

Pada uji ini, yang akan diukur adalah respons pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Salah satu manfaat dari uji antimikroba adalah diperolehnya satu sistem pengobatan yang efektif dan efisien.

Terdapat bermacam-macam metode uji antimikroba seperti yang dijelaskan berikut (Pratiwi, 2008) :

1. Metode Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba didalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat Kadar Hambat Minimum (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu (Pratiwi, 2008) :

a. Pengenceran Serial dalam tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian di inokulasikan dengan kuman dan di inkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai KHM (Pratiwi, 2008).

b. Penipisan Lempeng Agar

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan kuman kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap

pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi Hambat Minimal (KHM) (Pratiwi, 2008).

2. Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (Brooks *et al.*, 2007). Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

a. Cara Cakram (*Disc*)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pelczar dan Chan, 1988). Metode cakram disk atau kertas cakram ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya

adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium (Pelczar dan Chan, 1988). Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode kertas cakram biasanya sulit untuk diinterpretasikan. Selain itu, metode kertas cakram ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat (Bonang, 1992).

b. Cara Parit (*ditch*)

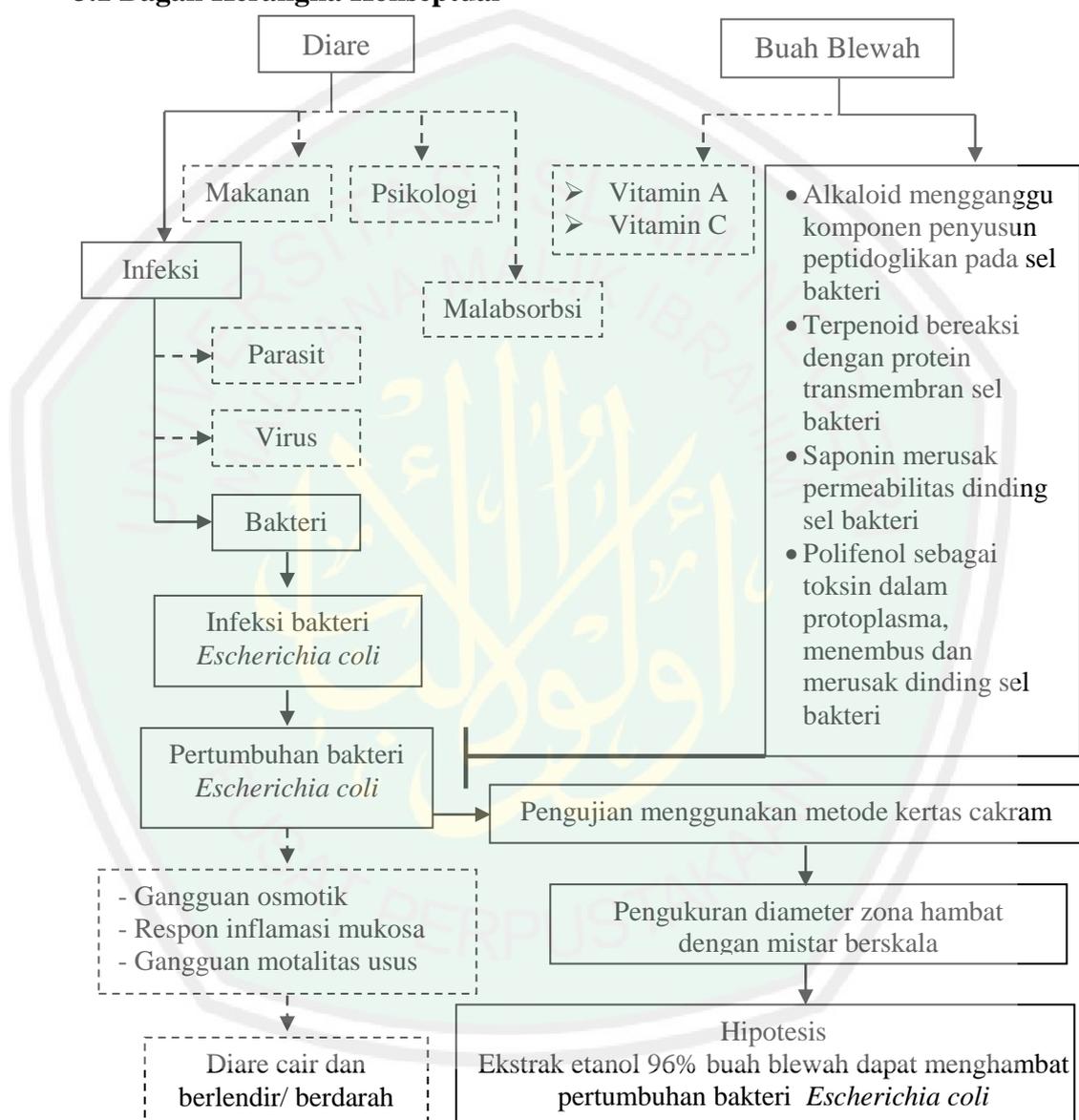
Suatu lempeng agar yang telah di inokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Bonang, 1992).

c. Cara Sumuran (*hole/cup*)

Pada lempeng agar yang telah di inokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Bonang, 1992).

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual

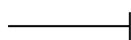


Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual

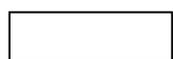
Keterangan:



Tidak diteliti



Menghambat



Diteliti



Berpengaruh

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Diare merupakan penyakit dimana bentuk feses menjadi lunak hingga cair dan bertambahnya frekuensi pembuangan feses lebih dari 3 kali atau lebih dalam sehari yang kemungkinan dapat disertai dengan muntah atau feses yang berdarah. Penyebab diare ada bermacam-macam diantaranya yaitu malabsorpsi, psikologi, makanan dan infeksi. Diare yang terjadi di masyarakat pada umumnya disebabkan karena infeksi, salah satunya yaitu infeksi bakteri *Escherichia coli*.

Terapi diare yang disebabkan oleh infeksi umumnya dengan antibiotik, namun saat ini penggunaan antibiotik sudah banyak mengalami resisten. Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Jurnal *et al.*, (2009) Sulfametoxazole-Trimetoprim mempunyai resistensi paling tinggi terhadap kuman penyebab diare akut. Banyaknya resistensi antibiotik yang terjadi, mendorong perlunya sumber alternatif antibakteri baru yaitu dengan menggunakan buah blewah.

Blewah pada penelitian Krishnamachari dan Nithyalakshmi, (2017) mengandung golongan senyawa polifenol dan saponin. Saponin dapat berperan sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak permeabilitas dinding sel sehingga dapat menimbulkan kematian sel (Cannell, 1998). Mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel (Heyne, 1987). Pada pengujian tanaman blewah yang dilakukan oleh Ratu *et al.*, (2017) menunjukkan hasil positif mengandung golongan senyawa alkaloid dan terpenoid pada bagian kulit dan daging buah. Menurut Robinson (1995) alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun

peptidoglikan pada sel bakteri (Compean dan Ynalvez, 2014). Mekanisme kerja dari golongan senyawa terpenoid mampu bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga akan terjadi kerusakan (Cowan, 1999).

Penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak etanol 96% buah blewah menggunakan metode UAE. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* penyebab diare menggunakan metode kertas cakram, kemudian diamati diameter zona hambatnya. Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong dengan cara diukur diameter total zona bening luar cakram.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol 96% buah blewah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *experimental posstest-only control design* yang bertujuan untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri ekstrak buah blewah dengan pelarut etanol 96% terhadap bakteri *Escherichia coli* penyebab diare.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini direncanakan akan berlangsung pada bulan Februari sampai dengan April 2019, bertempat di:

1. Laboratorium Fitokimia Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Malang.

4.3 Variabel Penelitian

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

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak buah blewah menggunakan pelarut etanol 96%.

b. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat ekstrak etanol 96% buah blewah terhadap bakteri *Escherichia coli* yang dilihat dari zona bening cakram.

c. Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini yaitu kontrol positif kloramfenikol 30 µg/mL, suhu inkubasi 37°C dan suhu autoklaf 121°C.

4.4 Definisi Operasional

1. Buah blewah yang digunakan adalah bagian kulit dan daging yang masih muda ± berumur 43 hari, karena kandungan senyawa sebagai antibakterinya lebih banyak ditemukan pada buah yang masih muda.
2. Ekstrak buah blewah berupa cairan yang kental, diperoleh dari kulit dan daging dengan cara ekstraksi menggunakan metode UAE yang kemudian diuapkan menggunakan *Rotary Evaporator*.
3. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96%. Pelarut etanol 96% adalah senyawa polar yang mudah menguap.
4. Dosis dibuat dengan melakukan pengenceran ekstrak dari larutan induk ke varian konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm dan 400 ppm.

5. Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang berbentuk basil (batang), bakteri ini tidak berbahaya namun jika berlebihan di dalam tubuh dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius pada manusia. Bakteri diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang.
6. Metode uji aktivitas antibakteri menggunakan difusi kertas cakram. Metode difusi ini dilakukan dengan cara media agar yang telah diinokulasi bakteri kemudian dimasukkan kertas cakram dalam media dan diisi dengan senyawa uji.
7. Daya hambat adalah kemampuan suatu zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri, untuk mengetahui daya hambat bakteri dengan dilihat dari zona bening cakram dan diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Daya hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah sebagai berikut:

4.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat timbang neraca analitik, gelas arloji, pipet ukur, gelas beaker, gelas ukur, labu ukur, batang pengaduk, spatula, sendok tanduk, corong pisah, kertas saring, *erlenmeyer*, *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) (SOLTEC), *Rotary evaporator* (Heidolph),

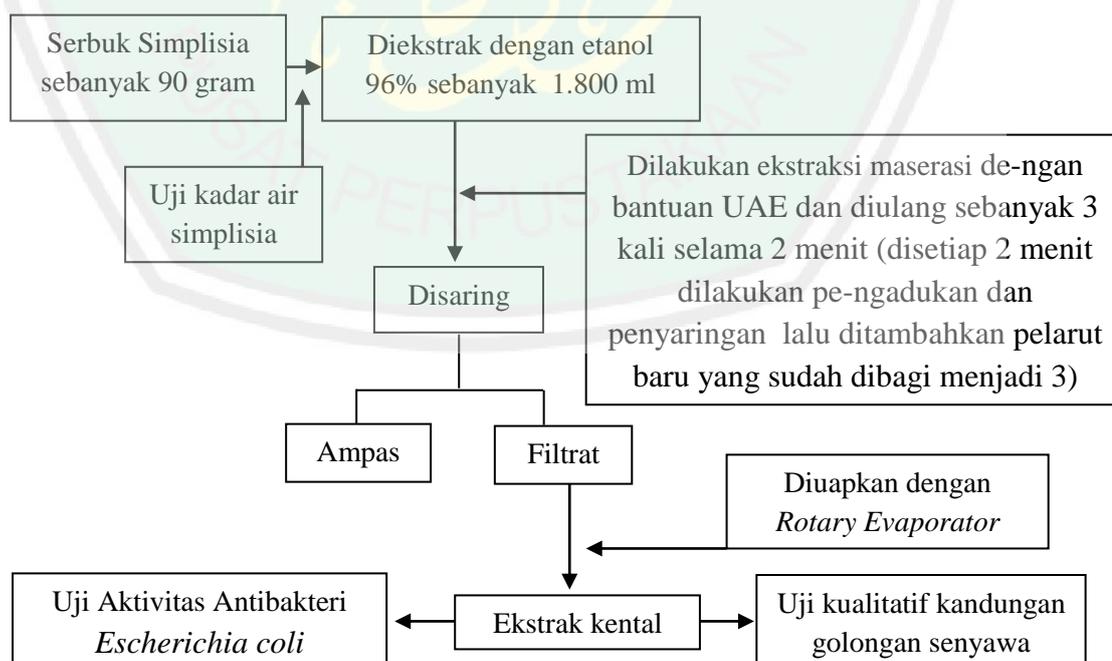
cawan porselen, eppendorf, *Moisture Analyzer* (Mettler Toledo), rak tabung, tabung reaksi, penjepit, bunsen, kasa, kaki tiga, *oven* (Memert), *chamber*, cawan petri, mikropipet, Millipore, spuit, ose kolong, kapas lidi, lampu spiritus, *thermometer*, *Paper disc*, *Autoclave* (Memert), dan inkubator.

4.5.2 Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah blewah, etanol 96%, n-heksan, aseton, asam formiat, H_2SO_4 , NaCl 10%, $FeCl_3$ 1%, HCl 2 N, NH_4OH 28%, $CHCl_3$, metanol, etil asetat, larutan gelatin, pereaksi dregendorf, anesaldehida asam sulfat, tween 80, alkohol 70%, aquades, *aluminium foil*, spiritus, *wrapping plastic*, media *Nutrient Agar* (NA), DMSO, kloramfenikol, dan biakan bakteri *Escherichia coli*.

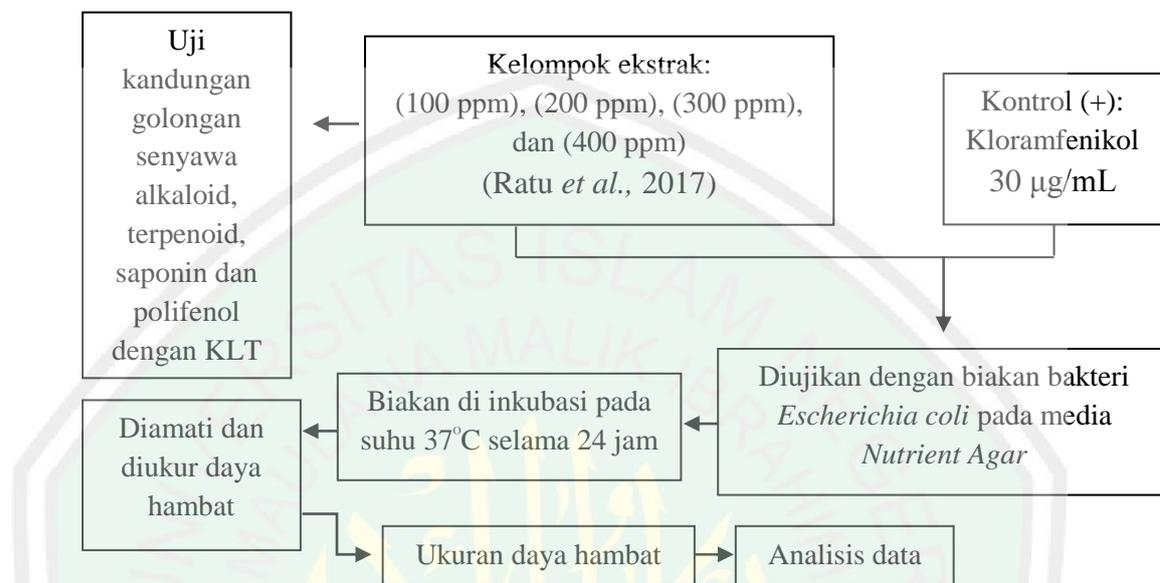
4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Skema kerja ekstraksi sampel



Gambar 4.1 Skema Kerja Ekstraksi Sampel

4.6.2 Skema uji *in-vitro*



Gambar 4.2 Skema Uji *In Vitro*

4.6.3 Determinasi

Determinasi tanaman buah blewah dilakukan di Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Materia Medica Batu, Jawa Timur.

4.6.4 Persiapan sampel

Sampel yang digunakan adalah bagian kulit dan daging buah blewah. Bagian tersebut kemudian diiris tipis-tipis, dicuci, dan dikeringkan dibawah sinar matahari mulai pukul 07.00 - 11.00 (± 4 jam) selama $\pm 3-4$ hari dengan 2 kali pembalikan dalam sehari agar pengeringan merata. Selanjutnya digiling hingga diperoleh serbuk halus yang seragam. Serbuk halus yang diperoleh dianalisis kadar airnya, dan selanjutnya dilakukan ekstraksi.

4.6.5 Analisis kadar air serbuk simplisia buah blewah

Analisis kadar air dalam serbuk simplisia digunakan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Serbuk simplisia diukur kada airnya menggunakan *Moisture Analyzer*. Setelah alat *Moisture Analyzer* dinyalakan dan layar menunjukkan tampilan 0,000 g, penutup alat dibuka, lalu sample pan kosong dimasukkan ke dalam *sample pan handler*. Penutup alat diturunkan dan secara otomatis alat akan menera atau menunjukkan tampilan 0,000 pada layar. Kemudian sejumlah $\pm 0,500$ g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam *sample pan* dan penutup alat diturunkan. Secara otomatis, alat akan memulai pengukuran hingga terbaca hasil pengukuran % MC pada layar. Pengukuran kadar air tersebut harus dibawah 10% (Menteri Kesehatan RI, 1994). Proses pengukuran kadar tersebut dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

4.6.6 Ekstraksi buah blewah

Teknik yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah teknik ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik. Tujuannya adalah untuk menyari atau mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dengan optimal dalam waktu yang cepat. Pembuatan ekstrak dimulai dari ekstraksi menggunakan metode UAE dengan pelarut etanol 96%. Metode ini dipilih agar menghasilkan rendemen lebih tinggi dan waktu proses lebih singkat. Proses ekstraksi diulang sebanyak 3 kali selama 2 menit (disetiap 2 menit dilakukan pengadukan) selanjutnya dilakukan penyaringan, kemudian residu dilarutkan dengan pelarut baru yang sudah dibagi menjadi 3. Proses penyaringan digunakan kertas saring. Setelah selesai

diekstraksi, filtrat ekstrak dipekatkan dengan *Rotary Evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat. Selanjutnya ekstrak pekat dimasukkan ke dalam oven agar ekstrak menjadi kental.

4.6.7 Uji kualitatif golongan senyawa secara umum

Adapun uji yang dilakukan dalam percobaan ini diantaranya yaitu uji golongan senyawa alkaloid, terpenoid, saponin dan polifenol.

a. Identifikasi senyawa golongan alkaloid

Ekstrak 0,9 gram ditambah etanol hingga larut, lalu ditambah 5 ml HCl 2 N dan kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambah 0,3 gram NaCl dan diaduk rata kemudian disaring. Filtrat ditambah 5 ml HCl 2 N. Larutan diambil secukupnya dan ditambah NH_4OH pekat 28% sampai larutan menjadi basa, kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform (dalam tabung reaksi). Filtrat (Fase CHCl_3) diupayakan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol (1 mL) dan siap untuk pemeriksaan dengan KLT. Fase diam yang digunakan adalah Plat silika Gel F₂₅₄, dan fasa gerak yang digunakan CHCl_3 -Etil asetat (1:1). Selanjutnya, disemprotkan penampak noda yaitu pereaksi Dragendorff. Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak.

b. Identifikasi senyawa golongan terpenoid

Ekstrak 0,2 gram ditambah beberapa tetes etanol, diaduk sampai larut, totolkan pada fasa diam. Langkah selanjutnya dilakukan uji KLT menggunakan fasa diam Plat silika Gel F₂₅₄, dan dengan fasa gerak n-heksana-etil asetat (4:1).

Selanjutnya, disemprotkan penampak noda Anesaldehida asam sulfat. Jika timbul warna merah ungu atau ungu, maka menunjukkan adanya terpenoid.

c. Identifikasi senyawa golongan saponin

Ekstrak sebanyak 0,2 gram dimasukkan tabung reaksi, kemudian ditambah air suling 10 ml, dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Bila terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan 3 cm di atas permukaan cairan, maka tes buih positif mengandung saponin.

d. Identifikasi senyawa golongan polifenol

Ekstrak 0,3 gram ditambah 10 ml aquadest panas, diaduk dan di biarkan sampai temperatur kamar, lalu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk dan di saring. Filtrat dibagi menjadi dua (satu sebagai blanko dan satu sebagai bahan uji). Langkah selanjutnya larutan uji ditambah dengan sedikit larutan gelatin dan 5 ml larutan NaCl 10%, jika tidak ada endapan putih maka dilanjutkan dengan penambahan FeCl_3 beberapa tetes, kemudian diamati terjadinya perubahan warna. Jika perubahan warna menjadi hijau biru hingga hitam, menunjukkan adanya senyawa polifenol. Langkah terakhir dilakukan uji KLT, pengujian dilakukan menggunakan larutan blanko sebelumnya. Fasa diam digunakan Plat silika Gel F_{254} , dan fasa gerak kloroform-etil asetat-asam formiat (0,5:9:0,5). Jika timbul warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam sampel.

4.6.8 Uji mikrobiologi

Tahapan persiapan terdiri dari inventarisasi alat dan bahan yang dibutuhkan dalam penelitian, sterilisasi alat dan media, dan rekultur bakteri uji.

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat seperti tabung reaksi, cawan petri, yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan. Selanjutnya dibungkus menggunakan kertas bersih dan disterilkan agar tidak terjadi kontaminasi. Sterilisasi alat seperti gelas atau berbahan kaca dilakukan menggunakan *autoclave*. Sterilisasi dilakukan pada tekanan 15 Psi dengan suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang berbahan dari besi seperti pinset, dan ose dilakukan sterilisasi menggunakan oven.

Bahan atau media yang digunakan yaitu media *Nutrient Agar* (NA). NA sebanyak 1,68 g dilarutkan kedalam 60 ml aquadest, lalu dipanaskan diatas *hot plate*. Pengadukan dilakukan dengan memasukkan *magnetic stirer* kedalam larutan (Fauziah, 2018). Selanjutnya ditunggu hingga homogen atau hampir mendidih hingga larutan berubah warnanya menjadi kuning jernih lalu dituangkan kedalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas yang telah dibungkus dengan kain kasa. Kemudian di sterilkan dengan autoklaf pada tekanan 15 Psi dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah diangkat dari autoklaf kemudian media NA dituangkan ke dalam cawan petri steril ± 15 ml dan diamkan hingga memadat.

b. Penyiapan Bakteri Uji

Kultur murni *Escherichia coli* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang yang kemudian dikultur ulang untuk memperbanyak populasi bakteri tersebut. Selanjutnya media NA dalam cawan petri yang telah memadat disiapkan, lalu bakteri uji digoreskan menggunakan jarum inokulasi pada medium padat dalam cawan petri. Goresan

dapat dimulai dari satu titik membentuk garis-garis yang sejajar. Hasil inokulasi bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C selama 24 jam.

c. Uji Aktivitas Antibakteri

Tahap pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi kertas cakram. Konsentrasi bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10^6 CFU/mL, CFU singkatan dari *Colony Forming Unit* yang artinya unit-unit atau satuan pembentuk koloni. Pengenceran bakteri dilakukan dari standar 0,5 Mc. Farland (10^8 CFU/mL) yang kemudian diencerkan ke konsentrasi 10^6 CFU/mL dengan cara pengenceran bertingkat.

Pengenceran bakteri dilakukan dengan memasukkan 1 gram suspensi bakteri dan 9 ml aquades steril ke dalam tabung reaksi, kemudian di homogenkan dengan cara menggunakan *vortex mixer* dan setarakan dengan 0,5 Mc. Farland (10^8 CFU/mL). Selanjutnya, sebanyak 1 ml suspensi diambil dari tabung pertama kemudian dimasukkan tabung kedua yang berisi 9 ml aquades steril lalu di homogenkan dengan cara menggunakan *vortex mixer*, begitu juga seterusnya hingga pengenceran ketiga. Sehingga didapat pengenceran bertingkat 10^6 CFU/mL.

Selanjutnya proses perlakuan ekstrak, pertama hal yang harus dilakukan yaitu dengan membuat larutan induk 500 ppm terlebih dahulu dengan ditambahkan tween 80 sebanyak 0.5% dalam gelas beker untuk membantu kelarutannya, kemudian dilakukan pengenceran menjadi konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm. Selanjutnya dibuat kontrol positif yaitu kloramfenikol 30 µg/mL. Selanjutnya baik ekstrak maupun kontrol positif di filter

menggunakan Millipore dengan prinsip kerja yaitu mengalirkan bahan cair melalui pori-pori kecil yang tidak bisa dilalui mikroorganisme tertentu.

Paper disc berdiameter 0,5 cm disterilkan kemudian ditetesi ekstrak buah blewah konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan kontrol positif kemudian ditunggu hingga meresap lalu diletakkan pada media yang berisi bakteri uji menggunakan pinset, dan dibuat pengulangan sebanyak tiga kali, proses tersebut dilakukan di dalam LAF. Proses selanjutnya media di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Efektivitas ekstrak buah blewah dilihat dari daya hambat yang didapatkan. Daya hambat terlihat lebih bening daripada daerah sekitarnya dan tidak ditumbuhi bakteri. Daya hambat dapat diukur dengan jangka sorong atau penggaris, dilakukan dengan cara meletakkannya pada batas luar kertas saring sampai dengan batas terpanjang dan batas terpendek daerah hambat yang terbentuk.

4.7 Analisis Data

Pengujian analisis data dilakukan pada ekstrak buah blewah dengan perbandingan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm (Ratu *et al.*, 2017) pada ekstrak buah blewah terhadap daya hambat bakteri *Escherichia coli*.

Analisis data pada penelitian ini diolah dengan metode uji statistika untuk mengetahui adanya perbedaan nilai aktivitas antibakteri dari masing-masing ekstrak yang telah diuji. Data dari masing-masing ekstrak dianalisis statistik dengan menggunakan software SPSS 24 untuk mengetahui apakah terdapat

perbedaan signifikan aktivitas antibakteri dari berbagai konsentrasi ekstrak buah blewah. Adapun tahapan dari pengujian tersebut adalah melalui uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu. Selanjutnya jika hasilnya normal dan homogen, maka dilanjutkan uji *one way* Anova. Namun jika salah satu hasilnya tidak normal atau tidak homogen, atau tidak normal dan tidak homogen maka dilanjutkan dengan uji komparasi yaitu uji *Kruskal-Wallis*, uji ini digunakan untuk membuat perbandingan antara dua atau lebih variabel kuantitatif.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi

Determinasi tanaman adalah langkah awal sebelum dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui identitas tanaman yang digunakan. Determinasi ini dilakukan di Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Materia Medica Batu, Jawa Timur. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman buah blewah dari famili Cucurbitaceae yang dapat dilihat pada lampiran 4, adapun klasifikasinya sebagai berikut:

Kingdom: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Cucurbitales

Family: Cucurbitaceae (suku labu-labuan)

Genus: *Cucumis*

Spesies: *Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*

Nama Daerah: Jaka tua, Grinje menir, Grinje jepun

Kunci determinasi: 1b-2a-27a-28b-29b-30b-31b-1a-2b-3a

5.2 Pembuatan Simplisia

Sampel yang digunakan dalam pembuatan simplisia adalah bagian kulit dan daging buah blewah, karena pada pengujian tanaman blewah yang dilakukan oleh Ratu *et al.*, (2017) menunjukkan hasil positif mengandung golongan senyawa

alkaloid dan terpenoid pada bagian kulit dan daging buah. Buah blewah yang digunakan adalah buah muda setengah matang \pm berumur 43 hari (seperti pada gambar 5.1) dengan disiapkan sebanyak 10 kg buah blewah agar didapatkan serbuk simplisia yang banyak. Tanaman ini berasal dari daerah Kabupaten Lamongan.

Pembuatan simplisia terdapat beberapa langkah diantaranya yaitu pengirisan, pencucian, pengeringan, dan penyerbukan. Langkah pertama yang dilakukan yaitu pengirisan, buah blewah diiris tipis-tipis antara kulit beserta dagingnya untuk mempermudah pengeringan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Langkah kedua pencucian, irisan buah blewah diletakkan didalam wadah dan dicuci menggunakan air untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel.



Gambar 5.1 Irisan buah blewah

Langkah ketiga pengeringan, sampel yang sudah dicuci dan ditiriskan selanjutnya disusun secara merata untuk dikeringkan dibawah sinar matahari. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30° sampai 90°C , tetapi suhu yang terbaik adalah tidak melebihi 60°C (Depkes RI, 1985). Proses pengeringan dimulai pukul 07.00 - 11.00 (\pm 4 jam) selama \pm 3-4 hari dengan 2 kali pembalikan

dalam sehari agar pengeringan merata. Proses pengeringan di bawah sinar matahari ini perlu ditutup dengan kain hitam agar suhu yang didapatkan untuk pengeringan pada jam tersebut lebih maksimal tanpa harus merusak simplisia. Bahan harus dibuat rata dan tidak bertumpuk agar proses pengeringan berlangsung lebih singkat. Pengeringan dihentikan sampai irisan buah berubah warna dari kuning muda (seperti pada gambar 5.1) menjadi kuning keemasan dan irisan buah menjadi mudah rapuh.

Langkah pengirisan, pencucian, dan pengeringan ini dilakukan di permukiman daerah Kabupaten Lamongan. Langkah terakhir yaitu penyerbukan, sampel yang sudah kering disortasi dari pengotor yang terbawa saat proses pengeringan. Proses penyerbukan menggunakan mesin grinding dan didapatkan simplisia sebanyak 545 gram (seperti pada gambar 5.2). Proses tersebut dilakukan di Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Materia Medica Batu, Jawa Timur.



Gambar 5.2 Serbuk simplisia buah blewah

5.3 Analisis kadar air serbuk simplisia buah blewah

Uji kadar air pada simplisia bertujuan untuk menghitung kadar air yang terdapat dalam simplisia. Pada pengujian ini menggunakan instrumen *Moisture Analyzer* dengan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Penggunaan instrumen

tersebut dikarenakan pengoperasiannya yang mudah dan dapat memberikan hasil yang akurat dalam waktu singkat.

Tabel 5.1 Hasil Pengujian kadar air

| Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | Rata-rata±SD |
|-------------|-------------|-------------|---------------|
| 8,10 % | 8,68 % | 7,55 % | 8,11 % ± 0,56 |

Hasil analisis kadar air serbuk simplisia buah blewah dari 3 kali pengulangan didapatkan kadar air pada simplisia sebesar 8,10% ; 8,68% ; 7,55%, (seperti pada tabel 5.1) maka didapatkan hasil rata-rata sebesar 8,11%. Menurut BPOM (2014) kadar air pada simplisia tidak lebih dari 10%, jadi dapat dikatakan memenuhi persyaratan yang ditetapkan ketika hasil kadar air dibawah atau sama dengan 10%. Kadar air yang tinggi (>10%) dapat merupakan media pertumbuhan mikroorganisme pada simplisia seperti jamur atau kapang jasad renik lainnya yang mana dapat mempengaruhi mutu dari simplisia (Prasetyo dan Entang, 2013).

5.4 Pembuatan ekstrak etanol 96% buah blewah

Serbuk simplisia buah blewah diekstraksi menggunakan metode UAE dengan pelarut etanol 96%. Penggunaan pelarut etanol 96% karena etanol adalah pelarut universal sehingga semua senyawa dapat tersari (Saifudin, 2014). Pelarut etanol juga dipilih karena tidak beracun sehingga cenderung aman dan tidak berbahaya, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, absorbsinya baik, dan mempunyai titik didih yang rendah, yaitu 78,3°C (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015).

Metode ekstraksi UAE digunakan karena memiliki keuntungan yang dapat meningkatkan hasil ekstraksi, dan waktunya yang lebih singkat serta volume pelarut yang digunakan sedikit (Dye dan Rathod, 2013). Metode ini dapat menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan metode konvensional (Rostagno dan Prado, 2013). Ekstraksi menggunakan UAE dapat membantu merusak dinding sel sehingga pelarut dapat masuk ke dalam bahan dan meningkatkan kontak antara pelarut dengan senyawa yang akan di ekstraksi (Maleta *et al.*, 2018). Proses ekstraksi diulang sebanyak 3 kali selama 2 menit (disetiap 2 menit dilakukan pengadukan) selanjutnya dilakukan penyaringan, kemudian residu dilarutkan dengan pelarut baru yang sudah dibagi menjadi 3. Proses penyaringan digunakan kertas saring. Setelah selesai diekstraksi, filtrat ekstrak dipekatkan dengan *Rotary Evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat. Selanjutnya ekstrak pekat dimasukkan ke dalam oven hingga diperoleh ekstrak kental.

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Armando, 2009). Hasil rendemen ekstrak etanol 96% buah blewah dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak akhir}}{\text{Berat simplisia}} \times 100 \%$$
$$\text{Rendemen} = \frac{34,63}{90} \times 100 \% = 38 \%$$

Hasil maserasi dengan bantuan UAE didapatkan ekstrak kental (seperti pada gambar 5.3) sebanyak 34,63 gram dan diperoleh rendemen sebesar 38% dari 90 gram simplisia buah blewah.



Gambar 5.3 Ekstrak kental buah blewah

5.5 Uji kualitatif golongan senyawa

Uji kualitatif golongan senyawa digunakan untuk mengetahui adanya senyawa tumbuhan pada setiap golongannya sebagai informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologis dari suatu tumbuhan. Uji yang dilakukan yaitu diawali uji reaksi warna menggunakan metode tabung dengan cara mengambil sedikit sampel ekstrak etanol 96% buah blewah, lalu ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Selanjutnya dilakukan uji KLT dengan cara mengambil sedikit sampel ekstrak etanol 96% buah blewah, lalu ditotolkan pada fase diam Plat silika Gel F₂₅₄ dan dijenuhkan fase gerak yang sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi, setelah proses elusi berlangsung kemudian disemprotkan penampak noda yang sesuai. Hasil uji reaksi warna dan KLT pada ekstrak etanol 96% buah blewah secara kualitatif disajikan pada tabel 5.2 dan pada gambar 5.4



Gambar 5.4 Hasil Uji kualitatif golongan senyawa pada ekstrak etanol 96% buah blewah

Keterangan : (1) Uji Mayer
 (2) Uji Wagner
 (3) Uji Salkowski
 (4) Uji CHCl_3 dan H_2SO_4
 (5) Uji FeCl_3
 (6) Uji Buih

Tabel 5.2 Hasil Uji Reaksi Warna Skrining Fitokimia

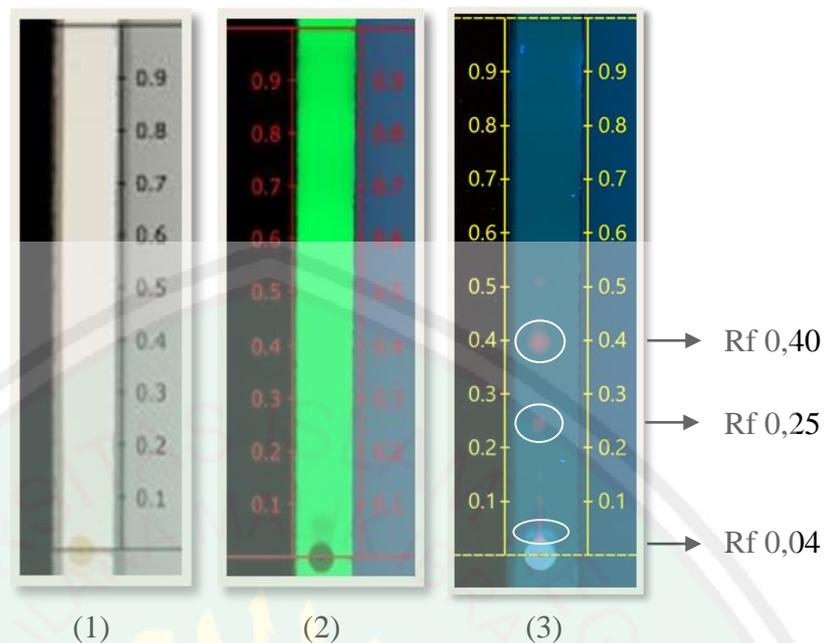
| No | Pereaksi | Pengamatan | Keterangan |
|----|---|------------------------------------|---------------|
| 1 | Mayer | Adanya kekeruhan/ endapan putih | (+) Alkaloid |
| 2 | Wagner | Adanya endapan coklat | (+) Alkaloid |
| 3 | Salkowski | Adanya cincin merah | (+) Steroid |
| 4 | CHCl_3 dan H_2SO_4 | Coklat kemerahan pada antarmuka | (+) Terpenoid |
| 5 | FeCl_3 | Jingga tua kecoklatan | (-) Polifenol |
| 6 | Buih | Buih \pm hanya 1 cm | (-) Saponin |

Berdasarkan tabel 5.2 hasil uji kualitatif golongan senyawa pada ekstrak etanol 96% buah blewah mengandung golongan senyawa alkaloid, steroid, dan terpenoid, namun pada uji ini tidak mengandung golongan saponin dan polifenol. Setelah diketahui hasil uji reaksi warna kemudian dilakukan optimasi eluen.

Optimasi eluen dilakukan melalui uji pendahuluan berskala kecil, biasanya menggunakan KLT.

Hasil setelah dilakukan optimasi, kemudian dilakukan skrining fitokimia dengan eluen campuran n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 4:1 sebanyak 10 ml. Eluen tersebut dipilih karena sifat dari n-heksana sendiri adalah non-polar dan etil asetat yang sifatnya polar menengah yang volatil (mudah menguap). Dari kedua perbandingan tersebut lebih cenderung dipilih non-polar karena untuk menyesuaikan dengan plat silika yang digunakan, dimana sifat dari plat silika gel F₂₅₄ sendiri adalah polar, sehingga dibutuhkan eluen atau fase gerak yang sifatnya non-polar.

Selanjutnya ditimbang ekstrak sebanyak 100 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% secukupnya \pm 1 ml, setelah ekstrak larut ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄ dengan ukuran 1x10 cm menggunakan pipet mikro 2 μ l. Selanjutnya plat dimasukkan kedalam *chamber* yang berisi eluen yang telah jenuh dan ditunggu hingga eluen bergerak naik sampai tanda batas. Plat *TLC* yang telah dieluenisasi dengan menggunakan *TLC Visualizer* pada lampu cahaya putih dan lampu *Ultra Violet (UV)* dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, pengamatan pada lampu *UV* ini bertujuan agar dapat mengetahui dan mengidentifikasi spot pemisahan dari golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol 96% buah blewah. Penampakan spot noda dapat dilihat pada gambar 5.5 sebagai berikut:



Gambar 5.5 Visualisasi Skrining Fitokimia dengan *TLC Visualizer*

Keterangan:

1. Visualisasi Plat KLT pada cahaya putih
2. Visualisasi Plat KLT lampu *UV* panjang gelombang 254
3. Visualisasi Plat KLT lampu *UV* panjang gelombang 366

Keterangan RF:

- Rf 0,04= alkaloid
 Rf 0,25 = steroid
 Rf 0,40 = terpenoid

Setelah dilakukan pengamatan visualisasi, hasil spot muncul bagus pada panjang gelombang 366 nm karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut. Floresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Sehingga noda yang tampak pada lampu UV 366 terlihat

terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Gibbons, 2006).

Hasil pengamatan pada visualisasi plat KLT dengan *TLC Visualizer* terdapat tiga noda tampak yang dapat diamati (seperti pada gambar 5.7). Penampakan noda dapat dilihat dengan cara penyemprotan dengan H_2SO_4 . Hal ini dilakukan karena pada konsentrasi tersebut memiliki efektifitas yang sama dan selain itu lebih ekonomis serta lebih aman karena konsentrasinya lebih rendah. Prinsip penampakan noda oleh H_2SO_4 adalah karena asam sulfat ini bersifat reduktor sehingga dapat memutuskan ikatan rangkap sehingga panjang gelombangnya akan bergeser ke arah yang lebih panjang sehingga dapat terlihat oleh mata (Mudjahid, 2014).

Hasil yang diperoleh yaitu spot noda yang pertama pada R_f 0,04 yang menunjukkan warna biru muda, dimana dalam penelitian Rahmawati (2015) warna tersebut menunjukkan golongan senyawa alkaloid. Spot noda yang kedua terdapat pada R_f 0,25 dengan penampakan noda berwarna merah redup dimana dalam penelitian Yuda *et al.*, (2017) warna tersebut menunjukkan adanya senyawa steroid. Selanjutnya spot noda yang ketiga terdapat pada R_f 0,40 dengan adanya warna merah terang pada Plat KLT, menurut Anam, (2015) adanya warna tersebut menunjukkan senyawa terpenoid dalam sampel.

5.6 Uji aktivitas antibakteri

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah blewah terhadap bakteri *Escherichia coli*. Pada uji aktivitas

antibakteri ini menggunakan metode difusi kertas cakram dan direplikasi sebanyak 3 kali. Penggunaan metode difusi ini karena kelebihanannya yang mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah (Katrin *et al.*, 2015).

Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm. Pengujian ini menggunakan kontrol positif berupa kloramfenikol. Kontrol positif digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 96% buah blewah dengan antibiotik sintetik yang sudah ada. Konsentrasi yang digunakan sebagai kontrol positif yaitu kloramfenikol 30 µg/mL. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Niswah (2014) penggunaan kloramfenikol 30 µg dengan metode difusi cakram dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sebesar 27,67 mm.

Sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri dilakukan proses sterilisasi terlebih dahulu untuk alat-alat seperti jarum inokulasi/ ose kolong, cawan petri dan penjepit. Bahan yang juga disterilisasi seperti media NA dan aquades steril yang akan digunakan untuk pengenceran bakteri. Sterilisasi ini dilakukan bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme pada alat dan bahan yang dapat merusak media atau mempengaruhi bakteri yang akan diujikan.

Sterilisasi dengan autoklaf (untuk alat dan bahan yang tidak tahan panas) menggunakan uap bersuhu (121 °C) dan bertekanan tinggi. Jadi tekanan yang bekerja ke seluruh permukaan benda adalah 15 pon tiap inchi² (15 Psi = *pounds per square inch*) selama ± 15 menit. Penurunan tekanan pada autoklaf tidak

dimaksudkan untuk membunuh mikroorganisme, melainkan meningkatkan suhu dalam autoklaf. Suhu yang tinggi inilah yang akan membunuh mikroorganisme. Pada suhu 121 °C, endospora dapat dibunuh dalam waktu 4-5 menit, dimana sel vegetatif bakteri dapat dibunuh hanya dalam waktu 6-30 detik pada suhu 65 °C (Hasibuan, 2014).

Selanjutnya dibuat media tumbuh bakteri *Escherichia coli*. Media yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA). Penggunaan media NA dikarenakan media tersebut cocok untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Selanjutnya kultur murni bakteri *Escherichia coli* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang dikultur ulang untuk memperbanyak populasi bakteri tersebut.

Konsentrasi bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10⁶ CFU/mL, CFU (*Colony Forming Unit*) yang artinya unit-unit atau satuan pembentuk koloni. Pengenceran bakteri dilakukan dari standar 0,5 *McFarland* (10⁸ CFU/mL) yang kemudian diencerkan ke konsentrasi 10⁶ CFU/mL dengan cara pengenceran bertingkat. Tujuan pengenceran ini yaitu untuk memperkecil jumlah mikroba yang tersuspensi dalam larutan dan agar mudah untuk membedakan antara sel hidup dan sel mati (Harahap, 2014).

Perlakuan ekstrak yang harus dilakukan pertama kali yaitu dengan membuat larutan induk 500 ppm terlebih dahulu (perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2 atau L.2.2). Larutan induk 500 ppm dalam 50 ml pelarut dibuat dengan cara menimbang 0,025 g ekstrak etanol 96% buah blewah. Selanjutnya dilarutkan dengan tween 80 sebanyak 0.5% dalam gelas beker untuk konstituen aktif yang

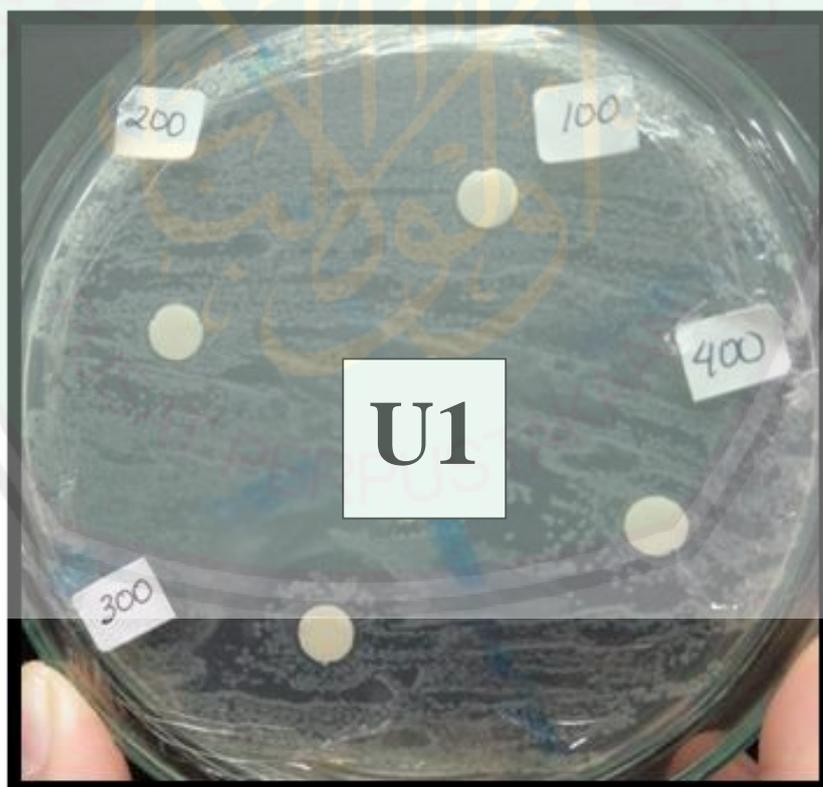
tidak larut dalam basa lipofilik (Rowe *et al.*, 2009) sehingga dapat membantu kelarutan ekstrak dan selanjutnya ditambahkan dengan DMSO pada konsentrasi 0,5% sebanyak 1 ml terlebih dahulu yang kemudian diaduk sampai larut. Selanjutnya dipindahkan ke dalam labu ukur dan ditambah dengan DMSO pada konsentrasi 0,5% ad batas lalu dihomogenkan.

Selanjutnya dilakukan pengenceran menjadi konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm. Untuk membuat konsentrasi ekstrak 100 ppm yaitu dengan mengambil 2 ml dari larutan induk 500 ppm, konsentrasi 200 ppm diambil 4 ml; konsentrasi 300 ppm diambil 6 ml; konsentrasi 400 ppm diambil 8 ml dari larutan induk 500 ppm yang kemudian diencerkan dalam labu ukur 10 ml ad batas lalu dihomogenkan (perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2 atau L.2.2). Selanjutnya dibuat kontrol positif yaitu kloramfenikol 30 µg/mL. Cara membuat kloramfenikol pada konsentrasi 30 µg/mL yaitu dengan ditimbang 3 mg kloramfenikol yang kemudian dilarutkan dalam 100 ml pelarut DMSO pada konsentrasi 0,5% ad batas lalu dihomogenkan. Selanjutnya baik ekstrak maupun kontrol positif di filter menggunakan Millipore dengan prinsip kerja yaitu mengalirkan bahan cair melalui pori-pori kecil yang tidak bisa dilalui mikroorganisme tertentu.

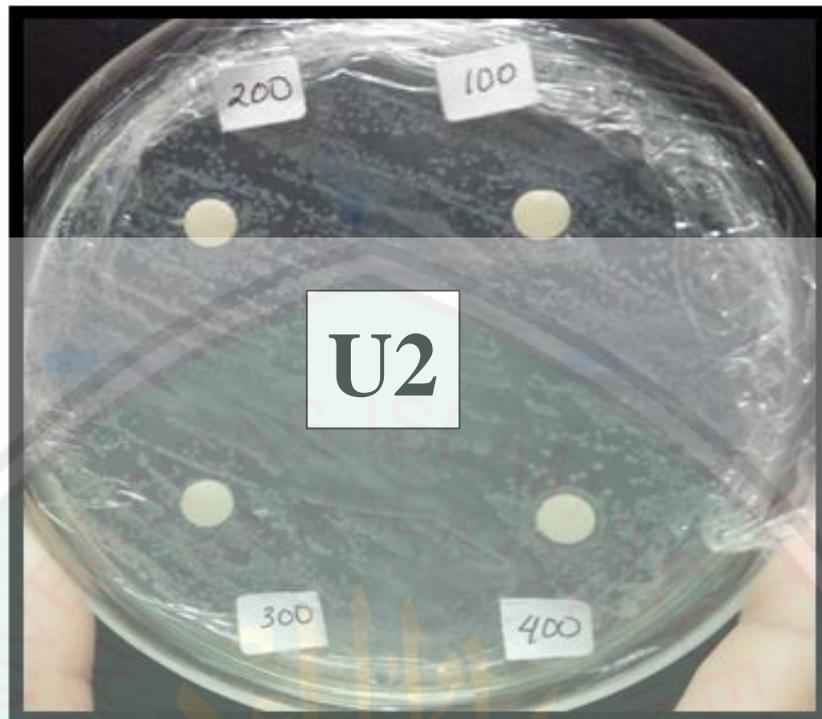
Langkah terakhir yaitu dilakukan pengujian antibakteri. Pada proses pengujian antibakteri yang dilakukan yaitu mengambil bakteri yang telah diencerkan menjadi konsentrasi 10^6 CFU/mL, kemudian digoreskan menggunakan jarum inokulasi pada medium padat NA dalam cawan petri. Goresan dapat dimulai dari satu titik membentuk garis-garis yang sejajar. Selanjutnya disiapkan

kertas cakram didalam cawan petri kosong. Kemudian sampel antibakteri diambil sebanyak 20 μ l dimasukkan ke dalam kertas cakram, lalu kertas cakram dibalik dan diberi lagi sampel sebanyak 20 μ l menggunakan mikropipet, begitupun seterusnya. Selanjutnya kertas cakram yang telah berisi sampel antibakteri dimasukkan ke dalam media yang berisi biakan bakteri, lalu ditutup dan diberi plastik warp. Langkah selanjutnya yaitu diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C.

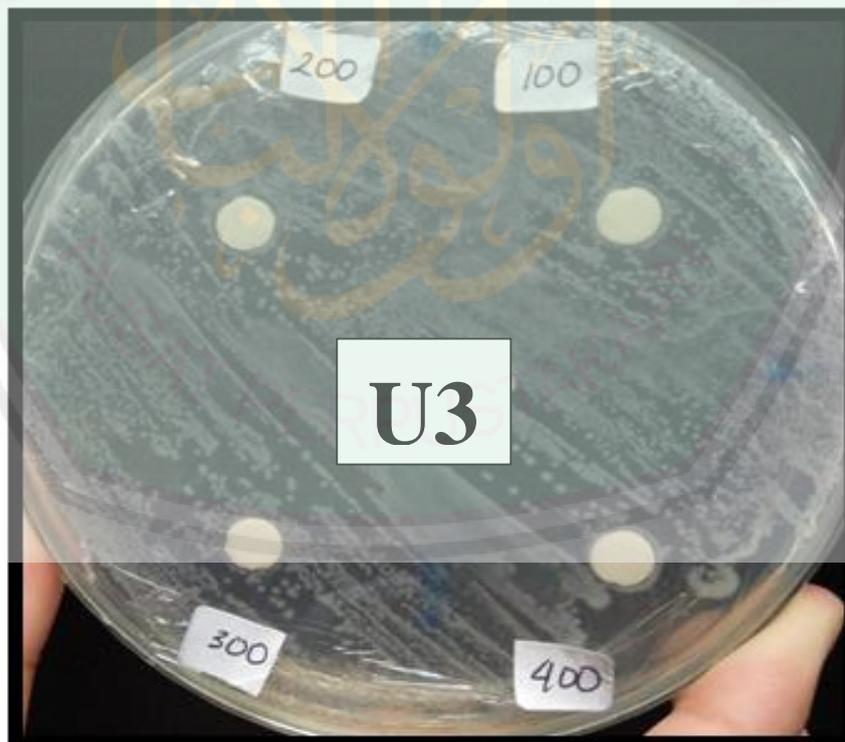
Hasil uji akitivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah blewah terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* setelah diinkubasi 24 jam disajikan pada tabel 5.3 dan ditunjukkan pada gambar 5.6 s/d 5.9 di bawah ini:



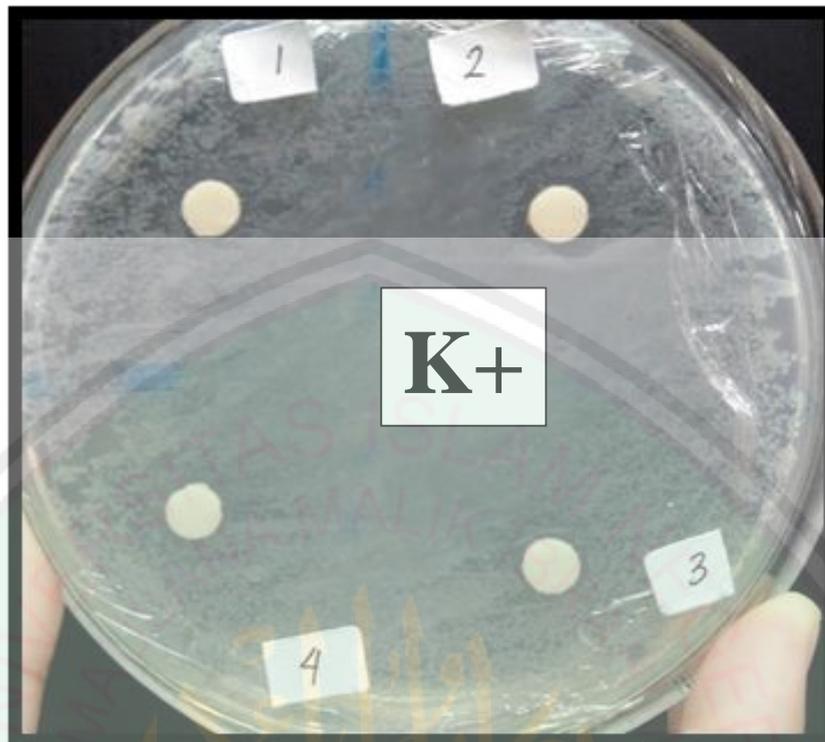
Gambar 5.6 Hasil uji akitivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 1



Gambar 5.7 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 2



Gambar 5.8 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 3



Gambar 5.9 Hasil uji akitivitas antibakteri kontrol positif

Tabel 5.3 Diameter zona hambat ekstrak etanol 96% buah blewah

| Sampel | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | Rata-rata±SD |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|----------------|
| 100 ppm | 0,92 mm | 0,92 mm | 0,90 mm | 0,91 mm ± 0,01 |
| 200 ppm | 1,10 mm | 0,97 mm | 0,97 mm | 1,01 mm ± 0,07 |
| 300 ppm | 1,27 mm | 1,10 mm | 1,20 mm | 1,19 mm ± 0,08 |
| 400 ppm | 1,32 mm | 1,66 mm | 1,35 mm | 1,44 mm ± 0,18 |
| Kontrol positif | 2,87 mm | 1,82 mm | 2,65 mm | 2,45 mm ± 0,55 |

Berdasarkan hasil diatas, didapatkan rata-rata zona hambat pada konsentrasi 100 ppm sebesar 0,91 mm; konsentrasi 200 ppm sebesar 1,01 mm; konsentrasi 300 ppm sebesar 1,19 mm; konsentrasi 400 ppm sebesar 1,44 mm; dan kontrol positif sebesar 2,45 mm. Diameter zona hambat yang dihasilkan dari kontrol positif sangat kecil dibanding hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Niswah (2014), yang mana hasil dari penggunaan kloramfenikol 30 µg dengan metode difusi cakram dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan

diameter zona hambat sebesar 27,67 mm. Dari hasil tersebut dikategorikan sangat kuat, karena nilai rentang penghambatannya yang lebih dari ≥ 20 mm. Kecilnya diameter zona hambat yang dihasilkan dari penelitian ini mungkin karena proses inkubasi yang hanya dilakukan 22,5 jam ≤ 24 jam sehingga penghambatannya kurang maksimal.

Pada konsentrasi 100 ppm memiliki zona hambat yang sangat kecil, hal ini dapat dikarenakan senyawa aktif yang terkandung sangat sedikit sehingga kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri semakin lemah. Perlakuan konsentrasi ekstrak 200 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm ini hasilnya semakin meningkat diameter zona hambatnya. Berdasarkan tabel 5.3 terlihat bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang berarti semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* juga semakin besar. Menurut Haniah (2008), semakin tinggi konsentrasi bahan sebagai antibakteri yang digunakan maka akan semakin cepat bakteri yang terbunuh.

Ekstrak etanol 96% buah blewah dalam uji skrining fitokimia memang dinyatakan positif adanya golongan senyawa alkaloid, steroid, dan terpenoid. Hal ini sesuai dengan penelitian Ratu *et al.*, (2017) bahwa ekstrak buah blewah mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat

mengganggu metabolisme bakteri (Robinson, 1995). Golongan senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif (Compean dan Ynalvez, 2014).

Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri (Madduluri *et al.*, 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah menyebabkan sel rapuh dan lisis (Sapara *et al.*, 2016).

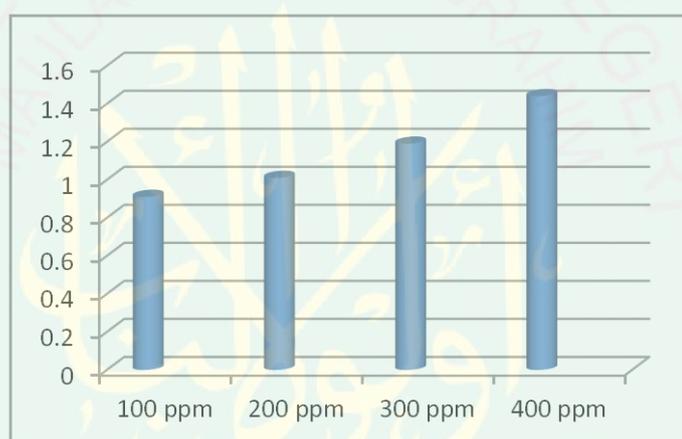
Mekanisme kerja dari senyawa terpenoid bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga akan terjadi kerusakan. Rusaknya protein transmembran yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Berdasarkan hasil uji yang dilakukan kategori penghambatan bakteri masing-masing kelompok konsentrasi ekstrak sebagai berikut:

Tabel 5.4 Kategori penghambatan bakteri

| Kelompok konsentrasi | Diameter zona bening | Kategori |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------|
| 100 ppm | 0,91 mm | Lemah |
| 200 ppm | 1,01 mm | Lemah |
| 300 ppm | 1,19 mm | Lemah |
| 400 ppm | 1,44 mm | Lemah |

Hasil yang telah disajikan dari tabel 5.4 diatas, diameter zona bening konsentrasi 100 ppm sebesar 0,91 mm; konsentrasi 200 ppm sebesar 1,01 mm; konsentrasi 300 ppm sebesar 1,19 mm; dan konsentrasi 200 ppm sebesar 1,44 mm, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada (gambar 5.10). Menurut Davis dan Stout (1971), kriteria kekuatan daya hambat antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.



Gambar 5.10 Kategori penghambatan bakteri

Ekstrak etanol 96% buah blewah pada konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara maksimal karena dari keempat perlakuan hasilnya masih dalam kategori lemah, dimana rentang nilai penghambatannya ≤ 5 mm. Hal ini karena sedikitnya senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% buah blewah dalam penelitian ini menjadikan penghambatannya kecil. Sedikitnya senyawa yang terkandung dalam ekstrak ini kurang lebih karena proses pembuatan simplisia yang kurang benar, dimana pada proses pembuatan simplisia yang seharusnya

dilakukan pencucian terlebih dahulu baru kemudian diiris atau dirajang, namun dalam penelitian ini diiris atau dirajang terlebih dahulu baru kemudian dicuci, sehingga hal ini menyebabkan ikut lunturnya senyawa yang terkandung dalam sampel. Tahapan pembuatan simplisia yang baik dan benar menurut Prasetyo dan Entang (2013) yaitu sortasi basah, pencucian bahan, perajangan, dan pengeringan.

5.7 Analisis data statistika

Analisis data pada penelitian ini diolah dengan metode uji statistika untuk mengetahui adanya perbedaan nilai aktivitas antibakteri dari masing-masing ekstrak yang telah diuji. Data dari masing-masing ekstrak dianalisis statistik dengan menggunakan software SPSS 24 untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan aktivitas antibakteri dari berbagai konsentrasi ekstrak buah blewah. Adapun tahapan dari pengujian tersebut adalah melalui uji normalitas dan uji homogenitas, kemudian dilanjutkan dengan uji komparasi yaitu uji *Kruskal-Wallis*, uji ini digunakan untuk membuat perbandingan antara dua atau lebih variabel kuantitatif.

5.7.1 Uji Normalitas

Tabel 5.5 Hasil Uji Normalitas

| Sampel | <i>P-value Shapiro-Wilk</i> | Keterangan |
|-----------------|-----------------------------|--------------|
| 100 ppm | 0,000 | Tidak Normal |
| 200 ppm | 0,000 | Tidak Normal |
| 300 ppm | 0,806 | Normal |
| 400 ppm | 0,152 | Normal |
| Kontrol positif | 0,382 | Normal |

Berdasarkan tabel 5.5 diatas, hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa beberapa data tidak normal. Hal ini dapat dilihat dari nilai uji *Shapiro-Wilk* sig sebesar $0,000 < 0,05$ untuk sampel konsentrasi 100 ppm dan 200 ppm, sehingga data dinyatakan tidak normal meskipun ada sebagian data yang dinyatakan normal seperti $0,806 > 0,05$ untuk sampel konsentrasi 300 ppm; $0,152 > 0,05$ untuk sampel konsentrasi 400 ppm; dan $0,382 > 0,05$ untuk sampel kontrol positif.

5.7.2 Uji Homogenitas

Tabel 5.6 Hasil Uji Homogenitas

| Sampel | <i>P-value Levene's test</i> | Keterangan |
|-----------------|------------------------------|---------------|
| 100 ppm | 0,004 | Tidak Homogen |
| 200 ppm | | |
| 300 ppm | | |
| 400 ppm | | |
| Kontrol positif | | |

Berdasarkan tabel 5.6 diatas, hasil uji homogenitas merupakan uji *Levene*. Nilai signifikansi uji *Levene* adalah sebesar 0,004 karena nilai sig $< 0,05$ maka hasil tersebut tidak homogen dan dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan varian antar kelompok sampel yang diteliti.

5.7.3 Uji *Kruskal-Wallis*

Tabel 5.7 Hasil Uji *Kruskal-Wallis*

| Sampel | <i>P-value Asymp</i> | Keterangan |
|-----------------|----------------------|--------------------|
| 100 ppm | 0,009 | Berbeda signifikan |
| 200 ppm | | |
| 300 ppm | | |
| 400 ppm | | |
| Kontrol positif | | |

Dari data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah blewah, dilakukan analisis statistik untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna pada aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah blewah pada berbagai konsentrasi. Data dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* karena data tidak terdistribusi dengan normal, selain itu uji ini digunakan untuk membuat perbandingan antara dua atau lebih variabel kuantitatif. Hasil *P-value* ekstrak etanol 96% buah blewah $< 0,05$ yaitu sebesar 0,009 (dapat dilihat pada tabel 5.7) sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan signifikan dari nilai rerata total pengukuran diameter zona bening cakram antar kelompok konsentrasi ekstrak buah blewah karena nilai signifikansinya lebih kecil dari 0,05.

5.8 Aktivitas Antibakteri Buah Blewah dalam Prespektif Islam

Allah SWT telah mengkaruniakan kekayaan alam yang melimpah, salah satunya adalah tanaman berbuah dalam berbagai jenis yang memiliki manfaat bagi manusia. Hal ini tercantum dalam al-quran surat An-Nahl Ayat 11 berikut ini:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: "Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan" (QS. An-Nahl:11).

Dari tanda kekuasaan Allah yang telah disebutkan didalam ayat tersebut baik tanaman maupun buah-buahan memiliki manfaat bagi manusia, salah satunya

yaitu tanaman buah blewah yang juga memiliki manfaat yang baik. Dari lafadz (يَتَفَكَّرُونَ) yang artinya orang yang berpikir menurut Ibrahim Mustafa di dalam Al Mu'jam Al-Wasith, akar katanya adalah fakkara (فَكَرَ), yang secara leksikal bermakna “mendaya gunakan akal dalam suatu urusan dan menyusun suatu masalah yang diketahui untuk mengetahui sesuatu yang belum diketahui”.

Kata al-fikr di dalam al-Qur'an disebutkan sebanyak 18 kali. Dengan berbagai redaksi, dengan fakkarasatu ayat, tatafakkarusatu ayat, tatafakkaruntiga, yatafakkaru dua ayat, danyatafakkarun sebelas ayat. Al-Ragib al-Asfahani dalam kitabnya Mu'jam Mufrodat li Alfsazal al-Qur'an sebagaimana disebutkan oleh Dr. Yusuf Qaraḍawidalam kitab al-Qur'an Berbicara tentang akal dan ilmu pengetahuan menulis bahwa “Pemikiran merupakan sesuatu kekuatan yang berusaha mencapai suatu ilmu pengetahuan, dan tafakkur adalah bekerjanya kekuatan itu dengan bimbingan akal, dengan kelebihan itulah manusia berbeda dengan hewan dan objek pemikiran adalah sesuatu yang dapat digambarkan dalam hati bukan yang lain” (Yusuf, 1998). Jadi dari kata berpikir yaitu usaha menggalai sesuatu dan menemukannya untuk mencapai hakikatnya, seperti halnya yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu untuk membuktikan buah blewah memiliki kandungan senyawa sebagai antibakteri.

Allah SWT juga berfirman dalam surat Al-Hijr ayat 19 yang berbunyi:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ

Artinya: “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran.”(Q.S. Al-Hijr: 19)

Berdasarkan tafsir Kemenag RI (2015) telah dijelaskan bahwa Allah SWT telah menghamparkan bumi sebagai pijakan manusia untuk memudahkan bepergian mencari rezeki yang halal dan memungkinkan digunakan untuk bercocok tanam di atasnya, serta diciptakan-Nya pula gunung-gunung yang kokoh sebagai pasak bagi bumi dan dihiasi oleh beraneka ragam tumbuhan yang menghijau. Allah telah menciptakan berbagai macam tumbuhan, masing-masing mempunyai ukuran dan kadar yang telah ditentukan. Demikianpula mengenai kandungan senyawa yang ada dalam tumbuhan pun juga memiliki jenis dan kadar yang berbeda-beda, begitu juga dalam buah blewah. Allah menciptakan segala sesuatu dengan ukuran dan kadar yang tertentu, sehingga melihat kesempurnaan ciptaan-Nya itu akan bertambah pula iman di dalam hati orang yang mau berpikir dan bertambah pula keyakinan bahwa Allah adalah Maha Sempurna.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol 96% buah blewah memiliki aktivitas antibakteri namun belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara maksimal.
2. Diameter zona hambat ekstrak etanol 96% buah blewah terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 100 ppm sebesar 0,91 mm; konsentrasi 200 ppm sebesar 1,01 mm; konsentrasi 300 ppm sebesar 1,19 mm; dan konsentrasi 200 ppm sebesar 1,44 mm.

6.2 Saran

Penelitian untuk selanjutnya mungkin bisa dilakukan penelitian serupa dengan peningkatan dosis ekstrak, karena dalam penelitian ini sudah terlihat daya hambat yang dihasilkan meskipun kecil, dan kedepannya bisa dilakukan penelitian bagian buah blewah yang lain dengan berbagai pelarut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: Penerbit ITB.
- Anaspec Inc. 2008. *Peptide Solubility Guidelines*. Fremont: EGT Group. p. 1-2.
- Armando, R. 2009. *Memproduksi 15 Minyak Atsiri Berkualitas*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya. Hal:71.
- Anam, K. 2015. *Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (Eucheuma cottonii) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisisnya menggunakan Spektrofotometer UV-VIS dan FTIR*. [Skripsi]. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Jakarta: BPOM RI.
- Berardi, R.R., Stefanie P.F., Anne L.H., Lisa A.K., Gail D.N. 2009. *Handbook of Nonprescription Drugs: An Interactive Approach to Self Care 16th Edition*. Washington DC: American Pharmascist Association.
- Berg, H.C. 2004. *Escherichia coli in Motion, Biological, and Medical Physics Biomedical Engineering*. New York: Springer Verlag AIP Press.
- Bonang, G. 1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Brooks, G.F., Butel J.S., Carroll K.C., Morse S.A., Jawetz., Melnick., Adelberg's. 2007. *Medical Microbiology. 24th Ed*. USA: Mc Graw Hill. 224-7.
- Cannell, R.J.P. 1998. *Natural Products Isolation Methods in Biotechnology*; 4. Totowa : Humana Press.
- Carter, G and D.J. Wise. 2004. *Esentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*. Iowa Atate Press. 137-139.
- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2018. *E.coli (Escherichia coli)* diakses dari <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html> pada tanggal 19 Januari 2019.
- Compean, K.L. dan Ynalvez R.A. 2014. Antimicrobial Activity of Plant Secondary Metabolites: A Review, *Reserach of Medical Plant*. pp. 1-10.

- Cowan, M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agent. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4), hal. 564-582.
- Day, R.A. dan Underwood, A.L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam*. Jakarta: Erlangga.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika*, Jilid.VI. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Dey, S., Rathod, V.K. 2013. Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 271 – 276.
- [Dinkes] Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. 2014. *Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur*. Surabaya: Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.
- [Dirjen POM] Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Depkes RI.
- Friedman, S.L., Mc Quaid K.R., Grendell J.H. 2003. *Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology*. 2nd edition. New York: Lange Medical Books. 131 - 50.
- Gibbons, S. 2006. *An Intoduction to Planar Chromatography*. Totowa New Jersey: Humana Press.
- Green. 2009. Guideline for the Management of acute diarrhea in Child. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. Volume XXI.
- Griffin, D.H. 1981. *Fungal Physiology*. New York: John Willey and Sons Publication.
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi, terbitan ke dua*. Bandung: ITB.
- Guerrant, R.L., Gilder T.V., Steiner T.S. 2001. Practice Guidelines for the Management of Infectious Diarrhea. *Clinical Infectious Diseases*. 32:331-51.
- Haniah, M. 2008. *Isolasi Jamur Endofit dari Daun Sirih (Piper Betle L.) Sebagai Antimikroba terhadap Escherichia coli, Staphylococcus aureus dan*

Candida albicans. [Skripsi]. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Harahap, D.L. 2014. *Teknik menghitng mikroba (ALT dan MVN)* diakses dari <https://diahlestariharahap.blogspot.com/2014/11/teknik-menghitng-mikroba-alt-dan-mvn.html> pada tanggal 16 Agustus 2019.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua. Bandung: ITB.

Hasan, S.M., Haq A.U., Byrd J.A., Berhow M.A., Cartwright A.L., Bailey C.A. 2010. Haemolytic and Antimicrobial Activities of Saponin-rich extracts from guar meal. *Elsevier Journal* 119:600-605.

Hasibuan, N. 2014. *Autoklaf dan cara penggunaannya* diakses dari <http://nurhabibah01.blogspot.co.id/2014/02/v-behaviorurldefaultvml0.html> pada tanggal 16 Agustus 2019.

Heinrich, M., Barnes J., Gibbons S., Williamso., Elizabeth M. 2004. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapi*. Hungary: Elsevier.

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.

Hidayat, Abdul A.A. 2006. *Pengantar Ilmu Keperawatan Anak*. Jakarta: Salemba Medika.

Huda A.N., Willy B.S., Awang M. 2017. Keragaman Genetik Karakteristik Buah antar 17 Genotipe Melon (*Cucumis melo* L.). *Jurnal Hort Indonesia* 8(1): 1-12.

Indarto. 2015. Uji kualitatif dan kuantitatif golongan senyawa Organik dari kulit dan kayu batang tumbuhan *Artocarpus dadah* miq. *E-journal Raden Intan*.

Jawetz, M. dan Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 1. Surabaya: Salemba Medika.

Jurnalis, Y.D., Yorva S., Aslinar. 2009. Pola Resistensi Kuman Penyebab Diare terhadap Antibiotika. *Majalah Kedokteran Andalas No. 01, Vol. 33*.

Katrin, D., Idiawati N., Sitorus B. 2015. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun malek (*Litsea gracieae* Vidal) terhadap bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKK, Volume 4(1), halaman 7-12 ISSN 2303-1077*.

[KEMENAG RI] Kementerian Agama Republik Indonesia. 2015. Al-Qur'an dan Tafsirnya(edisi yang disempurnakan). Jakarta: Widya Cahaya.

- Krishnamachari, H. dan Nithyalakshmi V. 2017. Phytochemical Analysis and Antioxidant Potential of *Cucumis Melo* Seeds. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*. Volume 3, Issue 1.
- Kristanti, A.N., Nanik S.A., Mulyadi, T., Bambang K. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kristianto, Y. 2016. *Pengaruh Buah Blewah (Cucumis Melo L. var. Cantalupensis) Terhadap Tekanan Darah Normal dan Prehipertensi Laki-Laki Dewasa*. [Skripsi]. Bandung: Universitas Kristen Manaratha.
- Kursiningrum. R.S. 2010. *Perancangan Percobaan Cetakan Kedua*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kusbandari, A., dan Hari S. 2017. Kandungan Beta Karoten dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil) Ekstrak Buah Blewah (*Cucumis melo* L. var. *Cantalupensis*) Secara Spektrofotometri Uv-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, Mei 2017, hlm. 37-42 Vol. 14 No. 1. p-ISSN: 1693-5683; e-ISSN: 2527-7146.
- Madduluri S., Rao K.B., Sitaram B. 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*; 5(4). h. 679-84.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko., J. Parker. 2000. *Biology of Microorganisms. 9th edition*. New Jersey: Prentice Hall International, Inc.
- Madigan MT., JM. Martinko, P.V. Dunlap, D.P. Clark. 2009. *Brock Biology of Microorganisms 12 Ed*. San Fransisco: Pearson Education, Inc. Hal. 171-179.
- Maleta, H.S., Renny I., Leenawaty L., Tatas H.P.B. 2018. Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir (Telaah Literatur). *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan* Vol. 13, No.1, Hlm. 40-50, Juni 2018 ISSN 1412-5064, e-ISSN 2356-1661.
- McMurry, J. dan Fay R.C. 2004. *Chemistry 4th Edition*. New Jersey: Prentice Hall.
- Mudjahid, M. 2014. *Kromatografi Lapis Tipis (KLT)* diakses dari <https://fdokumen.com/document/laporan-klt-fito-ff-uh.html> pada tanggal 18 Agustus 2019.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2): 361-367.

- Muttaqin, A. dan Sari K. 2011. *Gangguan Gastrointestinal, Aplikasi Asuhan Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta: Salemba medika.
- Negara, K.S. 2014. Analisis Implementasi Kebijakan Penggunaan Antibiotika Rasional Untuk Mencegah Resistensi Antibiotika di RSUP Sanglah Denpasar: Studi Kasus Infeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Administrasi Kebijakan Kesehatan*. Volume 1, Nomor 1.
- Niswah, L. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Buah Parijoto (Medinilla speciosa Blume) menggunakan Metode Difusi Cakram*. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Pelczar, M.J., dan E.S. Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi ke-2*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia Press.
- Perna N.T., Plunkett G., Burland V., Mau B., Glasner J.D., Rose D.J., Mayhew G.F., Evans P.S., Gregor J., Kirkpatrick H.A. 2001. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature* 409:529-31.
- Prasetyo dan Entang I. 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-obatan (Bahan Simplisia)*. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi farmasi*. Yogyakarta: Erlangga.
- Rahmawati, F. 2015. *Optimasi Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Pada Pemisahan Senyawa Alkaloid Daun Pulai (Alstonia scholrsis L.R.Br)*. [Skripsi]. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rajagukguk, N., Edhi T., Merakati H. 2017. Pengaruh Kepadatan Populasi terhadap Pertumbuhan dan Hasil Blewah (*Cucumis melo* L. var. *Cantalupensis*). *Jurnal Akta Agrosia*. 20(1):35-42.
- Ratu, A.P., Herson C., Himawan, M.R. Radhi. 2017. Uji Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daging dan Kulit Buah Blewah (*Cucumis melo* L.). *Jurnal Farmamedika*. Vol. 2, No. 1.
- [Riskesdas] Riset Kesehatan Dasar. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi (Edisi VI) Diterjemahkan oleh Padmawinata K., Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari *The organic constituents of higherplants, 6th edition*.

- Rohmah, N. dan Fariani S. 2017. Hubungan Kebiasaan Cuci Tangan dan Penggunaan Jamban Sehat dengan Kejadian Diare Balita. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. Volume 5 Nomor 1, Januari 2017, hlm. 95-106.
- Rostagno, M. A., Prado, J. M. 2013. *Natural products extraction: Principles and applications*. Cambridge: RSC Publishing.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition, 550*, United Kingdom, Pharmaceutical Press.
- Sa'adah, H. dan Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan metode maserasi. *Jurnal ilmiah manuntung*, 1(2), 149-153.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder (cetakan pertama)*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sapara, T.U., Olivia W., Juliatri. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*impatiens balsamina l.*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT Manado*. Vol. 5 No. 4, ISSN 2302-2493.
- Setiabudi, D.A. dan Tukiran. 2017. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium litorale*). *UNESA Journal of Chemistry*, Vol. 6, No. 3.
- Shihab, M. Quraish. 2002. Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an) Vol. 10. Jakarta: Lentera Hati.
- Simaremare, E.S. 2014. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, Vol.11 No. 01. ISSN 1693-3591.
- Siswidiasari, A., Ketut W.A., Sagung C.Y. 2014. Profil Terapi Obat Pada Pasien Rawat Inap dengan Diare Akut Pada Anak di Rumah Sakit Umum Negara. *Jurnal Kimia* 8 (2), 183-190. ISSN 1907-9850.
- Sodikin. 2012. *Asuhan Keperawatan Anak: Gangguan Sistem Gastrointestinal dan Hepatobilier*. Jakarta: Salemba Medika.
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II*. Jakarta: IMSTEP.
- Soewito, M. 2017. *Hubungan Status Gizi dengan Lama Rawat Inap Pada Pasien Anak Balita Diare Akut*. [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Widya Mandala.

- Sulistyo. 1971. *Farmakologi dan Terapi*. Yogyakarta: Liberti.
- Songer, J.G., and Post K.W. 2005. *Veterinary Microbiologi. Bacterial and Fungal Agent of Animal Disease*. USA: Elsevier Saunders.
- Suriadi, R.Y. 2006. *Asuhan Keperawatan Pada Anak*. Jakarta: Sagung seto.
- Sutiknowati, L.I. 2016. Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Oseana*. Volume 41, Nomor 4, 63-71 ISSN 0216-1877.
- [USDA] United States Department of Agriculture. 2019. *A quantitative model of melon (Cucumis melo var. cantalupensis) plant development* diakses dari <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=136365> pada tanggal 19 Januari 2019.
- Villamor, E. and Fawzi W.W. 2005. Effects of vitamin A supplementation on immune responses and correlation with nutritional outcome. *Clin Microbiol Rec* 2005; 18:446-464.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Edisi V*. Yogyakarta: Universitas Gaja Mada Press.
- Wasito, H. dan Herawati, D. 2008. *Etika Farmasi dalam Islam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Wattimena, J.R., Sugiarto, Nelly C., Widiyanto, Mathilda B., Sukandar, E.Y., Soemardji, Andreanus A., Setiadi, Anna R. 1991. *Farmakodinami dan Terapi antibiotic*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- [WHO] World Health Organization. 2013. *Diarrhoeal Disease* diakses dari <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/> pada tanggal 08 Januari 2019.
- Widjaja, M, 2002. *Mengatasi Diare dan Keracunan pada Balita*. Jakarta: Kawan Pustaka.
- Widoyono, 2008. *Epidemiologi, Penularan Pencegahan dan Pemberantasan Penyakit Tropis*. Jakarta: Erlangga.
- Winarsi, H. 2007. *Antioxidan Alami dan Radikal bebas*. Jogjakarta: Kanisius.
- Yuda, P.S.K., Erna C., Ni Luh P.Y.W. 2017. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Medicamento*. Vol.3 No.2.

Yuniastin, B.W., Lestari U., Mulyati. 2018. Kajian Tingkat Keberhasilan Persilangan antara Melon (*Cucumis melo* L) dengan Blewah (*Cucumis melo* var. *cantalupensis*). *Jurnal Crop Agro*. Vol. 11 No.1.

Yusuf Q. 1998. *Al-Qur'an Berbicara tentang Akal dan Ilmu Pengetahuan* hal.41-42 terjemahan Abdul Hayyie al-Kattani. Jakarta: Gema Insani.

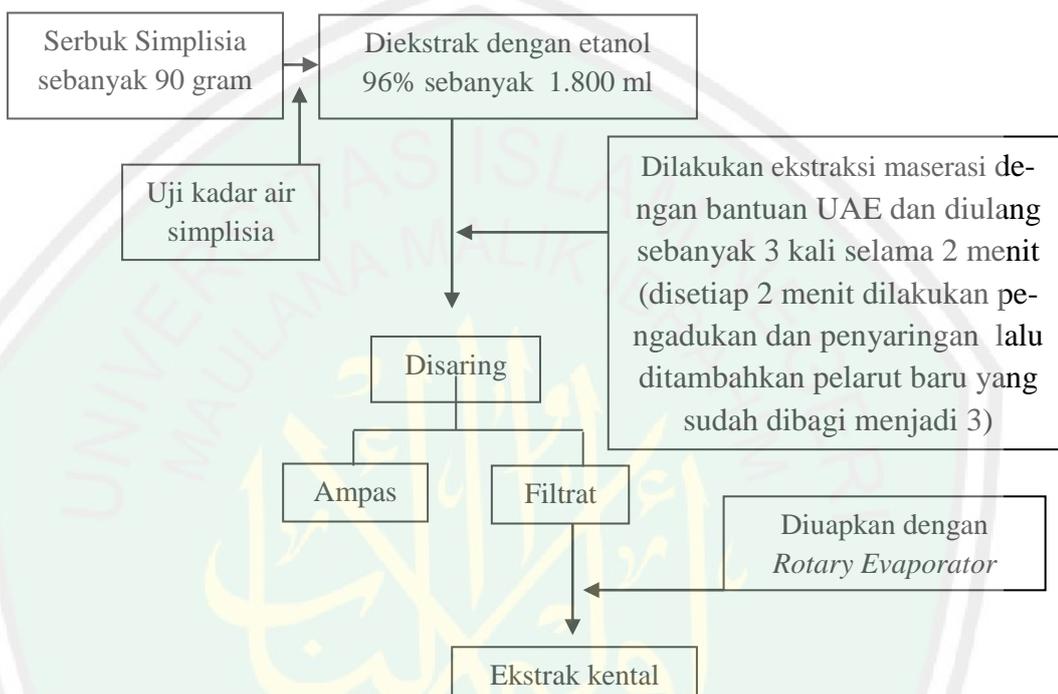
Zein, U., Khalid H.S., Josia G. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. *e-USU Repository*.



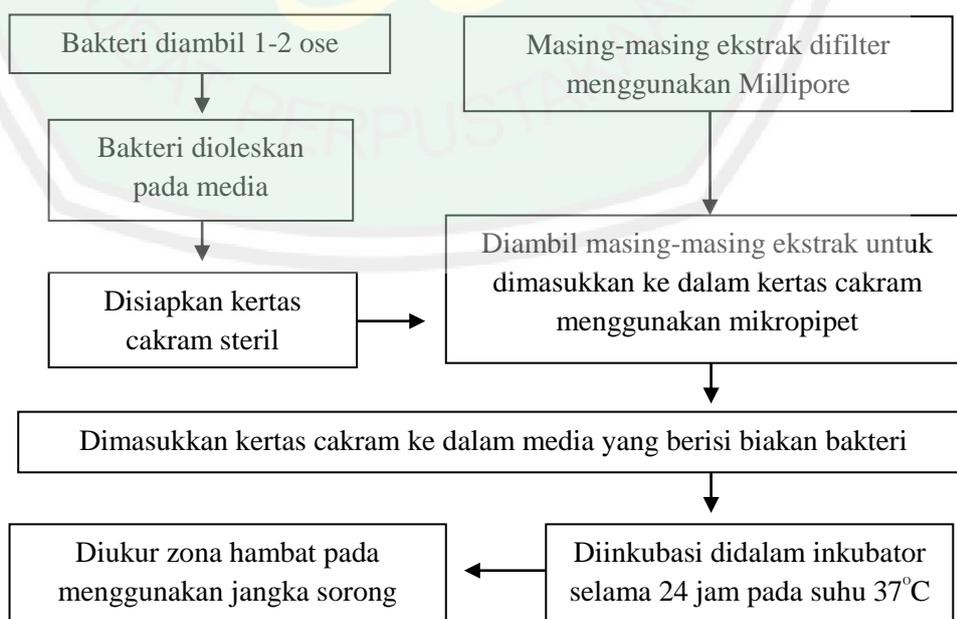
LAMPIRAN- LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja

L.1.1 Ekstraksi Buah Blewah



L.1.2 Uji Aktivitas Antibakteri



Lampiran 2. Perhitungan

L.2.1 Perhitungan Rendemen Ekstrak

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak akhir}}{\text{Berat simpliasi}} \times 100 \% \\ &= \frac{34,6 \text{ g}}{90 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 38 \% \end{aligned}$$

L.2.2 Perhitungan Dosis

1. Pembuatan larutan induk 500 ppm

$$500 \text{ ppm} = \frac{500 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{25 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} = (0,025 \text{ g}/50 \text{ mL})$$

2. Dosis ekstrak 100 ppm

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

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm}$$

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

3. Dosis 200 ppm

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

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 200 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

4. Dosis 300 ppm

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

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 300 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 6 \text{ ml}$$

5. Dosis 400 ppm

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

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 400 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 8 \text{ ml}$$

6. Dosis kontrol positif

$$\text{Dosis } 30 \text{ } \mu\text{g/ml} = \frac{b}{v} \times \frac{3 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

L.2.3 Perhitungan Zona Hambat Bakteri**1. Zona hambat dosis 100 ppm**

$$\text{Replikasi 1} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,35 + 1,50}{2} = 0,92 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,35 + 1,50}{2} = 0,92 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,30 + 1,50}{2} = 0,90 \text{ mm}$$

2. Zona hambat dosis 200 ppm

$$\text{Replikasi 1} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,45 + 1,75}{2} = 1,10 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,40 + 1,55}{2} = 0,97 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,40 + 1,55}{2} = 0,97 \text{ mm}$$

3. Zona hambat dosis 300 ppm

$$\text{Replikasi 1} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,80 + 1,75}{2} = 1,27 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,50 + 1,70}{2} = 1,10 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,60 + 1,80}{2} = 1,20 \text{ mm}$$

4. Zona hambat dosis 400 ppm

$$\text{Replikasi 1} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,80 + 1,85}{2} = 1,32 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{a + b}{2} = \frac{1,20 + 2,10}{2} = 1,66 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{a + b}{2} = \frac{0,85 + 1,85}{2} = 1,35 \text{ mm}$$

5. Zona hambat kontrol positif

$$\text{Replikasi 1} = \frac{a + b}{2} = \frac{2,45 + 3,30}{2} = 2,87 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{a + b}{2} = \frac{1,30 + 2,35}{2} = 1,82 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{a + b}{2} = \frac{2,05 + 3,25}{2} = 2,65 \text{ mm}$$

Lampiran 3. Dokumentasi Proses Penelitian



1. Pengirisan buah blewah



2. Penataan buah blewah



3. Proses pengeringan sampel



4. Penggilingan



5. Simplisia serbuk



6. Analisis kadar air simplisia



7. Penimbangan simplisia



8. Penyaringan



9. Penguapan pelarut



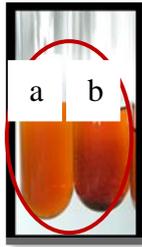
10. Proses UAE



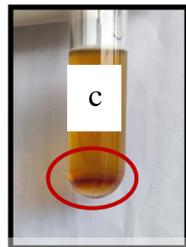
11. Pengovenan ekstrak cair



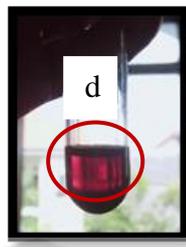
12. Hasil ekstrak kental



13. Alkaloid+



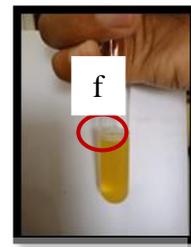
14. Steroid+



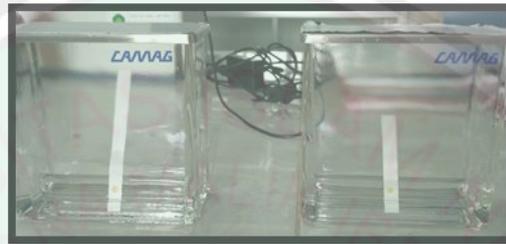
15. Terpenoid+



16. Polifenol-



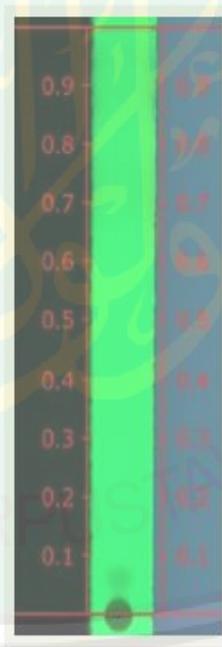
17. Saponin-



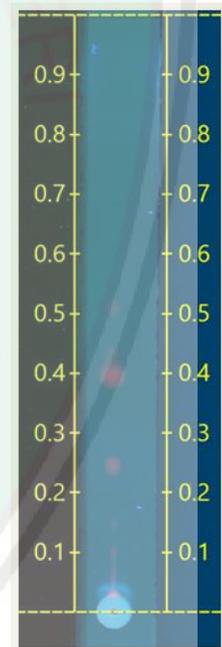
18. Proses KLT



19. Plat KLT pada cahaya putih



20. Plat KLT pada panjang gelombang 254



21. Plat KLT pada panjang gelombang 366



22. Pengenceran dosis ekstrak



23. sterilisasi ekstrak dengan millipore



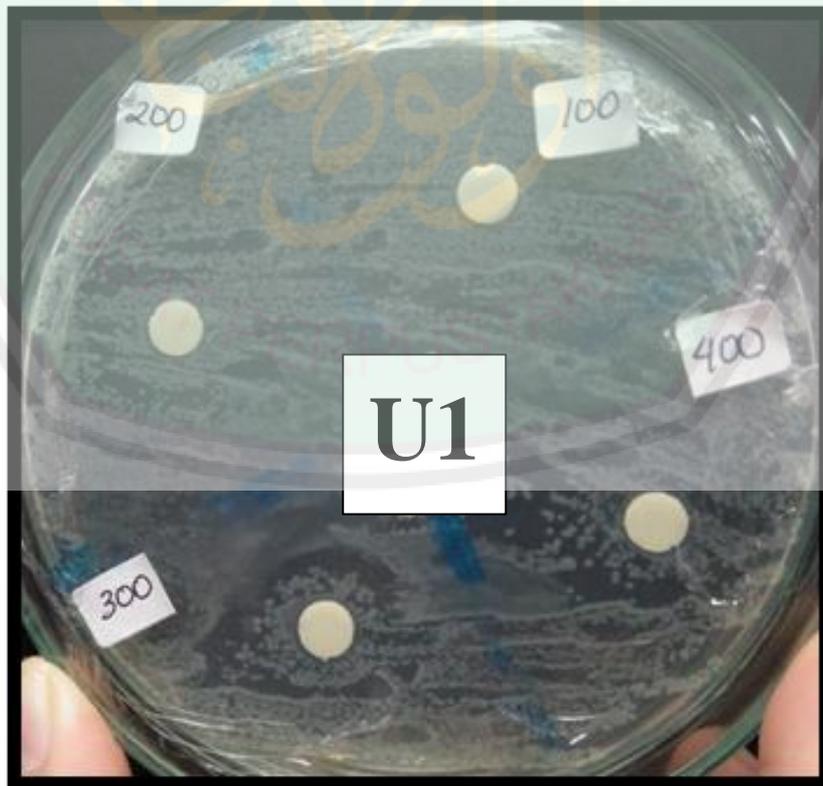
24. Sterilisasi alat dan bahan



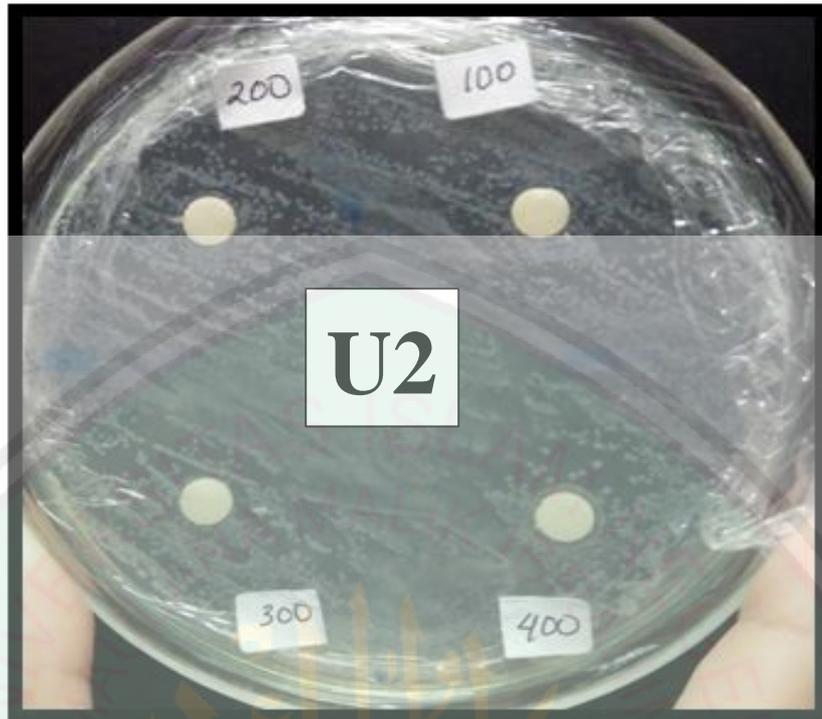
25. Proses uji antibakteri



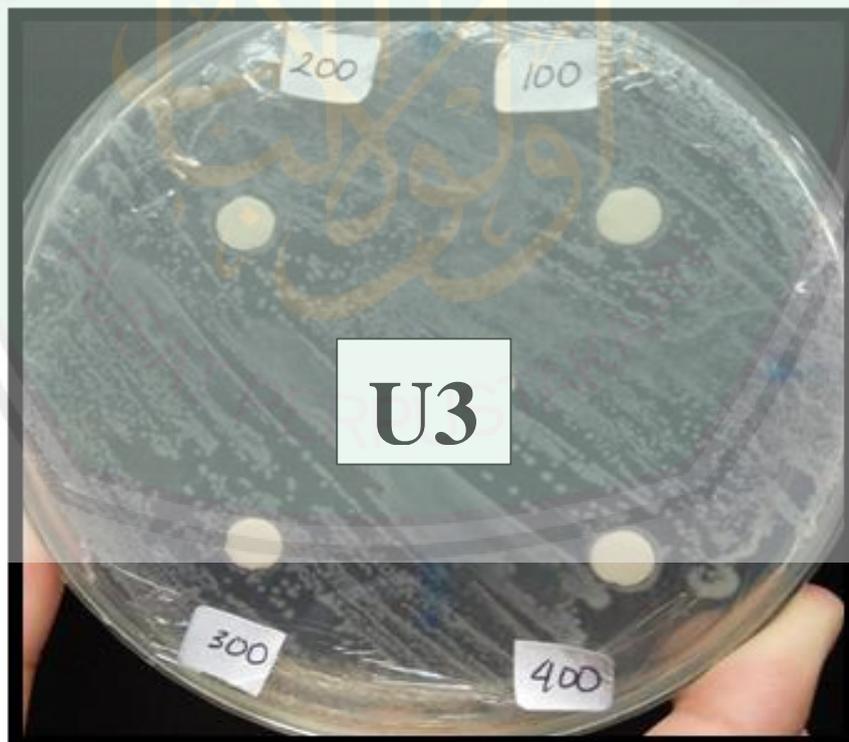
26. Pengukuran zona hambat



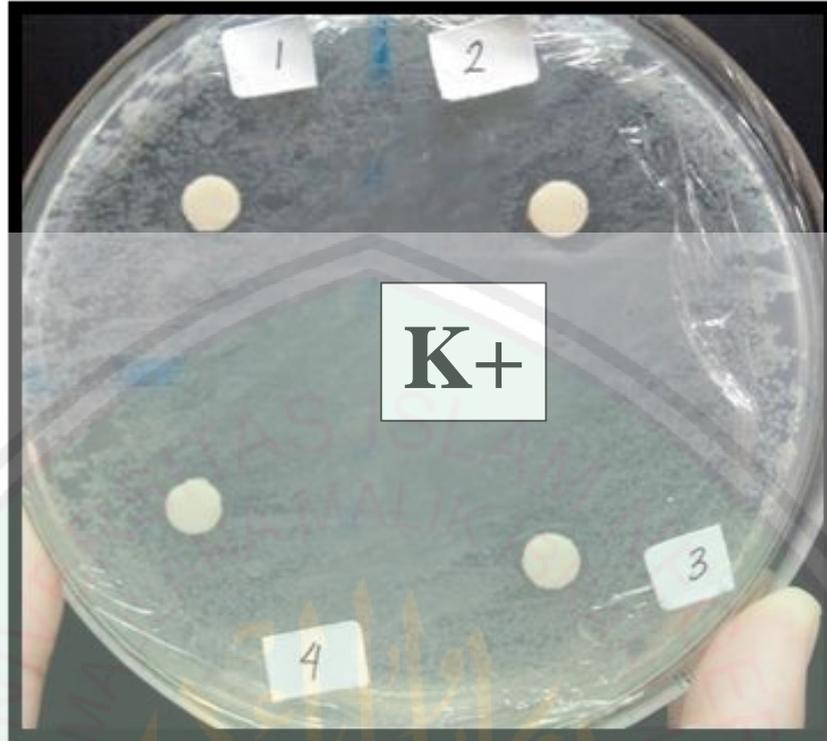
25. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 1



26. Hasil uji akitivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 2



27. Hasil uji akitivitas antibakteri ekstrak buah blewah ulangan 3



28. Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol positif

Lampiran 4. Hasil Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 336A/ 102.7/ 2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Blewah**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : SITI CHAIRUN NISA
 NIM : 15670016
 Perg. Tinggi : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman blewah

| | |
|-------------------|---|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Spermatophyta |
| Subdivisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Ordo | : Cucurbitales |
| Family | : Cucurbitaceae |
| Genus | : Cucumis |
| Spesies | : <i>Cucumis melo</i> L. var. <i>cantalupensis</i> |
| Nama Daerah | : Jaka tua, Jaka tuwa (Sunda); Grinje menir, Grinje jepun (Jawa). |
| Kunci determinasi | : 1b-2a-27a-28b-29b-30b-31b-1a-2b-3a. |

2. Deskripsi : Habitus: Terna, semusim, merambat atau menjalar dengan bantuan alat pemegang berbentuk lilin. Batang: Hijau muda, bersegi lima, berlekuk dengan 3-7 lekukan, diameter 8-15 cm, berbulu, berbuku yang melekat pada tangkai daun. Daun: Hijau, bercangkap atau menjari bersudut lima, berlekuk 3-5 lekukan, diameter 8-15 cm, permukaan kasar, berselang-seling. Bunga: Tumbuh di ketiak daun, bunga jantan berbentuk secara berkelompok 3-6 buah, bunga jantan muncul pada ketiak daun yang di topang dengan tangkai pipih panjang dan hanya terdiri dari mahkota bunga dan benang sari serta tidak memiliki bakal buah, sedangkan bunga betina muncul pada ruas percabangan di ketiak daun terdiri dari bunga, putik dan bakal buah. Buah: Buni; bulat, lonjong dan lainnya; warna hijau atau kuning; daging buah berwarna kuning keputihan dan juga jingga. Biji: Bulat, kecil, dalam jumlah banyak, coklat muda, panjang 0.9 mm dan berdiameter 0.4 mm. Akar: Tunggang terdiri dari atas akar utama dan akar lateral.

3. Nama Simplisia : Cucumi melo Fructus / Buah Blewah.

4. Kandungan Kimia : Daging buah mengandung air, protein, lemak, karbohidrat, serat, abu, vitamin A, vitamin C, likopen dan kalium.

5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

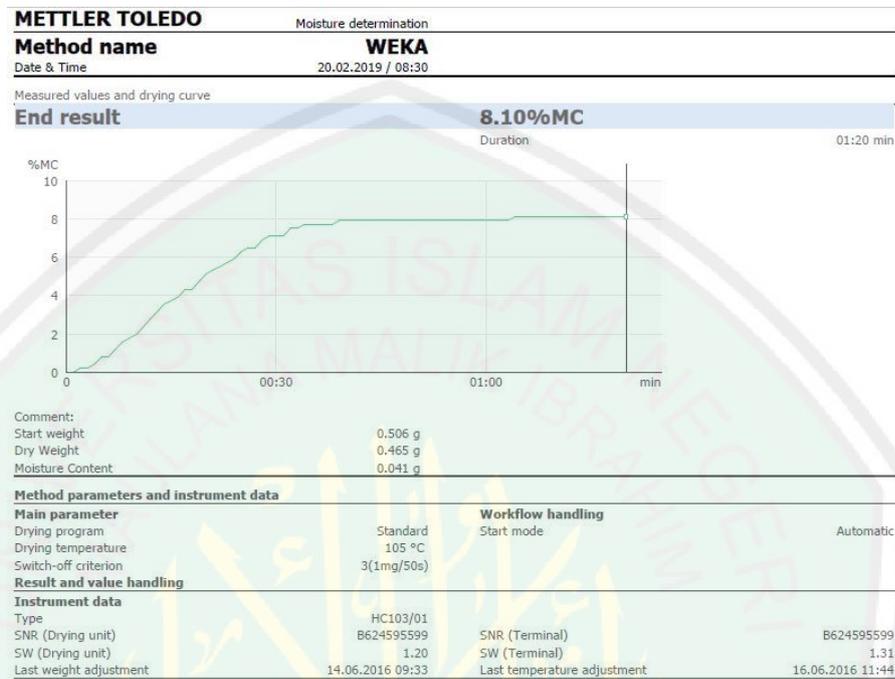
Batu, 17 September 2018
 Kepala UPT Materia Medica Batu


Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
 NIP.196113021991031003

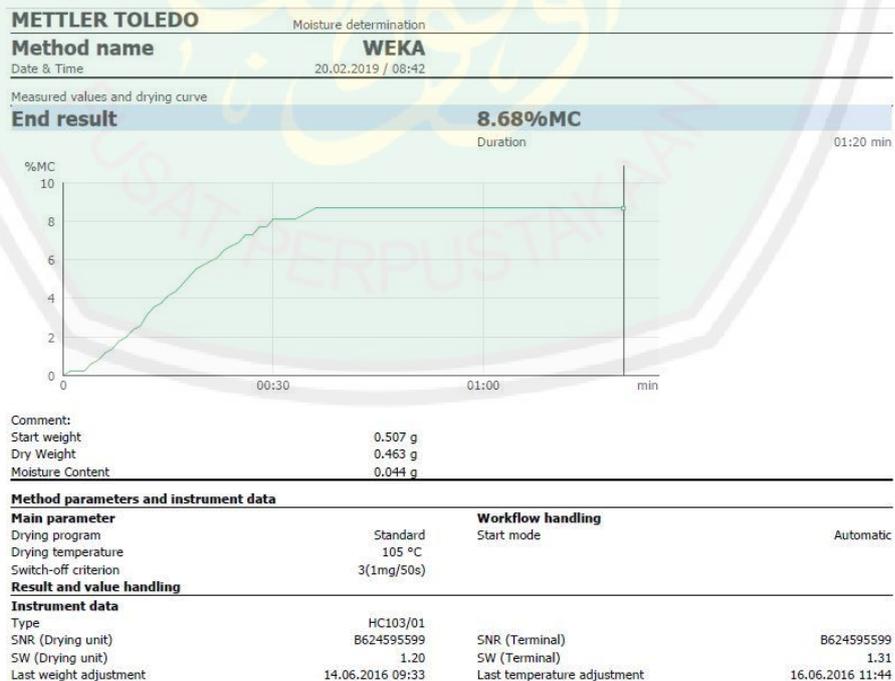


Lampiran 5. Hasil analisis kadar air simplisia buah blewah

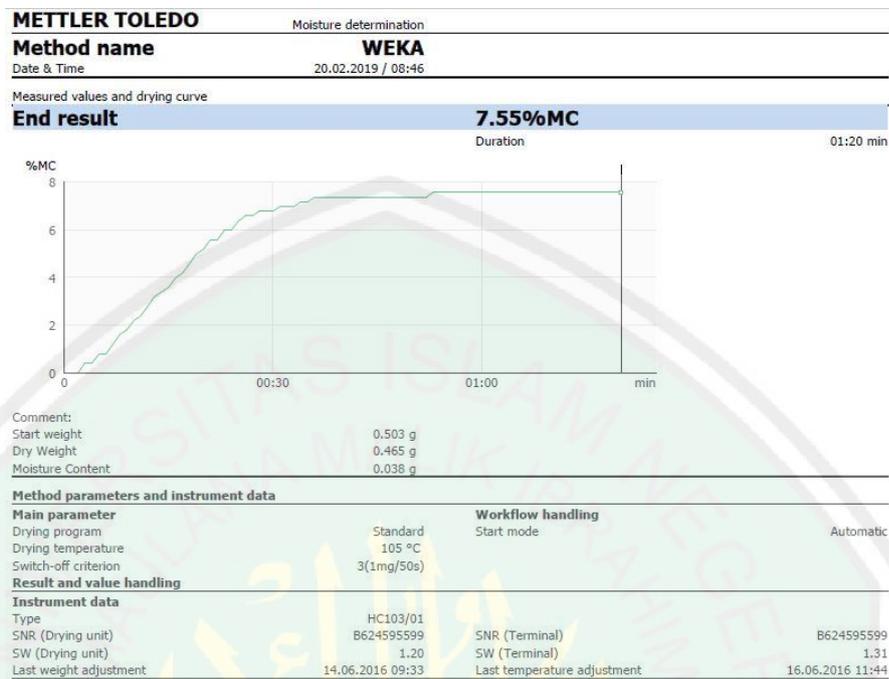
1. Replikasi ke-1



2. Replikasi ke-2



3. Replikasi ke-3



Lampiran 6. Hasil *Ethical Clearance*

| | |
|---|---|
|  | <p style="text-align: center;">FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN</p> <p style="text-align: center;">Gedung Klinik UMMI It 2 Jalan Gajayana No. 50, Dinoyo, Kec Lowokwaru, Kota Malang E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id</p> |
| | <p style="text-align: center;">KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 041/EC/KEPK-FKIK/2019</p> |

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

| | |
|-------------------|---|
| Judul | Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (<i>Cucumis melo. L. var. Cantalupensis</i>) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Eschericia coli</i> |
| Sub Judul | Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (<i>Cucumis melo. L. var. Cantalupensis</i>) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Eschericia coli</i> |
| Peneliti | Siti Choirun Nisa |
| Unit / Lembaga | Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Malang |
| Tempat Penelitian | Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang |

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Mengetahui,
 Dekan FKIK-UIN Maulana Malik Ibrahim Malang



Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, SpB. SpBP-RE(K)
 NIP. 20161201 1 515

Malang, 11 APR 2019
 Ketua

dr. Avin Ainur F, MBIomed
 NIP. 19800203 200912 2 002

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 7. Hasil diameter zona hambat

| | | |
|---|--|-----------------------------|
|  | LABORATORIUM BIOLOGI UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG | Nomor : 03.005 |
| | | Edisi/revisi : 1 |
| | SURAT KELUAR | Tanggal : 20 September 2015 |
| | SURAT HASIL PENELITIAN | Halaman : 1 dari 1 |

SURAT HASIL PENELITIAN
No. E.6.k/050/Lab Bio-UMM/V/2019

Data Peneliti

Nama : Siti Choirun Nisa
 Nim : 15670016
 Instansi : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
 Alamat : Malang
 Status : Mahasiswa
 Keperluan Analisa : Tugas Akhir (SKRIPSI)
 Jenis Sampel : Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah
 Jenis Analisa : Mikrobiologi
 Metode Analisa : Daya Antimikrobia
 Tanggal Analisa : 23-26 April 2019

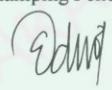
DATA HASIL PENGAMATAN

| Sampel | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | Rata-rata±SD |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|----------------|
| 100 ppm | 0,92 mm | 0,92 mm | 0,90 mm | 0,91 mm ± 0,01 |
| 200 ppm | 1,10 mm | 0,97 mm | 0,97 mm | 1,01 mm ± 0,07 |
| 300 ppm | 1,27 mm | 1,10 mm | 1,20 mm | 1,19 mm ± 0,08 |
| 400 ppm | 1,32 mm | 1,66 mm | 1,35 mm | 1,44 mm ± 0,18 |
| Kontrol positif | 2,87 mm | 1,82 mm | 2,65 mm | 2,45 mm ± 0,55 |

Mengetahui,
Kepala Lab Biologi


Dra. Roimil Latifa, M.Si., M.M.

Malang, 10 Mei 2019
Pendamping Penelitian


Erma Dwi Lailatul Fitri., S.Pd

Lampiran 8. Hasil Analisis Data

L.6.1 Uji Normalitas

Tests of Normality

| | Konsentrasi | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------|-----------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Hambatan | 100 ppm | .385 | 3 | . | .750 | 3 | .000 |
| | 200 ppm | .385 | 3 | . | .750 | 3 | .000 |
| | 300 ppm | .213 | 3 | . | .990 | 3 | .806 |
| | 400 ppm | .357 | 3 | . | .816 | 3 | .152 |
| | kontrol positif | .310 | 3 | . | .899 | 3 | .382 |

a. Lilliefors Significance Correction

L.6.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

| Hambatan | | | | |
|------------------|-----|-----|------|--|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. | |
| 7.828 | 4 | 10 | .004 | |

L.6.3 Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics^{a,b}

| Hambatan | |
|-------------|--------|
| Chi-Square | 13.430 |
| df | 4 |
| Asymp. Sig. | .009 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Konsentrasi

Lampiran 9. Lembar Persetujuan Perbaikan (REVISI) Ujian Skripsi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
JURUSAN FARMASI

Jl. Ir. Soekarno No.34 Dadaprejo Batu, Telepon (0341) 577033 Faksimile (0341) 577033
 Website: <http://fkip.uin-malang.ac.id> E-mail: fkip@uin-malang.ac.id

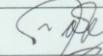
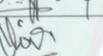
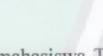
LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : Siti Choirun Nisa
 NIM : 15670016
 Judul : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Tanggal Ujian Skripsi : Rabu, 07 Agustus 2019

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji serta diperkenankan untuk melanjutkan ke tahap penelitian.

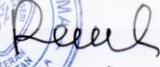
| No | Nama Dosen | Tanggal Revisi | Tanda Tangan |
|----|---|-----------------|---|
| 1. | Burhan Ma'arif ZA, M. Farm., Apt | 20 Agustus 2019 |  |
| 2. | Achmad Nashichuddin, MA. | 19 Agustus 2019 |  |
| 3. | Ria Ramadhani D. A., S. Kep., Ns., M. Kep | 20 Agustus 2019 |  |
| 4. | Wirda Anggraini, M.Farm.,Apt | 19 Agustus 2019 |  |

Catatan :

- Batas waktu maksimum melakukan revisi 2 Minggu. Jika tidak selesai, mahasiswa TIDAK dapat mendaftarkan diri untuk mengikuti Yudisium
- Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid, dan dikumpulkan di Bagian Administrasi Jurusan Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi.

Malang, 07 Agustus 2019
 Mengetahui,
 Ketua Jurusan Farmasi




Dr. Rohtatul Muti'ah, M.Kes., Apt
 19800203 200912 2 003